

АКТИВНОСТЬ ГИДРОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ ПРИ НЕФТЯНОМ ЗАГРЯЗНЕНИИ ПОЧВЫ

Сергатенко С.Н., кандидат биологических наук, доцент,
тел. 8(8422) 55-95-16, ssergstenko@yandex.ru

Федорова И.Л., кандидат химических наук, доцент,
тел. 8(8422) 55-95-16, irinalfedorova@yandex.ru

Игнатова Т.Д., кандидат биологических наук, доцент,
тел. 8(8422) 55-95-16, tatyaignatova@yandex.ru

ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

***Ключевые слова:** почвенные ферменты, гидролазы, инвертаза, фосфатаза, уреаза, нефтяное загрязнение, почва*

В статье показана динамика ферментативной активности гидролаз почвы, подвергшейся нефтяному загрязнению. В качестве загрязнения в почву вносили нефть месторождения «Вишенское» Мелекесского района Ульяновской области до и после возделывания яровой пшеницы, в качестве сорбентов использовали биогукус, цеолит и диатомит. Обнаружена прямая зависимость степени ингибирования фосфатазы и инвертазы от концентрации нефти. Установлено, что внесение диатомита повышало активность инвертазы, цеолита и биогукуса – фосфатазы. Для диагностики состояния нефтезагрязненных почв целесообразно определять активность фосфатазы и инвертазы.

Введение. В настоящее время распространенным видом антропогенного воздействия является нефтяное загрязнение почвы. Изучение динамики восстановления почвенного плодородия и нормального функционирования почвенной экосистемы является перспективным и требует дальнейшей детализации.

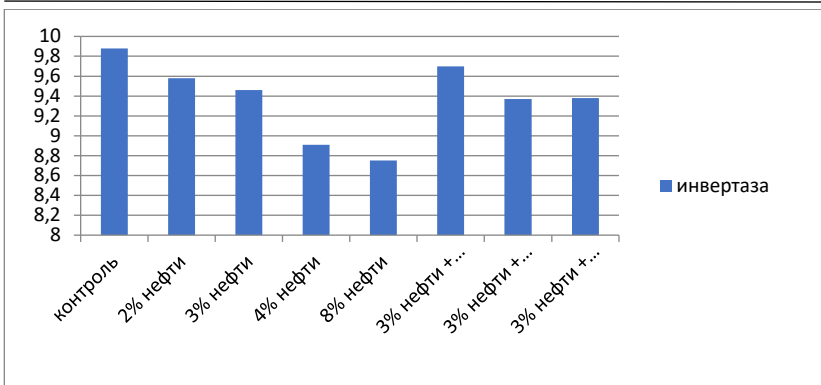
Основной биологический критерий, оценивающий степень нефтяного загрязнения, - это изменение биохимических показателей ферментной активности почвы. Почвенные ферменты катализируют

синтез и разложение органических веществ, образование гумуса, нитрификацию и ряд других процессов [1]. Ферментный состав зависит от химического состава и типа почв, от степени и характера экзогенного воздействия [2]. Сведений о ферментативной активности разных типов почв накоплено недостаточно, поэтому проведенное исследование весьма актуально в теоретическом и практическом плане.

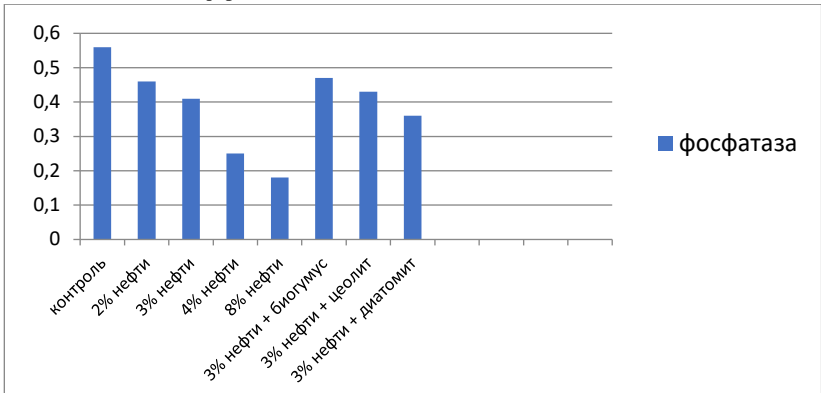
Материалы и методы. Объектом исследования являлась почва - чернозем выщелоченный среднесуглинистый до и после выращивания яровой пшеницы. В качестве загрязнения в почву вносили нефть месторождения «Вишенское» Мелекесского района Ульяновской области. Групповой состав данной нефти представлен парафинами (3,73%), асфальтенами (10,23%), смолами силикагелевыми (26,26%), серой (3%). В роли сорбентов использовали диатомит Инзенского месторождения Ульяновская области, цеолит (кремнеземистый мергель Сиуч-Юшанского месторождения).

Лабораторный эксперимент проводили с семенами яровой пшеницы сорта Землячка по схеме: 1) контроль (чернозем); 2) 2% нефти; 3) 3% нефти; 4) 4% нефти; 5) 8% нефти; 6) 3% нефти + биогумус; 7) 3% нефти + цеолит; 8) 3% нефти + диатомит. Определение ферментативной активности инвертазы проводили методом И.И.Ромейко и С.М.Малинской, фосфатазы - методом А.Ш. Галстяна и Э.А.Арутюнян. Повторность определения трехкратная.

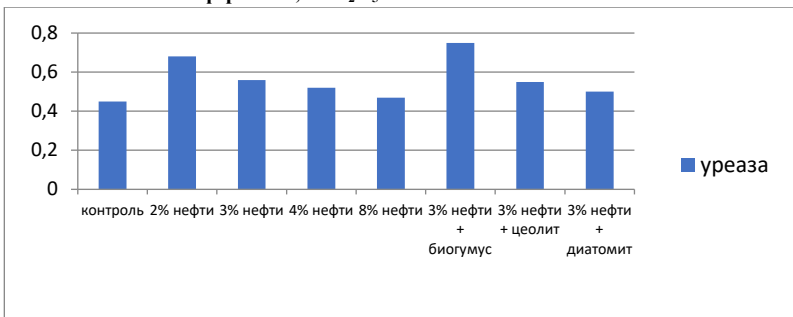
Результаты исследований. Важнейшим биохимическим показателем, характеризующим плодородие почв и степень антропогенного воздействия, является активность почвенных ферментов класса гидролаз (инвертазы, фосфатазы и уреазы) [3]. Данная активность зависит от химического состава почвы, видового и количественного разнообразия почвенной микробиоты и растений, набора и степени активности почвенных ферментов, а также комплекса взаимодействующих экологических факторов [4,5], в частности зависит от концентрации нефти в почве (Рисунок 1 и 2).



Активность фермента, мг глюкозы/ 1г почвы за 40 часов



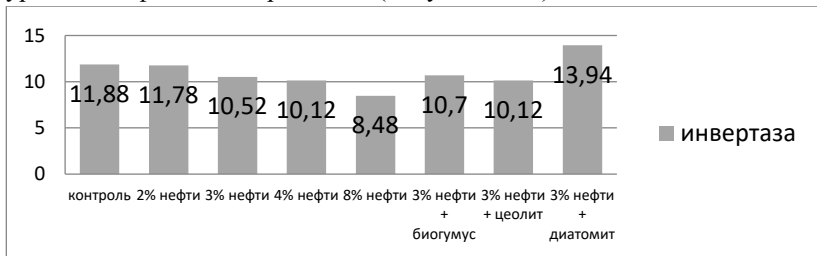
Активность фермента, мг P₂O₅/ 1г почвы/ 1 час



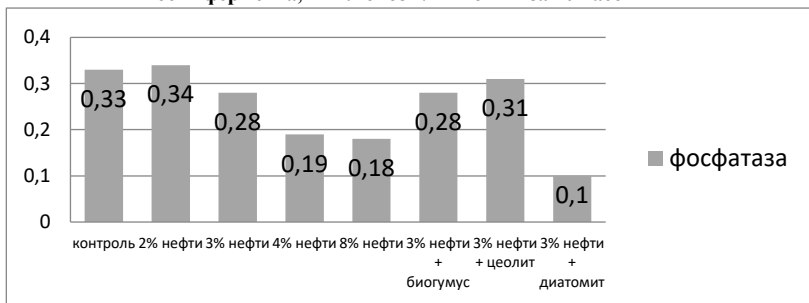
Активность фермента, мг / 1г почвы/ 1 час

Рис. 1 – Влияние различных доз нефти на активность гидролитических ферментов до выращивания растений

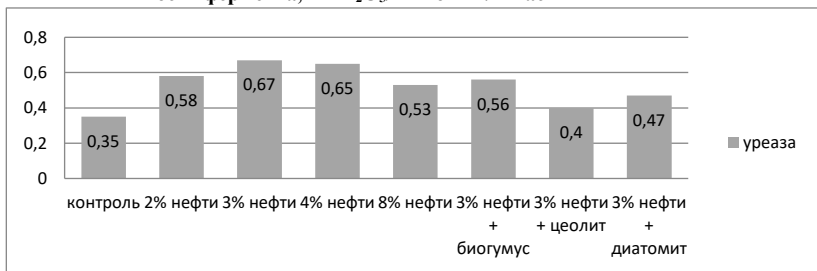
Активность большинства ферментов, содержащихся в почве загрязненной нефтепродуктами, снижалась с повышением концентрации нефти. Главным гидролитическим ферментом, определяющим уровень плодородия почвы и ее биохимический потенциал, является инвертаза. В наших исследованиях прослеживалась обратная корреляция между активностью фермента и уровнем нефтяного загрязнения (Рисунок 1 и 2).



Активность фермента, мг глюкозы/ 1г почвы за 40 часов



Активность фермента, мг P₂O₅/ 1г почвы/ 1 час



Активность фермента, мг / 1г почвы/ 1 час

Рис. 2 – Влияние различных доз нефти на активность гидролитических ферментов после выращивания растений

Низкие концентрации нефти вызывали незначительное уменьшение активности инвертазы. Действие высоких доз нефтяного загрязнения снижало работу фермента на 11,4% в образцах до выращивания растений и на 28,6% в образцах после выращивания растений. Внесение биогумуса было эффективным в почвенных образцах до выращивания растений пшеницы, тогда как в серии после растений наибольшее влияние оказал диатомит (Рисунок 1). Снижение активности данного фермента по мере роста концентрации нефти в почве можно объяснить замедлением почвенных окислительно-восстановительных реакций в результате нефтяного загрязнения. Известно, что инвертаза катализирует гидролиз сахарозы и фруктотрансферазные реакции глюкозы, галактозы и рамнозы [6]. В почвах, подвергшихся нефтяному загрязнению, данные процессы затруднены, что отражается на каталитических параметрах инвертазы. Рост численных показателей активности инвертазы в серии образцов после возделывания пшеницы объясняется интенсивными выделениями данного фермента корнями вегетирующих растений [7].

Наиболее выраженному угнетению подвергалась фосфатаза (Рисунок 1 и 2). Активность гидролитического фермента фосфатазы имела обратную корреляционную зависимость от концентрации нефти в почвенном образце. Максимально низкий уровень активности фермента, а именно трехкратное снижение, наблюдался в почве с высокой концентрацией нефти (8%) (Рисунок 1 и 2). Аналогичная динамика активности фосфатазы прослеживалась и в серии почвенных образцов после выращивания растений. Добавление биогумуса и цеолита незначительно активировало фермент, приближая показатель к контрольным цифрам. Низкие концентрации нефти (2%) оказывали стимулирующее действие на фермент, повышая его активность на 51% по сравнению с контролем.

Снижение активности почвенных гидролитических ферментов может быть вызвано обволакивающим действием углеводов нефти на частицы почвы. Последнее затрудняет взаимодействие активного центра фермента с субстратом [3, 7]. Второй возможной причиной уменьшения ферментативной активности является прямое ингибирование фермента содержащимися в составе нефти ионами

тяжелых металлов, фенольными соединениями, продуктами окисления некоторых углеводов [6]. Ингибиторы прямого действия нарушают конформацию активного центра фермента, затрудняют сорбцию субстрата, что приводит к резкому замедлению скорости катализируемой реакции.

Третий исследуемый гидролитический фермент – уреаза участвует в регуляции азотного обмена в почве. Этот фермент катализирует гидролиз мочевины до аммиака и углекислого газа, вызывая гидролитическое расщепление связи между азотом и углеродом в молекулах органических веществ, обнаруживается во всех почвах [5]. В наших исследованиях активность уреазы при низких концентрациях нефти (2%) увеличивалась, а при высоких концентрациях (3% и более) резко снижалась в образцах почвы до выращивания пшеницы (Рисунок 1). В образцах почвы после выращивания растений активность уреазы высокими дозами нефти не подавлялась (Рисунок 2). Подобный факт можно объяснить выделением корнями растений органических азотсодержащих соединений, преобразующихся в мочевины. Мочевина является субстратом для данного фермента и вызывает его активацию [4]. Подобный механизм может лежать в основе резкого увеличения интенсивности работы уреазы в опытах с применением биогумуса и 3% нефтяного загрязнения, в которых активность уреазы на 48% превышала контрольные значения. Биогумус также содержит азотистые органические вещества.

Высокая уреазная активность большинства почв препятствует использованию мочевины в качестве универсального источника азотного питания, так как высокая скорость гидролиза мочевины почвенной уреазой приводит к локальной аккумуляции ионов аммония, повышению реакции среды до щелочных значений, и как следствие этого, потерям азота из почвы в виде аммиака. Расщепляя мочевины, уреазы предотвращает изомеризацию её в фототоксичный цианат аммония. Хотя сама мочевина частично используется растениями, однако в результате активного действия уреазы она не может долго сохраняться в почве [3].

Заключение. Установлено, что нефтяное загрязнение снижает активность части гидролитических ферментов, в частности инвертазы и

фосфатазы. Степень ингибирования коррелировала с концентрацией нефти в почве. Активность уреазы изменялась неоднозначно.

Внесение адсорбирующих и ионно-обменных агентов в почву, загрязненную нефтью, оказывало разнонаправленное воздействие. Добавление биогумуса приводило к незначительному усилению активности фосфатазы в почве до выращивания пшеницы. Внесение диатомита активировало инвертазу, а цеолита - фосфатазу. Активность уреазы увеличивалась на варианте с применением биогумуса и 3% нефтяного загрязнения.

Таким образом, для диагностики состояния почв, подвергшихся нефтяному загрязнению, целесообразно определять активность базовых гидролитических ферментов: фосфатазы и инвертазы.

Библиографический список:

1. Активность оксидаз в высоко окультуренной дерново-подзолистой легкосуглинистой почве при разных уровнях минерального питания сельскохозяйственных культур/ В.В.Лапа, Н.А.Михайловская, С.А. Касьянчик, Т.В. Погирицкая // Почвоведение и агрохимия -2016.- № 2(57)- С.124-134.

2. Сулейманов, Р.Р. Влияние нефтяного загрязнения на динамику биохимических процессов чернозема обыкновенного (Оренбургская область)/ Р.Р. Сулейманов, Т.С. Шорина // Известия Самарского научного центра РАН. - 2012. - Т.14, №1. - С.240-243

3. Колесников, С.И. Изменение ферментативной активности чернозема обыкновенного при загрязнении нефтью и нефтепродуктами в модельных экспериментах/ С.И. Колесников, М.Л. Татосян, Д.К. Азнаурьян //Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук.- 2007.- № 5.- С. 32-34.

4. Костин, В.И. Морфофизиологические параметры и меристематическая активность проростков яровой пшеницы под действием композиционных кремнийорганических препаратов на основе вермикомпоста/ В.И. Костин, Т.Д.Игнатова, С.Н. Сергатенко// Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии.- Ульяновск: ГСХА. - 2016.- № 3.- С. 61-70.

5. Экологические проблемы нефтяных разливов/ А.Л. Игнатов, Т.Д. Игнатова, С.Н. Сергатенко, Н.В. Смирнова// Материалы XI

Международной научно-практической конференции Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы, пути их решения. – Ульяновск, 2021. – С.37-42.

6. Бородулина, Т.С. Влияние нефтезагрязнения почвы на физиологические характеристики растений пшеницы / Т.С. Бородулина, В.И. Полонский // Вестник Красноярского ГАУ. - 2010. - № 5. - С. 50-55.

THE ACTIVITY OF HYDROLYTIC ENZYMES IN OIL POLLUTION OF THE SOIL

Sergatenko S.N., Fedorova I.L., Ignatova T.D.

Keywords: *soil enzymes, hydrolases, invertase, phosphatase, urease, oil pollution, soil*

The article shows the dynamics of enzymatic activity of hydrolases of soil subjected to oil pollution. Oil from the Vishenskoye field of the Melekessky district of the Ulyanovsk region was introduced into the soil as contamination before and after the cultivation of spring wheat, biohumus, zeolite and diatomite were used as sorbents. A direct dependence of the degree of inhibition of phosphatase and invertase on the concentration of oil was found. It was found that the introduction of diatomite increased the activity of invertase, zeolite and biohumus phosphatase. To diagnose the condition of oil-contaminated soils, it is advisable to determine the activity of phosphatase and invertase.