

ДИНАМИКА БИОХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ БУРОЙ ЛЕСНОЙ ПОЧВЫ ПРИ ЗАГРЯЗНЕНИИ БИОЦИДАМИ¹

© 2019 г. О. В. Чуварева^{1,*}, Ю. В. Акименко¹, К. Ш. Казеев¹, С. И. Колесников¹

¹ Южный федеральный университет
344006 Ростов-на-Дону, ул. Б. Садовая, 105/42, Россия

* E-mail: sayori11@yandex.ru

Поступила в редакцию 25.07.2018 г.

После доработки 10.11.2018 г.

Принята к публикации 13.05.2019 г.

В модельных лабораторных экспериментах изучено влияние антибиотика (тилозин) и пестицида (бастион) на биохимические свойства бурой лесной почвы (концентрации 1, 10, 100, 1000 мг/кг почвы). Внесение биоцидов приводило к изменению условий среды (изменение рН), а также к снижению ферментативной активности почвы. Ферменты из класса оксидоредуктаз оказались менее устойчивыми к загрязнению, чем гидролазы. При загрязнении биоцидами в концентрации 100 мг/кг происходило достоверное изменение реакции среды (рН) почвы и ферментативной активности. Антибиотик тилозин оказывал более сильное подавляющее воздействие на биохимические свойства, чем фунгицид бастион.

Ключевые слова: биохимические свойства почвы, бурая лесная почва, загрязнение биоцидами, антибиотик тилозин, пестицид бастион.

DOI: 10.1134/S0002188119080040

ВВЕДЕНИЕ

Использование антибиотиков и пестицидов в сельском хозяйстве и животноводстве увеличилось в течение последних нескольких десятилетий. Активное использование антибиотиков в качестве стимуляторов роста, а также для борьбы с различными заболеваниями на животноводческих фермах влечет за собой обострение проблемы антибиотикорезистентности, а также угрозы здоровью человека в общемировых масштабах. Пестициды используют в сельском хозяйстве уже многие годы, и их отрицательное влияние на флору и фауну давно установлено. Особо токсичные пестициды, такие как ДДТ, эндрин, мирекс, токсафен, запрещены к использованию во множестве стран по всему миру.

В сельском хозяйстве и растениеводстве антибиотики нашли широкое применение, их используют для борьбы с вредителями и различными заболеваниями, как инсектициды и гербициды, а также как стимуляторы роста растений и семян [1]. В животноводстве использование антибиоти-

ков как кормовых добавок позволяет ускорить прирост мышечной массы мясных животных и увеличить удои молока [2]. Использование антибиотиков и вакцинация привели к резкому снижению смертности из-за инфекционных заболеваний среди людей и животных [3].

Почва является средой обитания для огромного количества микроорганизмов, поскольку является гетерогенной средой. Благодаря широкому спектру воздействий биотического и абиотического характера в данной среде микроорганизмы имеют высокую степень адаптации к различным факторам, которая обеспечивает высокую долю выживаемости и воспроизведения. Большое количество антибиотиков, используемых в настоящее время в медицине и других сферах деятельности человека, изначально были выделены с помощью почвенных бактерий (*Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp.), актиномицетов и грибов (*Penicillium* sp., *Cephalosporium* sp., *Aspergillus* sp.) [4]. Бесконтрольное использование антибиотиков создает проблему, связанную с появлением патогенных бактерий, устойчивых к любым видам современных антибиотиков. Такие бактерии, благодаря выработке особых механизмов противодействия антибиотическим веществам, быстро размножаются в естественных условиях и распространяются на огромные территории [5].

¹ Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-00388, РФФИ — в рамках научного проекта № 18-76-00010 и гранта Президента Российской Федерации (МК-326.2017.11).

Антибиотики и пестициды в настоящее время обнаруживаются почти во всех средах: в почве, воде и воздухе. Ежегодно в почву на территориях, задействованных в сельском хозяйстве, попадает огромное количество пестицидов и антибиотиков. Пестициды попадают прямым путем в результате использования при обработке различных сельскохозяйственных культур в полях и вместе со сточными водами и атмосферным воздухом разносятся на многие километры вокруг, встраиваясь в природные экосистемы. Антибиотики, в свою очередь, имеют несколько возможных путей попадания: при использовании в растениеводстве (при обработке взрослых побегов, растений, плодов, семян), при использовании навоза в качестве удобрения, а также со сточными водами с животноводческих ферм [6]. Антибиотики различных классов обнаруживают в почве в опасных концентрациях: класс тетрациклинов – в концентрациях 50–900 [7], класс макролидов – до 50–800 мг/кг [8].

В связи с приведенными выше данными, исследование воздействия загрязнения данными химическими веществами на биохимические свойства почв является актуальным.

Цель работы – оценка динамики изменения биохимических свойств бурой лесной почвы при загрязнении антибиотиком тилозин и пестицидом бастион в различных концентрациях, на разных сроках инкубации, в условиях модельного эксперимента.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве биоцидов были выбраны бактерицидный ветеринарный антибиотик тилозин и системный фунгицид бастион, широко используемые в ветеринарии и сельском хозяйстве [9]. Тилозин – антибиотик макролидного ряда, продуцируемый *Streptomyces fradiae*, широко применяемый в животноводстве в качестве лечебно-профилактического средства и стимулятора роста. Активен в отношении большинства Гр+ и некоторых Гр– бактерий [10]. Бастион – комбинированный фунгицид системного действия для борьбы с возбудителями грибковых заболеваний, распространяющихся с семенами и через почву. Эффективен против грибов классов аскомицетов, базидиомицетов и несовершенных грибов.

Объектом исследования была бурая лесная почва, отобранная в Республике Адыгея, п. Никель (слой 0–20 см). Данная почва является довольно плодородной при условии интенсивного окультуривания и широко распространена в регионах Кавказа, а также на Дальнем Востоке. На Северном

Кавказе данный тип почв широко представлен в лесном фонде и в заповедниках. Естественная растительность данных почв в большинстве регионов представлена широколиственными буково-дубовыми, буково-грабовыми, буково-ясеневыми лесами [11].

Воздушно-сухие образцы почвы обрабатывали растворами антибиотика тилозин и фунгицида бастион в концентрациях 1, 10, 100, 1000 мг/кг почвы. Все образцы инкубировали в вегетационных сосудах при температуре 20–25°C в темном месте. Отбор образцов проводили через 3, 30 и 90 сут после внесения загрязняющих веществ. Контролем служили образцы почвы, не загрязненные биоцидами. Концентрации и сроки инкубации были выбраны, исходя из данных проведенных ранее рекогносцировочных исследований [12–14], а также на основе литературных данных [15].

Для исследования биохимических свойств почвы были выбраны следующие показатели: активность ферментов класса оксидоредуктаз (каталазы, дегидрогеназы), гидролаз (инвертазы, фосфатазы), а также величина рН. Модельные и аналитические опыты выполняли в трехкратной повторности.

Активность каталазы и дегидрогеназы была исследована по методу Галстяна в модификации Хазиева, инвертазы – с помощью модифицированного колориметрического метода Хазиева, фосфатазы – модифицированным методом Галстяна–Арутюнян, исследование рН почвы проводили потенциометрическим методом [16].

Статистическая обработка результатов исследования проведена с использованием статистического пакета Statistica 10.0 и Excel. Рассчитаны основные показатели вариационной статистики: среднее (μ), ошибка среднего (m), стандартное отклонение (s), коэффициент вариации (CV) и другие.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На 3-и сут после внесения загрязняющих веществ в концентрации 1, 10 мг/кг почвы отмечено увеличение активности каталазы (на 10–20%) (рис. 1). В научной литературе увеличение показателей при внесении незначительных концентраций загрязняющих веществ называется “эффектом малых доз”. Также было показано снижение активности фермента при внесении биоцидов в концентрации 1000 мг/кг почвы (на 5–15%). На втором сроке исследования (30-е сут) “эффект малых доз” также был отмечен, однако в меньшей степени, что могло быть связано с процессами разложения загрязняющих веществ. На 90-е сут инкубации загрязненных образцов отмечено увеличение активности фермента во всех образцах,

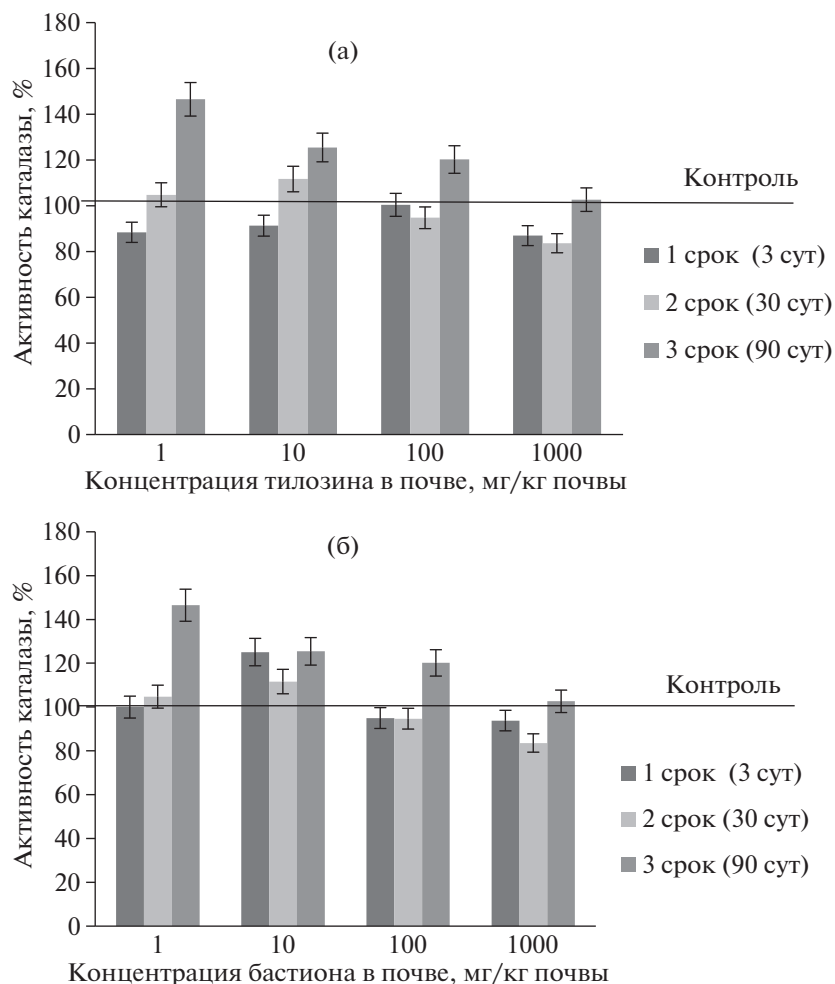


Рис. 1. Динамика активности каталазы бурой лесной почвы при загрязнении: (а) – тилозином, (б) – бастиионом, % от контроля.

которое могло быть связано с восстановлением микробной популяции после загрязнения химическими веществами.

При исследовании активности дегидрогеназ на 3-и сут инкубации образцов почвы отмечено увеличение их активности при внесении загрязняющих веществ в концентрациях 1 и 10 мг/кг почвы, причем, эффект малых доз был более выражен в образцах почвы, загрязненных фунгицидом бастиион: отмечено увеличение активности ферментов на 40–45%, больше, чем при внесении антибиотика тилозина – 10–20%.

Внесение загрязняющих веществ в концентрации 100 мг/кг почвы также вызывало эффект, подобный “эффекту малых доз”, однако в несколько меньшей степени (20–23%), чем в образцах, описанных выше (рис. 2).

При исследовании образцов почвы на 30-е сут инкубации была отмечена тенденция к сниже-

нию активности, которая могла быть связана со снижением интенсивности метаболизма почвенных микроорганизмов после стимулирующего эффекта, оказанного внесением загрязняющих веществ. Максимальное уменьшение активности было отмечено в образцах, загрязненных тилозином в концентрации 1 мг/кг почвы.

Фунгицид бастиион, по-видимому, оказывал на микробную популяцию почвы более медленное воздействие, т.к. на втором сроке инкубации (30 сут) в образцах, загрязненных пестицидом в концентрациях 1, 100 и 1000 мг/кг почвы, отмечено увеличение ферментативной активности на 30–60%.

В образцах, загрязненных пестицидом, на 90-е сут инкубации была отмечена тенденция к восстановлению активности фермента. Данный эффект может быть объяснен более быстрыми процессами разложения пестицида в почве, чем антибиотика.

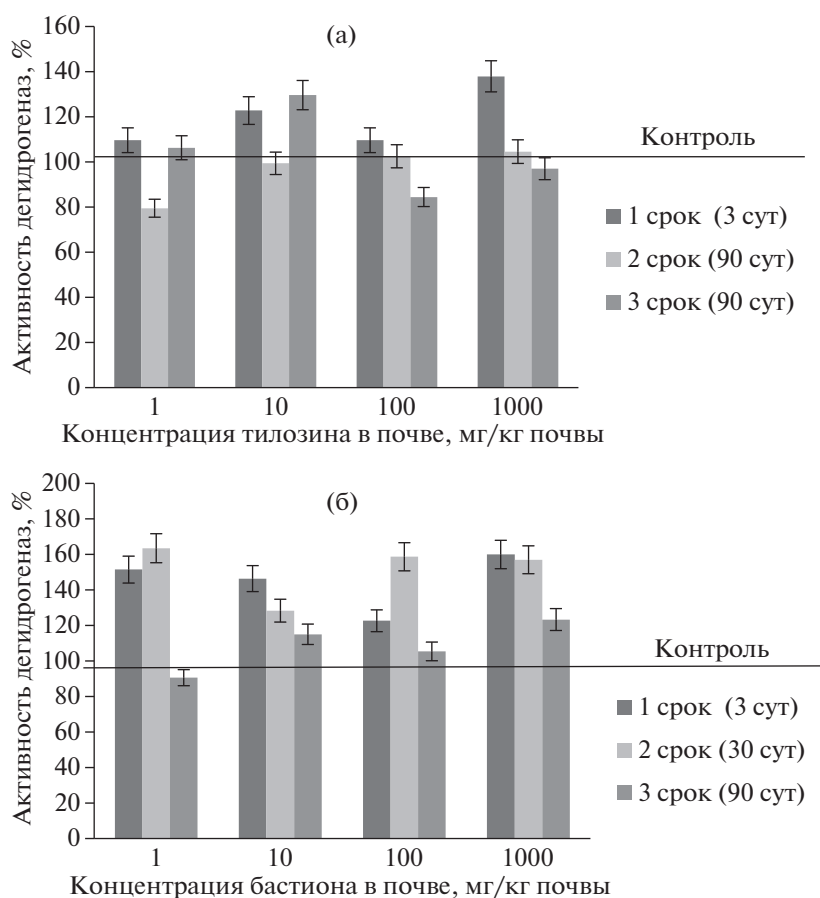


Рис. 2. Динамика активности дегидрогеназ бурой лесной почвы при загрязнении: (а) – тилозином, (б) – бастионом, % от контроля.

При исследовании активности инвертазы на первом сроке инкубации было установлено снижение активности данного фермента во всех образцах по сравнению с контролем (рис. 3). Также была выявлена обратная корреляция активности фермента с концентрацией загрязняющего вещества. Наименьшее снижение активности было отмечено при внесении биоцидов в концентрации 1 мг/кг почвы, наибольшее – в концентрации 1000 мг/кг почвы. На последующих сроках инкубации, через 30 и 90 сут после внесения биоцидов наблюдали восстановление активности фермента.

В работах других исследователей внесение малых доз пестицидов не вызывало однозначного изменения активности инвертазы. Величины этого показателя не имели связи с дозами препаратов, а также сильно варьировали [17]. Поэтому изменение активности данного фермента при загрязнении биоцидами требует дальнейшего изучения.

На первом сроке инкубации (3-е сут) в образцах, загрязненных биоцидами в малых дозах (1 и 10 мг/кг почвы), было отмечено значительное по-

вышение активности фосфатазы (на 60–80%) (рис. 4). При этом данный эффект был достигнут при использовании фунгицида бастион в меньшей концентрации (1 мг/кг почвы) по сравнению с антибиотиком тилозин (10 мг/кг почвы).

В научной литературе данный эффект увеличения показателя при загрязнении химическими веществами в малых концентрациях может быть объяснен адаптацией почвенных микроорганизмов к фоновым концентрациям загрязняющего вещества, имеющим место быть в среде, которая подвергается какой-либо антропогенной нагрузке.

При анализе исследованных образцов спустя 30 сут от момента внесения загрязняющего вещества наблюдали тенденция к снижению показателей активности фермента во всех образцах. Однако наиболее выраженное снижение активности было отмечено в образцах, которые были загрязнены тилозином (снижение на 10–20%). Меньший эффект был отмечен в образцах, загрязненных фунгицидом: величины показателя были близкими к контрольным, за исключением об-

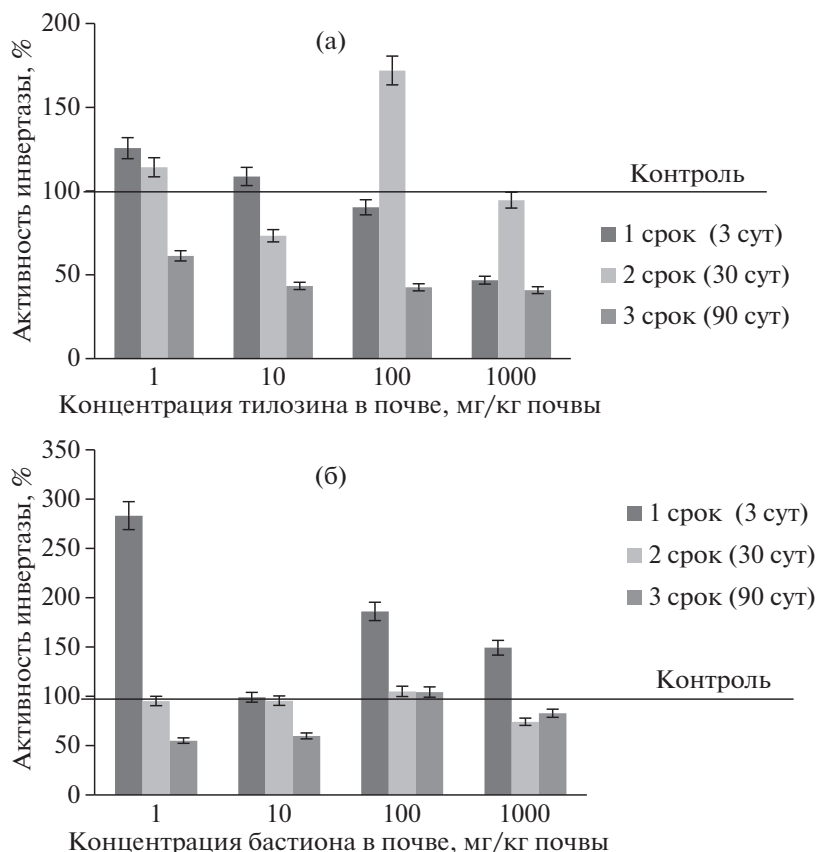


Рис. 3. Динамика активности инвертазы бурой лесной почвы при загрязнении: (а) – тилозином, (б) – бастионом, % от контроля.

разца почвы, загрязненного бастионом в концентрации 100 мг/кг почвы.

Ионы водорода в почвенном растворе, а также обменные ионы водорода и алюминия в поглощающем комплексе при неполной нейтрализации формируют кислую реакцию среды в почве [18]. Для характеристики почвенной кислотности используют несколько различных показателей, таких как актуальная, потенциальная, обменная и гидролитическая кислотность [19].

Повышенная кислотность почвы отрицательно сказывается на росте и развитии большинства культурных растений [20]. Это происходит из-за уменьшения доступности ряда макро- и микроэлементов, и увеличения растворимости различных токсичных соединений, таких как марганец, алюминий, железо, бор и др.

Анализ полученных результатов показал, что изменение реакции среды (рН) бурой лесной почвы зависел от химической природы и концентрации внесенных биоцидов. Загрязнение антибиотиком тилозин приводило к незначительному смещению рН в щелочную сторону, в то время

как фунгицид бастион в низких концентрациях достоверно не влиял на кислотность, но в высоких концентрациях приводил к смещению рН в кислую сторону. Достоверное изменение реакции среды бурой лесной почвы происходило при загрязнении биоцидами в концентрации 100 мг/кг. Таким образом, загрязнение биоцидами приводило к изменению кислотно-щелочного баланса, что вело к нарушению естественной среды почвенных микроорганизмов, вследствие чего изменялась активность почвенной микробиоты, выполняющей многообразные функции в круговороте веществ, в т.ч. самоочищение от различных ксенобиотиков и поллютантов. Аналогичные результаты были получены и в других исследованиях [21].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Внесение в почву биоцидов приводило к изменению ее биохимических свойств. В ходе исследования было отмечено снижение активности почвенных ферментов разных классов в зависимости от концентрации и природы загрязняюще-

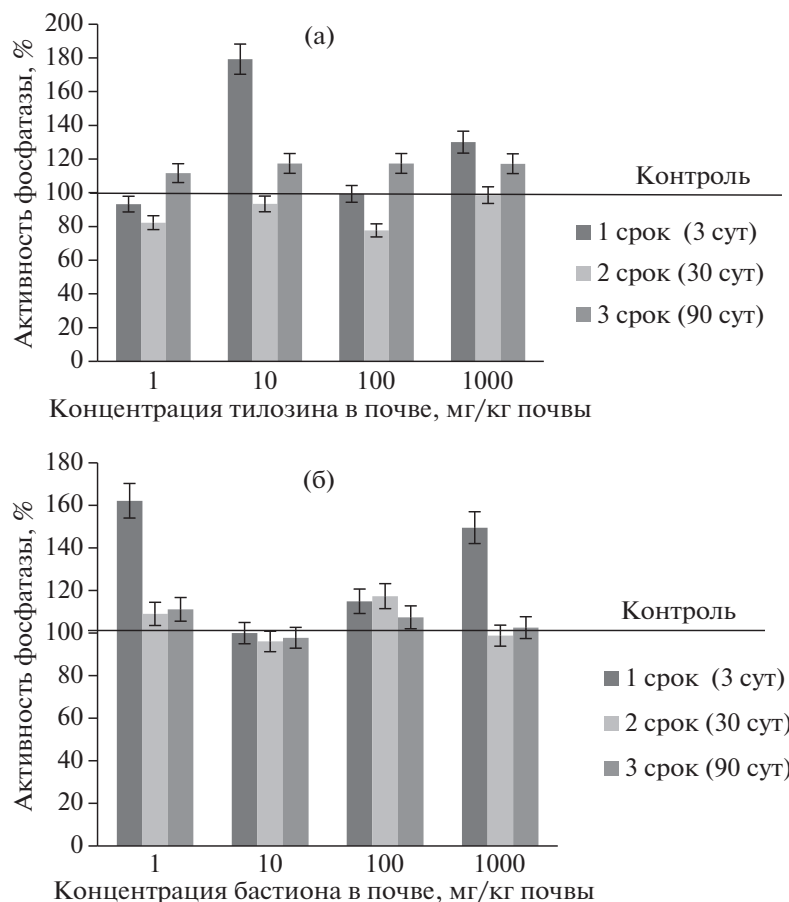


Рис. 4. Динамика активности фосфатазы бурой лесной почвы при загрязнении: (а) – тилозином, (б) – бастионом, % от контроля.

го вещества. Пестицид бастион оказал меньшее воздействие, чем антибиотик тилозин. При внесении загрязняющих веществ в концентрациях 1 и 10 мг/кг почвы наблюдали стимулирующий эффект, отмечавшийся и в исследованиях других авторов. Ферменты из класса оксидоредуктаз (каталаза, дегидрогеназы) оказались менее чувствительными к загрязнению, чем гидролазы (инвертаза, фосфатаза).

Загрязнение антибиотиком тилозин приводило к незначительному смещению рН в щелочную сторону, в то время как фунгицид бастион в высоких концентрациях смещал рН в кислую сторону. Достоверное изменение реакции среды бурой лесной почвы происходило при загрязнении биоцидами в концентрации 100 мг/кг.

Наибольшее воздействие на биохимические свойства бурой лесной почвы биоциды оказывали на первых сроках после загрязнения (3 сут). При увеличении срока инкубации загрязненных образцов наблюдали постепенное восстановление биохимических свойств почвы. Однако даже

на 90-е сут после загрязнения биохимические свойства не восстанавливались до исходного состояния (контроля).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Коробкова Т.П., Иваницкая Л.П., Дробышева Т.Н. Современное состояние и перспективы применения антибиотиков в сельском хозяйстве // Антибиотики и мед. биотехнол. 1987. № 8. С. 563–571.
2. Хохрин С.Н. Кормление сельскохозяйственных животных. М.: Колос, 2004. 692 с.
3. Procopio R.E., Silva I.R., Martins M.K., Azevedo J.L., Araujo J.M. Antibiotics produced by *Streptomyces* // Braz. J. Infect. Dis. 2012. V. 16. P. 466–471.
4. Berdy J. Recent developments of antibiotic research and classification of antibiotics according to chemical structure // Adv. Appl. Microbiol. 1974. V. 18. P. 309–406.
5. Demain A.L., Sanchez S. Microbial drug discovery: 80 years of progress, J. Antibiot. (Tokyo). 2009. V. 62. P. 5–16.
6. Kemper N. Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment a review // Ecol. Indicat. 2008. V. 8. P. 1–13.

7. Höper H., Kues J., Nau H., Hamscher G. Eintrag und Verbleib von Tierarzneimittelwirkstoffen in Boden // Bodenschutz. 2002. V. 4. P. 141–148.
8. Smukler S.M., Jackson L.E., Murphree L., Yokota R., Koike S.T., Smith R.F. Transition to large-scale organic vegetable production in the Salinas Valley, California // *Agricult. Ecosyst. Environ.* 2008. V. 126. P. 168–188.
9. Акименко Ю.В., Казеев К.Ш., Колесников С.И. Влияние антибиотиков (бензилпенициллина, флуканазола, нистатина) на биологические свойства чернозема обыкновенного // *Почвоведение*. 2014. № 9. С. 1095–1101.
10. Акименко Ю.В., Казеев К.Ш., Колесников С.И., Козунь Ю.С., Мясникова М.А., Одабашьян М.Ю., Николаева К.Н., Тимошенко А.Н. Устойчивость микроорганизмов чернозема к загрязнению антибиотиками в условиях полевого модельного опыта // *Политемат. сетев. электр. научн. журн. Кубан. ГАУ*. 2014. № 104. С. 135–148.
11. Середин Р.М. Природные ресурсы и производственные силы Северного Кавказа // *Раст. ресурсы*. Ч. 1. Лес. Ростов/н/Д.: Изд-во Ростов. ун-та, 1980. 360 с.
12. Акименко Ю.В. Влияние фармацевтических антибиотиков на динамику численности почвенных микроорганизмов // *Изв. высш. уч. завед. Северо-Кавказский регион. Сер. естеств. науки*. 2014. № 5(183). С. 63–68.
13. Акименко Ю.В., Казеев К.Ш., Колесников С.И. Изменение биохимических свойств чернозема обыкновенного при загрязнении биоцидами // *Агрохимия*. 2015. № 3. С. 81–87.
14. Акименко Ю.В., Казеев К.Ш., Колесников С.И., Козунь Ю.С., Мясникова М.А. Изменение биологических свойств чернозема обыкновенного северо-приазовского при загрязнении современными биоцидами // *Изв. Самар. НЦ РАН*. 2016. Т. 18. № 2 (2). С. 276–279.
15. Sum P., Cabrera M.L., Huang C.-H., Pavlostathis S.G. Biodegradation of veterinary ionophore antibiotics in broiler litter and soil microcosms // *Environ. Sci. Technol.* 2014. V. 48. P. 2724–2731.
16. Казеев К.Ш., Колесников С.И., Вальков В.Ф., Казеев К.Ш. Биологическая диагностика и индикация почв: Методология и методы исследования. Ростов/н/Д., 2003. 204 с.
17. Акименко Ю.В., Казеев К.Ш., Колесников С.И. Экологические последствия загрязнения чернозема антибиотиками. Ростов/н/Д.: Изд-во Южного федерального ун-та, 2013. 120 с.
18. Смирнов П.М., Муравин Э.А. Агрохимия. М.: Агропромиздат, 1984. 447 с.
19. Александрова А.М., Крупский Н.К., Дараган Ю.В. О природе почвенной кислотности // *Почвоведение*. 1983. № 3. С. 34–43.
20. Синяевский И.В. Агрохимические и экологические аспекты плодородия черноземов Зауралья. Челябинск: ЧГАУ, 2001. 275 с.
21. Akimenko Yu.V., Kolesnikov S.I., Kazeev K.Sh. Resistance of soil microorganisms to pollution by veterinary antibiotics // 16th Inter. Multidisciplin. Sci. GeoConf. SGEM 2016. Conference Proceedings, June 28–July 6, 2016. V. 5. V. 1. P. 593–598.

Dinamic of Biochemical Properties of the Brown Forest Soil at Pollution by Biocides

O. V. Chuvaraeva^{a, #}, Yu. V. Akimenko^a, K. Sh. Kazeev^a, and S. I. Kolesnikov^a

^a*Southern federal university ul. B. Sadovaya 105/42, Rostov-on-Don 344006, Russia*

[#]*E-mail: sayori11@yandex.ru*

In model laboratory experiments influence of an antibiotic (Tilozin) and pesticide (Bastion) on biochemical properties of the brown forest soil is studied (concentration 1, 10, 100, 1000 mg/kg of the soil). Introduction of biocides leads to change of conditions of the environment (pH), and also to decrease in enzymatic activity of the soil. Enzymes from a class of oxidoreductases were less steady against pollution, than hydrolases. At pollution reliable change of reaction of the environment (pH) of the soil and enzymatic activity happens biocides in concentration of 100 mg/kg. An antibiotic Tilozin the bastion makes stronger overwhelming impact on biochemical properties, than fungicide.

Key words: biochemical properties of soil, brown forest soil, biocide contamination, antibiotic Tylosin, pesticide Bastion.