

Дніпропетровський державний університет

На правах рукопису

ЗАЙЦЕВА Ірина Олександрівна

ЕКОЛОГІЧНА ОЦІНКА ВПЛИВУ ФОСФОРОРГАНІЧНИХ ПЕСТИЦИДІВ^И
НА ПРОЦЕСИ ФОСФОРНОГО ОБМІНУ У ФУНКЦІОНУВАННІ
ЧОРНОЗЕМУ ЗВИЧАЙНОГО

03.00.16 - "Екологія"

А в т о р е ф е р а т
дисертації на одобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Дніпропетровськ - 1995

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі фізіології рослин та екології Дніпропетровського державного університету.

ЛНБ України ім.В.Стефаніка

Науковий керівник



00479148 (X)

Офіційні опоненти

- доктор сільськогосподарських наук,
старший науковий співробітник
Єтеревська Л.В.

- кандидат біологічних наук, старший
науковий співробітник Грицак М.П.

Провідна установа

- Інститут агроекології та біотехнології УААН, м.Київ

Захист відбудеться 30 березня 1995 року о 14 год.
на засіданні Спеціалізованої вченої ради А 053.24.02 для захисту
дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук
у Дніпропетровському державному університеті за адресою: 320625,
ДСП-10, пр.Гагаріна, 72, університет, біолого-екологічний факультет,
корп.17, ауд.611.

З дисертацією можна ознайомитися у науковій бібліотеці
Дніпропетровського державного університету.

Автореферат розісланий 1 березня 1995 року

Вчений секретар
Спеціалізованої вченої ради

А.С.Дубіна
А.С.Дубіна

ЛНБ ім. В. Стефаніка
АН України

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. В сучасний період пестициди - це один з важливих елементів інтенсивних технологій, без яких неможливо отримання високих і стабільних урожаїв сільськогосподарських культур. Поряд з препаратами нового покоління - піретроїдами, фосфорорганічні пестициди надзвичайно перспективні у боротьбі з шкідниками рослин. Для раціонального та економічно обгрунтованого використання пестицидів потрібні дані про їх вплив на компоненти агрофітоценозів. Зараз набуто великий фактичний матеріал відносно впливу різних пестицидів на біологічні показники ґрунту, функціональну активність ґрунтових ферментів, які відіграють важливу роль в обмінних процесах ґрунту. Проте, практично немає даних про пестициди із групи фосфорорганічних речовин. Маловивченим питанням залишається характер впливу пестицидів на кінетику ферментативних реакцій ґрунту.

Актуальною проблемою є вивчення впливу фосфорорганічних пестицидів на комплекс біохімічних показників, які визначають рівень фосфорного обміну ґрунту, - важливої складової частини біологічного циклу елементів. В системі моніторингу, поряд з такими питаннями, як дослідження дії пестицидів на окремі компоненти агрофітоценозів, особливу увагу належить приділити вивченню факторів, які впливають на інтенсивність розкладання пестицидів - біологічної активності ґрунту, кліматичних умов. Необхідність прогнозування тривалості дії пестицидів у конкретних агрохімічних та кліматичних умовах потребує вивчення швидкості детоксикації пестицидів у ґрунті. З цієї точки зору важлива кількісна оцінка вкладу різних факторів: сумарний процес розкладання фосфорорганічних пестицидів.

Мета роботи - вивчення впливу фосфорорганічних пестицидів на процеси фосфорного обміну ґрунту, вкладу біологічної активності ґрунту та кліматичних факторів в трансформацію фосфорорганічних пестицидів.

Відповідно до поставленої мети передбачалося вирішити наступні завдання:

- вивчити динаміку фосфатазної активності і форм фосфору в ґрунті агрофітоценозу в присутності фосфорорганічних пестицидів;
- розкрити зв'язок та взаємодію між цими показниками, а також з'ясувати ступінь впливу на них кліматичних умов - температура-

тури, кількості опадів;

- оцінити швидкість розкладання фосфорорганічних пестицидів в умовах польового та модельного досліджу;

- вивчити кінетичні параметри ферментів фосфорного обміну і деяких гідролітичних ферментів в нормі та в присутності фосфорорганічних пестицидів;

- в умовах модельного експерименту оцінити кількісний вклад температури, вологості ґрунту, ферментативної та біологічної активності ґрунту в сумарну інтенсивність процесів детоксикації фосфорорганічних пестицидів.

Наукова новизна. Вивчено вплив фосфорорганічних пестицидів на динаміку показників фосфорного обміну в ґрунті. Проведено аналіз залежності цих показників від кліматичних умов. Вперше визначені кінетичні параметри ґрунтових фосфатаз та ступінь впливу на них фосфорорганічних пестицидів. Розраховано швидкість розпаду фосфорорганічних пестицидів в різних екологічних умовах. Вперше проведено кількісну оцінку вкладу гідротермічного фактору та біологічної активності ґрунту в сумарний процес розкладання фосфорорганічних пестицидів.

Практичне значення. Результати проведених досліджень дозволили сформулювати ряд інтегральних характеристик фосфорного обміну в ґрунті і оцінити ступінь впливу на нього фосфорорганічних пестицидів. Одержані результати можуть бути використані для визначення порогових значень внесення пестицидів у ґрунт, тривалості їх дії, а також в системі моніторингу залишкових кількостей фосфорорганічних пестицидів в ґрунті агрофітоценозів.

Апробація роботи. Матеріали досліджень були представлені на I Всесоюзній науковій конференції "Рослини та промислове середовище" (Дніпропетровськ, 1990), Республіканській конференції "Біологія ґрунтів антропогенних ландшафтів" (Дніпропетровськ, 1991), IV Всесоюзній науковій конференції "Мікроорганізми в сільському господарстві" (Пушино, 1992), I з'їзді ґрунтознавців Росії (Пушино, 1992), I Республіканській науково-практичній конференції молодих вчених (Дніпропетровськ, 1993).

Публікації. По темі дисертації опубліковано 6 друкованих робіт.

Обсяг та структура роботи. Дисертаційна робота складається зі вступу, п'яти глав, висновків та списку літератури. Робота викладена на 148 сторінках машинописного тексту, містить 35 табли-

ць та 19 малюнків. Список літератури включає 249 найменувань, в тому числі 78 на іноземних мовах.

ЗМІСТ РОБОТИ

ХАРАКТЕРИСТИКА РАЙОНУ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження проводились на протязі 1988–1994 років в лабораторних умовах на кафедрі фізіології рослин Дніпропетровського державного університету та на дослідних полях науково-виробничого об'єднання "Дніпро" м. Дніпропетровська. При закладенні польових дослідів керувалися загальноприйнятими методиками проведення польового дослідів (Доспеков, 1985). Під посівами озимої пшениці було виділено три ділянки: контрольна і дві дослідні. Останні обробляли фосфорорганічними інсектицидами в строки, відповідні технології вирощування озимої пшениці. Фосалон (35 % концентрат емульсії, 2 кг/га) вносили в період виходу рослин в трубку, метафос (30 % концентрат емульсії, 1 кг/га) вносили в період колосіння та наливу зерна. Грунтові проби відбирали 6–7 разів у весняно-літній період вегетації (травень – червень) із орного горизонту.

Грунтовий покрив ділянок являє собою чорнозем звичайний на логумусний (вміст гумусу 2,72–3,45 %). Забезпеченість валовим азотом і фосфором досить низька і становить відповідно 0,20–0,24% і 0,11–0,13%, тоді як вміст рухомих форм фосфору та калію (по Чиркову) достатньо високий (відповідно 21,8–32,5 і 16,2–24,8 мг/100 г).

Клімат району досліджень помірно-континентальний. Метеорологічні умови в роки проведення польових дослідів були неоднаковими. Весняно-літній період 1993 року був більш теплим і вологим в порівнянні з 1994 роком. Взагалі погодні умови в період проведення польових дослідів в порівнянні із середньобогаторічними даними відрізнялися низькими температурами та більшою кількістю опадів.

Схема проведення модельних експериментів передбачала утворення варіацій вологості і температури, при яких в присутності пестицидів вивчати динаміку показників фосфорного обміну ґрунту, а також регресійно-корелятивні зв'язки їх із швидкістю розкладання пестицидів. З метою отримання додаткових варіацій ферментативної активності ґрунту в експеримент було введено рослинні

озимої пшениці. Варіація температури (25 і 40°C), вологості ґрунту (100, 60, 40%) і фосфатної активності дозволила кількісно оцінити вклад кожного з факторів в сумарний процес розкладання пестицидів. Фозалон і метафос вносили в дозі 0,5 мг/г ґрунту. Проби ґрунту відбирали тричі протягом 18 діб після внесення пестицидів.

Визначення вмісту валового, мінерального і органічного фосфору проводили за методом МЕТНА в модифікації К.С.Гінзбург (1969). Рухомі форми фосфору визначали за методом Чирікова (для некарбонатних ґрунтів екстракція фосфатів 0,5 M CH_3COOH), фосфор ґрунтового розчину - за методом Францессона (екстракція фосфатів 0,006 M HCl) (Аринушкіна, 1970).

В основі методик визначення активності ґрунтових фосфатів (кислоті та лужної фосфатази, нуклеази, АТФ-ази, пірофосфатази) покладені методи, описані Ф.Х.Хасієвим (1976), які були нами уніфіковані з метою отримання порівнянних результатів активності ферментів. Для цього створювали однакові умови проведення реакцій: об'єм субстрату 2 мл в концентрації 2 мг/мл, об'єм відповідного буферу 2 мл, температура інкубації - 40°C, експозиція - 24 години.

Визначення залишкових кількостей фозалону та метафосу проводили на рідинному хроматографі "Міліхром-4". Екстракції пестицидів з ґрунту проводили хлороформом у відношенні 1:10 (Клисенко, 1983).

Як регресійна модель, що описує динаміку вмісту пестицидів у ґрунті, була вибрана найбільш значуща по статистичним критеріям експоненціальна регресія. Швидкість процесу розпаду пестицидів знаходили через логарифмічне вираження рівняння експоненціальної регресії. Використовуючи показник експоненти, розраховували час розпаду пестициду на 50% і 95% від початкового його вмісту в ґрунті (Методические указания ЦИИАО, 1987):

$$T_{50\%} = -\frac{\ln 0,5}{\lambda} \quad T_{95\%} = -\frac{\ln 0,05}{\lambda}$$

Залежність швидкості розпаду пестицидів від температури, вологості і фосфатної активності ґрунту оцінювали за допомогою двофакторного аналізу (Зайцев, 1973):

$$\lambda = \lambda_0(i) + \lambda_1[E] \cdot E(i) + \lambda_2[T] \cdot T(i)$$

$$\lambda = \lambda_0(i) + \lambda_1[F] \cdot F(i) + \lambda_2[F] \cdot F(i)$$

де λ - показник швидкості розпаду пестициду; $E(t)$, $T(t)$, $F(t)$ - відповідно значення вологості ґрунту, температури і фосфатної активності; $\lambda_1[E]$, $\lambda_2[T]$, $\lambda_3[F]$ - відповідно коефіцієнти при змінних величинах E , T і F , тобто шукані величини аналізу.

Частку вкладу факторів температури, вологості та фосфатної активності у швидкість розпаду пестициду розраховували по формулам:

$$L = \frac{\lambda_2 [T] \cdot k_T}{\lambda_0 + \lambda_1 [E] \cdot k_E + \lambda_2 [T] \cdot k_T}$$

$$L = \frac{\lambda_3 [F] \cdot k_F}{\lambda_0 + \lambda_1 [T] \cdot k_T + \lambda_2 [F] \cdot k_F}$$

де k_T , k_E і k_F - коефіцієнти, які відображають безрозмірні значення T , E і F .

Розрахунки проводили на ЕОМ "Роботрон-1715".

ПРОЦЕСИ ФОСФОРНОГО ОБМІНУ В ҐРУНТІ В УМОВАХ ПОЛЬОВОГО ДОСЛІДУ

В умовах польового дослідження вивчали особливості взаємозв'язку процесів фосфорного обміну в присутності фосфорорганічних пестицидів, а також динаміку деградації останніх.

Порівняльний аналіз активності фосфатаз показав, що присутність пестицидів справляє значний вплив на ферментативну активність ґрунту - як правило, підвищується активність ферментів фосфорного обміну.

В наших дослідженнях спостерігається значна варіабельність вмісту форм фосфору на контрольній та дослідних ділянках, що може бути наслідком впливу цілого комплексу факторів, із яких досить складно виділити фактор дії пестицидів. Тому був проведений корелятивний аналіз зв'язку динаміки ґрунтових фосфатаз (яка відображає реакцію їх на внесення пестицидів) з динамікою форм фосфору. Високі додатні коефіцієнти кореляції та відповідні їм високі критерії достовірності відзначаються для лужильних форм фосфату. Так, найбільш виражений корелятивний зв'язок між динамікою рухомих форм фосфору та активністю кислої фосфатази, нуклеаз та пірофосфатази, а також між динамікою водорозчинних форм фосфору та активністю усіх фосфатаз (крім АТФ-аз). Слід відмітити високі від'ємні значення коефіцієнтів кореляції між вмістом валового та мінерального фосфору та активністю ферментів.

Достовірний зв'язок активності ферментів та вмісту форм фосфору у 80% випадків виявляється в ґрунті дослідних ділянок, на які вносили фосфорорганичні пестициди. Таким чином опосередковано проявляється участь пестицидів в процесах фосфорного обміну.

Більш інформативним виявляється вивчення корелятивного зв'язку динаміки форм фосфору з узагальненим фактом фосфатної активності, який характеризує кожну ділянку на протязі всього вегетаційного періоду. Для цього значення активності ґрунтових фосфатів були представлені у відносній (нормованій) формі, тобто віднесені до своїх середніх, з яких сформували узагальнені значення фосфатної активності для кожного строку відбору проб. Такий захід дозволяє усунути особливості варіацій окремих ферментів і виділити загальні закономірності взаємозв'язків зивчаємих процесів. Результати аналізу, наведені в таблиці 1, показують наявність близького корелятивного зв'язку між доступними рослинам формами фосфору і активністю фосфатів. Показники доступного фосфору є більш лабільними і в значній мірі визначаються фермента-

Таблиця 1

Коефіцієнти кореляції між показниками вмісту хімічних сполучень фосфору і інтегральними показниками фосфатної активності ґрунту

Форми фос- фору	Рік спо- стереження	1 ділянка		2 (контроль)		3 ділянка	
		R	t	R	t	R	t
Валовий фос- фор	1-й	0,60	1,20	-0,09	-0,01	-0,29	-0,52
	2-й	-0,31	-2,26	-0,75	-1,95	-0,65	-2,46
Фосфор по Чирикову	1-й	0,98	4,00	0,91	2,62	0,93	2,81
	2-й	0,71	1,76	0,83	2,39	0,74	1,90
Водорозчинні форми	1-й	0,99	4,46	0,96	3,48	0,97	3,77
	2-й	0,90	2,98	0,87	2,66	0,95	3,73
Органічний фосфор	1-й	0,19	0,33	0,17	0,30	0,39	0,71
	2-й	-0,65	-1,54	-0,40	-0,85	-0,60	-2,20
Мінеральний фосфор	1-й	0,61	1,24	-0,31	-0,56	-0,81	-1,95
	2-й	-0,75	-1,96	-0,93	-3,26	-0,65	-1,56

тивними процесами ґрунту.

При вивченні процесів фосфорного обміну ураховували вплив на них кліматичних умов - температури повітря та кількості опадів. Проведений корелятивний аналіз показав, що підвищення температури супроводжується збільшенням кількості доступних форм фосфору, при цьому зменшується кількість валового, органічного і мінерального фосфору. Ці процеси пов'язані з активацією діяльності ґрунтових фосфатаз в умовах підвищеної температури. Слід відзначити, що в присутності пестицидів змінюється ступінь залежності доступних форм фосфору від температури. Так, фосфорорганічні пестициди збільшують температурну залежність вмісту рухомих форм фосфору (по Чирикову) та зменшують її для водорозчинних форм, що свідчить про зміну стану в ґрунті рухомих форм фосфору під впливом пестицидів. Зв'язок процесів фосфорного обміну із кількістю опадів виражається низькими і в більшості випадків негативними коефіцієнтами кореляції.

В умовах польового експерименту було вивчено швидкість розкладання пестицидів в ґрунті, яка становить для фозалону $-0,208 \text{ дів}^{-1}$, для метафосу $-0,165 \text{ дів}^{-1}$. Відповідно, період розпаду фозалону на 95% від початкового вмісту в ґрунті становить 14,4 доби, метафосу 18,2 доби.

ЗМІНЕННЯ КІНЕТИЧНИХ ХАРАКТЕРИСТИК ҐРУНТОВИХ ФЕРМЕНТІВ ПІД ВПЛИВОМ ФОСФОРОРГАНІЧНИХ ПЕСТИЦИДІВ

При вивченні ферментативних процесів визначають ряд параметрів, які характеризують кінетику утворення продуктів реакції: константу Міхаеліса (K_m), максимальну швидкість (V_{max}), енергію активації та ln . Такі показники цілком прийнятні і для відображення ґрунтових енізиматичних процесів, що має важливе значення для кількісної оцінки зміни активності ферментів під впливом антропогенних факторів. Відповідно до рівняння Міхаеліса-Ментен, для зниження швидкості проходження реакції необхідно використовувати часовий інтервал, який відповідає ділянці "початкової швидкості". Такі оптимальні експозиції часу були визначені у ході модельного експерименту: для кислої і лужної фосфатази, нуклеази - 30 хвилин, АТФ-ази 15 хвилин, пірофосфатази - 1 година, і далі використовувалися для визначення V_{max} і K_m ферментативних реакцій.

Вивчення субстратної залежності початкової швидкості ферментативних процесів показало істотну зміну кінетики ферментів в присутності пестицидів. Початкова швидкість зменшилася тільки у лужної фосфатази (в присутності фозалону) і у АТФ-ази (в присутності метафосу). В інших варіантах початкова швидкість помітно підвищувалась під впливом пестицидів, особливо у кислої фосфатази (в 4-10 разів).

Результати вимірювання початкових швидкостей при різних концентраціях субстрату зображували графічно у вигляді прямої для розрахунку величин V_{max} і K_m . Лінійносі, іє проводили двома способами - по рівнянню лайнуівера-Берка та його модифікації, яка дозволяє поминити статистичну помилку в області малих концентрацій субстрату. Для кожного ферменту і варіанту досліду було розраховано відповідний двома способами статистичний коефіцієнт кореляції R , який визначає точність наближення теоретичної та експериментальної кривої. Кінетичні показники для трьох варіантів досліду, які відрізняються найбільш високими коефіцієнтами кореляції, наведені в таблиці 2.

Таблиця 2

Порівняльна характеристика кінетичних констант ферментів фосфорного обміну (V_{max} - мк Моль/г. год;
 K_m - мк Моль)

Фермент	Контроль		В присутності			
	V_{max}	K_m	метафосу		фозалону	
	V_{max}	K_m	V_{max}	K_m	V_{max}	K_m
Лужна фосфатаза	0,190	6,25	0,239	6,89	0,147	5,09
Кисла фосфатаза	0,533	20,91	0,936	16,87	1,345	4,17
Нуклеаза	0,482	32,58	0,669	10,87	0,454	5,42
АТФ-аза	0,808	9,45	0,714	20,90	0,590	2,26
Пірофосфатаза	0,235	768,75	0,731	388,22	0,311	591,4

По даним таблиці 2, вплив фосфорорганічних пестицидів на фосфатазну активність виражається в зміні кінетичних показників K_m і V_{max} . Так, в присутності фозалону максимальна швидкість збільшується у кислої фосфатази та пірофосфатази, у інших ферментів - незначно зменшується; константа Міхаеліса значно зменшується (крім лужної фосфатази). В присутності метафосу максимальна шви-

дкість у всіх ферментів збільшується, а константа Міхаеліса зменшується.

При активації ферментативних процесів змінення їх кінетики відбувається в декількох напрямках. Максимальна швидкість збільшується як за рахунок зростання величини k_{+2} , яка характеризує розпад фермент-субстратного комплексу, так і за рахунок збільшення кількості молекул ферменту E_0 , які приймають участь в реакції. Константа Міхаеліса повинна зменшитися, тому що крива ходу ферментативного процесу має більшу крутизну. Це може відбуватися наслідок збільшення константи швидкості утворення фермент-субстратного комплексу k_{+1} чи зниження константи швидкості зворотної реакції.

Таке сполучене змінення величини V_{max} і K_m спостерігається для більшості вивчених ферментів, що свідчить про активацію фосфатної активності ґрунту. Ступінь та направленість змінення кінетичних характеристик фосфатаз відповідає результатам польового дослідження, які відображають реакцію ферментів фосфорного обміну на внесення фосфату і метафосу.

В роботі було вивчено також реакції основних ферментів, які характеризують процеси азотного і вуглеводного обміну ґрунту на внесення фосфату та метафосу. Змінення кінетичних показників відображають тенденцію до зниження активності цих ферментів, яка, проте, не підтверджується достовірними значеннями і найкраще не позначається на інтенсивності трансформації азотних та вуглеводних сполучень в ґрунті.

Результати вивчення кінетики ферментативних процесів показали, що фосфорорганичні пестициди змінюють стан фермент-субстратного комплексу, що веде до збільшення максимальної швидкості та змінення константи Міхаеліса ферментативних реакцій фосфатаз, а також в певній мірі приймають участь в ферментативних процесах як неспецифічні субстрати.

МОДЕЛЬНІ ЕКСПЕРИМЕНТИ ПО ВИВЧЕННЮ ДИНАМІКИ РОЗЛОЖЕННЯ ФОСФОРОРГАНІЧНИХ ПЕСТИЦИДІВ У ҐРУНТІ

Одним з рішень екологічної проблеми пестицидів є постійний контроль за процесом самоочищення ґрунту, тобто здатністю ґрунту до детоксикації пестицидів. Серед процесів, які обумовлюють самоочищення ґрунту від пестицидів, найбільш істотними є біологічна

активність ґрунту та вплив екологічних факторів – температури, вологості ґрунту (Ананьєва, 1993; Филитчук, 1993; Галлиулін и Соколов, 1987). Ґрунтові ферменти відіграють важливу роль у біодеградації ксенобіотиків. Так, фосфорорганічні пестициди в ґрунті підлягають активній детоксикації в результаті діяльності ґрунтових фосфатаз (BETZIN, 1973; RISHARD, JENNIFER, 1980; KONRAD, 1979; KISHK, EBSAWI, 1982).

Про здатність до самоочищення ґрунту судять по швидкості трансформації внесених ксенобіотиків, що пов'язано з хімічним визначенням їх залишків, розрахунком константи швидкості розпаду та періоду $T_{95\%}$. При зміні зовнішніх умов визначають ступінь впливу та значущість екологічних факторів у детоксикації ґрунтом ксенобіотиків.

В умовах модельного експерименту проведено кількісне вивчення вкладу гідротермічного фактору та фосфатазної активності ґрунту в процес розкладання фосфорорганічних пестицидів. Планування модельного експерименту передбачало сполучення в варіантах досліду різної температури (25° і 40°C), вологості ґрунту (40, 60, 100%) та фосфатазної активності ґрунту.

Характер динаміки розкладання пестицидів в ґрунті описується експоненціальною моделлю виду $A(t) = A_0 \cdot e^{-\lambda t}$. Використовуючи цю модель, були розраховані кінетичні параметри процесів розкладання – швидкість розпаду λ , період часу $T_{95\%}$, за який концентрація пестициду зменшується на 95%, які наведені в таблиці 3.

Таблиця 3.

Кінетичні параметри, які характеризують процес розпаду фозалону і метафосу

Варіант досліду		Фозалон		Метафос	
Т°С	Е %	$\lambda, \text{дб}^{-1}$	$T_{95\%}, \text{дб.}$	$\lambda, \text{дб}^{-1}$	$T_{95\%}, \text{дб.}$
25	100	-0,195	15,1	-0,132	23,7
25	60	-0,201	14,9	-0,138	23,0
25	40	-0,270	11,6	-0,143	20,0
40	100	-0,339	8,8	-0,232	13,0
40	60	-0,346	8,6	-0,240	12,5
40	40	-0,274	11,0	-0,216	14,3
25	60 + рослини	-0,276	11,0	-0,184	16,6

Швидкість розкладення метафосу нижче, ніж фозалону і відносно метафос має більш високі значення $T_{95\%}$. Найбільша швидкість розкладення пестицидів спостерігається при одночасній дії температури 40°C та вологості ґрунту 60% (для фозалону $\lambda = -0,34$ доби $^{-1}$, для метафосу $\lambda = -0,24$ доби $^{-1}$). В цих умовах зниження вмісту фозалону на 95% відбувається за 8,6 доби, метафосу - за 12,5 доби. Зниження вологості до 40% при тій же температурі 40°C призводить до незначного зміння швидкості розпаду пестицидів.

В більшій мірі на швидкість розпаду впливає зниження температури до 25°C . При всіх значеннях вологості ґрунту розкладення фозалону і метафосу йде повільніше, ніж в умовах підвищеної температури. Тут спостерігаються самі низькі значення коефіцієнтів регресії (для фозалону $\lambda = -0,198$ доби $^{-1}$, для метафосу $\lambda = -0,132$ доби $^{-1}$), що відповідає більш тривалому періоду розпаду $T_{95\%} = 15,1$ та 23 доби. Присутність рослин озимої пшениці збільшує швидкість розпаду пестицидів.

Аналіз результатів, наведених в таблиці 3, показує, що в більшій мірі швидкість розпаду фосфорорганічних пестицидів в ґрунті залежить від температури, менше значення має вологість ґрунту. Досить значущим фактором є ферментативна активність ґрунту.

Для кількісної оцінки взаємозв'язку вивчаємих процесів був поведений двофакторний регресійний аналіз залежності швидкості розпаду від а) температури та вологості ґрунту і б) температури та фосфатної активності ґрунту. Результати аналізу наведені в таблиці 4.

Після приведення коефіцієнтів $\lambda_0[E]$ і $\lambda_2[T]$ до безрозмірних величин було встановлено, що вплив вологості ґрунту на швид-

Таблиця 4.

Коефіцієнти двофакторної регресії залежності швидкості розпаду пестицидів від температури, вологості і фосфатної активності ґрунту

Варіант	Фактори регресії	Коефіцієнти регресії	
Швидкість розпаду фозалону	E (t), T (t)	$\lambda_0[E] = 0,00006$	$\lambda_0[T] = -0,00158$
	T (t), F (t)	$\lambda_1[T] = -0,00569$	$\lambda_1[F] = -0,87391$
Швидкість розпаду метафосу	E (t), T (t)	$\lambda_0[E] = -0,00005$	$\lambda_0[T] = -0,00540$
	T (t), F (t)	$\lambda_1[T] = -0,00553$	$\lambda_1[F] = -0,89746$

ність процесу розкладення пестицидів в порівнянні з впливом температури становить тільки 2 %. Частка температурного фактору в сумарному процесі розкладення фозалону становить 67,5 %, метафосу - 78 %. Температурний фактор має позитивну направленість ($\beta < 0$) і є статистично значущим.

При аналізі температури і фосфатазної активності, як факторів регресії $\beta_1 [T]$ і $\beta_2 [F]$, коефіцієнти регресії мають від'ємний знак, отже при збільшенні інтенсивності факторів регресії посилюється процес розпаду фозалону і метафосу. Участь ґрунтових фосфатаз в детоксикації фозалону становить 9,7%, метафосу - 10,8%.

При узагальненні результатів модельного експерименту, можна виділити ряд особливостей, які характерні даним препаратам. Поєднання розкладення цих речовин в залежності від сполучення вивчаємих факторів, відбувається на протязі 11-20 діб. Швидкість їх розкладення знаходиться в близьких межах, проте фозалон розпадається швидше ($-0,27 \text{ доби}^{-1}$) в порівнянні з метафосом ($-0,18 \text{ доби}^{-1}$). Швидкість деградації вивчаємих пестицидів найбільш підпадає під вплив температурного фактору (67,5-78,0 %). Відзначено позитивний вплив фосфатазної активності ґрунту на сумарний показник швидкості розкладення (9,7-10,8 %).

Встановлений в наших дослідженнях факт зв'язку між інтенсивністю процесу розкладення пестицидів і активністю фосфатаз свідчить про вклучення пестицидів як неспецифічних субстратів у ферментативні процеси ґрунту. Показники регресійного зв'язку, виражені у відсотках, слід розглядати як ступінь спорідненості субстрата ферменту. Відношення між цими величинами для різних препаратів відображає відношення субстратної спорідненості пестицидів у ферментативних реакціях.

Змінення температурного фактору в модельних експериментах дозволило оцінити енергію активації процесів розпаду вивчаємих пестицидів, яка составила для фозалону 19,38 кДж/Моль, для метафосу - 29,51 кДж/Моль. Вважається (Методические указания ЦИНАО, 1987), що біологічним процесам детоксикації ксенобіотиків у ґрунті відповідає енергія активації 17-25 кДж/Моль, хімічним процесам - 75-105 кДж/Моль. Отримані в наших дослідженнях значення енергії активації свідчать про провідну роль біологічної активності ґрунту в процесах детоксикації фозалону і метафосу.

Для якісної оцінки впливу сумарної біологічної активності ґрунту, яка характеризує діяльність ґрунтової біоти та поза-

клітинних ферментів на інтенсивність розпаду пестицидів, було використано різницевий метод (Методические указания ЦИНАО, 1987). Згідно з цим методом, частка фактору біологічної активності ґрунту L в сумарній інтенсивності процесу може бути розрахована по формулі $L = 100 (1 - A_2/A_1)$, де A_1 - константа швидкості розпаду пестицидів в контрольному ґрунті; A_2 - константа швидкості процесу при усуненні дії вивчаемого фактору (біологічної активності ґрунту), тобто в стерильному ґрунті. Частка біологічного фактору в нашому експерименті становить 44,6 %.

Таким чином, результати модельного експерименту показали, що біологічна активність ґрунту, поряд з температурним фактором, є важливою складовою частиною механізму розкладання фосфорорганічних пестицидів в ґрунті.

ВИСНОВКИ

1. Ґрунти культурфітоценозів, які формуються при вирощуванні озимої пшениці в умовах застосування фосфорорганічних пестицидів, характеризуються сбалансованими екологічними зв'язками показників фосфорного обміну ґрунту. В присутності фосфорорганічних пестицидів активуються ферментативні процеси ґрунту, спрямовані на трансформації органічних сполучень фосфору.

2. Рівень активності ґрунтових ферментів пов'язаний з вмістом форм фосфору у ґрунті. Активізація фосфатаз супроводжується збільшенням вмісту рухомих форм фосфору та зниженням валового, мінерального і органічного фосфору. Зв'язок між фосфатазною активністю і рухомими формами фосфору найбільше виражений в ґрунті при внесенні фосфорорганічних пестицидів.

3. Вивчення корелятивно-регресійних зв'язків зовнішніх умов, активності ґрунтових фосфатаз і балансу основних форм фосфору дозволило виділити температурний фактор як найбільш впливовий в процесах фосфорного обміну ґрунту. Кількісна оцінка впливу температури і вологості ґрунту на швидкість розпаду пестицидів показала, що найбільш значущий вклад в сумарний процес розкладання вносить температурний фактор (65-80 %).

4. Кінетика дії вивчаємих фосфатаз підпорядковується рівнянню Міхаеліса-Ментен. Розраховані кінетичні показники ферментативних реакцій лужної та кислій фосфатази, нуклеази, АТФ-ази і пірофосфатази: величина максимальної швидкості становить від-

повідно 0,190; 0,533; 0,492; 0,808; 0,235 мг P_2O_5 /г·год.; константи Мікаеліса - відповідно 6,25; 20,91; 32,58; 9,45; 768,7 мМоль субстрату.

5. Вплив фосфорорганічних пестицидів на фосфатазну активність ґрунту пов'язаний, як правило, зі сполученим змінням кінетичних показників - збільшенням V_{max} і зменшенням K_m , що свідчить про активацію ферментів. Ці процеси є наслідком зміння стану фермент-субстратного комплексу в присутності фосфорорганічних пестицидів і участі їх як неспецифічних субстратів у ферментативних реакціях.

6. Динаміка вмісту вивчаємих пестицидів в ґрунті описується експоненціальною моделлю. Швидкість розпаду пестицидів у ґрунті модельного і польового дослідів має схожу величину і становить для фозалону -0,201 та -0,208 доби⁻¹; для метафосу -0,138 та -0,165 доби⁻¹ відповідно. Період розпаду пестицидів на 95% коливається від 14,9 діб (фозалон) до 23,0 діб (метафос).

7. Вклад ґрунтових фосфатів в сумарну інтенсивність процесу розкладання фозалону і метафосу становить відповідно 9 % та 11 %. Фосфорорганічні пестициди включаються в ферментативні процеси як неспецифічні субстрати з різним ступенем спорідненості ферменту, оцінкою якого є величина вкладу фосфатів в процес їх деградації.

8. В модельному експерименті одержано значення енергії активації процесу розкладання фозалону і метафосу ($E_a = 19,38$ та $29,51$ кДж/Моль відповідно), що відповідає біологічним процесам розпаду пестицидів. Вивчення швидкості розпаду пестицидів в стерильному ґрунті показало, що частка біологічного фактору становить 44,6 %. Одержані оцінки свідчать про те, що біологічна активність ґрунту, поряд з температурним фактором, є важливою складовою частиною механізму розкладання фосфорорганічних пестицидів.

9. Фосфорорганічні пестициди в ґрунтах агрофітоценозів залучаються до процесів фосфорного обміну і підлягають біохімічній мобілізації, інтенсивність якої залежить від зовнішніх умов. Екологічна оцінка взаємозв'язків цих процесів та їх моделювання дозволяє прогнозувати поведінку пестицидів у конкретних агрокліматичних та кліматичних умовах агрофітоценозів.

СПИСОК РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ ПО ТЕМІ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Зайцева И.А. Энергия активации процессов детоксикации пест-

тицидов в почвах Днепропетровской области. - В сб.: "Экологические аспекты охраны и рационального использования биологических ресурсов. - Днепропетровск, 1989, С.82-89.

2. Зайцева И.А., Долгова Л.Г. Количественная оценка коэффициента проницаемости гербицидов через корни растений. - Тез. докл. I Всесоюзной конференции "Растения и промышленная среда", Днепропетровск, 1990, с.121.

3. Долгова Л.Г., Зайцева И.А. Кинетические параметры активности фосфатаз чернозема обыкновенного. - Тез. докл. республ. конференции "Биология почв антропогенных ландшафтов", Днепропетровск, 1991, с.95.

4. Зайцева И.А., Долгова Л.Г. Вклад микробиологического фактора в разложение фосфорорганических пестицидов. - Тез. докл. 1У Всесоюзной конференции "Микроорганизмы в сельском хозяйстве", Пушкино, 1992, с.167.

5. Зайцева И.А. Влияние атразина на некоторые физиолого-биохимические показатели растений. - Тез. докл. I республ. научно-практич. конференции, Днепропетровск, 12-13 февр. 1993. - Бюлл. Ин-та кукурузы УААН, № 77, с.14.

6. Зайцева И.А. Роль почвенных фосфатаз в процессах разложения фозалона. - В сб.: "Вопросы защиты природной среды и охраны труда в промышленности." - Днепропетровск, 1993, с.52-58.

Зайцева И.А. Экологическая оценка влияния фосфорорганических пестицидов на процессы фосфорного обмена в функционировании чернозема обыкновенного. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.16 - экология, Днепропетровский государственный университет. Днепропетровск, 1995.

Представлены результаты изучения процессов фосфорного обмена почв в условиях применения фосфорорганических пестицидов. Изучена кинетика ферментативных реакций почвенных фосфатаз и влияние на нее фосфорорганических пестицидов. Изучены особенности метаболизма пестицидов в различных экологических условиях. Оценена роль экологических факторов - температуры, влажности, биологической активности почвы в детоксикации фосфорорганических пестицидов.

ZAITZEVA I.A. ECOLOGICAL EVALUATION OF THE INFLUENCE OF PHOSPHORORGANIC PESTICIDES ON THE PHOSPHORUS METABOLISM PROCESSES IN THE ORDINARY CHERNOZEM.

THESIS FOR A CANDIDATE'S DEGREE (BIOLOGICAL SCIENCES). SPECIALITY 03.00.16 - ECOLOGY. DNIPROPETROVSK STATE UNIVERSITY. DNIPROPETROVSK, 1995.

IT HAS SHOWN THE RESULTS OF THE STUDYING OF PROCESSES OF SOIL PHOSPHORUS METABOLISM IN CONDITIONS OF PHOSPHORUS PESTICIDES APPLICATION. IT HAS STUDIED THE KINETICS OF SOIL PHOSPHATASES ENZYME REACTIONS AND THE INFLUENCE OF PHOSPHORORGANIC PESTICIDES ON IT. IT HAS STUDIED THE PECULIARITIES OF PESTICIDES METABOLISM IN THE DIFFERENT ECOLOGICAL CONDITIONS. IT HAS EVALUATED THE ROLE OF ECOLOGICAL FACTORS, SUCH AS TEMPERATURE, HUMIDITY, BIOLOGICAL ACTIVITY IN DETOXICATION OF PHOSPHORORGANIC PESTICIDES IN THE SOIL.

Фосфорорганічні пестициди, ґрунтові фосфатази, детоксикація, кінетика, екологічні фактори.

мен. ФГУ зар. 327-100.

324538

AB 32.056