

ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЛИФЕНОЛОКСИДАЗЫ И ПЕРОКСИДАЗЫ В СЕРОЙ ЛЕСНОЙ ПОЧВЕ ПРИ РАЗЛОЖЕНИИ РАСТИТЕЛЬНЫХ ОСТАТКОВ В РЕЖИМЕ КАПИЛЛЯРНОГО НАСЫЩЕНИЯ

В. Н. ВОИНОВА, Л. Ф. ТАРАРИНА, В. Т. ЕМЦЕВ
(Кафедра микробиологии)

Изучение ферментативной активности серой лесной почвы при разложении растительных остатков в режиме затопления — высушивание показало [4], что растительный материал, внесенный в почву, стимулирует активность полифенолоксидазы и пероксидазы. Было установлено наличие прямой зависимости между активностью фенолоксидаз и влажностью почвы, причем высокая насыщенность почвенных образцов влагой не угнетала, а, наоборот, стимулировала деятельность оксидаз. Между активностью фенолоксидаз, окислительно-восстановительным потенциалом, содержанием закисного железа и нитратами была обнаружена статистическая значимая связь. Положительная зависимость отмечалась также между активностями полифенолоксидазы и пероксидазы. В то же время взаимосвязь между активностью полифенолоксидазы и накоплением гумуса отсутствовала.

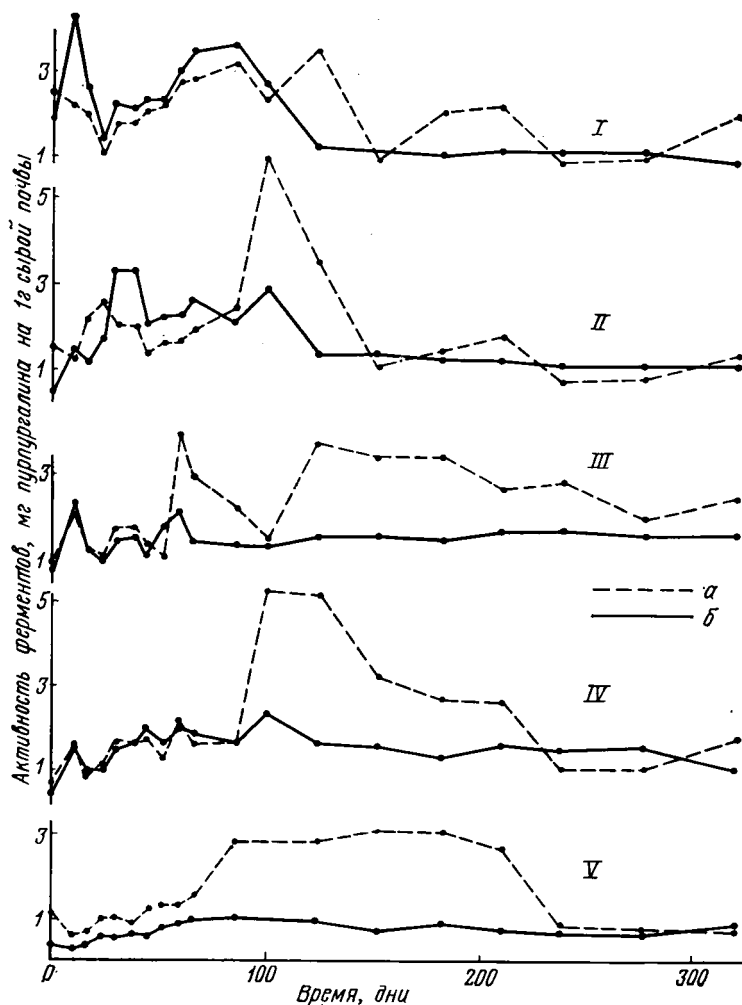
В связи с изложенным определенный интерес представляло изучение активности фенолоксидаз при разложении тех же растительных остатков в серой лесной почве, но при другом режиме увлажнения — капиллярном насыщении, т. е. при постоянной влажности образцов.

Для компостирования, так же как и в предыдущем опыте [4], брали средний образец почвы массой 1 кг и составляли однородную смесь растительных остатков с почвой в отношении 1:10. Смесь затем помещали в химические стаканы емкостью 1 л, имеющие отверстия в дне. Стаканы устанавливали на подставки, покрытые марлевым фитилем, концы которого свешивались в дистиллированную воду. Таким образом осуществлялось капиллярное насыщение компостов. Режим капиллярного насыщения поддерживали в течение 320 сут. Контролем служила капиллярно-насыщенная почва без растительных остатков.

Сравнительную активность полифенолоксидазы и пероксидазы определяли по Галстяну [5], содержание органического вещества — по Тюрину [16], ЭДС между инертным и хлорсеребряным электродами регистрировали на потенциометре РН-340.

Результаты опыта и их обсуждение

Растительные добавки, внесенные в серую лесную почву в условиях капиллярного насыщения, так же как и при затоплении с последующим



Активность пероксидазы (а) и фенолоксидазы (б) в зависимости от вида растительного материала в серой лесной почве (гор. А₁) при ее капиллярном насыщении.

I — клеверное сено; II — листья дуба; III — корни трав; IV — хвоя сосны; V — почва (контроль).

высушиванием [4], способствовали повышению активности фенолоксидазы (рисунок, табл. 1). Максимальная активность полифенолоксидазы отмечена в компостах с клеверным сеном, минимальная — с корнями трав и хвоей сосны. В то же время максимальная активность пероксидазы проявилась в присутствии корней трав и хвой сосны, минимальная — в компостах с листьями дуба и клеверным сеном.

В первые 2 недели инкубации образцов с растительными добавками нарастали активности полифенолоксидазы и пероксидазы. Некоторым исключением из этого правила был вариант с добавкой клеверного сена, где в этот период наблюдалось понижение активности пероксидазы. Интересно отметить, что активность этого фермента в первые сроки инкубации понижалась в данном варианте и при затоплении почвы [4].

Наращение активности ферментов в самом начале опыта, видимо, связано с интенсивным развитием биохимических процессов, обусловленным поступлением в почву водорастворимых органических веществ из внесенного растительного материала. Этот период совпал с периодом резкого падения ОВП [8] и γH_2 (табл. 2). Следует также отметить, что

Активность полифенолоксидазы и пероксидазы при капиллярном насыщении серой лесной почвы растительного материала и различных растительных добавках

Сроки определения, дни	Гор. А ₁					Гор. В ₂				
	почва (контроль)	хвоя сосны	корни трав	листья дуба	клеверное сено	почва (контроль)	хвоя сосны	корни трав	листья дуба	клеверное сено
Активность полифенолоксидазы										
10	0,26	1,36	2,30	1,37	4,48	0,40	1,78	1,63	1,75	5,45
17	0,41	1,06	1,15	1,19	2,59	0,46	1,99	1,78	1,36	2,73
24	0,63	1,08	0,87	1,69	1,37	0,81	1,34	1,35	1,50	2,33
31	0,55	1,52	1,40	3,30	2,24	0,78	2,41	2,02	1,13	3,39
38	0,61	1,61	1,46	3,29	2,10	0,69	2,46	2,25	1,30	3,37
45	0,53	1,91	1,14	1,96	2,31	0,87	1,57	1,81	2,05	2,72
52	0,80	1,58	1,74	2,17	2,33	1,01	1,22	1,47	1,79	1,69
59	0,89	2,02	2,13	2,16	3,01	1,13	1,96	2,40	1,89	3,10
66	0,92	1,81	1,44	2,63	3,36	1,23	1,87	1,99	1,48	2,92
87	1,02	1,57	1,34	2,14	3,62	1,62	1,57	1,71	1,81	2,53
101	0,98	2,32	1,32	2,79	2,72	1,41	1,46	1,80	1,65	2,12
125	0,87	1,63	1,46	1,29	1,17	1,34	1,90	1,25	1,66	0,91
153	0,71	1,48	1,49	1,31	0,96	0,93	2,08	1,25	1,44	1,16
183	0,82	1,32	1,45	1,20	0,94	1,09	1,74	1,43	1,12	1,29
211	0,70	1,55	1,60	1,16	1,10	1,51	2,10	1,41	1,97	1,81
238	0,63	1,43	1,13	1,04	1,06	1,22	1,85	1,33	1,57	1,68
277	0,59	1,46	0,98	0,97	1,02	0,81	1,42	1,23	1,49	1,48
319	0,30	1,04	1,03	1,02	0,77	0,80	1,24	1,08	1,03	0,78
Среднее	0,70	1,54	1,41	1,81	2,05	1,02	1,77	1,62	1,55	2,30
Активность пероксидазы										
10	0,60	1,64	2,09	1,33	2,17	0,64	3,42	3,89	5,52	6,79
17	0,70	1,26	1,20	2,15	1,99	0,91	4,08	3,75	1,26	3,16
24	1,02	1,11	1,03	1,59	1,12	1,13	3,86	3,51	1,14	2,66
31	1,00	1,60	1,66	2,04	1,84	1,56	4,78	3,36	1,61	4,25
38	0,93	1,63	1,72	2,00	1,85	1,50	2,42	2,73	1,61	3,10
45	1,20	1,67	1,28	1,38	2,14	2,03	1,56	3,19	1,67	2,87
52	1,32	1,27	0,95	1,65	2,18	2,32	1,16	1,48	1,42	3,32
59	1,28	2,18	3,94	1,65	2,84	2,40	6,37	2,88	3,75	3,81
66	1,49	1,63	2,90	1,87	2,82	2,94	6,41	6,00	5,02	4,71
87	2,82	1,64	2,20	2,42	3,20	2,96	4,99	6,90	6,74	6,26
101	2,70	5,21	1,38	5,92	2,31	3,00	5,38	8,46	3,70	8,94
125	2,77	5,14	3,72	3,52	3,48	3,15	4,68	4,70	2,68	1,79
153	3,02	3,16	3,42	0,96	0,90	3,81	2,54	2,23	1,49	0,30
183	2,95	2,68	3,38	1,36	1,98	2,41	1,98	3,85	0,88	0,73
211	2,58	2,56	2,55	1,69	2,13	3,25	4,59	4,52	1,26	0,83
238	0,91	1,06	2,84	0,66	0,81	1,82	3,46	2,86	0,79	0,78
277	0,69	1,02	1,89	0,66	0,89	1,74	2,24	3,45	1,33	0,96
319	0,69	1,78	2,37	1,33	1,91	1,70	3,40	3,31	1,54	1,10
Среднее	1,80	2,12	2,25	1,94	2,03	2,16	3,74	3,94	2,41	3,13

наиболее сильному увеличению активностей полифенолоксидазы (вариант с клеверным сеном, см. рисунок, I) соответствовало и наиболее резкое падение ОВП и γH_2 . В контрольном образце активность фермента возрастала меньше (рисунок, V) и соответственно более спокойными были окислительно-восстановительные процессы [8] (табл. 2).

В первые три месяца компостирования образцов в условиях капиллярного насыщения (рисунок) отношение между активностью полифенолоксидазы и пероксидазы было очень узким, что косвенно свидетельствовало о примерно одинаковой интенсивности синтеза и разложения органического материала. Однако в образцах с клеверным сеном (рисунок, I) и листьями дуба (II) кривые активностей полифенолоксидазы располагались над кривыми активностей пероксидазы. В вариантах с

корнями трав (III) и хвоей сосны (IV) наблюдалось переплетение кривых, а в контроле (V) — явно более высокая активность пероксидазы.

Видимо, в первой паре образцов гумификация несколько преобладала над минерализацией, во второй — эти процессы шли с примерно одинаковой интенсивностью, а в контроле преимущество имели процессы минерализации органического вещества.

В последующие сроки компостирования активность полифенолоксидазы снижалась во всех образцах, кроме варианта с хвоей сосны и контрольного, а пероксидазы — повышалась, и отношение между кривыми активностей фенолоксидаз становилось более широким во всех вариантах. Доминирующее положение при этом занимала кривая активности пероксидазы. Это дает основание считать, что последняя начинала принимать участие в переработке новообразованных, неустойчивых к разложению [7, 15, 23] органических веществ. Известно [9, 13], что более переработанному органическому веществу соответствует более высокая активность пероксидазы, а уменьшение активности полифенолоксидазы связано с увеличением степени разложения органических остатков [12].

В последующие сроки инкубации образцов было зафиксировано значительное снижение пероксидазной активности во всех вариантах опыта, сопровождаемое заметным сужением отношения активностей фенолоксидаз (рисунок). Некоторое сближение кривых в конце компостирования наблюдалось и в предыдущем опыте при затоплении с последующим высушиванием образцов [4]. Общим для двух опытов явилось также преобладание пероксидазной активности над полифенолоксидазной. Подобные данные при влажности 70 % от полной влагоемкости были получены и другими исследователями [14].

Т а б л и ц а 2

Измерения gH_2 при капиллярном насыщении серой лесной почвы

Сроки определения, дни	Почва (контроль)	Растительные добавки			
		хвоя сосны	корни трав	листья дуба	клеверное сено
Горизонт A_1					
1	25,8	24,9	25,6	25,4	26,9
13	24,7	18,4	21,7	15,9	12,3
27	24,4	13,4	11,8	8,6	10,2
44	24,1	10,0	9,9	8,0	8,2
66	23,8	7,9	9,1	9,3	6,7
90	22,9	7,9	7,6	6,6	23,9
125	23,2	7,9	6,5	7,1	22,2
153	22,6	3,8	8,1	6,6	22,5
183	23,0	4,4	7,6	19,9	22,4
211	22,5	5,4	7,7	22,1	24,3
238	23,5	6,9	6,9	21,5	24,1
276	22,9	6,3	16,9	23,5	23,6
Горизонт B_2					
1	27,2	26,1	27,0	25,8	28,7
13	25,9	17,7	18,2	21,1	12,8
27	26,0	17,3	12,8	17,9	9,6
44	26,0	15,1	9,4	14,1	9,0
66	26,1	15,2	8,4	11,9	10,0
90	25,7	13,3	7,4	11,7	23,6
125	26,6	11,3	6,5	10,9	19,8
153	28,0	11,8	7,3	8,6	21,6
183	28,2	10,9	7,3	8,2	23,1
211	26,2	9,5	7,0	8,6	21,6
238	25,6	10,4	7,9	8,9	21,6
276	27,4	10,9	8,1	8,3	22,5

Накопление гумусовых веществ в горизонтах А₁ и В₂ серой лесной почвы при капиллярном насыщении и различных растительных добавках

Варианты опыта	Содержание органических веществ по Тюрину, %	Накопление органических веществ в почве, %	Коэффициент гумусонакопления, %
Почва (контроль);			
гор. 1	4,92	0	34
гор. 2	0,45	0	47
Хвоя сосны:			
гор. 1	7,42	2,50	73
гор. 2	3,62	3,17	47
Корни трав:			
гор. 1	5,97	1,05	63
гор. 2	1,99	1,54	41
Листья дуба:			
гор. 1	7,60	2,62	93
гор. 2	4,43	3,98	64
Клеверное сено:			
гор. 1	6,41	1,49	100
гор. 2	2,07	1,62	73

Однако судя по количеству гумусовых веществ в конце инкубации образцов (на 320-е сутки) при капиллярном насыщении, можно полагать, что процессы гумификации растительных остатков несколько преобладали над процессами их минерализации (табл. 3). Накопление органических веществ при режиме затопление — высушивание было несколько меньше [4]. При этом следует отметить, что в 180-дневном опыте при влажности почвы 70 % от полной ее влагоемкости [14] процессы разложения, минерализации и гумификации растительных остатков находились в равновесии. Какого-либо накопления гумусовых кислот, определяемого биохимическими методами, не обнаруживалось, хотя и было найдено, что внесение растительных остатков сильнее активизирует развитие микроорганизмов, участвующих в синтезе гумусовых кислот, чем микроорганизмов, разрушающих их.

Как видно из табл. 3, увеличение содержания новообразованного органического вещества (прирост массы органического вещества относительно контроля) в инкубационных образцах при их капиллярном насыщении варьировало в довольно широких пределах (от 1,05 до 3,98 %) в зависимости от вида растительного материала и субстрата компостирования (генетического горизонта почвы). Наибольшим содержание органического вещества было в вариантах с листьями дуба и хвоей сосны, меньшим — с клеверным сеном и корнями трав.

Ряд исследователей [1, 17], отмечая повышенное содержание гумуса в почвах под дубовыми насаждениями, объясняли это особыми свойствами растворимых продуктов опада. Так, в растительных остатках дуба было ниже содержание водорастворимых соединений и выше — негидролизующего остатка. Известно также, что интенсивность разложения листьев дуба невелика.

В образцах с хвоей сосны шли процессы образования «кислого» гумуса [21], который очень устойчив против микробного разложения. Этим можно объяснить накопление гумусовых веществ в данном варианте к концу опыта. Микробиологические анализы показали, что биомасса бактерий во все сроки опыта была наименьшей в вариантах с хвоей сосны (табл. 4).

Причиной относительно слабого накопления гумуса в компостах с клеверным сеном, видимо, явилось узкое отношение С : N в этом растительном материале, вследствие чего накопление гумусовых веществ здесь происходило в первые сроки компостирования, а в последующие и до конца опыта шло их разложение. Исследования с использованием изотопов углерода и азота показали [20], что при внесении надземной части трав в почву одновременно с разложением их происходит минерализация почвенного гумуса, т. е. в присутствии свежего растительного материала биологические процессы в почве идут настолько бурно, что при этом затрагивается и основной фонд органического вещества. Действительно, микробиологические анализы, произведенные в образце

Динамика численности клеток аэробных и анаэробных бактерий
(млн. на 1 г абсолютно сухой почвы) в горизонте А₁ серой лесной почвы
при различных растительных добавках

Сроки определения, дни	Аэробы			Cl. pasteurianum			Cl. acetobutylicum		
	почва (конт- роль)	хвоя сосны	клеверное сено	почва (конт- роль)	хвоя сосны	клеверное сено	почва (конт- роль)	хвоя сосны	клеверное сено
0	0,6	0,6	0,6	0,05	0,05	0,05	0,06	0,06	0,06
45	3,93	6,12	9,11	Не определяли			Не определяли		
110	22,0	53,0	134,0	0,12	12,2	18,2	Не опр.	1,7	0,40
180	0,48	144,0	185,0	0,20	4,4	185,0	0,18	1,2	18,5
265	0,04	0,39	1,8	1,40	3,75	2,02	2,94	3,7	33,7

с клеверным сеном (табл. 4), свидетельствуют об интенсивном развитии биомассы в указанном варианте.

Разложение корневых остатков многолетних и однолетних трав суходольного луга в течение 320 дней при капиллярном насыщении (табл. 3), а также при затоплении с высушиванием [4] не способствовало заметному накоплению органических веществ. Л. Н. Александровой высказано мнение [3], что корневые и пожнивные остатки не могут обеспечить прогрессивного накопления гумуса вследствие господства процессов их минерализации. Этим же исследователем [2] установлено, что оптическая плотность новообразованных гуминовых кислот, выделенных из различных растительных остатков, неодинакова. Наибольшей она была у гуминовых кислот из листьев дуба и нарастала в процессе гумификации. Самой низкой оптической плотностью отличались гуминовые кислоты из разлагающихся корней разнотравья.

В нашем опыте в контроле изменений в содержании гумуса в течение опыта практически не происходило, что объясняется устойчивостью гумуса к биологическому и химическому разложению [10, 19].

Из табл. 3 видно, что накопление органических веществ было наибольшим в образцах с растительным материалом в почве иллювиального горизонта. Видимо, при разложении растительных остатков и их гумификации в почве горизонта В₂ происходило закрепление новообразованных гумусовых веществ минеральной частью почвы, свободной от органического вещества [11]. Кроме того, более высокое содержание физической глины в почве иллювиального горизонта, чем в почве перегнойно-аккумулятивного, также способствовало накоплению органических веществ в образцах с растительным материалом [23].

Между накоплением органических веществ в образцах почвы и показателем активности ферментов (табл. 3), или коэффициентом накопления гумуса [18], заметной связи не наблюдалось. Отсутствие положительной зависимости между активностью полифенолоксидазы и интенсивностью накопления гумуса отмечено также и другими исследователями [6]. Так, в сероземах активность полифенолоксидазы высокая, а накопление гумуса низкое, поскольку новообразование и распад гумусовых веществ происходят очень интенсивно из-за благоприятных температурного и водного режимов, микробиологических и других факторов.

Если в предыдущем опыте [4] между активностью ферментов и влажностью была обнаружена определенная взаимосвязь с довольно высокими значениями коэффициентов корреляции, то в рассматриваемом опыте при капиллярном насыщении эта связь отсутствовала. Все

изменения активности ферментов происходили на фоне постоянной влажности образцов. Следовательно, связь ферментативной активности с влажностью компостов носит не абсолютный, а опосредованный характер, если в почве действует такой сильный фактор, как деструкция свежего растительного материала, внесенного в почву.

Выводы

1. Растительный материал, внесенный в серую лесную почву, способствовал повышению активности оксидоредуктаз как в условиях затопления с последующим высушиванием, так и при капиллярном насыщении. Уровень этой активности был обусловлен видом внесенного материала и характером субстрата компостирования. В обоих опытах активность пероксидазы в образцах серой лесной почвы была выше активности полифенолоксидазы.

2. Как при капиллярном насыщении, так и при затоплении с высушиванием внесенный растительный материал более существенно влиял на активность ферментов в иллювиальном горизонте. В условиях капиллярного насыщения почвы изменения активности дегидрогеназ, полифенолоксидазы и пероксидазы были менее выражены и их активность оказалась более низкой, чем при затоплении и последующем высушивании. При капиллярном насыщении процессы гумификации растительных остатков, внесенных в почву, несколько преобладали над процессами их минерализации.

3. Связь между активностью фенолоксидаз и влажностью почвы, наблюдаемая при режиме затопление — высушивание, при капиллярном насыщении отсутствовала. Не было установлено также связи при режиме увлажнения между активностью ферментов и ОВП, содержанием FeO и NO₃.

ЛИТЕРАТУРА

1. Адерихин П. Г., Богатырева З. С. Воздействие защитных лесных насаждений на содержание и состав органического вещества обыкновенных черноземов Каменной степи. — Почвоведение, 1974, № 5, с. 43—53. — 2. Александрова Л. Н. Процессы гумусообразования в почве. — В кн.: Гумусовые вещества почвы. Т. 142. Л., 1970, с. 26—81. — 3. Александрова Л. Н. Гумусовый режим пахотных дерново-подзолистых почв и пути регулирования. — Науч. тр. Ленингр. с.-х. ин-та, 1977, вып. 329, с. 3—16. — 4. Воинова В. Н., Тарарина Л. Ф., Емцев В. Т. Активность полифенолоксидазы и пероксидазы в серой лесной почве при разложении растительных остатков в режиме затопление — высушивание. — Изв. ТСХА, 1979, вып. 5, с. 87—93. — 5. Галстян А. Ш. Определение сравнительной активности пероксидазы и полифенолоксидазы в почве. — Докл. АН АрмССР, 1958, т. XXVI, № 5, с. 285—288. — 6. Джуманиязов И. Д., Казиев С. М. Органическое вещество и биологическая активность сероземов. Ташкент, «Фан», 1975. — 7. Кауричев И. С., Теппер Е. З., Комаревцева Л. Г., Симаква И. С. Разложение растительных остатков и образование гумусовых веществ. — Изв. ТСХА, 1972, вып. 4, с. 97—107. — 8. Кауричев И. С., Тарарина Л. Ф., Бирюкова В. А. Влияние органического материала на ОВ-процессы в почве при ее капиллярном насыщении. — Почвоведение, 1975, № 8, с. 32—39. — 9. Кононова М. М. Проблема почвенного гумуса и современные задачи его изучения. М., Изд-во АН СССР, 1951. — 10. Кононова М. М. Органическое вещество почвы. М., Изд-во АН СССР, 1963. — 11. Коротков А. А., Новицкий М. В. Процессы гумификации растительных остатков в дерново-подзолистых почвах. — Почвоведение, 1969, № 6, с. 72—80. — 12. Купревич В. Ф. Науч. тр. Т. 4. Минск, «Наука и техника», 1974. — 13. Мишустин Е. Н., Никитин Д. И., Очимова М. И. Микроорганизмы, разлагающие гуминовую кислоту почвы. — В сб. докл. совещ. почвоведов к VII Международ. конгрессу в США. М., Изд-во АН СССР, 1960, с. 161—167. — 14. Наплекова Н. Н., Кленов Б. М. Влияние растительных остатков на процесс гумификации в почвах. — Изв. Сиб. отд. АН СССР, сер. биол., 1976, № 5, вып. 1, с. 26—32. — 15. Неуньлов Б. А., Коледа Л. И., Хавкина Н. В. Судьба углерода свежего органического вещества (меченного ¹⁴C), внесенного в почву рисового поля. — В сб.: Повышение плодородия почв рисовых полей. М., «Наука», 1977, с. 5—21. — 16. Орлов Д. С., Гришина Л. А., Ерошичева Н. Л. Практикум по биохимии гумуса. Изд-во МГУ, 1969. — 17. Соколов Д. Ф. Влияние лесной растительности на состав гумуса почв различных природ-

- ных зон. М., «Наука», 1962. — 18. Чундерова А. И. Активность полифенолоксидазы в дерново-подзолистых почвах. — Почвоведение, 1970, № 7, с. 22—28. — 19. Birch H. F. — Plant and Soil, 1959, vol. 11, N 3, p. 262—286. — 20. Broadbent P. E., Normann A. J. — Proc. Soil Sci. Amer., 1964, vol. 11, p. 241—244. — 21. Falck R. — Ber. Deutsch. Botan. Ges., 1927, Bd 44, S. 652. — 22. Jenkinson D. S. — Soil Sci., 1947, vol. 28, N 3, p. 424—434. — 23. Sanerbeck D. K., Gonzalez M. A. — Soil Org. Matter stud., 1977, vol. 1, Vienna, p. 159—169.

Статья поступила 12 декабря 1978 г.

SUMMARY

In capillary saturation of grey forest soil, vegetative supplements (clover hay, oak leaves, roots of grasses, pine tree needle), stimulated the increase in phenoloxidase activity. In all versions the peroxidase activity dominated over the activity of polyphenoloxidase. The highest accumulation of organic matter at the end of the trial (320 days) was found in the versions with oak leaves and pine tree needle, the lowest — in those with clover hay and roots of grasses. Accumulation of humus was higher in soil samples of illuvial horizon.