

УДК 631.461:631.445.25:631.67

АКТИВНОСТЬ ПОЛИФЕНОЛОКСИДАЗЫ И ПЕРОКСИДАЗЫ В СЕРОЙ ЛЕСНОЙ ПОЧВЕ ПРИ РАЗЛОЖЕНИИ РАСТИТЕЛЬНЫХ ОСТАТКОВ В РЕЖИМЕ ЗАТОПЛЕНИЕ — ВЫСУШИВАНИЕ

В. Н. ВОИНОВА, Л. Ф. ТАРАРИНА, В. Т. ЕМЦЕВ

(Кафедра микробиологии)

Важную функцию в превращении органических веществ почвы выполняют ферменты класса оксидоредуктаз. В частности, в биохимических процессах гумусообразования ведущая роль отводится окислительным ферментам — полифенолоксидазе и пероксидазе [2, 10, 13, 14, 21].

Установлено [8, 11], что источником оксидаз (полифенолоксидазы и пероксидазы) в почве являются высшие растения, микроорганизмы и грибы. Полифенолоксидаза и пероксидаза, выделенные целлюлозоразлагающими миксобактериями, ответственны за полимеризацию органических веществ [9, 23], а полифенолоксидазы грибов, разрушающих лигнин, — за расщепление ароматических соединений [23]. Известно также [14], что некоторые микроорганизмы почвы способны образовывать темноокрашенные гумусоподобные вещества благодаря присутствию в их клетках полифенолоксидазы и пероксидазы.

Активность оксидаз находится в прямой зависимости от содержания гумуса [7, 12] и влажности почвы [4], причем при избыточном увлажнении заметно повышается соотношение между активностью полифенолоксидазы и пероксидазы, что свидетельствует о замедлении процессов минерализации гумуса [22].

Исследований изменения активности оксидаз в серой лесной почве при внесении растительного материала в различных режимах увлажнения ранее не проводилось. Отсутствуют также данные о связи активности этих ферментов с содержанием элементов переменной валентности, окислительно-восстановительным состоянием среды и влажностью почвы в указанных выше условиях. Этим вопросам и посвящена настоящая работа.

Материал и методика

Объектом исследования служила серая лесная среднеподзоленная почва суходольного луга (северные тульские засеки, средняя часть пологого склона крутизной 1,5—2° юго-восточной экспозиции). Проведена серия модельных опытов, методика их закладки описана ранее [6].

Сравнительную активность полифенолоксидазы и пероксидазы определяли по Галстяну [2], содержание подвижного железа из кислотной вытяжки (0,1 н H₂SO₄) — фотометрическим методом с применением α - α' -дипиридила, нитратный азот — спектрофотометрически на СФ-16 [1]. ЭДС ме-

жду инертным и хлорсеребряным электродами регистрировали на потенциометре РН-340. В опыте применяли платиновые, стеклянные (марки ЭО-01-220) и графитовые электроды. Ход кривых ОВП, полученных с помощью этих элементов, был совершенно

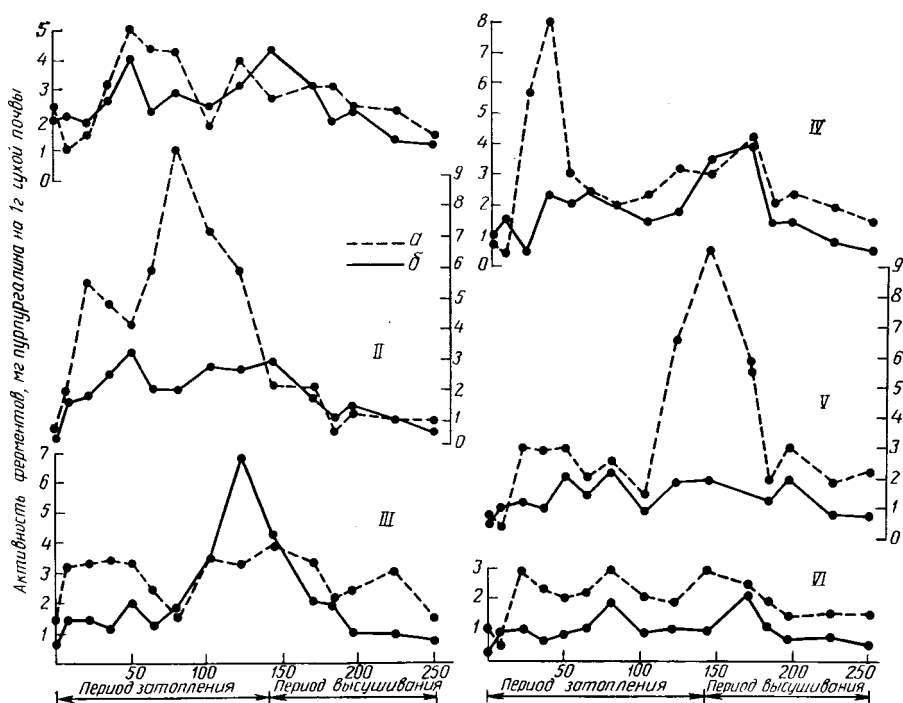
аналогичным, хотя абсолютные значения Eh и не совпадали. В связи с этим при обсуждении результатов опыта были использованы лишь данные, снятые на стеклянных электродах.

Результаты исследований

Исследования показали, что растительный материал, внесенный в почву, стимулировал активность как полифенолоксидазы, так и пероксидазы (рисунок). Однако активность ферментов изменялась в зависимости от вида растительного материала. Так, наиболее сильное стимулирующее действие на активность полифенолоксидазы в почве оказывало клеверное сено (рис., I), богатое легкогидролизуемыми веществами (белками и углеводами). Подобное действие этот растительный материал оказывал и на активность каталазы [17] и дегидрогеназ [18]. Минимальная активность полифенолоксидазы отмечена в варианте с хвоей сосны (рис., II).

По действию на активность полифенолоксидазы (средние данные) растительные остатки можно расположить в следующий ряд: клеверное сено > листья дуба > листья липы > корни трав > хвоя сосны (табл. 1, рисунок).

Максимальная активность пероксидазы наблюдалась при внесении в почву листьев липы (рис., II), минимальная — при внесении клеверного сена (рис., I). По влиянию на этот показатель растительные остатки можно расположить в следующей последовательности: листья липы > хвоя сосны > корни трав > листья дуба > клеверное сено (табл. 1).



Влияние растительного материала на активность пероксидазы (а) и полифенолоксидазы (б) в серой лесной почве при ее затоплении и последующем высушивании (гор. А₁).

I — почва+клеверное сено; II — почва+листья липы; III — почва+листья дуба; IV — почва + хвоя сосны; VI — почва (контроль).

Таблица 1

Влияние растительного материала на активность полифенолоксидазы и пероксидазы (мг пурпургалина на 1 г почвы) в серой лесной почве при ее затоплении и последующем высушивании (средние данные)

Показатель	Почва (конт- роль)	Растительные добавки				
		хвоя сосны	корни трав	листья липы	листья дуба	клеверное сено
Полифенолоксидаза:						
гор. А ₁	1,01	1,72	1,78	2,02	2,13	2,47
гор. А ₁ А ₂	0,88	1,53	1,54	1,56	1,70	1,91
Пероксидаза:						
гор. А ₁	2,04	3,29	2,95	3,86	2,84	2,78
гор. А ₁ А ₂	1,85	2,43	2,42	2,93	2,38	1,87

Таким образом, добавки, наиболее богатые легкогидролизуемыми веществами (белками и углеводами), действуют как стимуляторы активности полифенолоксидазы и весьма слабо влияют на активность пероксидазы, а добавки, содержащие значительные количества трудногидролизуемых веществ (лигнин и др.), повышают активность пероксидазы, но не вызывают заметного увеличения активности полифенолоксидазы.

Проведенные опыты показали (рисунок), что в период затопления образцов (143 дня) активность ферментов интенсивно повышалась. Хорошо выраженная прямая зависимость деятельности пероксидазы от влажности почвы отмечалась и другими исследователями [4]. По-видимому, повышение активности ферментов в этих условиях связано с гидролизом гумуса (с увеличением доступности отдельных его фракций для деятельности оксидаз), образованием большого количества перекисных форм в процессе разложения растительных остатков, а также с увеличением содержания водорастворимого гумуса. Кроме того, в условиях затопления происходит интенсивное увеличение численности микроорганизмов [3].

Максимум активности полифенолоксидазы и пероксидазы в различных вариантах опыта наблюдались в разное время. Так, в первые 1,5 мес инкубации образцов максимальная активность пероксидазы отмечена в варианте с корнями трав (рис., IV), а полифенолоксидазы — в варианте с клеверным сеном (рис., I). Известно [19], что такие растительные остатки, как листья дуба и хвоя сосны, содержащие большое количество экстрагируемых спирто-бензолом веществ, труднодоступны для микроорганизмов, поэтому в вариантах с этими добавками максимум активности полифенолоксидазы и пероксидазы зафиксирован только в конце периода затопления (рис., III, V).

Таблица 2

Динамика численности клеток аэробных и анаэробных бактерий в серой лесной почве при различных растительных добавках (млн. на 1 г абсолютно сухой почвы)

Срок наблюдения, дни	Аэробы			C1. pasteurianum			C1. acetobutylicum		
	конт- роль	клеверное сено	хвоя сосны	конт- роль	клеверное сено	хвоя сосны	конт- роль	клеверное сено	хвоя сосны
0	0,6	0,6	0,6	0,05	0,05	0,05	0,06	0,06	0,06
45	8,8	25,4	4,6	Не определяли			0,2	12,0	0,06
110	3,1	20,0	6,5	2,0	209,0	0,05	0,5	18,8	1,0
180	1,5	1,1	0,2	0,5	13,4	0,1	11,6	13,4	0,2
265	0,1	3,9	0,4	1,2	3,2	2,6	Не определяли		

Корреляционная зависимость (r) между активностью пероксидазы, полифенолоксидазы и содержанием FeO , NO_3 , влажностью и Eh в серой лесной почве

Показатель	Почва (конт- роль)	Растительные добавки				
		хвоя сосны	корни трав	листья липы	листья дуба	клеверное сено
Затопление						
Полифенолоксидаза						
Eh	Нет	-0,40	0,57	-0,54	-0,52	-0,51
FeO	+0,26	+0,36	+0,61	+0,41	+0,82	+0,43
Высушивание						
Полифенолоксидаза						
Eh	-0,79	-0,56	-0,35	-0,78	-0,96	-0,96
FeO	+0,97	+0,81	+0,95	+0,43	+0,83	+0,87
NO_3	Нет	+0,54	+0,43	+0,92	+0,86	+0,92
Влажность	+0,45	+0,69	+0,77	+0,92	+0,91	+0,76
Пероксидаза						
Eh	-0,30	-0,32	Нет	-0,69	-0,36	-0,61
FeO	+0,75	+0,75	+0,84	+0,43	+0,54	+0,48
NO_3	Нет	+0,38	+0,45	+0,60	+0,84	+0,44
Влажность	+0,97	+0,72	+0,76	+0,77	+0,83	+0,67
Полифенолоксидаза + пероксидаза						
	+0,51	+0,45	+0,97	+0,88	+0,74	+0,65

В период высушивания, после слива инкубационной вытяжки с поверхности образцов, активность ферментов снизилась во всех вариантах. Одновременно уменьшилась и численность микроорганизмов (табл. 2). В литературе имеются сведения о том, что при снижении влажности почвы происходит частичная необратимая инактивация ферментов в силу прочной адсорбции их сухой почвой [5, 20]. Нами был проведен корреляционный анализ и установлена статистически значимая связь ($r = +0,45 \div +0,97$) между активностью феноксидаз и влажностью образцов во время их естественного высушивания (табл. 3).

Как отмечается в литературе [2, 10, 13, 21], синтез гумусовых веществ в почвенной среде осуществляется в основном биохимическим путем при участии полифенолоксидазы и пероксидазы, причем в процессах синтеза гумусовых веществ участвует полифенолоксидаза, а в процессах их минерализации — в основном пероксидаза. Поскольку эти процессы в почве взаимосвязаны, интересно проследить за изменениями активности этих ферментов в условиях затопления и последующего высушивания образцов. В период затопления почвы во всех вариантах активность пероксидазы была значительно выше активности полифенолоксидазы (рисунок).

Если судить по изменению активности ферментов, то можно предположить, что в условиях затопления процессы минерализации органического вещества преобладали над процессами гумификации. Это подтверждается также данными об изменении rH_2 в этот период: значения rH_2 в вариантах с разными растительными добавками не превышали 7,0—18,0 (табл. 4).

Величина редокс потенциала является довольно хорошим тестом процессов гумификации [10]. Так, в условиях затопления почвы при $rH_2 = 17—18$ гумификации не происходит, а развивается этот процесс при rH_2 выше 23.

Значение γH_2 при затоплении (143 дня)
и последующем высушивании образцов серой лесной почвы

Срок оп- ределе- ния, дни	Почва (контроль)	Растительные добавки				
		хвоя сосны	корни трав	листья липы	листья дуба	клеверное сено
Гор. А ₁						
8	21,6	22,9	12,3	19,9	19,3	12,5
22	7,4	17,6	13,5	12,4	14,3	9,4
36	6,3	15,6	10,9	10,9	10,7	8,8
50	6,5	15,1	8,0	8,9	8,9	8,2
64	6,9	14,8	7,0	8,9	8,9	8,3
81	6,1	13,0	6,2	8,7	8,5	7,8
102	6,6	11,3	7,3	8,9	8,7	9,0
122	5,8	10,9	8,1	8,6	9,6	8,6
143	6,1	10,9	8,3	9,9	9,9	10,6
171	19,5	12,7	7,7	10,0	12,1	11,7
183	30,4	15,2	15,7	16,4	18,3	16,2
224	31,8	31,3	29,4	28,3	23,5	30,9
249	31,9	31,4	28,7	28,0	23,7	29,8
Гор. А ₁ А ₂						
8	27,1	24,7	17,4	19,6	19,9	26,6
22	12,6	22,8	16,4	13,9	16,4	17,7
36	12,9	20,7	15,7	13,6	13,6	14,7
50	11,9	19,8	15,0	13,3	12,7	13,5
64	12,4	18,7	13,7	12,9	12,9	12,8
81	9,7	16,5	12,5	10,8	10,8	11,9
102	9,5	15,8	12,5	10,6	10,4	12,5
122	8,1	16,8	10,9	9,9	8,6	11,4
143	9,5	17,5	11,0	10,5	8,6	10,6
171	8,0	18,0	10,1	11,2	6,7	7,5
183	20,9	18,9	10,4	12,9	14,9	10,7
224	31,6	32,4	29,5	20,4	27,8	34,9
249	31,5	32,9	28,5	19,7	26,4	35,7

В период высушивания образцов почвы, когда значения γH_2 в нашем опыте превышали 23 (табл. 4), можно было бы ожидать образования «ножниц» в соотношении активностей полифенолоксидазы и пероксидазы. Но этого не произошло, а зафиксировано лишь некоторое сближение кривых активностей фенолоксидаз. Это свидетельствует о том, что интенсивность процессов минерализации и гумификации органического материала была примерно одинаковой (отмечен лишь незначительный уклон в сторону процессов минерализации органического вещества).

Необходимо, однако, отметить, что, несмотря на некоторую синхронность в поведении фенолоксидаз, в конце опыта наблюдалось некоторое накопление органического вещества в образцах серой лесной почвы с растительными добавками (табл. 5). Отсюда следует, что разложение новообразованных органических веществ не заканчивалось

Таблица 5

Влияние растительного материала на накопление гумусовых веществ (по Тюрину в %) в образцах серой лесной почвы

Горизонт	Почва (контроль)	Растительные добавки			
		хвоя сосны	корни трав	листья дуба	клеверное сено
А ₁	4,81	6,14	4,94	5,45	5,26
В ₂	0,42	1,49	1,10	1,15	0,86

полной их минерализацией, поскольку зафиксированы их частичная конденсация и полимеризация. Наибольшее количество новообразованных гумусовых веществ содержалось в почве с добавками хвои сосны и листьев дуба, наименьшее — в вариантах с корнями трав и клеверным сеном.

С глубиной активность ферментов несколько уменьшалась (табл. 1), однако этот процесс был не адекватен изменению процентного содержания гумуса в образцах (гор. А₁ — 5,06%, гор. А₁А₂ — 2,41%). Результаты исследований позволяют также заключить, что действие органического вещества самой почвы на активность полифенолоксидазы сильнее проявлялось в вариантах с клеверным сеном, листьями дуба и липы, слабее — в контроле и в варианте с хвоей сосны. Аналогичным было действие органического вещества и на активность пероксидазы (кроме варианта с хвоей сосны).

При инкубации образцов почвы с растительным материалом в условиях затопления и при последующем высушивании активность фенолоксидаз положительно коррелировала с содержанием FeO и отрицательно с ОВП (табл. 3). Обратной пропорциональной зависимостью между активностью пероксидазы и окислительно-восстановительным потенциалом была обнаружена и другими исследователями [4].

Известно, что при избыточном увлажнении процессы нитрификации в почве сильно угнетены. Внесение в почву органических веществ способствовало накоплению нитратов, которое зависит от соотношения C:N в растительных остатках [15, 16 и др.]. В наших опытах установлена корреляционная зависимость между активностью полифенолоксидазы, пероксидазы и содержанием нитратов в период высушивания компостов (табл. 3). Тесная прямая зависимость отмечена во всех вариантах с растительными добавками ($r = +0,38 \div +0,92$).

Математическая обработка данных показала также, что в период высушивания образцов между активностью полифенолоксидазы и пероксидазы существовала довольно тесная положительная корреляционная зависимость ($r = +0,45 \div +0,97$).

Выводы

1. Растительный материал, внесенный в серую лесную почву, оказывал стимулирующее действие на активность фенолоксидаз. Действие каждой растительной добавки было строго индивидуальным.

2. При высокой влагонасыщенности почвенных образцов деятельность оксидаз не была угнетена. Наблюдалась прямая зависимость между активностью полифенолоксидазы, пероксидазы и влажностью почвы.

3. Между активностью фенолоксидаз, ОВП, содержанием закисного железа и нитратами отмечена статистически значимая связь. Между активностями полифенолоксидазы и пероксидазы зависимость была положительной. Взаимосвязь между активностью полифенолоксидазы и накоплением гумуса отсутствовала.

ЛИТЕРАТУРА

1. Борисова Н. И. Спектрофотометрический метод определения нитратов в почве. — Агрехимия, 1968, № 8, с. 148—153.
2. Галстян А. Ш. Определение сравнительной активности пероксидазы и полифенолоксидазы в почве. — Докл. АН АрмССР, 1958, т. XXVI, № 5, с. 285—288.
3. Емцев В. Т., Березнева С. А., Тарарина Л. Ф. Влияние растительных остатков на развитие микроорганизмов и уровень окислительно-восстановительных процессов в серой лесной почве. — Изв. ТСХА, 1975, вып. 3, с. 128—135.
4. Ефремова Т. Т. Биохимические и окислительно-восстановительные процессы на осушенных болотах юга Красноярского края. — Почвоведение, 1977, № 9, с. 103—114.
5. Звягинцев Д. Г., Воробьева Е. А., Горчарук Л. М., Андреева Т. А. Биологическая активность почв Северо-Западного Кавказа. — В сб.: Биологическая диагностика почв, М., «Наука», 1976,

- с. 98—99. — 6. Кауричев И. С., Тарарина Л. Ф. Влияние различных органических добавок на величину окислительно-восстановительного потенциала серой лесной почвы. — Изв. ТСХА, 1973, вып. 5, с. 100—107. — 7. Козлов К. А. Биологическая активность почвы. — Изв. АН СССР, сер. биол., 1966, № 5, с. 719—733. — 8. Козлов К. А., Нючева Е. М. К вопросу о возможных источниках обогащения почвы ферментами. — Изв. АН СССР, сер. биол., мед. наук, 1965, № 12, с. 131—134. — 9. Кононова М. М. Гумус почвы и жизнь растений. — Агрехимия, 1965, № 1, с. 3—12. — 10. Кононова М. М. Проблема почвенного гумуса и современные задачи его изучения. М., Изд-во АН СССР, 1951. — 11. Кретович В. Л. Основы биохимии растений. М., «Высшая школа», 1964. — 12. Купревич В. Ф., Щербакова Т. А. Почвенная энзимология. Минск, «Наука и техника», 1966. — 13. Лисовал А. П. Активность пероксидазы и полифенолоксидазы почв при различных условиях выращивания растений. — В сб.: докл. симп. по ферм. почв. Минск, «Наука и техника», 1968. — 14. Мишустин Е. Н., Драгунов С. С., Пушкинская О. И. Роль микроорганизмов в синтезе перегнойных соединений почвы. — Изв. АН СССР, сер. биол., 1956, № 6, с. 83—94. — 15. Пенев Т. Влияние условий увлажнения на качество и состав водорастворимых органических веществ листового опада лесной растительности. — Науч. тр. Висш. сел.-скостоп. ин-т В. Комаров. Пловдив, 1971, вып. 20, № 4, с. 99—104. — 16. Перверзев В. Н., Алексеева Н. С. Процессы аммонификации и нитрификации в торфяно-болотных почвах Кольского полуострова. — Почвоведение, 1969, № 12, с. 73—82. — 17. Тарарина Л. Ф., Воинова В. Н. Об активности фермента каталазы при разложении органического материала в почве. — В сб.: Охрана природы и совершенствование биогеоценозов. Тульск. гос. пед. ин-т, 1975, вып. 3, с. 69—80. — 18. Тарарина Л. Ф., Емцев В. Т., Воинова В. Н. Активность дегидрогеназ при разложении растительных остатков в серой лесной почве. — Изв. ТСХА, 1977, вып. 4, с. 123—130. — 19. Теппер Е. З., Комаревцева Л. Г., Симаклова И. С. Процессы минерализации растительных остатков, характерных для подзоны южной тайги. — Изв. ТСХА, 1975, вып. 1, с. 121—126. — 20. Хазиев Ф. К. Температура и влажность как экологические факторы биологической активности почв. — Экология, 1976, № 6, с. 50—55. — 21. Чундерова А. И. Активность полифенолоксидазы и пероксидазы в дерново-подзолистых почвах. — Почвоведение, 1970, № 7, с. 22—28. — 22. Чундерова А. И. Ферментативная активность дерново-подзолистых почв Северо-Западной зоны. — Автореф. докт. дис. Таллин, 1973. — 23. Шлегель Г. Общая микробиология. М., «Мир», 1972.

Статья поступила 11 декабря 1978 г.

SUMMARY

Variations in the activity of polyphenoloxidase and peroxidase with decomposition of plant residues (clover hay, oak leaves, lime leaves, pine needles, roots of grasses) in gray forest soil during long flooding followed by drying out has been studied. Vegetative matter applied to the soil had a stimulating effect on oxidase activity.

It has been found that there exists correlation between enzyme activity and Eh, between the amount of ferrous oxide and that of nitrates. A positive correlation has been found between the activities of polyphenoloxidase and peroxidase.