

# БИОЛОГИЯ ГРУНТІВ

---

---

УДК 631.46

Е. В. Даденко, К. Ш. Казеев

## ИЗМЕНЕНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ОБРАЗЦОВ ПОЧВ ПРИ ИХ ДЛИТЕЛЬНОМ ХРАНЕНИИ

Є. В. Даденко, К. Ш. Казеев

*Ростовський державний університет*

### ЗМІНА ФЕРМЕНТАТИВНОЇ АКТИВНОСТІ ЗРАЗКІВ ГРУНТІВ ПРИ ЇХ ТРИВАЛОМУ ЗБЕРІГАННІ

Досліджено методичні аспекти визначення ферментативної активності ґрунтів. Виявлено, що зберігання ґрунтових зразків викликає значну зміну активності ферментів (каталази, інвертази та дегідрогенази). Ступінь зміни залежить від особливості ферменту, а також умов і термінів зберігання зразків ґрунту. Характер зниження ферментативної активності нелінійний. Максимум зниження спостерігається на початку терміну зберігання, потім зниження сповільнюється. Акцентується, що при використанні показників ферментативної активності зразків ґрунту, що зберігалися різно за часом, можливі методичні помилки при вивченні сезонних змін і моніторингу ґрунтів.

*Ключові слова: ґрунти, ферментативна активність, термін зберігання зразка.*

E. V. Dadenko, K. Sh. Kazeev

*Rostov State University, Rostov on Don, Russia*

### ENZYME ACTIVITIES CHANGES AT STORAGE OF SAMPLES OF THE SOUTH OF RUSSIA SOILS

In the present article the important methodological aspects of definition of soils enzymatic activities were investigated. It was founded that preservation of soils samples causes significant changes of ferments activities (catalase, invertase and dehydrogenase). Level of changes depends on a type of ferment as well as a storage conditions and periods. Pattern of enzymatic activity reduction is nonlinear. Peak of reduction fall at initial time of storage and then slowly decreases. Also it is important to remember that if laboratory analyses (enzymatic activities data) are not carried out immediately after sampling, they could be inexact. As a result, that could lead to mistakes in studying of seasonal changes and soil monitoring.

*Keywords: soils, enzymatic activity, term of soil samples storage.*

Одним из наиболее чувствительных методов диагностики возможных негативных процессов, протекающих в почвах, является уровень ферментативной активности. Многолетними исследованиями показана высокая эффективность применения ферментативной активности почв в качестве диагностического показателя (Галстян, 1974, 1978, 1982; Хазиев, 1976, 1982; Звягинцев, 1978; Гончарова, 1991; Абрамян, 1992; Казеев и др., 2003, 2004, 1996; Личко, 1998; Burns, 1977; Badiane, 2001). Этому способствует низкая ошибка опытов, простота определения, высокая чувствительность к внешним воздействиям. Кроме того, имеются предложения по использованию этого показателя в мониторинге.

---

© Даденко Е. В., Казеев К. Ш., 2006

При проведении экологических исследований важным является исключение возможности искажения полученных результатов и выводов вследствие отклонения в активности ферментов. При этом важным является вопрос устойчивости ферментативной активности при хранении почвенных образцов, так как не всегда имеется возможность провести лабораторные определения непосредственно после отбора образцов.

Согласно литературным данным (Галстян, 1974, 1978, 1982; Звягинцев, 1976), ферментативная активность относительно устойчива на протяжении ряда лет, в течение которых постепенно снижается. В 1974 и 1982 гг. А. Ш. Галстян отмечал, что ферменты воздушно-сухой почвы долго сохраняют первоначальную активность, затем она медленно снижается, причем в целинных почвах снижение больше. В течение 10 лет хранения в воздушно-сухом состоянии инактивация составила 10–60 % от первоначальной активности, 20 лет хранения привели к изменению активности на 40–90 % от первоначальной. Сравнительно устойчивым ферментом в почве является уреазы, затем инвертаза, а менее устойчивым – амилаза, промежуточное положение занимает каталаза.

Д. Г. Звягинцев с соавторами (1976) выявили, что высушивание и хранение почвенных образцов в течение 2,5 месяцев приводит к снижению активности ферментов. В воздушно-сухих образцах сохраняются основные закономерности изменения активности инвертазы, каталазы и уреазы по профилю почв, а также закономерности распределения суммарной активности этих ферментов по зональным почвенным типам. Потери активности дегидрогеназы и фосфатазы в результате высушивания и хранения образцов столь значительны и непостоянны, что результаты определения не позволяют судить об исходной величине активности ферментов в почве.

Нами ранее был установлен факт значительного снижения ферментативной активности почв при хранении образцов, особенно на начальных сроках хранения (Даденко, Казеев, 2001). Это обстоятельство требовало тщательной проверки и уточнения, в связи с чем были проведены дополнительные исследования, цель которых – изучение влияния хранения почвенных образцов на активность почвенных ферментов.

В качестве объектов исследования использованы различные почвы Юга России: чернозем обыкновенный (учхоз ДГАУ «Донское», Октябрьский р-н Ростовской обл.; ОПХ НИИ Сорго, Зерноградский р-н Ростовской обл.), чернозем южный (Орловский р-н Ростовской обл.) каштановая почва, солонец луговой, солончак гидроморфный и другие почвы (табл. 1).

Таблица 1

**Исследуемые почвы Ростовской области**

Местоположение	Горизонт	Глубина, см	Гумус, %	pH
Чернозем обыкновенный карбонатный (североприазовский)				
Учхоз ДГАУ, Октябрьский р-н	A <sub>d</sub>	0–10	7,3	6,5
Чернозем обыкновенный карбонатный (предкавказский)				
ОПХ Сорго; Зерноградский р-н	A <sub>пах</sub>	0–30	1,4	8,0
Чернозем южный				
Ростовский заповедник, Орловский р-н	A <sub>пах</sub>	0–30	3,2	7,8
Каштановая				
Там же	A <sub>пах</sub>	0–30	2,0	7,8
Солонец луговой				
--/	A	0–10	5,4	7,6
Солончак луговой				
--/	A <sub>cs</sub>	0–10	2,8	7,8

Изучена активность ферментов двух классов: оксидоредуктаз (каталаза, дегидрогеназа) и гидролаз (β-фруктофуранозидаса или инвертаза). По рекомендации А. Ш. Гал-

стяна (1978) активность инвертазы и дегидрогеназы изучали при естественном pH почвы. Активность каталазы и дегидрогеназы определяли по А. Ш. Галстяну (1978), инвертазы – по А. Ш. Галстяну с колориметрическим окончанием по Ф. Х. Хазиеву (1990). Для изучения влияния сроков и условий хранения почвенных образцов на активность ферментов определение ферментативной активности проводили в следующих вариантах: в воздушно-сухих образцах, хранимых при 1) комнатной и 2) низкой положительной (холодильник; +4 °С) температурах; естественно-влажных образцах, хранимых в условиях 3) низкой положительной и 4) отрицательной (морозильная камера; –5 °С) температур. Все данные по ферментативной активности почв приведены для воздушно-сухих образцов. При определении активности ферментов в образцах почв с естественной влажностью определяли влажность почвы для пересчета на массу воздушно-сухой почвы.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе ряда экспериментов установлен факт значительного снижения ферментативной активности при хранении образцов. За 50 лет хранения образцов черноземов обыкновенных карбонатных Ростовской области активность каталазы практически полностью инактивировалась, инвертазы снизилась на 50–80 %.

При 7-летнем хранении воздушно-сухих образцов почв предгорий Кавказа произошло снижение активности каталазы на 45–85 %, активность инвертазы снизилась на 25–80 %. Особенно сильная инактивация ферментов отмечена в верхних органо-генных горизонтах, содержащих гумуса до 20 % и более, а также большое количество растительных остатков (рис. 1). Изменения ферментативной активности в нижних минеральных горизонтах почв незначительны. Это связано как с изначально низкой активностью ферментов в нижних горизонтах, так и с маскированием изменения значительным содержанием неорганических катализаторов, которые играют достаточно высокую роль в катализе, особенно разложении перекисей (Зубкова, Карпачевский, 2001).

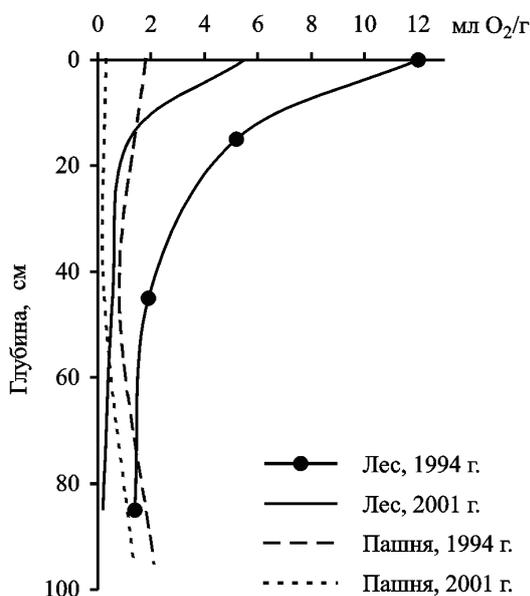


Рис. 1. Изменение активности каталазы бурой лесной почвы предгорий Западного Кавказа при 7-летнем хранении образцов

В 2001–2003 гг. был выполнен ряд экспериментов по выявлению особенностей изменения ферментативной активности при хранении образцов различных почв Юга России. Установлен сходный характер изменения ферментативной активности при

хранении образцов различных горизонтов (рис. 2). Активность каталазы при хранении снижается во всех исследуемых образцах (рис. 3). Характер снижения нелинейен, максимум его приходится на начальные сроки хранения, затем снижение замедляется. В различных почвах изменения носят сходный характер и в процентном отношении происходят приблизительно на одном уровне. Уже через 2 недели хранения активность фермента выходит на практически одинаковый уровень – 80–85 % от первоначальной активности. Через три месяца снижение активности в образцах составило 54–64 %, и в дальнейшем значительных изменений не происходило.

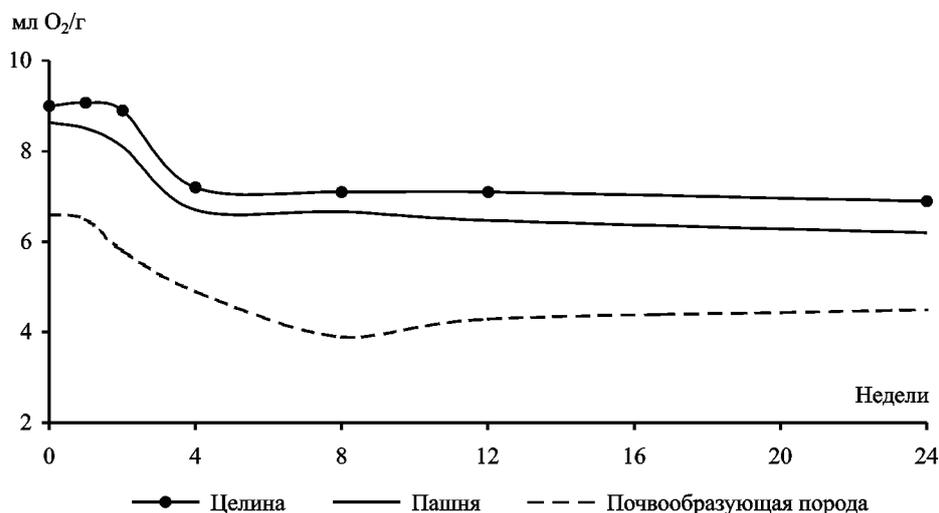


Рис. 2. Изменение активности каталазы в разных горизонтах чернозема обыкновенного учхоза «Донское» при хранении почвенных образцов в воздушно-сухом состоянии

Для большинства исследуемых почв на начальных сроках хранения (1–2 недели) отмечен скачок активности инвертазы, а затем ее снижение (рис. 3).

По данным *Pancholy S. K., Rice E. L. (1972)* и *Ross D. J. (1970)*, активность дегидрогеназы при хранении почвенных образцов очень изменчива и непредсказуема. В наших исследованиях ее активность также оказалась самым динамичным показателем. В течение первых двух месяцев хранения активность дегидрогеназы то падала, то резко возрастала (рис. 3). Начиная с третьего месяца значительных изменений активности дегидрогеназы не происходит, она достоверно не меняется или снижается незначительно.

После выявления факта значительного снижения ферментативной активности при хранении воздушно-сухих образцов встал вопрос о возможности хранения образцов в других условиях. Были проведены исследования с целью установления оптимальных условий хранения.

Активность каталазы в большинстве почвенных образцов, хранимых в холодильнике и морозильной камере, так же как и в воздушно-сухих образцах, снижается (рис. 4), к двум месяцам достигает примерно одного уровня – 40–50 % от первоначальной и в дальнейшем значительно не меняется. Также отмечено выравнивание активности в одних и тех же образцах, хранимых в различных условиях.

Изменение активности каталазы в воздушно-сухих образцах, хранимых в холодильнике, имеет схожий характер с изменениями в воздушно-сухих образцах, хранимых при комнатной температуре. В 80 % случаев не выявлено достоверных отличий между этими вариантами.

Для активности инвертазы в образцах, хранимых в холодильнике и морозильной камере, так же, как и в воздушно-сухом состоянии, отмечен пик активности на второй неделе хранения (рис. 5). Для инвертазы различия активности воздушно-сухих образцов, хранимых при комнатной температуре, и естественно-влажных образцов, храни-

мых в холодильнике, достоверны примерно в 60 % определений. Это связано с высокой ошибкой определения этого фермента, которая при определении активности в естественно-влажных образцах достигала 30 %.

В большинстве случаев в почвенных образцах, хранимых в условиях отрицательной температуры и низкой положительной температуры, наблюдается резкое понижение активности дегидрогеназы (60–70 %) в первые одну–две недели хранения. Далее, со второй недели хранения, отмечены волнообразные изменения ее активности. Начиная с третьего месяца, значительных изменений активности дегидрогеназы не происходит, она достоверно не меняется или снижается незначительно.

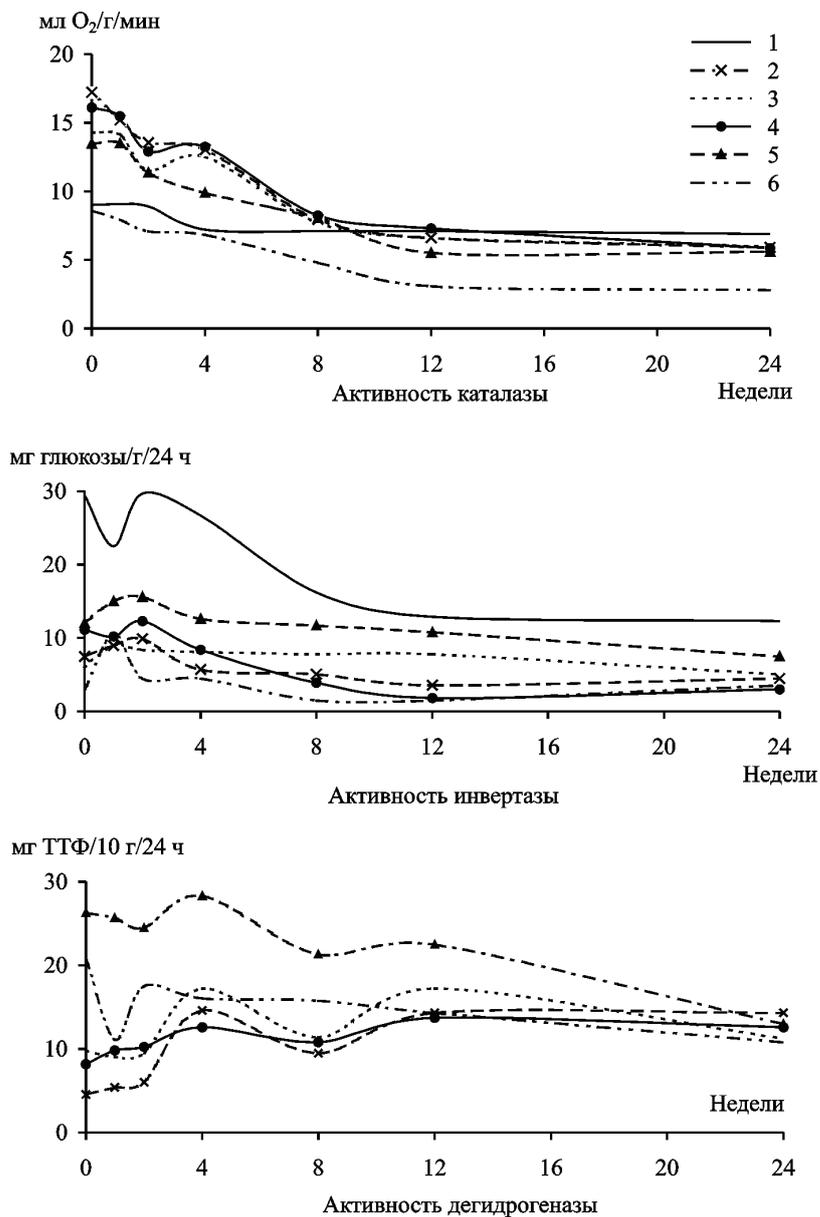


Рис. 3. Изменение ферментативной активности при хранении образцов верхних горизонтов различных почв Юга России в воздушно-сухом состоянии: 1 – чернозем североприазовский; 2 – чернозем предкавказский; 3 – чернозем южный; 4 – каштановая почва; 5 – солонец; 6 – солончак

Изменения активности каталазы почв Юга России меньше в естественно-влажных образцах, хранимых в условиях низких положительных температур. И только в северо-приазовском черноземе менее всего инактивируется активность каталазы в образцах, хранимых в воздушно-сухом состоянии. Минимум изменений активности инвертазы солонца, солончака и каштановой почвы приходится на воздушно-сухие почвенные образцы. Для всех черноземов он отмечен в естественно-влажных почвенных образцах, хранимых в холодильнике. Изменения активности дегидрогеназы менее всего выражены в воздушно-сухих образцах.

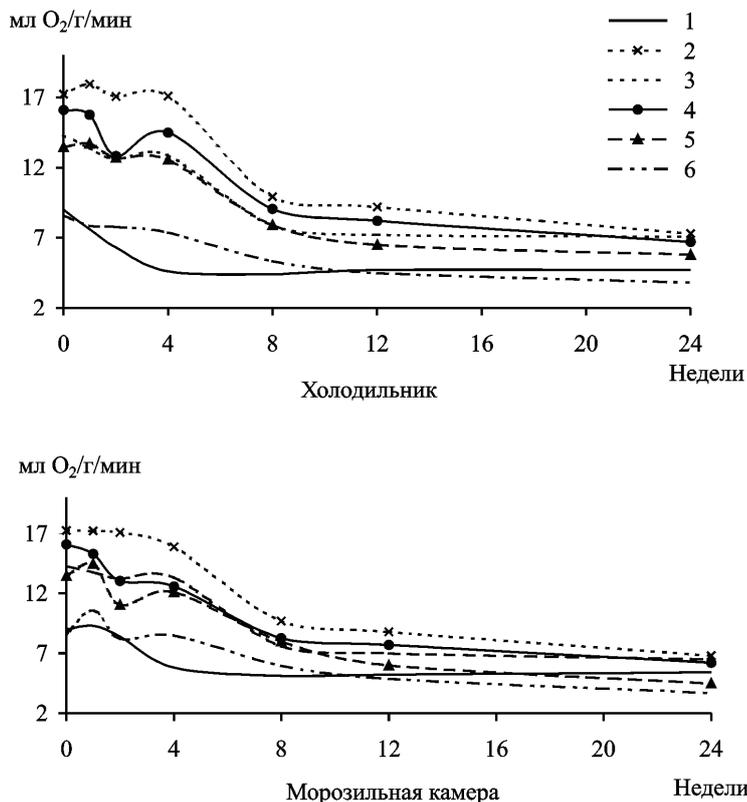


Рис. 4. Изменение активности каталазы при хранении образцов в условиях низких положительных и отрицательных температур:

1 – чернозем североприазовский; 2 – чернозем предкавказский; 3 – чернозем южный; 4 – каштановая почва; 5 – солонец; 6 – солончак

Так как не установлено единого оптимального способа хранения почвенных образцов и минимум изменений ферментативной активности приходится на воздушно-сухие образцы и на естественно-влажные образцы, хранимые в условиях низких положительных температур, мы рассмотрели эти условия с точки зрения сохранения различий в активности ферментов между различными почвами Юга России.

Установлено, что различия ферментативной активности в зональных почвах Юга России сохраняются на первоначальных сроках хранения, независимо от способа хранения образцов. В интразональных почвах, солончаке и солонце различия сохраняются на протяжении всего изучаемого периода.

Таким образом, несмотря на то что для некоторых ферментов и почв лучше всего ферментативная активность сохраняется в естественно-влажных образцах, хранимых в холодильнике, все-таки более предпочтительным для проведения массовых исследований является традиционный способ консервации почвенных образцов в воздушно-

сухом состоянии при комнатной температуре. Во-первых, соотношения между различными почвами сохраняются независимо от способа хранения. Во-вторых, при проведении комплексных исследований биологических свойств почв затруднительно хранение одних и тех же образцов в различных условиях.

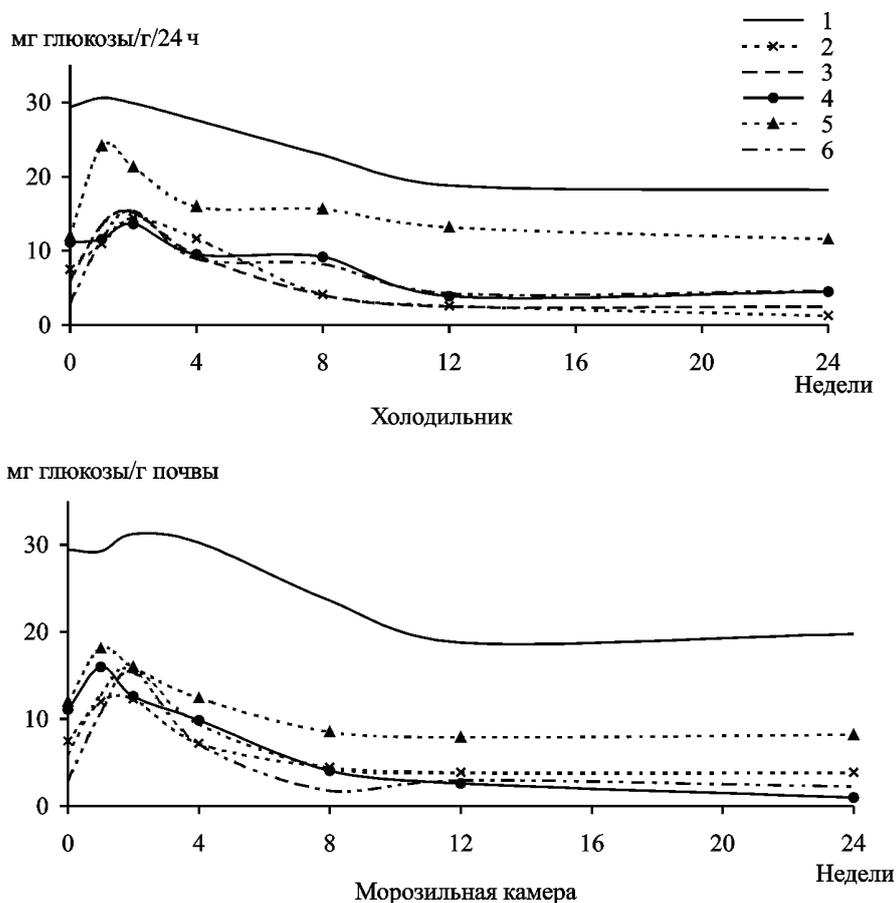


Рис. 5. Изменение активности инвертазы при хранении образцов в условиях низких положительных и отрицательных температур:

1 – чернозем североприазовский; 2 – чернозем предкавказский;  
3 – чернозем южный; 4 – каштановая почва; 5 – солонец; 6 – солончак

\* \* \*

#### СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- Абрамян С. А. Изменение ферментативной активности почвы под влиянием естественных и антропогенных факторов // Почвоведение. – 1992. – № 7. – С. 70-82.  
Галстян А. Ш. Об устойчивости ферментов почв // Почвоведение. – 1982. – № 4. – С. 108-110.  
Галстян А. Ш. Унификация методов исследования активности ферментов почв // Почвоведение. – 1978. – № 2. – С. 107-114.  
Галстян А. Ш. Ферментативная активность почв Армении. – Ереван: Айастан, 1974. – 275 с.  
Гончарова Л. Ю. Ферментативная активность основных типов почв Ростовской области в связи с их сельскохозяйственным использованием: Автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. – Краснодар, 1991. – 22 с.

**Даденко Е. В., Казеев К. Ш.** Методические аспекты применения ферментативной активности при диагностике антропогенного воздействия // Дegradация почвенного покрова и проблемы агроландшафтного земледелия: Материалы 1 Междунар. конф. – Ставрополь, 2001. – С. 63-65.

**Звягинцев Д. Г.** Биологическая активность почв и шкалы для оценки некоторых ее показателей // Почвоведение. – 1978. – № 6. – С. 48-54.

**Звягинцев Д. Г.** Биология почв и их диагностика // Проблемы и методы биологической диагностики и индикации почв. – М.: Наука, 1976. – С. 176-190.

**Зубкова Т. А., Карпачевский Л. О.** Матричная организация почв. – М.: Русаки, 2001. – 296 с.

**Казеев К. Ш., Колесников С. И., Вальков В. Ф.** Биологическая диагностика и индикация почв: методология и методы исследований. – Ростов-на-Дону: Изд-во РГУ, 2003. – 204 с.

**Казеев К. Ш., Колесников С. И., Вальков В. Ф.** Биология почв Юга России. – Ростов-на-Дону: Изд-во ЦВВР, 2004. – 350 с.

**Колесников С. И.** Влияние загрязнения тяжелыми металлами на биологическую активность черноземов обыкновенных Северного Приазовья и Западного Предкавказья: Дис. ... канд. геогр. наук. – Ростов-на-Дону, 1998. – 208 с.

**Личко В. И.** Ферментативная активность как индикатор экологического состояния почв: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Воронеж, 1998. – 18 с.

**Хазнев Ф. Х.** Системно-экологический анализ ферментативной активности почв. – М.: Наука, 1982. – 203 с.

**Хазнев Ф. Х.** Ферментативная активность почв. – М.: Наука, 1976. – 180 с.

**Badiane N. N. Y., Chotte J. L., Pate E.** Use of soil enzyme activities to monitor soil quality in natural and improved fallows in semiarid tropical regions // Applied Soil Ecology. – 2001. – Vol. 18, № 3. – P. 229-238.

**Burns R. G.** Soil enzymology // Sci. Progr. – 1977. – Vol. 64, № 254. – P. 275-285.

**Pancholy S. K., Rice E. L.** Effect of storage conditions on activity of urease, invertase, amylase and dehydrogenase in soil // Soil Sci. Soc. Amer. J. – 1972. – Vol. 36, № 3. – P. 536.

**Ross D. J.** Effect of storage on dehydrogenase activities of soils. // Soil Biol. And Biochem. – 1970. – Vol. 2, № 1. – P. 55.

*Надійшла до редколегії 19.05.05*