

**БИОДИАГНОСТИКА СОСТОЯНИЯ ОКУЛЬТУРЕННОЙ ГОРОДСКОЙ ПОЧВЫ, ЗАГРЯЗНЕННОЙ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ, МЕТОДАМИ БИОИНДИКАЦИИ И БИОТЕСТИРОВАНИЯ**© 2018 Ю.М. Поляк^{1,2}, Л.Г. Бакина¹, Н.В. Маячкина¹, И.В. Дроздова³, А.В. Каплан², Д.Л. Голод⁴Адрес: ¹ФГБНУ Санкт-Петербургский научно-исследовательский центр экологической безопасности РАН, 197110, Россия, Санкт-Петербург, ул. Корпусная, 18²Санкт-Петербургский государственный университет, 199034, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7-9³ФГБНУ Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, 197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 2⁴Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, 194100, Россия, Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2. E-mail: yuliapolyak@mail.ru

В условиях полевого опыта проведена оценка биологических последствий загрязнения тяжелыми металлами окультуренной городской почвы. Методами биоиндикации и биотестирования показано, что почвы, загрязненные кадмием и никелем, характеризуются высокой токсичностью, ухудшением биохимических свойств и медленным характером восстановления. Чувствительным индикатором загрязнения почвы металлами является дегидрогеназная активность, позволяющая выявить биологические эффекты, возникающие даже при незначительном уровне загрязнения. Данные, полученные методом биоиндикации с использованием дегидрогеназной активности почвы, согласуются с результатами биотестирования. Установлено, что загрязненные никелем и кадмием почвы оказывают острое токсическое действие на тест-объекты - дафнии *Daphnia magna* Straus и зеленые водоросли *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb. Токсический эффект возрастает с увеличением концентрации металлов и зависит от загрязнителя: токсичность почв, загрязненных кадмием, выше по сравнению с никелем, на протяжении всего периода исследования. В загрязненной никелем почве через два года после загрязнения наблюдается ослабление токсического эффекта, в то время как токсическое действие кадмия не снижается со временем. Несмотря на то, что ингибирующее действие никеля на дегидрогеназную активность почвы через два года после загрязнения снижается, методы биотестирования по-прежнему указывают на токсичность почвы для исследованных тест-объектов, особенно, зеленых водорослей, что свидетельствует о сохранении токсических свойств и возможных негативных последствиях для биоты.

Ключевые слова: *novic Anthrosol*; никель; кадмий; ферментативная активность; *Scenedesmus quadricauda*; *Daphnia magna*

Цитирование: Поляк Ю.М., Бакина Л.Г., Маячкина Н.В., Дроздова И.В., Каплан А.В., Голод Д.Л. Биодиагностика состояния окультуренной городской почвы, загрязненной тяжелыми металлами, методами биоиндикации и биотестирования // Почва и окружающая среда. 2018. № 1(4). С.231– 242.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из актуальных экологических проблем является загрязнение почв тяжелыми металлами, которое негативно отражается на всех компонентах биосферы. В почве тяжелые металлы включаются в природный круговорот веществ и удаляются очень медленно при выщелачивании, эрозии, дефляции, потреблении растениями и т.д. Для загрязненных территорий особое значение имеет биодиагностика состояния почв, обычно осуществляемая методами биоиндикации и биотестирования. Именно биотические показатели могут дать информацию о биологических последствиях антропогенного изменения среды, в то время как химические методы анализа позволяют охарактеризовать загрязнение количественно и лишь косвенно судят о его биологическом действии (Терехова, 2009, 2011).

Биотестирование проводится в лабораторных условиях с использованием стандартных тест-систем, что дает возможность выявить экологическую токсичность образцов почвы, испытавших воздействие антропогенных факторов в контролируемых воспроизводимых условиях (Воробейчик и др., 1994; Fernández et al. 2010). Для биотестирования природных объектов активно используются микроводоросли и ракообразные, среди которых высокой чувствительностью к загрязнению обладают одноклеточные пресноводные зеленые водоросли рода *Scenedesmus* и ветвистоусые рачки *Daphnia magna* (Поляк, Маячкина, 2015; Singh, Shrivastava, 2016; Wang et al., 2016).

При биоиндикации анализируют организмы, которые находятся в природных условиях, что позволяет охарактеризовать не только возможные биологические последствия антропогенного воздействия, но и уже проявившийся результат загрязнения. К чувствительным и информативным биоиндикаторам, позволяющим оценить уровень воздействия поллютантов на состояние почвы, относятся почвенные микроорганизмы (Gómez-Sagasti et al. 2012) и, непосредственно связанная с ними, активность почвенных ферментов (Fang et al., 2017). Этот показатель широко используется для оценки биологических последствий антропогенного воздействия (Галиулин, Галиулина, 2010; Polyak et al., 2018).

Целью настоящих исследований являлась оценка методами биотестирования и биоиндикации состояния окультуренной городской почвы, загрязненной кадмием и никелем в условиях полевого опыта. Для изучения экологического состояния почвы были использованы биотесты на гидробионтах - зеленых водорослях *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Vreb. и ветвистоусых рачках дафниях *Daphnia magna* Straus, а также биоиндикаторы - дегидрогеназная и каталазная активность почвы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Полевой опыт по изучению влияния металлов на экологическое состояние почвы был заложен на территории г. Санкт-Петербурга. Объектом исследования являлся агростратозем гумусовый (по, Классификации ..., 2004) или novic Anthrosol (по, IUSS Working Group, 2014). Выбор металлов – никеля и кадмия, определялся тем, что они входят в число приоритетных загрязнителей почв Санкт-Петербурга, но относятся к разным классам опасности (кадмий – к 1-му, никель – ко 2-му). Металлы вносили в почву в виде водных растворов легкорастворимых солей в начале вегетационного сезона. Дозы внесения кадмия и никеля рассчитывали таким образом, чтобы достичь в верхнем 10-сантиметровом слое почвы содержания металлов 30, 70 и 140 мг/кг. Площадь опытных делянок составляла 1 м². Почвенные образцы отбирали с глубины 0-10 см и 10-20 см через год и через два года после загрязнения.

Агрохимические характеристики почвы были получены с помощью общепринятых методик анализа почв (Аринушкина, 1970). Дегидрогеназную активность почвы определяли методом Ленарда, основанном на восстановлении индикатора 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида (Хазиев, 2005). Для определения каталазной активности использовали метод Джонсона и Темпле, основанный на измерении скорости распада перекиси водорода, которую определяли перманганатометрическим титрованием (Хазиев, 2005).

Исследование токсичности водных вытяжек из почвы, загрязненной кадмием и никелем, осуществляли в острых опытах методом биотестирования с использованием в качестве тест-организмов рачков *Daphnia magna* Straus по методике ФР.1.39.2007.03222. Критерием острой токсичности считали гибель 50% и более дафний за 96 часов в тестируемых пробах по сравнению с контролем.

Биотестирование водных вытяжек из загрязненной почвы на одноклеточных водорослях *Scenedesmus quadricauda* (TURP.) BREB. проводили согласно методике ПНД Ф Т 14.1:2:4.17-2011. Критерием токсичности пробы считали снижение на 20 % и более (подавление роста) или увеличение на 30% и более (стимуляция роста) величины оптической плотности культуры водорослей, выращиваемой на тестируемой водной вытяжке из почвы в течение 45 часов по сравнению с контролем.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Statistica (версия 10, Statsoft).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Общие химические свойства почвы представлены в таблице 1. Установлено, что почва характеризуется нейтральной реакцией среды ($pH_{\text{водн.}}$ колеблется от 7,11 до 7,41, $pH_{\text{сол.}}$ от 6,74 до 6,97). Сумма обменных оснований высокая и составляет около 30 ммоль экв/100 почвы (26,5-33,0), гидролитическая кислотность низкая – около 1 ммоль экв/100 г почвы, вследствие чего почвенный поглощающий комплекс практически полностью насыщен основаниями (степень насыщенности основаниями почвы составляет 95-98%).

Таблица 1

Общие химические свойства окультуренной городской почвы

Вариант	Ме, мг/кг	Глубина, см	рН		S	Н _г	V, %	C _{орг} , %
			водн.	сол.				
контроль	-	0-10	7,14	6,74	29,0	0,9	97,0	2,16
		10-20	7,11	6,75	26,8	1,1	95,0	2,46
Ni	30	0-10	7,24	6,88	29,5	0,8	97,0	2,30
		10-20	7,30	6,88	30,0	0,9	97,1	2,38
	70	0-10	7,31	6,86	27,2	0,7	98,6	2,12
		10-20	7,31	6,85	26,5	1,0	96,4	2,45
	140	0-10	7,25	6,83	28,2	0,8	97,2	2,07
		10-20	7,30	6,85	26,5	1,0	96,4	2,26
Cd	30	0-10	7,31	6,86	30,0	0,8	97,4	2,44
		10-20	7,30	6,87	30,5	0,9	97,1	2,70
	70	0-10	7,38	6,91	33,0	0,8	97,6	2,30
		10-20	7,40	6,93	30,8	0,8	97,5	2,28
	140	0-10	7,41	6,97	29,5	0,7	97,7	2,38
		10-20	7,39	6,96	33,5	0,9	97,4	2,72

*S – сумма обменных оснований;

**Н_г – гидролитическая кислотность;

***V – степень насыщенности основаниями.

Содержание органического углерода в почвах высокое для дерново-подзолистых почв и колеблется от 2,07 до 2,46%, что в пересчете на гумус составляет 3,57-4,24%. Необходимо отметить, что практически во всех вариантах опыта выявлено несколько большее содержание C_{орг} в нижнем слое 10-20 см по сравнению с верхним слоем 0-10 см, что, по-видимому, связано с исходной неоднородностью почвы и ее насыпным характером (стратозем). По гранулометрическому составу почва относится к легкосуглинистой (содержание фракции <0,01 мм – 21,5%). Таким образом, по исходным характеристикам почвы опытного участка можно сделать предварительное заключение, что, будучи высокогумусированной и нейтральной, с высоким содержанием обменных оснований, она должна отличаться значительной буферностью и устойчивостью к нарушающим техногенным воздействиям, в том числе к загрязнению.

Судя по данным определения величины рН, загрязнение почвы металлами - никелем и особенно кадмием - приводит к небольшому подщелачиванию, вследствие чего рН_{водн.} сдвигается на 0,3 ед. По всем другим показателям влияние тяжелых металлов не прослеживается.

Биологические последствия загрязнения почвы металлами изучали методом биоиндикации с использованием показателей ферментативной активности почвы. Результаты исследования влияния металлов на активность почвенных окислительно-восстановительных ферментов – дегидрогеназы и каталазы, представлены в таблицах 2 и 3.

Таблица 2

Влияние металлов на дегидрогеназную активность почвы

Ме	Концентрация, мг/кг	Активность дегидрогеназы (% к контролю)			
		1 год		2 года	
		0-10 см	10-20 см	0-10 см	10-20 см
Ni	30	154±12	100±7	122±11	107±9
	70	67±8	110±10	111±7	100±7
	140	32±2	165±12	117±12	85±10
Cd	30	90±6	106±7	58±4	75±6
	70	70±7	74±8	37±5	61±5
	140	72±5	44±3	28±2	68±8

Степень ингибирования дегидрогеназной активности возрастала с увеличением концентрации, как кадмия, так и никеля (Табл. 2). Ингибирование активности дегидрогеназы через год после начала эксперимента в сравнении с контролем (незагрязненной почвой) достигало 56% в почве, загрязненной кадмием, и 68% в почве, загрязненной никелем. Через 2 года активность дегидрогеназы в загрязненной никелем почве повысилась и практически сравнялась с активностью контрольной незагрязненной почвы. В загрязненной кадмием почве дегидрогеназная активность была по-прежнему низкой, степень ингибирования активности фермента в зависимости от концентрации поллютанта составила от 25 до 72%.

Активность фермента была подавлена в каждом из исследованных слоев почвы, но в верхнем слое эффект был более выражен, чем в нижнем. В сравнении с незагрязненной почвой, дегидрогеназная активность составила 28-58% и 61-75%, соответственно.

Анализ почвенных образцов показал, что в исследованном диапазоне концентраций никель и кадмий не оказывают ингибирующего действия на каталазную активность почвы (Табл. 3). Через год после загрязнения активность каталазы оставалась на уровне незагрязненной почвы во всех вариантах эксперимента. Через два года в почве, загрязненной никелем, наблюдалось увеличение каталазной активности. Активность фермента как в верхнем, так и в нижнем слое почвы, возросла в 1,4-1,5 раза.

Таблица 3

Влияние металлов на каталазную активность почвы

Me	Концентрация, мг/кг	Активность каталазы (% к контролю)			
		1 год		2 года	
		0-10 см	10-20 см	0-10 см	10-20 см
Ni	30	106±3	122±5	127±6	140±8
	70	115±9	113±4	143±11	146±9
	140	100±3	109±6	144±7	148±6
Cd	30	100±4	107±5	98±5	114±4
	70	105±6	111±3	116±9	116±5
	140	114±5	118±6	105±4	114±9

Дальнейшее изучение загрязненных почв проводили методами биотестирования с использованием в качестве тест-организмов дафний и зеленых водорослей. Результаты исследования представлены на рис. 1-4

Вытяжка из почвы, загрязненной никелем в концентрации 30 мг/кг, не оказывала токсического действия на дафнии: по показателю выживаемости рачков разница с контролем не превышала 10% (Рис. 1). При увеличении концентрации никеля до 70 мг/кг почвенная вытяжка была слабо токсична через год после загрязнения. Через два года токсический эффект уже не наблюдался. При увеличении концентрации никеля до 140 мг/кг было выявлено токсическое действие почвенной вытяжки на дафнии не только через год, но и через два года после загрязнения (достоверная разница с контролем по смертности дафний составила 30-40%). Образцы почв, отобранные с глубины 10-20 см, в целом были менее токсичны, чем верхний слой почвы.

Загрязнение почвы кадмием оказывало более сильное негативное влияние на дафнии, чем загрязнение никелем в тех же дозах. Результаты определения токсичности водных вытяжек из почв, загрязненных кадмием, свидетельствуют о том, что через год после загрязнения все исследованные варианты проявляли острую токсичность (Рис. 2). Достоверно значимый показатель выживаемости дафний составлял менее 50% от контроля. Через два года после загрязнения токсичность почвы, загрязненной кадмием в концентрации 30 и 70 мг/кг, для дафний снизилась до слабой и средней, соответственно (достоверная разница с контролем по смертности дафний не превышала 30%). В варианте с наибольшим содержанием кадмия (140 мг/кг почвы) острая токсичность для дафний сохранялась и через два года.

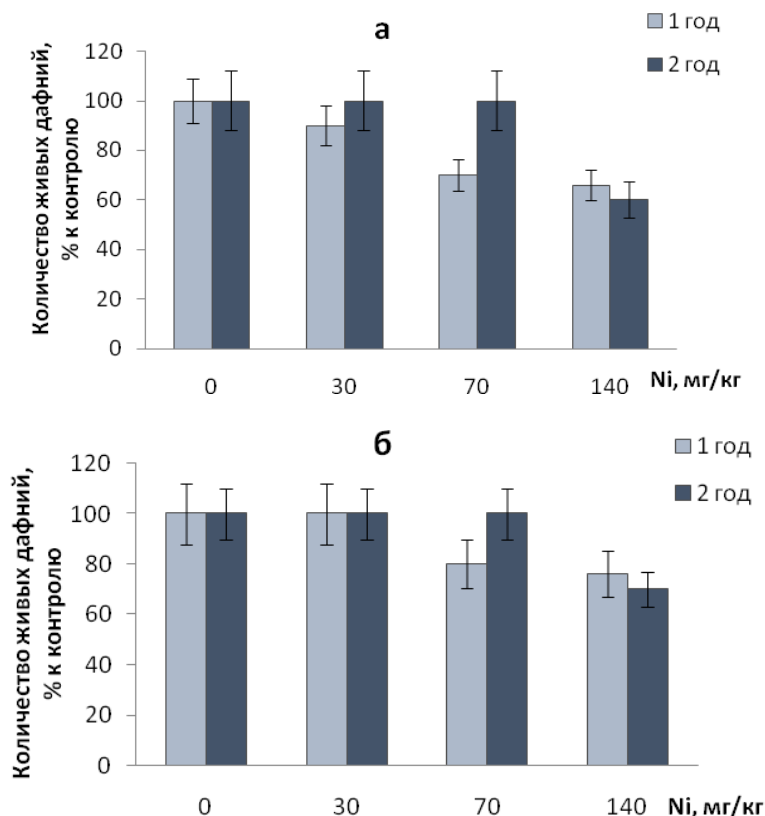


Рисунок 1. Биотестирование вытяжек из загрязненных никелем почв на дафниях *Daphnia magna*: а - глубина отбора 0-10 см, б - глубина отбора 10-20 см

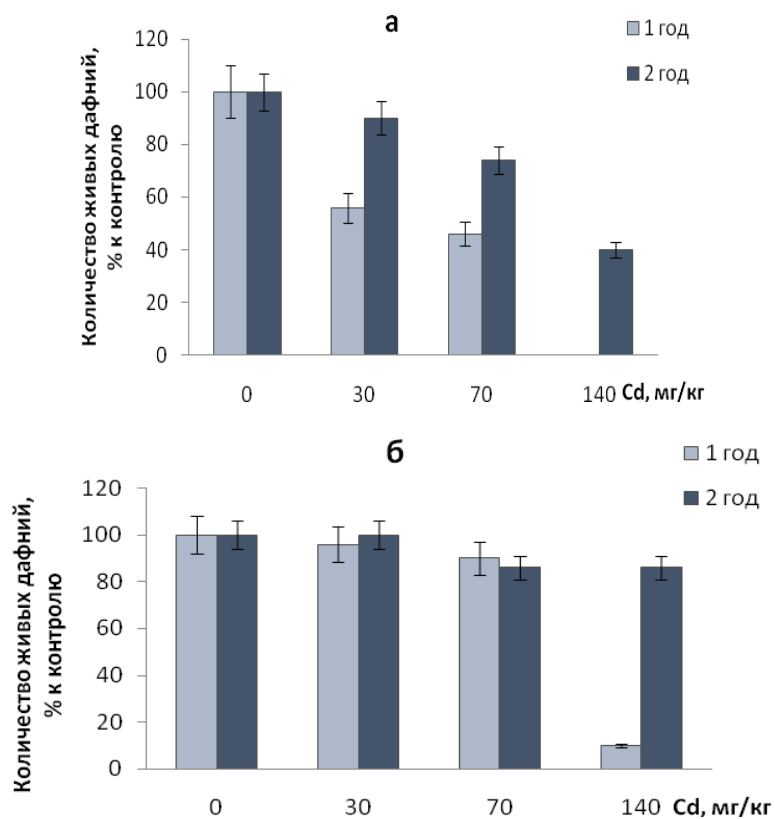


Рисунок 2. Биотестирование вытяжек из загрязненных кадмием почв на дафниях *Daphnia magna*: а - глубина отбора 0-10 см, б - глубина отбора 10-20 см.

Аналогичные результаты были получены при оценке токсичности загрязненных почв методом биотестирования с использованием зеленых водорослей *Scenedesmus quadricauda*. Проведенные биотесты показали, что почвы, загрязненные кадмием и никелем, оказывают на водоросли острое токсическое действие (Рис. 3, 4).

Все варианты верхних слоев почвы проявляли токсичность по отношению к водорослям через год после загрязнения. Токсический эффект почвы, загрязненной никелем через два года снижался, однако токсичность почвы сохранялась на протяжении не менее двух лет после загрязнения (Рис. 3). Снижение численности водорослей составляло от 30 до 45% в сравнении с контролем.

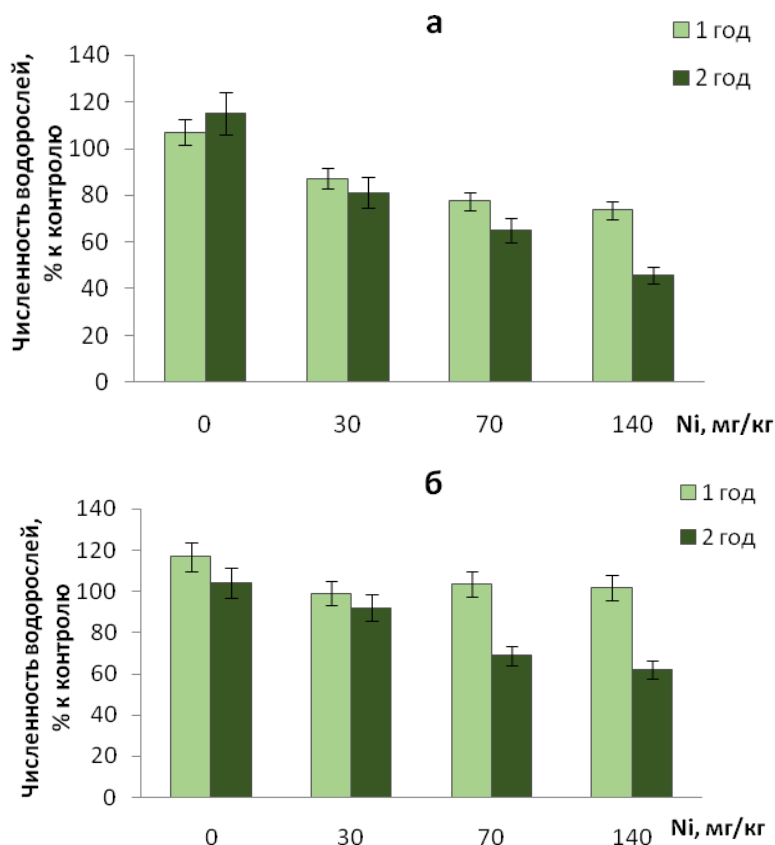


Рисунок 3. Биотестирование почвы загрязненной никелем по ингибированию роста микроводорослей *Scenedesmus quadricauda*: а - глубина отбора 0-10 см, б - глубина отбора 10-20 см

Слой почвы 10-20 см был также токсичен для водорослей: снижение их численности в сравнении с контролем составило 40-55%. Исключением являлся нижний слой почвы, загрязненный никелем в концентрации 30 мг/кг, который не оказывал токсического действия на водоросли на протяжении всего периода исследований. Токсичность нижнего слоя почвы, загрязненного никелем в концентрации 70-140 мг/кг проявилась на второй год после загрязнения.

Еще более выраженный токсический эффект наблюдался при тестировании почв, загрязненных кадмием (Рис. 4). Все концентрации кадмия оказывали острое токсическое действие на водоросли, и эффект был тем сильнее, чем выше концентрация металла в почве.

При максимальной концентрации кадмия снижение численности *S. quadricauda* через год составило 89%, а образцы почвы, отобранные через 2 года после загрязнения, ингибировали рост микроводорослей на 78%. При этом токсичность нижнего слоя почвы также была очень высокой, подавление роста водорослей при максимальной концентрации поллютанта достигало 75-80%. Токсичность проявлялась как в первый, так и во второй годы исследований, и не снижалась со временем.

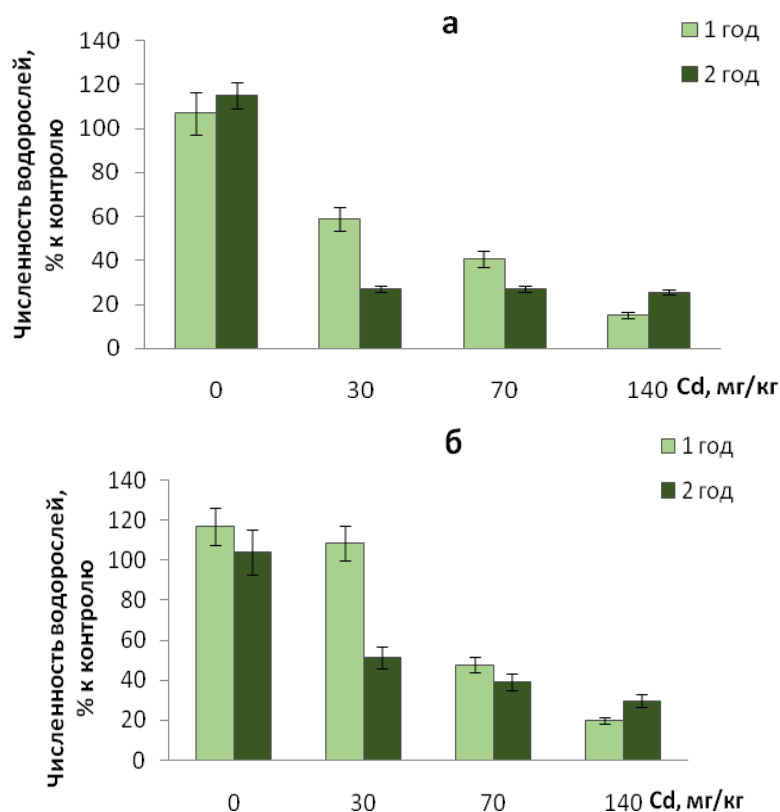


Рисунок 4. Биотестирование почвы загрязненной кадмием по ингибированию роста микроводорослей *S. quadricauda*: а - глубина отбора 0-10 см, б - глубина отбора 10-20 см

ОБСУЖДЕНИЕ

Активность почвенных ферментов является чувствительным и информативным биоиндикатором, позволяющим оценить уровень воздействия поллютантов на состояние почвы (Rao et al., 2014; Schlöter et al., 2018). Проведенные исследования показали, что для дегидрогеназ городской окультуренной почвы, загрязненной никелем и кадмием, характерна общая тенденция снижения активности под действием металлов.

Уровень ферментативной активности загрязненной почвы зависел как от внесенного металла, так и от его концентрации. Ингибирующее действие никеля проявлялось при концентрации от 70 мг/кг почвы, ингибирующее действие кадмия – при всех исследованных концентрациях. В загрязненной никелем почве через два года после загрязнения наблюдалось ослабление токсического эффекта, в то время как токсическое действие кадмия не только не снижалось, но и усиливалось со временем. Так, в почве, загрязненной кадмием в концентрации 70-140 мг/кг, дегидрогеназная активность через год составила 70% в сравнении с незагрязненной почвой, а через 2 года уменьшилась до 28-37%. Высокая чувствительность показателя дегидрогеназной активности к загрязнению почв и донных отложений отмечается многими исследователями (Wyszkowska, Wyszkowski, 2010; Thavamani et al., 2012; Поляк, Бакина 2015; Polyak et al. 2017). Многие металлы, в том числе кадмий, медь, ртуть, свинец полностью подавляют активность дегидрогеназ, однако при этом наблюдается увеличение активности ферриредуктаз (Новосёлова, Киреева, 2009).

На активность почвенных каталаз, в отличие от дегидрогеназ, металлы не оказывали ингибирующего действия. Более того, через 2 года в загрязненной никелем почве было выявлено 40-48%-е увеличение каталазной активности. Увеличение активности антиоксидантных ферментов может быть обусловлено реакцией микроорганизмов на стрессовое воздействие и нейтрализацией свободных радикалов, которые образуются под влиянием тяжелых металлов и оказывают повреждающее действие на микробные клетки (Epelde et al., 2015). Ранее Collin-Hansen и др. (2005), установили, что при повышенной концентрации металлов вблизи металлургического комбината в лесной почве возрастает активность каталазы и супероксиддисмутазы *Boletus edulis*.

В загрязненной кадмием почве активность каталазы не отличалась от контрольного варианта. Устойчивость показателя каталазной активности к загрязнению указывает на низкую степень достоверности данного биоиндикатора, в то время как дегидрогеназная активность является чувствительным индикатором загрязнения почвы металлами и позволяет выявить биологические эффекты, возникающие даже при незначительном загрязнении почвы.

Результаты биотестирования водных вытяжек из почв с использованием микроводорослей и дафний показали, что загрязненные почвы оказывают на выбранные тест-культуры негативное влияние разной степени интенсивности. Почвы, загрязненные никелем и кадмием, оказывали острое токсическое действие на дафнии и зеленые водоросли, и эффект был тем сильнее, чем выше концентрация металла в почве. При этом токсичность почв, загрязненных кадмием, была выше по сравнению с никелем на протяжении всего периода исследования. Токсический эффект наблюдался при концентрации никеля 70 мг/кг и более, кадмия - 30 мг/кг и более.

Наиболее токсичной оказалась почва с максимальной концентрацией кадмия. Более высокая, по сравнению с никелем, токсичность кадмия, очевидно, объясняется тем, что никель относится к микроэлементам (в небольших количествах он необходим живым организмам), а кадмий является абсолютным токсикантом и не нужен для процессов метаболизма живых организмов ни в каких количествах (Битюцкий, 2014).

Загрязненные кадмием почвы нижнего слоя (10-20 см) обладали меньшей токсичностью по сравнению с верхним 10-сантиметровым слоем. Аналогичный характер действия наблюдался и для никеля, что можно объяснить замедленной миграцией металлов вниз по почвенному профилю, связанной с влиянием на подвижность кадмия и никеля величины рН. Известно, что большинство тяжелых металлов обладают большей подвижностью в кислых средах и становятся малоподвижными при устранении кислотности, например, при известковании (Ложкин, Леднев, 2016). В условиях нейтральной реакции среды, которой характеризуется почва данного полевого опыта, металлы, в основном, сосредоточены в верхнем горизонте, и за два года, прошедших после загрязнения, их активной миграции в нижележащие горизонты не произошло. Полученные результаты указывают на высокую токсичность загрязненных металлами почв и сохранение токсического эффекта на протяжении длительного времени.

Данные, полученные методами биотестирования, согласуются с результатами биоиндикации с использованием чувствительного индикатора – дегидрогеназной активности почвы, на которую никель и кадмий оказывали ингибирующее действие на протяжении всего эксперимента. В почве, загрязненной никелем, дегидрогеназная активность через два года после загрязнения возросла и приблизилась к контрольному уровню, тем не менее, образцы почвы по-прежнему оказывали токсическое действие на тест-объекты – дафнии и микроводоросли, что свидетельствует о сохранении токсических свойств и указывает на возможные негативные последствия для биоты.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оценка биологических последствий загрязнения окультуренной городской почвы никелем и кадмием методами биоиндикации и биотестирования выявила изменения биохимических свойств и уровня токсичности загрязненной почвы. В условиях полевого опыта показано, что в зависимости от металла и его концентрации, негативные изменения могут сохраняться в течение длительного времени (не менее двух лет после загрязнения).

По данным биоиндикации, чувствительным индикатором загрязнения почвы металлами является дегидрогеназная активность, позволяющая выявить биологические эффекты, возникающие даже при незначительном уровне загрязнения. Результаты биотестирования показывают, что загрязненные никелем и кадмием почвы оказывают острое токсическое действие на дафнии *Daphnia magna* Straus и зеленые водоросли *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Vreb. Токсический эффект возрастает с увеличением концентрации металлов и зависит от загрязнителя: токсичность почв, загрязненных кадмием, выше по сравнению с никелем, на протяжении всего периода исследования. В загрязненной никелем почве через два года после загрязнения наблюдается ослабление токсического эффекта, в то время как токсическое действие кадмия не снижается со временем.

Использованные методы биоиндикации и биотестирования взаимно дополняют друг друга. Проведенная биодиагностика позволяет сделать вывод о токсичности загрязненной почвы, ухудшении ее биохимических свойств и медленном характере ее восстановления.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аринушкина Е.В. Руководство по химическому описанию почв. М.: Изд-во МГУ, 1970. 484 с.
2. Битюцкий Н.П. Минеральное питание растений. Изд. СПб ун-та. 2014. 540 с.
3. Воробейчик Е.Л., Садыков О.Ф., Фарафонов М.Г. Экологическое нормирование техногенных загрязнений наземных экосистем (локальный уровень). Екатеринбург: Наука, 1994. 280 с.
4. Галиулин Р.В., Галиулина Р.А. Анализ активности ферментов почв и речных донных отложений как способ диагностики хронического и аварийного загрязнения экосистем тяжелыми металлами // *Агробиология*. 2010. № 5. С.72-77.
5. *Классификация и диагностика почв России* / Авторы и составители: Л.Л. Шишов, В.Д. Тонконогов, И.И. Лебедева, М.И. Герасимова. Смоленск: Ойкумена, 2004. 342 с.16
6. Ложкин А.В., Леднев А.В. Последствие мелиоративных добавок на свойства почв, загрязненных кадмием, на урожайность и качество ячменя // *Пермский аграрный вестник*. 2016. № 4 (16). С. 35-41.
7. Методика определения острой токсичности питьевых, пресных природных и сточных вод, водных вытяжек их почв, осадков сточных вод, отходов по изменению оптической плотности культуры водоросли сценедесмус (*Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Vreb.). ПНД Ф Т 14.1:2:4.17-2011/Т 16.1:2.3:3.18-2011. 2011.
8. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний. ФР.1.39.2007.03222. М.: Акварос, 2007. 51 с.
9. Новосёлова Е.И., Куреева Н.А. Ферментативная активность почв в условиях нефтяного загрязнения и её биодиагностическое значение // *Теоретическая и прикладная экология*. 2009. №2. С. 4-12. doi: [10.25750/1995-4301-2009-2-004-012](https://doi.org/10.25750/1995-4301-2009-2-004-012)
10. Поляк Ю.М., Маячкина Н.В. Оценка качества донных отложений восточной части Финского залива методами биотестирования // *Современные проблемы гидрохимии и мониторинга качества поверхностных вод*: Материалы научной конференции с международным участием. Часть 2. Ростов-на-Дону, 2015. С. 102-106.
11. Поляк Ю.М., Бакина Л.Г. Ферментативная диагностика нефтезагрязненных почв северо-западного региона РФ // *Роль почв в биосфере и жизни человека*: Материалы Международной научной конференции (Москва, 5-7 октября 2015 г.). М.: МАКС Пресс. С. 223-224.
12. Терехова В.А. Некоторые научно-организационные проблемы «Global Indicator Networks» // *Теоретическая и прикладная экология*. 2009. №3. С. 16-19. doi: [10.25750/1995-4301-2009-3-020-022](https://doi.org/10.25750/1995-4301-2009-3-020-022)
13. Терехова В.А. Биотестирование почв: подходы и проблемы // *Почвоведение*. 2011. № 2. С.190-198. doi: [10.1134/S1064229311020141](https://doi.org/10.1134/S1064229311020141)
14. Хазиев Ф.Х. Методы почвенной энзимологии. М.: Наука, 2005. 252 с.
15. Collin-Hansen C., Andersen R.A., Steinnes E. Molecular defense systems are expressed in the king bolete (*Boletus edulis*) growing near metal smelters // *Mycologia*. 2005. V. 97. Iss. 5. P. 973–983. doi: [10.1080/15572536.2006.11832747](https://doi.org/10.1080/15572536.2006.11832747)
16. Epelde L., Lanzen A., Blanco F., Urich T., Garbisu C. Adaptation of soil microbial community structure and function to chronic metal contamination at an abandoned Pb-Zn mine // *FEMS Microbiol. Ecol.* 2015. V. 91. Iss. 1. P.1-11. doi: [10.1093/femsec/fiu007](https://doi.org/10.1093/femsec/fiu007)
17. Fang L., Liu Y., Tian H., Chen H., Wang Y., Huang M. Proper land use for heavy metal-polluted soil based on enzyme activity analysis around a Pb-Zn mine in Feng county, China // *Environ. Sci. Pollut. R.* 2017. V. 24. Iss.36. P. 28152–28164. doi: [10.1007/s11356-017-0308-4](https://doi.org/10.1007/s11356-017-0308-4)
18. Fernández M.D., Babin D., Tarazona J.V. Application of bioassays for the ecotoxicity assessment of contaminated soils // *Bioremediation. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols)*. 2010. V. 599. Humana Press. P.235-262. doi: [10.1007/978-1-60761-439-5_15](https://doi.org/10.1007/978-1-60761-439-5_15)
19. Gómez-Sagasti M., Alkorta I., Becerril J., Epelde L., Anza M., Garbisu C. Microbial monitoring of the recovery of soil quality during heavy metal phytoremediation // *Water, Air & Soil Pollut.* 2012. V. 223. Iss. 6. P.3249–3262. doi: [10.1007/s11270-012-1106-8](https://doi.org/10.1007/s11270-012-1106-8)
20. *IUSS Working Group. WRB, World Reference Base for Soil Resources / International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps*. Rome: FAO, 2014.
21. Polyak Y., Shigaeva T., Gubelit Y., Bakina L., Kudryavtseva V., Polyak M. Sediment microbial activity and its relation to environmental variables along the eastern Gulf of Finland coastline // *J. Mar. Sys.* 2017. V. 171. P. 101-110. doi: [10.1016/j.jmarsys.2016.11.017](https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2016.11.017)
22. Polyak Y.M., Bakina L.G., Chugunova M. V., Mayachkina N.V., Gerasimov A.O., Bure V.M. Effect of remediation strategies on biological activity of oil-contaminated soil - A field study // *Int.Biodeterioration & Biodegradation*. 2018. V. 126. P. 57-68. doi: [10.1016/j.ibiod.2017.10.004](https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.10.004)
23. Rao M.A., Scelza R., Acevedo F., Diez M.C., Gianfreda L. Enzymes as useful tools for environmental purposes // *Chemosphere*. 2014. V. 107. P. 145–162. doi: [10.1016/j.chemosphere.2013.12.059](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.12.059)
24. Schloter M., Nannipieri P., Sørensen S.J., van Elsas J.D. Microbial indicators for soil quality // *Biology and Fertility of Soils*. 2018. V. 54. Iss.1. P. 1-10. doi: [10.1007/s00374-017-1248-3](https://doi.org/10.1007/s00374-017-1248-3)
25. Singh P.K., Shrivastava A.K. Role of initial cell density of algal bioassay of toxic chemicals // *J. Basic Microbiol.* 2016. V. 56. Iss. 7. P. 812–829. doi: [10.1002/jobm.201500597](https://doi.org/10.1002/jobm.201500597)

26. Thavamani P., Malik S., Beer M., Megharaj M., Naidu R. Microbial activity and diversity in long-term mixed contaminated soils with respect to polyaromatic hydrocarbons and heavy metals // *J. Environ. Management*. 2012. V. 99. P. 10-17. doi: [10.1016/j.jenvman.2011.12.030](https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2011.12.030)
27. Wang, C.-W.; Liang, C.; Yeh, H.-J. Aquatic acute toxicity assessments of molybdenum (+VI) to *Daphnia magna* // *Chemosphere*. 2016. V. 147. P. 82–87. doi: [10.1016/j.chemosphere.2015.12.052](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.12.052)
28. Wyszowska J., Wyszowski M. Activity of soil dehydrogenases, urease, and acid and alkaline phosphatases in soil polluted with petroleum // *J. Toxicol. Environ. Health. A*. 2010. V. 73. Iss. 17-18. P. 1202–1210. doi: [10.1080/15287394.2010.492004](https://doi.org/10.1080/15287394.2010.492004)

Поступила в редакцию 22.10.2018

Принята 12.12.2018

Опубликована 26.12.2018

Сведения об авторах:

Поляк Юлия Марковна – кандидат технических наук, старший научный сотрудник, ФГБНУ Санкт-Петербургский научно-исследовательский центр экологической безопасности РАН, доцент, Санкт-Петербургский государственный университет; yuliapolyak@mail.ru

Бакина Людмила Георгиевна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией, ФГБНУ Санкт-Петербургский научно-исследовательский центр экологической безопасности РАН; bakinalg@mail.ru

Маячкина Наталья Викторовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, ФГБНУ Санкт-Петербургский научно-исследовательский центр экологической безопасности РАН; korshun25@mail.ru

Дроздова Ирина Валерьевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, ФГБНУ Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН; idrozdova@binran.ru

Каплан Анна Викторовна – студентка, Санкт-Петербургский государственный университет, Институт наук о Земле; salutez@mail.ru

Голод Денис Львович – студент, Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет; den17112000@gmail.com

BIODIAGNOSTICS OF THE CULTIVATED URBAN SOIL POLLUTED BY METALS: BIOINDICATION AND BIOASSAY

© 2018 Y.M. Polyak^{1,2}, L.G. Bakina¹, N.V. Mayachkina¹, I.V. Drozdova³, A.V. Kaplan², D.L. Golod⁴

Address: ¹Scientific Research Center for Ecological Safety of Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia.

²Saint-Petersburg State University, St. Petersburg, Russia.

³Komarov Botanical Institute of Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia.

⁴Saint-Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russia. E-mail: yuliapolyak@mail.ru

*The biological effects of contamination with nickel and cadmium were evaluated in cultivated urban soil under field conditions. The methods of bioindication and bioassay indicated high toxicity, deterioration in biochemical properties and slow recovery of contaminated soil. Soil dehydrogenase is a sensitive indicator of metal contaminations, which allows identifying the biological effects that occur even in slightly polluted soils. The data obtained by bioindication using soil dehydrogenase activity were consistent with bioassay results. Bioassays revealed acute toxicity of contaminated soil to daphnia *Daphnia magna* Straus and green algae *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb. The toxic effect increased with an increase in the metal concentration and depended on the added metal. The toxicity of soils contaminated with cadmium was higher compared to nickel throughout the entire study period. Two years after pollution, a decrease of the toxic effect was observed in soil contaminated with nickel, while the toxic effect of cadmium did not decrease with time. Even after an increase of dehydrogenase activity in nickel-contaminated soil, bioassays still indicated its toxicity for the test objects, particularly as regards green algae. The results indicate the preservation of toxic properties and possible negative effects to biota.*

Kew words: *novic Anthrosol; nickel; cadmium; enzymatic activity; Scenedesmus quadricauda; Daphnia magna*

How to cite: Polyak Y.M., Bakina L.G., Mayachkina N.V., Drozdova I.V., Kaplan A.V., Golod D.L. Biodiagnostics of the cultivated urban soil polluted by metals: bioindication and bioassay // *The Journal of Soils and Environment*. 2018. 1(4): 231–242. (in Russian with English abstract).

REFERENCES

1. *Arinushkina E.V.* Guidelines for the chemical description of soils. Moscow: Publishing House of Moscow State University, 1970. 484 p. (in Russian)
2. *Bityuckii N.P.* Mineral plant nutrition. Saint-Petersburg University, 2014. 540 p. (in Russian)
3. *Vorobeichik E.L., Sadikov O.F., Farafontov M.G.* Ecological rationing of anthropogenic pollution of terrestrial ecosystems, local level. Ekaterinburg, Nauka Pbs., 1994. 280 p. (in Russian)
4. *Galiulin R.V., Galiulina R.A.* Analysis of enzymatic activity of soils and river bottom sediments as diagnostics method of the chronic and emergency contamination of ecosystems with heavy metals, *Agricultural Chemistry*. 2010, No 5, p.72-77. (in Russian) \
5. *Soil classification of Russia* / Authors and compilers: L.L. Shishov, V.D. Tonkonogov, I.I. Lebedeva, M.I. Gerasimov. Smolensk: Oykumena Pbs., 2004. 342 p. (in Russian)
6. [Lozhkin A.V., Lednev A.V. Aftereffect of ameliorative additives on contaminated with cadmium soils properties, barley yield and grain quality, *Perm Agrarian Journal*, 2016, No 4, V. 16, p. 35-41.](#) (in Russian)
7. Methods for determining the acute toxicity of drinking, fresh natural and wastewater, water extracts of their soil, sewage sludge, waste by changing the optical density of the algae culture of *Scenedesmus quadricauda* (Turp.), Breb). PND F T 14.1 2 4.17 2011/T 16.1 2.3 3.18 2011. 2011. (in Russian)
8. Methods of determining the toxicity of water and water extracts from the soil, sewage sludge, waste from mortality and changes in the fertility of daphnia. FR.1.39.2007.03222. Moscow, Akvaros, 2007. 51 p. (in Russian)
9. *Novosyolova E.I., Kireyeva N.A.* Soil enzymatic activity in conditions of oil contamination and its biodiagnostic importance, *Theoretical and Applied Ecology*, 2009, No2, p. 4-12. (in Russian) doi: [10.25750/1995-4301-2009-2-004-012](#)
10. *Polyak Yu.M., Mayachkina N.V.* The use of bioassay techniques for assessment of the Eastern Gulf of Finland sediment quality. In book: *Modern problems of hydrochemistry and monitoring of surface water quality*: Proc. of Sci. Conf. with In. participation. Part 2. Rostov-na-Donu, 2015. p. 102-106. (in Russian)
11. *Polyak Y.M., Bakina L.G.* Enzymatic diagnosis of oil-contaminated soils of the north-western region of the Russian Federation. In book: *The role of soil in the biosphere and human life*: Proc. of the In. Sci. Conf. (Moscow, 5-7 October 2015). Moscow: MAK S Press, p. 223-224. (in Russian)
12. *Terekhova V.A.* Some «Local» Organizational Problems of «Global Indicator Networks», *Theoretical and Applied Ecology*, 2009, No3, p. 16-19. doi: [10.25750/1995-4301-2009-3-020-022](#) (in Russian)
13. *Terekhova V.A.* Soil bioassay: Problems and approaches, *Eurasian Soil Science*, 2011, V. 44(2), p. 173–179. doi: [10.1134/S1064229311020141](#)
14. *Haziev F.H.* Methods of soil enzymology. Moscow: Nauka Pbs., 2005, 252 p. (in Russian)
15. *Collin-Hansen C., Andersen R.A., Steinnes E.* Molecular defense systems are expressed in the king bolete (*Boletus edulis*) growing near metal smelters, *Mycologia*, 2005, V. 97, Iss. 5, p. 973–983. doi: [10.1080/15572536.2006.11832747](#)
16. *Epelde L., Lanzen A., Blanco F., Urich T., Garbisu C.* Adaptation of soil microbial community structure and function to chronic metal contamination at an abandoned Pb-Zn mine, *FEMS Microbiol. Ecol.*, 2015, V. 91, Iss. 1, p. 1-11. doi: [10.1093/femsec/fiu007](#)
17. *Fang L., Liu Y., Tian H., Chen H., Wang Y., Huang M.* Proper land use for heavy metal-polluted soil based on enzyme activity analysis around a Pb-Zn mine in Feng county, China, *Environ. Sci. Pollut. R.*, 2017, V. 24, Iss.36, p. 28152–28164. doi: [10.1007/s11356-017-0308-4](#)
18. *Fernández M.D., Babin D., Tarazona J.V.* Application of bioassays for the ecotoxicity assessment of contaminated soils. In book: *Cummings S. (eds.) Bioremediation. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols)*, V. 599. Humana Press, p.235-262. doi: [10.1007/978-1-60761-439-5_15](#)
19. *Gómez-Sagasti M., Alkorta I., Becerril J., Epelde L., Anza M., Garbisu C.* Microbial monitoring of the recovery of soil quality during heavy metal phytoremediation, *Water, Air & Soil Pollut.*, 2012, V. 223, Iss. 6, p.3249–3262. doi: [10.1007/s11270-012-1106-8](#)
20. [IUSS Working Group. WRB, World Reference Base for Soil Resources. International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. Rome: FAO, 2014.](#)
21. *Polyak Y., Shigaeva T., Gubelit Y., Bakina L., Kudryavtseva V., Polyak M.* Sediment microbial activity and its relation to environmental variables along the eastern Gulf of Finland coastline, *J. Mar. Sys.*, 2017, V. 171, P. 101-110. doi: [10.1016/j.jmarsys.2016.11.017](#)
22. *Polyak Y.M., Bakina L.G., Chugunova M. V., Mayachkina N.V., Gerasimov A.O., Bure V.M.* Effect of remediation strategies on biological activity of oil-contaminated soil - A field study, *Int. Biodeterioration & Biodegradation*. 2018, V. 126, p. 57-68. doi: [10.1016/j.ibiod.2017.10.004](#)
23. *Rao M.A., Scelza R., Acevedo F., Diez M.C., Gianfreda L.* Enzymes as useful tools for environmental purposes, *Chemosphere*, 2014, V. 107, p. 145–162. doi: [10.1016/j.chemosphere.2013.12.059](#)
24. *Schlöter M., Nannipieri P., Sørensen S.J., van Elsas J.D.* Microbial indicators for soil quality, *Biology and Fertility of Soils*, 2018, V. 54, Iss. 1, p. 1-10. doi: [10.1007/s00374-017-1248-3](#)
25. *Singh P.K., Shrivastava A.K.* Role of initial cell density of algal bioassay of toxic chemicals, *J. Basic Microbiol.*, 2016, V. 56, Iss.7, p. 812–829. doi: [10.1002/jobm.201500597](#)

26. *Thavamani P., Malik S., Beer M., Megharaj M., Naidu R.* Microbial activity and diversity in long-term mixed contaminated soils with respect to polyaromatic hydrocarbons and heavy metals, *J. Environ. Management.*, 2012, V. 99, p. 10-17. doi: [10.1016/j.jenvman.2011.12.030](https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2011.12.030)
27. *Wang, C.-W.; Liang, C.; Yeh, H.-J.* Aquatic acute toxicity assessments of molybdenum (+VI) to *Daphnia magna*, *Chemosphere*. 2016, V. 147, p. 82–87. doi: [10.1016/j.chemosphere.2015.12.052](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.12.052)
28. *Wyszkowska J., Wyszkowski M.* Activity of soil dehydrogenases, urease, and acid and alkaline phosphatases in soil polluted with petroleum, *J. Toxicol. Environ. Health*. 2010, V. 73, Iss. 17-18, p. 1202–1210. doi: [10.1080/15287394.2010.492004](https://doi.org/10.1080/15287394.2010.492004)

Received 22 October 2018
Accepted 12 December 2018
Published 26 December 2018

About the authors:

Polyak Yulia M. – PhD, Senior Researcher, Institution of Russian Academy of Sciences Saint-Petersburg Scientific Research Centre for Ecological Safety RAS; assistant professor, Saint-Petersburg State University (Saint-Petersburg, Russia); yuliapolyak@mail.ru

Bakina Ludmila G. – Doctor of Biological Sciences, Head of Laboratory, Institution of Russian Academy of Sciences Saint-Petersburg Scientific Research Centre for Ecological Safety RAS (Saint-Petersburg, Russia); bakinalg@mail.ru

Mayachkina Natalia V. – PhD (Biol.), Senior Researcher, Institution of Russian Academy of Sciences Saint-Petersburg Scientific Research Centre for Ecological Safety RAS (Saint-Petersburg, Russia); korshun25@mail.ru

Drozdova Irina V. – PhD, Senior Researcher, Botanical Institute of V.L. Komarov RAS (Saint-Petersburg, Russia); idrozdova@binran.ru

Kaplan Anna V. – Student, Saint-Petersburg State University, Institute of Earth Sciences (Saint-Petersburg, Russia); salutez@mail.ru

Golod Denis L. – Student, Saint-Petersburg State Pediatric Medical University (Saint-Petersburg, Russia); den17112000@gmail.com

The authors read and approved the final manuscript



The article are available under [Creative Commons Attribution 4.0 License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)