

УДК 631.461

Н. В. РАСЬКОВА, Д. Г. ЗВЯГИНЦЕВ, М. Г. КРАСНОВА

**АКТИВНОСТЬ ГИДРОЛАЗ И ОКСИДОРЕДУКТАЗ
В ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ПОЧВЕ
С РАЗНЫМ УРОВНЕМ ОКУЛЬТУРЕННОСТИ**

Показано, что сильноокультуренная почва по сравнению со среднеокультуренной значительно интенсивнее катализирует ряд окислительно-восстановительных реакций и гидролиз азотсодержащих органических соединений. Дегидрогеназа, каталаза и протеаза могут служить индикаторами степени окультуренности дерново-подзолистой почвы. Выявлены пределы варьирования активности ферментов в зависимости от степени окультуренности, метеорологических условий, типа растительности, сезонных изменений.

Повышение окультуренности почв сопровождается изменением их свойств, в том числе и биологических. Так, в создании почвенного плодородия большое значение имеют биохимические процессы, протекающие в почве под действием ферментов, продуцируемых почвенными микроорганизмами, макрофауной и высшими растениями. Результатом их каталитической деятельности является как превращение сложных органических веществ в доступную для растений минеральную форму, так и синтез новых высокомолекулярных соединений, необходимых для растений. В настоящем сообщении рассматриваются результаты изучения влияния окультуривания почв на потенциальную активность ферментов. Литературный материал по этому вопросу невелик, но позволяет заключить, что окультуривание почв приводит к значительному изменению их ферментативной активности [1, 3, 9 и др.], хотя выявить ведущие биохимические реакции, тесно связанные с процессом окультуривания, во многих случаях не удавалось.

Исследования проводили на дерново-подзолистой легкосуглинистой почве на моренном суглинке (Московская обл., Чашниково) в 1974—1976 гг. В 1974 г. образцы почв отбирали под вико-овсяной смесью, в 1975 г. на участках, свободных от растений, в 1976 г. под озимой пшеницей. Агрохимическая характеристика почв с разным уровнем окультуренности опубликована ранее [8].

Метеорологические условия за вегетационный период в 1975 и 1976 гг. значительно различались. В 1975 г. среднемесячная температура воздуха за период с мая по октябрь составляла $13,9^{\circ}$ (т. е. на $1,8^{\circ}$ выше среднемноголетней), а в 1976 г. — $10,3^{\circ}$. Сумма осадков с мая по сентябрь в 1975 г. составила 241 мм (т. е. на 94 мм ниже среднемноголетней), а в 1976 г. — 336 мм.

Так как при высушивании почвенных образцов происходит значительная инактивация протеазы, фосфатазы и дегидрогеназы [12, 13], активность этих ферментов мы определяли в свежих почвах; инвертазу, уреазу и каталазу в воздушно-сухих.

В качестве субстратов соответственно использовали 1%-ный раствор казеина, фенолфталеинфосфата натрия, глюкозы, 5%-ный раствор сахарозы, 10%-ный раствор мочевины и 3%-ный раствор перекиси водорода. Акцептором водорода, активированного дегидрогеназами, служил хлористый 2,3,5-трифенилтетразолий. Инкубацию реакционных сме-

Таблица 1

Динамика потенциальной активности оксидоредуктаз в дерново-подзолистой почве с разным уровнем окультуренности

Месяц отбора образцов	Дегидрогеназа, мг ТФФ/10 г почвы/21 час				Каталаза, см ³ О ₂ /г почвы/мин			
	1975 г.		1976 г.		1975 г.		1976 г.	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Май	—	—	1,05	3,40	—	—	1,80	3,10
Июнь	2,34	1,95	1,28	2,67	1,80	1,80	2,10	3,90
Июль	2,04	2,24	1,59	3,14	2,00	2,50	2,00	3,90
Август	1,86	2,23	1,36	3,15	1,20	1,90	1,70	3,20
Сентябрь	1,37	2,36	1,26	2,34	1,00	1,30	1,40	2,40
Октябрь	—	—	1,42	2,77	—	—	1,30	2,10

Примечание. Здесь и в табл. 2 — 1 — средняя, 2 — сильная степень окультуренности.

сей проводили при 30° в течение 21 часа (для протеазы, дегидрогеназы, инвертазы и уреазы), 3 час. (для фосфатазы) и 3 мин. (для каталазы). Подготовку образцов к анализу и последовательность его проведения осуществляли по Галстяну [4]. Контрольные смеси содержали почву, предварительно прокипяченную в течение 5—10 мин. или прогретую при 180° в течение 3 час.

Показано, что окультуривание дерново-подзолистой почвы ведет к резкому увеличению запаса многих ферментативных белков. Так, потенциальная возможность окислительно-восстановительных ферментов в сильноокультуренной почве выше, чем в почве со средним и слабым уровнем окультуренности (табл. 1—3). Однако эта возможность не всегда проявляется одинаково и зависит от гидротермических условий, периода вегетации и т. д. Показано, что в год повышенного увлажнения активность оксидоредуктаз увеличивалась в сильноокультуренной почве и лишь незначительно изменялась в среднеокультуренной, т. е. в этот год более полно проявилась каталитическая способность сильноокультуренной почвы, в которой на протяжении всего исследованного периода активность дегидрогеназы и каталазы была в среднем в 2 раза выше. Менялась активность оксидоредуктаз и в течение вегетационного сезона, максимальной она была в летний период, к осени — сокращалась.

Следовательно, о степени окультуренности дерново-подзолистой почвы можно судить по интенсивности окислительно-восстановительных процессов, катализируемых дегидрогеназами и каталазой. Аналогичные результаты по этим ферментам для бурой полупустынной почвы получены Галстяном [3] и Коноваловой [6] для дерново-подзолистой почвы по каталазе при одном сроке отбора образцов.

Процесс окультуривания, затрагивающий изменение всех агрохимических свойств почвы, приводит к увеличению не только потенциальной активности оксидоредуктаз, но и активности ферментов, гидролизующих азотсодержащие органические соединения — протеазы и уреазы. Следует отметить, что протеазная активность почв в 1976 г. по сравнению с 1975 г. значительно изменилась, что связано в первую очередь, видимо, с метеорологическими условиями. Однако и в том, и в другом случаях сильноокультуренная почва обладала значительно более высокой протеазной активностью, и на протяжении всего периода исследования она этих преимуществ не утрачивала (табл. 2, 3). Следовательно, протеаза является наиболее четким индикатором на степень окультуренности дерново-подзолистой почвы. Обнаружены и сезонные колебания по протеолитической активности почв: значительное увеличение в июне по сравнению с маем, и затем с июля в среднеокультуренной почве произошло резкое снижение без последующих изменений вплоть до октября

Таблица 2

Динамика потенциальной активности гидролитических ферментов в дерново-подзолистой почве с разным уровнем окультуренности

Месяц отбора образцов	Протеаза, мг глицина/г почвы/21 час		Уреаза, мг NH ₂ /1 г почвы/21 час		Инвертаза, мг глюкозы/1 г почвы/21 час		Фосфатаза, мг P ₂ O ₅ 10 г почвы/3 час	
	1976 г.		1975 г.		1976 г.		1975 г.	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Май	4,08	3,23	0,69	1,42	9,8	10,3	3,63	4,83
Июнь	2,33	4,36	0,69	1,24	12,7	14,6	1,98	0,87
Июль	4,43	3,35	1,31	1,48	10,7	11,6	1,29	0,87
Август	1,57	4,12	0,82	1,63	13,4	13,8	Не опр.	Не опр.
Сентябрь	1,64	4,27	0,75	1,36	9,9	12,8	0,36	0,84
Октябрь	1,56	3,71	0,76	1,53	13,9	13,0	Не опр.	1,47

ря; а в сильноокультуренной почве активность снизилась лишь к октябрю; сезонные колебания 1976 и 1975 гг. неидентичны.

На рост протеолитической и уреазной активности с увеличением уровня окультуренности в дерново-подзолистых почвах, различающихся по степени развития подзолообразовательного процесса и химического состава, указывают данные, полученные другими авторами [7, 10].

Потенциальная способность сильноокультуренной дерново-подзолистой почвы к гидролизу мочевины в течение всего вегетационного сезона выше, чем среднеокультуренной (табл. 2). В первый год исследования это превышение в среднем составляло 35, во второй — 65%. Аналогичные результаты получены и для других почв [3, 6, 10]. Уролитическая активность почвы по сравнению с протеазной значительно меньше подвержена сезонным и годичным изменениям.

Показано, что наименьшей инвертазной активностью обладала слабоокультуренная почва, которая осуществляла гидролиз сахарозы в 2 с лишним раза медленнее, чем среднеокультуренная почва (табл. 3). Наряду с этим в течение 3 лет не было обнаружено превосходства сильноокультуренной почвы над почвой со средним уровнем окультуренности по инвертазной активности (табл. 2, 3). В бурой полупустынной почве по мере роста степени ее окультуренности наблюдали непрерывное увеличение активности инвертазы [3]. На дерново-подзолистой почве такой непрерывности не обнаружено. Не подвержена инвертазная активность и резким сезонным колебаниям.

Минерализация фосфорорганических соединений осуществляется фосфатазами, максимальная каталитическая активность которых проявляется при разных значениях рН. Мы определяли фосфогидролазную активность при рН самой почвы, используя в качестве субстрата фенолфтаleinфосфат натрия, а в майских образцах 1976 г. — *n*-нитрофенилфосфат натрия. Время инкубации реакционной смеси было сравнительно небольшим — 3 часа с первым субстратом и 1 час со вторым. Прежде всего следует отметить большую изменчивость фосфатазной активности как по сезонам, так и в зависимости от метеорологических условий года. В отдельные периоды вегетационного сезона гидролиз органических фосфатов значи-

Таблица 3

Активность ферментов почвы в зависимости от степени ее окультуренности
(сентябрь 1974 г.)

Степень окультуренности	Вариант	Протеаза	Инвертаза	Дегидрогеназа
Слабая	Без удобрений	1,30	3,3	1,0
	НРК	1,03	4,1	0,9
Средняя	Без удобрений	1,60	8,6	1,1
	НРК	1,15	8,9	1,1
Сильная	Без удобрений	2,63	6,5	1,2
	НРК	3,05	6,8	1,5

тельно быстрее катализировался сильноокультуренной почвой (май 1976 г., июнь и сентябрь 1975 г.), в остальные периоды в ней наблюдался спад потенциальной активности фосфатазы ниже уровня активности среднеокультуренной почвы (табл. 2). Подобные результаты получены и для дерново-палево-подзолистой почвы [2]. Другие авторы утверждают, что активность фосфатазы, катализирующей гидролиз субстрата при pH 5,5, значительно увеличивается по мере роста степени окультуренности дерново-подзолистой почвы [11]. Однако серьезным недостатком методики в этой работе, на наш взгляд, является слишком большой период инкубации реакционной смеси, равный 2 суткам. За этот период субстрат мог расщепляться не только ферментами почвы, но и ферментами развивающихся микроорганизмов.

При характеристике почвы по потенциальной активности ферментов, видимо, недостаточно определить лишь среднее значение активности в абсолютных ферментативных единицах. Не менее важной является оценка варьирования этой величины в относительных единицах, что дает возможность сравнивать вариабельность активности разных ферментов, имеющих неодинаковые единицы измерения. В качестве такого показателя варьирования рекомендуется брать отношение среднего квадратического отклонения к среднему арифметическому, выраженное в процентах от среднего [5], т. е. коэффициент вариации (v). В почвенной энзимологии сравнительный анализ экспериментального материала по абсолютным данным часто затруднен тем, что авторы при определении одного и того же фермента используют субстраты с разной специфичностью, меняют период и температуру инкубации, не всегда производят идентичную подготовку образцов к анализу, изменяют единицу количественного учета образующегося продукта реакции и т. д. Поэтому знание относительной изменчивости интенсивности биохимических процессов под влиянием того или иного фактора наряду с абсолютными цифрами даст дополнительную важную информацию.

Из анализа данных по изменению активности ферментов в зависимости от степени окультуренности, периода вегетации, растительности и метеорологических условий видно, что коэффициент варьирования наибольший в том случае, когда при определении активности не учитывается изменение перечисленных факторов; он колеблется от 31 до 58% (табл. 4). Наибольшая вариабельность показана для протеазной и фосфатазной активности, для остальных ферментов она ниже. Если суммировать данные по ферментативной активности с учетом лишь одного из перечисленных выше факторов — степени окультуренности, то коэффициент варьирования для всех ферментов, за исключением фосфатазы, уменьшается в 1,5 раза; теперь пределы его колебаний составляют 20—40%. Когда же исключается влияние метеорологических условий и растительности, т. е. для расчета берутся лишь данные одного вегетационного сезона, то происходит дальнейшее снижение вариабельности

Таблица 4

Потенциальная активность ферментов дерново-подзолистой почвы и ее относительная изменчивость под влиянием разных факторов воздействия (средние данные за сезон)

Фермент *	Средние данные за вегетационный сезон 1975 и 1976 гг.									Данные за вегетационный сезон 1976 г.								
	без учета степени окультуренности почвы			с учетом степени окультуренности почвы						с учетом степени окультуренности почвы								
				среднеокультуренная			сильноокультуренная			среднеокультуренная			сильноокультуренная					
	М	п	v	М	п	v	М	п	v	М	п	v	М	п	v			
Дегидрогеназа	2,0	23	35	1,5	10	24	2,6	10	17	1,3	6	12	2,9	6	12			
Каталаза	2,1	20	39	1,6	10	22	2,6	10	32	1,7	6	18	3,1	6	22			
Протеаза	2,1	23	58	1,3	10	38	2,9	10	42	1,6	6	23	3,8	6	12			
Уреаза	1,0	20	31	0,8	10	20	1,2	10	19	0,9	6	25	1,4	6	8			
Инвертаза	10,2	23	31	11,4	10	13	10,0	10	28	11,9	6	13	12,2	6	9			
Фосфатаза	1,6**	16	55	1,6	8	59	1,6	8	50	1,5	4	19	0,9	4	2			

* Единицы активности такие же, как в табл. 1 и 2.

** Без учета данных за май 1976 г.

Таблица 5

Относительная изменчивость потенциальной активности ферментов в образцах почв, взятых с одного варианта опыта в один срок (май 1976 г.)

Фермент	Варианты опыта по азоту, кг/га	Среднеокультуренная почва		Сильноокультуренная почва		v, среднее значение
		v	п	v	п	
Дегидрогеназа	60	24	17	25	12	23
	180	24	20	21	17	
Каталаза	60	24	5	14	6	16
	180	18	6	9	6	
Протеаза	60	13	6	14	6	16
	180	13	5	24	6	
Уреаза	60	8	10	16	6	17
	180	15	8	29	6	
Инвертаза	60	12	6	18	6	17
	180	17	6	22	6	
Фосфатаза	60	13	36	16	35	15

потенциальных активностей, например, протеазы в 2 с лишним раза, дегидрогеназы в 2 раза и т. д. (табл. 4).

По расчету, произведенному лишь на основании данных одного опыта (майские образцы почв 1976 г.), когда учитывали все указанные факторы, за исключением пространственной изменчивости, коэффициент варьирования не снижался и в среднем был равен 17% (табл. 5).

Таким образом, судя по величине относительной изменчивости, потенциальная активность ферментов дерново-подзолистой почвы в наибольшей мере зависит от степени ее окультуренности. Особенно это касается протеазы, дегидрогеназы и каталазы, каталитическая способность которых может служить индикатором на биологическую активность почвы. Метеорологические условия и растительность оказывают значительное влияние лишь на активность протеазы и фосфатазы. Относительная вариабельность ферментативной активности, связанная с сезонными колебаниями, не превышает эту величину, обусловленную пространственной неоднородностью почв.

Литература

1. Вавуло Ф. П., Карягина Л. А., Барташевич Л. М. Биологическая активность почв разной степени окультуренности. В сб.: Агрохимическая характеристика почв БССР, вып. 6. Минск, «Урожай», 1969.
2. Гаврилова А. Н., Савченко Н. А., Шимко Н. А. Содержание органофосфатов и активность фосфатазы в дерново-палево-подзолистых почвах разной степени окультуренности. Почвоведение, 1975, № 1.
3. Галстян А. Ш. К оценке степени плодородия почвы ферментативными реакциями. В сб.: Микроорганизмы в сельском хозяйстве. М., 1963.
4. Галстян А. Ш. Ферментативная активность почв Армении, вып. VIII. Ереван, 1974.
5. Дмитриев Е. А. Математическая статистика в почвоведении. Изд. МГУ, 1972.
6. Коновалова А. С. Ферментативная активность как диагностический показатель для целинных и окультуренных дерново-подзолистых почв. Почвоведение, 1970, № 7.
7. Моисеева В. К. Об активности уреазы и протеазы в разных типах почв. Научн. тр. Сев.-Зап. НИИ с. х., вып. 34, 1975.
8. Раськова Н. В., Звягинцев Д. Г. Влияние хранения на активность и термостабильность почвенных ферментов. Вестн. МГУ. Биология, № 4, 1977.
9. Ромейко И. Н., Дубовенко Е. К., Уласевич Е. И. Биохимическая деятельность микроорганизмов дерново-подзолистой почвы при разных способах ее окультуривания. Сб. докл. симпозиума по ферментам почвы (27—30 июня 1967 г.). Минск, 1968.
10. Стенина Т. А. Ферментативная активность некоторых почв Средней Тайги. Почвоведение, 1968, № 2.
11. Чундерова А. И., Зубец Т. П. Активность фосфатазы в дерново-подзолистых почвах. Почвоведение, 1969, № 11.
12. Ross D. J. Effect of storage on dehydrogenase activities of soil. Soil Biol. and Biochem., v. 2, No. 1, 1970.
13. Speir T. W., Ross D. J. Effect of storage on the activities of protease, urease, phosphatase and sulfatase in three soils under pasture. New Zealand J. Sci., v. 18, No. 2, 1975.

Факультет почвоведения
МГУ

Дата поступления
16.IV.1977 г.

N. V. RASKOVA, D. G. ZVYAGINTZEVA, M. G. KRASNOVA

ACTIVITY OF HYDROLASES AND OXIDOREDUCTASES IN SODDY-PODZOLIC SOILS WITH DIFFERENT DEGREE OF CULTIVATION

It has been shown that a strongly cultivated soil catalyzes considerably more intensive a series of oxidation-reduction reactions and the hydrolysis of nitrogen-containing organic compounds as compared with a medium cultivated soil. Dehydrogenase, catalase and protease may serve as indicators of soddy-podzolic soils cultivation degree. The limits of variation of ferment activity depending on the degree of cultivation, meteorological conditions, the type of vegetation and seasonal changes have been found.