

тирования в качестве контроля использовали водный экстракт из почвы соответствующего типа.

Влияние токсикантов в экстрактах из почв на ферментные системы. Были проведены модельные эксперименты оценки чувствительности ферментных систем к воздействию токсических веществ при их внесении непосредственно в экстракты из почв. Варьируя концентрацию загрязнителя, определяли значения его токсикологического параметра ЕС₂₀, показывающего предел чувствительности к нему системы (см. таблицу). Установлено, что смешивание токсикантов с экстрактом из почв в большинстве случаев приводит к снижению их ингибирующего воздействия на ферментные системы. Особенно это выражено для хлорида меди, чувствительность к которому падает на 3 и 1 порядок при тестировании этого токсиканта в экстракте из чернозема с помощью моно- и биферментной систем соответственно и на 1 порядок при его тестировании в экстракте из средне-го суглинка с помощью системы R+L+LDH.

Кроме того, сравнительный анализ активности ферментных систем в присутствии загрязненных и незагрязненных экстрактов почв показал, что активность R в присутствии экстрактов почв, загрязненных хлоридом меди, не отличается от активности фермента в присутствии экстрактов незагрязненных почв. Исходя из полученных результатов можно сделать вывод о том, что моноферментная система не позволяет фиксировать загрязнение почв хлоридом меди на уровне, близком к ПДК для данного вещества.

Полученные в работе результаты указывают на широкие возможности для управления чувствительностью ферментативных биотестов к токсикантам в почве за счет удлинения цепи сопряжения ферментов или подбора системы, подверженной наименьшему влиянию естественных компонентов почвы. Действительно, повышение сложности системы (от моно- до триферментной) в несколько раз увеличивает чувствительность ферментативного биотеста. Однако, с другой стороны, исследование выявило трудности проведения ферментативного биотестирования почв, связанные с активным влиянием экстрактов из почв как на активность ферментных систем, так и на их взаимодействие с токсикантами. Полученные результаты о различном влиянии незагрязненных экстрактов из почв на три ферментные системы открывают возможности для конструирования специализированных ферментативных биотестов для целей мониторинга эко-

логической безопасности почв различного компонентного состава и загрязненности.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект 16-14-10115).

Список литературы

- ГН 1.2.3111-13. 2014. Гигиенические нормативы содержания пестицидов в объектах окружающей среды (перечень). М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиол. Роспотребнадзора. 131 с. (GN 1.2.3111—13. 2014. Hygienic norms of pesticide contents in environmental objects (list). Moscow: Federal Hygienic and Epidemiol. Center of Rospotrebnadzor. 131 p.)
- ГН 2.1.7.2041-06. 2006. Предельно допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в почве. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиол. Роспотребнадзора. 15 с. (GN 2.1.7.2041-06. 2006. Maximum permissible concentration (MPC) of chemical substances in soil. Moscow: Federal Hygienic and Epidemiol. Center of Rospotrebnadzor. 15 p.)
- ГОСТ 17.4.4.02-84. 2008. Охрана природы. Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа. М.: Стандартиформ. 7 с. (GOST 17.4.4.02-84. 2008. Nature protection. Soils. Methods for sampling and preparation of soil for chemical, bacteriological, helminthological analysis. Moscow: Standartinform. 7 p.)
- Добровольский Г. В. 2003. Структурно-функциональная роль почв и почвенной биоты в биосфере. М.: Наука. 364 с. (Dobrovolsky G. V. 2003. Structural and functional role of soils and soil biota in the biosphere. Moscow: Nauka. 364 p.)
- Колесников С. И., Казеев К. Ш., Вальков В. Ф. 2006. Экологическое состояние и функции почв в условиях химического загрязнения. Ростов н/Д: Ростиздат. 385 с. (Kolesnikov S. I., Kazeev K. Sh., Valkov V. F. 2006. An ecological condition and functions of soils in the conditions of chemical pollution. Rostov on/D: Rostizdat. 385 p.)
- MP 11-1/134-09. 2000. Определение общей токсичности почв по интенсивности биолюминесценции бактерий. М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России. 21 с. (MP 11-1/134-09. 2000. Determination of soil in intensity of bioluminescence general toxicity of bacteria. Moscow: Federal Hygienic and Epidemiological Center of Rospotrebnadzor. 21 p.)
- Терехова В. А. 2011. Биотестирование почв: подходы и проблемы. Почвоведение. 2 : 190—198. (Terekhova V. A. 2011. Soil bioassay: problems and approaches. Eurasian Soil Science. 2 : 173—179.)
- Kratasyuk V. A., Esimbekova E. N. 2015. Applications of luminous bacteria enzymes in toxicology. Combina. Chem. High Throughput Screening. 18 : 952 — 959.

Поступила 13 VII 2018

ENZYMATIC BIOASSAY OF SOIL: SENSITIVITY COMPARISON OF MONO-, DOUBLE- AND TRIPLE-ENZYME SYSTEMS TO SOIL TOXICANTS

O. S. Sutormin,¹ * E. M. Kolosova,¹ E. V. Nemtseva,^{1,2} O. V. Iskorneva,¹ A. E. Lisitsa,¹ V. S. Matvienko,¹ E. N. Esimbekova,^{2,1} V. A. Kratasyuk^{1,2}

¹ Siberian Federal University, Krasnoyarsk, 660041, and

² Institute of Biophysics Siberian Branch of RAS, Krasnoyarsk, 660036;

* e-mail: OSutormin@sfu-kras.ru

In this paper, we have investigated the possibilities of application of enzymatic systems with increasing chain length as a bioassay to evaluate the soil contamination status. The sensitivity of monoenzyme reaction as well as double- and triple-enzyme chains based on NAD(P)H:FMN-oxidoreductase and luciferase of luminous bacteria and lactate dehydrogenase to pesticides and copper ions in water and water extracts from soils were es-

timated. For this, the toxicological parameter IC_{20} reflecting the sensitivity limit of the enzyme system to the toxicant was used. It was revealed that elongation of the coupled enzyme chain (from mono- to triple-enzyme) increases the sensitivity of the bioassay, in some cases by several orders of magnitude. This pattern can be used as a tool to improve the properties of enzymic bioassays. The effect of extracts from uncontaminated soils of various types on enzymatic systems also differs, which makes possible to design the specialized enzymatic bioassays as well.

Key words: bioluminescent analysis, soil, enzymatic toxicity bioassays, ecological monitoring, bacterial luciferase, NADH:FMN-oxidoreductase, lactate dehydrogenase, coupled enzyme systems
