

аспірант кафедри агроекології Національного аграрного
університету

Макаренко Н.А.

кандидат сільськогосподарських наук

Кавецький В.М.

доктор сільськогосподарських наук, Інститут агроекології
та біотехнології УААН

ФЕРМЕНТАТИВНА АКТИВНІСТЬ ҐРУНТУ ЯК ЕКОТОКСИКОЛОГІЧНИЙ КРИТЕРІЙ НЕБЕЗПЕЧНОСТІ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

Представлено дані токсичної дії Cd, Pb, Cu, Zn на ферментативну активність ґрунту. Запропоновано підхід до оцінки важких металів за критерієм дії на ферментативну активність ґрунту.

Об'єктивна оцінка рівня небезпечності важких металів (ВМ) потребує не тільки детальних досліджень в гігієнічному аспекті, але й глибоких досліджень

їх поведінки в блоках екосистем, складовими частинами яких є ґрунт, рослина, природні води. Що стосується людини, існує ряд гігієнічних показників та критеріїв,

які характеризують небезпечність ВМ (ГДК, ОБУВ, Lim та інші). Небезпечність ВМ в природному середовищі оцінюють за такими параметрами, як фітотоксичність, дія на чисельність ґрунтового біоценозу та ферментативну активність ґрунту, біокумуляцію та інші [3,4]. Всі ці схеми оцінки небезпечності ВМ мають незакінчений характер: гігієнічні підходи недостатньо відбивають екологічний аспект, а екотоксикологічні не в повній мірі враховують можливість токсичної дії на людину. У зв'язку з цим розробляється підхід, який дасть можливість врахувати екотоксикологічні і гігієнічні показники небезпечності ВМ, і дозволить об'єктивно оцінити ступінь ризику забруднення ними довкілля. В основу даної роботи покладено модель, розроблену для інтегральної оцінки небезпечності забруднення довкілля пестицидами [1]. У роботі використовувались параметри цієї моделі з урахуванням властивостей ВМ: інтенсивності міграції в системі "ґрунт-рослина", фітотоксичності, дії на ферментативну активність ґрунту, санітарно-гігієнічний показник та інші. У кожній категорії передбачався поділ ВМ на чотири класи за 100 бальною шкалою. Узагальнюючим критерієм, за яким забруднювач відноситься до того чи іншого класу небезпечності, є сума балів. Сумарні оціночні бали, що відповідають чотирьом класам небезпечності, такі: 1 > 80, 2- 80-50, 3- 49-20, 4- < 20 [1].

До ряду екотоксикологічних критеріїв небезпечності ВМ відноситься показник ферментативної активності ґрунту. Рівень ферментативної активності ґрунту є не тільки важливим показником родючості ґрунту та фізіологічних процесів в рослинах, які є частиною екологічної підсистеми "ґрунт-рослина", але й характерним показником токсичності поллютанта при дії його на ґрунт.

Метою даної роботи була оцінка екотоксикологічної небезпечності Cd, Pb, Cu, Zn за параметром дії на ферментативну активність ґрунту. При виборі досліджуваних металів керувались наступними їх властивостями: Cu, Zn – мікроелементи, Cd, Pb – ультрамікроелементи, які відрізняються не тільки за гігієнічними параметрами небезпечності, але й беруть участь в загальному балансі біоценозів в різній мірі. Виходячи з того, що мікро- та ультрамікроелементи мають різний кларк в літосфері та необхідні організмам в суттєво різних кількостях, за еквівалент було прийнято ГДК металів в ґрунті.

Схема польового та вегетаційного дослідження передбачала селективне та комплексне внесення солей кожного досліджуваного елемента у дозах 0,5; 1,0; 5,0; 10,0; 15,0 ГДК (валового вмісту в ґрунті), що в перерахунку на кожен елемент відповідно становило: 1,5; 3,0; 15,0; 30,0; 45,0 мг Cd на 1 кг ґрунту; 150; 300; 1500; 3000; 4500 мг Zn на 1 кг ґрунту; 50; 100; 500; 1000; 1500 мг Cu

на 1 кг ґрунту; 15; 30; 150; 300; 450 мг Pb на 1 кг ґрунту. Ґрунт дерново-середньопідзолистий супіщаний (рН сол. - 5,5, гідролітична кислотність 2,7 мг-екв./100г, вміст гумусу за Тюрнім 0,87%, ступінь насиченості основами 58%). Проведення вегетаційного та польового дослідів відбувалось згідно із загальноприйнятими методиками. Як тест-культура використовувався ячмінь ярий. Повторність чотириразова. Активність ферментів визначали за методом Галстяна А.Ш.

У даній роботі при виборі досліджуваного об'єкта – ферментів – керувались не тільки їх чутливістю до металів, але і їх функціональними особливостями в ґрунті. Досліджувані ферменти – поліфенолоксидаза та пероксидаза – відносяться до групи оксидаз, які є каталізаторами при окисно-відновних реакціях в твердій та рідкій фазах ґрунту. Особлива роль оксидаз при синтезі та розкладі органічних речовин ґрунту: за даними останніх робіт роль поліфенолоксидази пов'язують із синтезом гумусу, а пероксидази – із його мінералізацією,

що в свою чергу тісно пов'язано із родючістю ґрунту. Пероксидаза – залізорфторинний фермент, простетичною групою якого є ферипротопорфірин. Цей фермент реагує з молекулярним киснем, може переносити свої електрони тільки до пероксиду водню або його похідним. Пероксидаза каталізує реакцію розкладу пероксиду водню і використовується як акцептор пероксиду водню. Поліфенолоксидаза належить до мідевмісних ферментів, атом міді в ньому присутній не у формі мідепорфторинового комплексу, а пов'язаний з ферментом, як іон міді (II) [2].

Згідно з екотоксикологічною класифікацією [1] за показником ферментативної активності ґрунту хімічна речовина оцінюється таким чином:

Зниження ферментативної активності ґрунту:

- від 100 до 51% – 1 клас (високонебезпечні) – оціночний бал 4;

- від 50 до 25% – 2 клас (небезпечні) – оціночний бал 3;

- від 24 до 10% – 3 клас

Таблиця 1

Вплив ВМ на ферментативну активність ґрунту

Метал	Поліфенолоксидаза		Пероксидаза	
	Активність ферменту, мг пурпургалліну на 1 г ґрунту	Активність ферменту, % від контролю	Активність ферменту, мг пурпургалліну на 1 г ґрунту	Активність ферменту, % від контролю
Контроль	0,771	100,0	0,528	100,0
Cd	0,377	49,0	0,234	44,3
Pb	0,693	90,0	0,468	88,6
Zn	0,732	94,9	0,514	97,3
Cu	0,750	97,2	0,520	98,4

(помірно небезпечні) – оціночний бал 2;

- <10% – 4 клас (малонебезпечні)

– оціночний бал 0.

При проведенні вегетаційного дослідю (селективне внесення) летальними для тест-культури ячменю ярого виявилися концентрації цинку та міді 10 - 15 ГДК, тому оцінка токсичності кожного досліджуваного металу за критерієм ферментативної активності ґрунту проводилась в концентрації 5 ГДК. Проведення вегетаційного дослідю із селективним внесенням ВМ в ґрунт дозволило встановити, що найбільш токсичними у відношенні до ферментів виявився кадмій, який на дерново-середньопідзолистому ґрунті пригнічував активність поліфенолоксидази та пероксидази на 51% і 55,7% відповідно (табл 1).

Свинець пригнічував активність ферментів на 10 % (поліфенолоксидаза) та на 11,4% (пероксидаза). Zn та Cu мали незначний вплив на активність ферментів: ці метали виявились більш токсичними по відношенню до поліфенолоксидази на відміну від Cd та

Pb (табл.1). Ферментативна активність при внесенні Zn зменшилась порівняно до контролю на 5,1% (поліфенолоксидаза) та на 2,7% (пероксидаза). Cu виявився найменш токсичним металом для цієї групи ферментів: він пригнічував активність поліфенолоксидази на 2,8%, а пероксидази на 1,6% по відношенню до контролю. Очевидно, важливим чинником при порівняно слабкій токсичній дії міді є її окисно-відновні взаємодії з ґрунтовим комплексом та оксидазами, серед яких поліфенолоксидаза є мідевісним ферментом.

Інгібуюча дія високих концентрацій ВМ на ферментативну активність зумовлена тим, що ВМ є осаджувачами білків, що особливо чітко проявляється при сумісній їх дії. При комплексному внесенні ВМ спостерігалось інтенсивне пригнічення ферментативної активності ґрунту вже на рівні 0,5 ГДК та відмічена тенденція подальшого зниження активності поліфенолоксидази та пероксидази в міру зростання концентрацій металів в ґрунті (табл. 2). При 1 ГДК металів активність ферментів знизилась на 57%

Таблиця 2

Токсична дія ВМ на ферментативну активність ґрунту (комплексне внесення)

Варіант	Поліфенолоксидаза		Пероксидаза	
	Активність ферменту, мг пурпургаллину на 1 г ґрунту	Активність ферменту, % від контролю	Активність ферменту, мг пурпургаллину на 1 г ґрунту	Активність ферменту, % від контролю
Контроль	1,032	100,00	0,864	100,00
0,5ГДК Cd,Pb,Cu,Zn	0,876	84,90	0,641	74,19
1ГДК Cd,Pb,Cu,Zn	0,454	43,99	0,329	38,10
5ГДК Cd,Pb,Cu,Zn	0,370	35,90	0,149	17,25

(поліфенолоксидаза) та на 71,9% (пероксидаза). У концентрації 5 ГДК металів при комплексному внесенні, на відміну від селективної дії, активність ферментів була найменшою і відрізнялась досить низьким рівнем: активність поліфенолоксидази пригнічувалась на 64,1%, а пероксидази – на 82,8% порівняно до контрольного варіанту (табл.2.).

концентраціях пояснюється тим, що метали можуть сприяти створенню координаційних сполук між активним центром і субстратом, підтримувати специфічну для ферменту структуру молекули і активного центру, змінювати константу рівноваги ферментативної реакції, або поверхневий заряд білкової частини ферменту. Крім того, метали можуть видаляти

Таблиця 3

Токсична дія ВМ на ферментативну активність ґрунту
(післядія внесення)

Варіант	Поліфенолоксидаза		Пероксидаза	
	Активність ферменту, мг пурпургаліу на 1 г ґрунту	Активність ферменту, % по відношенню до контролю	Активність ферменту, мг пурпургаліу на 1 г ґрунту	Активність ферменту, % по відношенню до контролю
Контроль	1,032	100,00	0,864	100,00
0,5ГДК Cd,Pb,Cu,Zn	1,14	111,00	0,981	113,5
1ГДК Cd,Pb,Cu,Zn	0,942	91,28	0,765	88,54
5ГДК Cd,Pb,Cu,Zn	0,894	86,63	0,711	82,34

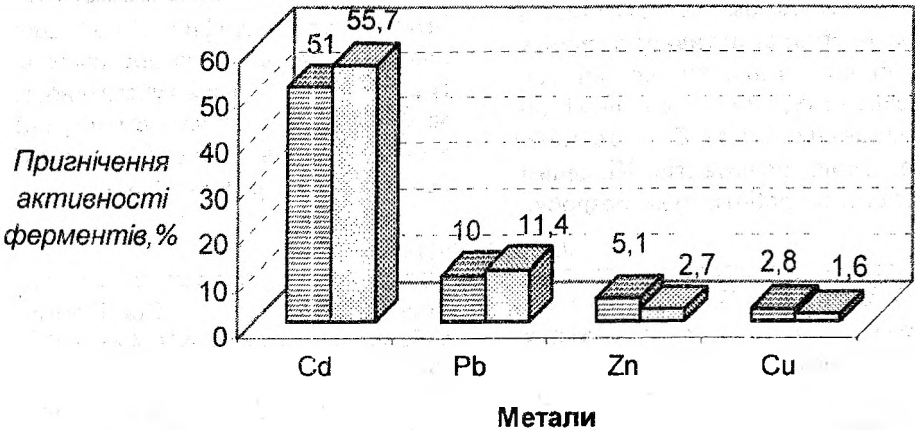
Особливої уваги заслуговують результати досліджень ферментативної активності ґрунту на другий рік після внесення ВМ: на варіанті з концентрацією 0,5 ГДК Cd, Pb, Cu, Zn відмічалось стимулювання активності як поліфенолоксидази (на 11%), так і пероксидази (на 14%) (табл.3).

Після часткової інактивації металів в ґрунті з часом, остаточна концентрація Cd, Pb, Cu, Zn була передпороговою, яка згідно із законом фазових реакцій ("користь – шкода") подіяла на ферменти в напрямку посилення їх функцій. Посилення активності ферментів під впливом ВМ в невисоких

інгібітор, зв'язуючи його у вигляді комплексу або спонукати його випадання в осад.

На варіантах з послідовним збільшенням концентрацій металів (1 ГДК та 5 ГДК) спостерігалось підвищення активності ферментів порівняно до аналогічних варіантів на першому році внесення, хоча активність поліфенолоксидази та пероксидази порівняно з контролем зменшилась відповідно на 8,7-13,4%, що свідчить про активну токсичну післядію ВМ у цих концентраціях на 2-й рік після внесення.

Зміни та відхилення в організмах можуть бути кінцевим незворотнім результатом дії токсичності



■ Поліфенолоксидаза □ Пероксидаза

Рис. 1. Вплив важких металів на ферментативну активність ґрунту

полютанта. Виявлення порушень на ферментативному рівні, особливо в такій системі як ґрунт, є першочерговим завданням при оцінці ступеня забруднення важкими металами. При виявленні якості та кількості металів, можна прогнозувати їх дію на ферментативну активність ґрунту. Оцінка досліджуваних металів у відношенні до показника ферментативної активності ґрунту показала, що найбільш токсичним виявився кадмій: порівняно до контролю він пригнічував активність оксидаз на 51% та 55,7% , що дає підставу віднести його за цією

категорією згідно із запропонованою градацією металів до 1 класу небезпечності ВМ; свинець – до третього класу (пригнічення на 10 % та на 11,4%). Мідь та цинк мали майже однакову токсичну дію та пригнічували ферментативну активність на 2,8 та на 1,6% (Cu); цинк пригнічував активність ферментів на 2,7% (пероксидаза) та на 5,1% (поліфенолоксидаза) (4 клас небезпечності) (рис.1).

Виходячи з результатів дослідження, оцінку небезпечності ВМ за критерієм ферментативної активності ґрунту можна провести наступним чином:

	Метали			
	Cd	Pb	Zn	Cu
Пригнічення активності ферментів ґрунту, %				
• пероксидаза	55,7	11,4	2,7	1,6
• поліфенолоксидаза	51,0	10,0	5,1	2,8
Оціночний бал	4	2	0	0
Клас небезпечності	1	3	4	4

Таким чином, за показником ферментативної активності ґрунту Cd можна віднести до високо небезпечних, Pb – до помірно небезпечних, Cu та Zn – до мало небезпечних поліютантів. Кінцевим результатом роботи буде розробка

інтегральної класифікації ВМ. Для цього будуть проведені дослідження із встановлення класів небезпечності за критеріями інтенсивності міграції в системі “ґрунт-рослина”, міграції по ґрунтовому профілю та інші.

Література

1. Васильев В.П., Кавецкий В.Н., Бублик Л.И. Интегральная классификация пестицидов по степени опасности и оценка потенциального загрязнения окружающей среды // Агрохимия. – 1989, № 6. – С.97-102

2. Галстян А.Ш. Некоторые вопросы изучения почвенных

ферментов. Сообщение лаборат. агрохимии АН Арм.ССР, 1959, № 2

3. Микроорганизмы и охрана почв/ Под ред. Д.Г. Звягинцева. – М.: Из-во МГУ, 1989. – 206 с.

4. Успехи микробиологии / Под ред. Имшенецкого. – Из-во «Наука», М., 1985. – 255 с.