

УДК 581.93:502.72(292.471)

ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЧВ С УЧЕТОМ СЕЗОННОЙ ДИНАМИКИ В ПРЕДГОРНОЙ ЗОНЕ КРЫМА

Славинская А. В.^{1,2}, Ивашов А. В.¹, Кобечинская В. Г.¹, Громенко В. М.¹,
Якубовская А. И.², Каменева И. А.², Гритчин М. В.²

¹Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский Федеральный университет им. В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма», Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: alina.slav.98@mail.ru

Выполнено исследование биологической активности почв предгорного Крыма, что позволило выявить сезонную динамику ряда ферментов: каталазы, пероксидазы и полифенолоксидазы, которые принимают участие в образовании гумуса и подвижных соединений, необходимых для питания растений. Установлено, что антропогенные факторы оказывают сильное воздействие на эти параметры, замедляя процессы гумификации. Наиболее высокие показатели по содержанию данных ферментов установлены в почвах старовозрастных листовых лесополос, самые низкие отмечены на сельхозугодьях (пашня), сосновые лесополосы и целинная степь занимают промежуточное положение. Следует отметить, что сезонная динамика накопления этих ферментов в почвах пробных площадей имеет также свою специфику, на которую оказывают влияние как абиотические факторы (влагообеспеченность и температурный режим), так и интенсивность воздействия на них техногенных факторов, которые замедляют микробиологическую и ферментативную активность почвенного покрова.

Ключевые слова: почвы, физико-химические показатели, активность ферментов, каталаза, пероксидаза, полифенолоксидаза, предгорный Крым.

ВВЕДЕНИЕ

Почвенная энзимология изучает широкий круг вопросов: природу биокаталитической способности почвы, происхождение, локализацию, состояние, состав и активность ферментов в ней; участие их в трансформации высокомолекулярных органических веществ, в образовании гумуса и подвижных соединений, необходимых для питания растений. Следовательно, выявление взаимоотношений компонентов в системе почва-ферменты-микроорганизмы-растение (корни) позволяют раскрыть роль ферментов при мониторинге функционирования почвы как центрального звена наземных экосистем.

Показатели ферментативной активности почв широко применяются в почвенно-генетических исследованиях, а также при решении прикладных задач, связанных с плодородием, оценкой эффективности агротехнологий и интенсивности воздействия на почвенный покров техногенных факторов. Интенсивность гумификационных процессов в значительной степени зависит от уровня антропогенной нагрузки [1–3]. Важна также возможность оценки прошлой

биохимической активности микроорганизмов в связи с тем, что выделяемые ими ферменты способны иммобилизоваться и накапливаться в почве в активном состоянии и, при создании соответствующих условий, проявлять специфические биокаталитические функции. Вышеуказанная проблематика обусловила выбор темы исследования и ее актуальность.

К настоящему времени в почве тестированы на наличие активности около 60 ферментов (известно более 2500 ферментов) и разработаны методы определения их активности [4].

Задачами данного исследования было выявить уровень ферментативной активности почв на четырех пробных площадях с разным уровнем антропогенного воздействия на них, а так же установить особенности ферментативной активности почв на этих участках с учетом сезонной динамики, что выполнено впервые для данного региона.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследования были взяты старовозрастные лесополосы разных пород: участок № 1 – хвойной и участок № 2 – лиственной, сельхозугодия – № 3 (пашня, с произрастающей здесь озимой пшеницей) и как контрольный – участок № 4 с ненарушенным почвенным профилем (слабо косиная целинная степь) (рис. 1).



Рис. 1. Места взятия почвенных проб вблизи г Симферополя [5].

Благодаря тому, что пробы с учетных площадей брались в сезонной динамике, это позволило проследить переменные параметры ферментативной активности. Пробы брались в трехкратной повторности. Площадки располагались в предгорной части полуострова в 7–8 км к северо-востоку от г. Симферополь (табл. 1.).

Таблица 1

Общая характеристика пробных площадей с размерами

№ п/п	Пробная площадь	Размеры
1	Хвойная лесополоса из сосны крымской	1,24 га
2	Лиственная лесополоса из гледичии	2,2 га
3	Пашня (озимая пшеница)	49,4 га
4	Целинная степь (слабо косимая)	13,0 га

Высота месторасположения пробных участков – около 180–190 м над уровнем моря. Гледичиевая лесополоса – № 2 расположена поперек нижней части склона, разграничивая поле озимой пшеницы – № 3 от косимой целинной степи. Сосновая лесополоса – № 1 простирается вдоль склона, соприкасаясь с гледичиевой полосой в её срединной части. Отбор проб производился зимой – в феврале, летом – в июле и осенью – в ноябре, (утром с 8:00 до 11:00 ч.), т.к. ферментативная активность динамична как по сезонам года, так и времени суток. Это связано с изменением температуры и влажности почвы. Пробы отбирались с разной глубины почвенного разреза – горизонт А – 0–10 см и горизонт В – 10–20 см со всех участков.

Почвенные образцы отбирались согласно требованиям, которые предъявляются к почвенно-микробиологическим исследованиям [6]. Предварительно делали подробные записи в дневнике с указанием района исследований, описанием выбранного места закладки разреза, участка или опытного поля (рельеф, растительность, предшествующие культуры, агротехника, внесение удобрений) с подробной характеристикой почвенного покрова и его разреза. При изучении ферментативной активности под различной растительностью образцы почвы нужно брать из зоны ризосферы и вне ризосферы по фазам развития растений. Следует учесть, что в целинных почвах и под многолетними травами максимальная ферментативная активность обнаруживается в слое 0–5 или 0–7 см, с глубиной она сильно уменьшается. После каждой делянки орудия взятия образцов (лопата, бур, нож) тщательно очищаются. Образцы до исследования в лаборатории хранят в холодильнике при 4 °С, при этих условиях ферментативная активность проб изменяется незначительно. Свежие образцы помещают в полиэтиленовые мешки или герметически закрытые сосуды. Эффективно хранение почв и в замороженном состоянии [4]. Перед анализами почву тщательно очищают от корней растений и других растительных остатков, камней и прочих включений. В свежих образцах почв необходимо разрушать структурные агрегаты, так как ферменты, находящиеся внутри водонепроницаемых агрегатов, не смогут реагировать с субстратом. Для этого

навеску почвы увлажняют небольшой аликвотой применяемого при анализе буферного раствора и растирают до пастообразного состояния резиновым пестиком. При взятии навески почвы нужно брать среднюю пробу, поскольку микроагрегаты характеризуются более высокой активностью, чем макроагрегаты. Ферментативную активность определяют в нескольких повторностях.

Для определения каталазной активности почвы была использована модификация метода А. Ш. Галстяна [7]. Активность пероксидазы (ПО) и полифенолоксидазы (ПФО) определяли по методу А. О. Грицаенко, В. П. Карпенко [8]. При вычислении окончательных результатов проводилась статистическая обработка данных [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ полученных результатов выявил, что ферментативная активность почв пробных площадей с учетом антропогенного воздействия на них в сезонной динамике существенно отличается. На биологическую активность почв большое влияние оказывают температура и влажность [10, 11]. Гидротермические условия почв при отборе с участков № 1 и № 2 значительно отличаются, т.к. они находятся под пологом деревьев, особенно в горизонте А, а участки № 3 и 4 – открытая местность, слабо затененная травянистой растительностью.

Наименьшая ферментативная активность на этих пробных участках, отмечена в зимний период (рис. 2, рис. 3), что согласуется с данными исследователей из иных регионов страны [12, 13 и др.]. При отрицательных значениях температуры активность ферментов практически не проявляется. По нашим материалам в зимний период наиболее высокая ферментативная активность почв по каталазе выявлена в гледичиевой лесополосе ($6,13 \pm 0,07$ см³О₂/г почвы), по пероксидазе (1,84 мг/ кг почвы) и полифенолоксидазе (1,4 мг/100 г почвы) – в сосновой лесополосе. Представляет интерес проведение более детального анализа распределения каталазы в почвенных образцах по горизонтам. В верхнем слое (0–10 см) в целинной степи (рис. 2), благодаря открытому пространству с сильными ветровыми потоками и очень слабой дерниной, которая здесь сохранилась фрагментарно из-за периодического сенокосения, происходит более глубокое промерзание почвы. Поэтому содержание фермента каталазы низкое – 4,30 см³/г, с глубиной снижаясь до 0,90 см³/г по сравнению с образцами, взятыми в лесополосах (уч. № 1 – 5,27 см³/г и уч. № 2 – 5,77 см³/г). Самые высокие величины каталазы выявлены на глубине 10–20 см в лиственной лесополосе (рис. 3) – уч. № 2 (6,13 см³/г), что обусловлено мощным лиственным опадом, сохраняющимся здесь до следующего сезона и обеспечивающего более благоприятный термический режим почв под пологом. В убывающем порядке следует участок № 3 – 6,00 см³/г.

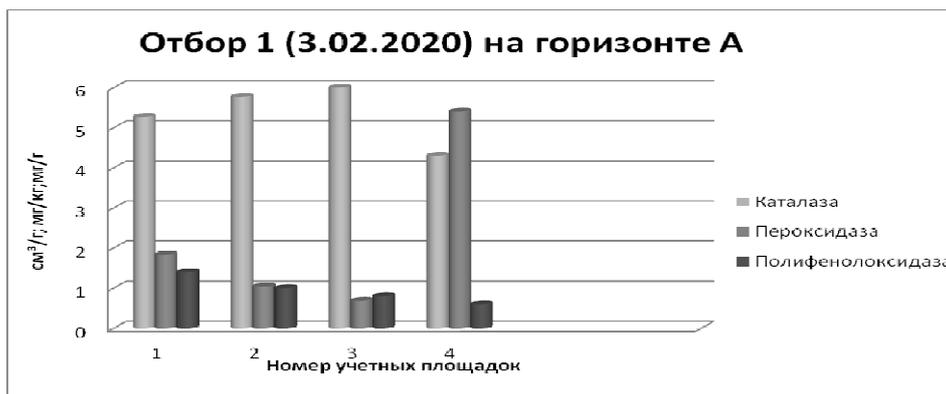


Рис. 2. Активность каталазы, пероксидазы, полифенолоксидазы в предгорной зоне Крыма в зимний период (2020 г).

Несколько иная динамика распределения, в образцах, фермента пероксидазы. Здесь на первом месте по показателям в верхнем горизонте (рис. 2) следует целинная степь – 5,40 мг/ кг, далее сосновая лесополоса (уч.1 – 1,84 мг/ кг), самые низкие показатели в гледичиевой лиственной лесополосе (уч № 2) по всему профилю (в горизонте А – 1,04 мг/ кг и в горизонте В – 1,12 мг/ кг). Наименьшие значения этого фермента выявлены на участке целинная степь и пашня (с глубиной залегания больше 10 см) (рис. 3) 0,50 мг/ кг и 0,69 мг/ кг соответственно. Показатели полифенолоксидазы не отличаются сильной вариабельностью по всем участкам в зимний период, показывая сходные низкие значения.



Рис. 3. Активность каталазы, пероксидазы, полифенолоксидазы в предгорной зоне Крыма в зимний период (2020 г).

Напротив, в летний и наиболее жаркий месяц – июль при не экстремальных значениях температур в период отбора проб (температура – +26⁰ С и влажность – 57 %), динамика иная. По ферменту каталаза она сохраняется и летом по всем

участкам, а по пероксидазе наиболее значительный показатель (рис. 4) выявлен под лиственной лесополосой (уч. № 2) – 7,54 мг/ кг почвы. Значит, для формирования данного фермента ограничивающим фактором выступает влажность и температура нагрева поверхности почвенного покрова. Для полифенолоксидазы в летний сезон (рис. 4, рис. 5), на всех участках, величины очень близки (9,4–10,6 мг/100 г почвы), поэтому на образование данного фермента в меньшей степени влияют климатические абиотические факторы, хотя именно в этот период она образуется наиболее активно по почвенному профилю.



Рис. 4. Активность каталазы, пероксидазы, полифенолоксидазы в предгорной зоне Крыма в летний период (2020 г).



Рис. 5. Активность каталазы, пероксидазы, полифенолоксидазы в предгорной зоне Крыма в летний период (2020 г).

В конце осени образование данного фермента, по нашим данным, резко замедляется почти в 3 раза (рис. 6, рис. 7). Каталазная активность всех почвенных образцов в осенний период находится в близком диапазоне от 5,53 до 7,37 см³/г. Минимальное значение (рис. 6) (5,53 см³/г) отмечено на участке № 1 в сосновой лесополосе, а максимальное (7,37 см³/г) – гледичиевой. Промежуточное положение

заняли целинная степь и пашня со значениями 6,27 см³/г и 6,20 см³/г соответственно. Участок гледичиевой лосополосы очень интересен тем, что на нем помимо максимального значения каталазной активности, в этот период года, отмечается и максимальная пероксидазная активность (75,04 см³/г) (рис. 6). Такие значительные биохимические показатели, резко выделяющиеся на фоне остальных пробных участков, свидетельствуют о наиболее высокой интенсивности процессов гумификации – одной из важнейших экологических функций почвы, имеющей значение для поддержания ее плодородия [14]. Все показатели полифенолоксидазы в верхнем горизонте (рис. 6) близки по участкам – 3,0–3,6 мл/г, но на фоне очень высокой пероксидазной активности под гледичиевой лесополосой, обращает на себя внимание снижение величины полифенолоксидазы – 2,2 мл/г в нижнем горизонте (рис. 7). Допускаем, что резкая активизация образования одного фермента, замедляет процессы формирования другого, но это предположение требует дополнительных исследований, что мы и планируем в дальнейшем.



Рис. 6. Активность каталазы, пероксидазы, полифенолоксидазы в предгорной зоне Крыма в позднесенний период (2020 г).

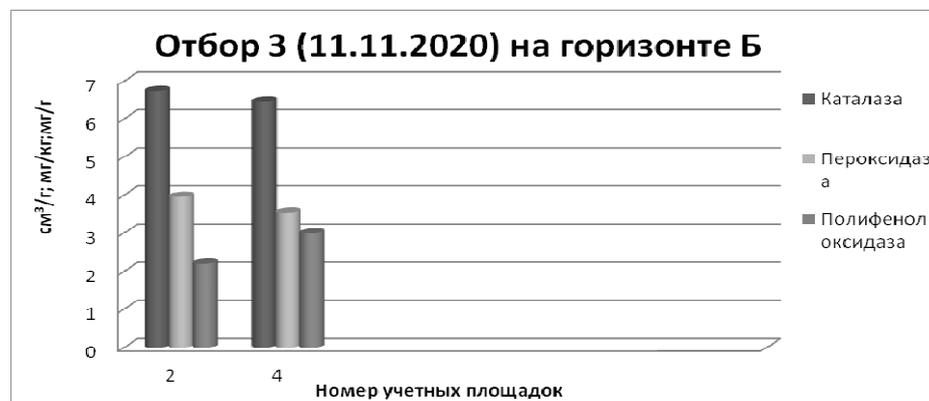


Рис. 7. Активность каталазы, пероксидазы, полифенолоксидазы в предгорной зоне Крыма в позднесенний период (2020 г).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследования по изучению ряда ферментов почв: каталазы, пероксидазы и полифенолосидазы, выполненные на пробных участках, отличающихся разной величиной антропогенного воздействия на них в предгорной зоне Крыма, позволили установить ряд закономерностей, как выявляющих сезонную динамику их образования и распада в течение года, так и значительную вариабельность их формирования. Выбор их в качестве объектов обусловлен тем, что данные ферменты являются ведущими индикаторами активности почвообразовательных процессов. Контрастность почв объектов исследования: лесополос – хвойной и лиственной, пашни и целинной степи без нарушения почвенного покрова, позволили установить как их биокаталитическую активность, так и сопряженную динамику образования и разрушения ферментов в течение года. В зимний период с учетом температурного режима, наиболее высокие показатели из изученных ферментов выявляет каталаза, для полифенолосидазы эти величины минимальны. Наиболее высокие, в это время, значения пероксидазы именно в ненарушенном почвенном покрове (уч. № 4 – целинная степь). В летний период наибольшую активность проявляет формирующаяся полифенолосидаза, резко активизирующая почвообразовательные процессы при достаточно высоких температурах и низкой влагообеспеченности. В позднесенний период интенсивность образования ферментов резко снижается, за исключением пероксидазы и каталазы на участке лесополосы из гледичии, а по показателям полифенолосидазы лидирует участок с открытой местностью – степь. Возможно, данная динамика обусловлена значительным поступлением элементов питания в почву при образовании листового опада и его активной минерализации почвенной микрофлорой, что резко и активизирует данные процессы.

Список литературы

1. Boyd S. A. Enzyme interactions with clays and clay-organic matter complexes / S. A. Boyd, M. M. Mortland // *Soil Biochemistry*. – New York: Marcel Dekker, 1990 – P. 1–28.
2. Bandick A. K. Field management effects on soil enzyme activities / A. K. Bandick, R. P. Dick // *Soil Biol. Biochem.* – 1999 – Vol. 31, № 11 – P. 1471–1479.
3. Caldwell B. A. Enzyme activities as a component of soil biodiversity: A review / B. A. Caldwell // *Pedobiologia*. – 2005 – Vol. 49 – P. 637–644.
4. Хазиев Ф. Х. Методы почвенной энзимологии / Ф. Х. Хазиев. – М.: Наука, 1990. – 189 с.
5. Яндекс карты URL <https://yandex.ru/maps> (Дата обращения 14.11.20)
6. Звягинцев Д. Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии: учеб. пособие для почв. и агрохим. спец. ун-тов и с.-х. вузов / Звягинцев Д. Г., Асеева И. В., Бабьева И. П., Мирчинк Т. Г., Под ред. Звягинцева Д. Г. – М.: МГУ, 1980. – 224 с.
7. Галстян А. Ш. Определение активности ферментов почв / А. Ш. Галстян // *Почвоведение*. – 1978. – № 2. – С. 50–55.
8. Грицаенко З. М. Методи біологічних та агрохімічних досліджень рослин та ґрунтів / З. М. Грицаенко, А. О. Грицаенко, В. П. Карпенко – Киев: Нічлава, 2003. – 320 с.
9. Лакин Г. Ф. Биометрия. / Г. Ф. Лакин – М.: Высшая школа, 1978. – 343 с.
10. Хазиев Ф. Х. Системно-экологический анализ ферментативной активности почв / Ф. Х. Хазиев – М.: Наука, 1982. – 204 с.

11. Казеев К. Ш. Биogeография и биодиагностика почв юга России / Казеев К. Ш., Даденко Е. В., Денисова Т. В., Везденеева Л. С., Колесников С. И., Вальков В. Ф., Под ред. Казеева К. Ш. – Ростов-на-Дону: Ростиздат, 2007. – 226 с.
12. Козунь Ю. С. Влияние теневого эффекта Кавказа на биологическую активность почв / Ю. С. Козунь, К. Ш. Казеев, С. И. Колесников // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2013. – №3. – С. 439–456.
13. Богдевич И. М. Агрохимическая характеристика почв сельскохозяйственных земель Республики Беларусь (2007–2010). / Богдевич И. М. – Минск: Ин-т почвоведения и агрохимии, 2012. – 276 с.
14. Лапа В. В. Ферментативная активность дерново-подзолистых почв при разных уровнях применения удобрений / Лапа В. В. // Доклады нан Беларуси. – 2005. – №5. – С. 139–145.

ENZYMATIC ACTIVITY OF SOILS TAKING INTO ACCOUNT SEASONAL DYNAMICS IN THE FOOTHILL ZONE OF THE CRIMEA

Slavinskaya A. V.^{1,2}, Ivanov A. V.¹, Kobechinskaya V. G.¹, Gromenko V. M.¹, Yakubovskaya A. I.², Kameneva I. A.², Gritchyn M. V.²

V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russian Federation

²FSBSI «Research Institute of Agriculture of Crimea», Simferopol, Crimea, Russian Federation

E-mail: alina.slav.98@mail.ru

The soils of the Crimea are very diverse in their structure and physical and chemical characteristics, have different levels of fertility and form the land resources of the peninsula. Their fertility is affected by many factors, especially the biological activity of the soil. This is due to microbiocenosis, as the most sensitive component of the soil ecosystem. The soil is affected by many factors, including anthropogenic ones, which can affect the balance of its component composition.

Under the enzymatic activity is understood such a characteristic of the soil, which is formed due to the combination of the processes of receipt of enzymes from living organisms, stabilization and, subsequently, their activation in the soil. Due to the action of these enzymes, the nutrients bound in organic residues are transferred to a state that is biologically accessible to plants and microorganisms, and low-molecular-weight organic compounds are formed. The increase in enzymatic activity is usually accompanied by an increase in the total number of microorganisms, especially those groups that are adapted to the production of the corresponding enzymes. Soil enzymes exhibit extraordinary resistance to adverse conditions.

Methods of enzymologist, indicators of the enzymatic activity of soils are widely used in soil genetic studies. Thus in the territory of the foothill Crimea, 4 sites were identified for soil research: test site (TS) № 1 – pine forest belt, TS № 2 – gleditschia forest belt, TS № 3 – field, TS № 4 – steppe. Due to the fact that samples from the registered areas were taken in seasonal dynamics, this allowed us to trace the variable parameters of enzymatic activity. Samples were taken in three-fold repetition. The sites were located in the foothill part of the peninsula, 7–8 km north-east of Simferopol. The height of the location of the test sites is about 180–190 m above sea level.

The aim of this work was to study the features of the enzymatic activity of the soils of the Simferopol district. Sampling was carried out in winter-in February, in summer-in July and in autumn-in November (in the morning from 8:00 to 11:00 am), because the enzymatic activity is dynamic both by season and time of day. Samples were taken from different depths of the soil section-horizon A 0–10 cm and horizon B 10–20 cm from all sites. They were studied in the laboratory by physico-chemical methods with subsequent statistical processing.

Studies on a number of soil enzymes: catalases, peroxidases, and polyphenoloxidases, performed on test sites, differ in the amount of anthropogenic impact on them in the foothill zone of the Crimea. The choice of objects is due to the fact that these enzymes are the leading indicators of the activity of soil-forming processes. The contrast of the soils of the objects of study: forest belts – coniferous and deciduous, arable land and virgin steppe without disturbing the soil cover, allowed us to establish both the biocatalytic activity of the soil on them, and the associated dynamics of their formation and destruction during the year.

In winter, taking into account the temperature regime, the highest values of the studied enzymes are revealed by catalase, for polyphenol oxidase these values are minimal. The highest values of peroxidase at this time are in the undisturbed soil cover (plot № 4 – virgin steppe).

In the summer, the most active is the emerging polyphenol oxidase, which sharply activates the soil-forming processes at sufficiently high temperatures and low moisture availability.

In the late-autumn period, the intensity of the formation of enzymes decreases sharply, with the exception of peroxidase and catalase in the area of the forest belt from *Gledichia*, and in terms of polyphenol oxidase, the area with open terrain – steppe-leads. It is possible that this dynamics is caused by a significant supply of nutrients to the soil during the formation of leaf litter and its active mineralization by soil microflora, which dramatically activates these processes.

Keywords: soils, physico-chemical parameters, enzyme activity, catalase, peroxidase, polyphenol oxidase, foothill Crimea.

References

1. Boyd, S.A. Enzyme interactions with clays and clay-organic matter complexes, *Soil Biochemistry*, 1 (New York: Marcel Dekker, 1990).
2. Bandick A. K, Dick R. P. Field management effects on soil enzyme activities, *Soil Biol. Biochem.*, **31**, 11, 1471 (1999).
3. Caldwell, B.A. Enzyme activities as a component of soil biodiversity: A review, *Pedobiologia*, **49**, 637 (2005).
4. Khaziev F. H. *Methods of soil enzymology*, 189 (M: Nauka, 1990).
5. Yandex Maps URL <https://yandex.ru/maps> (Accessed 14.11.20).
6. Zvyagintsev D. G., Aseeva I. V., Babeva I. P., Mirchink T. G., ed. Zvyagintseva D. G. *Methods of soil microbiology and biochemistry: textbook. manual for soils. and agrochem. spec. universities and agricultural universities*, 224(M: MSU, 1980).
7. Galstyan A. S. *Determination of the activity of soil enzymes*, **2**, 50 (1978).
8. Gritsayenko Z. M., Gritsayenko A. A., Karpenko V. P. Karpenko V. P. *Methods of biological and agrochemical research of plants and soils*, 320 (Kiev: Nichlava, 2003).

9. Lakin G. F. *Biometrics*, 343 (Higher School, 1978).
10. Khaziev F. Kh. *System-ecological analysis of the enzymatic activity of soils*, 204 (M.: Nauka, 1982).
11. Kazeev K. sh., Didenko E. V., Denisova T. V., Vedeneeva L. S., Kolesnikov S. I., Valkov V. F., ed. Kazeeva K. Sh. *Biogeography and biodiagnostics of soils in the South of Russia*, 226 (Rostov-on-Don: Rostizdat, 2007).
12. Kozun Yu. S., Kazeev K. Sh., Kolesnikov S. I. Influence of the shadow effect of the Caucasus on the biological activity of soils, *Polythematic network electronic scientific Journal of the Kuban State Agrarian University*, **3**, 439 (2013).
13. Bogdevich I. M. *Agrochemical characteristics of soils of agricultural lands of the Republic of Belarus (2007–2010)*, 276 (Minsk: Institute of Soil Science and Agrochemistry, 2012).
14. Lapa V. V. Enzymatic activity of sod-podzolic soils at different levels of fertilizer application, *Reports of the National Academy of Sciences of Belarus*, **5**, 139 (2005).