УДК 631.453:631.415.26: 57.084.1

ИЗМЕНЕНИЕ КИСЛОТНОСТИ ПОЧВЫ КАК ФАКТОРА АККУМУЛЯЦИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ХОДЕ ВЕРМИКУЛЬТИВИРОВАНИЯ

Резниченко И.С.

ФГБОУ ВО «Омский государственный педагогический университет», Омск, e-mail: biotech@omgpu.ru

Изучено изменение pH водной вытяжки почвенно-подстилочного субстрата, полученного в ходе вермикультивирования биогумуса. В эксперименте были использованы три почвенно-подстилочных вида дождевых червей Lumbricus rubellus, Perelia diplotetratheca, Eisenia nordenskioldi и один собственно почвенный вид Aporrectodea caliginosa. В результате, вид L. rubellus характеризуется аккумуляцией по отношению к Zn и элиминацией по отношению к Pb, Cu, Cd. Цинк относится к менее токсичным и незаменимым микроэлементам, обусловливающим жизненно важные функции в организме дождевых червей, в том числе и работе ферментов. В отличие от почвенно-подстилочных морфотипов люмбрицид, у почвенного вида A. caliginosa наблюдается не аккумуляция, а элиминация цинка. В ходе вермикультивирования наблюдается статистически значимое различие ($p < 0,05$) в увеличении pH по сравнению с исходным субстратом. Для L. rubellus и E. nordenskioldi показатель pH повысился на 0,11 ед., при вермикультивировании P. diplotetratheca показатель кислотности отличался от исходного субстрата ($p < 0,05$), но был самым низким в серии экспериментов. Наибольшее повышение ($p < 0,05$) pH водной вытяжки наблюдается при вермикультивировании почвенного вида A. caliginosa. Для вида P. diplotetratheca, уровень корреляции между кислотностью почвы и накоплением Cd оказался низким, это произошло из-за ступенчатого накопления элемента, за которым следовал процесс элиминации. Для вида E. nordenskioldi показатель корреляции оказался низким и не достоверным. Оптимальным по вышеописанным показателям оказался вид L. rubellus, который рекомендуем к использованию для ремедиации почв для повышения pH вместе с искусственным внесением карбоната кальция.

Ключевые слова: тяжелые металлы, кислотность, дождевые черви, почва, рекультивация

CHANGE OF SOIL ACIDITY AS A FACTOR OF HEAVY METALS ACCUMULATION IN VERMICULTURE PROCESS

Reznichenko I.S.

Omsk State Pedagogical University, Omsk, e-mail: biotech@omgpu.ru

The change in the actual pH of the soil-litter substrate obtained during vermiculture process of biohumus have been studied. Three soil-littering species of earthworms Lumbricus rubellus, Perelia diplotetratheca, Eisenia nordenskioldi and one proper soil species Aporrectodea caliginosa were used in the experiment. As a result, the species L. rubellus is characterized by accumulation with respect to Zn and elimination with respect to Pb, Cu, Cd. Zinc refers to less toxic and irreplaceable trace elements, which determine the vital functions in the body of earthworms, including the work of enzymes. Unlike the soil-litter morphotypes of lyumbricide, the soil type A. caliginosa does not accumulate, but eliminate zinc. During vermicultivation, a statistically significant difference ($p < 0.05$) is observed in the increase in pH compared with the initial substrate. For L. rubellus and E. nordenskioldi, the pH increased by 0.11%; with P. diplotetratheca vermicultivation, the acidity index differed from the initial substrate ($p < 0.05$), but was the lowest in a series of experiments. The highest increase ($p < 0.05$) in the pH of the aqueous extract is observed when vermicultivating the soil species A. caliginosa. For the P.diplotetratheca species, the level of correlation between soil acidity and Cd accumulation was low, this was due to the stepwise accumulation of the element, followed by the elimination process. For the species E. nordenskioldi, the correlation index was low and not reliable. Optimal for the above indicators was the type of L. rubellus, which is recommended for use for soil remediation to increase the pH along with the artificial introduction of calcium carbonate.

Keywords: heavy metal, acidity, earthworms, soil, reclamation

Почву рассматривают как депо поллютантов или среду обитания педобионтов, которые и используют в качестве чувствительных индикаторов техногенных нагрузок [1, с. 188]. При изучении базовых характеристик почв (таких как гранулометрический состав, содержание обменных форм кальция и магния) кислотность, как правило, определяется не только типом преобладающих почв, но и внешними факторами. Из биотических факторов окружающей среды на кислотность почв могут влиять растительность и разлагающийся опад, из абиотических факторов – вымывание кислотных солей из подстилающих почву пород. В настоящее время на изменение кислотности почв наибольшее влияние оказывает антропогенный фактор.

Более детальному исследованию подвергаются параметры почв пригодных к земледелию территорий, поскольку эти параметры влияют на экологическую безопасность получаемой продукции. Так, подкисление почвы может увеличить биодоступность тяжелых металлов, которые накапливаются в дальнейшемпо пищевой цепи. Например, при понижении значения pH зарегистрировано увеличение под-

вижных форм меди как в поверхностном слое почвы, так и в готовой продукции [2, с. 1095]. Таким образом, подкисление почвы представляет собой серьезную проблему деградации земель, угрожающую сельскому хозяйству.

Баланс pH почвы может быть улучшен путем применения извести ($CaCO_3$) [3, с. 640]. Однако депонирование механически заделанной извести к корневой зоне растений происходит очень медленно. К тому же подобные мелиоративные работы не всегда целесообразны из-за рельефа местности или на территории круглогодичного выпаса скота.

Дождевые черви из-за их тесного контакта с почвой являются подходящими организмами для оценки биодоступности загрязняющих веществ в почве с возможностью оценки попадания этих загрязняющих веществ в земные экосистемы [4, с. 162]. Было доказано, что дождевые черви содействуют перемещению агрегатов из верхних слоев почвы в нижние, а также карбоната кальция. Глубина перемещения в первую очередь зависит от вида дождевых червей. Так полевые эксперименты показали увеличение pH на 0,3 единицы в верхнем слое почвы (10 см) через 5 месяцев после внесения на поля вида *Aporrectodea trapezoides*, в то же время вид *Aporrectodea rosea* никаких статистически значимых изменений в кислотность почвы не привнес. Другие исследования свидетельствуют о более высокой эффективности воздействия *Aporrectodea longa* на увеличение pH почвы на глубине до 15 см. Исследователи полагали, что механизм, лежащий в основе депонирования $CaCO_3$ в почву, косвенно опосредован влиянием дождевых червей, поскольку, как полагают авторы, известь просачивается в почву вместе с дождевой водой по ходам люмбрицид [5, с. 33]. Однако исследователи не учитывают тот факт, что дождевые черви обладают собственными известковыми железами – парными боковыми придатками пищевода, которые накапливают карбонат кальция для нейтрализации гуминовых кислот, содержащихся в пище люмбрицид.

Цель настоящего исследования заключалась, с одной стороны, в изучении результатов количественного измерения показателя кислотности почвы в ходе вермикультивирования в лабораторных условиях четырех видов дождевых червей, относящихся к почвенно-подстилочному типу (*Lumbricus rubellus, Perelia diplotetratheca, Eisenia nordenskioldi*) и собственно почвенному типу (*Aporrectodea caliginosa*). С другой стороны, исследование обусловлено необходимостью изучить накопление тяжелых металлов в тканях дождевых червей и выявить закономерности накопления в связи с изменением pH среды, а также дать рекомендации по выбору оптимального для проведения мелиоративных работ вида дождевых червей.

Материалы и методы исследования

Материалом для работы послужили сборные образцы серой лесной почвы, собранные на буферной территории (5 км), по содержанию поллютантов от Среднеуральского медеплавильного завода. Среднеуральский медеплавильный завод (СУМЗ) расположен около г. Ревды Свердловской области. Основные ингредиенты выбросов – SO_2 и полиметаллическая пыль, в которой преобладают Cu, Pb, Zn, Cd, As [6, с 588]. Выбор данной территории обусловлен, с одной стороны, типом почв, который широко используется в сельском хозяйстве Урала, с другой стороны – близостью к искусственному источнику выбросов тяжелых металлов на фоне подкисления почв.

Сбор видов *Lumbricus rubellus, Perelia diplotetratheca* осуществлялся на фоновой территории (30 км) по содержанию поллютантов от СУМЗа. Виды *Eisenia nordenskioldi* и *Aporrectodea caliginosa* были собраны в экологически благополучной по содержанию тяжелых металлов территории Омской области. Вермикультивирование проводили по модифицированной методике Д. Баррета. Каждый вид люмбрицид помещался отдельно в двухлитровые полипропиленовые контейнеры с почвенно-подстилочным субстратом, каждую неделю субстрат увлажнялся из пульверизатора. Опыт проводился в пятикратной повторности для каждого вида, в одном контейнере содержалось по 30 особей. По истечении 90 суток дождевые черви вынимались из контейнера, и проходилась пробоподготовка для анализа на тяжелые металлы. В полученный биогумус повторно помещались люмбрициды с фоновой территории, по вышеописанной схеме, с экспозицией в 90 суток.

Очищение желудочно-кишечного тракта люмбрицид проводили по методике А.Д. Покаржевского [7, с. 1157], модифицированной под условия лаборатории. Методика основана на замещении содержимого желудочно-кишечного тракта дождевых червей микробиологическим агар-агаром. Для приготовления замещающего субстра-

та использовали агар-агар из расчета 3,0 г сухого вещества на один литр деионизированной воды. Агар-агар растворяли в воде температурой 60 °С и доводили до 100 °С, после чего разливали смесь в полипропиленовые контейнеры объемом 300 мл. После остывания смеси в контейнеры помещали по 15 червей; контейнер покрывали хлопчатобумажной тканью, которую прочно фиксировали резиновым кольцом. Контейнеры экспонировали в темноте при температуре 21 °С в течение трех суток, ежедневно проводился осмотр и удаление погибших особей. После завершения выдержки каждую особь просматривали под бинокуляром для обнаружения остатков почвы в кишечнике (таких особей не использовали для анализа).

Усыпление червей проводили в морозильной камере при температуре –10 °С после однократного промывания, затем помещали червей в деионизированную воду и сушили в чашках Петри, используя сушильный шкаф (50 °С, t = 10 ч)

Химический анализ

Для измерения содержания подвижных форм Cd, Pb,Cu, Zn использовали 5 %-ную вытяжку HNO_3. Для измерения содержания металлов в тканях червей использовали по 0,5 г материала (навеску взвешивали с точностью 0.0001 г); образцы озоляли в тефлоновых сосудах в микроволновом озоляторе Минотавр-2 в течение 60 мин после добавления 5 мл концентрированной HNO_3 при максимальном давлении 950 кПа и максимальной температуре 170 °С. Концентрации металлов (Cu, Pb, Cd, Zn) в тканях измерили на атомно-абсорбционном спектрометре Квант-Z с пламенным методом атомизации в лаборатории систематики и экологии беспозвоночных животных Омского государственного педагогического университета.

Измеряли pH водной вытяжки при помощи стационарного pH-метра по ГОСТ 26423-85с дискретностью измерения 0,01 ед.

Значимость различий в концентрациях элементов между выборками оценивали при помощи однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA). Для описания взаимосвязи кислотности и содержания поллютантов использовали коэффициент корреляции Пирсона.

Результаты исследования и их обсуждение

Исходя из данных табл. 1, уровень pH имеет кислотное значение. Во-первых, это связано с типом почвы (серая лесная), во-вторых – с типом растительности и почвенной подстилки (ельники-пихтарники), в-третьих – с подкислением почв и подстилки выбросами (SO_2) Среднеуральского медеплавильного завода. В начальной стадии эксперимента pH водной вытяжки составляла 4,31 ед. В ходе вермикультивирования наблюдается статистически значимое различие ($p < 0,05$) в увеличении pH по сравнению с исходным субстратом. Для *L. rubellus и E. nordenskioldi* показатель pH повысился на 0,11 ед., при вермикультивировании *P. diplotetratheca* показатель кислотности отличался от исходного субстрата ($p < 0,05$), но был самым низким в серии экспериментов. Наибольшее повышение ($p < 0,05$) pH водной вытяжки наблюдается при вермикультивировании почвенного вида *A. caliginosa.*

Таблица 1

pH водной вытяжки исходного субстрата и биогумуса

Тип субстрата	pH (ед.)			
	P. diplotetratheca	*L. rubellus*	*E. nordenskioldi*	*A. caliginosa*
Биогумус	4,39 ± 0,01 (20)	4,42 ± 0,01 (22)	4,42 ± 0,02 (20)	4,43 ± 0,01 (21)
Исходный субстрат	4,31 ± 0,01 (23)	4,31 ± 0,01 (20)	4,31 ± 0,01 (20)	4,31 ± 0,01 (22)

Примечание: M ± n, где M – среднее значение, n – ошибка среднего значения, в скобках – количество измерений.

Для упрощения интерпретации данных накопление тяжелых металлов было описано при помощи BAF – биологического коэффициента аккумуляции (содержание элемента в тканях дождевых червей/содержание элемента в субстрате).

В 2014 г. нами были изучены концентрации Pb, Zn, Cu, Cd в тканях почвенно-подстилочного вида, эндемика Среднего Урала *P. diplotetratheca*. Данный вид был собран в области умеренного (буфер) и сильного (импакт) загрязнения вышеописанными поллютантами, которые были выброшены Среднеуральским медеплавильным заво-

дом. В результате проведенных измерений концентрации тяжелых металлов в ходе настоящего эксперимента нами не были обнаружены пиковые концентрации поллютантов в тканях люмбрицид, подобные тем, что зафиксированы по итогам полевого сбора дождевых червей. Несмотря на заниженные показатели в ходе эксперимента, при получении биогумуса наблюдалась элиминация дождевых червей по выживаемости. Данный факт объясняется воздействием стрессового фактора – значительного повышения концентрации тяжелых металлов, для приспособления к которому нужно увеличение экспозиции люмбрицид на субстрате или планомерное увеличение содержания поллютантов в почве.

По отношению к концентрации выбранных нами тяжелых металлов наиболее изученным остаются вид *L. rubellus*, который сохраняет тенденции в накоплении поллютантов, отмеченные другими исследователями, а именно: вид характеризуется аккумуляцией по отношению к Zn и элиминацией по отношению к Pb, Cu, Cd [8, с. 97]. Однако, в отличие от почвенно-подстилочных морфотипов люмбрицид, у почвенного вида *A. caliginosa* наблюдается не аккумуляция, а элиминация цинка, что может говорить о разнице в метаболизме и ином типе питания. Как видно из табл. 2, биологический коэффициент аккумуляции, превышающий единицу, наблюдается у цинка, при этом наибольший коэффициент наблюдался у *L. rubellus*, также для данного вида статистически достоверно увеличивается накопление на биогумусе. Вероятно, данное наблюдение может свидетельствовать о предрасположенности данного вида к накоплению тяжелых металлов из-за особенностей обмена веществ. К тому же цинк относится к менее токсичным и незаменимым микроэлементам, обусловливающим жизненно важные функции в организме дождевых червей, в том числе – в работе ферментов [9, с. 417].

Таким образом, при вермикультивировании дождевых червей, относящихся к почвенно-подстилочному типу, на вторичном субстрате (биогумусе) наблюдается уменьшение коэффициента аккумуляции, что может свидетельствовать о снижении активности тяжелых металлов.

Влияние изменения pH на концентрацию поллютантов описано линейной регрессией для аккумуляции тяжелых металлов (табл. 3). Наибольшее значение наблюдается у Zn при вермикультивировании трех почвенно-подстилочных типов дождевых червей. Повышение кадмия описывается только для *P. diplotetratheca* и *E. nordenskioldi.*

Таблица 2

Накопление тяжелых металлов в тканях дождевых червей

Элемент	Коэффициент аккумуляции(ед.)							
	P. diplotetratheca		*L. rubellus*		*E. nordenskioldi*		*A. caliginosa*	
	Почва	Биогумус	Почва	Биогумус	Почва	Биогумус	Почва	Биогумус
Zn	2,3	1,9**	4,2	4,3*	3,1	3,0	0,01	0,01
Cd	1,2	1,1*	0,12	0,01*	1,3	1,2	0,01	0,01
Cu	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Pb	0,21	0,01*	0,15	0,01*	0,16	0,01*	0,01	0,01

Примечание. * – $p < 0,05$, **– $p < 0,01$.

Таблица 3

Зависимость концентрации тяжелых металлов в тканях дождевых червей от кислотности почвенно-подстилочного субстрата

Элемент	Уравнение линейной регрессии		
	P. diplotetratheca	*L. rubellus*	*E. nordenskioldi*
Zn	$y = 185,5 + 12,2x$ $r = 0,57$*	$y = 124 + 7,8x$ $r = 0,54$*	$y = 100 + 4,6x$ $r = 0,62$**
Cd	$y = 66,5 + 22,1x$ $r = 0,32$*	–	$y = 33,5 + 6,1x$ $r = 0,12$

Примечание. y – ожидаемое значение концентрации элемента; x – pH; прочерк – элиминация элемента; r – коэффициент корреляции Пирсона; уровень значимости * – $p < 0,05$, **– $p < 0,01$.

Возможно, данную тенденцию можно объяснить малым временем экспозиции, из-за низкой выживаемости люмбрицид, по причине которой не представляется возможным до конца оценить поведение металлов или измерение концентрации элементов в начале и конце эксперимента, поскольку статистически достоверное изменение уровня pH можно зарегистрировать исходя из чувствительности лабораторного оборудования. К тому же, уровень корреляции для Cd оказался низким, вероятно накопление данного элемента идет ступенчато и после некоторого количества накопления идет процесс элиминации. Данная тенденция наблюдается только у вида *P. diplotetratheca,* для вида *E. nordenskioldi* показатель корреляции оказался низким и недостоверным.

Подобные тенденции изменения pH наблюдались Бейкером с соавторами на виде *A. longa*, при этом исследователи отмечали незначительное изменение показателя даже при дополнительном внесении извести на поверхность почвы и продолжительности эксперимента в 6 недель. Тем не менее полученные результаты свидетельствуют о влиянии кислотности почвенно-подстилочного субстрата на кинетику тяжелых металлов. Данную тенденцию можно объяснить не только снижением или увеличением подвижности тяжелых металлов в процессе депонирования с участием живых организмов, но и физико-химическими свойствами элементов, характеризующимися разной степенью растворимости солей. Поскольку дождевые черви выполняют важную функцию в насыщении почвы карбонат-анионами (CO_3^{2-}), можем предположить, что происходит реакция образования нерастворимых карбонатов, тем самым происходит изменение степени подвижности тяжелых металлов из процесса передвижения в живых организмах.

Исходя из данных о снижении подвижности тяжелых металлов в процессе вермикультивирования, можно дать следующие рекомендации:

1. Если проводить вермикультивирование на территории Среднего Урала, при загрязнении почвы свинцом, рекомендуем использовать доминирующий по биомассе среди люмбрицид местный вид *P. diplotetratheca.*

2. Для большей части России, при загрязнении почв несколькими поллютантами (Cd, Pb) на фоне подкисления, оптимальным видом для биоремедиации является *L. rubellus.*

3. Для всех видов дождевых червей рекомендуется вермикультивирование по методике Д. Баррета для открытых грунтов и закрытых производств, модификация которой была применена нами в лабораторных условиях.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16-34-00339 мол_а.

Список литературы / References

1. Кайгородова С.Ю., Воробейчик Е.Л. Трансформация некоторых свойств серых лесных почв под действием выбросов медеплавильного комбината // Экология. 1996. № 3. С. 187–193.

Kaigorodova S.Yu., Vorobeichik E.L. Changes in certain properties of grey forest soil polluted with emissions from a copper-smelting plant // Russian Journal of Ecology. 1996. Т. 27. № 3. P. 177–183.

2. Chopin E.I., Marin B., Mkoungafoko R., Rigaux A., Hopgood M.J., Delannoy E., Cancès B., Laurain M. Factors affecting distribution and mobility of trace elements (Cu, Pb, Zn) in a perennial grapevine (Vitisvinifera L.) in the Champagne region of France. Environ. Pollut. 2008. P. 1092–1098. DOI: 10.1016/j.envpol.2008.04.015.

3. Fan J.H., He Z.L., Ma L., Stoffella P.J. Accumulation and availability of copper in citrus grove soils as affected by fungicide application. J. Soils Sediments. 2011. P. 639–648. DOI: 10.1007/s11368-011-0349-0.

4. Blouin M., Hodson M.E., Delgado E.A., Baker G., Brussaard L., Butt K.R., Dai J., Dendooven L., Tondoh J.E., Cluzeau D., Brun J.-J. A review of earthworm impact on soil function and ecosystem services. Eur. J Soil Sci. 2013. Vol. 64. Issue 2. P. 161–182. DOI: 10.1111/ejss.12025.

5. Carnovalea D., Baker G., Bissett A., P. Thrall. Earthworm composition, diversity and biomass under three land use systems in south-eastern Australia. Applied Soil Ecology. 2015. V. 88 P. 32–40. DOI: 10.1016/j.apsoil.2014.12.002.

6. Nesterkova D.V., Vorobeichik E.L., Reznichenko I.S. The Effect of Heavy Metals on the Soil Earthworm European Mole Food Chain under the Conditions of Environmental Pollution Caused by the Emissions of a Copper Smelting Plant. Contemporary Problems of Ecology. 2014. Vol. 7. No. 5. P. 587–596.

7. Резниченко И.С. Сравнительный анализ методик очищения пищеварительной системы дождевых червей для экотоксикологических исследований на Eisenia fetida (Savigny, 1826) // Фундаментальные исследования. 2013. № 6–5. С. 1156–1159.

Reznichenko I.S. Comparative Analysis of Techniques Cleansing Digestive Tract Earthworms for an Example Ecotoxicological Studies Eisenia Fetida (Savigny, 1826) // Fundamental research. 2013. № 6–5. P. 1156–1159.

8. Jun Dai, Thierry Becquer, James Henri Rouiller, Georges Reversat, France Bernhard-Reversat, Johanne Nahmani, Patrick Lavelle Heavy metal accumulation by two earthworm species and its relationship to total and DTPA-extractable metals in soils. Soil Biol. Biochem. 2004. Vol. 36. no. 1. P. 91–98. DOI: 10.1016/j.soilbio.2003.09.001.

9. Laycock A., Diez-Ortiz M., Larner F., Dybowska A., Spurgeon D., Valsami J., M. Rehkämper, C. Svendsen. Earthworm Uptake Routes and Rates of Ionic Zn and ZnO Nanoparticles at Realistic Concentrations, Traced Using Stable Isotope Labeling. Environ. Sci. Technol. 2016. No. 50. P. 412–419. DOI: 10.1021/acs.est.5b03413.