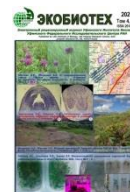




ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

http://ecobiotech-journal.ru



ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ФАКТОРОВ АБИОТИЧЕСКОЙ ПРИРОДЫ НА ФЕРМЕНТАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ ПОЧВЫ

Товстик Е.В., Олькова А.С.

Вятский государственный университет, Киров (Россия)
E-mail: tovstik@inbox.ru; usr20174@vyatsu.ru

В работе предпринята попытка установить корреляционные связи между уровнем ферментативной активности почвы и факторами абиотической природы. Установлено, что активность инвертазы и уреазы в почвах более южных территорий выше, чем северных. В почвах, характеризующихся значением pH почвенной среды близкой к нейтральной реакции, уровень ферментативной активности выше, чем в более кислой. Наиболее чувствительна к кислотности почвы среди исследованных ферментов уреазы. В отношении цинка установлена обратная корреляционная зависимость между его содержанием в почве и уровнем инвертазной активности. По степени устойчивости к засолённости, ферменты располагаются в ряду: каталаза > инвертаза > уреазы. Повышение минерализации почвенного раствора ведёт к увеличению активности уреазы. Из исследуемых ферментов наиболее лабильны представители класса гидролаз (инвертаза и уреазы), менее лабильны оксидоредуктазы (каталаза). Таким образом, при диагностике состояния почвы по уровню ферментативной активности необходимо учитывать основные абиотические факторы, влияющие на активность энзимов: среднегодовую температуру воздуха; pH и минерализацию почвенного раствора; содержание веществ, угнетающих микроорганизмы и блокирующих экзоферменты.

Ключевые слова: ферментативная активность ♦ каталаза ♦ инвертаза ♦ уреазы ♦ абиотические факторы ♦ среднегодовая температура ♦ тип почвы ♦ кислотность ♦ цинк ♦ засолённость

ASSESSMENT OF THE INFLUENCE OF ABIOTIC FACTORS ON THE ENZYMATIVE ACTIVITY OF THE SOIL

Tovstik E.V., Olkova A.S.

Vyatka State University, Kirov (Russia)
E-mail: tovstik@inbox.ru; usr20174@vyatsu.ru

An attempt is made in this work to establish correlations between the level of enzymatic activity of the soil and factors of an abiotic nature. It was found that the activity of invertase and urease in the soils of more southern territories is higher than that of northern ones. In soils with a pH value of the soil environment close to neutral reaction, the level of enzymatic activity is higher than in more acidic ones. The most sensitive to soil acidity among the studied urease enzymes. In relation to zinc, an inverse correlation was established between its content in the soil and the level of invertase activity. According to the degree of resistance to salinity, the enzymes are arranged in the following order: catalase > invertase > urease. An increase in the mineralization of the soil solution leads to an increase in the activity of urease. Of the studied enzymes, the most labile are representatives of the class of hydrolases (invertase and urease), less labile are oxidoreductases (catalase). Thus, when diagnosing the state of the soil by the level of enzymatic activity, it is necessary to take into account the main abiotic factors affecting the activity of enzymes: the average annual air temperature; pH and mineralization of the soil solution; the content of substances that inhibit microorganisms and block exozymes.

Keywords: enzymatic activity ♦ catalase ♦ invertase ♦ urease ♦ abiotic factors ♦ average annual temperature ♦ soil type ♦ acidity ♦ zinc ♦ salinity

Поступила в редакцию: 23.07.2021

DOI: 10.31163/2618-964X-2021-4-2-128-134

ВВЕДЕНИЕ

Среди показателей экологического состояния почв ферментативная активность является одним из ключевых параметров [Kolesnikov et al., 2019]. В настоящее время наиболее хорошо изученными являются ферменты, относящиеся к классу оксидоредуктаз и гидролаз. Они участвуют в основных процессах гумификации почв, поэтому их активность

является признаком окультуренности почв [Поволоцкая, 2020]. Проводя оценку антропогенной нагрузки по биологическим критериям рекомендуется определять активность не менее одного фермента из каждой группы, например, из оксидаз – каталазу, из карбогидраз – инвертазу, из амидаз – уреазу [Amat et al., 2021]. Авторами отмечается лабильность активности почвенных ферментов и часто трудно интерпретируемые зависимости «уровень загрязнения – активность фермента» [Bünemann et al., 2018]. В связи с этим изучение причин вариабельности реактивности ферментов является актуальной задачей, решение которой направлено на объективную диагностику экологического состояния почв.

Цель работы – определение вариабельности активности каталазы, инвертазы и уреазы в ответ на основные абиотические факторы – температуру, рН и минерализацию почвенного раствора, концентрацию блокаторов ферментов (на примере цинка).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Пробы почв были отобраны «методом конверта» в июле-августе 2015-2016 гг., высушены до воздушно-сухого состояния без нагревания, гомогенизированы. Исследования включали установление действия отдельных эдафических и химических факторов, которые могли бы потенциально влиять на уровень ферментативной активности почв. Для этого в пробах почвы было определено содержание органического вещества ($C_{орг}$) спектрофотометрическим методом; рН солевой вытяжки из проб почвы (pH_{KCl}) потенциометрическим методом; засоленность по электропроводности водных вытяжек из почв кондуктометрическим методом [ГОСТ 26213-91; ГОСТ 26483-85; ГОСТ 26423-85]. Характеристика образцов представлена в таблице 1.

Таблица 1. Исследуемые почвенные образцы и их характеристики

№ образца	Регион РФ	Тип почвы/ природная зона	Среднегодовая температура, ($tp5.ru$)	pH_{KCl}	$C_{орг}$
1	Республика Коми	Дерново-подзолистая/ тайга	+2.9	4.2±0.1	1.6±0.3
2	Кировская область	Дерново-подзолистая/ тайга	+4.1	5.5±0.1	1.3±0.2
3	Республика Марий Эл	Дерново-подзолистая/ смешанные леса	+5.6	5.4±0.1	2.1±0.4
4	Нижегородская область	Серая лесная/ смешанные леса	+5.8	5.4±0.1	1.4±0.3
5	Чувашская Республика	Серая лесная/ смешанные леса	+6.6	5.6±0.1	5.6±0.6

Для демонстрации вклада загрязнения почвы цинком в вариабельность ферментативной активности с исследуемыми почвенными образцами был проведен дополнительный модельный эксперимент. В химически инертных сосудах почва культивировалась 14 суток с дополнительной химической нагрузкой – внесением 25,5 мг и 255,0 мг цинка на 1 кг сухой почвы (в пересчёте на химический элемент). Модельный токсикант – хелат цинка (ЭДТА Zn 15%). Засоленность почвы моделировали аналогичным образом путём внесения избыточной дозы минерального удобрения состава $N_{24}P_6K_6S_2$. Почва увлажнялась до естественного состояния (влажность 60%). Контролем служила почва

без добавок.

Далее определяли уровень ферментативной активности почвы. Активность каталазы была определена газометрическим методом по А. Ш. Галстяну путём учёта количества выделившегося молекулярного кислорода. Инвертазную и уреазную активность измеряли колориметрическим методом путём учёта количества редуцирующих гексоз, образующихся при гидролизе сахарозы и учёта количества ионов аммония с реактивом Несслера соответственно [Практикум ... , 2001]. Ферментативную активность почв оценивали по шкале Гапонюк-Малахова (табл. 2).

Таблица 2. Шкала сравнительной оценки биологической активности почвы (Э.И. Гапонюк и С.В. Малахов)

Биологическая активность почвы	Каталаза, $\text{см}^3 \text{O}_2 \text{г}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$	Инвертаза, $\text{мг C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \text{г}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$	Уреаза, $\text{мг N-NH}_3 10 \text{г}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$
Очень слабая	<1	<5	<3
Слабая	1–3	5–15	3–10
Средняя	3–10	15–50	10–30
Высокая	10–30	50–150	30–100
Очень высокая	>30	>150	>100

Результаты обрабатывались статистически с вычислением среднего арифметического, стандартного отклонения, достоверной разницы между сравниваемыми образцами (по t-критерию Стьюдента), проводился анализ с вычислением коэффициента корреляции Пирсона (r).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Пробы почвы исследуемой выборки, согласно шкалы сравнительной оценки биологической активности почвы, были слабо обеспечены каталазой; средне и высоко обеспечены инвертазой; средне и очень высоко обеспечены уреазой (рис. 1 а, б, в).

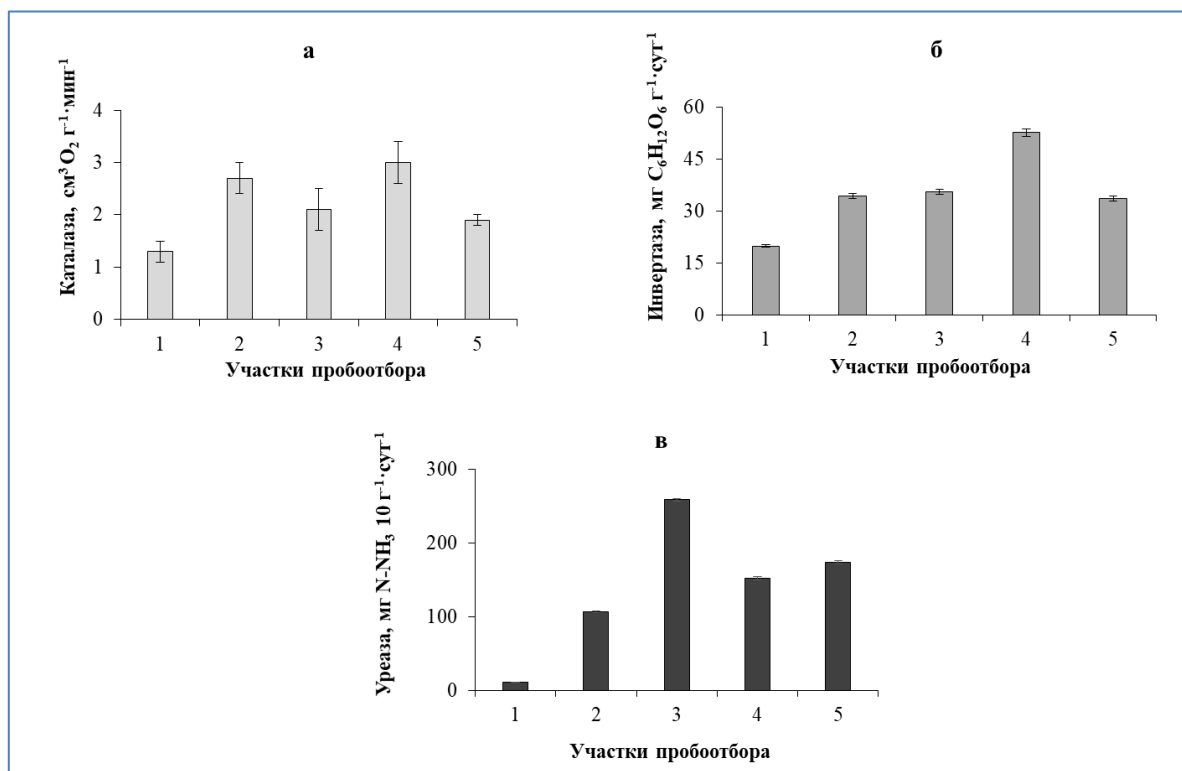


Рис. 1. Каталазная (а), инвертазная (б) и уреазная (в) активность проб почвы, отобранных в различных климатических зонах.

Для разграничения влияния эдафических факторов на ферментативную активность почв проводили дисперсионный анализ данных. Наибольший уровень ферментативной активности установлен в пробах почвы, отобранных на участках, территориально расположенных южнее и характеризующихся более высокими значениями среднегодовых температур воздуха. Следует отметить, что влияние фактора зонального расположения исследуемой территории на уровень активности инвертазы ($F = 6,3$; $p = 0,0194$) и уреазы ($F = 7,87$; $p = 0,0106$) в почве было более значимым, чем влияние типа почвы ($F = 0,08$; $p = 0,7775$ и $F = 1,23$; $p = 0,2956$ соответственно). Однако следует отметить, что в дерново-подзолистых почвах (участки №№ 1, 2, 3) значения уровня активности ферментов варьировали в более широком диапазоне, чем в серых лесных (участки №№ 4, 5).

Чёткой зависимости между уровнем активности исследованных ферментов и содержанием в почве органического вещества не было выявлено.

Значения pH солевых вытяжек из проб почвы участков №№ 1–5 варьировали от 4,2 (очень сильнокислые) до 5,6 (близкие к нейтральным по шкале Корнилова, 1947 г.). При этом отмечали наличие тесной корреляционной связи между значениями данного параметра и уровнем ферментативной активности почвы. В случае каталазной активности коэффициент корреляции (r) составил 0,69; инвертазной – $r = 0,67$; уреазной – $r = 0,76$. В отличие от каталазы и инвертазы, влияние кислотности на уреазную активность проб почвы было более выраженным. При значениях pH среды, близких к нейтральной реакции, уровень обеспеченности почвы уреазой был значительно выше, чем в более кислой среде.

В качестве химического агента, который способен блокировать активность почвенных ферментов, нами был выбран цинк. В большинстве исследованных проб почвы достоверных различий в уровне каталазной и уреазной активности под действием 25,5 и 255,0 мг/кг цинка не было выявлено (рис. 2 а, в). Отмечали как снижение активности данных ферментов под действием более высокой дозы цинка в опыте, так и её повышение. Обеспеченность почвы каталазой и уреазой при действии возрастающих доз цинка при этом не изменялась.

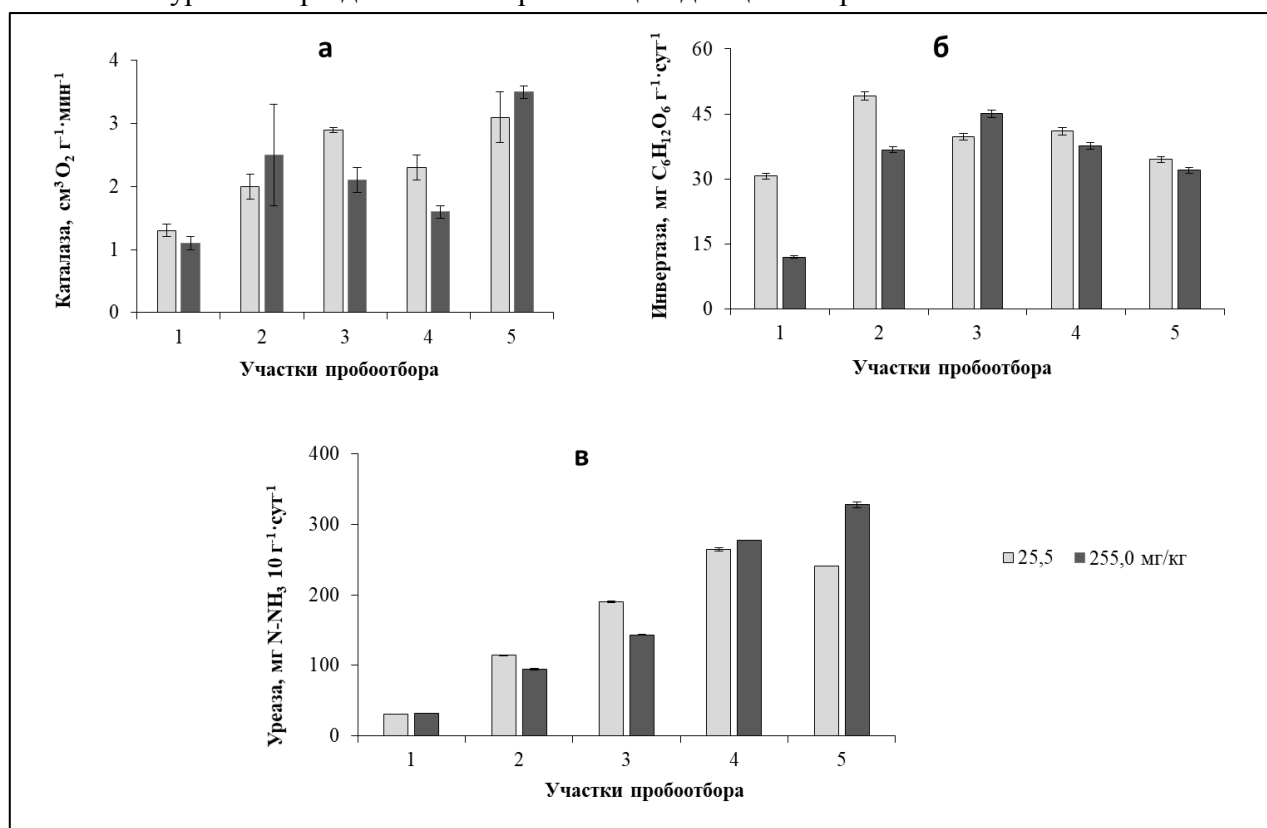


Рис. 2. Влияние цинка на каталазную (а), инвертазную (б) и уреазную (в) активность почвы.

В отличие от каталазы и уреазы, инвертаза была более чувствительна к действию цинка ферментом. Для всех исследованных проб за исключением почвы, отобранной на участке № 3, отмечали снижение уровня активности инвертазы при увеличении дозы цинка в почве (рис. 2 б). При действии наименьшей исследуемой в опыте дозы цинка (25,5 мг/кг) инвертазная активность изменялась в пределах значений, характерных для категории «средне обеспеченные», а под действием наиболее высокой дозы (255,0 мг/кг) – «слабо обеспеченные».

Помимо концентрации цинка в число рассматриваемых факторов абиотической природы входила засоленность. Исследуемую выборку при оценке влияния данного фактора составляли две пробы. По степени обеспеченности ферментами, они были отнесены к категории «слабо обеспеченные» в случае каталазной активности и «средне обеспеченные» в случае инвертазной и уреазной активности (табл. 3).

Таблица 3. Зависимость ферментативной активности почвы от засоленности

Электропроводность, мкСм/см	Активность фермента		
	Каталаза, см ³ O ₂ г ⁻¹ ·мин ⁻¹	Инвертаза, мг C ₆ H ₁₂ O ₆ г ⁻¹ ·сут ⁻¹	Уреазы, мг N-NH ₃ 10 г ⁻¹ ·сутки ⁻¹
47.3	1.4±0.1	18.8±0.5	11.6±0.1
1013.5	1.3±0.1	19.9±0.6	15.6±0.3

Несмотря на то, что уровень засоленности проб почвы отличался на два порядка, достоверных различий в уровне каталазной и инвертазной активности не было выявлено. Для уреазы фиксировали увеличение её активности с ростом засоленности почвы, что возможно связано с увеличением концентрации азотсодержащих соединений в почве. Установление зависимости между активностью почвенных ферментов и засоленностью требует дальнейшего уточнения в более масштабных опытах.

ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно данным литературы активность каталазы в почвах южных территорий выше, чем в северных [Елисеева, 2018]. По результатам наших исследований уровень каталазной активности почв не зависел от данного фактора, что возможно связано с действием неучтенных, более значимых факторов. Данная проблема неоднократно обсуждалась в работах, посвящённых исследованиям ферментативной активности почвы [Горобцова и др., 2017]. В целом обнаруживаемый уровень активности ферментов в почвах южных территорий, был выше чем в северных. Особенно отчётливо это прослеживалось на примере инвертазы и уреазы.

Известно, что реакция среды оказывает существенное влияние на окислительно-восстановительные процессы, протекающие в почвах, в том числе при участии ферментов. При этом для действия каждого фермента требуется оптимальное значение pH среды, в основном близкое к нейтральной и слабокислой реакции [Хазиев, 2018]. Согласно полученным данным в почвах, характеризующихся pH среды близкой к нейтральной реакции, активность ферментов была выше, чем в более кислой. Среди исследованных ферментов наиболее чувствительной к кислотности почвенной среды оказалась уреазы.

Корреляционной зависимости между содержанием цинка в почве и уровнем активности ферментов, за исключением инвертазы, не было выявлено. Для инвертазы установлено снижение уровня активности с увеличением концентрации цинка в почве до 255,0 мг/кг. Полученные данные согласуются с результатами других исследований

[Baikhamurova et al., 2020].

По степени устойчивости к засолённости, ферменты располагаются в следующий ряд: каталаза > инвертаза > уреазы. Повышение минерализации почвенного раствора чаще всего ведёт к увеличению активности инвертазы и уреазы. Наиболее чувствительна к засолённости почвы уреазы, что согласуется с данными литературы о тесной корреляционной связи между содержанием в почве минерального азота и активностью уреазы [Ямалтдинова и др., 2019]. Однако чаще всего для большинства, используемых в почвенной диагностике ферментов, отмечается снижение их активности при увеличении степени засолённости почв [Горобцова и др., 2017].

Из исследуемых ферментов наиболее лабильны представители класса гидролаз (инвертаза и уреазы). Активность каталазы (класс оксидоредуктаз) – менее информативный показатель при оценке действия рассмотренных химических факторов, что согласуется с результатами других исследований [Малюкова, Струкова, 2019].

Таким образом, результаты проведенной работы показали, что абиотические факторы влияют на активность почвенных ферментов, но не в равной мере. Повышенная активность ферментов наблюдалась в почвах, отобранных в районах с большей теплообеспеченностью, а также в почвах, отличающихся уровнем рН, близким к нейтральным. Связи между накоплением в почве органического вещества и активностью каталазы, уреазы и инвертазы не выявлено. Ферментативная активность, безусловно, зависит от наличия в почве загрязняющих веществ, влияющих на микроорганизмы и экзопродукты их жизнедеятельности – почвенные ферменты. Эти реакции зависят от сочетания факторов: химическая природа токсиканта, доза токсиканта, форма нахождения токсиканта в почвенном растворе, особенности фермента – реципиента воздействия.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Горобцова О.Н., Улигова Т.С., Темботов Р.Х., Хакунова Е.М. Оценка уровня биологической активности агрогенных и естественных черноземов Кабардино-Балкарии // Почвоведение. 2017. № 5. С. 614–623. DOI: 10.7868/S0032180X17030042
2. ГОСТ 26213-91 «Почвы. Методы определения органического вещества». Москва: Изд-во стандартов, 1992. 8 с.
3. ГОСТ 26483-85 «Почвы. Приготовление солевой вытяжки и определение ее рН по методу ЦИНАО». – Москва: Изд-во стандартов, 1985. 6 с.
4. ГОСТ 26423-85 «Почвы. Методы определения удельной электрической проводимости, рН и плотного остатка водной вытяжки». – Москва: Стандартиформ, 2011. 8 с.
5. Елисеева М.В. Биологическая активность почв асимметричных склонов степного Предуралья // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2018. Т. 20. № 5-2(85). С. 287–293.
6. Малюкова Л.С., Струкова Д.В. Оценка уровня агрогенного воздействия на почвы чайных плантаций посредством анализа их ферментативной активности // Новые технологии. 2019. № 3(49). С. 164–172. DOI: 10.24411/2072-0920-2019-10315
7. Поволоцкая Ю.С. Общее представление о почвенных ферментах // Международный журнал гуманитарных и естественных наук. 2020. Т. 1–1(40). С. 21–23. DOI: 10.24411/2500-1000-2020-10005

8. Практикум по агрохимии: учеб. пособие. / Под ред. академика РАСХН В. Г. Минеева. М.: Изд-во МГУ, 2001. 689 с.
9. Хазиев Ф.Х. Экологические связи ферментативной активности почв // Экобиотех. 2018. Т. 1 (2). С. 80–92. DOI: [10.31163/2618-964x-2018-1-2-80-92](https://doi.org/10.31163/2618-964x-2018-1-2-80-92)
10. Ямалтдинова В.Р., Завьялова Н.Е., Субботина М.Г. Влияние длительного применения систем удобрений на агрохимические и биологические показатели дерново-подзолистой почвы среднего Предуралья // Пермский аграрный вестник. 2019. №3(27). С. 95–101.
11. Amat D., Thakur J.K., Mandal A. et al. Microbial Indicator of Soil Health: Conventional to Modern Approaches // Part of the Microorganisms for Sustainability book series MICRO. Rhizosphere Microbes. 2021. V. 23. P. 213–233.
12. Baikhamurova M.O., Yuldashbek D.H., Sainova G.A., Anarbekova G.D. Change of catalase and urease activity at high content of heavy metals (Pb, Zn, Cd) in serozem // European Journal of Natural History. 2020. № 3. P. 70–73.
13. Bünemann E.K., Bongiorno G., Bai Z. et al. Soil quality – A critical review // Soil Biology and Biochemistry. 2018. V. 120. P. 105–125. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.01.030>
14. Kolesnikov S.I., Kazeev K.Sh., Akimenko Yu.V. Development of regional standards for pollutants in the soil using biological parameters // Environmental Monitoring and Assessment. 2019. V. 191. Art. 544. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10661-019-7718-3>