



18. Климова Г. Ю., Панин А. В. Руппия морская – *Ruppia maritima* L. Красная книга Саратовской области : Грибы. Лишайники. Растения. Животные. Саратов : Изд-во Торгово-пром. палаты Сарат. обл., 2006. С. 55–56.
19. Еленевский А. Г., Буланый Ю. И., Радыгина В. И. Конспект флоры Саратовской области. Саратов : Издат. центр «Наука», 2008. 232 с.
20. Свиридова Т. В., Зубакин В. А. Методика выделения ключевых орнитологических территорий // Ключевые орнитологические территории. России. М., 2000. Т. 1. С. 14–25.
21. Антончиков А. Н., Пискунов В. В. Перспективы программ КОТР и охраны редких видов птиц Саратовской области // Инвентаризация, мониторинг и охрана ключевых орнитологических территорий России. М., 2002. Вып. 4. С. 5–9.

УДК 504.054:631.453

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТОКСИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ПОЧВУ БУРОВОГО РАСТВОРА НА УГЛЕВОДОРОДНОЙ ОСНОВЕ С ПОМОЩЬЮ РАЗЛИЧНЫХ ПРИЕМОМ БИОТЕСТИРОВАНИЯ

А. Ю. Беляков, Д. С. Головко, Е. В. Плешакова

Саратовский государственный университет
E-mail: beland89@mail.ru



В модельных экспериментах исследована токсичность почвы, загрязненной буровым раствором на углеводородной основе, и его составляющими: минеральным маслом и ПАВ. С помощью приемов фито- и вермистестирования, а также по показателям активности дегидрогеназ микробного штамма *Dietzia maris* AM3 показано, что высокий уровень токсичности бурового раствора обусловлен комбинированным действием компонентов, входящих в его состав. Установлена значительная корреляция между результатами, полученными тремя способами биотестирования с использованием тест-организмов представителей основных трофических уровней почвенного биогеоценоза, показана целесообразность использования комплексного биотестирования для оптимальной оценки токсического действия загрязнителей почвы.

Ключевые слова: буровой раствор на углеводородной основе, фитотестирование, вермистестирование, активность дегидрогеназ.

Evaluation of Toxic Effects of Oil-base Drilling Fluids Upon the Soil by Means of Various Biotesting Methods

A. Yu. Belyakov, D. S. Golovko, Ye. V. Pleshakova

Simulation experiments were carried out in order to evaluate the toxicity of the soil polluted by oil-base drilling fluids and their components: mineral oils and surfactants. The results of phyto-testing and vermif-testing check, and also the dehydrogenase activity data of microbial strain *Dietzia maris* AM3 show that the high level of toxicity of oil-base drilling fluids is caused by the compound effect of the components thereof. A considerable correlation between the results received by the three different biotests conducted in vivo in the representatives of the basic trophic levels of soil biogeocenose was established; the worthwhileness of applying of complex biotests for performing the best evaluation of toxic effects of soils pollutants was proved.

Key words: oil-base drilling fluids, phyto-testing, vermi-testing, dehydrogenase activity.

В процессе нефтедобычи при бурении, и особенно при заканчивании скважин, в настоящее время широкое распространение получили буровые растворы на углеводородной основе (РУО). Это связано с их уникальными физико-химическими свойствами, высокой эффективностью и известными преимуществами перед буровыми растворами на водной основе, которые заключаются в повышении устойчивости ствола скважины, уменьшении осложнений в процессе разбухания эвапоритовых отложений и др. [1]. Более широкому внедрению РУО препятствуют экологические проблемы, связанные с опасностью загрязнения окружающей среды компонентами, входящими в их состав, среди которых основными токсикантами являются углеводороды и поверхностно-активные вещества (ПАВ) [2]. Кроме того, в своем составе они содержат широкий спектр химических реагентов минеральной и органической природы, таких как синтетические полимеры, бактерициды, соли, используемые для приготовления и обработки буровых растворов [3].

РУО в основном применяют на морских проектах, поэтому существует ряд сведений о токсическом действии этих растворов на водные организмы. Исследователи описывают изменение величины первичной продукции, снижение



выживаемости и уменьшение плодовитости гидробионтов, нарушение стадий метаморфоза и регенерационных процессов [4]. Однако в последние годы доля применения РУО при строительстве скважин на суше сильно растет. В этом случае негативное влияние буровые растворы оказывают уже на почву, нарушая состав, свойства и плодородие почвы. Прежде всего токсическое воздействие сказывается на почвенной биоте и почвенно-поглощающем комплексе почв.

Биотест-системы способны интегрально и оперативно дать токсикологическую характеристику природных и техногенных сред. Для задач экологического контроля в настоящее время государственными природоохранными органами рекомендовано несколько разработанных биологических тест-систем. Перечень методов, включенных в Федеральный реестр методик и реестр природоохранных нормативных документов, невелик, и основаны они главным образом на использовании тест-организмов из числа гидробионтов: равноресничной инфузории *Paramecium caudatum*, низших ракообразных *Daphnia magna* и *Ceriodaphnia affinis*, а также зеленой протококковой водоросли *Scenedesmus quadricauda* [5]. При этом исследуют водные вытяжки из почвы, что не всегда отражает истинную токсичность почвы, так как не все токсиканты, в частности углеводороды, растворимы в воде.

Для измерения токсичности почвы широко применяется фитотестирование на основе высших растений, при котором исследуются всхожесть семян и морфометрические характеристики растений, выращенных на исследуемых почвах [6]. Достоинством использования фитотестов является то, что в них используется сама загрязненная почва, а не водный экстракт из нее; а недостатком – сравнительно большая продолжительность и трудоемкость анализа. Также показано, что результаты фитотестирования во многом зависят от воздушного и водного режима почвы в ходе экспериментов, а не от прямого токсического действия ксенобиотиков на всхожесть и прорастание растений.

Таким образом, проблема биологического мониторинга загрязненных почв, несмотря на свою давнюю и неизменную актуальность, все еще далека от оптимального разрешения. Это объясняется количеством и составом загрязняющих веществ, интенсивностью механических повреждений и неоднозначностью ответных реакций природной среды в целом и почв в частности на воздействие этих веществ [7]. В связи с этим активно продолжается поиск оптимальных приемов биотестирования для оценки степени загрязненности и токсичности почвы.

Цель настоящих исследований состояла в оценке влияния бурового раствора на углеводородной основе и составляющих его компонентов на почву с помощью различных приемов биотестирования.

Материалы и методы

В модельных экспериментах использовали чернозем южный, суглинистый, отобранный в Саратовской области, со следующими гранулометрическими характеристиками: частицы >5 мм – 1,8%; <5–>3 мм – 4,2%; <3–>1 мм – 10,0%; <1–>0,5 мм – 11,5%; <0,5–>0,25 мм – 19,0%; <0,25 мм – 53,6%. Чернозем южный содержал: 0,9% общего органического углерода, 6,3 мг/кг NO_3^- , 59,3 мг/кг NH_4^+ , 156 мг/кг подвижного P_2O_5 , рН почвы (солевой) 7,2. Таксономическая принадлежность почв приводится в соответствии с «Классификацией и диагностикой почв СССР» [8] с учетом региональных особенностей [9].

Перед экспериментом из почвы удаляли крупные включения, просеивали через сито с диаметром ячеек 5 мм и вносили загрязнители, г/кг почвы: РУО – 40; минеральное масло И-20 – 40; синтанол АЦСЭ-12 в качестве ПАВ – 20. Загрязнители использовали в указанных концентрациях на основании литературных данных о потерях РУО с выбуренной породой при бурении скважин, которые происходят, несмотря на использование высокотехнологичного оборудования. Почву выдерживали в течение суток для равномерного распределения загрязнителя. В качестве контроля использовали исходную чистую почву.

Токсичность почвы оценивали с помощью приемов фитотестирования, вермитестирования и разработанным нами методом определения токсичности почвы по дегидрогеназной активности бактерий *Dietzia maris* AM3. Токсичность образцов почвы определяли непосредственно после загрязнения и через 30 сут выдерживания почвы без полива, при комнатной температуре. В фитотесте изучали трехсуточные проростки редиса сорта «Заря», оценивая следующие показатели: всхожесть семян (в %); среднюю длину ростка и среднюю длину корня в мм [10]. Определяли разницу (в %) изученных показателей между загрязненной и контрольной чистой почвой. Разницу показателей до 10% по сравнению с контролем не принимали во внимание и почву считали экологически чистой, разница в 10–30% указывала на слабую токсичность почвы, от 30 до 50% – на среднюю степень, а выше 50% – на высокую степень фитотоксичности почвы.

Вермитестирование проводилось по методу, основанному на исследовании выживаемости



дождевых червей при воздействии токсических веществ [11]. В качестве тест-организмов использовали любезно предоставленных ОАО «Агрофирма «Грин-ПИК» дождевых (компостных) червей «Старатель», полученных в лабораторных условиях профессором А. М. Игониным путем скрещивания особей двух пространственно отдаленных популяций (местной российской популяции и киргизской популяции) навозных червей *Eisenia foetida*. Нами впервые были использованы данные организмы элитной промышленной линии для оценки токсичности бурового раствора и его компонентов. По 20 особей помещали в почву (1 кг). Для создания оптимальных условий для червей «Старатель» в ходе биотестирования почву увлажняли профильтрованной водопроводной водой до 75% влажности, дополнительно в почву вносили биогумус в соотношении 1:6. Инкубирование дождевых червей осуществляли при комнатной температуре. Показателем выживаемости служило среднее количество червей, выживших в тестируемой почве, по сравнению с контролем (незагрязненная почва). Критерием высокой токсичности являлась гибель 50% и более дождевых червей в тестируемой почве по сравнению с контролем. Проводили кратковременное биотестирование в течение 2 сут, что позволило выявить острое токсическое действие загрязнителей почвы на дождевых червей. В ходе более длительного биотестирования (7 сут экспозиции) оценивали хроническое действие экополлютантов на дождевых червей.

Для оценки токсичности почвы использовали также разработанный ранее метод анализа дегидрогеназной активности бактерий *D. maris* AM3, основанный на способности микробных дегидрогеназ восстанавливать за счет дегидрирования субстрата бесцветный трифенилтетразолийхлорид до трифенилформаза (ТФФ), имеющего темно-красный цвет [12]. Ферменты дегидрогеназы высоко чувствительны к действию ядовитых веществ, в присутствии которых их активность снижается, что позволило нам путем сравнения количества ТФФ в опытных и контрольных образцах почвы оценить степень их токсичности. Количество ТФФ определяли колориметрически, измерением интенсивности окраски раствора при экстрагировании формаза. Для того чтобы исключить влияние на результаты анализа показателей активности дегидрогеназ, содержащихся в почве, перед анализом почву стерилизовали прогреванием в сушильном шкафу при $t = 180^\circ\text{C}$ в течение 1,5 ч. Данный метод биотестирования характеризуется высокой чувствительностью. Он позволяет не только регистрировать возмож-

ность образования в почве опасных метаболитов токсикантов, но и обойти защитные барьеры организма, так как при его использовании токсикант воздействует непосредственно на белковую систему.

Для каждого варианта почвы биотестирование различными методами проводили в трех повторностях. Математическую обработку полученных данных выполняли с использованием компьютерной программы Microsoft Excel 2003.

Результаты и их обсуждение

Для оценки токсичности почвы нами были выбраны три биотест-системы. Как считают многие исследователи [13, 14], для объективного анализа экологической токсичности природных сред и объектов окружающей среды целесообразно использовать в качестве тест-культур представителей трех основных звеньев трофической (пищевой) цепи биогеоценозов: продуцентов, консументов и редуцентов. В связи с этим в настоящих исследованиях мы использовали представителей всех этих звеньев: высшие растения, дождевых червей и микроорганизмы.

Результаты проведенного краткосрочного биотестирования почвы на дождевых червях «Старатель» (рис. 1) продемонстрировали, что показатели выживаемости тест-объектов в загрязненной и контрольной почве имели существенное отличие. В почвенных образцах, загрязненных буровым раствором и ПАВ, выживаемость дождевых червей через 2 сут составила 25 и 53% соответственно, что свидетельствовало об острой токсичности почвы, загрязненной этими поллютантами. В почве, загрязненной минеральным маслом, как и в чистой почве, выживаемость составила 100%, что указывало на отсутствие вредного воздействия минерального масла в используемой концентрации на дождевых червей.

Результаты оценки хронического действия экополлютантов свидетельствовали, что анализируемые почвы, загрязненные буровым раствором и ПАВ, являлись сильно токсичными, выживаемость дождевых червей через 7 сут инкубирования в почве была нулевой. В почве, загрязненной минеральным маслом, выживаемость червей составила 83%, в чистой почве – 95%. Анализ полученных результатов свидетельствовал о высоком уровне токсичности РУО и ПАВ для дождевых червей «Старатель». Причем РУО отличался максимальной острой токсичностью для дождевых червей по сравнению с другими исследованными загрязнителями – компонентами бурового раствора.

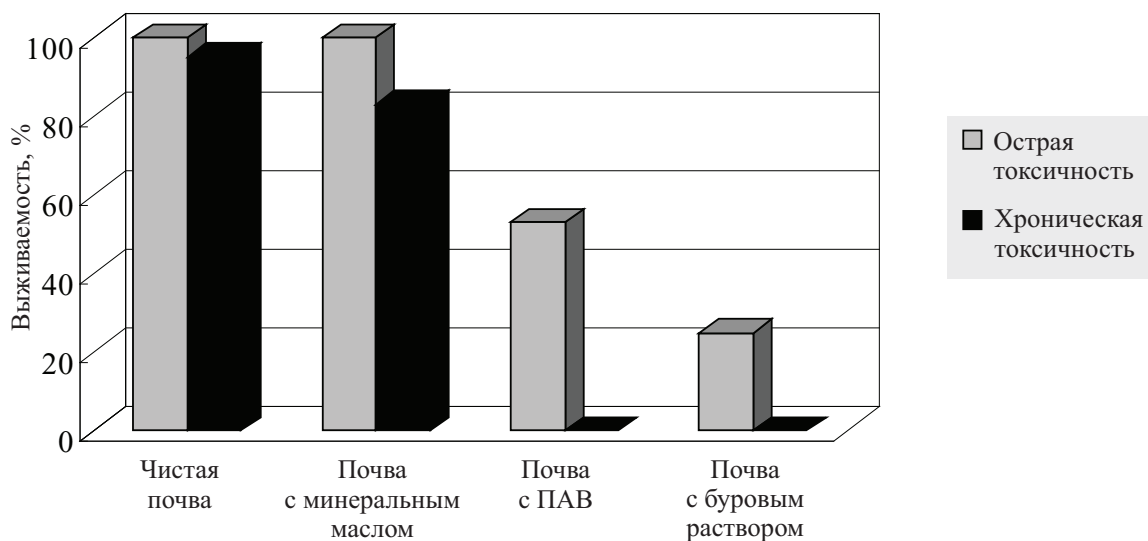


Рис. 1. Результаты вермитестирования почвы через 1 сут после внесения загрязнителей

Через 30 сут после внесения поллютантов в почву краткосрочное биотестирование на дождевых червях показало 100%-ную выживаемость тест-объектов во всех исследованных вариантах (рис. 2). В ходе длительного биотестирования были получены следующие результаты. В чистой и загрязненной минеральным маслом почве выживаемость *Eisenia foetida* составила 100%. Процент выживаемости дождевых червей в почве, загрязненной РУО и ПАВ, был равен 0. Полученные результаты свидетельствовали о снижении токсического эффекта РУО и ПАВ на *Eisenia foetida* в результате выдерживания почвы в

течение 30 сут. Это может быть связано с процессами абиотической и биотической трансформации углеводов и ПАВ, являющихся основными токсическими компонентами РУО. Однако результат долгосрочного вермитестирования показал полную гибель дождевых червей «Старатель» в почве, загрязненной буровым раствором и ПАВ, что подтверждало высокую степень токсичности ПАВ и РУО для *Eisenia foetida*. Минеральное масло, внесенное в почву, как показали эксперименты, не оказывало токсического действия на тест-организмы как непосредственно после загрязнения почвы, так и через 30 сут.

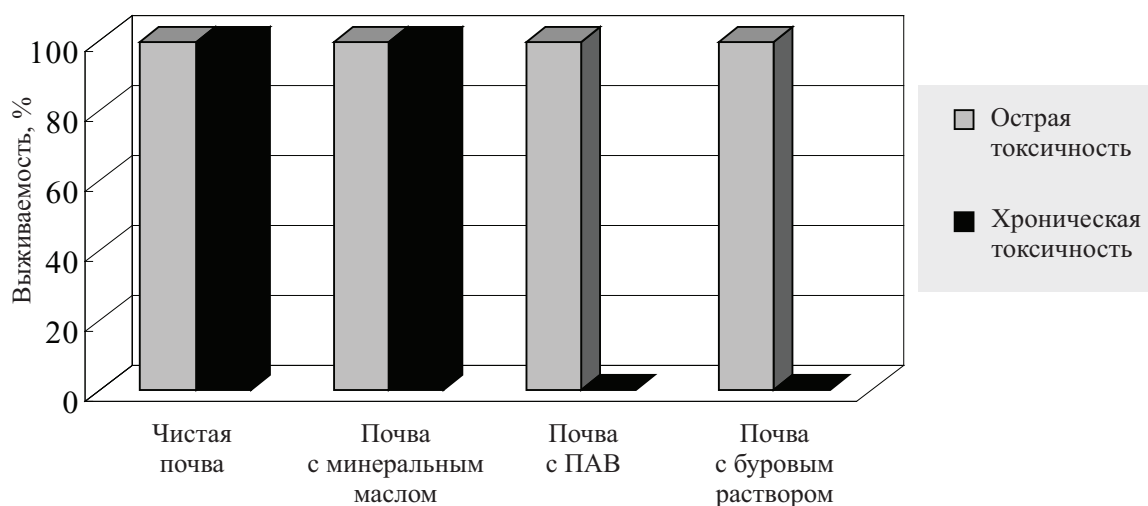


Рис. 2. Результаты вермитестирования почвы через 30 сут после внесения загрязнителей

Результаты фитотестирования представлены в табл. 1. В качестве контроля мы рассматривали чистую почву, данные представляли в %

от контроля. Загрязнение почвы всеми исследуемыми поллютантами не оказывало существенного влияния на всхожесть семян редиса.



Таблица 1

Оценка токсичности почвы с помощью фитотестирования

Вариант почвы	Длительность эксперимента, сут.	Показатель					
		Всхожесть		Средняя длина корня		Средняя длина ростка	
		%	% от контроля	мм	% от контроля	мм	% от контроля
1. Контроль, чистая почва	0	95,0±2,33	100	37,5±1,60	100	17,3±1,97	100
2. Почва с буровым раствором	0	81,6±2,76	85,8±1,98	18,8±0,54	50,1±1,48	4,8±1,37	27,7±0,35
	30	60,0±0,93	63,2±1,12	20,9±1,45	55,8±1,37	5,2±0,41	30,3±1,05
3. Почва с минеральным маслом	0	93,3±1,95	98,2±2,43	12,7±1,54	33,9±1,89	12,7±2,54	73,4±1,28
	30	86,6±2,81	91,2±2,32	13,9±0,44	37,1±1,43	16,2±1,76	93,6±2,13
4. Почва с ПАВ	0	93,3±1,73	98,2±1,87	35,3±0,92	94,1±2,35	10,4±0,34	60,1±1,37
	30	68,3±2,14	71,9±1,96	22,2±2,53	59,3±1,18	10,7±0,80	62,0±1,54

Лишь в почве, загрязненной буровым раствором, всхожесть снизилась на 14%. Более заметно угнеталось развитие ростков и корней у проростков редиса. Средняя длина ростка у проростков в почве с буровым раствором была на 72% ниже, чем в чистой почве, с ПАВ – на 40, с минеральным маслом – на 27% ниже. Наибольшее угнетение роста корней у проростков редиса наблюдалось в почве, загрязненной буровым раствором и минеральным маслом, – на 50 и 66% соответственно.

Таким образом, на основании средней длины корня проростков редиса и средней длины ростка почва с РУО отличалась высокой токсичностью. Минеральное масло способствовало сильной токсичности почвы, которая проявлялась в ингибирующем воздействии на рост корней редиса, что связано, по-видимому, с нарушением агрофизических свойств почвы. Синтанол АЦСЭ-12 способствовал проявлению среднего уровня токсичности, которая выражалась в ингибирующем действии на развитие ростков, что может быть связано с нарушением метаболических процессов под влиянием ПАВ.

Всхожесть семян через 30 сут после загрязнения значительно снизилась в почве с буровым раствором и ПАВ, разница данного показателя с контролем составила 37 и 28% соответственно. В почве с РУО показатели средней длины ростка и средней длины корня проростков не изменились существенно по сравнению с предыдущим анализом, доказывая высокую токсичность этой почвы. Средняя длина ростка проростков редиса в почве с ПАВ также не изменилась, указывая на средний уровень токсичности почвы, а средняя длина корня проростков редиса уменьшилась, разница с контролем составила 41%. По показателю средней длины корня проростков почва с минеральным маслом характеризовалась вы-

соким уровнем токсичности, а по показателю средней длины ростка проростков наблюдалась тенденция к снижению токсического действия.

Таким образом, по результатам фитотестирования буровой раствор, как загрязнитель почвы, обнаруживал максимальное токсическое действие, которое не снижалось через 30 сут после загрязнения, а, напротив, наблюдалось ингибирование всхожести семян редиса. ПАВ на первом этапе проявлял токсическое действие среднего уровня, однако через 30 сут токсичность почвы с данным загрязнителем увеличилась, что выразилось в ингибировании всхожести семян редиса и развития корней у проростков. Это может быть связано с накоплением в почве продуктов трансформации, более токсичных для растений, чем исходный загрязнитель. Минеральное масло, которое по результатам вермитестирования не являлось высокотоксичным поллютантом, в настоящем биотесте показало высокую токсичность по отношению к корням проростков редиса как после внесения в почву загрязнителя, так и через 30 сут. В то же время через 30 сут данная почва характеризовалась отсутствием токсичности по показателю средней длины корня проростков редиса.

В ходе оценки токсичности почвы с помощью разработанного нами метода по дегидрогеназной активности *D. maris* AM3 были получены следующие результаты (рис. 3). Минеральное масло и ПАВ, внесенные в почву в исследуемых концентрациях, не влияли на активность дегидрогеназы микробного штамма AM3. РУО оказывал максимальное ингибирующее действие на активность дегидрогеназы, которая отличалась от значений в контрольной чистой почве на 71%.

Через 30 сут содержание ТФФ, которое отражало активность дегидрогеназы *D. maris* AM3, заметно снизилось в почве с различными

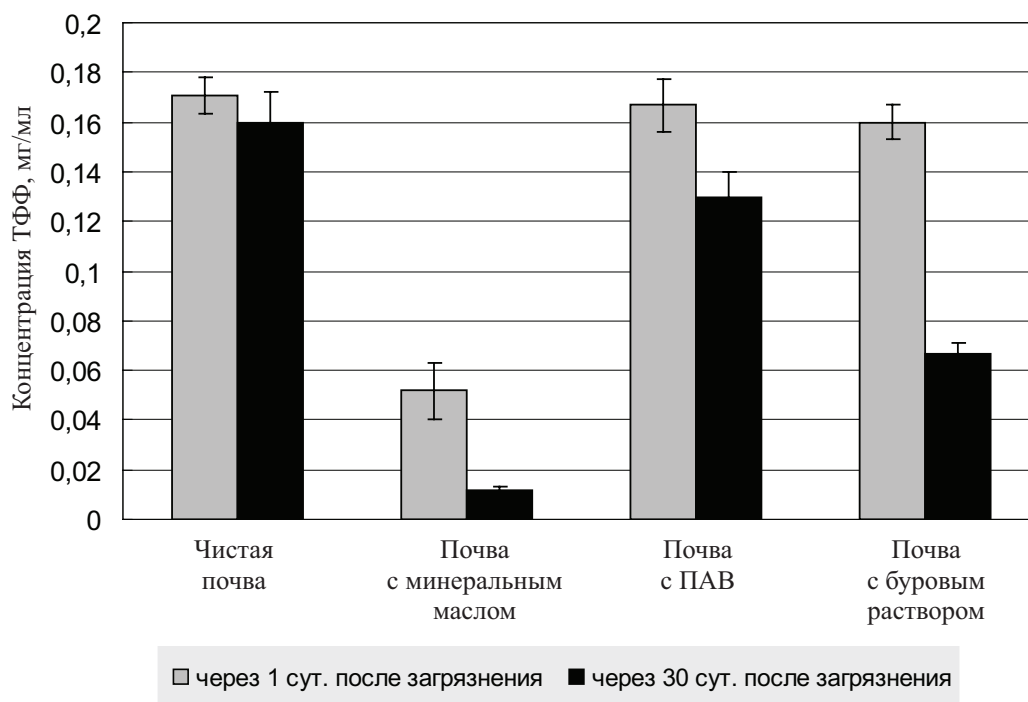


Рис. 3. Оценка токсичности почвы по дегидрогеназной активности *D. maris* AM3

экополлютантами. Активность дегидрогеназ в почве с минеральным маслом была ниже, чем в контрольной почве, на 22%, в почве с ПАВ – на 59%. В почве с буровым раствором ингибирующее действие на дегидрогеназы *D. maris* AM3 увеличилось по сравнению с предыдущим анализом. Таким образом, согласно этому методу биотестирования, буровой раствор проявил высокую токсичность, которая возросла через 30 сут. Токсичность ПАВ стала заметной также через

30 сут после загрязнения почвы. Минеральное масло, аналогично результатам предыдущих биотестов, обладало слабым уровнем токсичности.

Итак, в качестве тест-культур нами были использованы представители трех звеньев пищевой цепи биоценозов: высшие растения, почвенные беспозвоночные и микроорганизмы. При сравнении результатов, полученных с помощью трех приемов биотестирования, были установлены сходные тенденции (табл. 2).

Таблица 2

Сравнительная оценка результатов, полученных разными методами биотестирования

Метод биотестирования	Степень токсичности почвы с загрязнителями					
	Буровой раствор		ПАВ		Минеральное масло	
	1 сут	30 сут	1 сут	30 сут	1 сут	30 сут
Вермитестирование: острая токсичность; хроническая токсичность	Высокая Высокая	Отсут. Высокая	Средняя Высокая	Отсут. Высокая	Отсут. Слабая	Отсут. Отсут.
Фитотестирование по показателям: всхожести; средней длины ростка; средней длины корня	Отсут. Высокая Высокая	Средняя Высокая Средняя	Отсут. Средняя Отсут.	Слабая Средняя Средняя	Отсут. Слабая Высокая	Отсут. Отсут. Высокая
По дегидрогеназной активности <i>D. maris</i> AM3	Высокая	Высокая	Отсут.	Высокая	Отсут.	Слабая

Минеральное масло характеризовалось либо отсутствием токсичности, либо слабо выраженным токсическим эффектом. Исключением явилось

ингибирование ростка корней проростков редиса в почве с минеральным маслом, что, скорее всего, связано не с прямым токсическим действием, а



с нарушением под влиянием этого загрязнителя воздушного обмена в почве и влагообмена из-за склеивания почвенных частиц, к чему оказались чувствительны корни проростков семян. Поэтому при выборе углеводородной основы РУО предпочтение можно отдавать минеральному маслу как компоненту с минимальной токсичностью. Синтанол АЦСЭ-12, внесенный в почву, по некоторым показателям не обладал токсическими свойствами (показатели всхожести семян редиса, средняя длина корня проростков редиса и активность дегидрогеназ *D. maris* AM3), на основании других показателей биотестирования – оказывал токсический эффект средней степени (показатели острой токсичности при вермитестировании и средней длины ростка проростков редиса). По показателю хронической токсичности в вермитестировании почва с синтанолом отличалась высокой токсичностью. Было отмечено снижение токсичности почвы с синтанолом через 30 сут экспозиции по результатам оценки острой токсичности на дождевых червях. В то же время необходимо отметить, что в этот период результаты фитотестирования, а также показатели выживаемости дождевых червей при анализе хронической токсичности и показатели активности дегидрогеназ *D. maris* AM3 свидетельствовали о повышении токсичности почвы с синтанолом. Данный факт, возможно, связан с накоплением в почве токсичных метаболитов ПАВ. Буровой раствор, внесенный в почву, по всем показателям биотестов, за исключением всхожести семян редиса, обладал высокой токсичностью. Через 30 сут его токсичность несколько снизилась по некоторым показателям, однако в целом РУО продолжал оказывать токсическое действие высокого и среднего уровня на почву.

Таким образом, отдельные загрязнители в составе бурового раствора, как показали исследования, обладали меньшей токсичностью, чем сам раствор, что вызвано, по всей видимости, известным комбинированным действием соединений [15]. Кроме того, для понимания опасности комплексного загрязнения важно, что именно ПАВ, как сообщают исследователи [16], усиливают токсичность ряда ксенобиотиков, в частности нефти, пестицидов. Негативное влияние на почву бурового раствора, следует полагать, способно спровоцировать необратимые изменения в функционировании почвенной экосистемы.

На основании полученных данных можно заключить, что, несмотря на различия в чув-

ствительности биологических методов оценки токсичности почвы, наблюдалась значительная корреляция между результатами, полученными тремя способами биотестирования. При этом очевидно, что для оптимальной оценки токсического действия загрязнителей почвы целесообразно использовать набор биотест-систем, включающий в качестве тест-организмов представителей основных трофических уровней природных экосистем.

Список литературы

1. Сушкова А. В. Разработка низкотоксичного и биоразлагаемого бурового раствора на основе олигомеров этилена : дис. ... канд. тех. наук. М., 2005. 191 с.
2. Балаба В. И. Обеспечение экологической безопасности строительства скважин на море // Бурение и нефть. 2004. № 1. С. 18–21.
3. Рязанов Я. А. Энциклопедия по буровым растворам. Оренбург, 2005. 664 с.
4. Рыбина Г. Е. Токсичность буровых шламов разного состава нефтепромыслов Западной Сибири для пресноводных гидробионтов : дис. ... канд. биол. наук. Борок, 2004. 184 с.
5. Терехова В. А., Арчегова И. Б., Хабибуллина Ф. М., Пугачев В. Г., Тулякин Г. М. Экотоксикологическая оценка биосорбента нефти с целью сертификации // Экология и промышленность России. 2006. № 3. С. 34–37.
6. Назаров А. В. Изучение причин фитотоксичности нефтезагрязненных почв // Письма в международный журнал. Альтернативная энергетика и экология. 2005. № 1. С. 60–65.
7. Пиковский Ю. И., Геннадиев А. Н., Чернянский С. С., Сахаров Г. Н. Проблема диагностики и нормирования загрязнения почв нефтью и нефтепродуктами // Почвоведение. 2003. № 9. С. 1132–1140.
8. Классификация и диагностика почв СССР. М. : Колос, 1977. 220 с.
9. Болдырев В. А., Пискунов В. В. Полевые исследования морфологических признаков почв: учеб. пособие. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 2006. 60 с.
10. Остроумов С. А. Некоторые аспекты оценки биологической активности ксенобиотиков // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16, Биология. 1990. № 2. С. 27–34.
11. Международный стандарт ИСО 11268-1 «Определение загрязнения по острой летальной токсичности у земляных червей». URL: <http://expert.gost.ru>
12. Плешакова Е. В. Разработка нового метода определения токсичности нефтезагрязненной почвы // Вестн. СГТУ. 2010. № 3(46), вып. 1. С. 188–193.
13. Терехова В. А. Проверка безопасности искусственных почвогрунтов из органосодержащих отходов // Экология производства. 2010. № 2. С. 56–60.



14. Achazi R. K. Invertebrates in risk assessment development of a test battery and of short term biotests for ecological risk assessment of soil // *J. Soils & Sediments*. 2002. Vol. 2, № 4. P. 174–178.
15. Лисовицкая О. В., Терехова В. А. Фитотестирование: основные подходы, проблемы лабораторного метода и современные решения // Доклады по экологическому почвоведению. 2010. Вып. 13, № 1. С. 1–18.
16. Bobra A. M., Shiu W. Y., Mackay D. Structure-activity relationships for toxicity of hydrocarbons, chlorinated hydrocarbons and oils to *Daphnia magna* // *Quantitative structure activity relations in environmental toxicology* / ed. K. L. E. Kaiser Dordrecht, Germany: D. Reidel Publishing Co., 1984. P. 3–16.