

В. Ф. КУПРЕВИЧ

**БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЧВЫ
И МЕТОДЫ ЕЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ**

(Представлено академиком Н. А. Максимовым 10 VI 1951)

Активность почвенной микрофлоры обычно устанавливается путем изучения в чистых или смешанных культурах главнейших ее представителей — бактерий, актиномицетов и грибов; жизнедеятельность водорослей, как правило, не учитывается. Исследование требует сложной аппаратуры и много времени. Полученные этим методом результаты далеко не всегда отличаются свойством, позволяющим сопоставлять действительную суммарную активность микроорганизмов, гетеро- и автотрофов, населяющих исследуемые почвы. Что же касается биологической активности собственно почвы, т. е. ее «неживой» части, то таковая вовсе не изучается, хотя и имеет большое значение для характеристики плодородия и других свойств почвы. Для указанной цели, т. е. характеристики биологической активности почвы и жизнедеятельности почвенной микрофлоры, можно использовать, как это будет показано ниже, данные об активности некоторых ферментов непосредственно в почвенных образцах.

Вопрос об активности почвенных микроорганизмов (и почвы) в наших исследованиях возник в процессе определений внеклеточных ферментов корней ряда растений (1) в связи с предположением, что опытный материал (корни) мог быть загрязнен почвенными микроорганизмами и что, следовательно, обнаруженные ферменты могли принадлежать этим последним, а не корням. Чтобы выяснить деятельность почвенных микроорганизмов (а также самой почвы), было предпринято изучение активности ряда ферментов непосредственно в почве.

Определения, производившиеся описанным ранее методом (1, 2), показали способность почвы осуществлять ферментативное воздействие на определенные субстраты. Установлено, что богатая перегноем высоко плодородная «садовая земля» содержит каталазу, инвертазу и уреазу высокой активности, тогда как у образцов промытого речного песка из-под культуры ячменя обнаружена только уреазы, притом в малом количестве (табл. 1). Среднее место заняла почва с грядок на северном дворе института, бедная органическим веществом и сильно истощенная. «Почвы» разного состава оказались неравноценными в отношении проявляемой ими ферментативной деятельности. Несомненно, найденная неравноценность обусловлена существенными различиями в содержании ферментов или составе, численности и качестве микроорганизмов, населяющих исследованные образцы. Высокая активность ферментов свидетельствует об энергичной жизнедеятельности микрофлоры и высокой активности происходящих в почве биологических процессов.

Нахождение каталазы, инвертазы и уреазы в почве, на первый взгляд кажущееся мало вероятным, объясняется широким распространением этих ферментов среди низших растений; так, по имеющимся

Активность ферментов почвы и „внеклеточных“ ферментов корней ячменя; экспозиция 24 часа, $t = 30^{\circ}$ (11–12 VIII 1950 г.)

Характеристика почвы	Ферменты*							
	каталаза	урреаза	фенолаза	аспарагиназа	урреаза	инвертаза	амилаза	протеаза
Промытый речной песок из-под культуры ячменя . . .	(+)	0	—	0	+	—	—	—
Почва с грядок северного двора института	+	0	(+)	0	++	(+)	—	—
„Садовая земля“	++	0	(+)	0	+++	+	—	—
Корни ячменя ярового	+++	(+)	—	—	(+)	+++	+++	+

* — отсутствие фермента; (+) следы действия фермента; + явное действие; ++ переработано около $\frac{1}{3}$ субстрата; +++ переработано около $\frac{3}{4}$ субстрата; 0 — определение фермента не производилось.

сведениям, инвертаза свойственна подавляющему большинству микроорганизмов, а уреазы обнаружена примерно у 200 видов бактерий и у большинства грибов, у которых определялось наличие этого фермента. Происхождение почвенной каталазы обязано, по видимому, главным образом почвенным водорослям и грибам; накоплению этого фермента могла способствовать также деятельность корней высших растений. Это подтверждается экспериментальными исследованиями, показавшими, что корни высших растений способны производить ферментативное воздействие на различные субстраты, находящиеся в окружающей среде (1). Очевидно, указанное воздействие осуществляется ферментами, выделяемыми корнями наружу (табл. 1). В последнее время доказано также выделение корнями высших растений витаминов и некоторых других веществ (4).

Результаты опыта указывают на возможность объективной оценки суммарной биологической активности почвы, и, в известной мере, степени плодородия ее путем определения ферментативной активности. В целях дальнейшей разработки вопроса были произведены дополнительные определения каталазы, инвертазы и уреазы методами, несколько измененными в сравнении с описанными ранее (2). Изменения состояли в том, что применялись, во-первых, более высокие концентрации сахарозы (5% раствор + буфер pH 4,5), мочевины (2% раствор) и перекиси водорода (3%); во-вторых, вместо пробирок, использованы эрленмейеровские колбы в 50 см³, куда вносился субстрат в количестве 25 мл. Почва бралась в стеклянные банки (100 см³), тщательно очищалась от корней, перемешивалась и просеивалась через сито с ячейками 4 мм². В колбы с раствором сахарозы и мочевины вносилось по 5 см³ сырой просеянной почвы и прибавлялось по 5 капель толуола, после чего они закрывались корковыми пробками, слегка встряхивались и помещались в термостат при температуре 30° на 40 час. В качестве контроля ставились колбы с субстратом, без почвы и с почвой (5 см³), предварительно простерилизованной сухим жаром при 150° в течение 1 часа. Следует заметить, что стерилизация жаром при 100–105° не вполне снимает действие ферментов; в частности, активность каталазы снижается в десятки раз, но не исчезает вовсе.

По истечении экспозиции смесь в колбе с сахарозой фильтровалась и количество инвертного сахара определялось по Бертрону или действие

инвертазы устанавливалось по объему осадка, выпадающего после прибавления к фильтрату феллинговой жидкости и кипячения.

Активность уреазы устанавливалась следующим методом. Смесь в опытной и контрольной колбах фильтровалась; затем отмеренный объем фильтрата (и раствора из контрольной колбы) разбавлялся 3-кратным объемом дистиллированной воды. К 4 мл полученного раствора мочевины (0,5% в контрольной колбе) прибавлялось 15 мл ледяной уксусной кислоты и 23 мл 10% ксантирола в спирту. Оставшаяся мочевина вычислялась по количеству выпавшей диксантилмочевины ((⁴), стр. 363).

Активность каталазы определялась газометрическим методом ((⁴), стр. 53); в опытную колбу вносилось 5 мл 3% перекиси водорода и 5 см³ почвы, тщательно перемешанной с 1 г мела в порошке.

Таблица 2

Активность ферментов почвы (16—17 X 1950 г.)

Характеристика почвы	Ферменты				
	Каталаза, см ³ O ₂ ; t = 18°			инвертаза в мг инвертного сахара *	уреазы в мг переработан- ной мочевины *
	минуты				
	1	2	3		
Почва из парка института . . .	2,4	4,6	6,0	167 (0,8)	34 (0,17)
Почва из соснового леса (супесь)	3,3	5,3	6,4	202 (1,0)	41 (0,20)
„Садовая земля“	4,5	6,5	7,9	220 (1,1)	70 (0,35)
Промытый речной песок из-под культуры ячменя	0,0	0,3	0,4	0,0	15 (?) (0,07)

* В скобках: инвертный сахар и мочевина в мг в 1 час на 1 см³ почвы.

Представленные в табл. 2 цифры указывают на существенные различия в активности каталазы, инвертазы и уреазы в различных исследованных образцах.

Выводы

1. Показано наличие ферментов — каталазы, инвертазы и уреазы в различных почвах и «садовой земле», и каталазы и уреазы в промытом речном песке из-под культуры ячменя. Возможно нахождение в почве некоторых других ферментов (см. табл. 1). Результаты определений указывают на высокую биологическую активность почвы *.

2. Активность ферментов в различных почвах (пробах) несдинакова. Она колеблется в значительных границах в зависимости от происхождения, состава и свойств почвы.

3. Устанавливаемая экспериментом активность почвенных каталазы, инвертазы и уреазы, повидимому, является объективным показателем суммарной биологической активности почвы, включая населяющую ее микрофлору — бактерии, актиномицеты, грибы и водоросли, — и находится в прямой связи с плодородием и другими важными свойствами почвы.

* Определения, произведенные в 1951 г., показали, что внесение в опытные колбы высоко стойких антибиотиков, действующих против грам-положительных и грам-отрицательных бактерий, не снижает активности ферментов почвенных образцов.

4. Биологическая активность почвы может быть выражена в виде показателей ее ферментативной активности, в частности: а) по каталазе — количеством O_2 в $см^3$ (или в мл 0,1 *N* $KMnO_4$) в 1 мин. при 20° на 1 $см^3$ почвы; б) по инвертазе — количеством инвертного сахара в мг, образуемого в 1 час при 30° на 1 г почвы; в) по уреазе — количеством мочевины в мг, разлагаемой в 1 час при тех же условиях.

5. Возможно использование предлагаемого метода в целях установления оптимальных условий развития и активности почвенной микрофлоры (способ обработки почвы, удобрения и пр.).

Ботанический институт
им. В. Л. Комарова
Академии наук СССР

Поступило
31 V 1951

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ В. Ф. Купревич, ДАН, **68**, № 5 (1950). ² В. Ф. Купревич, Бот. журн., **34**, № 6 (1919). ³ Н. Н. Иванов, Методы физиологии и биохимии растений, 1946.
⁴ В. Х. Шопфер, Витамины почвы, Биохим. и физиол. витаминов, **1**, 1950, стр. 9—31.