

УДК 504+615.9

ВЛИЯНИЕ ВЫБРОСОВ ПИРОФОСФАТА НАТРИЯ ПРИ УНИЧТОЖЕНИИ ХИМИЧЕСКОГО ОРУЖИЯ НА СОСТОЯНИЕ ПОЧВЫ

А. С. Олькова

*Вятский государственный гуманитарный университет
Россия, 610002, Киров, Красноармейская, 26
E-mail: morgan-abend@mail.ru*

Поступила в редакцию 01.04.13 г.

Влияние выбросов пирогосфата натрия при уничтожении химического оружия на состояние почвы. – Олькова А. С. – Проведено моделирование загрязнения дерново-подзолистой почвы пирогосфатом натрия – специфическим загрязняющим веществом процесса уничтожения химического оружия. Установлено, что биотесты с бактериями и простейшими наиболее эффективны в диагностике изученного загрязнения, низшие ракообразные проявили низкую чувствительность. Активность почвенных каталазы и инвертазы снижалась в ответ на загрязнение пирогосфатом; активность уреазы напротив – повышалась. Целлюлозоразлагающая способность почвы угнеталась.

Ключевые слова: пирогосфат натрия, дерново-подзолистая почва, биотестирование, ферментативная активность почвы, целлюлозоразлагающая способность почвы.

Effect of sodium pyrophosphate wasting on the soil condition when chemical weapon destruction. – Ol'kova A. S. – Contamination of a sod-podzolic soil with sodium pyrophosphate (a specific pollutant of the chemical weapons destruction process) was simulated. Bioassays with bacteria and protozoa have been found to be most effective in the diagnostics of this kind of pollution, while lower crustaceans have shown low sensitivity. The activity of soil catalase and invertase decreased in response to pyrophosphate pollution whereas the urease activity increased. The soil ability to decompose cellulose was suppressed.

Key words: sodium pyrophosphate, sod-podzolic soil, bioassay, enzymatic activity of soil, cellulolytic capacity of soil.

ВВЕДЕНИЕ

До начала реализации Федеральной программы уничтожения химического оружия в России было сосредоточено около 40 тыс. тонн боевых отравляющих веществ, основная масса которых размещалась в шести регионах: Саратовской, Курганской, Брянской, Пензенской, Кировской областях и Удмуртской Республике (Химическое оружие..., 1997; Ашихмина, 2002). Специалисты в области экологического мониторинга данных регионов нуждаются в установлении информативных индикаторов специфического техногенного воздействия.

При ликвидации на объектах уничтожения фосфорорганического химического оружия используют метод сжигания реакционных масс, образовавшихся на первом, «химическом», этапе деструкции отравляющих веществ. Продуктами сжигания являются минеральные соединения, из которых специфическим загрязняющим веществом можно назвать пирогосфат натрия (ПФН).

На протяжении нескольких лет в лабораторных и полевых условиях нами изучалось влияние ПФН как специфического поллютанта процесса уничтожения фосфорорганических отравляющих веществ на живые организмы.

ВЛИЯНИЕ ВЫБРОСОВ ПИРОФОСФАТА НАТРИЯ

Целью данной работы стала оценка влияния пирофосфата натрия на различные показатели состояния дерново-подзолистой почвы в условиях модельного полевого эксперимента.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Модельная опытная площадка располагалась в зоне защитных мероприятий комплекса объектов хранения и уничтожения химического оружия «Марадыковский» (Кировская область) на расстоянии 2.8 км от него. Участок представляет собой суходольный луг с доминированием ежи сборной, подмаренника мягкого и лютика едкого. Почва дерново-подзолистая супесчаная. Это одна из наиболее типичных почв средней полосы России. Например, в Кировской области дерново-подзолистые почвы занимают 45% всех почвенных разностей (Тюлин, Гущина, 1991).

Микроделяночный опыт включал контрольный вариант – деланки без воздействия, и 2 опытных варианта: внесение ПФН в количестве 4.5 и 45 г/м². Вещество вносили в почву в виде раствора. Доза 4.5 г/м² – это расчетное количество пирофосфата натрия, соответствующее массе элементарного фосфора в фосфорорганических соединениях, подлежащих уничтожению на объекте «Марадыковский». Десятикратная доза рассматривалась как максимальное воздействие в случае аварийных ситуаций.

Опыт выполнен в четырёхкратной повторности, заложен в конце мая. Почва находилась под естественной растительностью, скошенной непосредственно перед внесением действующего вещества.

Для определения целлюлозоразлагающей способности почвы использовали аппликационный метод закладки льняной ткани в почву (Востров, Петрова, 1961). Выемка льняных полотен проводилась через 1.5 и 3 месяца после закладки.

Для исследования других показателей состояния почв отбор образцов производили через 10 и 90 дней после внесения поллютанта. Были отобраны образцы из двух почвенных горизонтов: A_д (A₁) – дернина мощностью 5 – 7 см, A₂ – гумусоэлювиальный (дерновый) мощностью 10 – 15 см.

Кроме целлюлозоразлагающей способности почвы определяли её интегральную токсичность и ферментативную активность. Токсичность оценивали на базе аккредитованной лаборатории по аттестованным методикам (ФР 1.39..., 2001; ПНД ФТ 14.1..., 2010; ФР 1.31..., 2010). Использовали тест-объекты трех основных трофических групп: бактерии *Escherichia coli* тест-системы «Эколюм», простейшие *Paramecium caudatum* Ehrenberg, низшие ракообразные *Daphnia magna* Straus. Реакцию почвенных ферментов изучали общепринятыми методами (Хазиев, 2005). Активность каталазы измеряли газометрическим способом, активность уреазы и инвертазы – фотометрическими методами.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Полевому опыту предшествовали эксперименты по определению интегральной токсичности растворов пирофосфата натрия и фосфата натрия. Данные растворы, сравниваемые между собой, содержали одинаковое количество действующей

ских анионов. В результате биотесты с использованием инфузорий и бактериальной системы подтвердили, что пирофосфат натрия более чем в два раза токсичнее фосфата (Олькова, Шулятьева, 2008).

Получив такие результаты, мы проявили интерес к проведению биотестирования почвы, загрязненной минеральным техногенным фосфором. Загрязнение подобного рода при химико-аналитическом контроле отражается лишь в увеличении содержания в почве различных форм фосфатов. В системе нормирования загрязнения почвы содержание фосфатов не регламентируется, поэтому методы биотестирования могут помочь в этой ситуации отразить силу техногенного пресса на экосистемы почв.

Согласно используемым методикам биотестирования анализировались водные вытяжки из почв, отобранных на модельных опытных делянках.

В результате проведенных исследований удалось выяснить, что из трех тест-организмов, использованных в исследовании, *D. magna* проявили наименьшую чувствительность к ПФН. Выживаемость рачков составила 100% как для проб отобранных через 10 дней после внесения токсиканта, так и после 90 суток.

В то же время тест-объект *P. caudatum* и бактерии системы «Эколюм» показали высокую чувствительность к исследуемому веществу. Результаты биотестирования проб почв, отобранных через 10 дней после внесения ПФН, представлены в табл. 1, 2.

Таблица 1

Оценка уровня токсичности почвы при загрязнении её ПФН в биотесте с использованием *P. caudatum*

Горизонт почвы	Значения индексов токсичности T , у.е.		
	Контроль	Загрязнение 4.5 г/м ²	Загрязнение 45 г/м ²
A ₁	0.13±0.08	0.11±0.05	0.41±0.05*
	I группа токсичности	I группа токсичности	II группа токсичности
A ₂	0.08±0.01	0.28±0.02*	0.44±0.06*
	I группа токсичности	II группа токсичности	II группа токсичности

* – отличия от контрольных значений достоверны ($p < 0.05$).

Таблица 2

Оценка уровня токсичности почвы при загрязнении её ПФН в биотесте с использованием тест-системы «Эколюм»

Горизонт почвы	Значения индексов токсичности T , у.е.		
	Контроль	Загрязнение 4.5 г/м ²	Загрязнение 45 г/м ²
A ₁	1.80±0.35	16.49±3.23*	30.94±6.03*
	I группа токсичности	I группа токсичности	II группа токсичности
A ₂	1.60±0.30	25.99±5.09*	42.02±8.04*
	I группа токсичности	II группа токсичности	III группа токсичности

* – отличия от контрольных значений достоверны ($p < 0.05$).

Почва без внесения загрязняющего вещества оказалась не токсичной как для парамедий, так и для бактериальной тест-системы.

ВЛИЯНИЕ ВЫБРОСОВ ПИРОФОСФАТА НАТРИЯ

Биотестирование почвы (в биотесте с *P. caudatum*), загрязненной меньшей дозой ПФН, показало, что верхний генетический горизонт почвы по уровню токсичности не отличался от контрольных значений. В то же время нижележащий горизонт стал характеризоваться повышенной токсичностью: его индекс токсичности *T* относится ко второй группе в соответствии с используемой методикой (ФР 1.31..., 2010). Предполагаем, что пирофосфат с почвенным раствором мигрировал и оказал большее влияние на горизонт A_2 . При моделировании повышенного загрязнения такая тенденция сохранилась. Однако в этом варианте пробы из верхнего генетического горизонта также оказались значительно токсичнее незагрязненных образцов.

Тест-система «Эколюм» оказалась чувствительнее *D. magna* и *P. caudatum* к ПФН. Внесение загрязнения на уровне 4.5 г/м^2 не выводит почву горизонта A_1 из первой группы («образец не токсичен»), однако увеличение индекса токсичности является достоверным по отношению к контрольному варианту. Пробы из горизонта A_2 , как и при тестировании с помощью парameций, оказались токсичнее, чем образцы верхнего горизонта, что подтверждает движение пирофосфата вниз по профилю. Повышенное загрязнение почвы отразилось в возрастании индексов *T* по тест-системе «Эколюм», причем пробы горизонта A_2 в соответствии с методикой отнесены к третьей группе «высокая токсичность».

Через 90 дней почва уже не оказывала токсического действия на тест-организмы. Это связано со способностью пирофосфатов гидролизываться до фосфатов (Кудеярова, 1993).

Реакция почвенных ферментов на внесение техногенного фосфора оказалась яркой и крайне интересной. Активность составляющих ферментативного почвенного пула – интегральный показатель состояния почв, используемый многими исследователями (Абрамян, 1992; Галиулин, 2005).

Активность почвенных каталазы, уреазы и инвертазы исследовали в верхнем генетическом горизонте, так как микробоценоз как поставщик экзоферментов сосредоточен преимущественно именно здесь. Как и при определении интегральной токсичности, максимальный эффект отмечали после 10-дневного воздействия. Полученные результаты отражены на рис. 1.

Реакция каталазы на внесение ПФН оказалась двойственной. При внесении одной расчетной дозы ПФН наблюдалось недостоверное повышение активности

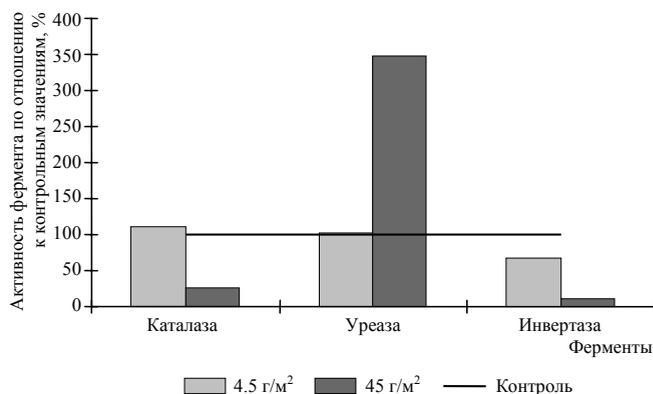


Рис. 1. Реакция почвенных ферментов на ПФН через 10 дней после внесения вещества

фермента по сравнению с контролем, а при внесении десятикратной дозы – отметили достоверное угнетение в 3.8 раз.

Отклик инвертазы схож с данными, полученными по каталазной активности. Наблюдается значительное угнетение фермента в ответ на высокую дозу токсиканта и близкая к контрольным значениям активность инвертазы при загрязнении, равном 4.5 г/м².

Такие реакции ферментов вполне закономерны в ответ на внесение нестойкого загрязняющего вещества, поставляющего элементы питания для микроорганизмов (Марфенина, 1991).

Угнетение поставщиков экзоферментов, микроорганизмов почвы, под воздействием пирофосфата натрия было подтверждено в наших исследованиях под руководством Т. Я. Ашихминой и Л. И. Домрачевой (Ашихмина и др., 2010). Были получены данные о том, что ПФН угнетает видовое разнообразие водорослей в почве, а также способствует увеличению доли окрашенных микромицетов. Преобладание меланизированных форм микромицетов как наиболее устойчивой части грибных сообществ также может являться индикатором загрязнения среды (Терехова, 2007; Огарков и др., 2008).

В отличие от активности первых двух ферментов активность уреазы стимулируется в ответ на поступление исследуемого вещества: в наиболее загрязненных образцах показатель возрастает в 3.5 раза. Однако для малой дозы отмечена только тенденция увеличения измеряемых значений по сравнению с контрольными, отличия оказались недостоверными. Стимуляцию уреазной активности можно объяснить тем, что часто при загрязнении почвы на лидирующие позиции выходят азотфиксирующие цианобактерии (Domracheva et al., 2006).

Опыт многих исследователей свидетельствует о возможности инверсии ответных реакций почвенных ферментов на различные токсиканты (Абрамян, 1992; Исмаилов, 1982). Это связано с разнообразием видового состава почвенного микробоценоза, который формирует активность экзоферментов, а также с другими особенностями самой почвы. Поэтому, по нашему мнению, активность почвенных ферментов становится информативным индикатором, когда экспериментально установлен эффект от приоритетных загрязняющих веществ, проявляющийся на типичных почвах зоны влияния техногенного объекта.

На примере полевого модельного опыта нами установлена специфическая совокупность ответных реакций трех ферментов на загрязнение пирофосфатом натрия, проявляющаяся в угнетении каталазы и инвертазы, с одной стороны, и стимуляции уреазы – с другой.

Кроме ферментативной активности почвы оценивался показатель, характеризующий комплексную биологическую активность почвы – интенсивность разложения целлюлозы. Метод закладки льняных полотен в последнее время несправедливо забыт, несмотря на то, что дает адекватные воспроизводимые результаты.

При оценке воздействия ПФН на целлюлозоразлагающую активность дерново-подзолистой почвы пришлось отклониться от экспозиции 10 дней в силу особенности показателя. В результате первый раз полотна вынимали через 45 дней (рис. 2), второй раз – через 90.

ВЛИЯНИЕ ВЫБРОСОВ ПИРОФОСФАТА НАТРИЯ

Внесение ПФН в дерново-подзолистую почву вызвало угнетение разложения целлюлозы льна по сравнению с контрольным вариантом: за 45 дней различия в показателях контрольного варианта и опытных достигли 1.5 и 3 раза для загрязнения 4.5 и 45 г/м² соответственно. Различия оказались достоверны.

За три месяца вегетационного сезона ткань разложилась на опытных участках практически полностью (90 – 95%). Тенденция угнетения целлюлозоразлагающей активности сохранилась, однако отличия от контрольных значений оказались уже не достоверны.

Сравнивая активность отдельно взятых ферментов и целлюлозоразлагающую способность почвы, можно сделать вывод о более высокой чувствительности последней характеристики как интегрального показателя состояния почвенного микробиоценоза.

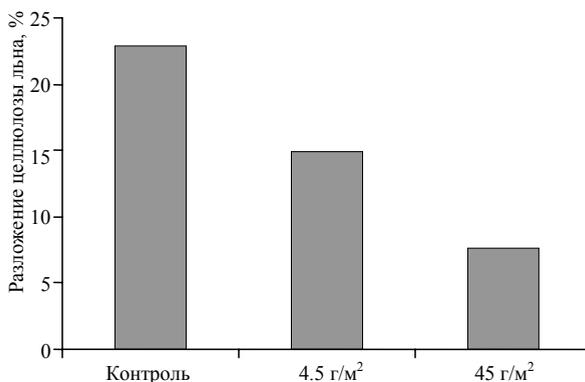


Рис. 2. Целлюлозоразлагающая способность дерново-подзолистой почвы при воздействии пирофосфата натрия

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований и анализа их результатов приходим к следующим выводам о воздействии пирофосфата натрия на состояние почвы.

1. Повышение токсичности почвы возможно в случае аварийных ситуаций при её максимальном загрязнении пирофосфатом натрия. Рачки *D. magna* оказались не чувствительными к техногенному фосфорному загрязнению. Среди экспресс-биотестов наибольшую чувствительность проявила бактериальная тест-система «Эколюм».

2. Показана неоднозначность действия пирофосфата натрия на ферменты дерново-подзолистой почвы. Активность каталазы и инвертазы угнеталась, а активность уреазы повышалась. Такая совокупность ответных реакций почвенных ферментов может служить специфическим индикатором, сигнализирующим о загрязнении почвы техногенными минеральными соединениями фосфора.

3. Целлюлозоразлагающая активность почвы чувствительна как к низким, так и к повышенным дозам загрязнения пирофосфатом натрия. Однако для оценки данного показателя требуется длительное время.

Выявленные воздействия пирофосфата натрия во многом связаны с чувствительностью к нему почвенных альгомикологических комплексов. Показатели интегральной токсичности, ферментативной активности и целлюлозоразлагающей способности почв могут быть успешно использованы в экологическом мониторинге объектов уничтожения химического оружия.

Выражаем признательность коллективу лаборатории биомониторинга Вятского государственного гуманитарного университета и Коми НЦ УрО РАН во главе с Т. Я. Ашихминой за ценные советы и всестороннюю поддержку.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук (проект № МК-3326.2012.5).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Абрамян С. А. Изменение ферментативной активности почвы под влиянием естественных и антропогенных факторов // Почвоведение. 1992. № 7. С. 70 – 80.

Ашихмина Т. Я. Комплексный экологический мониторинг объектов хранения и уничтожения химического оружия. Киров : Вятка, 2002. 544 с.

Ашихмина Т. Я., Домрачева Л. И., Огородникова С. Ю., Олькова А. С., Кантор Г. Я., Кондакова Л. В. Изучение воздействия фосфорсодержащих поллютантов на почвенные микроорганизмы // Рос. химический журн. 2010. Т. LIV, № 4. С. 183 – 186.

Востров И. С., Петрова А. Н. Определение биологической активности почвы различными методами // Микробиология. 1961. Т. 30, вып. 4. С. 665 – 672.

Галиулин Р. В. Дегидрогеназная активность почв, загрязнённых тяжёлыми металлами // Агрохимия. 2005. № 8. С. 83 – 90.

Исмаилов Н. М. Нефтяное загрязнение и биологическая активность почв // Добыча полезных ископаемых и геохимия природных экосистем. М. : Наука, 1982. С. 227 – 235.

Кудеярова А. Ю. Педогеохимия орто- и полифосфатов в условиях применения удобрений. М. : Наука, 1993. 240 с.

Марфенина О. Е. Микробиологические аспекты охраны почв. М. : Изд-во МГУ, 1991. 118 с.

Олькова А. С., Шулятьева Н. А. Сравнение токсичности фосфатов и пиррофосфатов методами биотестирования // Экология родного края : проблемы и пути их решения : материалы 3-й обл. науч.-практ. конф. молодежи. Киров : О-Краткое, 2008. С. 114 – 118.

Огарков Б. Н., Огаркова Г. Р., Самусенок Л. В. Грибы – защитники, целители и разрушители / Науч. центр реконструктивной и восстановительной хирургии СО РАМН. Иркутск, 2008. 248 с.

Терехова В. А. Микромицеты в экологической оценке водных и наземных экосистем. М. : Наука, 2007. 215 с.

Тюлин В. В., Гущина А. М. Особенности почв Кировской области при интенсивном земледелии. Киров : Изд-во Киров. с.-х. ин-та, 1991. 92 с.

Хазиев Ф. Х. Методы почвенной энзимологии. М. : Наука, 2005. 252 с.

Химическое оружие : Экологические проблемы уничтожения / под ред. Ю. М. Арского. М. : ВИНТИ, 1997. 189 с.

ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.11-04 16.1:2.3:3.8-04 Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению интенсивности бактериальной биолюминесценции тест-системой «Эколюм». М., 2010. 20 с.

ФР 1.31.2005.01882 (ред. 2010) Методика определения токсичности проб почв, донных отложений и осадков сточных вод экспресс-методом с применением прибора «Биотестер». М. : СПЕКТР-М, 2010.

ФР 1.39.2007.03222 Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодovitости дафний. М. : Акварос, 2001.

Domracheva L. I., Dabakh E. V., Kondakova L. V., Varaksina A. I. Algal-micological complexes in soils upon their chemical pollution // Eurasian Soil Science. 2006. Suppl. 1. P. 91 – 97.