

ОЦЕНКА ЗАГРЯЗНЕНИЯ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА Г. СТЕРЛИТАМАК РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН С ПРИМЕНЕНИЕМ МЕТОДА БИОТЕСТИРОВАНИЯ

Арефьева А.А.¹, Курамшина З.М.¹, Панченко А.А.²

¹Стерлитамакский филиал ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет», Стерлитамак, e-mail: steise1502@gmail.com;

²Стерлитамакское ТУ Минэкологии РБ, Стерлитамак, e-mail: alina-8706@rambler.ru

Цель данной работы – оценка воздействия выбросов автотранспорта на воздушную среду г. Стерлитамак. Оценку проводили путем анализа состояния снежного покрова в различных функциональных зонах г. Стерлитамак с помощью биотестирования на кресс-салате и дафнии магна. В эксперименте применяли эндофитные бактерии *Bacillus subtilis* 26Д, т. к. известно, что эндофитные штаммы *B. subtilis* способны стимулировать рост растений благодаря своей биологической активности. В результате установили, что меньшие показатели роста и всхожести растений кресс-салата и выживаемости дафний были получены для проб, отобранных на дорожных перекрестках, на участках с интенсивным движением транспортных средств или в непосредственной близости от автотрассы. Высокие показатели получили для проб, взятых в точках с кольцевым движением, с небольшой интенсивностью движения или расположенных в отдалении от проезжей части. Также результаты исследований показали, что при обработке семян кресс-салата эндофитными бактериями *Bacillus subtilis* 26Д ростовые показатели и показатель всхожести были выше, чем у необработанных. При выращивании дафний в пробирках с талым снегом с добавлением эндофитных бактерий их количество также выше, чем в пробирках, не содержащих бактерий.

Ключевые слова: атмосферный воздух, автотранспорт, вредные выбросы, загрязнение, снежный покров, *Bacillus subtilis*, кресс-салат, дафния магна.

ASSESSMENT OF POLLUTION OF ATMOSPHERIC AIR OF STERLITAMAK OF THE REPUBLIC OF BASHKORTOSTAN WITH APPLICATION OF THE METHOD OF BIOTESTING

Arefyeva A.A.¹, Kuramshina Z.M.¹, Panchenko A.A.²

¹Sterlitamak branch of the Federal State Budget-Funded Educational Institution of Higher Education «The Bashkir state university», Sterlitamak, e-mail: steise1502@gmail.com;

²Sterlitamak territorial administration of the Ministry of environmental management and ecology of the Republic of Bashkortostan, Sterlitamak, e-mail: alina-8706@rambler.ru

The purpose of this work is an assessment of impact of emissions of motor transport on atmospheric air of Sterlitamak. The assessment was carried out by the analysis of a condition of snow cover in various functional zones of Sterlitamak by means of biotesting on a watercress and *Daphnia Magna*. Endophytic bacteria *Bacillus subtilis* 26D was employed in an experiment because it is known that endophytic strains *B. subtilis* are capable to promoting growth of plants because of biological activity. The study found that smaller indicators of growth and germination of seeds of watercress and survival of *Daphnia Magna* have been received for the samples which were selected at road intersections, on sites with heavy traffic of vehicles or in close proximity to a highway. High indicators have received for the samples which were taken in place with circular movement, with small intensity of the movement or located in a distance from the roadway. Also results of researches have shown that growth indicators and an indicator of germination of cress were higher in plants inoculated with *Bacillus subtilis* 26D in comparison with the uninoculated. At cultivation of *Daphnia Magna* in tubes with melting water with addition the endophytic bacteria their quantity was also higher, than in the test tubes which weren't containing bacilli.

Keywords: atmospheric air, motor transport, harmful emissions, pollution, snow cover, *Bacillus subtilis*, watercress, *Daphnia Magna*.

Атмосферный воздух – жизненно важный компонент окружающей природной среды, представляющий собой естественную смесь газов атмосферы, находящуюся за пределами жилых, производственных и иных помещений [13]. Урбанизированная среда заметно

изменяет отдельные свойства атмосферного воздуха, его качественный и количественный состав.

Стерлитамак – крупный центр химической промышленности с хорошо развитой транспортной системой. Всего в городе расположено более 130 природопользователей. Однако основным источником загрязнения атмосферного воздуха является автотранспорт, его вклад достигает 50 %, а в некоторых городах и превышает эту отметку [5].

В выхлопных газах содержится более 200 компонентов, среди которых огромное количество канцерогенных веществ (бензол, формальдегид, бенз(а)пирен, свинец) [4]. Также с выбросами автотранспорта в атмосферный воздух поступает большое количество окиси углерода, окислов азота и различных углеводородов [3]. Указанные вещества оказывают негативное влияние как на растительный и животный мир, так и на человека. Выхлопные газы ускоряют процессы старения растений и сокращают сроки их жизни, искажают декоративные характеристики городских насаждений [9]. Свинец отрицательно воздействует на прорастание семян, на рост корней в длину и образование корневых волосков, способен вызывать потерю тургора у клеток растений [1]. Негативное воздействие выбросов автотранспорта на человека проявляется в развитии у него широкого спектра заболеваний, таких как бронхит, пневмония, бронхиальная астма, сердечная недостаточность, инсульт, язва желудка и др. [10].

В Стерлитамаке сейчас числится 81386 единиц автотранспорта. Пропускная способность улиц при планировании города составляла лишь 19000 единиц транспорта. Очевидна огромная нагрузка автотранспортных средств на улицы города.

Целью работы явилась оценка воздействия выбросов автотранспорта на воздушную среду г. Стерлитамак методом анализа снежного покрова.

Материалы и методы исследования

Одним из самых доступных методов оценки состояния атмосферного воздуха является мониторинг снежного покрова. Снег обладает высокой сорбционной способностью и является носителем не только влажных, но и сухих выпадений, поэтому дает объективную оценку всех атмосферных загрязнений за зимний период [12].

В зимний период 2015 г. был исследован снежный покров г. Стерлитамак для определения токсичности, взято 9 проб. Пробоотбор для определения загрязненности снега проводился методом «конверта» на квадрате со сторонами 10 × 10 м на улицах города. В качестве фоновых точек были выбраны участки в 10 и 40 км от г. Стерлитамак, т.к. эти точки испытывали минимальное антропогенное воздействие и концентрация вредных веществ здесь наименьшая. Оценку степени загрязнения снежной пробы проводили путем

определения его токсичности с помощью метода биотестирования на разных тест-объектах: кресс-салате (*Lepidium sativum* L.) и дафнии магна (*Daphnia magna* Straus).

Известно, что эндофитные бактерии обладают ростстимулирующим действием и способностью повышать устойчивость растений к неблагоприятным факторам среды (засоление, засуха, воздействие избыточных концентраций солей тяжелых металлов) [6, 8]. Однако не известно о способности *Bacillus subtilis* повышать устойчивость растений к негативному воздействию выбросов автотранспорта. Поэтому перед началом эксперимента часть семян, предварительно простерилизованных 70%-ным этанолом, обрабатывалась *Bacillus subtilis* шт. 26Д (в концентрации 10^6 кл/мл), остальная часть семян обрабатывалась дистиллированной водой и служила контролем. Обработку семян бактериями проводили в ламинар-боксе. Семена обрабатывали раствором бацилл из расчета на 1 г семян 20 мкл клеток бактерий, выдерживали в течение часа, затем высаживали в стерильные чашки Петри (d = 140 мм, h = 24 мм) на фильтровальную бумагу. Перед раскладкой семян бумагу увлажняли до полного насыщения снеговой водой, отобранной в точках пробоотбора, или дистиллированной водой, которую использовали в качестве контроля. Семена проращивали в течение 14-ти суток при дневном освещении и температуре 25 °С. На 14-е сутки подсчитывали количество проросших семян и измеряли массу и длину растений.

При биотестировании на дафниях определяли их смертность при воздействии токсических веществ, присутствующих в исследуемой водной среде, по сравнению с контрольной культурой в пробах, не содержащих токсических веществ (контроль). Критерием острой токсичности служила гибель 50 % и более дафний за 96 часов в исследуемой воде при условии, что в контрольном эксперименте гибель не превышала 10 % [14].

Эксперименты проводили в трех биологических повторностях. Статистическую обработку результатов проводили при использовании стандартного пакета Microsoft Office Excel 2007 и программы StatPlus 2009. В таблицах представлены средние значения и стандартные ошибки.

Результаты исследования и их обсуждение

Установлено, что в промышленных городах выбросы автотранспорта преобладают над выбросами предприятий. При этом содержание вредных веществ в атмосферном воздухе на автодорогах может превышать предельно допустимые концентрации в 5–10 раз [11]. С каждым годом уровень вредного воздействия автотранспорта на окружающую среду существенно возрастает, поэтому необходим систематический сбор и анализ информации о содержании в воздухе загрязняющих веществ, т. е. мониторинг. Данная информация может быть получена в результате анализа состояния снежного покрова.

В качестве показателей биотестирования для кресс-салата обычно используют такие тест-функции, как количество проросших семян, масса и длина растений.

В наших исследованиях мы использовали данные тест-функции и получили следующие результаты: наименьшее количество проросших семян кресс-салата, необработанных бактериями, получили для проб, отобранных на улицах Дом Связи, Дом Радио, Горгаз и Элеваторная (1 м от дороги). Количество проросших семян кресс-салата в вышеперечисленных точках в среднем в 1,5 раза меньше, чем в фоновых и контрольной (табл. 1).

Таблица 1

Количество проросших семян растений кресс-салата, шт.

Номера проб	Месторасположение точек пробоотбора	Количество проросших семян	
		Не обр.	Обр. <i>B. sub.</i> 26Д
1	Кольцо Автовокзал	208±2,01	209±0,33
2	Дом Связи	190±0,67	214±1,86
3	Дом Радио	190±0,33	217±1,45
4	Кольцо Вечный огонь	210±1,53	211±0,88
5	Улица Элеваторная (1 м от дороги)	197±0,69	212±1,23
6	Улица Элеваторная (50 м от дороги)	209±1,17	216±1,78
7	Горгаз	189±0,76	201±0,34
8	По Раевскому тракту, фон. точка	240±1,50	252±0,11
9	Голбазы, фон. точка	238±1,23	243±0,99
10	Контроль (H ₂ O дист.)	231±0,73	237±0,25

Наибольшее количество проросших семян, необработанных бациллами, получили для проб снега, взятых на улицах Кольцо Автовокзал, Кольцо Вечный огонь и Элеваторная (50 м от дороги).

При обработке семян растений кресс-салата эндофитами количество проросших семян выше, чем у необработанных. Так, для пробы снега, взятой на улице Дом Радио, количество проросших семян, инокулированных бациллами, выше на 14,2 % по сравнению с необработанными.

Самые низкие показатели массы и длины (табл. 2) получили для следующих улиц: Дом связи, Дом Радио, Горгаз и Элеваторная (1 м от дороги), высокие показатели отметили для улиц Кольцо Автовокзал, Кольцо Вечный огонь и Элеваторная (50 м от дороги). Также отмечаем, что растения кресс-салата, инокулированные бактериями, имеют большую биомассу и длину по сравнению с необработанными. Так, для пробы, отобранной на улице Дом Связи, средняя масса растений кресс-салата, инокулированных *B. subtilis*, выше на 30,1 % по сравнению с необработанными. Для пробы, отобранной на улице Дом Радио,

установили, что средняя длина растений, обработанных эндофитами, выше на 67,2 % по сравнению с необработанными.

Таблица 2

Масса и длина растений кресс-салата

Номера проб	Месторасположение точек пробоотбора	Средняя масса одного растения, г		Средняя длина растений, см	
		Не обр.	Обр. <i>B. sub.</i> 26Д	Не обр.	Обр. <i>B. sub.</i> 26Д
1	Кольцо Автовокзал	0,0305±0,002	0,0310±0,002	9,24±0,74	11,79±0,94
2	Дом Связи	0,0236±0,002	0,0307±0,002	6,58±0,53	10,34±0,83
3	Дом Радио	0,0244±0,002	0,0286±0,002	6,86±0,55	11,47±0,92
4	Кольцо Вечный огонь	0,0306±0,002	0,0312±0,002	8,96±0,72	12,11±0,97
5	Элеваторная (1 м от дороги)	0,0283±0,002	0,0375±0,003	8,08±0,65	11,79±0,94
6	Элеваторная (50 м от дороги)	0,0302±0,002	0,0308±0,002	8,25±0,66	11,94±0,96
7	Горгаз	0,0238±0,002	0,0309±0,002	6,04±0,48	9,98±0,80
8	По Раевскому тракту, фон. точка	0,0315±0,003	0,0330±0,003	9,87±0,79	12,42±0,99
9	Толбазы, фон. точка	0,0309±0,002	0,0316±0,003	8,98±0,72	12,24±0,98
10	Контроль (H ₂ O дист.)	0,0310±0,002	0,0321±0,003	9,33±0,75	12,17±0,97

Из литературных сведений известно, что наибольшее количество загрязняющих веществ поступает в атмосферу при торможении автомобиля. Например, количество выбрасываемого бенз(а)пирена (наиболее стойкий и опасный канцероген среди полициклических ароматических углеводородов) при торможении повышается примерно в 10 раз [2]. Также частое торможение автотранспортных средств приводит к интенсивному истиранию протекторов шин, дорожного покрытия и тормозной системы. В результате этого продукты истирания – частицы фрикционного материала становятся значимым загрязнением для окружающей среды городов [7].

Этим объясняется, что самыми загрязненными улицами в городах обычно являются перекрестки с интенсивным движением транспортных средств, т.к. именно здесь чаще всего наблюдается торможение автотранспортных средств (в основном это связано с тем, что на перекрестках установлены светофоры).

Например, в г. Воронеже, где ведущим источником загрязнения атмосферного воздуха являются выбросы автомобильного транспорта, неблагополучными территориями по уровню загрязнения атмосферного воздуха являются ул. 20 лет Октября и Московский проспект [11]. Эти улицы являются перекрестками с интенсивным движением автотранспорта.

Самое низкое содержание вредных веществ в атмосферном воздухе обычно фиксируют на участках с кольцевым движением, что подтверждают результаты наших исследований: наименьшие показатели количества проросших семян, массы и длины растений кресс-салата были получены для проб, отобранных на дорожные перекрестках с интенсивным движением

автотранспорта (Дом связи, Дом Радио, Горгаз) и в непосредственной близости от дороги (Элеваторная (1 м от дороги)), наибольшие – на участках с кольцевым движением (Кольцо Автовокзал, Кольцо Вечный огонь) и в отдалении от автотрассы (Элеваторная (50 м от дороги)).

Так как для правильной оценки токсичности проб необходимо использовать несколько тест-объектов, также провели анализ проб талого снега путем биотестирования на *Daphnia magna*, для которой используют тест-функцию – выживаемость (табл. 3).

Таблица 3

Количество дафний, выращенных в пробах талого снега, используемых для определения его токсичности

Номера проб	Месторасположение точек пробоотбора	Количество дафний	
		Не обр.	Обр. <i>B. sub.</i> 26Д
1	Кольцо Автовокзал	4±0,32	3±0,21
2	Дом Связи	2±0,16	3±0,22
3	Дом Радио	2±0,15	3±0,23
4	Кольцо Вечный огонь	3±0,24	4±0,31
5	Улица Элеваторная (1 м от дороги)	2±0,13	3±0,22
6	Улица Элеваторная (50 м от дороги)	5±0,40	3±0,24
7	Горгаз	2±0,14	5±0,36
8	По Раевскому тракту, фон. точка	4±0,30	6±0,41
9	Толбазы, фон. точка	5±0,37	6±0,46
10	Контроль (H ₂ O дист.)	5±0,35	7±0,54

Как и в экспериментах с кресс-салатом наименьшее количество дафний, выращенных в пробах, не содержащих бактерий, получили в пробирках с талым снегом, отобранном на перекрестках с интенсивным дорожным движением (Дом связи, Дом Радио, Горгаз) и на близком расстоянии от автотрассы (Элеваторная (1 м от дороги)). Наибольшее количество дафний, выращенных в пробах, не содержащих бактерий, получили для проб снега, отобранных на участках с кольцевым движением (Кольцо Автовокзал, Кольцо Вечный огонь) и находящихся в отдалении от автотрассы (Элеваторная (50 м от дороги)). При выращивании дафний в пробирках с талым снегом с добавлением эндофитных бактерий их количество выше в 1,3 раза, чем в пробирках, не содержащих бактерий.

С целью установления достоверности полученных данных была проведена статистическая обработка результатов эксперимента и были подсчитаны коэффициенты корреляции. Для результатов по количеству проросших семян кресс-салата был получен коэффициент корреляции, равный $-0,72$; для результатов по количеству дафний этот показатель составил $-0,90$. В соответствии с классификацией Чеддока связь высокая и значимая. На основании этих данных сделали вывод, что наиболее чувствительным тест-

объектом для определения токсичности проб снега является дафния магна, т.к. коэффициент корреляции в данном случае больше. Следовательно, оценка существующего уровня загрязнения воздуха г. Стерлитамак была наиболее достоверно произведена с применением метода биотестирования на тест-объекте дафния магна.

Заключение

Проведена оценка существующего состояния воздушного бассейна города с развитой транспортной инфраструктурой. Предложено изучение загрязнения воздушного бассейна урбанизированной территории путем оценки токсичности проб снежного покрова методом биотестирования на тест-объектах: дафнии магна и кресс-салате.

Определено, что количество проросших семян и ростовые показатели растений кресс-салата, инокулированных *B. subtilis* 26Д, превышают те же показатели у растений, не обработанных эндофитами, что свидетельствует о способности *B. subtilis* повышать устойчивость растений к негативному воздействию вредных выбросов автотранспорта. Защитный эффект, оказываемый эндофитами на растения, возможно связан с тем, что по некоторым данным бактерии из рода *Bacillus* способны поглощать ионы кадмия, цинка, меди и свинца, источником которых является автотранспорт [15]. Отметим также, что эндофитные штаммы *B. subtilis* толерантны к антропогенным воздействиям, обладают высокой физиологической активностью, участвуют в стимуляции роста растений, улучшают их водное и минеральное снабжение.

Следовательно, преинокуляция семян эндофитными бактериями повышает устойчивость растений к действию выбросов автотранспорта, что можно принять во внимание при озеленении территорий, располагающихся в непосредственной близости от автодорог.

Список литературы

1. Байсеитова Н.М. Фитотоксичное действие тяжёлых металлов при техногенном загрязнении окружающей среды / Н.М. Байсеитова, Х.М. Сартаева // Молодой учёный. – 2014. – № 2. – С. 382–384.
2. Вольнов А.С. О системном подходе к оценке влияния автотранспортных средств в процессе эксплуатации на экологию городов / А.С. Вольнов, Л.Н. Третьяк // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2014. – № 1 (162). – С. 161–166.
3. Друзьянова В.П. Автотранспорт и окружающая среда / В.П. Друзьянова, Е.Е. Анисимов // Science and world. – 2013. – № 2. – С. 52–53.

4. Зорин А.В. Каталитические нейтрализаторы отработавших газов, изготовленные без применения благородных металлов для бензиновых ДВС / А.В. Зорин, В.В. Пермяков, А.А. Усольцев, Н.С. Каминский // Евразийский Союз Ученых (ЕСУ). – 2014. – № 7–2. – С. 13–15.
5. Иванов А.В. Автотранспорт как основной источник загрязнения воздушного бассейна на территории юго-восточного региона республики Татарстан / А.В. Иванов, Е.А. Тафеева // Вестник НЦ БЖД. – 2011. – № 1 (7). – С. 95–99.
6. Курамшина З.М. Повышение толерантности *Triticum aestivum* к кадмий-стрессу с помощью эндофитных штаммов *Bacillus subtilis* / З.М. Курамшина, Ю.В. Смирнова, Р.М. Хайруллин // Физиология растений. – 2016. – № 5. – С. 679–687.
7. Леванчук А.В. Загрязнение окружающей среды продуктами эксплуатационного износа автомобильно-дорожного комплекса / А.В. Леванчук // Гигиена и санитария. – 2014. – № 6. – С. 17–21.
8. Максимов И.В. Стимулирующие рост растений бактерии в регуляции устойчивости растений к стрессовым факторам / И.В. Максимов, С.В. Веселова, Т.В. Нужная, Е.Р. Сарварова, Р.М. Хайруллин // Физиология растений. – 2015. – № 6. – С. 763–775.
9. Мелькумов Г.М. Зависимость состояния древесных растений парковой зоны города Воронежа от уровня загруженности улиц автотранспортом / Г.М. Мелькумов, В.А. Агафонов // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2012. – № 1. – С. 116–120.
10. Пензерь Д.А. Влияние автотранспорта на окружающую среду / Д.А. Пензерь, А.Р. Ахметова, Р.М. Муртаева, Л.В. Колчина // Экология России: на пути к инновациям: межвузовский сборник научных трудов, выпуск 7. – Астрахань, 2013. – С. 94–97.
11. Пичужкина Н.М. Мониторинг загрязнения атмосферного воздуха / Н.М. Пичужкина, Н.Е. Савенкова, Н.В. Овсянникова // Научно-медицинский вестник Центрального Черноземья. – 2014. – № 57. – С.45–48.
12. Сергеева А.Г. Снежный покров как индикатор состояния атмосферного воздуха в системе санитарно-экологического мониторинга / А.Г. Сергеева, Н.Г. Куимова // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2011. – № 40 – С. 100–104.
13. Федеральный закон от 4 мая 1999 г. N 96-ФЗ «Об охране атмосферного воздуха» (принят ГД 02.04.1999; одобрен СФ 22.04.1999) (ред. от 13.07.2015) // Информационно-правовое обеспечение «Гарант». URL: <http://ivo.garant.ru/#/document/12115550:0> (дата обращения: 16.07.2016).
14. ФР.1.39.2007.03222. Методика выполнения измерений. Биологические методы контроля. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний. – М.: «Акварос», 2007. – 41 с.

15. Da Costa A.C.A. Bioaccumulation of copper, zinc, cadmium and lead by *Bacillus sp.*, *Bacillus cereus*, *Bacillus sphaericus* and *Bacillus subtilis* / A.C.A. da Costa, F.P. Duta // Brazilian Journal of Microbiology. – 2001. – № 32. – P. 1–5.