

А. Ш. ГАЛСТЯН

## ИЗУЧЕНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ПОЧВ АРМЕНИИ

Обобщены основные результаты изучения активности ферментов почв Армении. В настоящее время почвенная ферментология развилась в самостоятельное научное направление со своими задачами и методами. Она успешно развивается в нашей республике.

Возникновение почвенной ферментологии и становление ее как нового направления в науке связано с развитием биохимии, агрохимии и почвоведения. Первые исследования по почвенной ферментологии в Армении начаты в Лаборатории агрохимии АН АрмССР, а затем продолжены в Институте почвоведения и агрохимии МСХ АрмССР [3].

Почвенная ферментология возникла на стыке биохимии и почвоведения, она изучает биохимические процессы почвообразования и плодородия почв с целью их направленного регулирования. Накопленный ныне фактический материал по ферментам почв позволяет заключить, что почвоведение твердо встало на путь биологического направления и методы изучения ферментативных реакций все глубже проникают в самые различные области этой науки. Большой набор внеклеточных ферментов, обнаруженных в почве, свидетельствует о наличии в ней биохимических процессов, сходных по своему характеру с действием ферментов в живом организме. В почве обмен веществ и энергии при разложении и синтезе органического вещества осуществляется с участием ферментов. В результате ферментативных процессов, имеющих место в почве, из трудноусвояемых соединений питательные вещества переходят в формы, легкодоступные для растений и микроорганизмов. Следовательно, формирование почвенного плодородия связано с ферментативными процессами. Этим объясняется большой интерес многих исследователей в последние десятилетия к действию почвенных ферментов, о чем свидетельствуют некоторые обзорные работы по почвенным ферментам [1—3].

Ферментативная активность почв Армении изучена впервые. К началу настоящих исследований многие методические вопросы по почвенным ферментам не были изучены. Нами были разработаны новые методы определения активности ферментов почв—пероксидазы, полифенолоксидазы, глутаминазы, нитратредуктазы, гидроксилламинредуктазы, сульфатредуктазы, сульфидоксидазы, марганецредуктазы, ферриредуктазы, АТФазы, АДФазы, АМФазы, аргиназы и цистеиндегидрогеназы, а также усовершенствованы и унифицированы некоторые существующие методы определения инвертазы, уреазы, протеазы, фос-

фатазы, пирофосфатазы, каталазы, дегидрогеназ,  $\beta$ -глюкозидаз, амилазы, аспарагиназы, нуклеазы, арилсульфатазы. Эти методы разрабатывались на основании изучения кинетики соответствующих ферментативных реакций, что обеспечило их высокую точность и способствовало выяснению особенностей действия отдельных ферментов в зависимости от свойств почв [3—11].

Проведенные исследования выявили возможность широкого применения метода ферментативных реакций в изучении различных вопросов почвоведения: генезиса почв, их плодородия, диагностики, окультуривания, засоления, эродированности и биологической активности. Результаты математической обработки экспериментальных данных по активности ферментов почв свидетельствуют о соответствии разработанных методов оценки биохимических свойств почв современным требованиям.

Ферменты в почве продуцируются растениями, микрофлорой и фауной. Часть их фиксируется почвенными частицами и долгое время сохраняет свою активность, другая—инактивируется и разрушается. Связь между молекулами ферментов и частицами почвы очень прочная, что препятствует быстрому превращению ферментов в почвах и их инактивации. Установлены основные закономерности распределения ферментов по механическим фракциям почв, выявлена их связь с илистой и пылевой фракциями. При фиксации биохимическая специфичность ферментов сохраняется. Установлено, что тяжелые по механическому составу почвы (с содержанием физической глины до 65—70% в пределах данного типа) обладают более высокой активностью ферментов, чем легкие.

Ферменты в основном связаны с почвенными частицами илистой и пылевой фракций. Размеры и пространственное строение сближают почвенные ферменты с гетерогенными катализаторами. Несомненно, некоторые химические реакции, катализируемые ферментами, аналогичны и реакциям гомогенного катализа, происходящим в почвенных растворах. В этом случае молекулы ферментов не имеют в водной среде физической поверхности раздела, большинство процессов связывания субстратов коллоидной системы почвы не зависит от наличия поверхности раздела, а определяется лишь присутствием достаточного числа активных групп на поверхности микромолекул. Все это позволяет понять основные вопросы, связанные с ролью белковой молекулы в ферментативном катализе почвы. В настоящее время для ферментативного катализа почвы в равной мере можно использовать теории и гетерогенного, и гомогенного катализа.

Активность ферментов зависит от физико-химических свойств почв (рН, карбонатность, засоленность, содержание гумуса и т. д.). Установлены оптимумы рН действия ферментов и изучены их сдвиги в зависимости от степени насыщенности почв основаниями и природы буферных растворов. Уровень и соотношение активности ферментов почвы зависят также от реакции среды и ее природы. Выяснено, что гид-

ролазы глюкозидов почв активны в слабокислой среде (рН 4,5—5,9), амидазы—в нейтральной (рН 6,8—7,0), а оксидоредуктазы—в слабощелочной (рН 7,5—8,5), щелочная фосфатаза при рН 8,0—8,5, кислая—рН 5,0—6,0. Если активная реакция почвы близка к оптимуму рН действия фермента, то его инактивация происходит медленно, в случае большой разницы между ними фермент инактивируется очень быстро. Таким образом, рН почвы является основным фактором регуляции ферментативной активности. Предложен новый буферный раствор: этаноламин (0,2 М)—уксусная кислота (0,1 М), имеющий широкий диапазон рН 3,2—10,2, для применения в ферментативных исследованиях почв [9].

Карбонатность почвы подавляет активность гидролитических и вместе с тем повышает активность окислительно-восстановительных ферментов. Засоление почвы, особенно содовое, способствует быстрой инактивации ферментов [3].

Выявлены закономерности изменения активности ферментов почв под влиянием температуры. Установлены температурные оптимумы отдельных ферментов почв. Изучение температурного коэффициента  $Q_{10}$  показало, что почва, фиксируя молекулы ферментов, придает им некоторое защитное свойство против тепловой денатурации.

Активность ферментов отражает генетические особенности почвенных процессов [3]. Здесь, наряду с гидролитическими ферментами, особую роль играют оксидоредуктазы. В оксидоредуктазной системе почв обнаружено действие различных редуктаз: сульфатредуктазы, нитратредуктазы, марганецредуктазы и ферриредуктазы, осуществляющих реакции восстановления соответствующих окисных соединений. Прибавление к почве донаторов и коферментов НАД, НАДФ и ФАД способствует ускорению этих реакций, что свидетельствует об их ферментативном характере. Экспериментально выявлена роль ферментов в процессах образования соды биологическим путем, приводящих к осолодчению почв.

Установлена сезонная динамика активности ферментов почв в различных почвенно-климатических зонах Армении, они наиболее активны в конце весны, начале лета. Во второй половине лета их активность несколько падает, а осенью вновь повышается. Внеклеточные ферменты осуществляют каталитические процессы обмена веществ и энергии в почве. Причем, обнаружение действия большого набора ферментов в почве дает представление об интенсивности и направленности биохимических процессов почвообразования и является чувствительным показателем ее биологической активности. Поэтому ее оценка осуществляется параллельным определением действия гидролаз, оксидоредуктаз и интенсивности продуцирования углекислого газа почвой, ее «дыхания». В результате исследований установлено, что активность ферментов почв может быть использована в качестве диагностического показателя генетических типов (табл. 1, 2).

Таблица 1

## Активность ферментов горно-полупустынных почв

Почва, № разреза	Горизонт	Глубина, см	% от веса сухой почвы				рН, Н <sub>2</sub> О	Инвертаза, мг глюкозы	Фосфатаза, мг Р <sub>2</sub> О <sub>5</sub>	Уреаза, мг NH <sub>3</sub>	Дегидрогеназа, мг ТФФ	Полифенолокси- даза, мг пурпу- рогаллина	Каталаза, см <sup>3</sup> О <sub>2</sub>
			гумус	общий азот	фракции, мм								
					< 0,001	< 0,01							
Солончак содовый, 5		0—10	0,6	0,03	15,9	30,8	10,0	0	0	0	0,3	0	0,5
		20—30	0,3	0,02	6,6	16,8	9,8	0	0	0	0,3	0	0,8
		40—50	0,3	0,02	5,2	21,4	9,5	0	0	0	0,1	0	0,4
		60—80	0,5	0,03	2,7	27,3	9,0	0	0	0	0,0	0	0,2
		100—120	0,5	0,03	11,2	47,9	9,0	0	0	0	0,0	0	0,1
Бурая полу- пустынная, 164	A	0—20	1,7	0,12	10,3	45,4	8,0	9,2	4,2	2,7	2,3	5,6	2,5
	B <sub>1</sub>	20—41	1,3	0,11	13,6	49,0	8,2	3,9	1,9	1,2	1,1	3,8	2,0
	B <sub>2</sub>	41—91	1,1	0,04	10,6	45,0	8,3	1,7	0,8	0,2	0,3	1,5	0,5
	C	91—150	0,7	0,02	3,5	43,8	7,9	0,0	0,3	0,0	0,0	0,4	0,1
Древне оро- шаемая, 143	Ap	0—25	2,8	0,15	19,2	65,5	8,5	13,2	3,1	1,5	9,8	20,6	10,8
	A	25—50	2,1	0,14	21,5	63,9	8,2	6,1	1,5	1,0	8,7	14,8	7,7
	B	50—75	1,6	0,09	21,3	70,1	8,5	1,5	1,5	1,4	1,5	14,3	7,3
	BC	75—112	1,2	0,05	15,4	67,7	8,6	0,6	0,6	0,5	1,0	11,6	5,6
	C	112—145	0,4	0,04	3,3	55,5	8,0	0,3	0,0	0,3	1,7	6,0	1,9

Таблица 2

## Активность ферментов горно-степных и горно-луговых почв

Почва, № разреза	Горизонт	Глубина, см	% от веса сухой почвы				рН, Н <sub>2</sub> О	Инвертаза, мг глюкозы	Фосфатаза, мг Р <sub>2</sub> О <sub>5</sub>	Уреаза, мг NH <sub>3</sub>	Дегидрогеназа, мг ТФФ	Полифенолокси- даза, мг пурпу- рогаллина	Каталаза, см <sup>3</sup> О <sub>2</sub>
			гумус	общий азот	фракции, мм								
					< 0,001	< 0,01							
Каштано- вая, 3	A <sub>1</sub>	0—10	3,4	0,29	26,5	51,9	7,6	26,3	10,6	4,9	6,3	16,3	8,0
	A <sub>2</sub>	10—26	2,6	0,19	29,8	50,3	7,5	8,4	9,4	2,6	2,8	13,0	6,5
	B <sub>1</sub>	26—44	2,2	0,18	25,5	56,4	7,4	5,6	2,8	1,2	1,3	11,8	5,5
	B <sub>2</sub>	44—62	1,8	0,15	19,4	46,8	8,2	4,4	1,2	1,7	1,2	8,7	3,7
	C <sub>1</sub>	62—80	1,8	0,14	17,8	37,8	8,2	3,1	0,6	1,0	0,1	7,7	3,0
	C <sub>2</sub>	80—114	0,8	0,13	0,8	2,8	8,5	2,3	0,0	0,7	0,0	0,0	0,0
Чернозем выщелочен- ный, 36 т.	A <sub>1</sub>	0—11	12,8	0,80	50,8	70,9	6,5	43,9	12,2	7,5	16,4	12,7	6,3
	A <sub>2</sub>	11—26	8,1	0,48	50,4	76,3	6,6	16,1	3,6	1,5	5,0	6,1	2,0
	B <sub>1</sub>	26—42	4,9	0,32	51,2	47,2	6,8	13,5	2,0	0,5	2,0	4,2	1,9
	B <sub>2</sub>	42—61	3,2	0,19	48,4	73,9	7,0	12,9	0,9	0,0	0,9	5,1	1,3
	B <sub>3</sub> C <sub>1</sub>	61—83	1,9	0,14	39,2	64,1	7,6	8,7	0,6	0,0	0,4	3,4	1,5
	C <sub>3</sub>	83—107	1,0	0,08	29,8	51,0	8,1	2,7	0,1	0,0	0,3	1,6	1,0
C <sub>2</sub>	107—128	0,9	0,07	27,8	49,8	8,1	2,3	0,0	0,0	0,1	0,8	0,4	
Горно-луго- вая, дерно- вая, 7	A <sub>1</sub>	0—11	13,6	0,68	19,2	40,0	5,2	77,0	19,8	10,0	14,8	8,4	3,5
	A <sub>2</sub>	11—25	9,2	0,51	13,8	42,8	4,9	55,9	9,1	4,9	1,8	3,8	0,5
	B <sub>1</sub>	25—40	5,9	0,32	14,4	49,2	4,9	19,8	6,2	1,4	1,0	0,7	0,1
	BC	40—63	3,3	0,23	7,3	29,1	5,0	5,6	2,1	1,1	0,8	2,0	0,2
	C <sub>1</sub>	63—106	1,5	0,19	5,9	30,7	5,2	2,9	0,0	0,7	0,1	0,7	0,1
	C <sub>2</sub>	106—185	0,5	0,04	5,6	50,7	6,0	0,0	0,0	0,3	0,8	0,0	0,0

Солонцы-солончаки Араратской равнины характеризуются отсутствием или незначительным действием ферментов, что свидетельствует о подавленности биологического фактора почвообразовательного процесса.

Лугово-бурые орошаемые почвы обладают сравнительно высокой активностью ферментов, в частности оксидоредуктаз, и интенсивностью продуцирования углекислого газа. В древнеорошаемых почвах активность ферментов распространяется до глубины метрового слоя.

Горные бурые типичные почвы отличаются низкой ферментативной активностью, обусловленной скудным растительным покровом и микрофлорой.

Активность ферментов горных каштановых почв, по сравнению с бурными типичными, значительно возрастает, каштановые почвы имеют умеренную биологическую активность.

В горных черноземах наблюдается значительное возрастание активности гидролитических ферментов и дегидрогеназ. Черноземы обладают высокой биологической активностью.

В горно-луговых почвах активность оксидаз низкая, а гидролаз—высокая. Активность гидролитических ферментов коррелирует с содержанием органического вещества в почве.

Изучение биохимических особенностей горно-луговых слаборазвитых почв, почвогрунтов озера Севан и мелкозема под лишайниками и мхами на горных породах показали, что ферменты как биокатализаторы играют существенную роль в первичной стадии почвообразования. Активность ферментов слаборазвитых почв колеблется в широких пределах. Начальные формы развития почвенного покрова обладают очень низкой биологической активностью. При переходе от первичной стадии развития почв к последующим отмечается постепенное возрастание ферментативной активности, отражающее общее направление почвообразовательного процесса слаборазвитых почв.

Изучение биологической активности эродированных горных бурых полупустынных, горных каштановых, горных черноземных почв Армянской ССР показало их низкую, по сравнению с незэродированными, ферментативную активность [12—14].

Установлено, что уровень ферментативной активности почв в различных генетических типах неодинаковый, однако его снижение во всех исследованных почвах происходит соответственно степени их эродированности. Активность инвертазы, фосфатазы и дегидрогеназ находится в определенном соответствии со степенью смывости почвы. Следовательно, активность указанных ферментов в пределах данного типа может служить дополнительным диагностическим показателем степени эродированности почв. Изменение активности каталазы и уреазы не всегда отражает эту закономерность.

Условия рельефа (экспозиция, крутизна и форма склона) значительно влияют на ферментативную активность почв: на теневых склонах она сравнительно выше, чем на солнечных. Крутизна склонов

приводит к изменению активности ферментов почв в соответствии с возрастанием степени их эродированности. Противоэрозионные агротехнические, луго- и лесомелиоративные мероприятия, значительно сокращая сток и смыв, повышают биологическую активность и восстанавливают плодородие эродированных почв. Установлено, что активность ферментов можно использовать для оценки эффективности различных противоэрозионных мероприятий.

Полученные данные показали, что эрозия создает сильную пестроту ферментативной активности, а ее вариации в почвах различной степени эродированности зачастую бывают больше, чем между незродированными почвами различных генетических типов и подтипов. Поэтому установлены предельные числа активности инвертазы для различных типов почв по степени эродированности и предложена градация их установления: слабоэродированными называются почвы, в которых активность инвертазы по сравнению с незродированной уменьшается до 30%, среднеэродированными—30—60% и сильноэродированными—более 60%. Предложенный метод дополняет и уточняет существующие методы оценки эродированных почв, способствует более полному выявлению направленности эрозионных процессов в связи с разной интенсивностью их проявления.

Рекомендованный ферментативный метод оценки степени эродированности почв может быть использован научными учреждениями и проектными организациями (Гипроземя) при почвенно-эрозионных обследованиях, бонитировке почв, а также установлении однородности почвы по эродированности при выборе участков под полевые опыты по противоэрозионным мероприятиям.

Установлено, что плодородные почвы обладают высокой активностью как гидролитических, так и окислительно-восстановительных ферментов. В результате ферментативных процессов в почве из трудноусвояемых соединений питательные вещества переходят в формы, легкодоступные для растений. Существует взаимосвязь между активностью фосфогидролаз и различными формами фосфора в почве, амидаз и азотом, сульфатаз—серой, редуктаз—марганцем и железом. Следовательно, формирование почвенного плодородия связано с ферментативными процессами. Это положение дает возможность использовать активность почвенных ферментов для определения однородности плодородия почвы при проведении полевых опытов [15, 16].

Одним из основных и важных требований, от которого в значительной мере зависит точность полевого опыта, является выбор опытного участка. Участок, отведенный под полевой опыт, должен быть не только типичным для данных условий, но и однородным. Обычно для изучения пестроты плодородия опытного участка и его выравнивания прибегают к разведочно-урavnительным посевам. Однако, как известно, этот путь сравнительно долг и дорогостоящ. Следовательно, применение более быстрых и легких методов установления однородности

плодородия почвы при выборе участка под полевые опыты имеет большое практическое значение.

На основании изучения взаимосвязи между активностью ферментов, с одной стороны, и органическим веществом, содержанием подвижных форм питательных веществ (НРК) и урожаем различных сельскохозяйственных культур с другой, установлено, что активность инвертазы является объективным диагностическим показателем однородности плодородия почвы, и поэтому ее можно использовать при выборе опытного участка.

Изучена фосфогидролитическая активность основных типов почв Армении [17]. Активность фосфогидролаз по вертикальной зональности возрастает от почв полупустынной зоны к горно-луговым. В солонце-солончаке активность щелочной фосфатазы составляет 1,1 мг Р на 100 г почвы, активность кислой фосфатазы подавлена; в лугово-бурой орошаемой почве щелочная составляет 4,2, кислая—2,0; в каштановой почве—щелочная—8,4, кислая—5,8; в горных черноземах—щелочная—до 14,0, кислая—8,0; в коричневой лесной почве—щелочная—12,3, кислая—15,6; в бурой лесной—щелочная—7,0, кислая—10,4; в горно-луговой дернзоей—щелочная—8,7, кислая—15,6. В ненасыщенных основаниями почвах обнаруживается сравнительно высокая активность кислой фосфатазы, а в насыщенных—щелочной. Активность глицерофосфатазы и нуклеазы сравнительно слабая. Действие пиррофосфатазы в основном обнаруживается в средних и нижних горизонтах почв, где накапливается значительное количество конденсированных фосфатов.

Выявлено, что содержание органического фосфора в почвах Армении колеблется в широких пределах. В горно-луговых, лесных почвах оно составляет до 80% от общего, в черноземах—40—60, в каштановых—30—50, в бурой полупустынной—10—35, в лугово-бурой орошаемой—10—20, в солонце-солончаке—5—15. Основная часть органического фосфора представлена щелочнорастворимыми фосфатами—50—90%, кислоторастворимыми—0,8—36,0, липоидными—0,4—14,7.

Активность фосфогидролаз находится в положительной достоверной связи с органическим фосфором  $r=0,72\pm 0,15$ . Выявлена определенная связь между активностью пиррофосфатазы и содержанием труднорастворимых фосфатов.

Ферментативная активность отражает внутренние сдвиги почвообразовательного процесса, обусловленные освоением и окультуриванием почв. При окультуривании почв происходят значительные изменения природного процесса почвообразования. Для вскрытия этих процессов метод ферментативных реакций является достаточно чувствительным и дает возможность широкого сравнения целинных, распаханых и окультуренных почв в однородных условиях формирования [3].

Активность ферментов и интенсивность продуцирования углекислого газа почвой являются показателями ее биологической активности и плодородия. Наряду с другими методами оценки биологической актив-

ности почв, метод ферментативных реакций может быть широко применен при изучении различных агротехнических вопросов—обработки почвы, полива, удобрений, травосеяния, чередование культур и т. д.

Изложенные результаты свидетельствуют о возможности использования метода ферментативных реакций при изучении различных вопросов почвоведения и агрохимии. Этот метод является перспективным для раскрытия химических основ биологических процессов почвообразования и питания растений.

Институт почвоведения и агрохимии МСХ АрмССР

Поступило 30.VI 1977 г.

Ա. Շ. ԳԱԼՏՅԱՆ

### ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀՈՂԵՐԻ ՖԵՐՄԵՆՏԱՅԻՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Հողվածում ամփոփված են Հայաստանի հողերի ֆերմենտների ուսումնասիրությանը վերաբերող հիմնական հարցեր, որոնք նպաստել են գիտության նոր ուղղության՝ հողերի ֆերմենտաբանության զարգացմանը, Հայաստանում հողի ֆերմենտների առաջին հետազոտությունները տարվել են Գիտությունների ակադեմիայի ագրոքիմիայի լաբորատորիայում, իսկ հետագայում՝ Հողագիտության ագրոքիմիայի գիտահետազոտական ինստիտուտում: Հողերի ֆերմենտաբանությունը զարգանում է կենսաքիմիայի և հողագիտության կցվանքում, որն ուսումնասիրում է հողերի կենսաքիմիական ընթացքները՝ կապված հողազոյացման և բերրիության հետ, այն նպատակադիր կարգավորելու համար: Գիտության այս նոր ուղղությունը որոշակի վերելք է ապրում մեր հանրապետությունում:

### Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Купревич В. Ф., Щербакова Т. А. Почвенная энзимология. Минск, 1966.
2. Хазиев Ф. Х. Ферментативная активность почв. М., 1976.
3. Галстян А. Ш. Ферментативная активность почв Армении. Ереван, 1974.
4. Авунджян Э. С., Галстян А. Ш. Биологический журнал Армении. 23, 2, 1970.
5. Галстян А. Ш., Оганесян Н. А. ДАН АрмССР, 56, 1, 1973.
6. Галстян А. Ш., Саакян Э. Г. ДАН СССР, 209, 5, 1973.
7. Галстян А. Ш., Марукян Л. Г. ДАН АрмССР, 57, 2, 1973.
8. Галстян А. Ш., Абрамян С. А. ДАН АрмССР, 61, 5, 1975.
9. Галстян А. Ш., Базоян Г. В. ДАН АрмССР, 59, 3, 1974.
10. Абрамян С. А., Галстян А. Ш. ДАН АрмССР, 59, 2, 1974.

11. Арутюнян Э. А., Галстян А. Ш. Агрохимия, 5, 1975.
12. Симолян Б. П., Галстян А. Ш. ДАН АрмССР, 58, 1, 1974.
13. Симолян Б. П., Галстян А. Ш. Биологический журнал Армении, 27, 4, 1974.
14. Симолян Б. Н. Автореф. канд. дисс., М., 1977.
15. Егиазарян Л. Т. Автореф. канд. дисс. Ереван, 1970.
16. Егиазарян Л. Т. Проблемы и методы биодиагностики и индикации почв. М., 1976.
17. Арутюнян Э. А. Автореф. канд. дисс. М., 1977.