

**ДИНАМИКА ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ЧЕРНОЗЕМА ОБЫКНОВЕННОГО В УСЛОВИЯХ ПОЛЕВОГО СТАЦИОНАРНОГО ОПЫТА ФЕДЕРАЛЬНОГО ПОЛИГОНА «КАМЕННАЯ СТЕПЬ»****А. А. Воронин, Н. А. Протасова, Н. С. Беспалова***Воронежский государственный университет,  
НИИСХ ЦЧП им. В.В. Докучаева (Каменная степь)*

Для оценки действия длительного внесения минеральных удобрений и мелиоранта на состояние чернозема обыкновенного, в динамике определялась ферментативная активность почвы на стационарном опыте в Каменной степи. Установлено, что основные изменения ферментативной активности происходят в слое почвы 0—20 см, с глубиной ферментативная активность уменьшается. Наиболее оптимальные условия для получения урожая и сохранения почвенного плодородия при возделывании проса складываются на повышенном фоне с ежегодным внесением  $N_{40}P_{40}K_{40}$ . Из рассмотренных в работе показателей ферментативной активности уреазная активность чернозема обыкновенного является наиболее чувствительным биохимическим показателем влияния длительного воздействия удобрений. Наименее чувствительными были инвертазная и каталазная активности. Поэтому показатели ферментативной активности можно рекомендовать к использованию в качестве диагностического показателя функционально-экологического состояния почв.

**ВВЕДЕНИЕ**

Среди факторов, влияющих на продуктивность и качество урожая, главную роль играют удобрения [2, 11]. В настоящее время в Центрально-Черноземной зоне достаточно полно изучены вопросы, касающиеся доз удобрений под отдельные сельскохозяйственные культуры [8, 13, 14]. Многие исследователи считают, что при интенсивном сельскохозяйственном использовании почвы должны возрастать объемы применения кальцийсодержащих мелиорантов на черноземных почвах [7, 9]. Хозяйственная деятельность человека в первую очередь оказывает воздействие на биологические факторы почвообразования [15, 16], поэтому использование биохимических методов определения биологической активности в качестве диагностического показателя функционально-экологического состояния почв является наиболее эффективным и перспективным [1, 4, 6, 12].

В нашей работе для оценки действия длительного внесения минеральных удобрений и мелиоранта на состояние чернозема обыкновенного определялась ферментативная активность почвы. Инвертазная активность является показателем интенсивности разложения органического вещества в почве. С уреазной активностью связана аммонификация мочевины и переход азота в доступ-

ную для растений форму. В нейтральных и щелочных почвах высокая уреазная активность имеет отрицательное значение, способствуя газообменным потерям азота мочевины [16]. Каталаза относится к классу окислительно-восстановительных ферментов. Роль каталазы в почве заключается в том, что она разрушает ядовитую для растений перекись водорода на воду и молекулярный кислород. Перекись водорода образуется в процессе дыхания растений и при биохимических реакциях окисления органического вещества. В настоящее время показатели инвертазной, уреазной и каталазной активности используются при диагностике и классификации почв, при оценке степени окультуренности, эродированности и загрязненности почв, степени воздействия удобрений [3, 10, 5, 17].

**ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

В период 2000—2002 гг. были отобраны почвенным буром образцы чернозема обыкновенного с глубины 0—20, 20—30 и 40—50 см на территории стационарного опыта, заложенного отделом агрохимии НИИСХ ЦЧП им. В.В. Докучаева. В основу опыта положен десятипольный севооборот со следующим чередованием культур: горох, озимая пшеница, сахарная свекла, ячмень, кукуруза на зерно, горох, тритикале, просо, ячмень, кукуруза на зерно. На каждом опытном поле в четырех повторностях сформированы три уровня обеспечен-

ности почвы элементами минерального питания: естественный, повышенный, высокий. На естественном уровне обеспеченности почвы элементами минерального питания удобрения не вносились. Для создания повышенного уровня обеспеченности почвы элементами питания было внесено в запас с минеральными удобрениями 200 кг/га азота, 300 кг/га фосфора и 300 кг/га калия, а для создания высокого уровня — 300 кг/га азота, 600 кг/га фосфора и 600 кг/га калия. В качестве минеральных удобрений, внесенных в пределах каждого уровня под просо в дозе  $N_{40}P_{40}K_{40}$ , были следующие виды: суперфосфат двойной гранулированный, аммиачная селитра и 40 % калийная соль. На вариантах с аналогичной схемой опыта был внесен фосфогипс из расчета 3 т/га. Почва опытного участка — чернозем обыкновенный среднегумусный среднетяжелосуглинистый на карбонатном лессовидном суглинке.

Определение активности каталазы проводили газометрическим методом, уреазы — колориметрическим методом А.Ш. Галстяна в модификации Ф.Х. Хазиева, инвертазы — методом А.Ш. Галстяна [20]. В почвенных образцах определяли содержание гумуса — по Тюрину в модификации Симакова, щелочно гидролизуемого азота — по Корнфилду, подвижного фосфора и обменного калия — по Чирикову, рН водной вытяжки — потенциометрически, гидролитическую кислотность — по Каппену, обменные катионы кальция и магния — по Гедройцу [19]. Результаты наших исследований были статистически обработаны по Доспехову [21].

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Среднее содержание гумуса в слое почвы опытного участка 0—20 см составляет 6,8 %, сумма поглощенных оснований  $Ca^{2+}+Mg^{2+}$  — 36,3 мг-экв., гидролитическая кислотность — 1,7 мг-экв. на 100 г почвы,  $pH_{вод}$  — 7,1, степень насыщенности основаниями — 96 %, содержание щелочногидролизуемого азота по Корнфилду — 28,5 мг/100 г, подвижного фосфора по Чирикову — 14,0 мг/100 г, а обменного калия — 20,4 мг/100 г почвы. Почва опытного участка хорошо обеспечена элементами питания.

Основные изменения ферментативной активности происходят в слое почвы 0—20 см, с глубиной ферментативная активность уменьшается (таблица 1). Инвертазная активность чернозема обыкновенного уменьшается от 20,5 в слое 0—20 см до 9,5 мг глюкозы на 1 г почвы за 24 часа в

слое 40—50 см, уреазная активность соответственно уменьшается от 0,89 до 0,29 мг  $NH_3$  на 1 г почвы за 24 часа, каталазная активность — от 3,30 до 0,76 мл  $O_2$  за 1 мин. на 1 г почвы. Можно полагать, что уреазы иммобилизуются на месте своего образования (поступления) и, очевидно, в условиях промывного водного режима молекулы уреазы не передвигаются по почвенному профилю.

Между содержанием гумуса и инвертазной, уреазной, каталазной активностью чернозема обыкновенного установлена тесная корреляция. Коэффициент корреляции (r) соответственно равен 0,96; 0,93; 0,99, а между содержанием щелочногидролизуемого азота и активностью этих ферментов — соответственно 0,95; 0,88; 0,93. Косвенная роль почвенного гумуса в создании ферментативной активности почвы проявляется путем воздействия его на жизнедеятельность почвенных организмов и растений. С одной стороны, в гумусе накоплены основные запасы питательных веществ и биогенных зольных элементов, с другой стороны, в значительной степени гумусом определяются такие важные физико-химические и водно-физические свойства почвы, а также структурность, буферность, емкость обмена, влагоемкость, водопроницаемость и т.д. Эти свойства почвы, определяя пищевой, водный, тепловой и воздушный режимы, обуславливают интенсивность жизнедеятельности и физиологическое состояние микроорганизмов и растений и этим самым поступление ферментов в почву. Прямое действие почвенного гумуса на ферментативную активность основано на связывании молекул ферментов с гумусовыми кислотами в почве. При этом может проявиться и ингибирующий эффект гуминовых кислот на активность ферментов [25, 26]. Однако известно, что белки, связанные с гуминовыми кислотами, становятся устойчивыми против денатурирующих и ингибирующих факторов. Следовательно, ферменты, связываясь с гумусовыми кислотами в почве, несмотря на снижение активности, будут защищены от действия на них микроорганизмов и других разрушающих факторов.

В последних исследованиях различных авторов получены убедительные доказательства преимущественного накопления ферментов в органической части почвы путем формирования фермент-гумусовых и фермент-углеводных комплексов в процессе образования гумуса и связывания ферментов с ранее образовавшимися гумусовыми веществами [25, 27, 28, 29]. Аналогичную закономерность ферментативная активность, особенно

Средняя ферментативная активность чернозема обыкновенного в условиях полевого стационарного опыта в Каменной степи

Фон	Фосфогипс	Доза удобрений	Вариант	Глубина, см	Уреаза, мг NH <sub>3</sub> на 1 г почвы за 24 часа	Инвертаза, мг глюкозы на 1 г почвы за 24 часа	Каталаза, мл O <sub>2</sub> за 1 мин на 1 г почвы
Естественный	0	0	А1	0—20	0,76	19,4	3,26
				20—30	0,49	17,7	2,44
				40—50	0,29	9,0	0,82
	3 т/га	0	В1	0—20	0,79	18,6	3,28
				20—30	0,50	16,9	2,45
				40—50	0,29	8,6	0,86
	0	N <sub>40</sub> P <sub>40</sub> K <sub>40</sub>	А4	0—20	0,97*	19,6	3,33
				20—30	0,63	17,9	2,44
				40—50	0,27	9,1	0,78
	3 т/га	N <sub>40</sub> P <sub>40</sub> K <sub>40</sub>	В4	0—20	0,94*	20,2*	3,29
				20—30	0,60	18,4	2,51
				40—50	0,29	9,3	0,71
Повышенный	0	0	А5	0—20	0,87	20,5	3,22
				20—30	0,56	18,7	2,53
				40—50	0,28	9,5	0,83
	3 т/га	0	В5	0—20	0,87	19,4	3,25
				20—30	0,57	17,7	2,28
				40—50	0,32	9,0	0,54
	0	N <sub>40</sub> P <sub>40</sub> K <sub>40</sub>	А8	0—20	0,99	20,9	3,22
				20—30	0,61	19,1	2,63
				40—50	0,29	9,7	0,76
	3 т/га	N <sub>40</sub> P <sub>40</sub> K <sub>40</sub>	В8	0—20	0,99	19,4*	3,32
				20—30	0,60	17,7	2,47
				40—50	0,29	8,9	0,66
Высокий	0	0	А9	0—20	0,93*	20,8*	3,37
				20—30	0,58	19,0	2,50
				40—50	0,29	9,6	0,62
	3 т/га	0	В9	0—20	0,93*	19,5*	3,35
				20—30	0,58	17,8	2,47
				40—50	0,31	9,0	0,58
	0	N <sub>40</sub> P <sub>40</sub> K <sub>40</sub>	А12	0—20	0,81*	21,9	3,37
				20—30	0,50	20,1	2,60
				40—50	0,30	10,2	0,73
	3 т/га	N <sub>40</sub> P <sub>40</sub> K <sub>40</sub>	В12	0—20	0,80*	20,8*	3,36
				20—30	0,49	18,9	2,62
				40—50	0,28	9,6	0,74
					HCP <sub>05</sub> =0,11	HCP <sub>05</sub> = 1,1	HCP <sub>05</sub> = 0,15

Примечание: \* — отмечены существенные различия вариантов при HCP<sub>05</sub>

активность протеазы и уреазы, имеет с содержанием азота в почвах. Зависимость ферментативной активности почв от содержания общего азота связана с тем, что, во-первых, азот, накопленный в органическом веществе, как основной элемент плодородия определяет поступление ферментов в почву, во-вторых, азот является составной частью белковых молекул, в том числе и ферментов, накопленных в почве [30, 31, 32, 33]. Тесная корреляционная связь между устойчивыми агрохимическими показателями черноземов и показателями ферментативной активности отмечена также в работах [15, 17, 18] и доказывает возможность использования последних для оценки изменения плодородия почвы в результате длительного применения удобрений на разных фонах при возделывании проса.

Внесение минеральных удобрений в запас при создании высокого фона на черноземе обыкновенном вызвало увеличение активности инвертазы на 0,90—1,42 мг глюкозы на 1 г почвы за 24 часа и увеличение уреазной активности на 0,14—0,16 мг  $\text{NH}_3$  на 1 г почвы за 24 часа по сравнению с естественным фоном.

Ежегодное внесение дозы  $\text{N}_{40}\text{P}_{40}\text{K}_{40}$  усиливает уреазную активность естественного фона на 0,15—0,21 мг  $\text{NH}_3$  на 1 г почвы за 24 часа. Положительное действие минеральных удобрений на активность ферментов азотного обмена связано с тем, что при их внесении увеличивается численность аммонифицирующих организмов. При внесении удобрений активизируются и другие биохимические процессы: нитрификационная способность, накопление аминокислот на полотне и интенсивность распада целлюлозы в почве [24]. В соответствии с изменениями биохимической и микробиологической активности азотного метаболизма при внесении полного минерального удобрения с разными дозами **НРК происходит и изменение азотного режима почвы.** При этом возрастает количество минеральных форм азота, особенно в начале вегетационного периода. Немного увеличивается содержание фракций легкогидролизуемых соединений за счет трудногидролизуемых фракций органического азота [16]. Однако внесение дозы  $\text{N}_{40}\text{P}_{40}\text{K}_{40}$  применяемых удобрений на высоком фоне, созданным путем внесения в запас дозы  $\text{N}_{300}\text{P}_{600}\text{K}_{600}$ , приводит к ингибированию активности уреазы на 0,12—0,14 мг  $\text{NH}_3$  на 1 г почвы за 24 часа по сравнению с вариантами без внесения удобрений на этом фоне. Это, вероятно всего, связано с подкислени-

ем чернозема обыкновенного в результате длительного систематического применения минеральных удобрений в дозе  $\text{N}_{40}\text{P}_{40}\text{K}_{40}$  на высоком фоне, а также с повышением содержания в почве мышьяка (As), входящего в состав суперфосфата, который ингибирует активность ферментов.

Ежегодное внесение дозы  $\text{N}_{40}\text{P}_{40}\text{K}_{40}$  усиливает инвертазную активность почвы естественного фона на 0,26—1,58 и высокого — на 1,12—1,25 мг глюкозы на 1 г почвы за 24 часа. Эти данные свидетельствуют об усилении процесса минерализации органического вещества в почве при внесении минеральных удобрений. Особенно инвертазная активность чернозема обыкновенного была значительно повышена на высоком фоне при внесении ежегодной дозы  $\text{N}_{40}\text{P}_{40}\text{K}_{40}$ . Это обуславливается ростом численности целлюлозоразлагающих микроорганизмов, растворением и переходом в подвижное состояние части органического вещества почвы, о чем свидетельствует повышение содержания щелочногидролизуемого азота в зоне высокой концентрации удобрений. Увеличение количества подвижных органических веществ стимулирует новообразование и выделение ферментов микроорганизмами и корнями [16]. Аналогичные данные о влиянии минеральных удобрений на инвертазную активность почвы были получены в ранее проведенных исследованиях [17, 15]. В росте ферментативной активности значение имело и повышение активности корневой системы растений под влиянием удобрений [23].

Почва на вариантах с фосфогипсом при внесении минеральных удобрений проявляет меньшую на 1,22—1,55 мг глюкозы на 1 г почвы за 24 часа инвертазную активность на повышенном и высоком фоне, что свидетельствует о меньшей степени проявления процессов минерализации в почве на этих вариантах. Фосфогипс не оказывает значимого воздействия на уреазную и каталазную активность чернозема обыкновенного.

Внесение минеральных удобрений на всех уровнях обеспеченности почвы элементами минерального питания не оказало существенного влияния на каталазную активность почвы. Фосфогипс также не оказал влияния на активность этого фермента в почве. Средняя величина каталазной активности чернозема обыкновенного на всех исследуемых вариантах в слое 0—30 см составила 2,90 мл  $\text{O}_2$  за 1 мин. на 1 г почвы. По мнению А.Ш. Галстяна [1], такая реакция каталазы на удобрения обуславливается блокированием протетической группы этого фермента анионами удобрений. Проведенные ранее

исследования влияния удобрений на каталазную активность почв подтверждают, что этот показатель не характеризует действие удобрений на плодородие почв, хотя между общим плодородием почвы и каталазной активностью ее обнаруживается корреляция [1, 17, 22].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, при длительном систематическом внесении минеральных удобрений на черноземе обыкновенном в первую очередь происходят изменения в интенсивности биохимических процессов, в то время как основные агрохимические показатели относительно стабильны. На основании данных ферментативной активности чернозема обыкновенного можно утверждать, что наиболее оптимальные условия для возделывания проса складываются на повышенном фоне с ежегодным внесением  $N_{40} P_{40} K_{40}$ , а также на аналогичном варианте с фосфогипсом. Данное сочетание минеральных удобрений является наиболее оптимальным для получения урожая и для сохранения почвенного плодородия. Из рассмотренных в работе показателей ферментативной активности уреазная активность чернозема обыкновенного является наиболее чувствительным биохимическим показателем влияния длительного воздействия удобрений. Наименее чувствительным были инвертазная и каталазная активности. Поэтому показатели ферментативной активности можно рекомендовать к использованию в качестве диагностического показателя функционально-экологического состояния почв.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Галстян А.Ш. Ферментативная активность почв Армении. — Ереван: Айстан, 1974. — 275 с.
2. Годунов И.Б. Влияние элементов питания на урожай и качество продукции при длительном применении удобрений // Сб. науч. тр. НИИСХ ЦЧП им. В.В. Докучаева. — 1978. — Т.15.
3. Григорян К.В. Оценка степени загрязненности почвы по активности почвенных ферментов / К.В. Григорян, А.Ш. Галстян // Методы и проблемы экотоксикологического моделирования и прогнозирования. — Пущино, 1979. — №9—11. — С. 164—165.
4. Звягинцев Д.Г., Асеева И.В., Бабьева И.П., Мирчинк Т.Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии. М. МГУ. 1980. 224 с.
5. Звягинцев Д.Г. Микробиологические и биохимические показатели загрязнения свинцом дерново-подзолистой почвы / Д.Г. Звягинцев и др. // Почвоведение. — 1997. — №9. — С. 1124—1131.
6. Звягинцев Д.Г. Почва и микроорганизмы. М. МГУ. 1987. 256 с.
7. Иванецкий В.В., Классен П.В., Новиков А.А. и др. Фосфогипс и его использование. — М., Химия, 1990.
8. Минеев В.Г. Влияние длительного применения удобрений на плодородие почвы и продуктивность севооборотов. — М.: Колос, 1980.
9. Мязин Н.Г., Парахневич Т.М. Эволюция, свойства и пути повышения плодородия чернозема выщелоченного опытной станции ВГАУ // Научные основы и пути рационального использования химических средств в современном земледелии / Сб. науч. тр. ВГАУ. — Воронеж, 1998.
10. Павлюкова Н.Ф., Долгова Л.Г. Индикация эдафотопов, загрязненных техногенными веществами, по активности ферментов / Н.Ф. Павлюкова, Л.Г. Долгова // Почвоведение. — 1993. — №1 — С.45—48.
11. Панников В.Д., Минеев В.Г. Почва, климат, удобрения и урожай. — М.: Агропромиздат, 1987.
12. Петрова В.И. Микрофлора почв Каменной степи // Преобразование природы в Каменной степи. М. 1970.
13. Пресняков Н.А., Гридяева Л.И., Дубавина Г.В. Влияние удобрений на урожай сельскохозяйственных культур в Центрально-Черноземной зоне // Сб. науч. тр. НИИСХ ЦЧП им. В.В. Докучаева. 1981.
14. Суоров Н.Г. Методические рекомендации по повышению плодородия почв Белгородской области. — Белгород: РИО Упрполиграфиздата, 1972.
15. Щербаков А.П., Девятова Т.А., Стахурлова Л. Д., Стороженко Н.В. Биодинамика черноземов Центрально Черноземной полосы // Антропогенная эволюция черноземов. — Воронеж: ВГУ, 2000. — С.120 — 145.
16. Хазиев Ф.Х. Системно-экологический анализ ферментативной активности почв. — М.: Наука, 1982. — 203 с.
17. Крамарева Т.Н. Ферментативная активность почв при различных антропогенных воздействиях: Диссерт. на соиск. уч. степ. к.б.н., Воронеж, ВГУ, 2003. — 120 с.
18. Верзилина Н.Д. Гумусное состояние и биологическая активность обыкновенного чернозема Каменной степи при различных способах использования: Диссерт. на соиск. уч. степ. к.б.н., Воронеж, ВГУ, 1989. — 221 с.
19. Аринушкина Е.А. Руководство по химическому анализу почв / Е.А. Аринушкина. — М.: МГУ, 1970. — 488 с.
20. Практикум по агрохимии / Под ред. В.Г. Минева. — М.: Изд-во МГУ, 1989. — 304 с.
21. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (С основами статистической обработки результатов исследований) — М.: Колос, 1979. — 416 с.
22. Varocchio A. L'attivita — catalisica del suolo come indice biopedologico di fertilita. — Agrochimica, 1958, vol. 2, № 3, p. 243—257.
23. Колесникова З.М., Полесько Ю.А., Бражник С. Н. Роль минеральных удобрений в мобилизации азота мощного слабощелочного чернозема. — Агрохимия, 1972, №7, С. 3—7.
24. Хазиев Ф.Х., Агафарова Я.М. Активность ферментов азотного обмена и динамика азота в черноземах.

— В кн.: Азотный фонд и биохимические свойства почв Башкирии. Уфа, 1977, с. 41—69.

25. *Ladd J.N., Butler J.H.A.* Humus-enzyme systems and synthetic, organic polymer enzyme analogs. — In: Soil biochemistry. N.Y.: Marcel Dekker, 1975, vol. 4, p. 143—194.

26. *Periera A.M.* The influence of Humic substances on the hydrolysis of the soil phytin. — Sci. agr. bohemosl., 1970, sv. 2, №3, s. 187—194.

27. *Щербакова Т.А.* Почвенные ферменты, их выделение, свойства и связь с компонентами почвы. — Почвоведение, 1980, №5, с. 102—113.

28. *Burns R.G., Pukite A.H., McLaren A.D.* Concerning the location and persistence of soil urease. — Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 1972, vol. 36, №2, p. 308—311.

29. *McLaren A.D., Pukite A.H., Barshad I.* Isolation of humus with enzymatic activity from soil. — Soil Sci., 1975, vol. 119, №2, p.178—180.

30. *Клевенская И.П., Наплекова Н.Н.* Использование микробиологических показателей для оценки свойств почв. — В кн.: Проблемы Сибирского почвоведения. Новосибирск: Наука, 1977, с. 175—186.

31. *Мусеева В.К.* О связи активности ферментов, участвующих в превращении органических соединений азота с содержанием гумуса в почве. — Бюл. ВНИИ с.-х. микробиол., 1974, №16, вып. 3, с. 19—21.

32. *Щербаков А.П.* Ферментативная активность и азотный режим. — В кн.: Тез. докл. V делегатского съезда ВОП. Минск, 1977, вып. 2, с. 236—237.

33. *Verstraeten L.M.J.* Infracation between urease activity and soil characteristics. — Agrochimica, 1978, vol. 22, №5/6, p. 455—464.

34. *Cerna S.* Vliv organických Latek a pomeru C:N dehydrogenazon aktivitu v pude. — Rostl. výroba, 1973, rocz. 19, s.9, s. 923—930.