

УДК 631.416(470.311)

ВЛИЯНИЕ НИТРАТА И АЦЕТАТА СВИНЦА НА БИОИНДИКАЦИОННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПРИ ВНЕСЕНИИ В ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТУЮ ПОЧВУ

М. И. Панова^{1,2}, М. А. Пукальчик¹, П. В. Учанов², В. А. Терехова^{1,2}

¹ *Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова
Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, 1*

² *Институт проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова РАН
Россия, 119071, Москва, Ленинский просп., 33
E-mail: panova.maria@soil.msu.ru*

Поступила в редакцию 25.07.17 г.

Влияние нитрата и ацетата свинца на биоиндикационные показатели при внесении в дерново-подзолистую почву. – Панова М. И., Пукальчик М. А., Учанов П. В., Терехова В. А. – Проведена оценка воздействия солей свинца на динамику активности ферментов (уреаза, дегидрогеназа, общая активность гидролаз, кислотная фосфатаза, пероксидаза) в диапазоне концентраций 10, 100, 300, 500 и 1000 мг/кг по иону свинца в модельном эксперименте в течение 21 суток. Установлено достоверное ингибирующее воздействие нитрата свинца на общую активность гидролаз, дегидрогеназы и пероксидазы при дозах внесения 500 и 1000 мг/кг Pb²⁺, тогда как ацетат свинца характеризовался преимущественно стимулирующим эффектом. На основании полученных данных ранжировали диагностические показатели по снижению степени чувствительности к загрязнению почв нитратом свинца: общая активность гидролаз > пероксидаза > дегидрогеназа > уреазы ~ кислотная фосфатаза.

Ключевые слова: тяжелые металлы, оценка почв, ферменты, биоиндикационная значимость, нормирование.

Influence of lead nitrate and acetate, when introduced into sod-podzolic soil, on its bioindicative characteristics. – Panova M. I., Pukalchik M. A., Uchanov P. V., and Terekhova V. A. – The influence of two lead salts on the enzymatic activity dynamics (urease, dehydrogenase, the total activity of hydrolases, acid phosphatase, and peroxidase) at lead ion concentrations of 10, 100, 300, 500 and 1,000 mg/kg in a model 21-day experiment was estimated. A significant inhibitory effect of lead nitrate on the total activity of hydrolases, dehydrogenase and peroxidase at doses of 500 and 1,000 mg (Pb²⁺)/kg was observed, while lead acetate was characterized by predominantly stimulating effect. On the basis of the data obtained the authors have arranged the diagnostic indicators by the reduction of the sensitivity to lead nitrate pollution as follows: the total activity of hydrolases > peroxidase > dehydrogenase > urease ~ acidic phosphatase.

Key words: heavy metals, assessment of soil, soil enzymes, significance of bioindication parameters, regulation.

DOI: 10.18500/1684-7318-2017-4-382-393

ВВЕДЕНИЕ

В условиях глобального загрязнения почвенного покрова проблема поиска чувствительных и информативных показателей биодиагностики состояния почвенной биоты становится все более актуальной. При этом наиболее перспективными считаются биодиагностические показатели, основанные на прямой оценке ак-

ВЛИЯНИЕ НИТРАТА И АЦЕТАТА СВИНЦА

тивности биоты, либо полученные аппликатными методами при использовании почвообитающих тест-организмов, тогда как при исследовании водных вытяжек почв при химическом загрязнении возникает немало вопросов (Терехова, 2011; Олькова и др., 2016; Vestberg et al., 2001).

Среди всего многообразия поллютантов тяжелые металлы, в частности, свинец, способны аккумулироваться в почвенном покрове и оказывать длительное воздействие на скорость и направление биохимических реакций, протекающих в почвенных средах, а также токсическое действие на живые организмы, обитающие в ней (Звягинцев, 1987; Фокина, 2008). Для оценки влияния свинца на почвы наиболее широко применяют методы оценки активности таких ферментов, как уреазы (Hemida et al., 1997), дегидрогеназы (Aoyama, Nagumo, 1996), фосфатазы (Doelman, Naanstra, 1989) и метод активности общих гидролаз (Yang et al., 2014). Однако опубликованные ранее данные о чувствительности активности данных ферментов к свинцу в почвах весьма противоречивы и зачастую не дают возможности выбрать наиболее чувствительный показатель (табл. 1).

Таблица 1

Эффективные уровни воздействия свинца (EC_{50})
на активность почвенных ферментов по литературным данным

Оцениваемый показатель	EC_{50} , мг/кг	Характеристика почвы в эксперименте	Форма внесения	Источник
1	2	3	4	5
Уреазы	>400	Дерново-подзолистая тяжелосуглинистая, pH – 4.8, содержание гумуса 1.5%	$Pb(NO_3)_2$	Файза, 1993
	1727–2459	Melanic brunisol ($C_{орг} = 5.5\%$, pH – 5.7)	$PbCl_2$	Chaperon, Sauvé, 2008
	н/о (эффект стимуляции)	Красноземы, $C_{орг} = 1.2–2.6\%$	$Pb(NO_3)_2$	Yang et al., 2014
	н/о (эффект стимуляции)	Чернозем выщелоченный малогумусный среднесуглинистый	$Pb(CH_3COO)_2$	Ананьева, Шпис, 2010
	320	Чернозем обыкновенный	$Pb(CH_3COO)_2$	Семенова и др., 2011
	н/о (эффект стимуляции)	Дерново-подзолистая окультуренная	$Pb(CH_3COO)_2$	Фокина, 2008
Дегидрогеназы	1266–1895	Буроземы, $C_{орг} = 5.5\%$, pH – 5.7	$PbCl_2$	Chaperon, Sauvé, 2008
	н/о (эффект стимуляции)	Красноземы, $C_{орг} = 1.2–2.6\%$	$Pb(NO_3)_2$	Yang et al., 2014
	> 2000	Бурые лесные, pH – 5.4, содержание гумуса 4.4%	PbO	Мазанко и др., 2013
	32 – 320	Коричневые карбонатные	PbO	Колесников и др., 2015
	500	Коричневые почвы, $C_{орг} = 1.78\%$	$Pb(NO_3)_2$	Pan, Yu, 2011
Гидролазы (по гидролизу диацетата флюоресцина, ФДА)	> 1600	Красноземы, $C_{орг} = 1.2–2.6\%$	$Pb(NO_3)_2$	Yang et al., 2014
	> 800	Красноземы, $C_{орг} = 1.2–2.6\%$	$Pb(NO_3)_2$	Yang et al., 2014
Фосфатаза	> 500	Дерново-подзолистая, содержание гумуса 1.8–2.1%	$Pb(CH_3COO)_2$	Арзамазова, 2004

Окончание табл. 1

1	2	3	4	5
Фосфатаза	36.7–381– н/о	Песок – суглинок – глины	Pb(NO ₃) ₂	Doelman, Haanstra, 1989
	н/о в диапазоне 10–100 мг/кг	Чернозем карбонатный, рН – 7.6, C _{орг} – 3.1%	Pb(CH ₃ COO) ₂	Belyaeva et al., 2005

Примечание. н/о – ингибирование не выявлено.

Цель работы заключалась в изучении влияния нитрата и ацетата свинца на изменение биологических показателей дерново-подзолистой почвы в модельном эксперименте и ранжирование показателей по степени чувствительности к загрязнению свинцом.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Характеристика почв. В эксперименте использовали дерново-подзолистые окультуренные среднесуглинистые почвы, отобранные в сентябре 2015 г. на территории УО ПЭЦ «Чашниково», Московская область, Солнечногорский район. Почву отбирали методом «конверта» с участка 10×10 м из верхнего пахотного горизонта (0 – 20 см), сокращали и усредняли объем «квартованием», усредненный образец доводили до воздушно-сухого состояния, отбирали корни растений и просеивали через сито с отверстиями диаметром 1 мм. До постановки опыта почва характеризовалась следующими показателями: физическая глина (фракция < 0.01 мм) – 35%; рН_{KCl} – 6.00±0.05; рН_{H₂O} – 7.58±0.05; содержание органического углерода – 2.55%; содержание гумуса – 4.39%; содержание подвижных форм калия (K₂O) и фосфора (P₂O₅) – 10 мг / 100 г и 20 мг / 100 г соответственно; фоновое содержание свинца (валовая форма) – 5 мг/кг.

Модельный эксперимент. Исследовали следующие концентрации свинца (по Pb²⁺) – 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). Выбор форм внесения свинца (ацетат и нитрат) был обусловлен как хорошей растворимостью нитрата и ацетата в водных растворах, так и большим количеством опубликованных работ, затрагивающих вопросы подвижности свинца в почвах и его влияния на биоиндикационные показатели, в которых свинец вносили именно в этих формах (см. табл. 1).

Навески почвы массой 200 г помещали в сосуды, вносили ацетат или нитрат свинца в водном растворе до достижения итоговой влажности субстратов 60% от ППВ и заданной концентрации по ионам свинца, тщательно перемешивали металлическим шпателем. Емкости инкубировали при температуре 22±2°C в течение 21 суток, влажность поддерживали путем периодического полива дистиллированной водой. Контроль влажности опытных емкостей осуществляли весовым методом, потеря веса за счет испарения воды в каждом сосуде не должна была превышать 5%. Повторность каждого опыта – трёхкратная. На 3-, 7- и 21-е сутки от начала эксперимента серию образцов отбирали для оценки ферментативной активности.

Отобранные пробы для оценки активности ферментов хранили в герметичных п/э пакетах в холодильнике при 4°C, длительность хранения не превышала 10-ти дней с момента отбора образцов на испытания.

ВЛИЯНИЕ НИТРАТА И АЦЕТАТА СВИНЦА

Методы определения ферментативной активности почв. Воздействие солей свинца на состояние почв как среды обитания живых организмов оценивали по изменению ферментативной активности почв.

Определение активности **дегидрогеназы** проводили по методике Lenhard (1962) в модификации. В навеску почв 1 г вносили 0.1 г CaCO_3 и 1%-ный раствор глюкозы до 90% насыщения от общей влагоемкости почвы, инкубировали 24 ч при 30°C в термостате. Затем в колбу вносили 3 мл раствора 1%-го трифенилтетразоля хлористого и 1%-ной глюкозы, повторно инкубировали 3 ч при 30°C. Образовавшийся трифенилформазан (ТФФ), являющийся продуктом разложения трифенилтетразоля хлористого, экстрагировали 25 мл этанола, после центрифугирования и в супернатане определяли оптическую плотность на 456 нм. Значения прибора пересчитывали по калибровочной кривой в $\text{мкг ТФФ} \cdot \text{г}^{-1} \cdot 24\text{ч}^{-1}$.

Активность кислотных фосфомоноэстераз (**фосфатазы**) определяли по методу M. Tabatabai, J. Bremner (1969). 1 г почвы помещали в пробирки, вливали 4 мл универсального буферного раствора MUB (pH 6.5) и 1 мл 5 мМ р-ра пара-нитрофенил фосфата натрия. Пробирки закрывали и инкубировали в термостате 2 ч при 37°C. Образовавшийся в ходе реакции пара-нитрофенол (пНФ) экстрагировали 1 мл 0.5 М CaCl_2 и 4 мл 0.5 М NaOH. Оптическую плотность получившихся окрашенных растворов определяли после фильтрования проб через фильтр «белая лента» при 405 нм. Показания прибора пересчитывали по калибровочной кривой в $\text{мкг пНФ} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{ч}^{-1}$.

Общую гидролазную активность определяли по реакции гидролиза диацетата флюоресцеина (**ФДА**) в модификации А. В. Якушева, Б. А. Бызовой (2009). Навески почвы по 1 г помещали в пробирки, после чего приливали по 0.1 мл раствора диацетата флюоресцеина в ацетоне (2 г/л) и 10 мл 0.1 М калий-фосфатного буфера (pH = 7.6). Длительность инкубации составляла 1 ч при 30°C, оптическую плотность растворов определяли после центрифугирования (2000 об., 3 мин) на 490 нм. Показания прибора пересчитывали по калибровочной кривой в $\mu\text{г флюоресцеина} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{ч}^{-1}$.

Определение активности **уреазы** проводили по методу L. Kong с соавторами (2009). К навеске почвы 1 г приливали 2 мл калий-фосфатного буферного раствора (pH 6.7), 0.1 мл толуола и 2 мл 10%-ного раствора мочевины. Длительность инкубации составляла 48 ч при 37°C, после чего в пробирки вносили по 4 мл 1М KCl и 30 минут перемешивали на орбитальном шейкере (180 об./мин). После фильтрования через фильтр «белая лента» 1 мл аликвоты переносили в мерные колбы на 25 мл, в которые вносили дистиллированную воду, 4 мл 1М NaOH, 1 мл 50%-ного водного раствора сегнетовой соли, 0.4 мл реактива Несслера и доводили объем до метки. Оптическую плотность измеряли на светофилт্রে с длиной волны 460 нм. Результаты пересчитывали в $\mu\text{г NH}_3 \cdot \text{г}^{-1} \cdot 24 \text{ч}^{-1}$ по калибровочной кривой.

Определение активности **пероксидазы** проводили по методу Л. А. Карягиной, Н. А. Михайловской (1986). В навеску почв 1 г вносили 10 мл 1%-ного раствора гидрохинона и 1 мл 0.05%-ного раствора перекиси водорода, инкубировали 30 минут при 30°C в термостате. Затем в колбу вносили 10 мл этанола, смесь фильтровали и центрифугировали, в супернатане определяли оптическую плотность на 405 нм. Значения прибора пересчитывали по калибровочной кривой в $\text{мкг БХ} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{ч}^{-1}$.

Определение активности всех ферментов проводили в 4-кратной повторности для каждого образца почв с корректировкой по холостой пробе (почва, прокаленная при 120°C в течение трех часов).

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета Statistica 10. Значимость и достоверность различий оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа и попарного сравнения средних с использованием критерия Фишера (Fisher LSD test) для каждого показателя. Все графики построены с использованием SigmaPlot 11.0 software (USA).

Расчет токсикометрических показателей – эффективных концентраций свинца ($NOEC_{10}$, EC_{20} и EC_{50}) в экспериментах по определению ферментативной активности проводили с использованием лог-логистической модели регрессии вида $\varphi(x) = 1 - \exp[-\exp(\beta X)]$ из пакета программ XLSTAT-Ecology (AddinSoft).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведена серия экспериментов по изучению влияния свинца в форме нитрата и ацетата в дозах внесения 10, 100, 300, 500 и 1000 мг/кг (по ионам свинца) на активность ряда ферментов дерново-подзолистой окультуренной почвы.

Результаты оценки активности дегидрогеназы в зависимости от дозы и формы внесения свинца представлены на рис. 1. При увеличении концентрации нитрата свинца в почве выявлен тренд ингибирования активности дегидрогеназ в образцах, отобранных на 7-е и 21-е сутки опыта; в максимальной дозе внесения (1000 мг/кг) отклонение от контроля достигало 42.5 и 26.1% соответственно. Значения активности фермента в пробах, содержащих менее 300 мг/кг свинца, достоверно не отличались от контрольных проб. Выявлена достоверная отрицательная корреляция ($r = -0.85$, $p < 0.05$) между активностью дегидрогеназы на 21-е сутки опыта и дозой внесения Pb^{2+} в форме нитрата, полученные результаты согласуются с литературными данными (Khan et al., 2007; Pan, Yu, 2011).

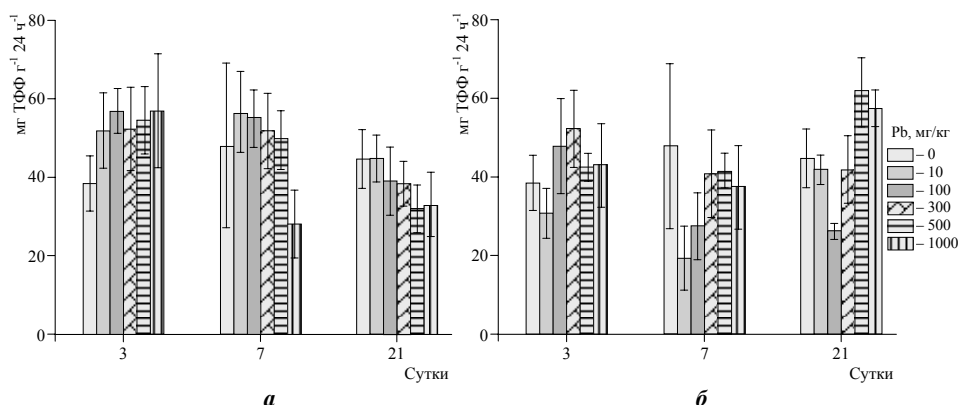


Рис. 1. Влияние различных концентраций свинца на активность дегидрогеназы дерново-подзолистой почвы в модельном эксперименте: *a* – $Pb(NO_3)_2$; *б* – $Pb(CH_3COO)_2$. Здесь и далее на графиках отображены средние значения наблюдаемых показателей и планка погрешностей, отражающая стандартные отклонения ($N = 12$)

ВЛИЯНИЕ НИТРАТА И АЦЕТАТА СВИНЦА

Внесение свинца в форме ацетата оказывало неоднозначное действие. Выявлена значительная вариабельность отклика по отношению к контролю в градиенте концентраций свинца, а максимальные дозы внесения (500 и 1000 мг/кг) оказывали выраженное стимулирующее действие на 21-е сутки опыта, активность в этих пробах была выше контрольных значений на 66.7 и 55.1% соответственно. Аналогичные данные, свидетельствующие о возможном стимулирующем действии свинца на активность дегидрогеназы, были приведены в работе Т. Stuczynski с соавторами (2003) для вариантов внесения 500 и 700 мг/кг свинца в форме хлорида. Авторы связали эффект с возможными перестройками бактериального сообщества почв: гибели чувствительных к загрязнению хлоридом свинца видов и биологическому росту иных бактерий, устойчивых к загрязнению, использующих отмершие клеточные оболочки как источник питания; при этих процессах концентрация дегидрогеназы как фермента окислительно-восстановительной группы почвенных процессов увеличивалась. Можно предположить, что стимулирующее действие высоких концентраций свинца в форме ацетата, выявленное в нашем эксперименте, имеет аналогичное объяснение.

Результаты оценки влияния нитрата и ацетата свинца на активность пероксидазы представлена на рис. 2. Эксперимент показал, что, как и в случае дегидрогеназы, нитрат свинца оказывает достоверное ингибирующее действие на активность пероксидазы и стимулирующее в ряде концентраций в варианте внесения в форме ацетата.

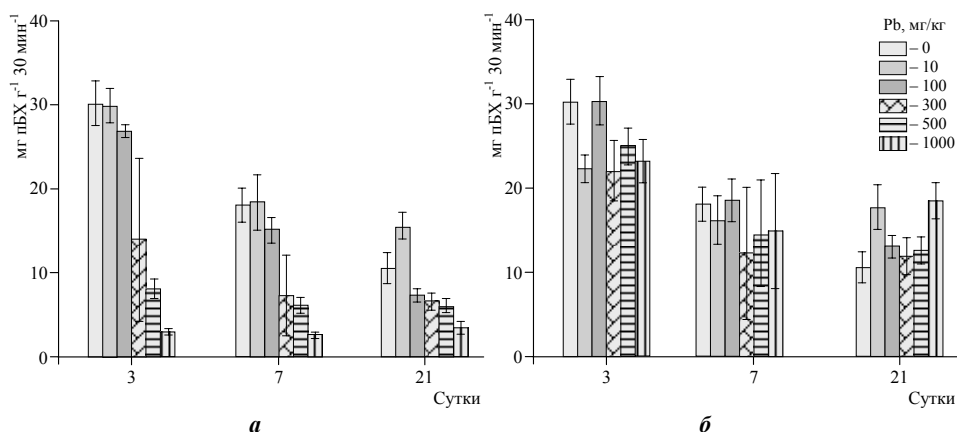


Рис. 2. Влияние различных концентраций свинца на активность пероксидазы дерново-подзолистой почвы в модельном эксперименте: *a* – $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$; *б* – $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$

Общая активность гидролаз, оцененная методом гидролиза ФДА, в пробах с ацетатом и нитратом свинца не отличалась от контроля в первые 7 суток экспозиции, однако на 21-е сутки выявлена дифференциация активности гидролиза ФДА в пробах с различными дозами нитрата свинца (рис. 3, *a*). В вариантах внесения 500 и 1000 мг/кг свинца активность снижалась более чем на 76% к контролю без свинца.

Все исследованные дозы ацетата свинца не отличались от контрольных значений (рис. 3, б). Активность гидролиза ФДА в почвах характеризует общее протекание гидролитических процессов, т.е. суммарную активность липаз, протеаз и эстераз (Guilbault, Kramer, 1964; Schnürer, Rosswall, 1982), в ряде работ была показана тесная корреляционная связь между активностью ФДА и длиной грибного мицелия (Söderström, 1977; Ingham, Klein, 1984).

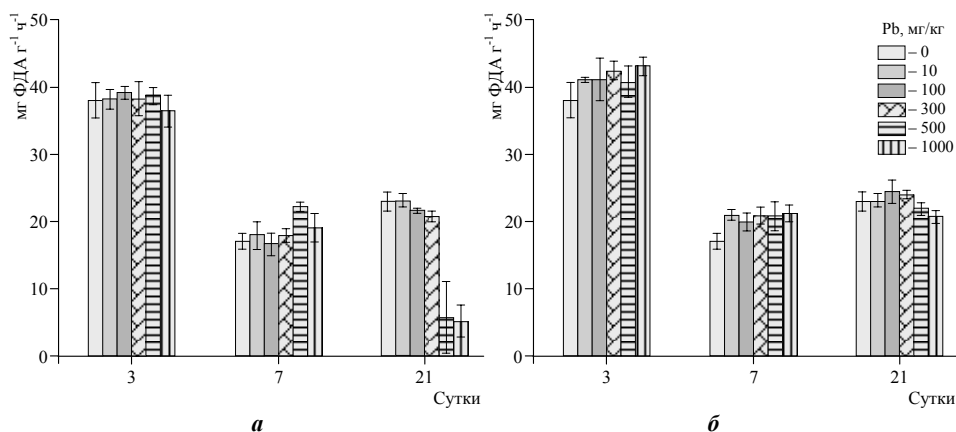


Рис. 3. Влияние различных концентраций свинца на активность общих гидролаз (ФДА) дерново-подзолистой почвы в модельном эксперименте: *а* – $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$; *б* – $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$

Внесение нитрата и ацетата свинца не оказало существенного влияния на активность уреазы и фосфатазы (рис. 4, 5).

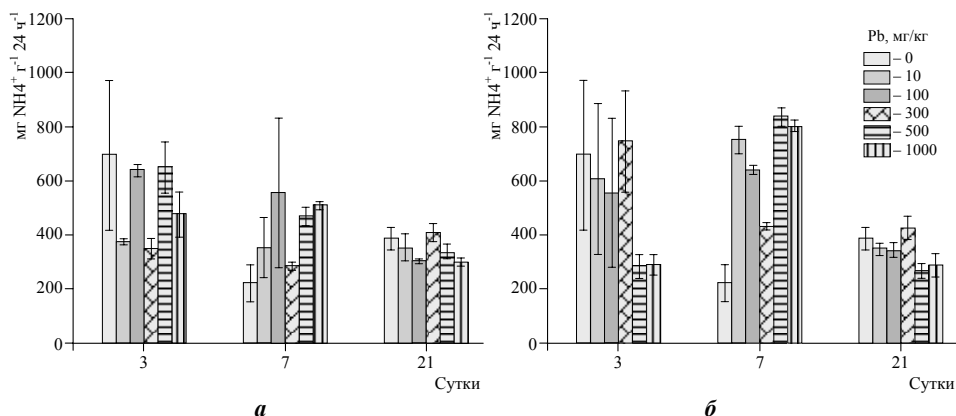


Рис. 4. Влияние различных концентраций свинца на активность уреазы дерново-подзолистой почвы в модельном эксперименте: *а* – $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$; *б* – $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$

ВЛИЯНИЕ НИТРАТА И АЦЕТАТА СВИНЦА

Наблюдалась значительная вариабельность показателей активности уреазы внутри вариантов, как в контрольных пробах, так и при внесении нитрата и ацетата свинца, на 3-и и 7-е сутки эксперимента, что может свидетельствовать о наличии дополнительных факторов, оказавших влияние на активность уреазы в начальных этапах сукцессии микробного сообщества. Средняя активность фермента 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).

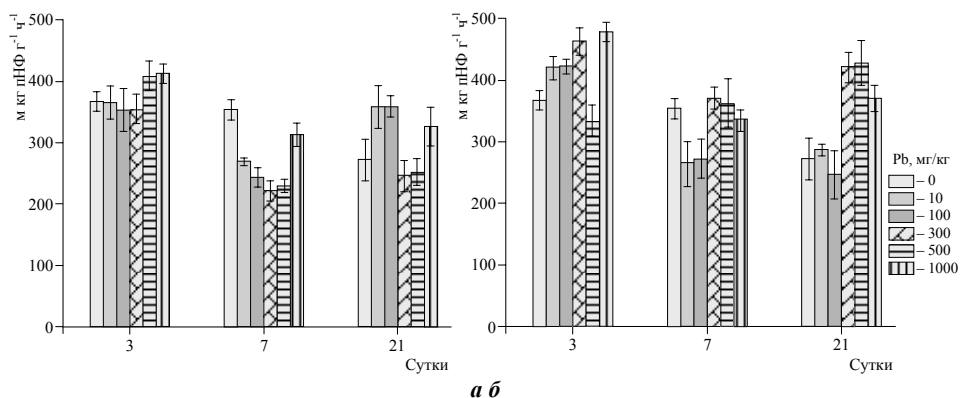


Рис. 5. Влияние различных концентраций свинца на активность кислотных фосфатаз дерново-подзолистой почвы в модельном эксперименте: *a* – $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$; *б* – $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$

Отсутствие выраженного эффекта от внесения свинца на активность кислотных фосфатаз, скорее всего, обусловлено тяжелым гранулометрическим составом почвы, в частности высоким содержанием глинистой фракции, которая могла обеспечить адсорбцию ферментов в межплоскостных пространствах глин и защитить от действия ингибирующих факторов (Звягинцев, 1979; Doelman, Naanstra, 1989; Zhang et al., 2015).

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. 6).

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 активности гидролаз (ФДА), пероксидазы и дегидрогеназы определились в диапазоне ингибирования, в то время как для ацетата – в области стимулирования ферментативной активности. Активность фосфатаз и уреаз 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 дан-

ные ярко демонстрируют значимость выбора формы внесения ТМ в модельных экспериментах на фиксируемые отклики.

С использованием уравнения, описывающего логистическую кривую отклика активности ферментов к градиенту содержания свинца, были рассчитаны эффективные уровни воздействия

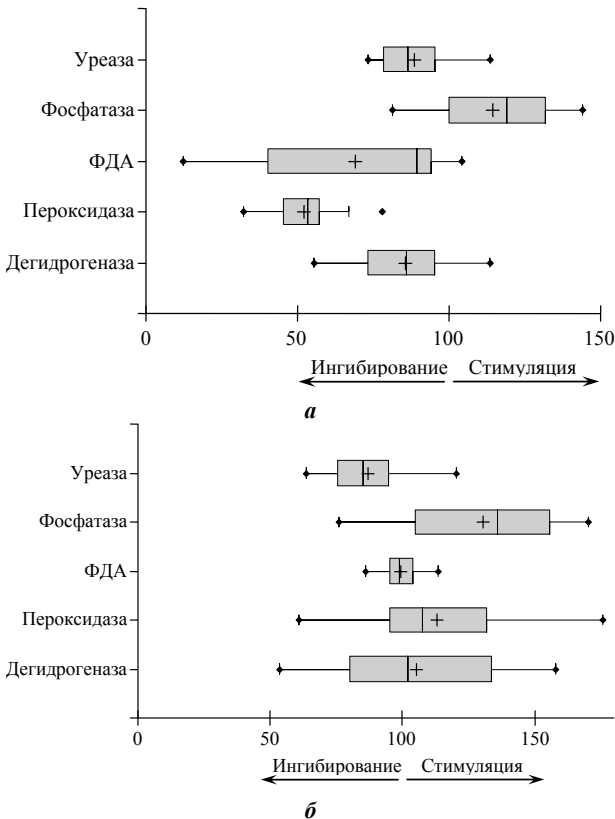


Рис. 6. Диаграммы размаха коэффициентов отклонения ферментативной активности дерново-подзолистых почв под действием нитрата ($Pb(NO_3)_2$) (а) и ацетата ($Pb(CH_3COO)_2$) (б) свинца относительно контроля (100%-контроль) для всех доз внесения свинца на 21-е сутки эксперимента. На графиках приведена медиана, квартиль и размах наблюдаемых значений

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 общую активность гидролаз и не учитывали активность уреазы и кислотной фосфатазы. Результаты проведенных расчетов представлены в табл. 2.

Примененный нами метод расчета зависимости «доза – эффект» и оценки концентраций свинца, приводящих к определению величины эффекта негативного действия на активность ряда почвенных ферментов, показал, что лог-логистическая модель наилучшим образом описывала ответную реакцию общей активности гидролаз (метод с ФДА) на внесение нитрата свинца. В случае активностей 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 активность почвенных ферментов можно ранжировать в ряду снижения степени чувствительности к загрязнению нитратом свинца: ФДА > пероксидаза > дегидрогеназа > уреазы ~ кислотная фосфатаза.

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 общую активность гидролаз и не учитывали активность уреазы и кислотной фосфатазы. Результаты проведенных расчетов представлены в табл. 2.

Примененный нами метод расчета зависимости «доза – эффект» и оценки концентраций свинца, приводящих к определению величины эффекта негативного действия на активность ряда почвенных ферментов, показал, что лог-логистическая модель наилучшим образом описывала ответную реакцию общей активности гидролаз (метод с ФДА) на внесение нитрата свинца. В случае активностей 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 активность почвенных ферментов можно ранжировать в ряду снижения степени чувствительности к загрязнению нитратом свинца: ФДА > пероксидаза > дегидрогеназа > уреазы ~ кислотная фосфатаза.

ВЛИЯНИЕ НИТРАТА И АЦЕТАТА СВИНЦА

Таблица 2

Эффективные (действующие) концентрации свинца на активность почвенных ферментов

Показатель	Эффективные (действующие) концентрации Pb мг/кг			R (McFadden)*
	NOEC (EC ₁₀)	EC ₂₀	EC ₅₀	
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
Гидролазы	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 (Behavioural Travel Modelling, 1979).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе исследования показано, что соли свинца разной природы – органическая и неорганическая – оказывают преимущественно разнонаправленное действие на ферментативную активность дерново-подзолистой почвы. Отмечено преимущественно стимулирующее влияние ацетата свинца, проявляющееся в повышении активности дегидрогеназы, пероксидазы и кислотной фосфатазы. Нитрат свинца оказал более выраженное ингибирующее действие. По показателям активности дегидрогеназы, пероксидазы и общей активности гидролаз (методом с ФДА) рассчитаны эффективные (действующие) концентрации свинца на 21-е сутки опыта. EC₅₀ преимущественно находится в диапазоне свыше 500 мг/кг Pb²⁺ нитрата свинца.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы Президиума РАН № 1.21 П «Биоразнообразии природных систем. Биологические ресурсы России: оценка состояния и фундаментальные основы мониторинга» (проект: Научные основы технологий мониторинга и биоиндикации состояния окружающей среды (№ 0109-2015-0021)).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Ананьева Ю. С., Шпис Т. С. Влияние загрязнения свинцом на биологические свойства чернозема выщелоченного // Вестн. Алт. гос. аграр. ун-та. 2010. № 10. С. 29 – 32.

Арзамасова А. В. Ферментативная активность дерново-подзолистой почвы при загрязнении тяжелыми металлами и экологические функции удобрений : автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2004. 28 с.

ГН 2.1.7.2041-06. Предельно допустимые концентрации (ОДК) химических веществ в почве / Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. М., 2006. 7 с.

Звягинцев Д. Г. Иммуобилизованные ферменты в почвах // Микробные метаболиты. М. : Изд-во МГУ, 1979. С. 31 – 46.

Звягинцев Д. Г. Почва и микроорганизмы. М. : Изд-во МГУ, 1987. 256 с.

Карягина Л. А., Михайловская Н. А. Определение активности полифенолоксидазы и пероксидазы // Вести АН БССР. Сер. сельскохозяйств. наук. 1986. № 2. С. 40 – 41.

Колесников С. И., Верниготова Н. А., Кузина А. А., Лаптинова А. С., Казеев К. Ш. Биодиагностика устойчивости коричневой карбонатной почвы заповедника «Утриш» к химическому загрязнению почв // Науч. журн. Кубан. гос. аграр. ун-та. 2015. № 112. С. 1 – 11.

Мазанко М. С., Колесников С. И., Денисова Т. В., Кузина А. А., Вернигорова Н. А., Кандалова О. А., Бабаян К. С., Лаптинова А. С. Устойчивость бурых лесных почв к сочетанному загрязнению свинцом и переменным магнитным полем // Современные проблемы науки и образования. 2013. № 5. С. 1 – 6.

Олькова А. С., Березин Г. И., Ашихмина Т. Я. Оценка состояния почв городских территорий химическими и эколого-токсикологическими методами // Поволж. экол. журн. 2016. № 4. С. 411 – 423.

Семенова И. Н., Ильбулова Г. Р., Зулкарнаев А. Б., Суюндуков Я. Т. Влияние цеолитов на ферментативную активность чернозема обыкновенного при загрязнении свинцом // Вестн. Оренб. гос. ун-та. 2011. № 12 (131). С. 427 – 429.

Терехова В. А. Биотестирование почв : подходы и проблемы // Почвоведение. 2011. № 2. С. 190 – 198.

Файза М. М. Влияние известкования на биологические свойства дерново-подзолистой почвы, загрязненной тяжелыми металлами : автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1993. 26 с.

Фокина А. И. Биологическая активность дерново-подзолистой пахотной почвы, загрязненной ацетатом свинца // Вестн. Алт. гос. аграр. ун-та. 2008. № 7. С. 37 – 42.

Якушев А. В., Бызова Б. А. Гидролазная активность как показатель состояния микробного сообщества вермикомпоста // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 17. Почвоведение. 2009. № 2. С. 41 – 46.

Aoyama M., Nagumo T. Factors affecting microbial biomass and dehydrogenase activity in apple orchard soils with heavy metal accumulation // Soil Science and Plant Nutrition. 1996. Vol. 42, iss. 4. P. 821 – 831.

Behavioural Travel Modelling / eds. D. Hensher, P. Stopher. London : Croom Helm, 1979. 861 p.

Belyaeva O. N., Haynes R. J., Birukova O. A. Barley yield and soil microbial and enzyme activities as affected by contamination of two soils with lead, zinc or copper // Biology and Fertility of Soils. 2005. Vol. 41, iss. 2. P. 85 – 94. DOI: 10.1007/s00374-004-0820-9.

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, iss. 1. P. 1 – 9. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2007.10.026.

Doelman P., Haanstra L. Short- and long-term effects of heavy metals on phosphatase activity in soils : An ecological dose-response model approach // Biology and Fertility of Soils. 1989. Vol. 8, iss. 3. P. 235 – 241. DOI: 10.1007/BF00266485.

Ingham E. R., Klein D. A. Soil fungi : Relationships between hyphal activity and staining with fluorescein diacetate // Soil Biology and Biochemistry. 1984. Vol. 16, iss. 3. P. 273 – 278.

Guilbault G. G., Kramer D. N. Fluorometric determination of lipase, acylase, alpha- and gamma-chymotrypsin and inhibitors of these enzymes // Analytical Chemistry. 1964. Vol. 36, iss. 2. P. 409 – 412.

Hemida S. K., Omar S. A., Abdel-Mallek A. Y. Microbial populations and enzyme activity in soil treated with heavy metals // Water, Air, and Soil Pollution. 1997. Vol. 95, iss. 1 – 4. P. 13 – 22.

Khan S., Cao Q., Hesham A. E., Xia Y., He J. Z. Soil enzymatic activities and microbial community structure with different application rates of Cd and Pb // J. Environmental Sciences. 2007. Vol. 19, iss. 7. P. 834 – 840.

Kong L., Wang Y.-B., Zhao L.-N., Chen Z.-H. Enzyme and root activities in surface-flow constructed wetlands // Chemosphere. 2009. Vol. 76, iss. 5. P. 601 – 608.

ВЛИЯНИЕ НИТРАТА И АЦЕТАТА СВИНЦА

Moreno J. L., García C., Hernández T. Toxic effect of cadmium and nickel on soil enzymes and the influence of adding sewage sludge // *European J. of Soil Science*. 2003. Vol. 54, iss. 2. P. 377 – 386.

Pan J., Yu L. Effects of Cd or/and Pb on soil enzyme activities and microbial community structure // *Ecological Engineering*. 2011. Vol. 37, iss. 11. P. 1889 – 1894.

Schnürer J., Rosswall T. Fluorescein diacetate hydrolysis as a measurement of total microbial activity in soil and litter // *Applied and Environmental Microbiology*. 1982. Vol. 43, iss. 6. P. 1256 – 1261.

Söderström B. E. Vital staining of fungi in pure cultures and in soil with fluorescein diacetate // *Soil Biology and Biochemistry*. 1977. Vol. 9, iss. 1. P. 59 – 63.

Stuczynski T. I., McCarty G. W., Siebielec G. Response of soil microbiological activities to cadmium, lead, and zinc salt amendments // *J. of Environmental Quality*. 2003. Vol. 32, iss. 4. P. 1346 – 1355.

Tabatabai M. A., Bremner J. M. Use of p-nitrophenylphosphate for assay of soil phosphatase activity // *Soil Biology and Biochemistry*. 1969. Vol. 1, iss. 4. P. 301 – 307.

Vestberg M., Sirvio H., Maarit Niemi R., Vepsäläinen M., Kukkonen S. Application of soil enzyme activity test kit in a field experiment // *Soil Biology and Biochemistry*. 2001. Vol. 33, iss. 12 – 13. P. 1665 – 1672.

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, iss. 6. P. 817 – 826.

Zhang Q., Zhou W., Liang G., Sun J., Wang X., He P. Distribution of soil nutrients, extracellular enzyme activities and microbial communities across particle-size fractions in a long-term fertilizer experiment // *Applied Soil Ecology*. 2015. Vol. 94. P. 59 – 71.