

ОЦЕНКА ПОСЛЕДЕЙСТВИЯ ДОЛГОВРЕМЕННОГО ПРИМЕНЕНИЯ ВЫСОКИХ ДОЗ ОСАДКОВ СТОЧНЫХ ВОД МЕТОДОМ БИОТЕСТИРОВАНИЯ ПОЧВЫ

ASSESSMENT OF THE AFTEREFFECTS OF LONG-TERM USE OF HIGH DOSES OF SEWAGE SLUDGE THROUGH SOIL BIOASSAY

**M. Lunev
A. Baranov**

Summary. An ecotoxicological assessment of the aftereffect of the introduction of high doses of sewage sludge (SS) under agricultural crops is given. The organisms included in the battery of bio-tests (plant, enhytreid, ciliates), in their vital signs, showed a positive effect on the introduction of high doses of SS. Studies on the assessment of the reaction of cultures belonging to the same taxonomic groups, but already in the field experience, also showed an improvement in their living conditions, confirming the possibility of extrapolating the bioassay results for the prediction of the development of experimental organisms in real conditions.

Keywords: soil, sewage sludge, remediation, bioassay, heavy metals, chronic pollution.

Лунев Михаил Иванович

Д.б.н., г.н.с., ФГБНУ ВНИИ агрохимии
им. Д. Н. Прянишникова
milunev@yandex.ru

Баранов Александр Павлович

С.н.с., ФГБНУ ВНИИ агрохимии им. Д. Н. Прянишникова
baranov.bigis@yandex.ru

Аннотация. Дана экотоксикологическая оценка последствий внесения высоких доз осадка сточных вод (ОСВ) под сельскохозяйственные культуры. Организмы, включенные в батарею биотестов (растение, энхитреиды, инфузории), по своим показателям жизнедеятельности, проявили положительный эффект от внесения высоких доз ОСВ. Проведенные исследования по оценке реакции культур, относящимся к тем же таксономическим группам, но уже в условиях полевого опыта, так же показали улучшение условий их жизнедеятельности, подтвердив возможность экстраполяции результатов биотестирования для прогноза на развитие опытных организмов в реальных условиях.

Ключевые слова: почва, осадки сточных вод, биотестирование, тяжелые металлы.

В современных условиях ускорения развития технологий и науки, возможности переработки антропогенных отходов резко увеличиваются. Массовое использование осадков сточных вод (ОСВ) для удобрения почв в Европе и Америке стимулировало процессы очистки данного сырья и снизило содержание токсичных контаминантов в осадке, в первую очередь тяжелых металлов. Данные тенденции, в свою очередь стимулируют исследования в области нормирования применения ОСВ на почвах сельскохозяйственного назначения.

Наиболее ярким примером доказательства актуальности вопроса применения ОСВ для обогащения почв питательными веществами, является разница между дозами стандартизированного применения ОСВ по нормативным документам [1], разрешающим внесение ОСВ в дозах 7–10 тонн с периодичностью 3–5 лет и дозами осадков, испытываемых в научных исследованиях [2,3], с объемами внесений до 90 т/га и 1440 т/га (накопительная доза за 35 лет). При определенности удобрительного эффекта ОСВ, и доказанности улучшения агроэкологических свойств почвы [3], вопрос загрязнения почв при долговременном применении ОСВ и влияния на почвен-

ную биоту остается недостаточно изученным. Многофакторность загрязнения и неоднородность условий применения осадков, в первую очередь, из-за разнообразия таких почвенных показателей как содержание органического вещества, кислотность, почвенно-поглощающий комплекс, содержание глины, водный режим, обуславливают необходимость комплексной интегральной оценки токсичности для каждой почвенной разности.

Наиболее адекватным инструментом для оценки загрязненности почвы с учетом ее особенностей, является определение ее интегральной токсичности путем использования батарей биотестов, состоящих из стандартизированных высокочувствительных тест — культур организмов, принадлежащих к разным таксономическим группам, имеющих репрезентативность по отношению к исследуемой территории и вносящим существенный вклад в почвообразовательный процесс [4].

Однако, возможности биотестирования исследования проводимого в лабораторных условиях, отличающихся от реальных условий отсутствием многообразия факторов воздействия, присутствующих в полевых условиях могут быть ограничены для интерполяции на всю

Таблица 1*. Содержание некоторых тяжелых металлов почве вариантов опыта

Вариант	Cd	Cr	Cu	Zn	Pb	Ni
	мг/кг					
Контроль	1,59	61	48,2	108,3	11,8	3,5
ОСВ 360 т/га + дол. мука 3 т/га	4,31	91,4	80,4	147,3	15,1	7,3
ОСВ 1440 т/га + дол. мука 3 т/га	9,44	123,4	127,1	181,6	18,7	24,8

* Результаты полевого опыта. Касатиков В.А, Шабардина Н.П., Влияние систематического применения осадка городских сточных вод на агроэкологические свойства почвы, урожайность культур в длительном опыте.

Показатели развития *Brassica rapa* по результатам биотеста Таблица 2

Варианты опыта	Вес (г)			Σ	% к контролю
	корни	листья	стебли		
Контроль	72,0±3,0	409,0±7,0	163,7±12,5	644,7	—
ОСВ 360 т/га + дол. мука 3 т/га	102,5±4,3	426,5±17,2	264,7±4,1	793,2	22,4
ОСВ 1440 т/га + дол. мука 3 т/га	298,0±7,0	814,2±14,7	284,7±5,6	1390,9	115,7

экосистему изучаемого объекта. Поэтому для оценки точности биотестирования почв с большими дозами внесения ОСВ проводилось сопоставление результатов биотестирования на тест-культурах с изменениями происходящими в полевых условиях с организмами, относящимися к тем же таксономическим группам, что и тест-культуры (высшие растения и энхитреиды).

Материалы и методы

Оценка последствий внесения ОСВ проводилась с почвой вариантов опыта по внесению ОСВ, заложенно-го на опытном поле ФГБНУ ВНИИ органических удобрений в 2014–2017 гг. в 1984 г. Суммарные дозы ОСВ на текущее состояние даны на 50% влажность. Повторность опыта 6-ти кратная. Размер делянки 1,5 x 2 м. Учетная площадь 3 м². По периметру опыта защитная полоса шириной 0,4 м. общая площадь опыта 300 м². Аэробностабилизированные осадки сточных вод с очистных сооружений г. Владимира вносили ежегодно с 1984 по 1995 гг., а также периодически в 2000, 2006, 2010 и 2015 г. осенью в сочетании с периодическим известкованием доломитовой мукой в дозах 3, 6, 9 т/га в 1984, 1990, 1995, 2006 и 2015 гг. Суммарные дозы ОСВ составили 180–1440 т/га (50% влажности). В результате длительного применения ОСВ в почву стационарного опыта поступило значительное количество тяжелых металлов (ТМ), (таблица 1). Почва опытного участка дерново-подзолистая, сформированная на двучленных ледниковых отложениях. Пахотный и иллювиальный горизонты находятся в толще супесчаного отложения, перекрывающего тяжелый моренный суглинок. Исходная агрохимическая характеристика слоя почвы 0–20 см в 1984 г. следующая: рН_{сол.}— 6,0, Нг.— 1,05 мг-экв./100г почвы, S — 7,0 мг-

экв./100г почвы, Р₂О₅—95 мг/кг почвы, К₂О — 43 мг/кг почвы, Сорг.— 0,8%.

Биотестирование почвы вариантов опыта проводилось с использованием батареи, включающей стандартизированные биотесты с энхитреидами *Enchytraeus albidus* [5], высшим растением *Brassica rapa*, проводившийся в климатической камере в соответствии с методикой [6] и с инфузориями *Tetrahymena thermophile* по руководству [7]. Подсчет инфузорий *Tetrahymena thermophile* проводился с помощью автоматизированной системы БиоЛаТ [8]. Исследование по плотности энхитреид, непосредственно в почве в вариантах полевого опыта проводилось по методикам [9] и [10]. Образцы почвы в виде кернов (3 см) отбирались с поверхности почвы вариантов опыта, и хранились в пластиковой таре в течение суток до начала размещения энхитреид в установке для подсчета. Время отбора почвенных образцов в 2018 и 2019 гг.— третья декада мая.

Результаты и обсуждение

В таблице 1 дано содержание тяжелых металлов, определенное по результатам накопления указанных доз ОСВ. Основное внимание обращает на себя содержание кадмия, которое имеет наибольшее превышение своего кларка в почвах (0,13 мг/кг) по сравнению с незначительными превышениями других тяжелых металлов, например меди (50 мг/кг).

Данные представленные в таблице 2 показывают существенную прибавку в физической массе растений на вариантах опыта за счет фактора ОСВ, полученную в течение 25 суток биотестирования. Показательно вли-

Таблица 3. Выживаемость и репродуктивность энхитреид *Enchytraeus albidus* в почве опыта по результатам биотеста

Варианты опыта	Выживаемость в% к контролю	Репродуктивность (ювенальные особи, шт.)
Контроль	-	67,3±9,4
ОСВ 360 т/га + дол. мука 3 т/га	98,7	96,9±14,9
ОСВ 1440 т/га + дол. мука 3 т/га	100	23,4±6,4

Таблица 4. Показатели развития инфузорий по результатам биотеста. Токсичность водных экстрактов почв опыта для *Tetrahymena thermophile*

Варианты опыта	Коэффициент суточного роста культуры
Контроль	1,68±0,31
ОСВ 360 т/га + дол. мука 3 т/га	1,73±0,57
ОСВ 1440 т/га + дол. мука 3 т/га	1,60±0,29

Таблица 5*. Последствие систематического применения ОСВ и известкования на продуктивность культур в звене озимая рожь — яровая тритикале.

Вариант опыта	Озимая рожь		Яровая тритикале	
	Урожай, ц/га	Прибавка к контролю, %	Урожай, ц/га	Прибавка к контролю, %
Контроль (б/у)	26,7	-	12,0	-
ОСВ 360 т/га + дол. м. 3 т/га	32,8	23	15,8	32
ОСВ 1440 т/га + дол. м. 3 т/га	39,8	49	22,4	87
НСР05	1,67		1,59	

* Результаты полевого опыта. Касатиков В.А, Шабардина Н.П., Влияние систематического применения осадка городских сточных вод на агроэкологические свойства почвы, урожайность культур в длительном опыте.

Таблица 6. Плотность энхитреид (шт/м²) в почве вариантах микрополевого опыта

Варианты опыта	2018 г	2019 г
Контроль	1340±58	1534±61
ОСВ 360 т/га + дол. мука 3 т/га	3650±79	4023±81
ОСВ 1440 т/га + дол. мука 3 т/га	5120±69	5230±47

ание ОСВ на варианте с аккумулярованной дозой 1440 т/га где масса растений более чем в 2 раза превышает массу контрольных растений.

Биотест на репродуктивность энхитреид считается одним из самых чувствительных среди тестов с педобионтами [11]. В таблице 3 показано, что возможное токсическое действие контаминантов ОСВ не отразилось на количестве взрослых энхитреид *Enchytraeus albidus* в двухнедельном тесте на выживаемость.

Резкое повышение репродуктивности в варианте с аккумулярованной дозой 360 т/га, по-видимому, мож-

но интерпретировать как выражение разнонаправленных эффектов токсичности и питательности ОСВ для ювенальных форм энхитреид. Для точного объяснения полученного эффекта необходимо проведение дополнительных исследований химического состава ОСВ. Одним актуальных направлений исследования химического состава осадков является изучение гормональных веществ. В образцах почв с внесенными ОСВ определяют такие физиологически активные вещества как ацетаминофен, кофеин, карбамазепин и ибупрофен, среди других [12].

Биотестирование на водных тест-культурах является неизменным методом контроля сточных вод. Однако

биотестирование самого осадка, представляющего собой многократно промытый, в процессе работы очистных сооружений, материал, с нашей точки зрения, носит чисто контрольный характер. Оценка токсичности твердофазных отходов с помощью элюатных методов считается малоэффективной в силу слабой растворимости или сильной сорбции поллютантов ОСВ. Кроме того, учитывая, что тяжелые металлы, в большинстве исследований позиционируются как основной загрязнитель ОСВ, необходимо отметить низкую способность тест-культуры инфузорий для биотестирования металлов в водных почвенных экстрактах [13].

В таблице 4 показаны коэффициенты роста популяции инфузорий *Tetrahymena thermophile* в водных экстрактах из почвы полевого опыта. Различия в значениях коэффициента не превышают наименьшую существенную разницу.

В таблице 5 даны величины урожайностей культур высших растений с достоверными прибавками урожая под действием ОСВ. Сопоставление этих данных с результатами биотеста на растении показывает примерно одинаковое действие ОСВ в полевом и лабораторном опытах.

С целью изучения последствий ОСВ на педобионтов изучалось содержание энхитреид в почве в 2018 и 2019 г. спустя 3 и 4 года после внесения осадка, соответственно и для сравнения с результатами биотеста с энхитреидами проводившегося с почвой в эти же сроки.

Необходимость учитывать, последствие ОСВ на почвенные организмы определяется процессом накопления токсичных контаминантов осадка при одновременном снижении уровня органического вещества (питательности).

Известен эффект снижения почвенной токсичности для почвенных организмов в присутствии доступного и легкоусваиваемого органического питания (ОСВ) [14,16], однако органическое вещество ОСВ, в течение года после внесения в почву, разлагается на 20–35% [16].

С другой стороны, величина токсического воздействия во времени связана с процессами, так называемого, старения контаминантов, при котором происходит

их закрепление в почве, снижающее их биодоступность, главным образом ТМ [17].

Таким образом, эти разнонаправленные процессы, обуславливают необходимость экспериментальной оценки последствий внесения осадка на почвенные организмы в реальных полевых условиях.

Данные таблицы 6 показывают устойчивое локальное содержание энхитреид в почвенных вариантах не смотря на возможную годовую миграцию организмов и не большие размеры делянок вариантов опыта (1,5 x 2 м). Сопоставление данных таблицы с результатами биотестирования на энхитреидах *Enchytraeus albidus* (таблица 3) в отношении показателей, может интерпретироваться как структурная диверсификация семейства энхитреид. Энхитреиды, как, впрочем, и большинство других биомониторов не дают точной количественной оценки концентрации загрязнителей, они дают оценку только общему состоянию почв, и их реакции не обязательно связаны с только с токсичностью почв. Наибольшая численность энхитреид на почве с применением ОСВ показывает доминирование фактора питательности над токсичностью в данной почве. Развитие энхитреид в условиях полевого опыта, в целом, подтверждает результаты биотестирования как пригодные для интерполяции на естественную ситуацию.

ВЫВОДЫ

1. Проведенное исследование влияния высоких доз ОСВ на показатели жизнедеятельности тест-культур применяемых для биотестирования выявило положительное влияние ОСВ на развитие всех опытных организмов.
2. Сопоставление влияния осадков на тест-культуры с действием на организмы тех же таксономических групп в условиях полевого опыта также показало общий положительный эффект, подтверждая возможность экстраполяции результатов лабораторных экспериментов на условия экосистемы. Отсутствие эффектов ингибирующих рост и развитие опытных организмов, предположительно связано с разнонаправленностью действия питательности ОСВ и его токсичных контаминантов.

ЛИТЕРАТУРА

1. «СанПиН 2.1.7.573–96. 2.1.7. Почва. Очистка населенных мест. Бытовые и промышленные отходы. Санитарная охрана почвы. Гигиенические требования к использованию сточных вод и их осадков для орошения и удобрения. Санитарные правила и нормы» (утв. Постановлением Госкомсанэпиднадзора РФ от 31.10.1996 N46)
2. Selivanovskaya S. Yu., Latypova V. Z. The use of bioassays for evaluating the toxicity of sewage sludge and sewage sludge-amended soil, Journal of Soils and Sediments, 2003, Volume 3, Issue 2, pp 85–92)

3. Касатиков В.А, Шабардина Н. П., Влияние систематического применения осадка городских сточных вод на агроэкологические свойства почвы, урожайность культур в длительном опыте.// Материалы Всероссийского совещания научных учреждений-участников Географической сети опытов с удобрениями. 2016
4. Терехова В. А. Биотестирование почв: подходы и проблемы. Почвоведение, 2011, № 2, с. 190–198.
5. Горшкова И. А., Гонгальский К. Б., Терехова В. А. Методика измерения токсичности почв по реакциям энхитреид. ФР.1.39.2014.18039. М., MDMprint, 2014 24 с.
6. OECD guideline for the testing of chemicals 227, 2006, 1–21.
7. Методика определения токсичности отходов, осадков сточных, поверхностных и грунтовых вод методом биотестирования с использованием равноресничных инфузорий *Paramecium caudatum* Ehrenberg. Федеральный реестр (ФР) ФР.1.39.2006.02.506, Москва-МГУ-2006.
8. Черемных Е. Г., Покатаев А. С., Гридунова Н. В. Прибор для биологических исследований // Патент № 2361913. 18.10.2006.
9. O'Connor F.B., 1967. The Enchytraeidae. In: A. Burges and F. Row (Editors). *Soil Biology*, Academic Press, London, pp. 213–257.
10. E. G. Gregorich/*Soil Sampling and Methods of Analysis*, 2007, Chapter 35, page 445–448.
11. Xanier Domene Casadesus. *Methodologies using soil organisms for the ecotoxicological assessment of organic wastes*. Universitat Autònoma de Barcelona, 2007, p 217.
12. A., Pocurull E., Borrull F., Marcé R. M. Occurrence of Pharmaceuticals and Hormones in Sewage Sludge *Environmental Toxicology and Chemistry* 29(7):1484–9.
13. Баранов А. П., Воронина Л. П., Лунев М. И. Биотестирование загрязненной ТМ почвы с использованием инфузорий. *Агрохимический вестник* 2016, 6, с 36–39.
14. Haimi J. Decomposer animals and bioremediation of soils. *Environm. Pollution*, 107 (2000), 233–238.
15. Филимонова Ж. В. Автореферат. дис. канд. биол. наук Энхитреиды (*Oligochaeta*, *Enchytraeidae*) в биотестировании и контроле загрязнения почв. Москва, 2000. С. 5.
16. Putham, S., Houck C., Gallier W. Thomas utilization of sewage sludges // *Civ. Tnd. (USA)*, 1989, N3, p. 60–62.
17. Lanno R, Wells J, Conder J, Bradham K, Basta N. 2004. The bioavailability of chemicals in soil for earthworms. *Ecotoxicol Environ Saf* 57:39–47.

© Лунев Михаил Иванович (milunev@yandex.ru), Баранов Александр Павлович (baranov.bigis@yandex.ru).

Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»



ВНИИ агрохимии им. Д.Н. Прянишникова