

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА ПОЧВЫ РИСОВЫХ ПОЛЕЙ ВЬЕТНАМА

Май Тху Лан

Московский государственный университет пищевых производств
ул. Талалихина, 33, Москва, Россия, 109316

Приведены результаты биотестирования образцов почв и риса Вьетнама на инфузориях *Tetrahymena pyriformis* с помощью автоматизированного прибора «БиоЛаТ-3» и сравнение результатов с результатами биотеста на дафниях и фитотеста, а также с результатами аналитических исследований. Разработан новый способ экстракции из почв жирорастворимых соединений с помощью комплексного экстрагента, состоящего из ацетона и раствора желчи в этаноле.

Ключевые слова: почва Вьетнама, биотестирование, фитотест, пестициды, инфузории *Tetrahymena pyriformis*.

В связи с возможными разнообразными метаболитами как диоксинов, так и используемых пестицидов на рисовых полях не представляется возможным оценить реальную картину загрязнений почв и опасности выращиваемой продукции с помощью лишь химико-аналитических методов [3; 5]. Поэтому для получения объективной оценки экологической ситуации во Вьетнаме необходимо использовать метод биотестирования, позволяющий оценить всю совокупность токсических соединений как гидрофильных, так и гидрофобных.

Район исследования. Пробы были отобраны на полях 11 районов Вьетнама в период 2010—2012 гг. В табл. 1 указаны районы отбора проб на сельскохозяйственных полях, а также используемые пестициды на этих полях.

Таблица 1

Пестициды, используемые на полях отбора проб почвы и риса

№ пробы	Район отбора проб	Активные вещества используемых пестицидов
1	Бинь Динь — Тьи фыок — Винь Тхань	Acetaminprid 3% г/л; Imidacloprid 2% г/л, Validamycin A: 3%
2	Куанг Нам — Куе Шон — Куе Фу	Chlorantraniliprole 250 г/л и Thiamethoxam 200 г/л
3	Тхань Хоа — Ха Чунг — Ха Лонг	Tricyclazole: 750 г/кг, Kasugamycin 2%, Indoxacarb, Cartap, Acetaminprid 70 g/kg + Imidacloprid 130 g/kg

№ пробы	Район отбора проб	Активные вещества используемых пестицидов
4	Тхань Хоа — Ха Чунг — Ха Занг	RYNAXYPYR, Vuprofezin, Abamectin 1,8%
5	Бинь Зыонг — Тан Хйеп — Там Ной	Alpha-cypermethrin 1,6% + Chlorpyrifos Ethyl 65%
6	Нинь Тхуан — Нинь Шон — Лыонг Шон	Carbendazim 10 — Alpha Cypermethrin 5% w/w, Chlorpyrifos ethyl, Cypermethrin Venomyl 25%, Copper oxychlorid 25% Iprobenfos 50%
7	Куанг Бинь — Донг Хой-Дык Нинь — Тан Шон	Mancozeb, Iprobenfos 10 г/кг+ Isoprothiolane 390 г/кг Clorpyrifos ethyl 530 г/л, cypermethrin
8	Бак Лйеу — Фылк Лонг — Фонг Тхак — Таи А	Bensulfuron methyl
9	Бинь Фыок — Хон Куанг — Ан Хыонг	Trifloxystrobin 250 г/л, Tebuconazole 500 г/л, Penobucarb 50%
10	Хо Ши Минь — Кы Чи — Фу Чунг — Фук Лой	Chlorpyrifos ethyl 300 г/л, Edifenphos
11	Куан Чи — Винь Линь — Хо Са	Indoxacarb 150 г/л

Объекты исследования — пробы почвы и риса с участков частных фермеров 11 районов Вьетнама.

Методы исследования. Метод биотестирования на инфузориях с помощью прибора «БиоЛат-3» [1]. Принцип работы этого прибора состоит в программной обработке изображения лунок с инфузориями и пробами для подсчета живых тест-организмов [2].

Метод биотестирования на дафниях. Исследование на дафниях проводили по методике биотестирования по гибели ракообразных *Daphnia magna Straus* [4]. В соответствии с этой методикой устанавливается различие между количеством погибших дафний в пробе и контроле (культивационной воде).

Метод фитотестирования используется для определения суммарной токсичности. Фитотест основан на высокой отзывчивости семян редиса и ячменя на токсические вещества. Расчет ведется путем учета снижения длины корней проростков семян в растворах препаратов вытяжек из анализируемых образцов почвы по сравнению с контролем, выраженное в процентах [6].

Хромато-масс-спектрометрия. Анализ экстрактов проводили на хромато-масс-спектрометрической системы Polaris Q (ThermoFinnigan) в режиме деления потока 1 : 20. Условия анализа: кварцевая капиллярная колонка 30 м × 0,25 мм с неподвижной фазой SGE VPX-5 (слой 0,25 мкм), программирование температуры от 60 °С (выдержка 2 мин.) до 300 °С со скоростью 10 °С/мин. (выдержка 6 мин.), температура инжектора 240 °С, интерфейса — 240 °С, ионизация электронным ударом при энергии электронов 70 эВ, в режиме сканирования полного масс-спектра в интервале 41—550 а.е.м. Газ-носитель He 0,8 мл/мин. Идентификацию производили по характеристическим ионам и временам удерживания, оценку содержания компонентов — по методу внутреннего стандарта.

Оценка токсичности 11 образцов почвы. Пробы для оценки образцов почвы, отобранной в 2010 г. с 11 полей в разных районах Вьетнама (см. табл. 1) готовили в двух вариантах — в виде водного экстракта (10 г почвы на 100 мл воды) и в виде 1%-го водного раствора комплексного экстракта (8 мл ацетона + 8 мл р-ра желчи в этаноле + 4 мл воды). Экстрагировали 2 часа на шейкере.

Величина коэффициента роста культуры в водном растворе комплексного экстрагента служит контрольной при оценке растворов экстрактов образцов почвы. Контролем для водных экстрактов является коэффициент роста культуры в дистиллированной воде $K_{кв}$.

Показатель токсичности исследуемых образцов определяли по формулам

$$T_{\text{водн}} = ((K_{кв} - K_{ов}) / K_{ов})100\%, \quad (1)$$

$$T_{\text{экстр}} = ((K_{кэ} - K_{оэ}) / K_{кэ})100\%, \quad (2)$$

где $T_{\text{водн}}$ — показатель токсичности образцов почвы при подготовке проб для биотеста с помощью водной экстракции; $T_{\text{экстр}}$ — показатель токсичности образцов почвы при подготовке проб для биотеста с помощью комплексного экстрагента; $K_{кв}$ — коэффициент роста в дистиллированной воде (контроль 1); $K_{кэ}$ — коэффициент роста в водном растворе комплексного экстрагента (контроль 2); $K_{ов}$ — коэффициент роста в пробе почвы при экстракции водой; $K_{оэ}$ — коэффициент роста в пробе почвы при экстракции комплексным экстрагентом.

Коэффициенты роста в водных пробах 11 образцов почвы и водных растворах комплексных экстрактов представлены на диаграммах (рис. 1, 2). Показатели токсичности, соответствующие водным и комплексным экстрактам и вычисленные по формулам (1), (2), показаны на диаграммах (рис. 3, 4).

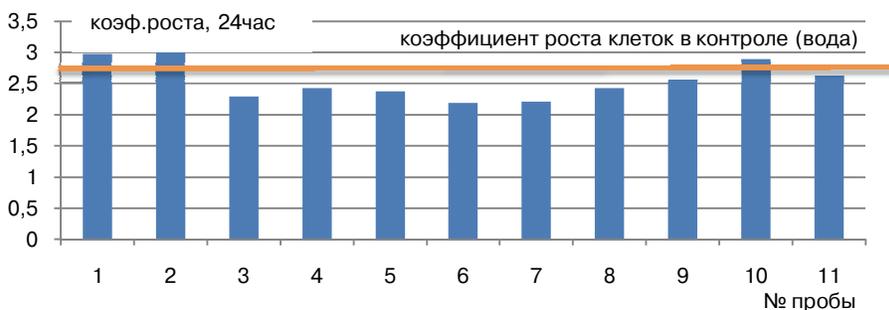


Рис. 1. Коэффициент роста культуры *Tetrahymena pyriformis* в водных экстрактах 11 проб почвы рисовых полей Вьетнама



Рис. 2. Коэффициент роста культуры *Tetrahymena pyriformis* в водных растворах комплексных экстрактов 11 проб почвы рисовых полей Вьетнама

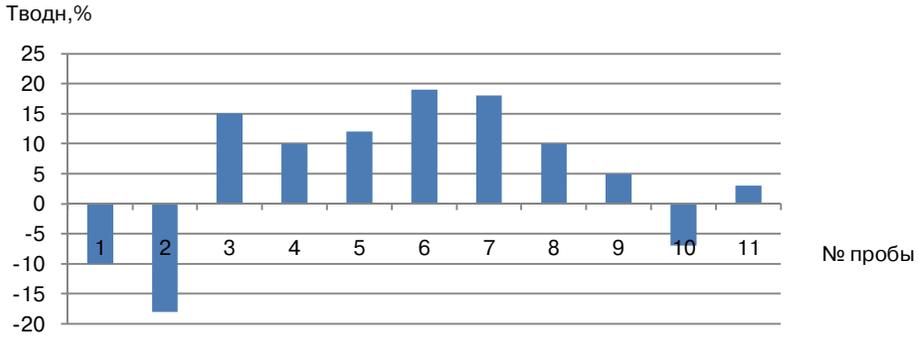


Рис. 3. Показатель токсичности водных экстрактов 11 образцов почвы

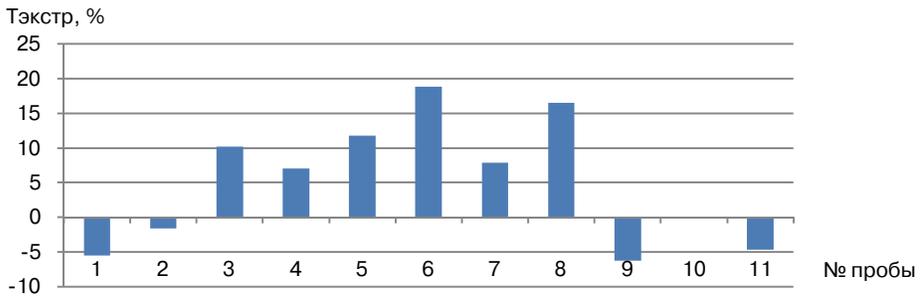


Рис. 4. Показатель токсичности водных растворов комплексных экстрактов 11 образцов почвы

Отрицательная токсичность отражает более высокий рост культуры в образцах почвы по сравнению с контролем, для водных экстрактов контроль — дистиллированная вода, для водных растворов комплексных экстрактов контроль — 2%-ный водный раствор комплексного экстрагента.

При сравнении диаграмм (см. рис. 3, 4) водных и растворов комплексных экстрактов обнаружена разница между уровнями токсичности проб 7, 8, 9.

Биотестирование на дафниях. Для подтверждения полученных результатов токсичности почвы некоторые образцы оценивали с помощью биотестирования на дафниях. Результаты показаны на рис. 5.

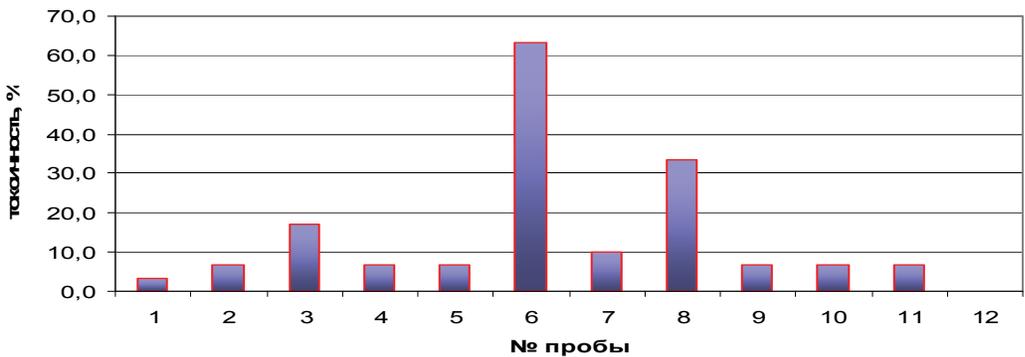


Рис. 5. Токсичность 11 образцов почвы для дафний

По этому биотесту самым токсичным является образец 6, далее по убыванию токсичности — 8 и 3. Остальные образцы нетоксичны. Поскольку экстракцию почвенных образцов осуществляли только водную, сравнение с результатами на инфузориях можно проводить по результатам биотеста на инфузориях также на водных пробах. Эти образцы (№ 6, 8 и 3) оказались самыми токсичными и для инфузорий.

Определение агрохимической характеристики почв и фитотестирование образцов почвы. Поскольку на характеристику суммарной токсичности, определяемую методом биотестирования, могут оказать влияние и химические элементы и соединения, находящиеся в почве, характеризующие ее состав, дана общая их агрохимическая характеристика (табл. 2).

Таблица 2

Агрохимическая характеристика

№ на карте	Агрохимическая характеристика			
	pH (солев.)	C, %	P ₂ O ₅ , мг/100 г	K ₂ O, мг/100 г
1	3,86	1,92	0,97	48,2
2	4,07	1,58	1,74	29,0
3	5,12	1,71	0,17	
4	4,98	3,35	5,24	49,4
5	4,27	1,37	2,90	32,5
6	3,79	0,76	0,88	15,3
7	3,9	1,35	0,35	41,2
8	4,01	1,62	14,60	34,1
9	4,21	1,45	20,10	113,7
10	3,97	0,73	7,90	76,5
11	4,14	1,68	8,19	64,3

Анализ результатов почвенной кислотности колеблется в пределах от 4 до 5, т.е. почвы слабокислые, причем самое низкое значение pH имеет образец № 6 — 3,79, а самое высокое — образец № 3 — 5,12. Процентное содержание органического углерода самое низкое в образцах № 6 и 10 (менее 1,0), а самое высокое в образце № 4 — 3,35%, в других значение колеблется от 1,35 до 1,92%. Все образцы с № 1 по № 7 очень слабо обеспечены подвижным фосфором (менее 5,0 мг/100 г почвы), слабо обеспечены этим элементом образцы 10 и 11 (с 5 — до 10), и лучше — 8 (146 мг/кг) и 9 (201 мг/кг). Все почвенные образцы характеризуются высоким содержанием обменного калия, а в образце № 9 его содержание очень высокое (1137 мг/кг).

Результат суммарной фитотоксичность по длине корней (редиса и ячмень) и высоте coleoptilya представлен в табл. 3.

Таблица 3

Интегральная оценка фитотоксичности образцов почвы

№	Корень (редис)	Корень (ячмень)	Колеоптиль (ячмень)	Интегральный коэффициент
1	87	100	78	88
2	85	49	86	73
3	68	61	37	56
4	93			93
5	88	100	85	91

№	Корень (редис)	Корень (ячмень)	Колеоптиль (ячмень)	Интегральный коэффициент
6	100	83	100	94
7	82			82
8	85	59	100	81
9	87			87
10	76	67	92	78
11	86	71	73	77

Анализ результатов по фитотестированию с использованием семян редиса показывает, что изменения в агрохимических показателях не отразились на результатах токсичности, проявляющейся в водных вытяжках анализируемых почвенных образцов.

Согласно представленным в таблице результатам образцы по фитотоксичности можно ранжировать следующим образом: 3 > 2 > 10—11 > 8 > 1 > 5—6. Три образца (4, 7, 9) не вошли в эту оценку, так как их фитотоксичность установлена лишь по одному показателю.

Таким образом, наиболее загрязненными почвенными образцами, характеризующимися выраженной фитотоксичностью, явились образцы 3, 2, 10. Эта оценка степени токсичности существенно отличается от результатов биотестирования на дафниях и инфузориях. Это связано с особенностями растительных тест-организмов, для которых некоторые органические поллютанты, присутствующие в пробах почв, могут обладать гормоноподобным стимулирующим действием.

Оценка образцов почвы аналитическим методом и анализ результатов биотестирования на разных тест-организмах. Результат хромато-масс-спектрометрии показан в табл. 4.

Частичные суммы токсических соединений четырех групп использованы для обобщенного анализа результатов биотестирования. В табл. 4 показаны обобщенные результаты биотестирования и аналитических результатов по трем образцам почв.

Таблица 4

Результаты биотестирования и аналитического определения токсических соединений в трех образцах почв рисовых полей Вьетнама

№ образца	Биотестирование				Хромато-масс-спектрометрия			
	инфузории, токсичность, %		дафнии, токсичность, %	фитотест, длина корня, %	сумма ПАУ, относ. ед.	сумма пестицидов, относ. ед.	сумма алканов < C20, относ. ед.	сумма алканов > C20, относ. ед.
	водные экстракты	водные растворы комплекс. экстрактов	водные экстракты	водные экстракты				
1	-10	-5	3	87	4,660	0,071	0,70	3,31
3	15	10	17	68	9,550	0,610	4,41	4,83
4	10	7	7	93	3,899	0,370	0,86	1,43

По результатам биотестирования на инфузориях и дафниях шкала безопасности образцов почвы от нетоксичного к токсичному: 1 — 4 — 3. Эта шкала коррелирует с содержанием пестицидов.

Аналогичная шкала по фитотесту: 4 — 1 — 3 коррелирует с содержанием ПАУ и алканов.

Таким образом, используя биотесты на инфузориях и фитотест, можно выделить причины, обуславливающие ингибирующее действие разных групп токсикантов на тест-организмы.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Лисовицкая О.В., Терехова В.А. Фитотестирование: основные подходы, проблемы лабораторного метода и современные решения // Доклады по экологическому почвоведению. — 2010. — Вып. 13. — № 1. — С. 1—18.
- [2] Методические рекомендации «Автоматизированный метод оценки токсичности продовольственного сырья и кормов, объектов окружающей среды на инфузориях *Paramecium caudatum* *Tetrahymena pyriformis*» утв. РАСХН 2009 г.
- [3] Румак В.С., Чинь Куок Кхань, Кузнецов А.Н. Воздействие диоксинов на окружающую среду и здоровье человека // Вестник российской академии наук. — 2009. — Т. 79. — № 2. — С. 124—130.
- [4] ПНД Ф Т 14.1:2:4.12-06 (ПНД Ф Т 16.1:2:3:3.9-06) Методика определения токсичности водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов, питьевой, сточной и природной воды по смертности тест-объекта *Daphnia magna* Straus. (Красноярский государственный университет).
- [5] Черемных Е.Г., Покатаев А.С., Гридунова В.Н. Прибор для биологических исследований: Патент № 2361913. Оpubл. 20.07.2009. Бюл. № 20.
- [6] Stellman J.M., Stellman S.D., Christians R. et al. The extent and patterns of usage of Agent Orange and other herbicides in Vietnam // Nature. — 2003. — V. 422. — P. 681—687.

LITERATURA

- [1] Lisovickaya O.V., Terexova V.A. Fitotestirovanie: osnovnye podxody, problemy laboratornogo metoda i sovremennye resheniya // Doklady po e'kologicheskomu pochvovedeniyu. — 2010. — Вып. 13. — № 1. — S. 1—18.
- [2] Metodicheskie rekomendacii «Avtomatizirovannyj metod ocenki toksichnosti prodovol'stvennogo syr'ya i kormov, ob"ektov okruzhayushhej sredy na infuzoriyax *Paramecium caudatum* *Tetrahymena pyriformis*» utv. RASXN 2009 g.
- [3] Rumak V.S., Chîn' Kuok Kxan', Kuznecov A.N. Vozdejstvie dioksinov na okruzhayushhuyu sredy i zdorov'e cheloveka // Vestnik rossijskoj akademii nauk. — 2009. — T. 79. — № 2. — S. 124—130.
- [4] PND F T 14.1:2:4.12-06 (PND F T 16.1:2:3:3.9-06) Metodika opredeleniya toksichnosti vodnyx vytyazhek iz pochv, osadkov stochnyx vod i otxodov, pit'evoj, stochnoj i prirodnoj vody po smertnosti test-ob"ekta *Daphnia magna* Straus. (Krasnoyarskij gosudarstvennyj universitet).
- [5] Cheremnyx E.G., Pokataev A.S., Gridunova V.N. Pribor dlya biologicheskix issledovanij: Patent № 2361913. Opubl. 20.07.2009. Byul. № 20.
- [6] Stellman J.M., Stellman S.D., Christians R. et al. The extent and patterns of usage of Agent Orange and other herbicides in Vietnam // Nature. — 2003. — V. 422. — P. 681—687.

COMPLEX ASSESSMENT OF THE SOIL OF RICE FIELDS IN VIETNAM

Mai Thu Lan

Moscow State University of Food Production
Talalikhina str., 33, Moscow, Russia, 109316

The results of biological testing of soil samples, and Vietnamese rice infusoria *Tetrahymena pyriformis* using an automated device BioLaT and compare the results with the results of bioassay on daphnia and fitotesta, as well as the results of analyzes. A new method for extraction of fat-soluble compounds from the soil through the combined extractant consisting of acetone and bile solution in ethanol.

Key words: soil of Vietnam, bioassay, fitotest, pesticides, ciliate *Tetrahymena pyriformis*.