

## СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТОВ СОЛЕЙ СВИНЦА НА ФЕРМЕНТАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ПОЧВЫ

Панова М.И.<sup>1,2</sup>, Пукальчик М.А.<sup>1</sup>, Терехова В.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>МГУ им. М.В. Ломоносова, <sup>2</sup>Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, г. Москва, РФ, mary.akulova@gmail.com

Comparison of the effects of lead salts to the enzymatic activity of sod-podzolic soil

Panova M.I., Pukalchik M.A., Terekhova V.A.

В условиях глобального загрязнения почвенного покрова проблема поиска чувствительных и информативных показателей состояния почвенной биоты выходит на лидирующие позиции. Одним из эффективных методов оценки состояния биоты *in situ* является определение ферментативной активности почв. На протяжении многих лет свинец является одним из самых «популярных» поллютантов как для полевых, так и для модельных опытов, однако, опубликованные данные об оценке влияния свинца на активность почвенных ферментов очень противоречивы и сильно разнятся для разных типов почв (Aoyama, Nagumo 1996; Chaperon, Sauve 2008; Yang et al. 2014; Колесников и др. 2015).

Цель данного исследования - сравнить эффекты нитрата и ацетата свинца на изменение биологических показателей дерново-подзолистой почвы в модельном эксперименте и ранжировать показатели по степени чувствительности. Выбор данных форм внесения свинца обоснован хорошей растворимостью нитрата и ацетата в водных и почвенных растворах, и с большим количеством опубликованных работ, затрагивающих вопросы подвижности свинца в почвах, и влияния его на ферментативную активность почвенной биоты, при внесении свинца именно в этих формах.

Для постановки модельного вегетационного эксперимента использовали верхний горизонт (5-20 см) дерново-подзолистой среднесуглинистой окультуренной почвы (УО ПЭЦ «Чашниково», Московская область). Исходные характеристики почвы: физическая глина – 35 %;  $pH_{KCl}$  —  $4,3 \pm 0,05$ ;  $pH_{H_2O}$  —  $7,58 \pm 0,05$ ;  $C_{org}$  — 2,05 %; содержание подвижных форм калия ( $K_2O$ ) и фосфора ( $P_2O_5$ ) 102 мг/кг и 98 мг/кг соответственно; фоновое содержание свинца (валовая форма) – 5 мг/кг.

В вегетационные непроточные сосуды помещали по 0,2 кг воздушно-сухой почвы просеянной через сито 1 мм и увлажняли (до 60ПВ) растворами  $Pb(CH_3COO)_2$  или  $PbNO_3$  до достижения концентрации свинца (по  $Pb^{2+}$ ) – 0 (контроль), 10, 100, 300, 500 и 1000 мг/кг, что соответствовало 0, 0.3, 3.1, 9.4, 15.6 и 31.3 ПДК свинца согласно ГН 2.1.7.2041-

06 (2006). Эксперимент инкубировали при температуре  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  в течение 21 суток, влажность поддерживали на постоянном уровне. Повторность опыта – трёхкратная. На 3-, 7- и 21-е сутки от начала эксперимента проводили отбор серии образцов для определения активности почвенных ферментов. Отобранные пробы хранили в герметичных п/э пакетах в холодильнике при  $4^\circ\text{C}$ , длительность хранения не превышала 10-ти дней с момента отбора образцов на испытания.

Определение активности ферментов проводили общепринятыми методами: 1) дегидрогеназы по реакции с ТТХ (Lenhard 1962) 2) кислотную фосфатазу по реакции с пара-нитрофенил фосфатом Na (Tabatabai, Bremner 1969) 3) общую активность гидролаз по реакции гидролиза ФДА (Якушев, Бызов 2009) 4) уреазы с реактивом Несслера и сегнетовой солью (Kong at al 2009) 5) пероксидазы с гидрохиноном (Карягина, Михайлова 1986).

В ходе исследования установлено ингибирующее действие нитрата свинца на активность дегидрогеназы на 21 сутки (достоверная отрицательная корреляция:  $r = -0,846$  при  $p < 0,05$ ). Максимальная доза внесения (1000 мг/кг) оказывала ингибирование функции на 26,1%. На активность пероксидазы  $\text{PbNO}_3$  оказывал аналогичное воздействие. На общую активность гидролаз нитрат свинца не оказывал воздействия на 3-е и 7-е сутки экспозиции, однако, спустя 21 сутки от начала опыта обнаружено сильное ингибирующее действие 500 и 1000 мг/кг  $\text{Pb}^{2+}$  - более 75% от контроля. Достоверного влияния  $\text{PbNO}_3$  на активность уреазы не обнаружено. Однако, наблюдалась значительная вариабельность показателей активности уреазы внутри вариантов, как в контрольных пробах, так и при внесении нитрата, на 3- и 7-е сутки эксперимента, исчезающее к 21 суткам. Можно предположить сложные перестройки микробного комплекса вызывающие разнонаправленные изменения на начальных этапах сукцессии.

В случае применения ацетата свинца высокие дозы (500 и 1000 мг/кг) оказывали стимулирующее действие на активность дегидрогеназы на 66,7% и 55,1%, соответственно, относительно контроля (0 мг/кг) на 21 сутки. Аналогичные эффекты установлены для пероксидазы. Все исследованные дозы  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$  не оказывали достоверного влияния на общую активность гидролаз на протяжении эксперимента. Активность кислотной фосфатазы и уреазы изменялась разнонаправлено, без корреляции между концентрацией внесенного  $\text{Pb}^{2+}$  и активностью ферментов. Средняя активность всех ферментов в контрольных образцах достоверно снизилась к окончанию эксперимента, что может быть объяснено постепенным истощением легко-доступных органических субстратов в условиях модельного опыта (Moreno et al. 2003). Наглядное представление о различиях в действии нитрата и ацетата свинца на ферментативную

активность почв дает сравнение средних коэффициентов отклонения показателей в пробах со свинцом, выраженное % от контроля (рис. 1).

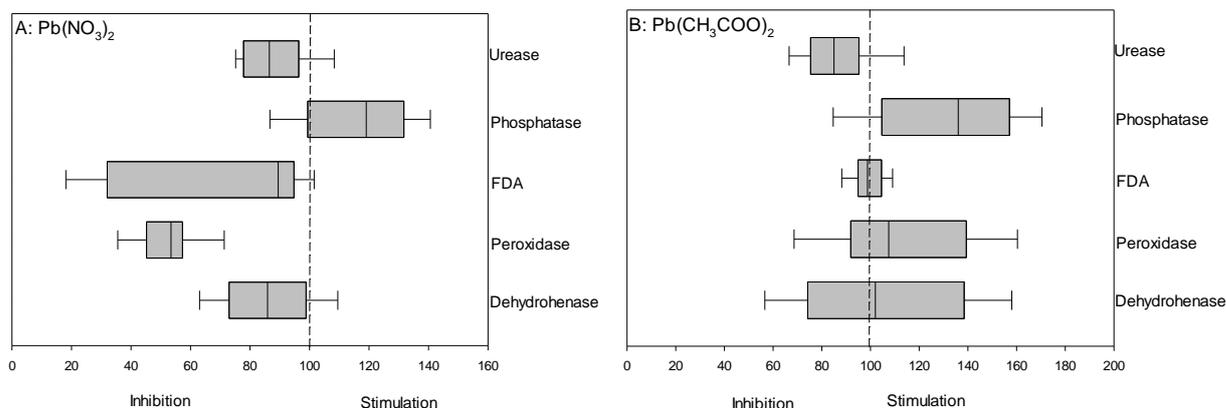


Рисунок 1. Диаграммы размаха коэффициентов отклонения ферментативной активности дерново-подзолистых почв под действием нитрата (А) и ацетата (В) свинца относительно контроля (100%-контроль) для всех доз внесения свинца на 21 сутки эксперимента. На графиках приведена медиана, квартиль и размах наблюдаемых значений.

Из представленных результатов следует, что внесение свинца в форме нитрата оказывает более выраженное ингибирующее действие, чем внесение свинца в форме ацетата. При внесении нитрата медианные значения коэффициента отклонения от контроля для ФДА, пероксидазы и дегидрогеназы определились в диапазоне ингибирования, в то время как для ацетата – в области стимулирования ферментативной активности. Активность фосфатазы и уреазы в опыте практически не зависела от формы и дозы внесения свинца, что может свидетельствовать о низкой чувствительности и малой информативности этого показателя в оценке загрязнения дерново-подзолистых почв свинцом. Полученные данные ярко демонстрируют значимость выбора формы внесения ТМ в модельных экспериментах на фиксируемые отклики.

Используя уравнение лог-логистической модели регрессии вида  $\varphi(x) = 1 - \exp[-\exp(\beta X)]$  из пакета программ XLSTAT-Ecology (AddinSoft), были рассчитаны эффективные уровни воздействия нитрата свинца на дерново-подзолистые почвы для данных, в которых фиксировали достоверные отклонения от контроля как минимум для максимальных доз внесения свинца на 21-е сутки опыта. Таким образом, учитывали изменение активности дегидрогеназы, пероксидазы и ФДА, и не учитывали активность уреазы и кислотной фосфатазы. Результаты проведенных расчетов представлены в таблице 1.

Таблица 1. Эффективные уровни воздействия нитрата свинца на активность почвенных ферментов

Показатель	Эффективные действующие концентрации Pb, мг/кг			R (McFadden)*
	NOEC (EC <sub>10</sub> )	EC <sub>20</sub>	EC <sub>50</sub>	
Дегидрогеназа	49,5 (15,2–136,2)	450,4 (160,1–3122,7)	8985,4 (1646,2–516750,4)	0,131

Пероксидаза	0,04 (0,0–0,90)	0,60 (0,0–7,06)	377,65 (37,33–98785,5)	0,138
ФДА	128,4 (99,7–162,4)	191,3 (151,1–244,1)	488,2 (371,3–688,2)	0,391

\* Расчетный коэффициент «псевдо» корреляции МакФаддена показывает насколько хорошо логистическая модель (complementary log-log) описывает наблюдения. Значения в диапазоне 0,2–0,4 можно трактовать, как «очень тесная» связь (Hensher & Stopher 1979). Примененный нами метод расчета зависимости «доза-эффект» и оценки концентраций свинца, приводящих к определению величины эффекта негативного действия на ряд почвенных ферментов показал, что лог-логистическая модель наилучшим образом описывала ответную реакцию гидролиза ФДА на внесение нитрата свинца. В случае дегидрогеназы и пероксидазы расчетный коэффициент корреляции характеризовался значениями из диапазона «слабая связь», что и оказало влияние на высокие значения стандартной ошибки рассчитанных концентраций. На основании полученных данных почвенные ферменты можно ранжировать в ряд по уменьшению степени чувствительности к загрязнению нитратом свинца:

ФДА > пероксидаза > дегидрогеназа > уреазы ~ кислотная фосфатаза.

#### Литература:

1. Aoyama M., Nagumo T. Factors affecting microbial biomass and dehydrogenase activity in apple orchard soils with heavy metal accumulation // *Soil Sci. Plant Nutr.* 1996. Vol. 42. PP 821–831.
2. Chaperon S., Sauvé S. Toxicity interactions of cadmium, copper, and lead on soil urease and dehydrogenase activity in relation to chemical speciation // *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 2008. Vol. 70. I. 1. PP. 1-9.
3. Hensher D., Stopher P. (Eds.) *Behavioural Travel Modelling.* 1979.
4. Moreno J.L., García C., Hernández T. Toxic effect of cadmium and nickel on soil enzymes and the influence of adding sewage sludge // *Eur. J. Soil Sci.* 2003. Vol. 54. PP. 377–386.
5. Yang J-X., He J-L., Jang H.-E., Li T-Q. Effect of Lead on Soil Enzyme Activities in Two Red Soils // *Pedosphere.* 2014. Vol. 24. I. 6. PP. 817-826.
6. Колесников С.И., Верниготова Н.А., Кузина А.А., Лаптинова А.С., Казеев К.Ш. Биодиагностика устойчивости коричневой карботантой почвы заповедника «Утриш» к химическому загрязнению почв // *Научный журнал КубГАУ.* 2015. №112(08). С. 1-11.

#### Благодарности

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ) в рамках научного проекта № 16-34-60011

МОЛ\_а\_ДК.