

ДЕГРАДАЦИЯ, ВОССТАНОВЛЕНИЕ И ОХРАНА ПОЧВ

УДК 911.3:63(212.6):631.4

СРАВНЕНИЕ ЭЛЮАТНЫХ И КОНТАКТНЫХ МЕТОДОВ БИОТЕСТИРОВАНИЯ ПРИ ОЦЕНКЕ ПОЧВ, ЗАГРЯЗНЕННЫХ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛ(ОИДАМИ)

© 2019 г. М. А. Пукальчик^{1, *}, В. А. Терехова^{2, 3}, М. М. Карпухин², В. М. Вавилова²

¹Сколковский институт наук и технологий, Россия, 121205, Москва, ул. Нобеля, 3

²МГУ им. М.В. Ломоносова, Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, 1

³Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Россия, 119071, Москва, Ленинский пр., 33

*e-mail: m.pukalchik@skoltech.ru

Поступила в редакцию 27.03.2017 г.

После доработки 06.07.2018 г.

Принята к публикации 24.10.2018 г.

Сравнительные испытания элюатных и контактных методов биотестирования проводили на образцах аллювиальных луговых насыщенных почв (Eutric Fluvisols), загрязненных набором металл(оид)ов, агродерново-подзолистых пахотных почв (Albic Retisols (Loamic, Aric, Cutanic, Ochric)), искусственно загрязненных высокими концентрациями цинка и свинца (550 мг/кг Pb + 880 мг/кг Zn), а также дерново-подзолистых типичных почв (Albic Retisols (Loamic, Cutanic, Ochric)), искусственно загрязненных фосфогипсом (40%). Приведены экспериментальные данные по валовому составу и содержанию водорастворимых форм токсикантов и биофильных элементов в исследованных почвах. Методом анализа главных компонент выявлены взаимосвязи между химическим составом проб и откликами биотестов. Показано, что отклики тест-организмов широко применяемых для оценки токсичности элюатов – водных вытяжек из образцов почв (*Ceriodaphnia affinis*, *Paramecium caudatum*, *Scenedesmus quadricauda*, бактериальная тест-система “Эколюм”) характеризовали изученные почвы как значительно менее токсичные, чем тест-организмы, непосредственно контактировавшие с почвами (*Eisenia fetida* и *Sinapis alba*). Обсуждаются пути повышения информативности экотоксикологической оценки почв.

Ключевые слова: водные вытяжки, токсичность, загрязнение почв

DOI: 10.1134/S0032180X19040117

ВВЕДЕНИЕ

Биологические методы анализа получили широкое распространение при исследовании экологического благополучия различных природных сред. По сравнению с химическими методами анализа, они имеют ряд преимуществ, в частности, способность оценивать кумулятивное действие набора загрязняющих веществ. Однако, если возможности стандартизированных методов биотестирования в целях изучения контроля водных объектов не вызывает сомнений [17], то в вопросе применимости водных вытяжек из почв в целях прогнозирования последствий загрязнения для биоты почв, промышленных отходов и других твердых субстратов остаются дискуссионные моменты [3, 15, 21].

Репрезентативность водной вытяжки обусловлена двумя важными факторами пробоподготовки: 1) характеристикой воды, применяемой для экстракции; 2) временем контакта почва/вода. Влияние качества воды, используемой для пробоподготовки, на результаты исследований рас-

смотрены в обзоре [16]. Актуальным вопросом остается информативность водных вытяжек из образцов почв целей биотестирования, так как полнота перехода токсикантов в водную фазу зависит не только от их химического строения, гидрофильности или гидрофобности, но и от физико-химических параметров почвенных сред [1]. Например, значительная часть водорастворимых форм металлов в почвах – их комплексные соединения с компонентами органического вещества, и содержание этих форм металлов в почвах – тем выше, чем больше концентрация органического углерода [2]. Известны десятки методик биотестирования, предполагающих изучение отклика гидробионтов в отечественной практике изучения экотоксичности почв [13]. Результаты экотоксикологической оценки находят применение в процедурах оценки экологических рисков загрязненных почв во многих странах [20, 25].

Отечественные подходы к процедуре подготовки водных вытяжек из почв предусматривают

Таблица 1. Характеристика испытуемых почвенных образцов (среднее арифметическое \pm стандартное отклонение)

Показатель	АлЛ	Адп _{Pb + Zn}	ДППфг
pH _{KCl}	6.0 \pm 0.1	5.6 \pm 0.0	3.2 \pm 0.4
C _{орг} , %	3.60 \pm 0.00	2.5 \pm 0.2	1.0 \pm 0.0
Mg _{общ} , мг/кг	120 \pm 7.8	219.8 \pm 6.6	225.9 \pm 25.1
Ca _{общ} , мг/кг	1400 \pm 102	1201.0 \pm 7.8	46593.7 \pm 10333.6
S _{общ} , мг/кг	Менее 50	Менее 50	38926.7 \pm 8093.4
Fe _{общ} , мг/кг	1176 \pm 165	2467.2 \pm 154.7	2456.7 \pm 331.0
Zn _{общ} , мг/кг	7595.65 \pm 194.76	891.1 \pm 3.1	21.2 \pm 0.4
Cd _{общ} , мг/кг	80.82 \pm 6.45	0.1 \pm 0.0	0.1 \pm 0.0
Cu _{общ} , мг/кг	62.51 \pm 6.45	11.3 \pm 0.1	9.4 \pm 0.7
Pb _{общ} , мг/кг	4346.13 \pm 140.08	449.2 \pm 11.1	5.0 \pm 0.3
Ni _{общ} , мг/кг	5.61 \pm 0.25	2.1 \pm 0.1	2.3 \pm 0.3
As _{общ} , мг/кг	77.5 \pm 5.2	1.9 \pm 0.3	2.9 \pm 0.00
Sr _{общ} , мг/кг	10.1 \pm 0.8	14.1 \pm 4.0	3190.1 \pm 791.3
Cr _{общ} , мг/кг	14.06 \pm 0.8	3.0 \pm 0.1	2.9 \pm 0.8
Ba _{общ} , мг/кг	Не опр.	21.4 \pm 1.1	140.2 \pm 11.5

время контакта вода : почва, равное 2 ч. Однако по некоторым сведениям этого времени может быть недостаточно для достижения химического равновесия между составом твердой фазы почв и раствором [23]. По вопросу сопоставимости результатов тестирования водных вытяжек и твердых почвенных образцов в литературе приводятся противоречивые данные. Сообщается как о сходных результатах [27, 30], так и о фактах существенной несогласованности данных [14, 18, 26, 28].

Цель работы – сравнительные испытания трех почв, отличающихся контрастным уровнем загрязнения тяжелыми металл(оида)ми, по ответной реакции тест-организмов разных трофических уровней в варианте элюатного и контактного биотестирования проб водных вытяжек и твердых образцов, охарактеризованных по химическому составу.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

Изучали токсичность трех образцов почв, отобранных в 2015/2016 г.: 1) аллювиальные луговые насыщенные почвы (АлЛ) (Eutric Fluvisols) в районе р. Литавка, Прибрам, Чешская Республика, характеризующиеся экстремально высокими концентрациями тяжелых металлов в результате воздействия отходов гальванического производства [33], гранулометрический состав – глина 6%, илстая фракция 49%, песок 45%; 2) агродерново-подзолистые пахотные среднегумусированные среднесуглинистые почвы (Albic Retisols (Loamic, Aric, Cutanic, Ochric)), Московская об-

ласть, Россия, искусственно загрязненные высокими концентрациями нитрата свинца и цинка (550 мг/кг Pb + 880 мг/кг Zn в форме нитратов) в лабораторном опыте (Адп_{Pb + Zn}), содержание глины 27%; 3) дерново-подзолистые типичные мало-мощные глубокоосветленные среднегумусированные среднесуглинистые почвы (Albic Retisols (Loamic, Cutanic, Ochric)) (Московская область, Россия), искусственно загрязненные отходами производства минеральных удобрений фосфогипса (400 г/кг ФГ) в лабораторном опыте (ДППфг). Характеристика образцов представлена в табл. 1. Следует отметить, что выбранные для сравнительных испытаний образцы являлись резко контрастными по свойствам, что, в теории, должно было помочь выявить специфичность отклика биотестов к набору загрязняющих веществ в пробах.

Пробы хранили в воздушно-сухом состоянии, перед биотестированием почвы просеивали через сито (1 мм), усредняли методом сбрасывания на конус, перед экстракцией образцы делили на три части (технические повторности) для получения объективной информации о составе водной вытяжки и токсичности в ней.

Подготовка водных вытяжек из образцов. Водные вытяжки из почв готовили с применением культивационной воды в соответствии с требованиями методики измерения токсичности: к 1 части почвы приливали 4 части воды и перемешивали при 120 об./мин в течение 2 ч, после 30-минутного отстаивания взвесь сифонировали

Таблица 2. Краткая характеристика процедуры биотестирования проб

Показатель	Тест-организм					
	<i>Ceriodaphnia affinis</i>	<i>Paramecium caudatum</i>	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	биосенсор “Эколюм”	<i>Eisenia fetida</i>	<i>Sinapis alba</i>
Анализируемая проба	Водная вытяжка из образцов почв (элюаты)				Почва	
Методика измерения	[9]	[10]	[8]	[7]	[22]	[29]
Длительность опыта	48 ч	24 ч	72 ч	15–30 мин	30 сут	72 ч
Объем тестируемой пробы (в одной повторности)	50 см ³	10 см ³	100 см ³	2 см ³	250 г	10 г
Количество повторностей для одного образца, ед.	15	15	15	15	3	15
Количество тест-организмов в одной повторности, ед.	5	10–12	25–35 тыс. кл./см ³	–	10	10
Анализируемый показатель	Иммобилизация	Иммобилизация	Изменение уровня флуоресценции	Изменение уровня люминесценции	Смертность	Длина корней
Контрольный образец	Культивационная вода Aqua minerale				Искусственный грунт (10% торф, 20% глина, 70% песок)	

Таблица 3. Схема перевода значений индекса токсичности в баллы (цит. по [27])

Балл	Граничные значения индекса токсичности	Характеристика пробы
0	$0 < ИТ \leq 5$	Отсутствие токсичности
1	$5 < ИТ \leq 20$	Слабая токсичность/малотоксичные пробы
2	$20 < ИТ \leq 60$	Средняя токсичность
3	$ИТ > 60$	Сильная степень токсичности

и фильтровали через бумажные фильтры “белая лента”. Подготовленные вытяжки незамедлительно делили на две части, в одной определяли концентрацию водорастворимых элементов методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (ICP-MS 7500a, США), а в другой — ответную реакцию гидробионтов. Краткая характеристика методов исследования водных вытяжек и почв приведена в табл. 2.

Статистическая обработка. Результаты измерений обработаны в Excel 2010 как среднее \pm стандартное отклонение. В целях выявления приоритетных факторов и оценки закономерностей наблюдаемых значений проводили анализ методом главных компонент с использованием корреляционной матрицы в программе Statistica 8.0.

Сравнение токсикологических откликов гидробионтов, полученных для водных вытяжек, с данными для педобионтов проводили путем присвоения каждому значению индекса токсичности балла, в соответствии с определенными граничными значениями (табл. 3), и дальнейшему рас-

чету среднего по каждому почвенному образцу дифференцированно для элюатного и контактного теста. Получали усредненные баллы токсичности методов биотестирования водной вытяжки и контактного теста, в которых 0 соответствовал отсутствию токсичности, а 3 — сильной степени токсичности.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Исследованные образцы почв характеризовались вариабельностью pH_{KCl} в интервале 3.1–6.1, основной их особенностью являлось высокое загрязнение металл(оид)ами в валовых формах, что оказало влияние на состав водных вытяжек (табл. 4). Доля водорастворимых форм поллютантов зависела от pH почвенных сред, содержания органического углерода, а также от исходного уровня загрязнения. В случае АлЛ, загрязненных чрезвычайно высокими концентрациями мышьяка, цинка, кадмия, меди и свинца, водные вытяжки также характеризовались повышенным

Таблица 4. Характеристика водных вытяжек из почв (среднее арифметическое \pm стандартное отклонение, в скобках – доля водорастворимых форм относительно валового содержания, %) и предельно допустимые концентрации вредных веществ в воде [12]

Показатель	АлЛ	Адп _{Pb + Zn}	ДППфг	Норматив ПДК, мг/л*
As, мг/кг	0.63 \pm 0.09** (0.8)	<0.01	<0.01	0.05
Pb, мг/кг	1.28 \pm 0.08 (0.03)	0.01 \pm 0.00 (<0.02)	<0.01	0.006
Zn, мг/кг	11.07 \pm 1.18 (0.15)	1.32 \pm 0.30 (0.15)	3.91 \pm 0.81 (18.44)	0.01
Cr, мг/кг	0.08 \pm 0.05 (0.57)	<0.01	<0.01	0.07
Cd, мг/кг	0.18 \pm 0.05 (0.22)	<0.01	<0.01	0.005
Ni, мг/кг	0.13 \pm 0.05 (2.32)	<0.01	<0.01	0.01
Fe, мг/кг	16.83 \pm 2.58 (1.43)	0.42 \pm 0.22 (0.06)	63.13 \pm 2.54 (2.57)	0.1
Cu, мг/кг	1.71 \pm 0.27 (2.73)	<0.01	<0.01	0.001
Sr, мг/кг	0.46 \pm 0.26 (4.54)	0.60 \pm 0.02 (4.25)	370.71 \pm 27.69 (11.62)	0.4
Ba, мг/кг	Не опр.	0.24 \pm 0.01 (1.12)	1.29 \pm 0.24 (0.92)	0.74
Ca, мг/кг	118.42 \pm 25.14 (8.42)	90.76 \pm 4.55 (7.56)	8034.43 \pm 499.23 (17.24)	180.0
Mg, мг/кг	15.93 \pm 9.32 (13.27)	17.29 \pm 0.87 (0.08)	16.56 \pm 8.16 (7.1)	40.0
Mn, мг/кг	1.68 \pm 0.43 (Не опр.)	0.92 \pm 0.09 (Не опр.)	73.49 \pm 24.39 (Не опр.)	0.01
Na, мг/кг	5.63 \pm 2.40 (Не опр.)	4.92 \pm 0.36 (Не опр.)	394.91 \pm 42.57 (Не опр.)	120.0
K, мг/кг	47.92 \pm 5.92 (Не опр.)	11.26 \pm 1.26 (Не опр.)	111.34 \pm 21.41 (Не опр.)	50.0
S, мг/кг	34.24 \pm 10.55 (Не опр.)	9.07 \pm 1.08 (Не опр.)	9260.19 \pm 497.09 (Не опр.)	Не опр.
P, мг/кг	2.95 \pm 1.00 (Не опр.)	1.83 \pm 0.17 (Не опр.)	212.68 \pm 44.06 (Не опр.)	Не опр.

* Коэффициент пересчета концентрации элементов в растворах из мг/л в мг/кг почвы с учетом соотношения почва/раствор равен 4.

** Жирным шрифтом выделены показатели, превышающие установленный норматив.

уровнем этих элементов. Однако доля водорастворимых форм не превышала 1% от валовых значений для свинца, цинка, кадмия, и 3% для меди. Водные вытяжки из Адп_{Pb + Zn}, искусственно загрязненные цинком свинцом, характеризовались высоким содержанием водорастворимого цинка и практически полным отсутствием ионов свинца. Существенные различия в концентрациях металлов в растворе могут быть объяснены с позиции конкуренции металлов за почвенные реакционные центры при высоких дозах внесения металлов. Свинец в таких условиях обладает преимуществом в виде меньшего радиуса иона и большего сродства к поверхности почвенных агрегатов по сравнению с цинком, что отражается на большей интенсивности его сорбции при совместном присутствии металлов [5, 6, 11]. ДППфг, модельно загрязненные отходом производства минеральных удобрений (фосфогипса), характеризовались высокими концентрациями стронция, кальция, серы, бария по сравнению с другими почвами, связанными с растворимостью отдельных компонентов фосфогипса в водных растворах.

Исследование экотоксичности водных вытяжек из образцов проводили с применением пространственного в отечественной практике оценки набора биотестов (пресноводные рачки, микро-

доросли, простейшие и бактериальный сенсор “Эколюм”) на основе генномодифицированного биолюминесцентного штамма *Escherichia coli*. В предыдущих исследованиях показано, что такой набор тест-организмов характеризуется высокой чувствительностью к наличию в почвах тяжелых металлов, а также фосфогипса [4, 19, 32]. Результаты биотестирования показали, что в соответствии с категориями токсичности аттестованных методик измерения, водные вытяжки из образцов почв Адп_{Pb + Zn} и ДППфг характеризовались как нетоксичные для инфузорий (индекс токсичности (ИТ) < 10%), бактериального препарата “Эколюм” (ИТ < 10%), пресноводных рачков церодафний (ИТ < 10%), и свидетельствовали о факте наличия острой токсичности для микроводорослей сценедесмус (ИТ > 20% для пробы с ТМ, ИТ < -30% для пробы с ФГ). Проба АлЛ, отличающаяся от остальных полиметаллическим загрязнением, характеризовалась как нетоксичная для инфузорий, малотоксичная для бактериального препарата “Эколюм”, токсичная для цериодафний и нетоксичная для микроводорослей (рис. 1А).

Контактные методы анализа в отличие от тестов на вытяжке проявили высокую чувствительность к наличию в почвенных пробах токсич-

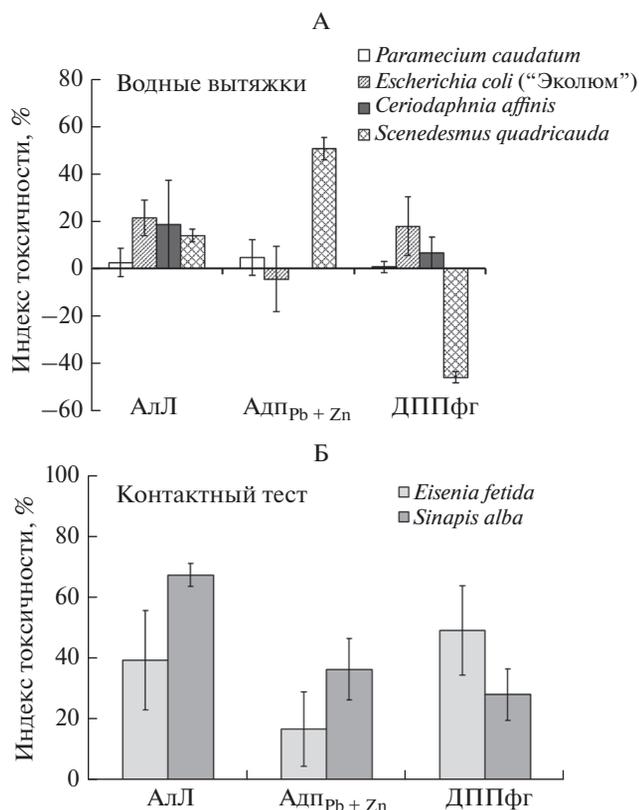


Рис. 1. Результаты биотестирования образцов почв: А – элюатные биотесты; Б – контактные биотесты.

кантов (рис. 1Б). Значения длины корней проростков горчицы белой, так же как показатели смертности червей в почвах относительно контрольных проб, свидетельствовали о наличии токсичности образцов.

Многокомпонентный анализ позволил установить зависимости отклика гидробионтов от содержания отдельных элементов в пробах (рис. 2А), а также влияние валового химического состава на тест-функции педобионтов (рис. 2Б). Отклик гидробионтов условно можно разделить на три группы. В первую выделены пресноводные рачки *C. affinis*, для которых увеличение индекса токсичности было тесно связано с повышенными концентрациями алюминия, меди, никеля, хрома, свинца, кадмия, мышьяка, цинка и молибдена, в то время как увеличение содержания калия, железа, марганца, натрия, кальция, серы, стронция, магния и фосфора, напротив, снижало индекс токсичности. Полученные данные подтверждают известный по литературным источникам факт, что ионы кальция, фосфора, калия и магния в водных растворах способны оказывать протекторное действие по отношению к гидробионтам в стрессовых условиях [31].

Во вторую группу можно выделить отклик бактериального препарата “Эколюм”, увеличение

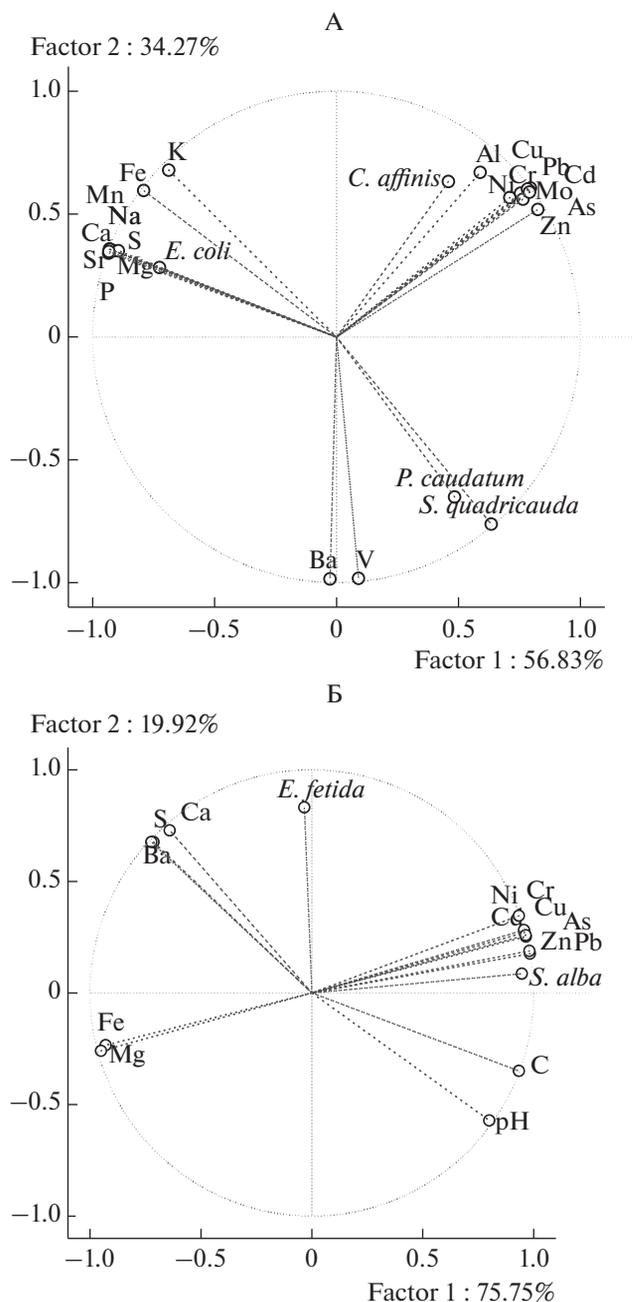


Рис. 2. Диаграммы проекции взаимосвязи химического состава образцов и отклика биотестов в плоскости двух главных действующих факторов: А – вариант тестирования водных вытяжек, представлены водорастворимые формы элементов, Б – вариант контактного тестирования проб, приведены данные по валовому составу образцов.

индекса токсичности которого коррелировало с повышенным содержанием калия, железа, марганца, натрия, кальция, серы, стронция, магния и фосфора, в свою очередь уменьшение содержания этих элементов и увеличение концентрации остальных снижало индекс токсичности. Обособленно от этих групп выделились ответные реак-

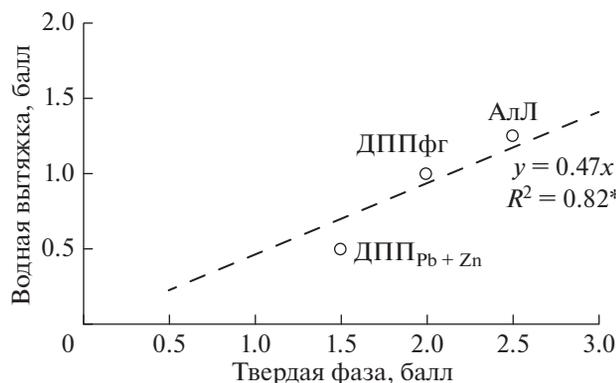


Рис. 3. Корреляционный анализ результатов биотестирования водных вытяжек и контактных методов, * $P < 0.05$.

ции инфузорий и микроводорослей, индекс токсичности которых увеличивался при повышении концентраций бария и ванадия, но практически не зависел от содержания всех остальных элементов в растворе.

Индекс токсичности для горчицы характеризовался высоким коэффициентом корреляции с показателями валового содержания цинка, свинца, мышьяка, хрома, никеля, кадмия. Увеличение валового содержания этих металл(оид)ов в пробах достоверно уменьшало длину корней по сравнению с контролем. В то же время увеличение содержания кальция, серы, бария, железа и магния оказывало обратное воздействие и снижало токсический эффект металлов (рис. 2В). Высокий уровень индекса токсичности почв по отношению к *E. fetida* не зависел от концентрации тяжелых металлов в пробах, а определялся высоким содержанием кальция, серы и бария, и снижался при увеличении pH проб.

Как показали исследования, оцениваемые тест-функции гидробионтов и педобионтов реагируют на сложный набор элементов в водных вытяжках из почв и почвенных компонентов. В ряду гидробионтов (цереодафнии, водоросли, инфузории, бактериальный препарат "Эколюм") только показатель смертности цереодафний положительно коррелировал с концентрациями тяжелых металлов и металлоидов в водных вытяжках (Ni, Cu, As, Cd, Pb), тогда как измеренные тест-функции других биотестов либо не изменялись во время экспозиции, либо зависели от иных показателей. Что касается опыта использования педобионтов, то отмеченные для почв высокие уровни токсичности, могут быть объяснены как с позиции различий в химическом составе проб (почвенные образцы содержат значительно большее количество токсикантов в доступных для биоты формах, чем водные вытяжки из почв), так

и отличными от гидробионтов механизмами поступления токсикантов.

Значения усредненных баллов токсичности, рассчитанных для варианта тестирования водных вытяжек (4 биотеста) и контактных тестов (2 биотеста) показали, что исследование водной вытяжки более чем в 2 раза занизило данные по токсичности почв по сравнению с контактными тестами (рис. 3).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенной работы наглядно показывают, как выбор биотеста и тестируемой фазы оказывает влияние на результаты, что, в свою очередь, приводит к недооценке экологических рисков химического загрязнения почв. Выявлена существенная несогласованность данных, получаемых при исследовании водных вытяжек из почв, с данными о химическом составе проб и откликном, полученным для варианта тестирования почвенных сред.

Возможный выход из данной ситуации мы видим в следующих вариантах. Во-первых, целесообразно гармонизировать отечественные критерии пробоподготовки с мировым опытом. Согласно международным стандартам биотестирования [24], срок подготовки водной вытяжки из почв варьирует от 12 до 24 ч в зависимости от методики исследования. Увеличение времени контакта водной фазы и почвенной матрицы, безусловно, может обеспечивать более полную экстракцию и увеличить информативность вытяжки. Во-вторых, можно ввести дифференцированные критерии оценки токсичности проб в зависимости от чувствительности тест-организмов к загрязнению. Кроме того, ограничиваться анализом острой токсичности почв нецелесообразно. Для надежной оценки качества почв необходимо вводить в нормативные документы, регламентирующие экологическую экспертизу почв и земель, в качестве обязательных токсикометрические показатели хронической токсичности с продолжительным сроком экспозиции почвенных образцов и тест-организмов.

Благодарность. Работа выполнена при частичной поддержке грантов РФФИ 14-50-00029 и РФФИ 18-04-01218. Авторы признательны Л. Ворониной и М. Gladkoy за помощь в биотестировании.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Водяницкий Ю.Н., Плеханова И.О. Биогеохимия тяжелых металлов в загрязненных переувлажненных почвах (аналитический обзор) // Почвоведение. 2014. № 3. С. 273–282.

2. Добровольский В.В. Биосферные циклы тяжелых металлов и регуляторная роль почвы // Почвоведение. 1997. № 4. С. 431–441.
3. Добровольский Г.В., Терехова В.А., Дгебуадзе Ю.Ю. Биодиагностика в экологической оценке почв и сопредельных сред // Поволжский экологический журнал. 2013. № 4. С. 365–367.
4. Ефремова В.А., Дабах Е.В., Кондакова Л.В. Химико-биологическая оценка состояния городских почв // Сибирский экологический журн. 2013. № 5. С. 741–750.
5. Ладонин Д.В., Пляскина О.В. Изучение механизмов поглощения Cu(II), Zn(II) и Pb(II) дерново-подзолистой почвой // Почвоведение. 2004. № 5. С. 537–545.
6. Манджиева С.С., Минкина Т.М., Мотузова Г.В., Головатый С.Е., Мирошниченко Н.Н., Лукашенко Н.К., Фатеев А.И. Фракционно-групповой состав соединений цинка и свинца как показатель экологического состояния почв // Почвоведение. 2014. № 5. С. 118–126.
7. Методика определения интегральной токсичности поверхностных, в том числе морских, грунтовых, питьевых, сточных вод, водных экстрактов почв, отходов, осадков сточных вод по изменению бактериальной биолюминесценции тест-системой “Эколюм”. ПНДФ Т. 14.1:2:3:4.11-04. Т. 16.1:2:3:3.8-04. М.: ООО “Непа-С”, 2010. 30 с.
8. Методика определения токсичности вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению уровня флуоресценции хлорофилла и численности клеток водорослей. М.: АКВАРОС, 2007. 48 с.
9. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости цериодафний. ФР.1.39.2007.03221. М.: АКВАРОС, 2007. 56 с.
10. Методика определения токсичности отходов, почв, осадков сточных, поверхностных и грунтовых вод методом биотестирования с использованием равноресничных инфузорий *Paramecium caudatum* Ehrenberg. ФР.1.39.2006.02506. М., 2006. 30 с.
11. Пинский Д.Л., Минкина Т.М., Гапонова Ю.И. Сравнительный анализ моно- и полиэлементной адсорбции меди, свинца и цинка черноземом обыкновенным из растворов азотнокислых и уксуснокислых солей // Почвоведение. 2010. № 7. С. 801–811.
12. Приказ Министерства сельского хозяйства РФ от 13 декабря 2016 года № 552 “Об утверждении нормативов качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения, в том числе нормативов предельно допустимых концентраций вредных веществ в водах водных объектов рыбохозяйственного значения”.
13. Росстандарт. Федеральный информационный фонд по обеспечению единства измерений. Сведения об аттестованных методиках (методах) измерений. Биологические и биомедицинские документы. [Электронный ресурс] http://www.fundmetrology.ru/06_metod/2list.aspx?r=39.
14. Селивановская С.Ю., Галицкая П.Ю., Латыпова В.З., Семанов Д.А. Оценка эффективности контактного и элюатного методов оценки почв // Уч. записки Казанского федерального ун-та. Сер. Естественные науки. 2007. Т. 149. Кн. 1. С. 88–96.
15. Терехова В.А. Биотестирование почв: подходы и проблемы // Почвоведение. 2011. № 2. С. 190–198.
16. Федосеева Е.В., Гладкова М.М., Учанов П.В., Терехова В.А. Требования национальных и международных стандартов к качеству культивационной воды в практике применения гидробионтов для оценки экологической токсичности // Использование и охрана природных ресурсов в России. 2016. № 4. С. 44–49.
17. Филенко О.Ф. Задачи и возможности биологического контроля загрязнения водной среды // Вода Magazine. 2012. № 1. С. 24–28.
18. Фокина А.И., Домрачева Л.И., Олькова А.С., Скугорева С.Г., Лялина Е.И., Березин Г.И., Даровских Л.В. Исследование токсичности проб урбаноземов, загрязненных тяжелыми металлами // Изв. Самарского научного центра РАН. 2016. Т. 18. № 2(2). С. 544–550.
19. Яковлев А.С., Каниськин М.А., Терехова В.А. Экологическая оценка почвогрунтов, подверженных воздействию фосфогипса // Почвоведение. 2013. № 6. С. 737–743.
20. Critto A., Torresan S., Semenzin E., Giove S., Mesman M., Schouten A.J. et al. Development of a site-specific ecological risk assessment for contaminated sites: Part I. A multi-criteria based system for the selection of ecotoxicological tests and ecological observations // Sci. Total Environ. 2007. V. 379. P. 16–33.
21. Dott et al. Methods for toxicological/ecotoxicological assessment of soils // DECHEMA ad-hoc-Committee (headed by W. Dott): Bioassays for soils / Eds. G. Hrsg. J. Kreysa, Wiesner. 4th Report of the interdisciplinary DECHEMA committee – Environmental biotechnology – Soil (headed by J. Klein). Deutsche Gesellschaft für Chemisches Apparatewesen, Chemische Technik und Biotechnologie. V. Frankfurt am Main, 1995. ISBN 3 926959-52 5
22. Earthworm reproduction test (*Eisenia fetida/Eisenia andei*) Guideline 222. Paris, France: Organization for Economic Cooperation and Development (OECD). 1984. 18 p.
23. Gamst J., Kjeldsen P., Christensen T.H. Determination of solute organic concentration in contaminated soils using a chemical-equilibrium soil column system // Water, Air and Soil Pollution. 2007. V. 183. № 1–4. P. 377–389.
24. ISO. Soil quality Guidance on the ecotoxicological characterization of soils and soil materials. ISO 15799. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization; 2003.
25. Jensen J., Mesman M. (eds). Ecological risk assessment of contaminated land—Decision support for site specific investigations. RIVM report 711701047. The Netherlands, 2006.
26. Leitgib L., Kalman J., Gruiz K. Comparison of bioassays by testing whole soil and their water extract from contaminated sites // Chemosphere. 2007. V. 66. P. 428–434.

27. Lors C., Ponge J.F., Martínez Aldaya M. Comparison of solid-phase bioassays and ecoscores to evaluate the toxicity of contaminated soils // *Environ. Poll.* 2010. V. 158. P. 2640–2647.
28. Manzo S., De Nicola F., De Luca Picione F., Maisto G., Alfani A. Assessment of the effects of soil PAH accumulation by a battery of ecotoxicological tests // *Chemosphere*. 2008. V. 71. P. 1937–1944.
29. Martignon G. Linee guida per la misura della tossicità dei suoli. Test di fitotossicità per il suolo. 2009. Retrieved from <http://doc.rse-web.it/doc/doc-sfoglia/09000808-1996/09000808-1996.htm>.
30. Maxam G., Rila J.P., Dott W., Eisentraeger A. Use of bioassays for assessment of water-extractable ecotoxic potential of soils // *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Section B, Environmental Research. 2000. V. 45. P. 240–246.
31. Mertens J., Degryse F., Springael D., Smolders E. Zinc toxicity to nitrification in soil and soilless culture can be predicted with the same biotic ligand model // *Environ. Sci. Technol.* 2007. V. 41. P. 2992–2997.
32. Terekhova V.A., Pukalchik M.A., Yakovlev A.S. The triad approach to ecological assessment of urban soils // *Eurasian Soil Science*. 2014. V. 47. № 9. P. 952–958. doi 10.1134/S1064229314090129
33. Vaněk A., Ettler V., Grygar T., Borůvka L., Šebek O., Drábek O. Combined chemical and mineralogical evidence for heavy metal binding in mining- and smelting-affected alluvial soils // *Pedosphere*. 2005. V. 18. № 4. P. 464–478.

Comparison of Eluate and Direct Soil Bioassay Methods of Soil Assessment in the Case of Contamination with Heavy Metals

M. A. Pukalchik^{a, *}, V. A. Terekhova^{b, c}, M. M. Karpukhin^b, and V. M. Vavilova^b

^aSkolkovo Institute of Science and Technology, ul. Nobelya 3, Moscow, 121205 Russia

^bLomonosov Moscow State University, Leninskie Gory 1, Moscow, 119991 Russia

^cSevertsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, Leninskii prosp. 33, Moscow, 119071 Russia

*e-mail: m.pukalchik@skoltech.ru

We compared the advantages of eluate and direct soil bioassay methods to reveal the overall toxicity of contaminated soils in a case study with: (i) Eutric Fluvisols contaminated with heavy metals; (ii) cultivated Albic Retisols (Loamic, Aric, Cutanic, Ochric) artificially polluted with zinc and lead (550 mg/kg Pb + 880 mg/kg Zn); and (iii) Albic Retisols (Loamic, Cutanic, Ochric) artificially polluted with phosphogypsum (40%). We measured the total and water-soluble species of chemical elements in the samples. Bioassay tests included six different methods. Chemical and biological variables were aggregated by the principal component analysis. It was shown that toxicity values of tested samples in case of eluate test-organisms (*Ceriodaphnia affinis*, *Paramecium caudatum*, *Scenedesmus quadricauda*, and bacterial test system *Escherichia coli*) characterized the studied soils as less toxic than direct soil bioassay tests (*Eisenia fetida* and *Sinapis alba*). Finally, we discussed possible ways to improve the informative value of the ecotoxicological assessment of soils by bioassay tests.

Keywords: water eluate, toxicity, polluted soils