

УДК 631.46:631.48:930.26

МИКРОБНАЯ БИОМАССА И ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ЦЕЛИННЫХ И ПАХОТНЫХ ПОЧВ КАК ПОКАЗАТЕЛИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ

© 2023 г. Е. В. Чернышева¹, *, К. С. Душанова¹, Т. Э. Хомутова¹, А. В. Борисов¹

¹Пушчинский научный центр биологических исследований РАН, Институт физико-химических
и биологических проблем почвоведения, Пушкино, Россия

*e-mail: e.chernyusheva@yandex.ru

Поступила в редакцию 02.03.2023 г.

После доработки 11.04.2023 г.

Принята к публикации 11.04.2023 г.

Проведено исследование биомассы и ферментативной активности почв естественных и антропогенно преобразованных экосистем. Исследованы катены целинных серых почв и черноземов запovedника “Белогорье” и катены пахотных почв в однотипных геоморфологических и литологических условиях. Изучена активность ферментов, участвующих в циклах углерода (β -глюкозидаза и ксилозидаза), азота (хитиназа) и фосфора (кислая и щелочная фосфатаза). Установлено, что уменьшение микробной биомассы почв в результате распашки не сопровождается эквивалентным уменьшением ферментативной активности почвы. Выявленная специфика ферментативной активности почв разных типов указывает на различия в структуре микробного сообщества почв и фитоценоза. Определены закономерности изменений ферментативной активности почв на водораздельных участках, в транзитной и аккумулятивной частях катен. Рассчитаны значения удельной, то есть приведенной к единице микробной биомассы, активности ферментов. Полученные закономерности изменения удельной ферментативной активности пахотных почв свидетельствуют о том, что, несмотря на потерю органического вещества и на уменьшение микробной биомассы в результате распашки, физиологическая эффективность микробного сообщества агрочернозема выше, чем в целинной почве. Высокая удельная ферментативная активность в пахотных почвах обусловлена большей скоростью продуцирования ферментов при смене режима землепользования.

Ключевые слова: органическое вещество, микробные сообщества, фосфатаза, β -глюкозидаза, хитиназа, ксилозидаза, сельскохозяйственное освоение

DOI: 10.31857/S0042132423040051, **EDN:** DHCFMW

ВВЕДЕНИЕ

Ферменты катализируют почвенные биохимические процессы и круговорот основных биогенных элементов и рассматриваются в качестве ранних индикаторов изменений режима землепользования (Хазиев, 1982; Собина и др., 2022; Wang Q., Wang S., 2011; Burns et al., 2013; Cui et al., 2019; Rosinger et al., 2019). Оценку активности ферментов β -глюкозидазы (БГ), хитиназы (ХТ) и фосфатазы традиционно используют для изучения циклов углерода, азота и фосфора в почвах (Stott et al., 2010; Tischer et al., 2015). Кроме того, по активности вышеупомянутых ферментов можно судить о нарушении доступности основных питательных элементов для микробного сообщества (Sinsabaugh, Moorhead, 1994). Гидролитический фермент β -глюкозидаза, играющий ключевую роль в деградации целлюлозы, — индикатор изменений состояния почвенного органического вещества (Stott et al., 2010). Хитиназа, ответственная за гидро-

лиз грибного хитина и бактериального пептогликана, которые связаны с разрушением и оборачиваемостью органического вещества в почвах, — важный посредник в цикле азота и углерода в почвах (Tischer et al., 2015). Фосфатазы участвуют в минерализации фосфорорганических соединений. В зависимости от реакции почвенной среды выделяют кислую и щелочную фосфатазу (КФ и ЩФ), которые продуцируются многими грибами, бактериями, а также корнями растений (Nannipieri et al., 2011).

Внеклеточные ферменты иммобилизованы в почве в составе соединений органоминеральной природы (Burns et al., 2013), следовательно, их активность будет зависеть от основных почвенных характеристик, а также от состава растительности и типа землепользования, что не позволяет судить о ферментативной активности исключительно как о результате непосредственной деятельности почвенных микроорганизмов. Поэтому особую важность

приобретает изучение удельной ферментативной активности почв — отношения активности ферментов к единице микробной биомассы (Silva et al., 2019). В зарубежной литературе часто используется термин *specific enzymatic activity* (De Medeiros et al., 2015). Показано, что удельная ферментативная активность — при смене характера землепользования более чувствительная характеристика, по сравнению с ферментативной активностью, выраженной на массу почвы (Raiesi, Beheshti, 2014). Оценка удельной ферментативной активности, которая является показателем деятельности почвенных микроорганизмов, имеет ряд преимуществ, по сравнению с оценкой ферментативной активности на единицу массы почвы. Как правило, ферментативная активность уменьшается в результате распашки почв, что связано с уменьшением содержания органического углерода и микробиологической активности (Guan et al., 2022). Удельная ферментативная активность, напротив, может увеличиваться в пахотных почвах. Показано, что при распашке лесной почвы происходит увеличение ферментативной активности на единицу микробной биомассы (De Medeiros et al., 2015). Высокая ферментативная активность на единицу микробной биомассы в пахотных почвах может быть связана с изменением структуры микробного сообщества (Kivlin, Treseder, 2014), с уменьшением величины микробной биомассы, с увеличением скорости продуцирования ферментов микроорганизмами при обработке почв (De Medeiros et al., 2015), с большей доступностью питательных элементов или более быстрой оборачиваемостью микробной биомассы, что приводит к большей скорости синтеза новых ферментов (Beheshti et al., 2012; Raiesi, Beheshti, 2014). Вероятно, высокие значения удельной активности ферментов, несмотря на уменьшение содержания органического углерода и микробной биомассы в результате сельскохозяйственного освоения, отражают физиологическое состояние микробного сообщества и его большую метаболическую активность (Lagomarsino et al., 2011).

Распашка приводит к изменению эрозионно-аккумулятивных процессов в почвах, что может усиливать либо, напротив, уменьшать уже существующие неоднородности ферментативной активности на разных элементах рельефа. Поэтому получить полное представление о ферментативной активности почв можно только анализируя почвы в разных геоморфологических позициях в пределах одного склона. Топографическое положение определяет особенности поступления солнечной радиации и интенсивность гравитационных процессов в разных частях склона, что, в свою очередь, влияет на поступление и разложение в почве растительных остатков. Это может существенным образом влиять на содержание органического вещества и на структуру микробных сообществ, опре-

деляя таким образом и ферментативную активность почв. В ряде исследований показана зависимость ферментативной активности от топографического положения (Bergstrom et al., 1998; Dengiz et al., 2007; Marinari, Antisari, 2010; Wickings et al., 2016; Wang et al., 2022), однако результаты весьма противоречивы. Например, в одном исследовании выявлено, что активность ХТ и БГ выше в почве аккумулятивной части склона (Wickings et al., 2016), тогда как в другом исследовании активность этих ферментов максимальна в почвах водораздела и в транзитной зоне (Wang et al., 2022).

Цель данной работы — оценка влияния сельскохозяйственного использования территории на микробную биомассу почв и выявление изменений ферментативной активности серых почв и черноземов при распашке. Иными словами, мы предприняли попытку оценить биологическое истощение пахотных почв. В отличие от физического истощения, выпаванности и связанного с этим критического состояния почв, в плане обеспеченности элементами минерального питания растений, биологическое истощение представляет собой более сложный и нелинейный процесс, связанный с асинхронным уменьшением микробной биомассы и активности ферментов вследствие изменения физико-химических свойств почв и отторжения больших объемов растительного материала. При этом данные процессы будут протекать по-разному в зависимости от типа почвы и геоморфологических условий. В качестве рабочей гипотезы мы предполагали, что ферментативная активность будет определяться в большей степени типом почв и, следовательно, содержанием органического вещества, при этом положение в катене будет иметь значение лишь для пахотных почв. Также предполагалось, что сельскохозяйственное освоение приведет к увеличению ферментативной активности на единицу микробной биомассы при распашке как лесных, так и степных почв.

ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Район исследования расположен на юге Среднерусской возвышенности (Белгородская обл.). Рельеф типично эрозионный, овражно-балочный. Территория принадлежит Донскому и Днепровскому бассейнам. Глубина залегания грунтовых вод на разных участках колеблется от 3 до 30 м. Преобладающие почвообразующие породы — карбонатные лёссовидные отложения.

В качестве объектов исследования были выбраны целинные почвы заповедника “Белогорье” и почвы современной пашни, расположенные рядом с заповедником. Следует отметить, что почвы заповедника достаточно глубоко исследованы (Счастная, Касаткина, 2006; Касаткина и др., 2012; Русаков, 2012; Украинский, Щербаков, 2014; Мостовая и др., 2015), что позволило нам, опираясь на

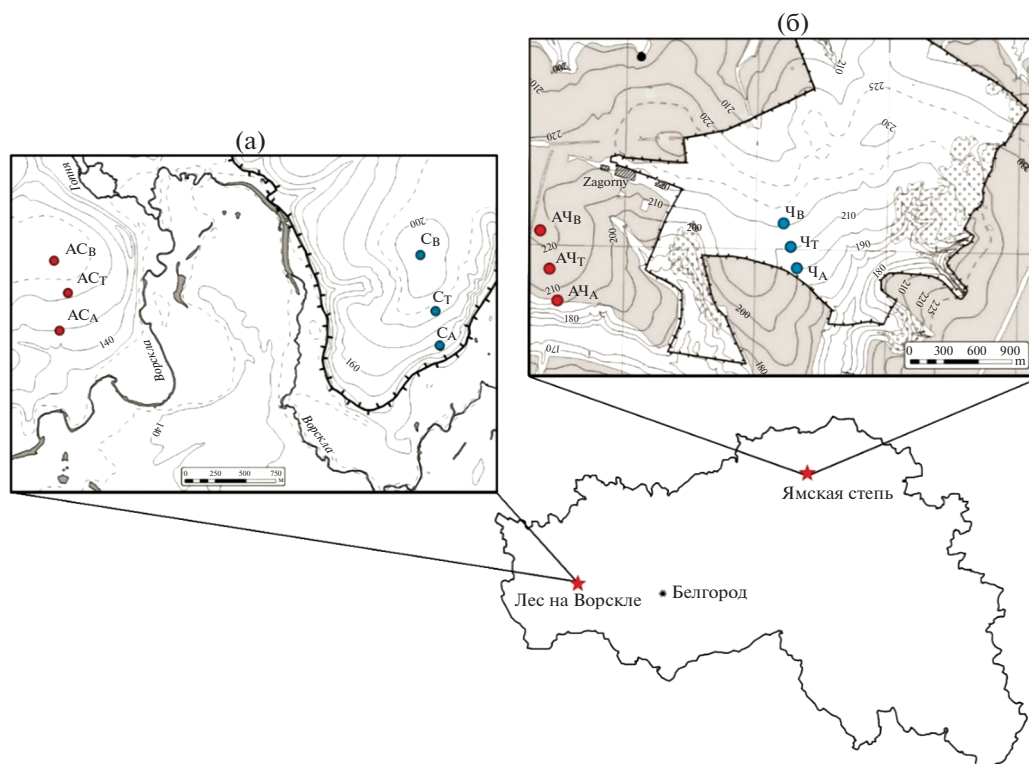


Рис. 1. Расположение ключевых участков. Точки отбора почвенных образцов: (а) ключевой участок “Лес на Ворскле”, (б) ключевой участок “Ямская степь”. С — серые целинные, АС — агросерые, Ч — черноземы целинные, АЧ — агрочерноземы. Малые индексы: В — водораздел, Т — транзитная зона, А — аккумулятивная зона.

эти работы, выбрать наиболее репрезентативные и хорошо изученные участки. На территории ключевого участка “Лес на Ворскле” исследованы серые почвы под дубравой. На территории ключевого участка “Ямская степь” исследованы черноземы обыкновенные под разнотравно-злаковыми растительными ассоциациями. Пахотные аналогичные целинных почв выбирали на участках со схожими уклоном и экспозицией склона и на одноклассовых почвообразующих породах. Длительность распахивания и в том, и в другом случае одинакова и составляет около 100 лет. На момент отбора образцов (вторая декада мая) поля были заняты озимой пшеницей. Таким образом, соблюден принцип одного различия, что позволяет рассматривать антропогенную деятельность как единственный фактор, объясняющий возможные изменения химических свойств и ферментативной активности почв.

Участок “Лес на Ворскле” (рис. 1а) с трех сторон ограничивают рр. Ворскла, Готня и Локня. Территория характеризуется эрозионным типом рельефа. Среднегодовая температура составляет $+6.0^{\circ}\text{C}$. Среднегодовая сумма осадков 530 мм/г. Растительность представлена многолетней нагорной дубравой *Quercus robur*. Состав подлеска: бересклет европейский *Euonymus europaeus*, бересклет бородавчатый *Euonymus verrucosus*, клен полевой *Acer campestre*.

Участок “Ямская степь” (рис. 1б) имеет менее выраженное эрозионное расчленение. В рельефе преобладают выпуклые и вогнутые формы склонов. С запада на восток Ямскую степь пересекает водораздел двух притоков р. Оскол — рек Дубенка и Чуфичка. Средняя годовая температура воздуха несколько выше, чем на участке “Лес на Ворскле”, и составляет $+6.9^{\circ}\text{C}$. Среднегодовая сумма осадков 589 мм/г. В растительном покрове доминирует ассоциация *Stippa pennata* + *Poa angustifolia* + *Varioherbosa prato-steppae* (Игнатенко, Собакинский, 1983).

Для изучения ферментативной активности пахотных и целинных серых лесных почв ключевого участка “Лес на Ворскле” выбраны участки склонов на южной экспозиции с одинаковым уклоном 3° – 4° на пашне (катена “Пашня”) и в заповеднике (катена “Лес”). По такому же принципу выбраны объекты для изучения черноземов на ключевом участке “Ямская степь” (катена “Пашня” на целине и катена “Степь” на территории заповедника). Литологические условия и гранулометрический состав во всех случаях схожи.

Изучались почвы в трех участках катен: локальный водораздел—транзитная зона—аккумулятивная зона. В каждой геоморфологической по-

зиции делали два разреза на удалении 5–7 м друг от друга.

Пахотные почвы ключевого участка “Лес на Ворскле” на водораздельном участке и транзитной зоне представлены агросерыми абрадированными супесчаными почвами на лёссовидных породах с утраченным горизонтом АУ. В аккумулятивной позиции катены развиты агросерые агропроградированные почвы с горизонтом АУрг. Целинные почвы на всех участках катен представлены серыми грубогумусированными легкосуглинистыми почвами на лёссовидных отложениях.

На ключевом участке “Ямская степь” на всех участках катены целинных почв развиты черноземы сегрегационные мощные тяжелосуглинистые глубоко карбонатные на карбонатных лёссовидных суглинках. В катене пахотных почв – агрочерноземы сегрегационные мощные тяжелосуглинистые глубоко карбонатные на карбонатных лёссовидных суглинках. Отмечена некоторая тенденция к утяжелению гранулометрического состава и увеличению мощности сохранившейся части горизонта АУ в аккумулятивной области катены, где развиты средне- и тяжелосуглинистые почвы.

Проводили морфолого-генетическое описание профилей и отбор образцов почв на химические анализы. Образцы почв для исследования состояния микробных сообществ почв отбирали из верхних слоев 0–10 и 10–20 см репрезентативно и с соблюдением асептических условий в полиэтиленовые пакеты. В лабораторных условиях образцы усредняли, удаляли корни и растительные остатки и просеивали через сито с диаметром ячеек 2 мм. Всего проанализировано 48 образцов (4 катены × 3 участка × 2 разреза × 2 слоя).

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Во всех образцах изученных почв проведено определение: рН водной вытяжки потенциометрическим методом; содержания органического углерода по Тюрину; содержания карбонатов ацидиметрическим методом (Аринушкина, 1970); анализа гранулометрического состава – пипеточным методом (Теории и методы..., 2007). Кроме того, определено общее содержание углерода и азота на анализаторе Vario MAX CHNS (Elementar, Deutschland). Вышеупомянутые анализы выполнены в Центре коллективного пользования Института физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН.

Углерод живой микробной биомассы ($C_{\text{мб}}$) рассчитывали по содержанию фосфолипидов в мембранах почвенных микроорганизмов (Хомутова, Демкин, 2011). Метод предполагает последовательное выполнение операций: экстракции фосфолипидов из почвенного образца в однофазной смеси (метанол : хлороформ : фосфатный буфер 1 : 2 : 0.8),

осаждения почвенного осадка центрифугированием, расслаивания супернатантов на верхний водный слой, содержащий буферный раствор, который удаляют, и нижний органический слой, содержащий липиды, в том числе и фосфолипиды, который в дальнейшем анализируют с использованием спектрофотометра. Измерения выполнялись в трехкратной повторности.

Ферментативную активность определяли микропланшетным методом (Deng et al., 2013; Margenot et al., 2018). К 0.5 г почвы приливали 60 мл воды. Встряхивали 30 мин на магнитной качалке при скорости 600 об./мин. Предварительно раскапали в каждую ячейку планшета по 50 мкл раствора модифицированного универсального буфера с оптимальным рН для каждого фермента (для КФ, БГ, ХТ и ксилозидазы (КС) – 5.8, для ЩФ – 9.0). После этого прилили по 50 мкл субстрата в каждую ячейку планшета. Инкубировали при 30°C в течение 1 ч для ЩФ, 3 ч – для КФ и БГ, 8 ч – для ХТ и КС. В качестве субстратов использовали хромогенно (на основе 4-нитрофенола) или флуорогенно (на основе 4-метилумбеллиферона) меченные субстраты. После инкубации измеряли: оптическую плотность на планшетном ридере xMark (Bio-Rad, USA) при длине волны 410 нм или количество флуоресценции на флуориметре Fluoroskan (Thermo Fisher Scientific, USA) при длине волны возбуждения эмиссии 355 нм и испускания 460 нм. Измерения проводили в четырех повторностях.

Статистическую обработку данных проводили стандартными методами, использовали метод главных компонент в программе PCORD 5. Дисперсионный анализ проводили в программе PAST 4.03.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Химические свойства и гранулометрический состав почв

Ключевой участок “Лес на Ворскле”

Почвы в катенах “Лес” и “Пашня” характеризуются легкосуглинистым гранулометрическим составом, который утяжелялся с глубиной (табл. 1, рис. 2).

В целинной серой почве гранулометрический состав в верхнем горизонте одинаковый на всех участках катены. Содержание физической глины варьирует в пределах 20–24%. В случае с транзитной частью катены большая мощность горизонта АЕЛ обуславливает более легкий гранулометрический состав в слое 20–40 см, но в слоях 0–10 и 10–20 см различия между участками катены незначительны.

Содержание $C_{\text{орг}}$ в почвах водораздельного участка и аккумулятивной части склона катены “Лес” близкое, здесь в слое 0–10 см оно составляет 2.7%. Более низкое содержание $C_{\text{орг}}$ в почвах

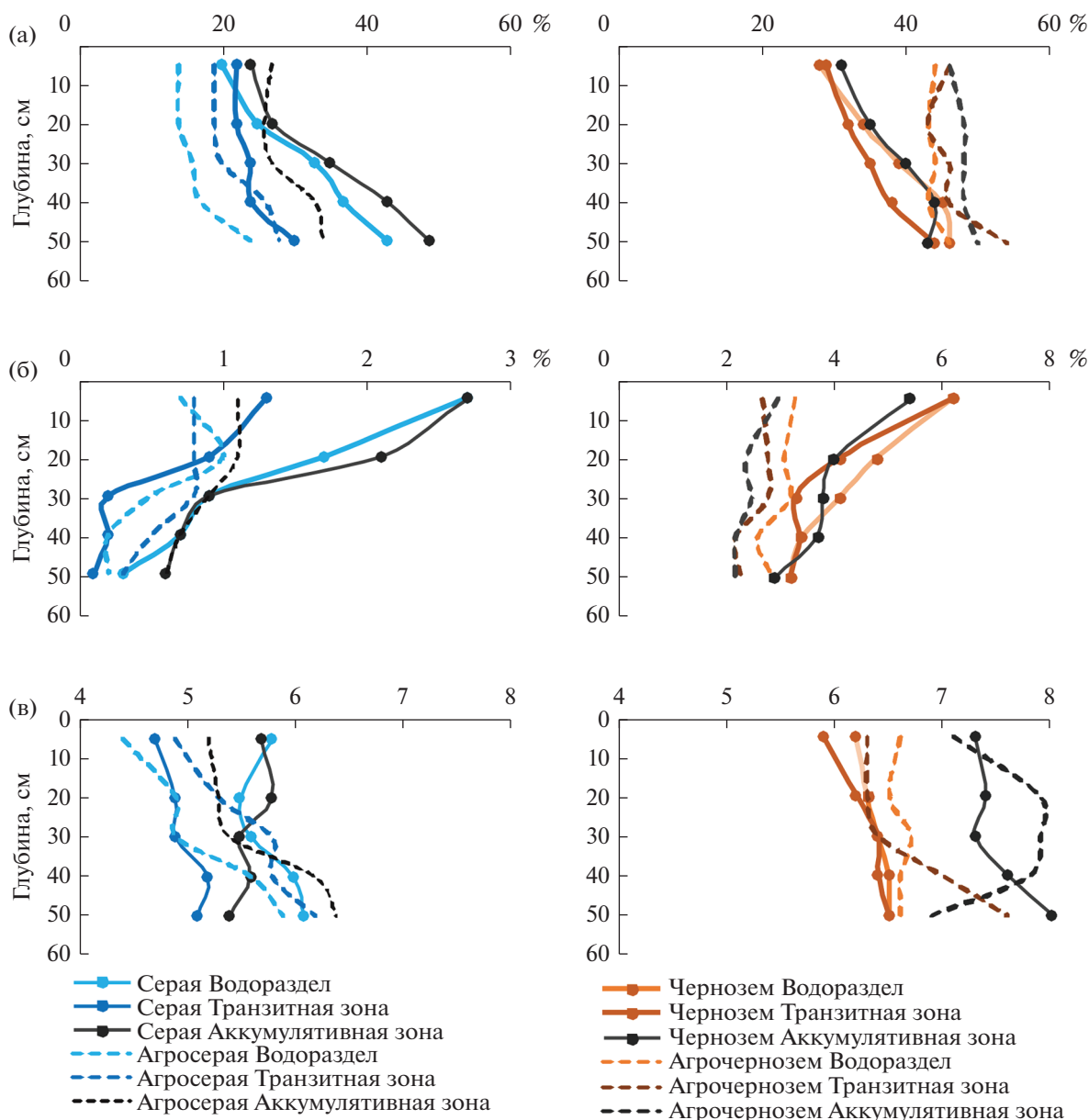


Рис. 2. Содержание физической глины (а), органического углерода (б) и значения pH (в) в исследованных почвах.

транзитной зоны связано с особенностями эрозионно-аккумулятивных процессов в этой части катены. При этом в катене “Пашня” содержание $C_{орг}$ ниже в 2–4 раза. Кроме того, в пахотных почвах не выявлено существенных различий в содержании $C_{орг}$ на различных глубинах.

Соотношение C/N на различных участках катены и в различных слоях почв варьирует в пределах от 5.6 до 9.7.

Значения pH заметно варьируют в зависимости от положения почв в катене. Здесь в первую очередь следует отметить транзитный участок в катене целинных серых почв, где этот показатель менее 5. В пахотном горизонте в катене агросерых

почв pH в значительной мере смещен в кислую область, при этом хорошо заметна тенденция возрастания pH от водораздела к аккумулятивной части склона.

Ключевой участок “Ямская степь”

Почвы в катенах целинных и антропогенно-преобразованных почв характеризуются среднесуглинистым гранулометрическим составом (табл. 1, рис. 2). В агрочерноземах отмечено возрастание доли тяжелых фракций в пахотном горизонте, что, по-видимому, следует связывать с привносом физической глины в результате склоновых процессов.

Таблица 1. Химические свойства и гранулометрический состав в почвах

Геоморфологическое положение		Глубина, см	pH	C _{орг}	N _{общ}	C/N	CaCO ₃	Содержание частиц	
								<0.01 мм	<0.001 мм
								%	
Ключевой участок “Лес на Ворскле” (серые почвы)									
Лес	Водораздел	0–10	5.8	2.7	0.3	10.0	0.74	20	3
		10–20	5.5	1.7	0.1	6.2	0.67	25	5
	Транзитная зона	0–10	4.7	1.3	0.2	9.7	0.52	22	3
		10–20	4.9	0.9	0.1	6.7	0.45	22	3
	Аккумулятивная зона	0–10	5.7	2.7	0.3	9.9	0.89	24	6
		10–20	5.8	2.1	0.2	6.3	0.82	27	8
Пашня	Водораздел	0–10	4.4	0.7	0.2	8.5	0.45	14	4
		10–20	4.9	0.9	0.1	6.5	0.30	14	4
	Транзитная зона	0–10	4.9	0.8	0.1	6.5	0.59	19	8
		10–20	5.3	0.8	0.1	9.3	0.22	19	7
	Аккумулятивная зона	0–10	5.2	1.1	0.2	9.2	0.82	27	9
		10–20	5.3	1.1	0.1	9.5	0.30	26	9
Ключевой участок “Ямская степь” (черноземы)									
Степь	Водораздел	0–10	6.2	6.2	0.6	12.4	1.11	28	9
		10–20	6.3	4.8	0.5	11.1	1.19	34	11
	Транзитная зона	0–10	5.9	6.2	0.6	11.8	1.04	29	8
		10–20	6.2	4.1	0.3	10.9	1.04	32	11
	Аккумулятивная зона	0–10	7.3	5.4	0.5	10.8	1.49	31	10
		10–20	7.4	4.0	0.4	11.3	1.41	35	13
Пашня	Водораздел	0–10	6.6	3.3	0.3	12.2	1.19	44	21
		10–20	6.5	3.1	0.3	11.9	1.04	43	21
	Транзитная зона	0–10	6.3	2.7	0.2	16.3	1.11	46	24
		10–20	6.3	2.8	0.2	16.4	1.04	43	23
	Аккумулятивная зона	0–10	6.9	3.0	0.2	15.8	1.19	46	23
		10–20	7.1	2.4	0.2	14.3	1.19	48	24

Содержание C_{орг} в целинных черноземах достигает 6.2% в слое 0–10 см и уменьшается с глубиной. В катене агрочерноземов содержание C_{орг} в верхнем пахотном слое ниже в 1.5–2.0 раза. Аналогично пахотным почвам ключевого участка “Лес на Ворскле”, содержание C_{орг} на глубинах 0–10 и 10–20 см различается незначительно.

Соотношение C/N в изученных почвах варьирует в пределах от 10.5 до 15.8. Большие значения данного показателя в черноземах, по сравнению с серыми почвами, указывают на более низкую степень разложения почвенного органического вещества на участке “Ямская степь”. Микробное разложение приводит к снижению количества углерода по отношению к азоту: минерализован-

ный азот сохраняется в микробной биомассе, а углерод окисляется до CO₂ (Пастухов и др., 2018).

Значения pH данного ключевого участка изменяются от нейтральных до слабощелочных с тенденцией возрастания значений pH в почвах аккумулятивной зоны как естественных, так и пахотных почв.

Микробная биомасса

Распашка приводит к уменьшению микробной биомассы (рис. 3), что согласуется с литературными данными (Лысак и др., 2004; Масютенко и др., 2009; Bittman et al., 2005; Jiang et al., 2011). Наблюдается характерное возрастание микробной биомассы в агросерой почве в аккумулятив-

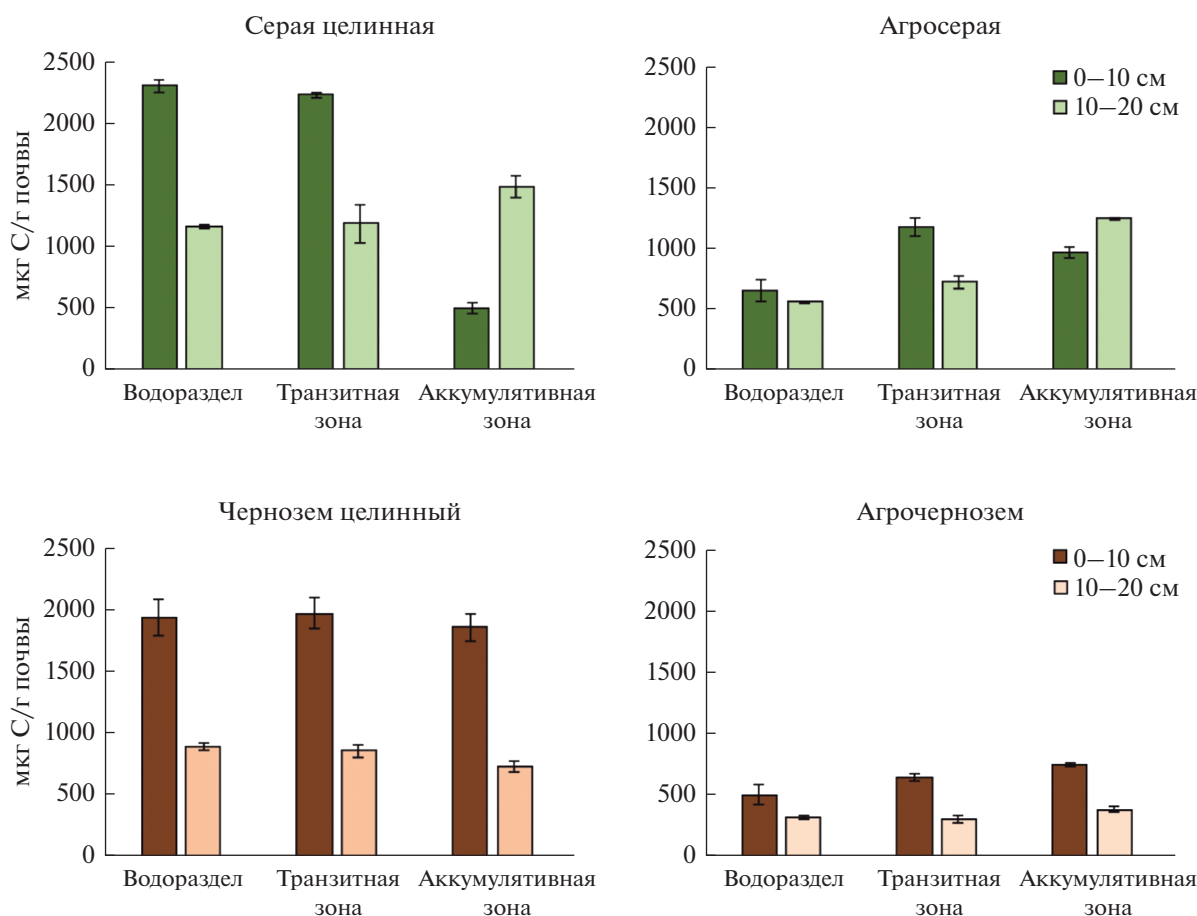


Рис. 3. Микробная биомасса в целинных и пахотных почвах.

ной зоне катены, чего не отмечается в катене агрочерноземов. В черноземах ключевого участка “Ямская степь” уменьшение микробной биомассы в результате сельскохозяйственного использования более существенно, по сравнению с серыми почвами ключевого участка “Лес на Ворскле”. Неожиданными оказались различия в значениях микробной биомассы между верхней и нижней частью пахотного горизонта. Так, в агросерой почве в слое 10–20 см пахотного горизонта на всех участках катены микробная биомасса выше, чем в верхнем слое. Возможно, это связано с дифференциацией исходно гомогенного почвенного материала со временем, прошедшим между обработкой почвы и отбором почвенных образцов.

Ферментативная активность

Значения активности изученных ферментов, выраженных на массу почвы, в целом выше в целинных почвах (рис. 4а, 5а). Отмечено лишь достоверное ($p < 0.001$) увеличение активности БГ в агрочерноземе ключевого участка “Ямская степь”. Увеличение активности этого фермента указывает на

увеличение скорости разложения почвенного органического вещества в степных пахотных почвах (Stott et al., 2010). Распашка черноземов приводит к достоверному ($p < 0.001$) уменьшению активности КФ и ЩФ. В серых почвах ключевого участка “Лес на Ворскле” вследствие распашки произошло достоверное ($p < 0.04$) уменьшение активности ХТ, КС и КФ. Активность БГ, КФ и ЩФ выше в целинных степных почвах, а в лесных целинных почвах выше активность ХТ. Высокая хитиназная активность обусловлена большой биомассой грибного сообщества в почвах лесных экосистем. Активность этого фермента рассматривают в качестве индикатора грибной биомассы, так как хитин является основным компонентом клеточных стенок грибов (Marinari, Antisari, 2010).

В целинных черноземах ключевого участка “Ямская степь” можно отметить несколько большие значения ферментативной активности в почвах на водораздельном и аккумулятивном участках склона. Максимальные различия проявляются в отношении ЩФ: так, в слое 0–10 см на водораздельном участке ее значения достигают 185 нмоль 4-НФ/г почвы в час, а в аналогичном слое в почве

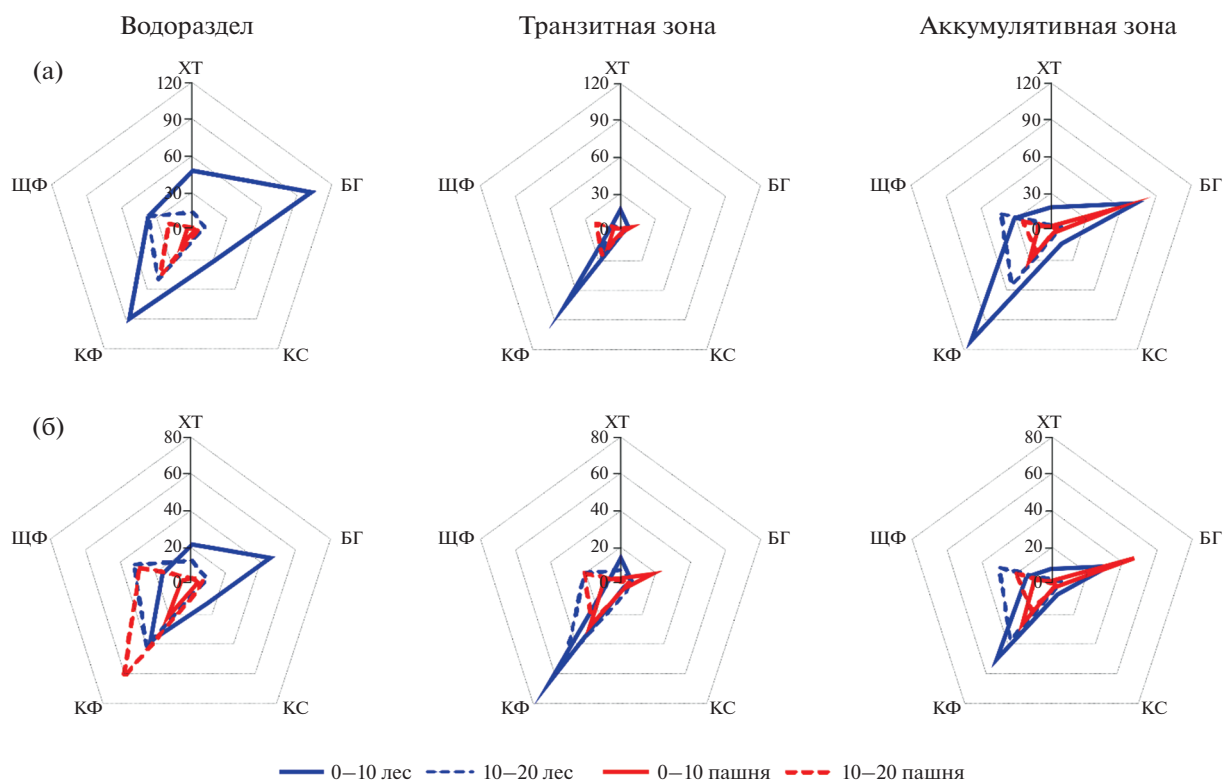


Рис. 4. Ферментативная активность целинных и агросерых почв ключевого участка “Лес на Вороскле” в различных положениях катены (ХТ – хитиназа, БГ – β -глюкозидаза, КС – ксилозидаза, КФ – кислая фосфатаза, ЩФ – щелочная фосфатаза, здесь и на рис. 5 и 6); (а) абсолютная активность (нмоль 4-МУФ/г почвы в час), (б) удельная активность (мкмоль 4-МУФ/г $C_{мб}$ в час).

транзитной зоны – 90 нмоль 4-НФ/г почвы в час, что связано, вероятно, с особенностями эрозионно-аккумулятивных процессов в этой части склона. Распашка во многом нивелирует различия в биологической активности почв на разных участках склона: в пахотных агрочерноземах не выявлено достоверных различий в ферментативной активности в зависимости от положения в катене.

Для серых почв зависимость ферментативной активности от положения в катене более заметна. В целинных серых почвах отмечена большая активность ХТ, БГ и КС на водораздельном участке, активность КФ максимальна в почве аккумулятивной зоны. В целом же, как и в катенах черноземов, минимальные значения ферментативной активности выявлены в целинной серой почве в транзитной зоне. В агросерых почвах наблюдается увеличение активности КФ на водораздельном участке склона, что связано с уменьшением содержания доступных фосфатов на данном отрезке. Высокие значения активности БГ в почвах в аккумулятивной части катены связаны с большим содержанием $C_{орг}$ и большим содержанием физической глины в аккумулятивной области катены агросерых почв, что в свою очередь является следствием намыва мелкозема.

Таким образом, отличия в ферментативной активности почв на различных участках катен в большей степени характерны для пахотных почв и менее заметны в катенах их целинных аналогов. В целом, большая вариабельность в зависимости от геоморфологических условий характерна для почвенных ферментов фосфатного цикла. Отсутствие изменчивости в активности ферментов углеродного цикла в черноземах естественных и пахотных катен может быть связано с меньшей скоростью разложения почвенного органического вещества и его большей стабильностью, по сравнению с серыми лесными почвами. Аналогичные геоморфологически обусловленные закономерности в функциональном разнообразии и структуре микробных сообществ почв выявлены при изучении дыхательных откликов на внесение низкомолекулярных источников углерода (Дущанова и др., 2023).

Как и в случае с микробной биомассой, неожиданны заметные различия в значениях ферментативной активности между верхней и нижней частью пахотного горизонта агросерой почвы. Причем высокая ферментативная активность в слое 10–20 см наблюдается и в пахотных почвах, и в целинных, хотя в последнем случае различия менее выражены. Причины высокой ферментативной

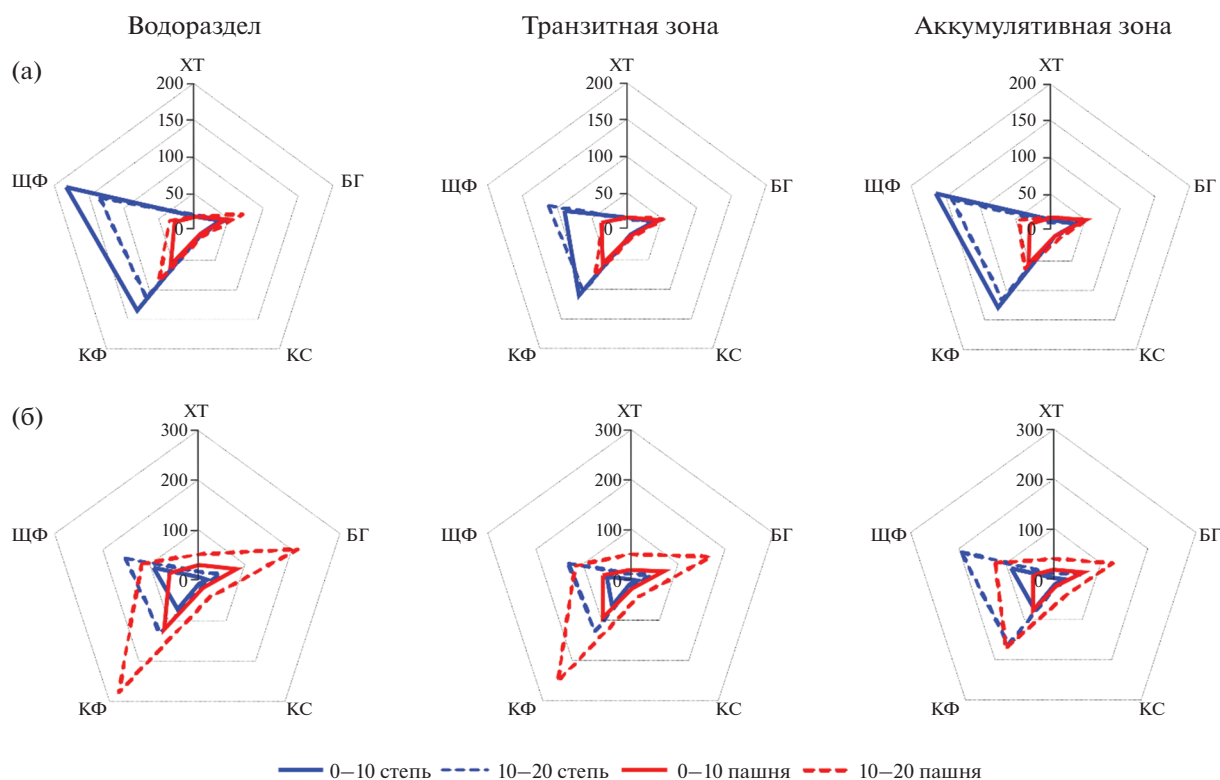


Рис. 5. Ферментативная активность (нмоль 4-НФ/г почвы в час) целинных почв и агрочерноземов ключевого участка “Ямская степь” в различных положениях catena; (а) абсолютная активность (нмоль 4-НФ/г почвы в час), (б) удельная активность (мкмоль 4-НФ/г C_{mb} в час).

активности почв в слое 10–20 см — достаточно стабильные температурные и водно-воздушные условия в более глубоких слоях при одинаковом с верхним слоем содержании $C_{орг}$ и илистой фракции.

Удельная ферментативная активность

Ферментативная активность, выраженная на массу почвы, не позволяет в полной мере оценить состояние микробного сообщества как такового, поскольку одна и та же единица микробной биомассы в разных условиях может демонстрировать разную степень активности. В этом аспекте ферментативная активность является в большой степени экологической характеристикой почвы как части экосистемы, что не позволяет судить о состоянии самого микробного сообщества и не дает возможности сравнивать между собой состояние микробных сообществ двух почв. В связи с этим проведен расчет ферментативной активности на единицу микробной биомассы — удельной активности. Различия в удельной активности ферментов целинных и пахотных вариантов, как мы полагаем, характеризуют внутреннюю структуру и состояние микробных сообществ и в большей степени отража-

ют изменения последних в связи с геоморфологическими условиями и антропогенным воздействием.

Удельная ферментативная активность агросерых почв и агрочерноземов различается весьма существенно, при этом активность отдельных ферментов при земледельческом освоении меняется разнонаправленно (рис. 46, 56). Распашка черноземов приводит к достоверному увеличению удельной активности ХТ, БГ и КС ($p < 0.01$). При этом распашка практически не отражается на активности КФ и ЩФ. Если активности всех изученных ферментов на единицу массы почвы не различаются в разных позициях в catena агрочерноземов, то удельная активность БГ, КФ и ЩФ несколько повышена в агрочерноземе на водоразделе, а активность ЩФ также увеличена в почве аккумулятивной зоны. Следует отметить, что во всех почвах ферментативная активность выше в слое 10–20 см.

В catenaх серых почв ключевого участка “Лес на Ворскле” противоположная ситуация: здесь распашка обуславливает снижение ферментативной активности, приведенной к микробной биомассе, но достоверное уменьшение выявлено только в отношении активности ХТ и КФ ($p < 0.05$). Важно отметить увеличение удельной активности

КФ в слое 10–20 см в агросерой почве транзитной зоны, а также удельной активности БГ в транзитной и аккумулятивной зонах катены, хотя различия недостоверны между целинными и пахотными почвами. Распределение ферментативной активности, выраженной на микробную биомассу, по профилю почвы в целом аналогично распределению ферментативной активности, выраженной на массу почвы. Лишь ЩФ на всех участках катен выше в слое 10–20 см. Особо следует отметить более высокие значения активности всех ферментов в почве на водораздельном участке пашни.

Ранее показано (Silva et al., 2019), что активность ферментов, выраженная на единицу микробной биомассы, отражает метаболический статус микробного сообщества и изменения в пуле стабилизированных ферментов. Следовательно, полученные нами результаты свидетельствуют о возрастании физиологической эффективности микробного сообщества при распашке степных почв. В случае с лесными почвами удельная ферментативная активность уменьшена, можно лишь отметить тенденцию к увеличению удельной активности БГ при распашке.

Известно, что ферментативная активность увеличивается при избытке ресурса и уменьшается при его недостатке, что является стратегией выживания почвенных микроорганизмов в соответствии с теорией микробного метаболизма (Sinsbaugh et al., 2008). Удельная активность, напротив, не связана с изменением степени доступности ресурса, и ее высокие значения в почвах обусловлены большей скоростью продуцирования ферментов при распашке почвы (De Medeiros et al., 2015).

Статистическая обработка данных

Статистическая обработка результатов оценки ферментативной активности почв и связанных с ней физико-химических показателей, проводилась с помощью метода главных компонент (рис. 6а).

Показано, что с первыми двумя факторами связаны 78% общей вариации. Все почвенные характеристики, кроме содержания CaCO_3 , значимы ($p = 0.05$). С фактором 1 преимущественно связана ферментативная активность, pH, содержание $\text{C}_{\text{орг}}$, соотношение C/N. При этом наиболее тесную отрицательную взаимосвязь с фактором 1 демонстрируют содержание $\text{C}_{\text{орг}}$, активность БГ, ХТ, КС и ЩФ. Для показателей гранулометрического состава обнаружена слабая отрицательная взаимосвязь с фактором 1 и слабая положительная взаимосвязь с фактором 2. Микробная биомасса показывает тесную отрицательную взаимосвязь с фактором 2.

Фактор 1, объясняющий 57.9% вариации, преимущественно связан с типом почвы. В правой полуплоскости расположены главным образом серые

лесные почвы, а в левой — черноземы. Фактор 2, объясняющий 19.7% вариации, связан с антропогенной трансформацией почв: пахотные варианты почв, как правило, сгруппированы в верхней полуплоскости, а заповедные варианты — в нижней.

Группировка объектов по типу почвы обусловлена разными типами растительных остатков, поступающих в почву в условиях лесной и степной экосистем, и условиями для их минерализации почвенными микроорганизмами. В первую очередь это относится к корневой массе, объемы которой в степных почвах значительно выше, по сравнению с лесными почвами (Базилевич, 1993). Именно большие объемы корневой мортмассы, поступающей в степные почвы, обуславливают более высокую биологическую активность черноземов, по сравнению с серыми лесными почвами.

Распределение почв по фактору 2, связанное с антропогенной нагрузкой, обусловлено существенными различиями микробной биомассы в заповедных и пахотных почвах. Наибольшее отрицательное смещение по фактору 2 отмечено для верхнего слоя целинных серых лесных почв на водоразделе и в аккумулятивной части катены. Именно здесь зафиксированы максимальные значения микробной биомассы. В верхнем слое транзитной части целинной катены серых лесных почв значения данного показателя в 2.0–2.5 раза меньше. На факторной плоскости соответствующая точка входит в группу целинных серых лесных почв, располагаясь рядом с координатами, отмеченными для слоя 10–20 см на водоразделе и в аккумулятивной части катены. В слое 10–20 см транзитной части заповедной катены биологическая активность уменьшена до уровня агросерых почв. При этом микробная биомасса последних достоверно не отличается в слоях 0–10 и 10–20 см, что отражает тесную группировку соответствующих точек. Такая же закономерность отмечена и для агрочерноземов, где различия микробной биомассы в отдельных слоях несущественны. В заповедных черноземах слои 0–10 и 10–20 см по количеству микробной биомассы отличаются в 2.0–2.5 раза, на что указывает их послонное разделение на факторной плоскости.

Ферментативная активность, выраженная на микробную биомассу (рис. 6б), обнаруживает иные взаимосвязи с почвенными характеристиками, прежде всего с гранулометрическим составом почв, что позволяет несколько иначе рассмотреть зональные и антропогенно обусловленные различия их биологической активности. Первые два фактора объясняют 82% общей вариации. Все почвенные характеристики, кроме содержания $\text{C}_{\text{орг}}$, значимы ($p = 0.05$). Показатели ферментативной активности, pH, гранулометрического состава, C/N, связаны с фактором 1. При этом наиболее тесную отрицательную взаимосвязь проявляют: содержание ила, глины, C/N, активность ЩФ и

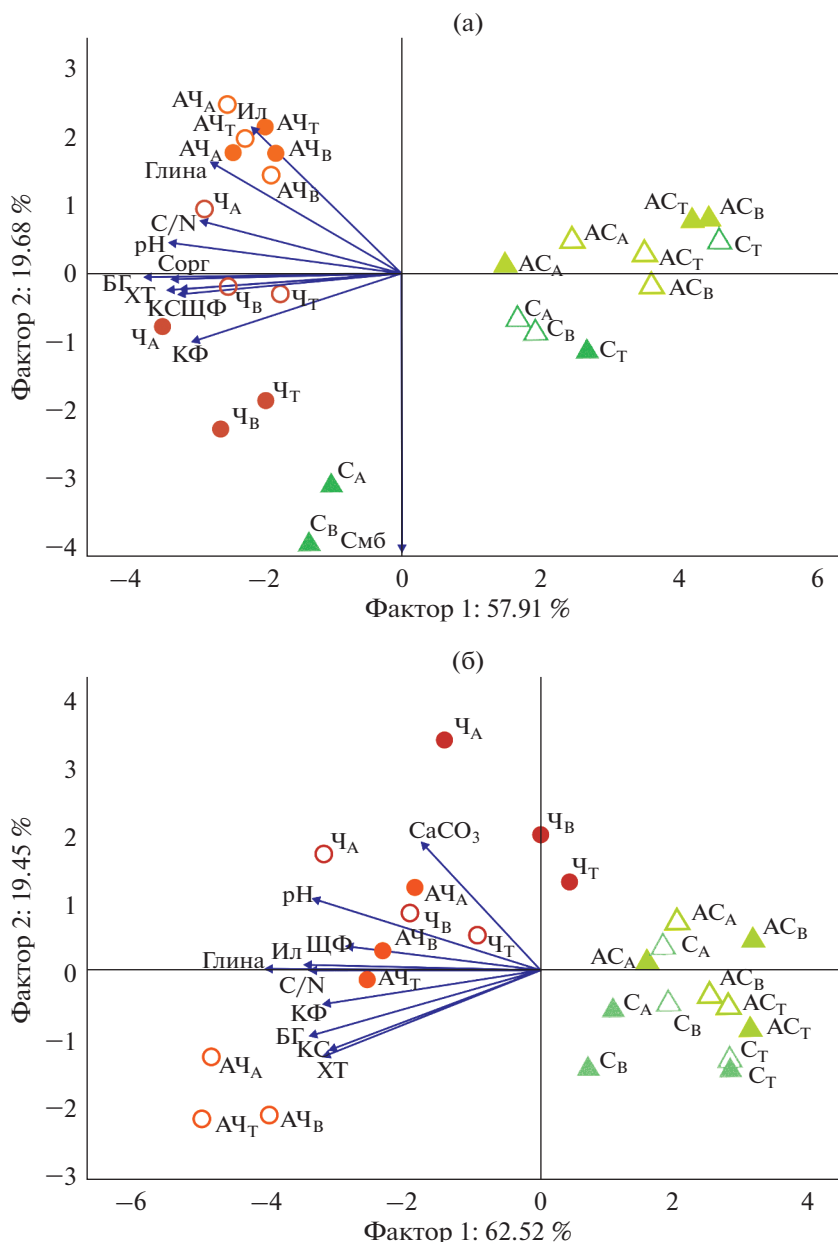


Рис. 6. Метод главных компонент для химических и микробиологических параметров. (а) Абсолютная ферментативная активность, (б) удельная ферментативная активность. Условные обозначения: С – серые целинные почвы, АС – агроцере, Ч – черноземы целинные, АЧ – агроцере. Малые индексы: В – водораздельный участок, Т – транзитная зона, А – аккумулятивная зона. Закрашенные символы – слой 0–10 см, не покрашенные символы – слой 10–20 см.

КФ. Активности БГ, КС и ХТ находятся в слабой отрицательной взаимосвязи с факторами 1 и 2. Содержание CaCO_3 и pH обнаруживают слабую положительную взаимосвязь с фактором 1.

Фактор 1, объясняющий 62.5% вариации, связан с типом почвы. В правой полуплоскости главным образом расположены серые лесные почвы, а в левой – черноземы. Вдоль фактора 2, объясняющего 19.5% вариации, отмечено разделение заповедных черноземов, группирующихся в верхней полуплоскости и агроцере – в нижней

полуплоскости. В целом, удельная ферментативная активность черноземов убывает в ряду: агроцере, слой 10–20 см → агроцере, слой 0–10 см → заповедные черноземы, слой 10–20 см → заповедные черноземы, слой 0–10 см. Уменьшение микробной биомассы как с глубиной, так и в результате распахивания не сопровождается эквивалентным уменьшением ферментативной активности почвы, а удельная ферментативная активность при этом значительно возрастает, что, как было сказано выше, связано с большей

метаболической активностью пахотных почв, по сравнению с целинными.

В группе серых почв целинные варианты, как правило, располагаются на факторной плоскости ниже и левее, чем пахотные. Это расположение обусловлено, прежде всего, высокой активностью КФ. Заметное увеличение удельной активности ХТ, КС и БГ — ферментов азотного и углеродного циклов — отмечены в данной группе только на водоразделе в слое 0–10 см.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Тип почвы и связанная с ним разница объемов и форм органического вещества, структур микробного сообщества и их метаболического разнообразия обуславливают выявленные различия ферментативной активности целинных серых почв и черноземов. Все эти факторы, в свою очередь, зависят от характера растительности (древесная/травянистая), а также от ежегодных объемов отмершей фитомассы и преимущественной локализации процессов микробного разложения последней (наземный слой/почва). Немаловажную роль играют физико-химические условия и гранулометрический состав почв, а также склоновые процессы, приводящие к перераспределению мелкозема. В связи с этим абсолютно ожидаемой выглядит более высокая ферментативная активность целинных черноземов, по сравнению с серыми лесными почвами. Спектр ферментов, характеризующихся высокой активностью, также определяется типом растительного материала: в этом отношении показательна высокая активность хитиназы в лесных почвах, где грибы выступают в качестве ведущего деструктора древесной мортмассы. Однако следует отметить, что в лесных экосистемах в силу более активных эрозионно-аккумулятивных процессов заметную роль в общей ситуации с ферментативной активностью играет положение почвы в катене. Особенно это касается серой лесной почвы в транзитной области катены.

Можно также отметить, что в целинных вариантах катены серых почв слои 0–10 и 10–20 см почв различаются по ферментативной активности, а, следовательно, и по метаболическому разнообразию микробных сообществ, в то время как в целинных черноземах таких различий между слоями не наблюдается.

Весьма показательны изменения ферментативной активности почв при распашке. На фоне уменьшения микробной биомассы происходит значительное уменьшение ферментативной активности почв обоих типов, однако активность оставшейся части микробного сообщества существенным образом отличается в агрочерноземах и агросерых почвах. Распашка чернозема провоцирует резкое увеличение удельной ферментатив-

ной активности (приведенной к единице микробной биомассы). При этом в катенах серых и агросерых почв значения ферментативной активности, приведенные к единице массы почвы и к единице микробной биомассы, были довольно близки. Это свидетельствует о более высоких уровнях и физиологической эффективности микробного сообщества пахотного чернозема, и скорости продуцирования ферментов на единицу микробной биомассы. Иными словами, если в серых лесных почвах при распашке наблюдается абсолютное угнетение биологической активности, то в черноземах этого не происходит. Да, рассчитанные на единицу массы почвы микробная биомасса и активность ферментов уменьшаются, однако активность оставшейся части микробного сообщества возрастает. И в первую очередь это относится к нижней части пахотного горизонта, где условия функционирования почвенных микроорганизмов более стабильны.

Такого рода агрессивность микробного сообщества пахотных черноземов представляется нам весьма тревожным сигналом того, что скорость минерализации органического вещества в условиях распашки будет резко увеличиваться, что может привести к быстрому истощению почвы, как это, по-видимому, уже произошло с рассмотренными агросерыми почвами.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, проект № 22-68-00010.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что нет конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов изучения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Аринушкина Е.В. Руководство по химическому анализу почв. М.: МГУ, 1970. 487 с.
- Базилевич Н.И. Биологическая продуктивность экосистем Северной Евразии. М.: Наука, 1993. 295 с.
- Дущанова К.С., Украинский П.А., Каширская Н.Н. и др. Биомасса и функциональное разнообразие микробных сообществ в катенах целинных и пахотных серых почв и черноземов // Почвоведение. 2023. (в печати)
- Игнатенко О.С., Собакинский В.Д. Некоторые итоги охраны растительности Стрелецкой степи // Эколого-географические и географические особенности растительности (к 100-летию В.В. Алехина) / Ред. А.Г. Воронцов, Г.И. Дохман. М.: Наука, 1983. С. 99–106.

- Касаткина Г.А., Федорова Н.Н., Русаков А.В. Почвы и почвенный покров заповедника "Белогорье" // Вестн. СПбГУ. 2012. № 1. Сер. 3. Биол. С. 121–138.
- Лысак Л.В., Семенова Н.А., Буланкина М.А. и др. Бактерии в окультуренных почвах монастырей таежно-лесной зоны // Почвоведение. 2004. № 8. С. 976–985.
- Масютенко Н.П., Нагорная О.В., Лукьянчикова О.В. Влияние удобрений, типа севооборота, экспозиции склона и вида угодий на динамику содержания микробной биомассы в черноземе типичном // Агрохимия. 2009. № 5. С. 49–54.
- Мостовая А.С., Курганова И.Н., Лопес де Гереню В.О. и др. Изменение микробиологической активности серых лесных почв в процессе естественного лесовосстановления // Вестн. Воронеж. ГУ. Сер. Хим. Биол. Фарм. 2015. № 2. С. 64–72.
- Пастухов А.В., Кноблаух К., Яковлева Е.В., Каверин Д.А. Маркеры трансформации органического вещества в мерзлотных бугристых болотах на Европейском Северо-Востоке // Почвоведение. 2018. № 1. С. 48–61.
- Русаков А.В. Почвы и почвенный покров Ямской степи. СПб.: СПбГУ, 2012. 216 с.
- Собина А.С., Хачиков Э.А., Шмараева А.Н. и др. Биологическая активность чернозема обыкновенного через 5 лет после прекращения агрогенной обработки // Агрохим. вестн. 2022. № 1. С. 22–26.
- Счастливая Л.С., Касаткина Г.А. Почвенно-географические исследования в заповеднике "Лес на Ворскле" – "Белогорье" // Вестн. СПбГУ. Сер. 3. Биол. 2006. № 1. С. 81–87.
- Теории и методы физики почв / Ред. Е.В. Шеин, Л.О. Карпачевский. М.: Гриф и К, 2007. 616 с.
- Украинский П.А., Щербаков К.В. Эрозионный рельеф участка Ямская степь (природный заповедник "Белогорье") // Науки о земле. 2014. № 1–2. С. 84–91.
- Хазиев Ф.Х. Системно-экологический анализ ферментативной активности почв. М.: Наука, 1982. 204 с.
- Хомутова Т.Э., Демкин В.А. Оценка биомассы микробных сообществ почв сухих степей по содержанию в них фосфолипидов // Почвоведение. 2011. № 6. С. 748–754.
- Beheshti A., Raiesi F., Golchin A. Soil properties, C fractions and their dynamics in land use conversion from native forests to croplands in northern Iran // Agric. Ecosyst. Environ. 2012. V. 148. P. 121–133.
- Bergstrom D.W., Monreal C.M., Millette J.A., King D.J. Spatial dependence of soil enzyme activities along a slope // Soil Sci. Soc. Am. J. 1998. V. 62. P. 1302–1308.
- Bittman S., Forge T.A., Kowalenko C.G. Responses of the bacterial and fungal biomass in a grassland soil to multi-year applications of dairy manure slurry and fertilizer // Soil Biol. Biochem. 2005. V. 37. P. 613–623.
- Burns R.G., DeForest J.L., Marxsen J. et al. Soil enzymes in a changing environment: current knowledge and future directions // Soil Biol. Biochem. 2013. V. 58. P. 216–234.
- Cui Y., Bing H., Fang L. et al. Extracellular enzyme stoichiometry reveals the carbon and phosphorus limitations of microbial metabolisms in the rhizosphere and bulk soils in alpine ecosystems // Plant Soil. 2019. V. 458. P. 7–20.
- De Medeiros E.V., De Alcantara Notaro K., De Barros J.A. et al. Absolute and specific enzymatic activities of sandy entisol from tropical dry forest, monoculture and intercropping areas // Soil Till. Res. 2015. V. 145. P. 208–215.
- Deng S., Popova I.E., Dick L., Dick R. Bench scale and microplate format assay of soil enzyme activities using spectroscopic and fluorometric approaches // Appl. Soil Ecol. 2013. V. 64. P. 84–90.
- Dengiz O., Kizilkaya R., Göl C., Hepşen Ş. Effects of different topographic positions on soil properties and soil enzymes activities // As. J. Chem. 2007. V. 19. P. 2295–2306.
- Guan H.L., Fan J.W., Lu X. Soil specific enzyme stoichiometry reflects nitrogen limitation of microorganisms under different types of vegetation restoration in the karst areas // Appl. Soil Ecol. 2022. V. 169. P. 104253.
- Jiang X., Wright A.L., Wang X., Liang F. Tillage-induced changes in fungal and bacterial biomass associated with soil aggregates: a long-term field study in a subtropical rice soil in China // Appl. Soil Ecol. 2011. V. 48. P. 168–173.
- Kivlin S.N., Treseder K.K. Soil extracellular enzyme activities correspond with abiotic factors more than fungal community composition // Biogeochemistry. 2014. V. 117. P. 23–37.
- Lagomarsino A., Benedetti A., Marinari S. et al. Soil organic C variability and microbial functions in a Mediterranean agro-forest ecosystem // Biol. Fertil. Soils. 2011. V. 47. P. 283–291.
- Margenot A.J., Nakayama Y., Parikh S.J. Methodological recommendations for optimizing assays of enzyme activities in soil samples // Soil Biol. Biochem. 2018. V. 125. P. 350–360.
- Marinari S., Antisari L.V. Effect of lithological substrate on microbial biomass and enzyme activity in brown soil profiles in the northern Apennines (Italy) // Pedobiologia. 2010. V. 53. P. 313–320.
- Nannipieri P., Giagnoni L., Landi L., Renella G. Role of phosphatase enzymes in soil // Phosphorus in action / Eds E. Bünemann, A. Oberson, E. Frossard. Berlin, Heidelberg: Springer, 2011. P. 215–243.
- Raiesi F., Beheshti A. Soil specific enzyme activity shows more clearly soil responses to paddy rice cultivation than absolute enzyme activity in primary forests of northwest Iran // Appl. Soil Ecol. 2014. V. 75. P. 63–70.
- Rosinger C., Rousk J., Sandén H. Can enzymatic stoichiometry be used to determine growth-limiting nutrients for microorganisms? – A critical assessment in two subtropical soils // Soil Biol. Biochem. 2019. V. 128. P. 115–126.
- Silva E.D., De Medeiros E.V., Duda G.P. et al. Seasonal effect of land use type on soil absolute and specific enzyme activities in a Brazilian semi-arid region // Catena. 2019. V. 172. P. 397–407.
- Sinsabaugh R.L., Moorhead D.L. Resource allocation to extracellular enzyme production: a model for nitrogen and phosphorus control of litter decomposition // Soil Biol. Biochem. 1994. V. 26 (10). P. 1305–1311.
- Sinsabaugh R.L., Lauber C.L., Weintraub M.N. et al. Stoichiometry of soil enzyme activity at global scale // Ecol. Lett. 2008. V. 11. P. 1252–1264.
- Stott D.E., Andrews S.S., Liebig M.A. et al. Evaluation of β -glucosidase activity as a soil quality indicator for the soil management assessment framework // Soil Sci. Soc. Am. J. 2010. V. 74 (1). P. 107–119.
- Tischer A., Blagodatskaya E., Hamer U. Microbial community structure and resource availability drive the catalytic effi-

- ciency of soil enzymes under land-use change conditions // Soil Biol. Biochem. 2015. V. 89. P. 226–237.
- Wang M., Ji L., Shen F. et al. Differential responses of soil extracellular enzyme activity and stoichiometric ratios under different slope aspects and slope positions in *Larix olgensis* plantations // Forests. 2022. V. 13. P. 845.
- Wang Q., Wang S. Response of labile soil organic matter to changes in forest vegetation in subtropical regions // Appl. Soil Ecol. 2011. V. 47. P. 210–216.
- Wickings K., Grandy A.S., Kravchenko A.N. Going with the flow: landscape position drives differences in microbial biomass and activity in conventional, low input, and organic agricultural systems in the Midwestern US // Agric. Ecosyst. Environ. 2016. V. 218. P. 1–10.

Soil Enzyme Activity in Natural and Ploughed Catenas as Parameters of Physiological State of Microbial Communities

E. V. Chernysheva^a, *, K. S. Dushchanova^a, T. E. Khomutova^a, and A. V. Borisov^a

^aPushchino Scientific Center for Biological Research, Russian Academy of Sciences,
Institute of Physicochemical and Biological Problems in Soil Science, Pushchino, Moscow region, Russia

*e-mail: e.chernysheva@yandex.ru

The study of soil microbial biomass and enzymatic activity of natural and anthropogenically transformed ecosystems was carried out. The catenas of virgin luvisols and chernozems of the Belogorye Natural Reserve and the catenas of arable soils were studied under similar geomorphological and lithological conditions. The activities of enzymes involved in the cycles of carbon (β -glucosidase and xylosidase), nitrogen (chitinase), and phosphorus (acid and alkaline phosphatase) was studied. It has been established that a decrease in soil microbial biomass as a result of ploughing is not accompanied by an equivalent decrease in the enzymatic activity of the soil. Differences in the enzymatic activity of different soils types were revealed, which indicates differences in the structure of the microbial community and the type of phytocenoses. Patterns of changes in the enzymatic activity of soils in watershed areas, in the transit and accumulative parts of catenas have been established. The values of specific enzymes activities (enzymatic activities per unit of microbial biomass) were calculated. The obtained patterns of changes in the specific enzymatic activity of arable soils indicate that, despite the loss of organic matter and a decrease in microbial biomass as a result of plowing, the physiological efficiency of the microbial community of agrochernozem is higher than in virgin soil. High specific enzymatic activity in arable soils is associated with higher rate of enzyme production by soil microorganisms due to land use changes.

Keywords: organic matter, microbial communities, phosphatases, β -glucosidase, chitinase, xylosidase, farming practice