

ЗЕМЛЯРОБСТВА І РАСЛІНаВОДСТВА

УДК 631.461.5:633.22:631.445.24

Н. А. МИХАЙЛОВСКАЯ¹, О. МИКАНОВА²

ВЗАИМОСВЯЗЬ АКТИВНОСТИ ОКСИДАЗ С СОДЕРЖАНИЕМ РАЗНЫХ ФРАКЦИЙ ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА В ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ СУПЕСЧАНОЙ ПОЧВЕ

¹*Институт почвоведения и агрохимии, г. Минск, Беларусь,*

²*Институт растениеводства, Прага-Рузыне, Чехия*

(Поступила в редакцию 25.03.2010)

Введение. В настоящее время отмечается тенденция расширения исследований по изучению биологического состояния почв, в том числе с целью разработки критериев для оценки антропогенного воздействия на почву. Одним из наиболее информативных показателей биологического состояния почвы является ее ферментативная активность [1–4]. Процессы трансформации органического вещества являются по природе биохимическими и катализируются ферментами. В результате действия стабилизированных в почве ферментов сложные многоступенчатые процессы минерализации и синтеза органических веществ, мобилизации элементов питания протекают с высокой скоростью [3–5].

Ферментативные показатели содержат информацию об интенсивности и направленности процессов трансформации органического вещества, имеющую значение для оценки изменения плодородия под влиянием используемых аграрных технологий. Биохимическое тестирование позволяет установить различия биологического статуса почвы в зависимости от систем удобрения, севооборотов и т. д. [6–7]. Ферментативные показатели почвы могут играть диагностическую роль, в особенности для ранней диагностики развития негативных экологических процессов и своевременного предотвращения неблагоприятных экологических последствий.

В почвах обнаружены представители всех известных классов ферментов, выполняющих различные функции. Большинство исследователей в области почвенной энзимологии считают, что наиболее существенную роль играют два класса ферментов – окислительно-восстановительные и гидролитические [6–8]. Значимость оксидаз определяется их ролью в цикле углерода в почве. Пероксидазы и полифенолоксидазы являются основными агентами гумификации лигнинов, которые составляют значительную часть (15–30%) сухого вещества растительных остатков, поступающих в почву. В соответствии с классическими работами М. М. Кононовой и Л. Н. Александровой, лигнины рассматриваются как основные гумусообразователи [9, 10]. С этих позиций изучение активности почвенных оксидаз – пероксидаз и полифенолоксидаз – позволяет получать информацию об интенсивности процессов гумификации в почве. Активность почвенных оксидаз представляет один из наиболее значимых диагностических показателей для оценки биологического состояния почвы.

Цель исследований – количественная оценка взаимосвязи пероксидазной и полифенолоксидазной активности с содержанием разных фракций органического вещества в дерново-подзолистой связносупесчаной почве.

Объекты и методы исследований. Исследования проведены в стационарном опыте в КСУП «Стреличево» (Хойникский р-н, Гомельская обл.), заложенном в 1999 г. на дерново-подзолистой связносупесчаной почве, подстилаемой с глубины 0,5–0,6 м моренным суглинком. Агрохими-

ческие показатели почвы до закладки опыта: гумус – 2,2%, P_2O_5 – 180 мг/кг, K_2O – 200 мг/кг, CaO – 1100, MgO – 350 мг/кг почвы.

В схеме стационарного опыта предусмотрены три уровня внесения органических удобрений: 0, 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 в 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 м², учетная – 15 м². Повторность в опыте – 4-кратная, размещение делянок – рендомизированное. В 2006 г. возделывали горохо-овсяную смесь, в 2007 г. – озимую тритикале, в 2008 г. – горох.

Содержание гумуса в почве определяли по И. В. Тюрину в модификации ЦИНАО [11], содержание водорастворимой фракции органического вещества почвы (C_{hwe}) определяли методом E. Schulz, M. Korschens [12].

При выполнении биохимических исследований анализировали почвенные образцы, отобранные весной до внесения удобрений в 2006–2008 гг. Активность оксидаз (полифенолоксидазы и пероксидазы) определяли по методу, разработанному в лаборатории микробиологии и биохимии почв Института почвоведения и агрохимии [13].

Для оценки тесноты взаимосвязи показателей ферментативной активности с разными фракциями органического вещества почвы использовали программу Excel 2003.

Результаты и их обсуждение. В модельном полевом эксперименте на дерново-подзолистой связносупесчаной почве в результате длительного систематического применения разных систем удобрения сформированы три уровня окультуренности почвы, различающиеся по содержанию органического вещества. Основным фактором, оказавшим влияние на содержание гумуса в дерново-подзолистой связносупесчаной почве, было внесение органических удобрений. На блоке опыта с минеральной системой удобрения, где навоз не вносили более 10 лет, отмечено снижение содержания гумуса до 1,69–1,72% по сравнению с исходным содержанием 2,2% (рис. 1). Внесение 8 т/га соломистого навоза в севообороте в сочетании с NPK поддерживало содержание гумуса в почве в пределах, близких к исходному уровню – 1,94–2,19%. Повышение содержания гумуса до 2,75–2,82% отмечено в результате длительного применения органоминеральной системы удобрения с двойной дозой навоза (16 т/га) в севообороте.

Содержание органического вещества является одним из основных агрохимических критериев оценки качества почвы, поскольку оказывает комплексное влияние на физические, химические и биологические свойства почвы, определяет ее плодородие и стабильность получения сельскохозяйственной продукции.

Для оценки плодородия имеет значение не только общее содержание органического вещества в почве, но и его состав, т. е. содержание разных фракций, которые играют специфическую роль в формировании плодородия. Органическое вещество почвы можно подразделить как минимум на две составляющие, существенно различающиеся по скорости трансформации – отно-

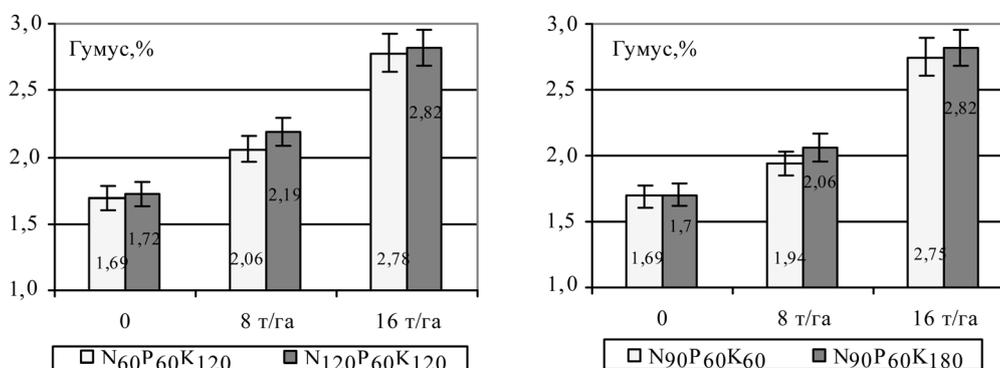


Рис. 1. Влияние удобрений на содержание гумуса в дерново-подзолистой связносупесчаной почве, КСУП «Стреличево», 2006–2008 гг.

сительно инертную часть, которая трудно поддается минерализации, и активную, легко разлагаемую фракцию [12, 14]. Относительно инертная часть органического вещества почвы определяется главным образом генетическими особенностями почвы и климатом, активная составляющая органического вещества в большей степени зависит от используемых аграрных технологий – системы удобрения, севооборота, а также от климата [14]. Оценка содержания активной составляющей органического вещества почвы важна с экологической и агрономической точек зрения, так как активная фракция также в значительной степени определяет потенциальные возможности, продуктивность и устойчивость агросистем [14].

В наших исследованиях в качестве инертной составляющей органического вещества использовано содержание гумуса по методу Тюрина в модификации ЦИНАО [11], который контролируется в системе экологического мониторинга почв. Этот показатель характеризует преимущественно содержание гумифицированных соединений. По данным D. W. Anderson, гумифицированные соединения составляют более 80% от общего органического углерода [15], что позволяет считать содержание гумуса характеристикой инертной части органического вещества почвы. В качестве характеристики активной составляющей органического вещества почвы использовался углерод, экстрагируемый горячей водой, – C_{hwe} [12, 16].

В нашем эксперименте установлено, что систематическое применение разных систем удобрения привело также к дифференциации по содержанию растворимого в горячей воде органического вещества в дерново-подзолистой связносупесчаной почве (рис. 2). Азотные удобрения по сравнению с калийными в большей степени способствовали повышению содержания водорастворимой фракции органического вещества в дерново-подзолистой связносупесчаной почве.

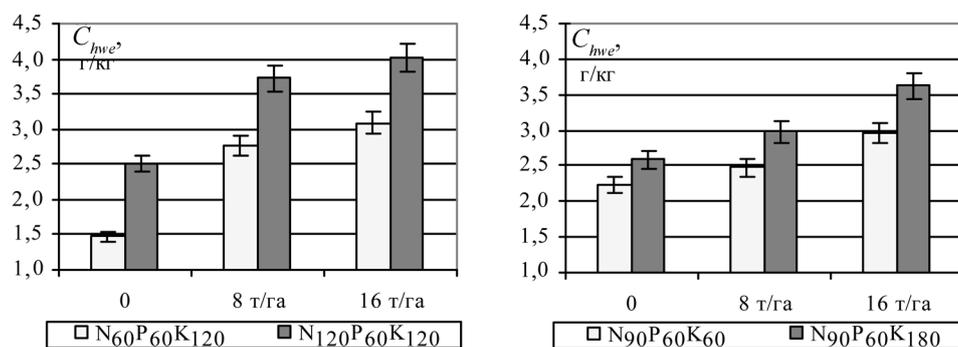


Рис. 2. Влияние удобрений на содержание C_{hwe} в дерново-подзолистой связносупесчаной почве, КСУП «Стреличево», 2006–2008 гг.

Анализ трехлетних данных по активности оксидаз (2006–2008 гг.) показал, что уровни активности пероксидазы и полифенолоксидазы хорошо отражали изменения содержания гумуса в почве. В течение трех лет исследований отмечали следующие закономерности: самый низкий в опыте уровень активности окислительных ферментов (пероксидаза на уровне 16–18 мг хинона на 1 кг почвы и полифенолоксидаза на уровне 20–22 мг хинона на 1 кг почвы) регистрировали на блоке без внесения органических удобрений, что указывает на невысокую интенсивность гумификации растительных лигнинов и соответствует самому низкому в опыте содержанию гумуса в почве (рис. 3, 4). Применение органоминеральной системы с внесением 8 т/га навоза привело к повышению интенсивности гумификации и обеспечивало средний уровень активности почвенных оксидаз (пероксидаза – 18–20 ед., полифенолоксидаза – 22–25 ед.), что сопровождалось сохранением близкого к исходному уровню содержания гумуса. Аккумуляция гумуса обеспечивалась за счет применения органоминеральной системы удобрения с 16 т/га навоза, при этом получены наиболее высокие в опыте показатели активности оксидаз (пероксидаза – 21–24 ед., полифенолоксидаза – 25–28 ед.) (см. рис. 3, 4).

Известно, что полифенолоксидазы и пероксидазы катализируют процессы окисления ароматических соединений и их производных до хинонов, которые в соответствующих условиях вступают в реакции конденсации с аминокислотами и пептидами с образованием первичных молекул

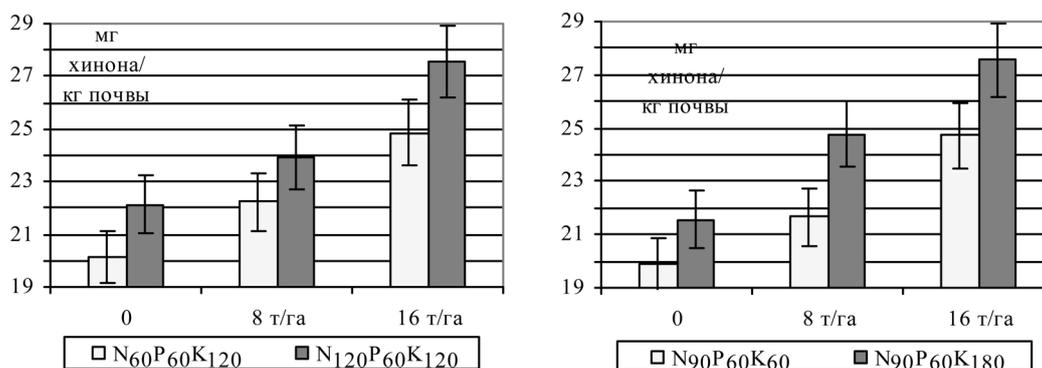


Рис. 3. Влияние удобрений на полифенолоксидазную активность дерново-подзолистой связносупесчаной почвы, КСУП «Стреличево», 2006–2008 гг.

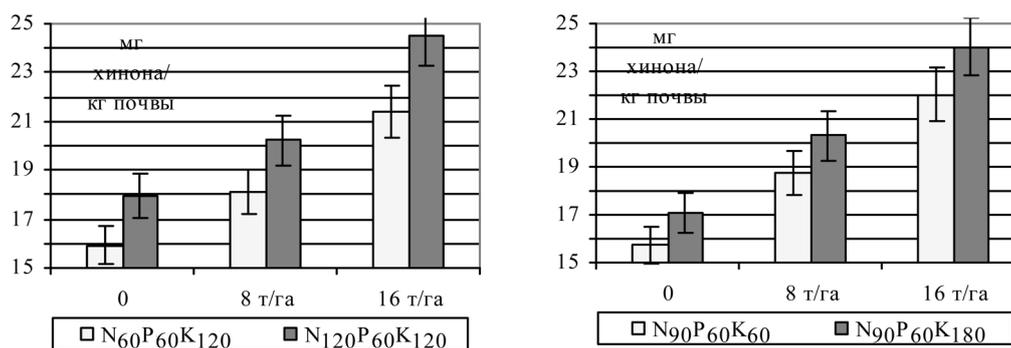


Рис. 4. Влияние удобрений на пероксидазную активность дерново-подзолистой связносупесчаной почвы, КСУП «Стреличево», 2006–2008 гг.

гуминовых кислот [8–10]. В почвах основными субстратами оксидаз являются растительные лигнины. Наряду с белками лигнины являются основными поставщиками структурных единиц для гумификации [8], что в значительной мере определяет значимость активности почвенных оксидаз в качестве критериев биологического состояния почвы.

Полифенолоксидазы осуществляют процессы окисления с помощью кислорода воздуха, пероксидазы – за счет кислорода перекиси водорода, образующейся в почве за счет жизнедеятельности микроорганизмов, а также действия оксидаз. 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 [9, 10]. Так как лигнины представляют один из наиболее важных источников углеродсодержащих соединений, то полифенолоксидазная и пероксидазная активности могут служить одним из биохимических индикаторов круговорота углерода в почве.

Анализ трехлетних данных показывает значительное сходство варьирования показателей пероксидазной и полифенолоксидазной активности как в зависимости от содержания органического вещества в почве, так и от уровня внесения минеральных удобрений. Активность оксидаз более существенно связана с уровнем внесения органических удобрений и в меньшей степени – с уровнем применения минеральных удобрений (см. рис. 3, 4). Учитывая значительное сходство варьирования показателей активности оксидаз по уровням окультуренности дерново-подзолистой супесчаной почвы, можно ограничиться определением одного параметра, наиболее тесно коррелирующего с содержанием гумуса в почве.

В задачи наших исследований входила количественная оценка взаимосвязи активности оксидаз, играющих ключевую роль в цикле углерода, с содержанием гумуса и водорастворимого органического вещества в почве.

По данным корреляционно-регрессионного анализа установлена тесная взаимосвязь активности оксидаз с содержанием гумуса в почве, характеризующим преимущественно инертную

часть органического вещества. На протяжении трех лет исследований наибольшая теснота связи с гумусом установлена для пероксидазной активности почвы. Коэффициенты детерминации по годам исследований составили: $R^2 = 0,94$ (2006 г.), $R^2 = 0,81$ (2007 г.), $R^2 = 0,93$ (2008 г.) (рис. 5).

Для показателей полифенолоксидазной активности также в течение трех лет исследований отмечали корреляцию с содержанием гумуса в почве. Теснота связи полифенолоксидазной активности с инертной частью органического вещества характеризовалась следующими коэффициентами детерминации: $R^2 = 0,74$ (2006 г.), $R^2 = 0,62$ (2007 г.), $R^2 = 0,63$ (2008 г.) (рис. 6).

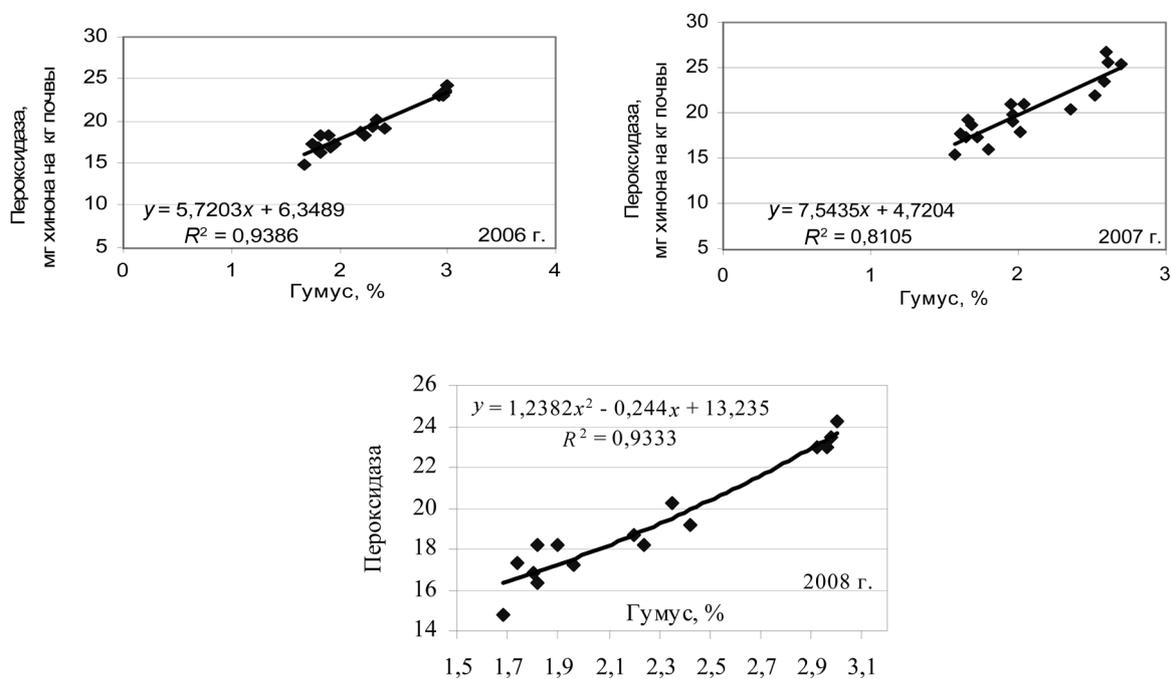


Рис. 5. Взаимосвязь пероксидазной активности с содержанием гумуса в дерново-подзолистой связносупесчаной почве, 2006–2008 гг.

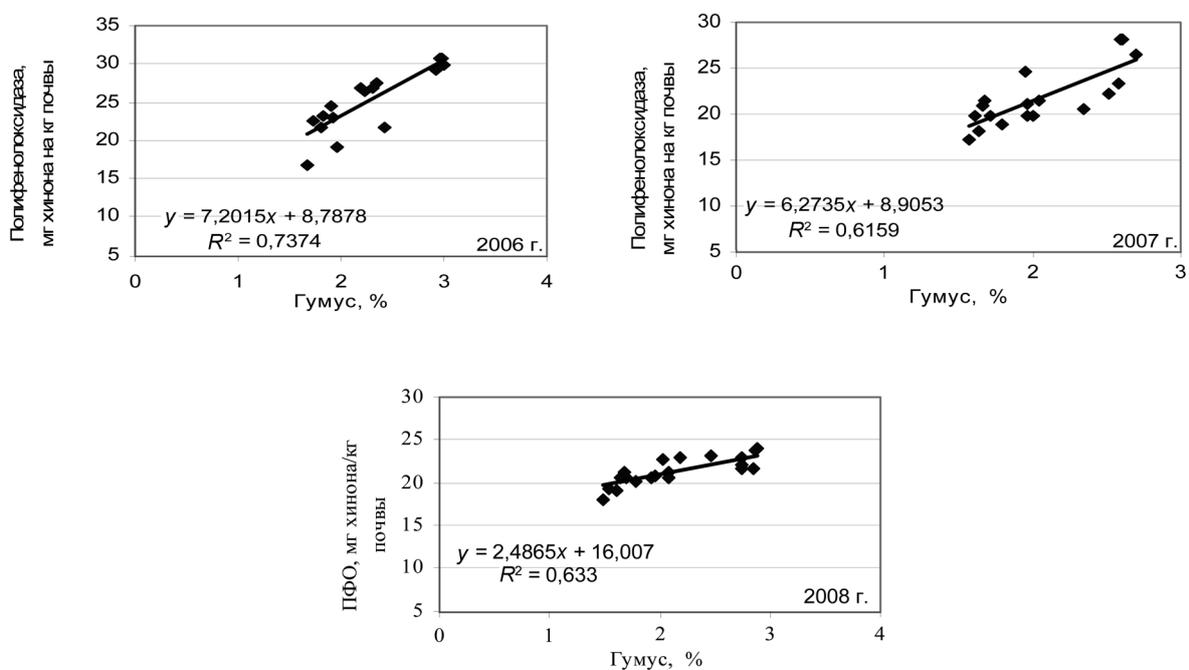


Рис. 6. Взаимосвязь полифенолоксидазной активности с содержанием гумуса в дерново-подзолистой связносупесчаной почве, 2006–2008 гг.

Проведена количественная оценка взаимосвязи активности оксидаз с активной составляющей органического вещества почвы за три года исследований. По данным корреляционно-регрессионного анализа как пероксидазная, так и полифенолоксидазная активность были значительно слабее связаны с содержанием водорастворимого органического углерода (C_{hwe}) в почве. Величины коэффициентов детерминации для пероксидазы по годам исследований составили 0,43, 0,35, 0,45 (рис. 7), для полифенолоксидазы – 0,47, 0,55, 0,35 (рис. 8).

Экспериментальные данные указывают на тесную связь активности почвенных оксидаз с гумифицированной частью органического вещества и более слабую степень связи с его водорастворимой фракцией. Установленные закономерности позволяют использовать пероксидазную и/или полифенолоксидазную активность почвы для количественной характеристики интенсивности процессов гумификации лигнинов растительных остатков и накопления гумуса в почве.

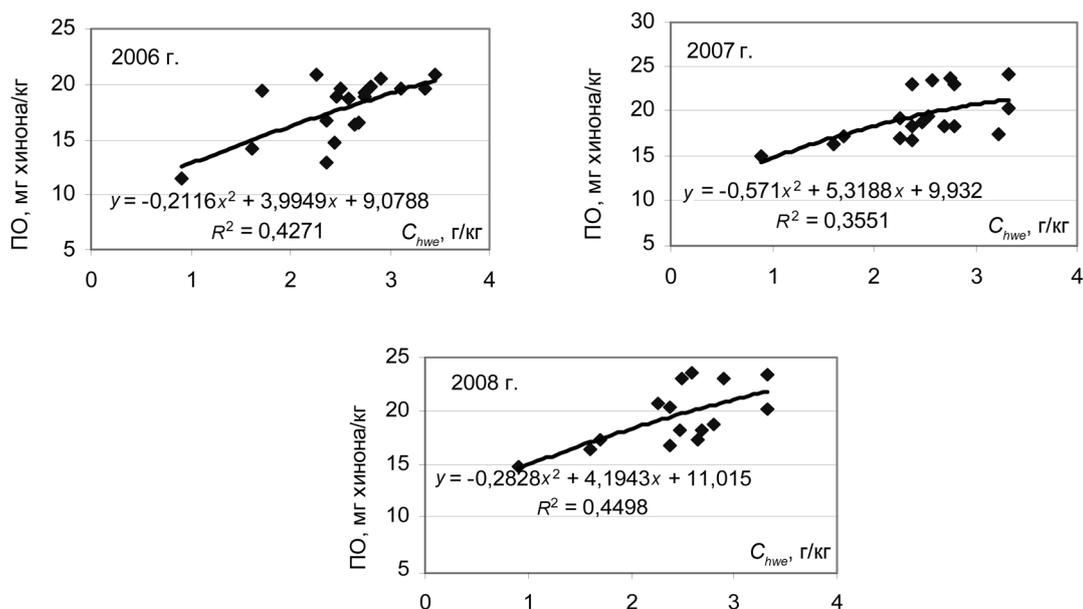


Рис. 7. Взаимосвязь пероксидазной активности (ПО) с содержанием C_{hwe} в дерново-подзолистой связносупесчаной почве, 2006–2008 гг.

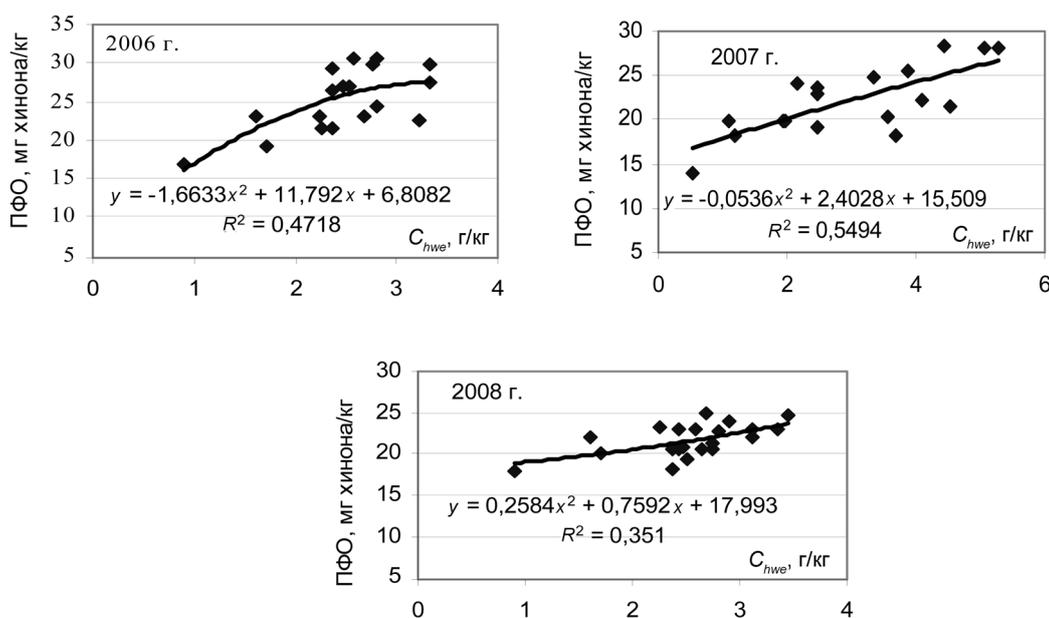


Рис. 8. Взаимосвязь полифенолоксидазной активности (ПФО) с содержанием C_{hwe} в дерново-подзолистой связносупесчаной почве, 2006–2008 гг.

Относительно невысокая вариабельность полифенолоксидазной и пероксидазной активности по годам исследований (см. рис. 3, 4) подтверждает, что ферментативная активность является значительно более стабильной характеристикой биологического состояния почвы по сравнению с микробиологическими показателями общей численности и отдельных физиологических групп микроорганизмов. При неблагоприятных условиях наблюдаются резкие колебания численности микроорганизмов в почве, что значительно снижает информативность микробиологических показателей и является одной из причин их ограниченного применения для диагностических целей. В этом отношении энзиматические тесты имеют очевидные преимущества, так как внеклеточные ферменты, стабилизированные за счет связи с минеральными и органическими компонентами почвы, длительно сохраняют свою активность, в том числе и в неблагоприятных условиях [17].

Таким образом, показатели пероксидазной и полифенолоксидазной активности относятся к более стабильным характеристикам биологического состояния почвы, тесно коррелируют с содержанием инертной части органического вещества и мало варьируют по годам исследований, что обеспечивает преимущества при их практическом использовании. Важно отметить, что установленные различия в степени связи с инертной и активной фракциями органического вещества почвы дают возможность более дифференцированно использовать активность почвенных оксидаз при оценке биологического статуса почв. Пероксидазная и полифенолоксидазная активности количественно отражают изменения содержания инертной фракции органического вещества и могут использоваться в качестве показателей интенсивности гумификации лигнинов растительных остатков, т. е. свежего органического вещества, поступающего в почву. Наличие таких показателей необходимо, в том числе для решения экологических задач. Известно, что высокий уровень антропогенной нагрузки, связанной с применением агрохимикатов и механической обработкой почвы, может оказывать негативное влияние на почвенные микробиологические процессы, в особенности на интенсивность и направленность биохимической трансформации свежего органического вещества и его гумификацию. При нерегламентированной антропогенной нагрузке может развиваться преимущественное биологическое сгорание свежего органического вещества, а процессы гумификации резко замедляются. Это было подтверждено в серии длительных модельных экспериментов по оценке коэффициентов гумификации (K_f) внесенных в почвы меченых по ^{14}C растительных остатков разных сельскохозяйственных культур при их полном разложении. Коэффициент гумификации представляет собой количественную меру (%) включения углерода растительных остатков в гумусовые вещества. В разных почвенных условиях было показано, что высокий уровень агрогенной нагрузки приводит к снижению коэффициентов гумификации свежего органического вещества в среднем в 1,5–2 раза по сравнению с экстенсивным земледелием [18], что является одной из причин развития процессов деградации гумуса и плодородия почв. Определение пероксидазной и полифенолоксидазной активности позволяет быстро и без постановки специальных экспериментов получить важную в экологическом отношении информацию об интенсивности гумификации поступающих в почву растительных остатков.

Заключение. Результаты исследований подтверждают значимость ферментативной активности в качестве диагностических показателей биологического состояния и окультуренности почвы. Установлена тесная взаимосвязь активности почвенных оксидаз с содержанием инертной части органического вещества, для пероксидазы значения коэффициентов детерминации R^2 составили 0,81–0,94, для полифенолоксидазы – 0,62–0,74 ($P \leq 0,05$). Активность оксидаз значительно слабее коррелировала с содержанием активной фракции органического вещества в почве, R^2 для пероксидазы составили 0,35–0,45, для полифенолоксидазы – 0,35–0,55 ($P \leq 0,05$). Установленные закономерности позволяют более дифференцированно использовать активность почвенных оксидаз – в качестве характеристик инертной (гумифицированной) фракции органического вещества и показателей скорости гумификации растительных остатков. Определение активности почвенных оксидаз дает возможность оценивать влияние системы удобрения на скорость гумификации растительных остатков и контролировать уровень нагрузки для своевременного предупреждения негативных экологических последствий.

Литература

1. З в я г и н ц е в, Д. Г. Почва и микроорганизмы / Д. Г. Звягинцев. – М.: МГУ, 1987. – 256 с.
2. К а р я г и н а, Л. А. Микробиологические основы повышения плодородия почв / Л. А. Карягина. – Минск: Наука и техника, 1983. – 182 с.
3. К у п р е в и ч, В. Ф. Почвенная энзимология / В. Ф. Купревич, Т. А. Щербакова. – Минск: Наука и техника, 1966. – 275 с.
4. Щ е р б а к о в а, Т. А. Ферментативная активность почв и трансформация органического вещества / Т. А. Щербакова. – Минск: Наука и техника, 1983. – 221 с.
5. Enzymes / M. A. Tabatabai [et al.] // Methods of soil analysis. Part 2. Microbiological and biochemical properties // Soil Science Society of America, Madison. – 1994. – N 5. – P. 775–833.
6. Application of soil enzyme activity test kit in a field experiment / M. Vepsäläinen [et al.] // Soil Biol. Biochem. – 2001. – Vol. 33. – P. 1665–1672.
7. B a n d i c k, A. K. Field management effect on soil enzyme activities / A. K. Bandick, R. P. Dick // Soil Biol. Biochem. – 1999. – Vol. 31. – N 11. – P. 1471–1479.
8. F l a i g, W. Zur Umwandlung von Lignin in Humusstoffe / W. Flaig // Freiburger Forschungen. – 1962. – N 254. – P. 53–55.
9. К о н о н о в а, М. М. Органическое вещество почвы / М. М. Кононова. – М.: АН СССР, 1963. – 315 с.
10. А л е к с а н д р о в а, Л. Н. Органическое вещество почвы и процессы его трансформации / Л. Н. Александрова. – Л., 1980. – С. 122–133.
11. Определение гумуса по методу Тюрина в модификации ЦИНАО: ГОСТ 26213–84: утв. Постановлением Комитета стандартизации и метрологии СССР № 2389 от 29.12.1991. – 6 с.
12. S c h u l z, E. Characterization of the decomposable part of soil organic matter (SOM) and transformation processes by hot water extraction / E. Schulz, M. Korschens // Eurasian Soil Science. – 1998. – Vol. 31. – N 7. – P. 809–813.
13. К а р а г и н а, Л. А. Вызначэнне актыўнасці поліфенолаксідазы і пераксідазы ў глебе / Л. А. Карагіна, Н. А. Михайлоўская // Вес. Акад. навук БССР. Сер. с.-г. навук. – 1986. – № 2. – С. 40–41.
14. K u b a t, J. Soil organic matter and its inert and decomposable part in arable soils in the Czech Republic / J. Kubat, O. Mikanova, D. Cerhanova // Почвоведение и агрохимия. – 2006. – № 1(36). – С. 40–49.
15. A n d e r s o n, D. W. Processes of humus formation and transformation in soil of the Canadian Great Plains / D. W. Anderson // J. Soil Sci. – 1979. – Vol. 30. – P. 77–84.
16. Elucidation of the source and turnover of water soluble and microbial biomass carbon in agricultural soils / E. G. Gregorich [et al.] // Soil Biol. Biochem. – 2000. – Vol. 32. – P. 581–587.
17. Т у е в, Н. А. Микробиологические процессы гумусообразования / Н. А. Туев. – М.: ВО Агропромиздат, 1989. – 237 с.
18. Т у е в, Н. А. Экологические проблемы интенсивного земледелия / Н. А. Туев // Вестн. с.-х. науки. – 1988. – № 6. – С. 91–95.

N. MIKHAILOUSKAYA, O. MIKANOVA

CORRELATION OF OXIDASES ACTIVITIES WITH THE CONTENT OF ORGANIC MATTER OF DIFFERENT FRACTIONS IN SOD PODZOL LOAMY SAND SOIL

Summary

Biological investigations were conducted on sod podzol loamy sand soil during long-term field experiment. Three levels of soil fertility status were formed during the experiment as a result of application of different fertilizer systems. Quantitative estimation of correlations of oxidase activities with the content of different fractions of soil organic matter (SOM) is presented. A close correlation of oxidase activities with the content of inert fraction of SOM is identified. Determination coefficients R^2 are as follows: 0.81–0.94 for peroxidase and 0.62–0.74 ($P \leq 0.05$) for polyphenoloxidase. It is established that oxidase activities have a weaker correlation with the content of active fraction of SOM: R^2 for peroxidase is 0.35–0.45, for polyphenoloxidase – 0.35–0.55 ($P \leq 0.05$). The differences in correlation with different fractions of SOM enable to use the activity of soil oxidases more differentially while estimating soil biological status – as quantitative characteristics of the intensity of plant lignin humification.