

УДК 631.461.5:631.559:633.22

*Н. А. МИХАЙЛОВСКАЯ<sup>1</sup>, О. МИКАНОВА<sup>2</sup>*

## **ВЗАИМОСВЯЗЬ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ С СОДЕРЖАНИЕМ ГУМУСА В ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ СУПЕСЧАНОЙ ПОЧВЕ**

<sup>1</sup>*Институт почвоведения и агрохимии, Минск, Беларусь,*

<sup>2</sup>*Институт растениеводства, Прага-Рузыне, Чехия*

*(Поступила в редакцию 30.09.2008)*

**Введение.** Интерес к изучению ферментативной активности почвы обусловлен ключевой ролью почвенных ферментов в процессах трансформации органического вещества. Благодаря почвенным ферментам процессы синтеза-минерализации органического вещества и мобилизации элементов питания протекают в почве с высокой скоростью.

К настоящему времени установлено, что основными источниками поступления ферментов в почву являются микроорганизмы и растения [1, 2]. В почвах обнаружены представители всех известных классов ферментов, однако наибольшее значение имеют два класса – гидролитические и окислительно-восстановительные [3–5]. Биохимические процессы гидролиза и окисления углеродсодержащих соединений представляют особый интерес, так как являются непосредственными составляющими цикла углерода в почве. При всем многообразии поступающих в почву углеродсодержащих соединений, составляющих основу гумификации, можно выделить по значимости углеводы и лигнины.

Изучение интенсивности минерализации углеводов до низкомолекулярных структурных единиц, которые усваиваются микроорганизмами, а также вовлекаются в процессы гумификации, вызывает значительный интерес. Углеводы составляют около 10% органического вещества почвы, представляют его активный неспецифический компонент, непосредственно участвуют в процессах гумификации и являются обязательным фрагментом гумусовых веществ [4–6]. Гидролитические реакции играют значительную роль в процессах трансформации углеводов. Динамика и мобилизация усвояемых форм элементов питания связана с гидролитическим разложением углеводов под действием гидролаз, что определяет их значимость в цикле углерода в почве.

Роль оксидоредуктаз в цикле углерода почвы также весьма значительна: они являются основными агентами гумификации лигнинов, которые составляют 15–30% сухого вещества растительных остатков, поступающих в почву. В исследованиях М. М. Кононовой и Л. Н. Александровой лигнины рассматриваются как основные гумусообразователи [7, 8], поэтому характеристика активности лигнинолитических ферментов представляет интерес как показатель интенсивности гумификации.

Цель исследования – количественная характеристика взаимосвязи активности гидролитических (целлюлазы и инвертазы) и окислительно-восстановительных (полифенолоксидазы и пероксидазы) ферментов с содержанием гумуса в дерново-подзолистой супесчаной почве.

**Объекты и методы исследования.** Исследования проводили в стационарном опыте в КСУП «Стреличево» (Хойникский р-н, Гомельская обл.), заложенном в 1999 г. на дерново-подзолистой связно-супесчаной почве, подстилаемой с глубины 0,5–0,6 м моренным суглинком. Агрохимические показатели почвы до закладки опыта: гумус – 2,2%, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> – 180 мг/кг, K<sub>2</sub>O – 200 мг/кг, CaO – 1100, MgO – 350 мг/кг почвы. Севооборот: кукуруза на зеленую массу, яровая пшеница, горохо-овсяная смесь, озимая тритикале, горох.

В стационарном опыте сформированы три уровня внесения органических удобрений: без органических удобрений, 8 и 16 т солоमистого навоза на 1 га севооборотной площади. Соломистый навоз вносили под кукурузу (0, 40 и 80 т/га) в 1999 и 2004 гг. На каждом уровне органики изучали следующие варианты внесения минеральных удобрений:  $P_{60}K_{120}$ ,  $N_{90}P_{60}$ ,  $N_{90}P_{60}K_{60}$ ,  $N_{90}P_{60}K_{120}$ ,  $N_{90}P_{60}K_{180}$ ,  $N_{60}P_{60}K_{120}$  и  $N_{120}P_{60}K_{120}$ . Минеральные удобрения вносили под предпосевную культивацию в виде хлористого калия, аммофоса и мочевины. Общая площадь делянки – 18 м<sup>2</sup>, учетная – 15 м<sup>2</sup>. Повторность в опыте – 4-кратная, размещение делянок – рендомизированное. В 2006 г. возделывали горохо-овсяную смесь, в 2007 г. – озимую тритикале.

Содержание гумуса в почве определяли по И. В. Тюрину в модификации Б. А. Никитина [9]. Целлюлазную активность оценивали аппликационным методом, по убыли массы фильтровальной бумаги, помещенной в почву на 14 дней [10]. Активность инвертазы определяли по методу, предложенному Т. А. Щербаковой [11]. Для оценки активности полифенолоксидазы и пероксидазы использовали метод, разработанный Л. А. Карягиной, Н. А. Михайловской [12]. Анализировали почвенные образцы, отобранные весной до внесения удобрений в 2006–2007 гг.

Для оценки тесноты взаимосвязи показателей ферментативной активности с содержанием гумуса использовали программу Excel 2003.

**Результаты и их обсуждение.** Отмечающаяся в настоящее время активизация исследований по биохимии почв связана с поисками объективных биологических критериев оценки качества почвы при антропогенном воздействии [13–15]. Одним из основных агрохимических критериев оценки качества почвы служит содержание гумуса. Контроль содержания гумуса является обязательным в системе мониторинга плодородия почв, так как он коренным образом влияет на физические, химические и биологические свойства почвы, определяет ее плодородие и устойчивость получения сельскохозяйственной продукции. Однако для оценки качества почвы необходимы и более специфичные критерии, содержащие информацию о специфических процессах, протекающих в почве. В качестве таких критериев наибольший интерес представляют почвенные ферменты, связанные с циклами основных биогенных элементов.

Следует отметить преимущества ферментативной диагностики по сравнению с микробиологическими показателями, к которым относится численность микроорганизмов в почве. При неблагоприятных условиях (дефиците влаги или элементов питания) численность микроорганизмов в почве резко снижается, а некоторые виды погибают, что значительно снижает информативность микробиологических показателей. По этой причине они практически не используются для диагностических целей. По сравнению с традиционными микробиологическими тестами ферментативная активность является более стабильной характеристикой почвы. Внеклеточные ферменты, поступающие в почву, адсорбируются глинистыми минералами, гуминовыми, нуклеиновыми кислотами и полисахаридами [5, 16]. Стабилизированные за счет связи с минеральными и органическими компонентами почвы ферменты длительное время сохраняют свою активность, в том числе и в неблагоприятных условиях. Стабилизированные ферменты устойчивы к протеолизу и защищены от инактивации в почве [5, 16].

В задачи наших исследований входила количественная оценка взаимосвязи активности гидролитических и окислительно-восстановительных ферментов, играющих ключевую роль в цикле углерода, с содержанием гумуса.

В полевом эксперименте систематическое применение разных систем удобрения оказало влияние на содержание гумуса в дерново-подзолистой супесчаной почве. На блоке опыта с минеральной системой удобрения содержание гумуса в годы исследований составило 1,57–1,82%, при органо-минеральной системе удобрения с внесением 8 т/га соломистого навоза в севообороте – 1,80–2,20%. Наиболее существенное повышение содержания гумуса – до 2,35–3,0% – отмечено при органо-минеральной системе удобрения почвы с двойной дозой навоза (16 т/га в севообороте).

Показатели активности гидролитических и окислительно-восстановительных ферментов хорошо отражали изменения содержания гумуса в почве в зависимости от системы удобрения. Отмечены следующие закономерности: минимальная активность ферментов зарегистрирована на блоке с минеральной системой удобрения, средний уровень ферментативной активности почвы отмечен на блоке с органо-минеральной системой удобрения с внесением 8 т/га навоза, наиболее высокие энзиматические показатели получены на блоке с внесением двойной дозы навоза.

В течение двух лет изучали целлюлозолитическую активность дерново-подзолистой супесчаной почвы. Целлюлазы представляют собой группу гидролитических ферментов, которые осуществляют разложение целлюлозы, составляющей около 50% сухого вещества растительных остатков и являющейся наиболее значимым полисахаридом, поступающим в почву [17]. Так как целлюлоза представляет один из наиболее существенных источников углеродсодержащих соединений, то целлюлозолитическая активность может служить биохимическим индикатором круговорота углерода в почве.

Установлена тесная связь целлюлозолитической активности с содержанием гумуса в дерново-подзолистой супесчаной почве. По данным регрессионного анализа теснота связи характеризовалась следующими коэффициентами детерминации:  $R^2 = 0,84$  в 2006 г. и  $R^2 = 0,91$  в 2008 г. при  $P < 0,05$  (рис. 1).

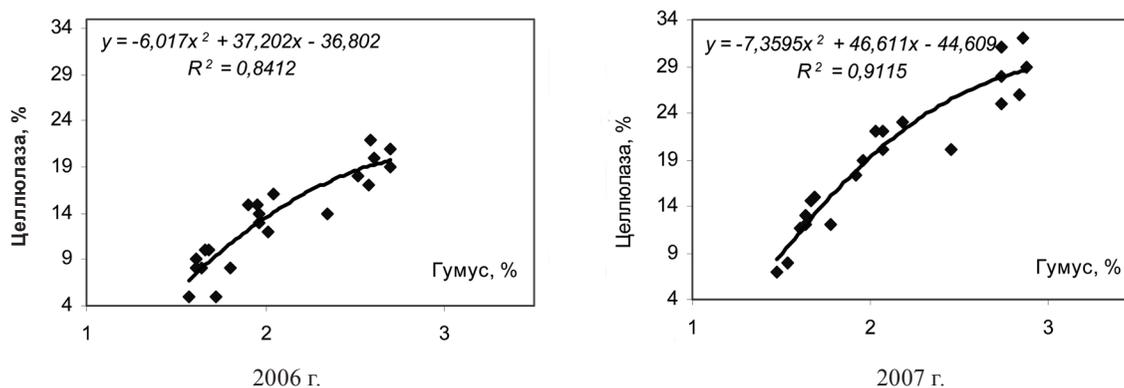


Рис. 1. Взаимосвязь целлюлазной активности с содержанием гумуса в дерново-подзолистой супесчаной почве

Гидролитическое разложение сахарозы в почве осуществляется под действием инвертаз, активность которых является показателем скорости накопления глюкозы и фруктозы в почве. В цикле углерода инвертазы играют существенную роль, высвобождая хорошо растворимые низкомолекулярные сахара, которые представляют источник питания для микроорганизмов [14]. Таким образом, высокая активность инвертаз способствует развитию микробной биомассы и поддерживает определенный уровень биогенности почвы.

Установлено, что инвертазная активность очень тесно коррелирует с содержанием гумуса в почве: по данным 2006–2007 гг. значения коэффициентов детерминации  $R^2$  составили 0,88 и 0,92 соответственно (рис. 2). Учитывая тесную связь с содержанием гумуса, инвертазную активность можно рассматривать в качестве перспективного показателя качества почвы и уровня ее окультуренности. В эксперименте отмечено значительное сходство варьирования показателей инвертазной активности в зависимости от содержания гумуса по годам исследований, что подтверждает целесообразность использования активности инвертазы в качестве биохимической характеристики скорости трансформации сахарозы в почве.

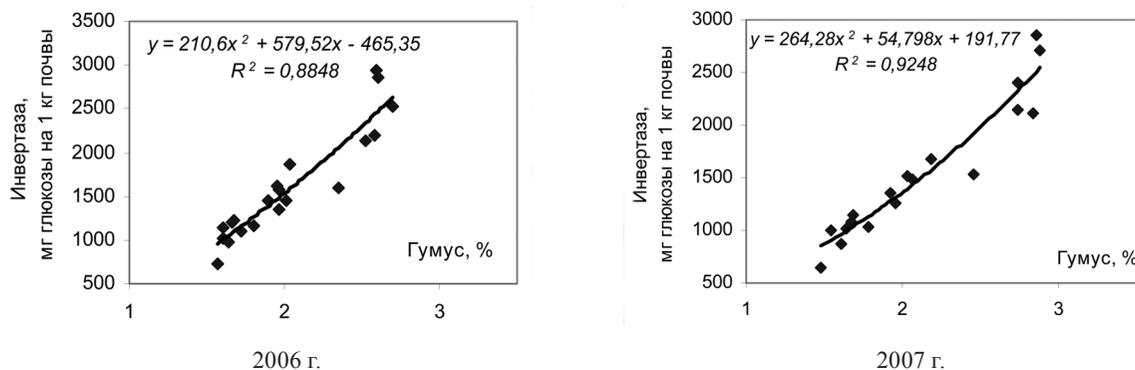


Рис. 2. Взаимосвязь инвертазной активности с содержанием гумуса в дерново-подзолистой супесчаной почве

Органические остатки растений, поступающие в почву, на 15–30% состоят из лигнинов. Несмотря на то что лигнины отличаются устойчивостью к разложению по сравнению с другими компонентами растительных остатков, они быстро гумифицируются в почве под действием микробных оксидаз – полифенолоксидаз и пероксидаз. Эти ферменты считаются основными агентами гумификации лигнинов [7, 8]. Роль полифенолоксидаз и пероксидаз в биохимических процессах гумификации лигнинов определяет их значение в цикле углерода [4, 7, 8].

Полифенолоксидазы и пероксидазы катализируют окисление лигнинов до хинонов, которые при соответствующих условиях конденсируются с аминокислотами и пептидами, что приводит к образованию первичных молекул гуминовых кислот. Полифенолоксидазы осуществляют процессы окисления с помощью кислорода воздуха, пероксидазы – за счет кислорода перекиси водорода, образующейся в почве за счет жизнедеятельности микроорганизмов и действия оксидаз.

Экспериментальные данные свидетельствуют о наличии тесной связи активности лигнинолитических ферментов с содержанием гумуса в дерново-подзолистой супесчаной почве. Наиболее тесная связь с гумусом и высокие значения коэффициентов детерминации получены для показателей пероксидазной активности:  $R^2 = 0,93$  (2006 г.) и  $R^2 = 0,81$  (2007 г.) при  $P < 0,05$  (рис. 3). Для полифенолоксидазной активности коэффициенты детерминации были несколько ниже – 0,73 и 0,61; однако они также указывали на наличие тесной связи с содержанием гумуса в почве (рис. 4). Учитывая этот факт, в качестве биохимической характеристики интенсивности гумификации лигнинов достаточно использовать один ферментативный тест вместо двух, а именно определять активность пероксидазы, более тесно коррелирующую с содержанием гумуса в почве.

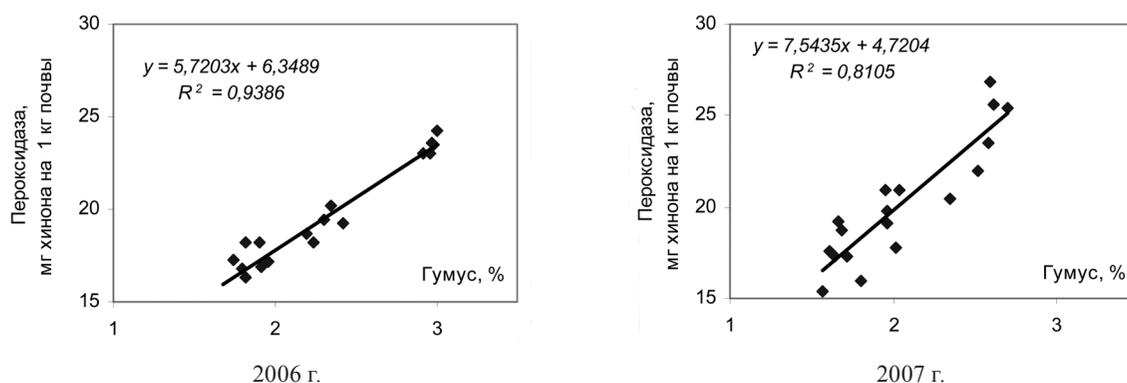


Рис. 3. Взаимосвязь пероксидазной активности с содержанием гумуса в дерново-подзолистой супесчаной почве

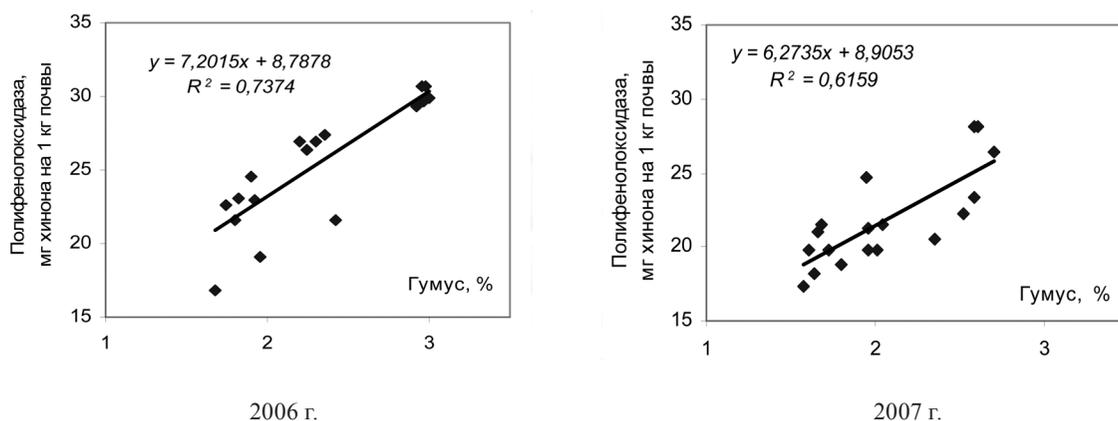


Рис. 4. Взаимосвязь полифенолоксидазной активности с содержанием гумуса в дерново-подзолистой супесчаной почве

**Заключение.** В результате проведенных исследований установлена тесная связь целлюлозолитической ( $R^2 = 0,84–0,91$ ), инвертазной ( $R^2 = 0,88–0,92$ ), пероксидазной ( $R^2 = 0,81–0,93$ ) и полифенолоксидазной ( $R^2 = 0,61–0,73$ ) активностей с содержанием гумуса в дерново-подзолистой связно-супесчаной почве. Уровень установленных взаимосвязей свидетельствует, что ферментативная диагностика дает объективную информацию об интенсивности процессов трансформа-

ции важнейших углеродсодержащих соединений в почве. Показатели целлюлозолитической, инвертазной и пероксидазной активности почвы целесообразно использовать в качестве специфических биохимических критериев для оценки интенсивности соответствующих процессов, являющихся значимыми составляющими цикла углерода в почве.

### Литература

1. Ladd J. N. Origin and range of enzymes in soil // *Soil Enzymes*. London: Academic Press, 1978. P. 51–96.
2. Tabatabai M. A. *Enzymes // Methods of soil analysis. Part 2. Microbiological and biochemical properties*. Madison: Soil Science Society of America, 1994. P. 775–833.
3. Звягинцев Д. Г. Почва и микроорганизмы. М.: МГУ, 1987. 256 с.
4. Туев Н. А. Микробиологические процессы гумусообразования. М.: ВО Агропромиздат, 1989. 237 с.
5. Щербакова Т. А. Ферментативная активность почв и трансформация органического вещества. Минск: Наука и техника, 1983. 221 с.
6. Карягина Л. А. Микробиологические основы повышения плодородия почв. Минск, Наука и техника, 1983. 182 с.
7. Кононова М. М. Органическое вещество почвы. М.: АН СССР, 1963. 315 с.
8. Александрова Л. Н. Органическое вещество почвы и процессы его трансформации. Л.: Наука, 1980. С. 122–133.
9. Никитин Б. А. Методика определения содержания гумуса в почве // *Агрохимия*. 1972. № 3. С. 123–125.
10. Хазиев Ф. Х. Методы почвенной энзимологии. М.: Наука, 1990. 189 с.
11. Щербакова Т. А. К методике определения активности инвертазы и амилазы в почве // *Сборник докладов по ферментам почвы*. Минск, 1968. С. 453–455.
12. Карагина Л. А., Михайлоўская Н. А. Вызначэнне актыўнасці поліфенолаксідазы і пераксідазы ў глебе // *Весті АН БССР. Сер. с.-г. навук*. 1986. № 2. С. 40–41.
13. Vandick A. K., Dick R. P. Field management effect on soil enzyme activities // *Soil Biol. Biochem.* 1999. Vol. 31. N 11. P. 1471–1479.
14. Vepsäläinen M., Kukkonen S., Vestberg M. et al. Application of soil enzyme activity test kit in a field experiment // *Soil Biology and Biochemistry*. 2001. Vol. 33. P. 1665–1672.
15. Allison S. D., Vitousek P. M. Responses of extracellular enzymes to simple and complex nutrient inputs // *Soil Biol. Biochem.* 2005. Vol. 37. N 5. P. 937–944.
16. Boyd S. A., Mortland M. M. Enzyme interactions with clays and clay-organic matter complexes // *Soil Biochemistry*. New York: Marcel Dekker, 1990. P. 1–28.
17. Deng S. P., Tabatabai M. A. Cellulase activity of soils // *Soil Biology and Biochemistry*. 1994. Vol. 26. N 10. P. 1347–1354.

*N. A. MIKHAILOUSKAYA, O. MIKANOVA*

### RELATIONSHIP OF THE ENZYMATIC ACTIVITY WITH THE HUMUS CONTENT IN LUVISOL LOAMY SAND SOIL

#### Summary

A relationship of the enzymatic activity with the humus content in Luvisol loamy sand soil was studied. It was found that the activities of cellulase ( $R^2 = 0.71-0.91$ ), invertase ( $R^2 = 0.88-0.92$ ), peroxidase ( $R^2 = 0.81-0.93$ ) and polyphenoloxidase ( $R^2 = 0.61-0.73$ ) closely correlated with the humus content in Luvisol loamy sand soil. The closeness of the established correlations indicates that enzymatic parameters ensure the objective information on the transformation intensity of important carbonic substances in soil. Cellulase, invertase and peroxidase activities are considered as specific biochemical criteria of different constituents of the carbon cycle in soil.