

А. К. Паносян

## Новый метод определения интенсивности процесса аммонификации почвы

(Представлено академиком С. К. Карапетяном 18 IX 1944)

Процесс аммонификации считается одним из наиболее важных микробиологических процессов, имеющих решающее значение в круговороте веществ в природе и особенно распространенных в превращениях органических веществ в почве.

Некоторые группы микроорганизмов (бактерии, актиномицеты, плесени) имеют способность превращать „органический азот“ в аммиачный. Эти микроорганизмы в своей жизнедеятельности подвергают белковые вещества последовательному гидролизу и в результате дают ряд промежуточных азотистых соединений—альбумозы, пептоны, аминокислоты—и в виде конечного продукта их распада—аммиак. Будучи заключительным продуктом гидролиза и дезаминизации, аммиак является важным показателем при определении плодородия почвы. Несмотря на такое большое значение данного процесса, и по сей день не имеется точного метода определения интенсивности процесса аммонификации в почве и учета выделяющегося аммиака. Имеющиеся для данной цели методы не дают возможности точной и полной оценки этого важного биологического процесса. Рассмотрим хотя бы широко распространенные методы Remy и Löhnis. Правда, эти методы в некоторых случаях дают в отношении различных почв определенные сравнительно-различные показатели, однако имеют и много отрицательных сторон, которые дают повод к сомнениям относительно полученных результатов. Наиболее отрицательным нужно считать то обстоятельство, что при этих методах не принимается во внимание естественная питательная среда почвы, и для всех типов последующих почв готовится однотипная искусственная питательная среда, притом в жидком виде. Между тем естественная питательная среда несомненно имеет решающее влияние на интенсивность процесса аммонификации некоторых почв, что для нас имеет чрезвычайно важное значение при определении показателя плодородия почвы. Во-вторых, эти методы

не дают возможности учитывать кроме поглощенного аммиака также летучий аммиак, что, по нашему мнению, также является не менее важным показателем для определения процесса интенсивности аммонификации и поглотительной способности отдельных почв. Наконец, упомянутые методы не дают возможности полностью учитывать образование аммиака при распаде белков в условиях сильной или слабой аэрации отдельных почв. Вот почему у микробиологов методы Кету и Löhnis считаются устаревшими и неприемлемыми для определения интенсивности процесса аммонификации в почве. И хотя упомянутые методы резко критикуются, однако нужно сознаться, что и по сей день мы не имеем какого-либо более целесообразного метода, способствующего точному определению интенсивности процесса аммонификации.

Исходя из вышесказанного, а также имея в виду решающее значение процесса аммонификации при точном определении плодородия почвы, нами предлагается нижеописываемый метод, выработанный в результате большого количества разнообразных исследований.

При выработке этого метода мы стремились собрать такой аппарат, который дал бы возможность учитывать процесс аммонификации почвы в почве же, без применения искусственных питательных сред, лишь внося в почву 1% какого-либо белкового вещества; во-вторых, чтобы при необходимости можно было в любой момент создать в почве аэробные или анаэробные условия; наконец, учесть без потерь весь аммиак, образующийся при аммонификации от гидролиза и дезаминизации белков. Аппарат представлен на рис. 1. Он

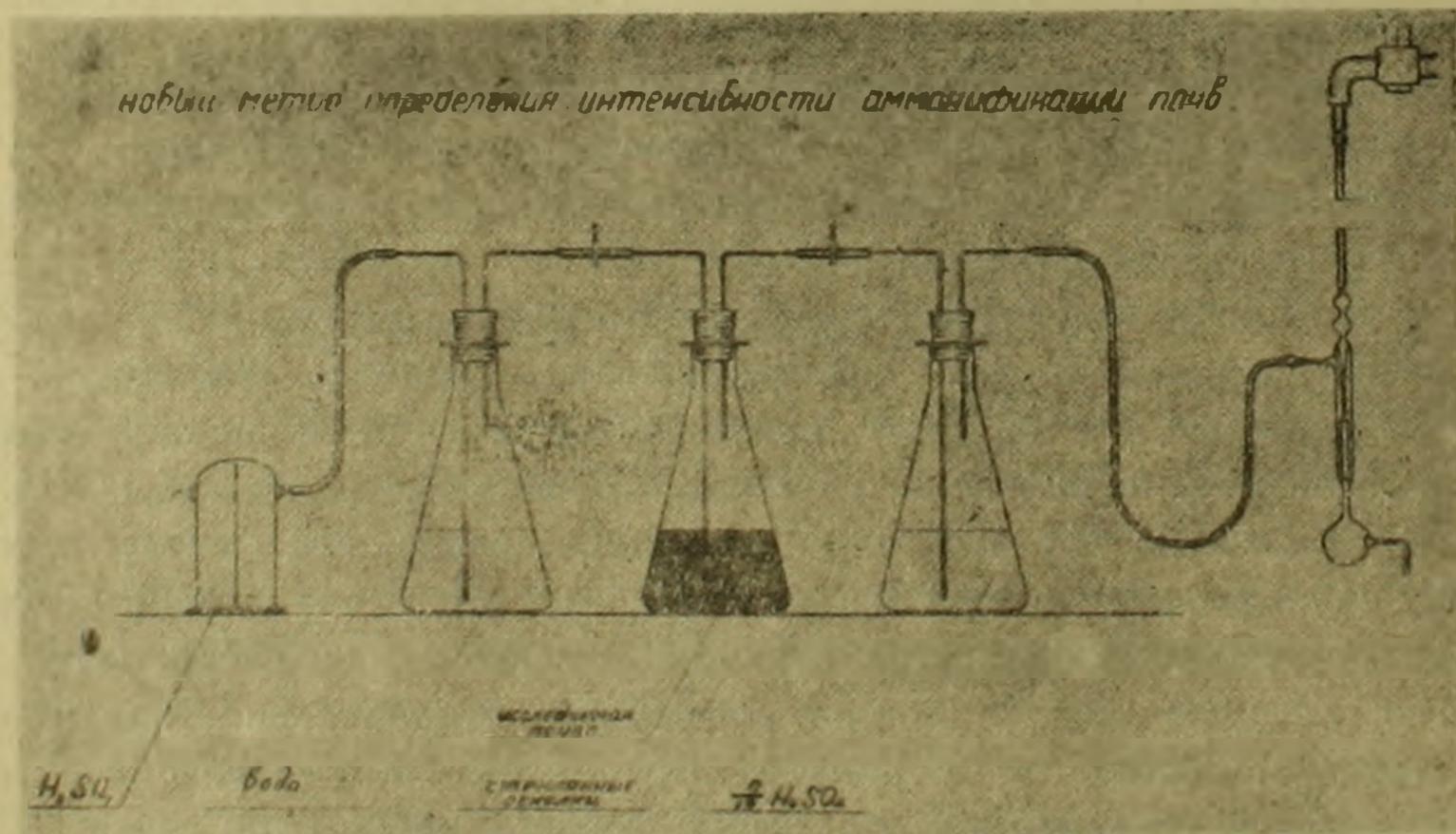


Рис. 1.

состоит из трех эрленмейеровских колб емкостью в 500 *сс*. В одной из колб (средняя на рисунке) на дно насыпают стеклянные осколки слоем в 1 *см* и покрывают марлей (с целью дренажа), сверху помещают 200—300 *г* исследуемой почвы, увлажненной на 60% от влагоемкости

в смеси с 1% пептонного порошка. Колба с исследуемой почвой, посредством коленчатых стеклянных трубок слева соединена с другой колбой с водой. Коленчатые трубки во всех случаях проходят через резиновые пробки, герметически закрывающие колбы и полностью изолирующие их от внешнего воздуха. Колба с водой со своей стороны соединена со склянкой Тищенко, в которую налита крепкая серная кислота. Колба с почвой справа таким же образом соединена с другой колбой с  $\frac{n}{10} \text{H}_2 \text{SO}_4$ , а эта со своей стороны резиновой трубкой—с водоструйным насосом. Таким образом аппарат представляет закрытую систему.

При желании опыт может быть проведен в аэробных или анаэробных условиях. Так, если желательно исследовать процесс аммонификации в аэробных условиях, достаточно открыть систему, т. е. путем действия водоструйного насоса доставить воздух исследуемой почве, (аппарат дает возможность легко регулировать ток воздуха). Воздух, проходя через склянку Тищенко, очищается в серной кислоте от содержащихся газов, главным образом от аммиака, затем повторно очищается в первой колбе с водой, особенно от случайно попавших капель серной кислоты. Таким образом в исследуемую почву поступает совершенно чистый воздух. Из колбы с почвой воздух попадает в следующую, третью колбу с известным количеством  $\frac{n}{10} \text{H}_2 \text{SO}_4$  и в конце концов выходит через водоструйный насос. Децинормальная серная кислота поглощает летучий аммиак, который и легко определяется титрацией децинормальным раствором щелочи. С помощью этого аппарата нам удастся задержать выделяемый исследуемой почвой аммиак и в любой момент определить его количество. Если же нам нужно определить интенсивность процесса в анаэробных условиях, для этого достаточно вытянуть находящийся в аппарате воздух и закрыть аппарат при помощи зажимов на резиновых трубках, соединяющих коленчатые стеклянные трубки.

Вышеописанный аппарат дает нам возможность ежедневно учитывать поглощенный и летучий аммиак, независимо от того, образовался ли этот аммиак в результате аэробного или анаэробного разложения. Кроме того, он дает возможность систематически учитывать также количество нитратов в почве. Очень важно также, что конструкция аппарата допускает одновременное исследование течения аммонификации во многих образцах почвы; для этого достаточно собрать несколько таких аппаратов в одну систему (рис. 2 на стр. 32).

В любое время можно определить поглощенный почвой аммиак; для этой цели нужно осторожно открыть колбу, взять пробу почвы в 5—10 г и немедленно снова закрыть. Эту пробу почвы нужно разболтать в плоскодонной колбе с водой, прибавить магниального порошка и перегнать аммиак при помощи прибора Кьельдаля и определить

его количество так же, как это делается при обычных определениях азота и аммиака.

Таким же образом берется немножко исследуемой почвы и колориметрическим способом определяется нитратный азот. Как видно при помощи этого аппарата в процессе аммонификации почвы можно легко и без потерь определить как поглощенный и летучий аммиак, так и нитратный азот, образующийся в результате гидролиза и дезаминизации белков, в каких бы условиях ни протекал процесс—в аэробных или анаэробных. Этими показателями и можем характеризовать степень плодородия различных типов почв.

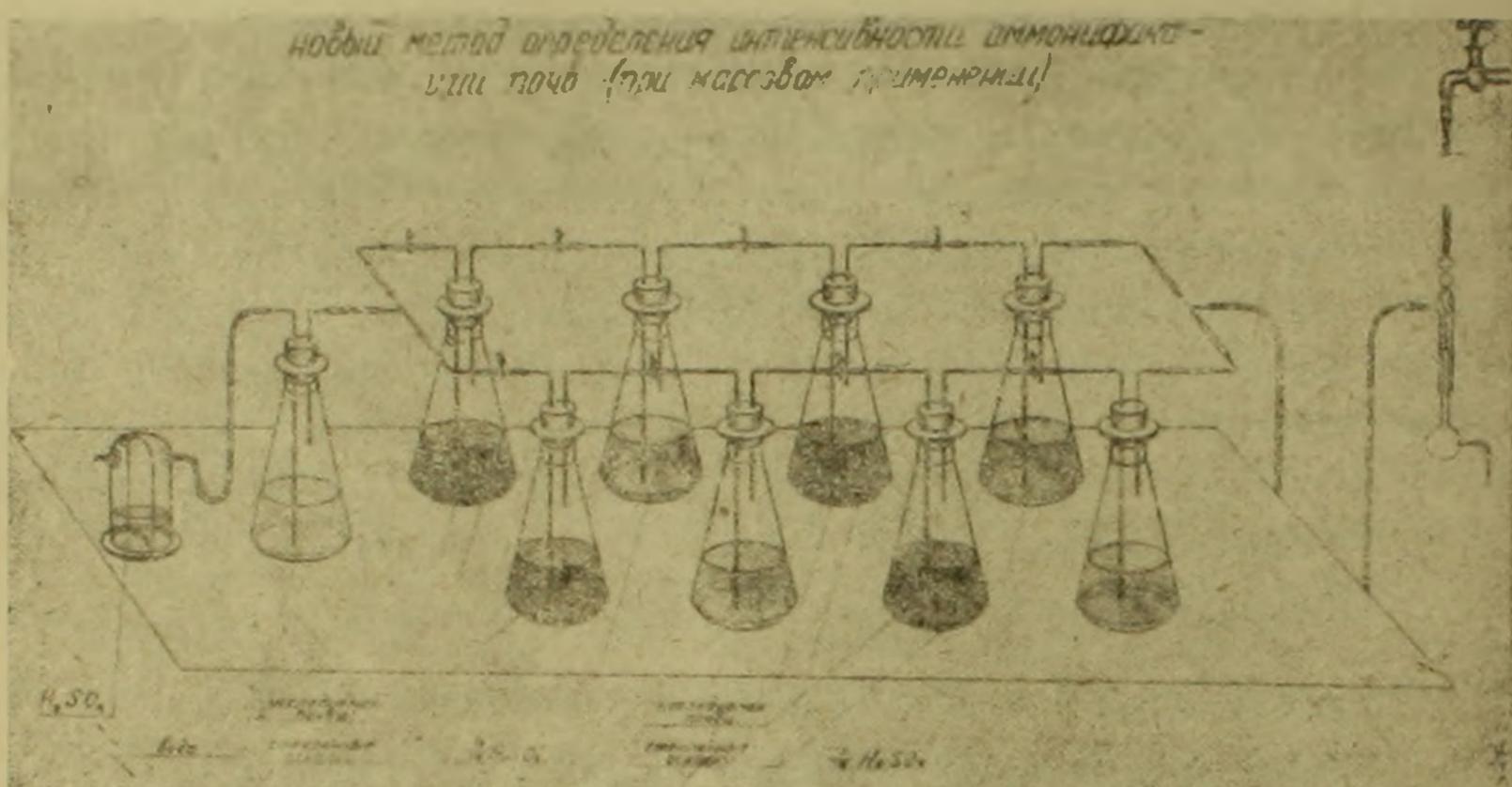


Рис. 2.

Предложенный нами аппарат был испробован на трех типах почв—легкой садовой, тяжелой глинистой, солончаковой. Одновременно был поставлен также контрольный опыт по методу Remy-Löhnis. В обоих случаях опыт был проведен в условиях нового аппарата, чтобы продемонстрировать преимущества нашего метода и недостатки старого метода. Опыт длился 20 дней при 20—25°, ежедневно определялись поглощенный и летучий азот и нитраты. Результаты опыта приводятся в нижепомещенной таблице.

Как видно из этих данных, в процессе аммонификации улетучивается значительное количество аммиака, особенно если происходит в условиях достаточной аэрации. Процесс в смысле интенсивности протекает более нормально в почвенных условиях, чем в жидкой питательной среде. Кроме того аммиак, образующийся в почвенных условиях, большею частью поглощается почвой и улетучивается лишь незначительная часть. Наивысшая интенсивность процесса, т. е. наименьшее количество образующегося аммиака наблюдается на 8-й—12-ый дни опыта, после чего процесс останавливается, вместе с чем прекращается также улетучивание аммиака, в то время как в жидкой среде аммонификация протекает быстрее, образуется большое количество аммиака,

## РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОЦЕССА АММОНИФИКАЦИИ

Типы почв	До опыта		Т е ч е н и е о п ы т а																							
			Через 2 дня			Через 4 дня			Через 6 дней			Через 8 дней			Через 10 дней			Через 12 дней			Через 15 дней			Через 20 дней		
	Поглощенный NH <sub>3</sub> в mg	Колич. нитратов N в mg	Поглощенный NH <sub>3</sub> в mg	Легучий NH <sub>3</sub> в mg	Колич. нитратов N в mg	Поглощенный NH <sub>3</sub> в mg	Легучий NH <sub>3</sub> в mg	Колич. нитратов N в mg	Поглощ. NH <sub>3</sub> в mg	Легучий NH <sub>3</sub> в mg	Колич. нитратов N в mg	Поглощен. NH <sub>3</sub> в mg	Легучий NH <sub>3</sub> в mg	Колич. нитратов N в mg	Поглощ. NH <sub>3</sub> в mg	Легучий NH <sub>3</sub> в mg	Колич. нитратов N в mg	Поглощ. NH <sub>3</sub> в mg	Легучий NH <sub>3</sub> в mg	Колич. нитратов N в mg	Поглощ. NH <sub>3</sub> в mg	Легучий NH <sub>3</sub> в mg	Колич. нитратов N в mg	Поглощ. NH <sub>3</sub> в mg	Легучий NH <sub>3</sub> в mg	Колич. нитратов N в mg
По предложенному нами методу В у с л о в и я х а э р а ц и и (а э р о б н ы х)																										
Легкая садовая	1,45	1,25	1,92	—	1,45	5,71	—	2,06	8,64	1,50	4,22	16,33	2,1	6,85	22,50	3,68	9,21	18,5	—	12,11	13,11	—	15,7	8,7	—	14,0
Тяжелая глинистая	0,42	0,25	0,63	—	0,36	3,55	—	0,77	5,67	0,68	2,31	9,27	1,9	4,32	15,32	7,41	6,35	14,3	—	7,25	10,21	—	11,8	5,4	—	12,5
Солончаковая	0,85	0,91	1,87	—	1,22	4,25	—	1,84	7,14	1,03	3,14	12,51	1,3	5,08	17,43	1,23	7,72	16,8	—	8,94	11,54	—	12,4	7,3	—	13,4
По методу Remy-Lohnis В у с л о в и я х о т с у т с т в и я а э р а ц и и (а н а э р о б н ы х)																										
Легкая садовая	1,87	1,58	8,75	3,75	—	16,32	3,81	—	29,21	4,5	—	36,16	7,5	—	30,75	3,16	—	25,63	2,74	—	19,36	2,5	—	18,0	1,35	—
Тяжел. глинистая	0,74	0,39	5,63	2,14	—	10,45	4,25	—	21,43	3,71	—	31,54	9,5	—	28,54	2,36	—	24,31	3,75	—	20,03	2,5	—	15,21	1,63	—
Солончаковая	1,22	1,32	7,42	2,85	—	12,16	2,36	—	25,67	5,35	—	37,63	8,4	—	29,53	3,25	—	23,77	2,35	—	17,35	2,4	—	14,4	1,91	—
По предложенному нами методу В у с л о в и я х о т с у т с т в и я а э р а ц и и (а н а э р о б н ы х)																										
Легк. садовая	1,45	1,25	1,54	—	1,20	1,68	—	1,18	2,15	—	1,20	3,88	—	1,32	4,95	—	1,65	6,75	0,09	1,85	8,5	0,15	1,75	10,3	0,23	1,8
Тяжел. глинистая	0,42	0,25	0,52	—	0,22	0,59	—	0,20	1,08	—	0,24	1,65	—	0,28	3,53	—	0,69	7,18	0,02	0,56	7,65	0,21	0,76	9,5	0,42	1,2
Солончаковая	0,85	0,91	0,91	—	0,90	1,02	—	0,88	1,79	—	1,20	2,63	—	1,25	5,02	—	1,55	6,35	0,08	0,73	8,31	0,24	0,84	11,3	0,38	1,5
По методу Remy-Lohnis В у с л о в и я х о т с у т с т в и я а э р а ц и и (а н а э р о б н ы х)																										
Легк. садовая	1,87	1,58	2,58	—	—	4,37	—	—	6,35	—	—	8,35	—	—	10,34	1,57	—	11,31	2,17	—	13,5	2,54	—	15,3	3,0	—
Тяжел. глинистая	0,74	0,39	1,15	—	—	2,65	—	—	3,85	—	—	5,17	—	—	7,53	0,79	—	8,25	1,81	—	10,5	1,91	—	12,6	2,15	—
Солончаковая	1,22	1,32	1,86	—	—	3,17	—	—	5,73	—	—	6,36	—	—	8,12	0,93	—	8,74	2,30	—	9,6	2,14	—	11,3	2,45	—

При применении нашего метода аммиак определен в 10 гр. почвы, а по методу Remy-Lohnis в 10 гр. почвы и 100 cc. почвенного экстракта

К статье А. К. Павосява „Новый метод определения интенсивности процесса аммонификация почвы“

которое сравнительно медленно поглощается жидкостью, улетучивание происходит в более значительных количествах, следовательно потеря аммиака в последнем случае больше. Здесь также рост микробов сильнее всего сказывается на 8-ой—12-ый дни, после чего процесс ослабляется, но, несмотря на это, улетучивание аммиака продолжается. Это обстоятельство лишний раз доказывает, что поглотительная способность жидкой среды гораздо ниже почвенной. Во втором варианте опыта количество нитратов не указывается, т. к. метод Remy-Löhnis не дает возможности определять нитраты. В первом варианте, т. е. при применении нашего метода, мы видим, что количество нитратов в почве также меняется: оно увеличивается параллельно с накоплением аммиака.

В отсутствии аэрации процессы аммонификации протекают в той же последовательности, но при более слабой интенсивности. Здесь в начале опыта количество нитратов уменьшается, по всей вероятности вследствие восстановления нитратов. Но через некоторое время, когда накапливается значительное количество аммиака, количество нитратов перестает уменьшаться, наоборот, иногда даже медленно увеличивается.

Таким образом данные эксперимента вполне подтверждают наши предположения о наличии при процессах аммонификации ряда изменений, которые несомненно влияют на количество образующегося аммиака, и чего Remy-Löhnis не учли при разработке своего метода.

Полученные данные дают нам основание заключить, что

а) Предложенный нами метод определения интенсивности процесса аммонификации почвы имеет значительные преимущества, поскольку, одновременно облегчая работу, дает возможность учесть полно и без потерь поглощенный и летучий аммиак, образующийся в результате последовательного гидролиза и дезаминизации белков, а также без трудности определить нитраты. Кроме того, наш метод может быть широко применен как при единичных исследованиях, так и при массовых.

б) Новый аппарат дает возможность с легкостью проследить процесс аммонификации как в аэробных, так и в анаэробных условиях, и, что особенно важно, очень удобен для точного определения степени плодородия отдельных типов почв: последнее может иметь большое и решающее значение как при удобрении почв, так и при регулировании жизненных процессов растений.

Сектор микробиологии  
Академии Наук Арм. ССР  
Ереван, 1944, июнь.

Հողի ամոնիֆիկացիոն պրոցեսի ինտենսիվության որոշման նոր մեթոդ

Ամոնիֆիկացիոն պրոցեսը, նյութերի շրջանառության, հողի մեջ ազոտ պարունակող օրգանական նյութերի ձևափոխման ժամանակ ամենատարածված և կարևոր միկրոբիոլոգիական պրոցեսներից մեկն է: Բնորոշ է, որ ազոտային նյութի քայքայման պրոցեսի վերջնական պրոդուկտը ամիակն է: Հենց դրա շնորհիվ էլ պրոցեսից առաջացած ամիակի լրիվ ու անկորուստ հաշվառումը կարևոր չափանիշ է ամոնիֆիկացիայի ինտենսիվության և հողերի բերրիությունը որոշելու համար:

Չնայած այդ պրոցեսի այսպիսի կարևորությանը, այնուամենայնիվ մինչև օրս էլ դեռ գոյություն չունի այնպիսի մի մեթոդ, որը կարողանար անկորուստ հաշվի առնել ամոնիֆիկացիայի ընթացքում առաջացած ամիակը: Այդ նպատակի համար մինչև օրս լայն տարածում գտած Remy-Löh- nis մեթոդը, օրինակ՝ ազոտական նյութի քայքայումից առաջ եկող ամիակը լրիվ, անկորուստ հաշվի առնել չի կարողանում, որովհետև նա հնարավորություն չունի ամբողջապես որոշելու ցնդող և ձևափոխվող ամիակը: Նա մեզ հնարավորություն է տալիս որոշել կլանված ամիակի միայն մի մասը, որ, իհարկե, հաճախ պրոցեսի ընթացքը և նրա ինտենսիվությունը լրիվ չի բնորոշում: Ելնելով հենց դրանից և ամոնիֆիկացիոն պրոցեսի կարևորությունից՝ մեր կողմից առաջարկվում է այս նոր մեթոդը, որը մշակվել է բազմաթիվ փորձերի միջոցով, հրկար տարիների ընթացքում: Մենք այս մեթոդի համար հավաքել ենք մի այնպիսի ասպարատուրա (տես նկ. 1 և 2), որը հնարավորություն է տալիս առաջացած ամիակը, լինի դա ցնդող թե կլանվող կամ ձևափոխվող, թե անհրոր և թե անանհրոր պայմաններում լրիվ ու անկորուստ հաշվի առնել, նա էլ բնական հողային վիճակում: Ապարատը, ինչպես տեսնում ենք, ունի փակ սխտեմ. դա նրա համար է, որ ուզած պայմաններում (անհրոր թե անանհրոր) կարելի լինի ուսումնասիրել պրոցեսը: Եթե անհրոր է, սխտեմը բաց է արվում, իսկ եթե անանհրոր է, փակվում է: Այս նոր հավաքած ասպարատը մեզ հնարավորություն է տալիս հետազոտելի տարրեր հողերի մեջ միաժամանակ հաշվի առնել թե ցնդող, թե կլանվող և թե նիտրատների վերածվող ամիակը, մի բան, որ մինչ այդ գոյություն ունեցող մեթոդները մեզ հնարավորություն չէին տալիս անել:

H. K. Panossian

A New Method for the Determination of the Intensiveness of Soil Ammonification Process

The ammonification process is one of the most common and important microbiological process for the modification of the nitrogen containing organic substances of the soil. It is well known fact that the end product of the destruction of the nitrogenous substance is ammonium. Just for that reason an accurate determination of the resulted ammonium

is an important index showing the ammonification intensiveness for the determination of the soil fertility.

In spite of such importance of that process nevertheless, up to the present time, there is not yet such a method which would enable an accurate determination of the produced ammonium during the ammonification process. For that purpose at the present time the existing more available and common Remy-Löhnis method, for example, is unable to determine the ammonium produced from the destruction of nitrogenous substance, as fully as possible, as it has no possibility to determine fully the volatile and modifying ammonium. It makes possible to determine only part of the absorbed ammonium, which of course often is not fully determining and characterising the course and intensiveness of the process.

From that point of view as well as taking in consideration the importance of the ammonification process, we suggest a new method which for many years has been developing by several experiments.

For this method we have constructed such an apparatus (see fig. 1 and 2) which makes possible the determination of the produced ammonium either volatile or convertible, under either aerobic or anaerobic and even in natural soil condition.

As seen, the apparatus has a closed system which renders possible to investigate the process under any condition (aerobic as well as anaerobic). If it is aerobic, the system is opened, in case of anaerobic, it is closed. By this new apparatus, it is possible to investigate and determine the volatile ammonium as well as the ammonium which is absorbed and reduced to nitrates. Then, this is an advantage which the existing methods up to date did not have.