



ГОСУДАРСТВЕННОЕ ПАТЕНТНОЕ
ВЕДОМСТВО
(12) **Описание изобретения**
К ПАТЕНТУ

(21) 95000194

(22) 05.01.1995

(46) 24.11.1999, Бюл.№ 3 (15)

(72) Мельникова Валентина Владимировна (TJ)

(71)(73) Отраслевая научно-исследовательская лаборатория сейсмостойкости электрооборудования (TJ)

(56) Авторское свидетельство СССР № 1092412, кл. G 01N 33/24, 1984.

Штина Э.А. “Принципы и методы использования почвенных водорослей для биоиндикации загрязнения почвы” // Тр.ВНИИ с.-х. микробиологии.- 1983. - Т.52.-С26-32.

(54) СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СТЕПЕНИ АЭРОТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПОЧВ

(57) Изобретение относится к почвоведению, микробиологии, ботанике и охране окружающей среды от аэротехногенных воздействий, а именно к определению загрязнения почв выбросами промышленных предприятий.

Данный способ позволяет в течение 2-3 ч. определить степень аэротехногенного загрязнения почв выбросами промышленных предприятий, используя морфологические изменения природной популяции одноклеточной диатомовой водоросли *Hantzshia amphioxys* (Ehr.) Jun. f. *amphioxys*.

Изобретение относится к почвоведению, микробиологии, ботанике, охране окружающей среды от аэротехногенных воздействий, а именно к определению загрязнения почв выбросами промышленных предприятий.

Известен способ определения степени загрязнения почв тяжелыми металлами [1]. Сущность способа заключается в выращивании почвенных микроорганизмов непосредственно в почве с внесением в нее органических источников углерода, а степень загрязнения определяют по изменению структуры и состава сообществ микроорганизмов в почве путем ее прямого микроскопирования в сканирующем электронном микроскопе. По структуре и составу микробного сообщества, выращенного непосредственно в почве, анализируется стабильность микробной системы почв к воздействию тяжелых металлов, а определение степени загрязнения осуществляется по изменению этой стабильности.

Недостатком способа является необходимость привлечения высококвалифицированных специалистов для определения состава микробного сообщества в электронном микроскопе, а также длительность (30 суток) выращивания микроорганизмов в почве.

Наиболее близким техническим решением является способ определения степени загрязнения почв, сущность которого заключается в выращивании водорослей после посева почвы в водной питательной стерильной среде, или при выдерживании в увлажненном состоянии на свету до появления микроскопических разрастаний. Степень загрязнения определяется по изменению структуры и состава сообществ (группировок) почвенных водорослей.

Недостатками данного способа являются:

- трудоемкость, так как для появления микроскопических разрастаний водорослей в водных и почвенных культурах требуется 30 суток и более;

- недостаточная чувствительность и информативность, так как способ, основанный на изменении структуры и состава сообществ почвенных водорослей, является в значительной степени качественным (не поддающийся непосредственному измерению).

Цель изобретения - снижение трудоемкости, повышение чувствительности и информативности определения степени аэротехногенного загрязнения почвы.

Поставленная цель достигается тем, что в способе определения степени аэротехногенного загрязнения почв, включающем отбор проб и их микроскопирование, в качестве биологического индикатора используют природную популяцию диатомовой почвенной водоросли *Hantzschia amphioxys* f. *amphioxys* из свежевзятой пробы, в течение 2-3 часов определяют её морфологические изменения (длину створки), а степень загрязнения оценивают по разности этого показателя в контрольной и испытываемой пробе путем прямого микроскопирования обычным световым микроскопом.

При осуществлении способа проводят измерение размеров отдельных особей в выборках из природных популяций одноклеточной диатомовой водоросли *Hantzschia amphioxys* (Ehr.) Grun. f. *amphioxys* и затем вычисляют биометрические характеристики среднеарифметического значения длины створок (X , мкм), среднего квадратичного отклонения (SX , мкм) и дисперсии (σ^2 , мкм).

Размеры определяют с помощью окулярмикрометра путем прямого микроскопирования свежевзятой почвы, так как *Hantzschia amphioxys* f. *amphioxys* легко обнаруживается среди почвенных частиц под обычным световым микроскопом при увеличении $X7$ (окуляр) и $X60$ ($X70$) (объектив). В качестве контрольных выбирают участки в районах незначительного аэротехногенного воздействия. На анализ одного почвенного образца требуется 2-3 часа. Степень загрязнения оценивают по разности средних значений длины створок в контрольной и испытываемой почве.

Предлагаемый способ, основанный на количественной оценке состояния биоиндикатора с помощью биометрических характеристик, является более точным, информативным, позволяет значительно ускорить определение степени загрязнения почвы (2-3 часа) по сравнению с прототипом (более 30 суток).

На диаграмме фиг.1 (табл.1) показано уменьшение размеров *Hantzschia amphioxys* f. *amphioxys* (% к контролю) в зависимости от расстояния источников выбросов загрязняющих веществ (во всех направлениях, отличие от контроля до 5% не достоверно).

Эксперименты по определению аэротехногенного загрязнения почв проводились в естественных условиях на зональных светлых и темных сероземах, испытывающих влияние выбросов промышленных предприятий.

Пример 1. Исследования выбросов алюминиевого завода.

В качестве биоиндикатора использовали *Hantzschia amphioxys* f. *amphioxys*, из темных сероземов, формирующихся при достаточном увлажнении в зимне-весенний период, с содержанием гумуса от 2,5 до 4,0%, со слабо щелочной реакцией среды ($pH = 7,7 - 7,9$).

Отбор почвенных проб, загрязненных фтором промышленных выбросов, осуществляют в местах, расположенных по концентрическим окружностям или вдоль трансекты преобладающего направления ветра на участках с выраженной дерниной, расположенных на разных удалениях от источника воздействия, выборочным методом с соблюдением случайности отбора. На каждом участке отбирают 5 индивидуальных почвенных образцов. Глубина взятия почвенных образцов из верхнего дернового горизонта 0 - 1 см. Отбор проб проводят в период вегетации растений в условиях аридного климата Средней Азии - в ранне-весенний (март-апрель) и осенний (октябрь-ноябрь) влажные сезоны года. Препараты для микроскопирования готовят из свежевзятой почвы.

В препаратах, приготовленных из индивидуальных почвенных образцов, проводят измерение длины створок не менее чем у 20 особей в каждом образце. В пяти индивидуальных почвенных образцах (на каждом участке) измерения проводят не менее, чем у 100 особей.

Сведения о размерах особей *Hantzchia amphioxys* f. *amphioxys*, зафиксированные в дневнике (журнале), представляют первичный фактический материал для соответствующей обработки. Они группируются в вариационные ряды или ряды распределений.

Длина створок, мкм	24 26 28 30 32 34
Число случаев (особей частоты)	2 4 3 6 8 10

Частоты выражаются абсолютными или относительными числами - в процентах от общей численности вариантов, составляющих данную совокупность. По вариационному ряду вычисляют общую среднюю величину длины створки ($\bar{X}$), среднее квадратичное отклонение (SX) и показатель вариации (σ^2).

Пример расчета токсичности почвы.

Среднее значение длины створок в контроле (условно фоновая почва) - 44,8 мкм, что принимают за 100%, а размеры клеток в загрязненных почвах - за $\bar{X}$.

Контроль -	44,8 - 100
Опыт -	29,7 - $\bar{X}$
	$\bar{X} = 66,3$

Токсичность почвы или процент ингибирования роста равен $100 - 66,3 = 33,7\%$.

Параллельно проводились химические анализы на содержание в почве воднорастворимого фтора (HF). Ингибирование роста не более, чем на 15%, отмеченное при содержании в почве водорастворимого фтора от 2,1 до 3,6 мг/кг, свидетельствует о начинающемся, еще слабом, загрязнении почв. Ингибирование роста на 20 - 30% происходит при содержании фтора от 5 до 10 мг/кг и является показателем средней степени загрязнения почв. При максимальном уровне фтора в почве от 75,05 до 119,22 ($\bar{X}=92,94$) на отдельных участках пром-площадки практически полностью подавлено развитие *Hantzchia amphioxys* (Ehr.) Jrum. f. *amphioxys* - обнаруживались лишь единичные пустые панцири (мертвые клетки). Это свидетельствует о сильном загрязнении почвы фтором. Уменьшение длины створок, не выходящее за пределы стандартного отклонения от средних значений в контроле (до 5%), показывает, что данная почва не испытывает влияния загрязняющих веществ (в основном фтора).

Наличие корреляции ингибирования роста от содержания в почве водорастворимого фтора (фиг.2) доказывает принципиальную возможность использования предлагаемого способа для оценки загрязнения почв фтором, являющимся основным компонентом в выбросах алюминиевого завода.

Пример 2. Исследования в районе азотно - тукового завода, где основными загрязняющими веществами являются аммиак, окислы азота и углерода, а также пыль карбомида.

В качестве биоиндикатора использовали - штамм из светлых сероземов, развивающихся в жарких и засушливых условиях, отличающихся высокой карбонатностью, незначительным содержанием гумуса (не более 1%), слабо обеспеченных подвижными фосфатами.

Источник загрязнения - Вахшской азотно-туковый завод (ВАТЗ). Выбрасывает в атмосферу аммиак, окислы азота и углерода, а также пыль карбомида.

При загрязнении техногенным азотом в качестве индикационных использованы такие показатели, как средние значения длины клеток ($\bar{X}$) и варинса (σ^2). (табл.2).

При содержании аммиака, достигающем 7,8 ПДК, в радиусе до 1 км от завода процент ингибирования достигает 20%. Появляются отклонения от нормальной кривой распределения и возникает ассиметричность распределения длины панциря *Hantzchia amphioxys* (Ehr.) Jrum. f. *amphioxys* (положительная ассиметрия). Она выражается в виде скошенной вариационной кривой, вершина которой находится левее центра распределения ($\bar{X}$).

По мере удаления от источника загрязнения и снижения концентрации аммиака до 1,3 ПДК на расстоянии 1,5-3,0 км отмечается стимуляция роста. При этом значительно увеличивается значение варинсы (σ^2). Изменяется и характер кривой распределения частот - появляется многовершинность (отрицательный эксцесс).

Пример 3. Исследования в районе Яванского электрохимического завода, где основным загрязняющим природную среду веществом является хлор.

Индикационным показателем загрязнения хлором является возрастание величины σ^2 (вариансы) по сравнению с контролем (табл.3).

Предлагаемый способ может быть использован для исследования и контроля загрязнения почв в различных почвенно-климатических условиях (биологического мониторинга) фтористыми соединениями (в основном высокотоксичным HF) в районах выбросов загрязняющих веществ металлургических производств, кирпичных, керамических, стекольных заводов, заводов по производству фосфатных удобрений, азотных соединений и хлора. *Hantzschia amphioxys* f. *amphioxys* чувствительна также к загрязнению среды выбросами ТЭЦ и цементных заводов. Возможно использование предлагаемого способа при оценке размеров ареалов воздействия выбросов различных загрязняющих веществ на природную среду и при разработке предельно допустимых концентраций (ПДК) загрязняющих веществ в почве.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Способ определения степени аэротехногенного загрязнения почв, включающий отбор проб, использование биоиндикатора и микроскопирование проб, *о т л и ч а ю щ и й с я* тем, что в качестве биологического индикатора используют природную популяцию диатомовой почвенной водоросли *Hantzschia amphioxys* (Ehr.) Jrm. f. *amphioxys* из свежевзятой пробы, в течение 2-3 часов определяют её морфологические изменения (длину створки), а степень загрязнения оценивают по разности этого показателя в контрольной и испытуемой пробе путем прямого микроскопирования обычным световым микроскопом.

Таблица 1

Биометрические показатели длины створок
Hantzschia amphioxys f. *amphioxys*

Направление от источника загрязнения	Расстояние от источника загрязнения, км	$\bar{X} \pm S\bar{X}$, мкм	σ^2 , мкм
Промплощадка	0,0	33,2±0,63	1,21
Юго-западное (ЮЗ)	0,2	29,6±0,93	3,48
— —	1,5	36,2±1,44	8,36
— —	5,0	36,6±0,44	7,48
— —	10,0	38,2±0,78	1,82
— —	20,0	38,0±0,56	1,93
— —	50,0	40,0±1,23	2,06
Северо-восточное (СВ)	0,3	34,5±0,87	3,05
— —	3,0	36,0±0,85	2,91
— —	20,0	39,2±0,27	1,80
— —	25,0	44,4±1,37	7,52
Контроль (СВ)	50,0	44,8±1,52	9,35

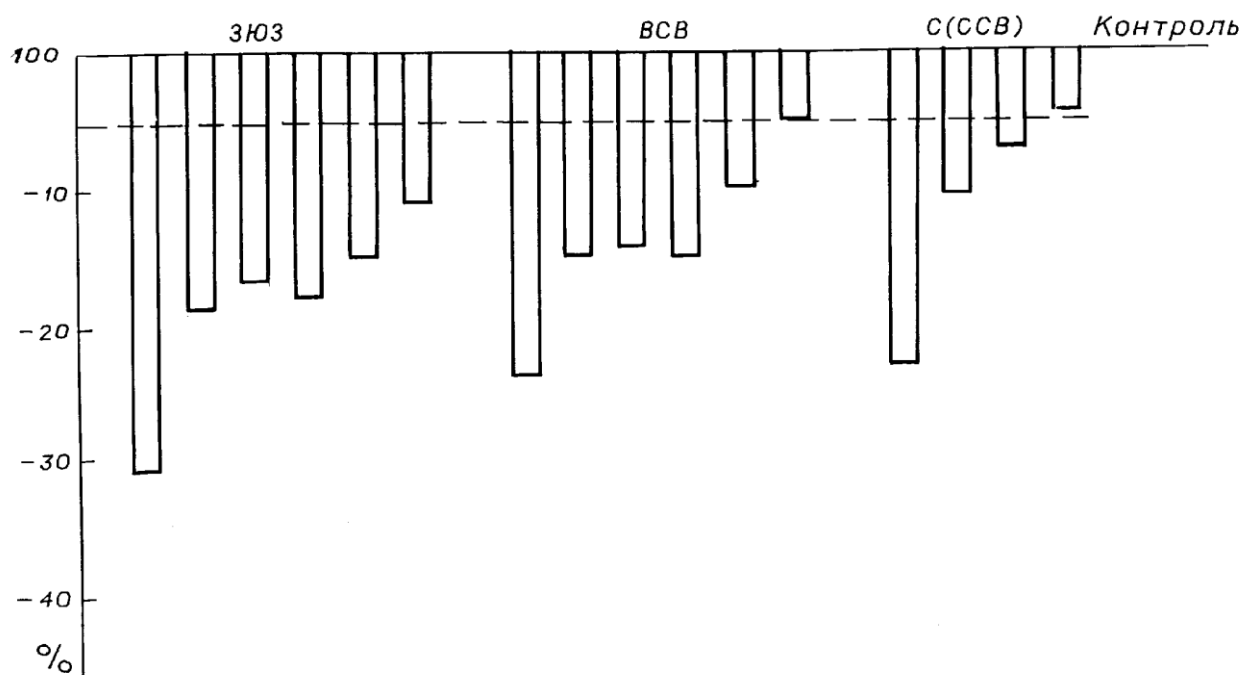
Таблица 2

Направление от источника загрязнения	Расстояние от источника за-	$\bar{X} \pm S\bar{X}$, мкм	σ^2 , мкм
--------------------------------------	-----------------------------	------------------------------	------------------

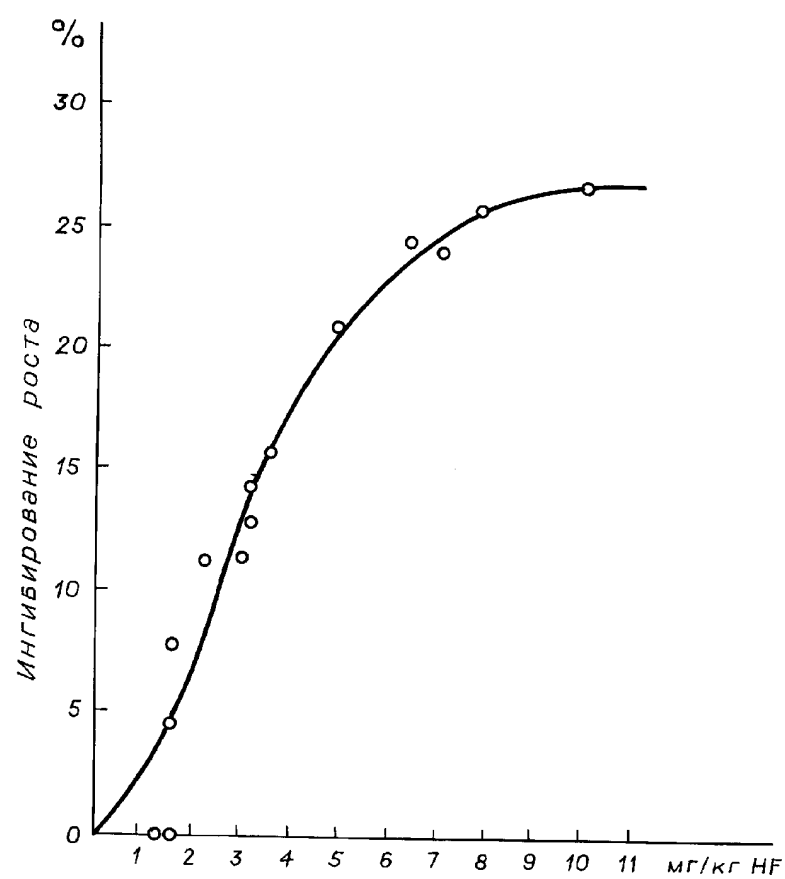
	грязнения, км		
Контроль (северное)	20,0	$42,2 \pm 0,67$	45,600
У административного корпуса	0,0	$34,0 \pm 0,66$	32,400
Сквер у завода	0,0	$35,9 \pm 1,29$	31,500
Юго-восточное (ЮВ)	0,8	$35,8 \pm 0,43$	19,600
Южное (Ю)	1,5	$51,4 \pm 2,30$	208,000
—”—	3,0	$47,2 \pm 1,69$	80,000
—”—	7,4	$42,1 \pm 1,17$	8,237

Таблица 3

Направление от источника загрязнения	Расстояние от источника загрязнения, км	$X \pm SX$, мкм	σ^2 , мкм
Северное (контроль)	20,0	$42,16 \pm 0,41$	20,7
Промплощадка (цех №1)	0,0	$43,80 \pm 0,36$	20,8
Заводская территория (у административного корпуса)	0,0	$44,50 \pm 0,85$	46,7
Восточное (В)	0,8	$50,70 \pm 1,10$	197,0
Юго-западное (ЮЗ)	2,3	$49,9 \pm 0,80$	71,6
—”—	4,5	$41,4 \pm 0,88$	73,3



Фиг. 1



Фиг. 2