

УДК 577.152.3

О. М. Василюк, А. Ф. Кулік

Дніпропетровський національний університет ім. Олеся Гончара

АКТИВНІСТЬ ІНВЕРТАЗИ ТА УРЕАЗИ В ҐРУНТАХ РЕКУЛЬТИВОВАНИХ ТЕРИТОРІЙ ЗАХІДНОГО ДОНБАСУ

Наведено результати досліджень активності ферментів інвертази (характеризує біологічну активність ґрунту, вміст гумусу, родючість ґрунтів) та уреазы (ферменту азотного обміну) у ґрунтах штучних лісових насаджень *Robinia pseudoacacia* L., *Betula pendula* Rosh., *Quercus robur* L., *Acer platanoides* L. на рекультивованих ділянках Західного Донбасу. Показано сезонну динаміку активності ґрунтів залежно від типу біогеоценозу.

Е. М. Василюк, А. Ф. Кулик

Днепропетровский национальный университет им. Олеся Гончара

АКТИВНОСТЬ ИНВЕРТАЗЫ И УРЕАЗЫ В ПОЧВАХ РЕКУЛЬТИВИРОВАННЫХ ТЕРРИТОРИЙ ЗАПАДНОГО ДОНБАССА

Представлены результаты исследований активности ферментов инвертазы (характеризует биологическую активность почв, содержание гумуса, плодородие почв) и уреазы (фермента азотного обмена) в почвах искусственных лесных насаждений *Robinia pseudoacacia* L., *Betula pendula* Rosh., *Quercus robur* L., *Acer platanoides* L. на рекультивированных территориях Западного Донбасса. Показана сезонная динамика активности почв в зависимости от типа биогеоценоза.

O. M. Vasilyuk, A. F. Kulik,

Oles' Gonchar Dnipropetrovs'k National University

INVERTASE AND UREASE ACTIVITIES IN THE RECLAIMED LAND OF THE WESTERN DONETS BASIN

The research data on activities of invertase (as one of the most important enzymes for soil biological activity, humus content and soil fertility) and urease (as an enzyme of nitrogen metabolism, which transforms the inorganic nitrogen compounds into the organic ones) in soils of artificial afforestations of *Robinia pseudoacacia* L., *Betula pendula* Rosh., *Quercus robur* L. and *Acer platanoides* L. at the reclaimed lands of the Western Donets Basin are presented. The seasonal dynamics of soil activity subject to the type of biogeocenosis is shown.

Вступ

Техногенне навантаження впливає на складові біоти, спричиняє руйнування ґрунтів як важливого компонента біогеоценозу. Для відновлення довкілля Західного Донбасу, ґрунти якого значною мірою складають шахтні відвали [6; 7; 8], провідна роль надається проблемам лісової рекультивациі порушених земель стійкими та невибагливими деревними формами. Ґрунти зі складними системними зв'язками формують [2; 16] матеріально-енергетичні та інформаційні взаємодії, сприяють механізмам функціонування ґрунтових мікроорганізмів, ферментів, забезпечують процеси метаболізму

[4; 15; 21]. Джерело ґрунтових ферментів – рослини, мікроорганізми, фауна ґрунту [4; 5; 9; 23]. У ґрунті відбуваються різні біохімічні процеси залежно від їх фізико-хімічних властивостей і умов ґрунтоутворення. Ензими містяться у ґрунті в комплексному стані за умов його нормальної структури та будови [3]. Роль даних ензимів вивчена недостатньо [10; 11], тому значення надається дослідженню активності ферментів інвертази та уреаз. Дослідження інвертазної активності ґрунтів зумовлене тим, що активність ензиму більш чітко, ніж для групи інших ферментів, відображає біологічну активність ґрунтів. Інвертазна активність корелює з кількістю гумусу та вуглеводів у ґрунті, завдяки чому вирішуються питання прикладного ґрунтознавства. Під дією уреазі гідролізується та переводиться у доступну форму нітроген сечовини шляхом метаболізації органічних сполук. Високу активність уреазі необхідно розглядати як важливу ланку азотного обміну ґрунтів.

Загальновідомо, що інвертаза, або β -D-фруктофуранозид-фруктогідролаза КФ 3.2.1.26) каталізує гідроліз ди-, три- та моноцукрів за глікозидними зв'язками в їх молекулах [3; 16]. Даний фермент гідролізує цукрозу до глюкози та фруктози, руйнує зв'язок β -D-глікозидного вуглецевого атома фруктози в молекулі цукрози. Інвертаза присутня в усіх ґрунтах, є одним із найважливіших ферментів, які характеризують біологічну активність ґрунту. Методи визначення активності основані на вимірюванні кількості гексоз у стадії редукції (інвертних цукрів – глюкози та фруктози), що утворюються при гідролізі цукрози. Суму гексоз виражають у глікозному еквіваленті (мг глюкози/г ґрунту). У реакції застосовують розчин Фелінга, який із метиленовою синню утворює сполуку жовтого кольору. Суміш титрують фільтратом до зникнення забарвлення та визначають активність ензиму методом Гундерової стосовно чорноземних ґрунтів [16; 18; 19; 22].

Уреаза, або карбамід-аміногідролаза (КФ 3.5.1.5), каталізує гідролітичне розщеплення сечовини на аміак і вуглекислий газ, характеризується високою специфічністю до субстрату, незначна зміна структури якого істотно впливає на активність ензиму. У реакції визначають вміст аміаку за допомогою реактиву Несслера, у результаті чого утворюється забарвлена сполука йодистого меркуламонію жовтого кольору. Через 15 хвилин визначають оптичну густину на фоні зеленого світлофільтра. Активність уреазі виражають у мкг аміаку, який утворився, на 1 г наважки, за 1 хвилину [1; 16].

Мета даної роботи – визначити активність інвертази та уреазі в ґрунтах головних лісотвірних деревних рослин (*Robinia pseudoacacia* L., *Betula pendula* Rosh., *Quercus robur* L., *Acer platanoides* L.) штучних фітоценозів на рекультивованих ділянках Західного Донбасу.

Матеріал і методи досліджень

Досліджені деревні культури характеризуються відносно фізико-хімічних, лісорослинних особливостей шахтних порід, лесових суглинків, третинних пісків, гумусових субстратів, розташованих у різних варіантах штучного едафотопу. Це потрібно для індикації функціонального стану рослин в антропогенних умовах штучних насаджень, виявлення умов прискорення фіторекультивациі техногенних територій шляхом створення стійких біогеоценозів ґрунтозахисного та відтворювального значення [8]. Досліджували такі варіанти насипних ґрунтів: 1 – шахтна порода (2,0 м); 2 – шахтна порода (1,0 м), пісок (0,5 м), суглинок (0,5 м); 4 – суглинок (0,5 м), пісок (1,0 м), чорнозем (0,5 м). Закладку дослідних ділянок проведено у 1976 році.

У варіанті досліді 1 (шахтна порода) спостерігали наявність непропорційних поодиноких екземплярів дерев, тоді як у варіантах 2 та 4 відбувся нормальний ріст і роз-

виток рослин *R. pseudoacacia* L., *B. pendula* Rosh., *Q. robur* L., *A. platanoides* L. В умовах польового дослідження у сезонній динаміці вивчали активність ферментів інвертази та уреаз в ґрунтах під даними деревами.

Проби ґрунтів на ділянках відбирали у травні та восени у триразовій повторності. Отримані результати оброблені статистично на 5 % рівні значущості [14].

Результати та їх обговорення

Виходячи з того, що на шахтних ґрунтах спостерігали наявність непропорційних поодиноких екземплярів дерев, визначали активність інвертази у шахтній породі взагалі, на відміну від рекультивованих ділянок, де визначали активність інвертази у ґрунті конкретної дослідної ділянки (2, 4) під конкретною дослідною культурою.

Активність інвертази у шахтній породі влітку та восени становила 4,3 та 5,4 мг глюкози на 1 г ґрунту відповідно. Результати дослідження активності інвертази (табл. 1) рекультивованих ділянок свідчать, що фермент у ґрунтах варіанта 4 під деревними культурами рекультивованих ділянок *R. pseudoacacia* L. та *B. pendula* Rosh. достовірно перевищує активність ферменту у варіанті 2 (контроль) на 17–148 % улітку та на 47–94 % восени, тоді як у ґрунті під *A. platanoides* L. як улітку, так і восени показник активності інвертази у варіанті 4 відносно варіанта 2 занижений і становить 40–92 % відповідно. Активність ензиму у ґрунті на ділянці з *Q. robur* L. наближалась до контролю влітку та достовірно перевищувала контроль восени на 35 % (відносно варіанта 2).

Активність інвертази влітку у варіанті 2 перевищує активність ферменту в породі варіанта 1 у 2–6 разів та в 2–4 рази у варіанті 4, восени – в 2–5 та 3–6 разів відповідно, що доводить формування стійких позитивних кореляційних зв'язків між різними складовими біоти (рослина – ґрунт – мікробіоценоз) дослідних ділянок 2 та 4 порівняно з чистими шахтними породами (табл. 1).

Таблиця 1

Вплив деревних порід на активність інвертази ґрунтів

Місяць	Варіант експерименту	<i>Robinia pseudoacacia</i> L.		<i>Betula pendula</i> Rosh.		<i>Quercus robur</i> L.		<i>Acer platanoides</i> L.	
		$M \pm m$	K	$M \pm m$	K	$M \pm m$	K	$M \pm m$	K
Травень	контроль	8,4 ± 0,42	1,17	9,2 ± 0,46	2,48	16,3 ± 0,82	0,86	24,5 ± 1,23	0,40
	дослід	9,8 ± 0,44		22,8 ± 1,14		14,0 ± 0,72		9,8 ± 0,14	
Вересень	контроль	15,8 ± 0,79	1,94	10,3 ± 0,52	1,47	21,3 ± 1,07	1,35	21,3 ± 1,07	0,92
	дослід	30,6 ± 1,53		15,1 ± 0,76		28,8 ± 1,44		19,6 ± 0,98	

Примітки: M – середнє; m – вірогідний інтервал; K – співвідношення дослід / контроль.

В умовах польового дослідження вивчали активність уреаз у ґрунтах біогеоценозів штучного походження (табл. 2). У ґрунтах під *R. pseudoacacia* L. та *B. pendula* Rosh. у варіанті дослідження 4 активність ензиму була підвищеною на 76 % улітку та на 498–11 % восени відносно контролю (варіант 2), що подібно до динаміки інвертазної активності у цей термін спостереження. Активність уреаз у ґрунті на ділянці з *A. platanoides* L. восени у варіанті 4, на відміну від інвертази у даний сезон року, перевищувала активність ензиму відносно контролю (варіант 2) удвічі. Уреазна активність на дослідній ділянці в ґрунтах під *Q. robur* L. у варіанті 4 була низькою (30–69 % відносно контролю), всупереч динаміці активності інвертази в даний термін спостереження. Показник активності уреаз у ґрунтах чистої шахтної породи становив 0,99 та 0,09 мкг аміаку на 1 г наважки ґрунту за 1 хвилину влітку та восени відповідно, що менше активності уреаз у варіанті 2 влітку в 2–4 рази та в 5–20 разів восени та нижче активності ензиму у варіанті 4 в 3–4 рази влітку та в 20–44 рази восени. Отримані результати доводять високу швидкість протікання обмінних процесів у ґрунтах дослідних ділянок варіантів 2 та 4

порівняно з чистою шахтною породою (варіант 1), де процеси обміну речовин значно уповільненні через збіднення біогеоценотичних складових.

Таблиця 2

Вплив деревних порід на активність уреазі ґрунтів

Місяць	Варіант експерименту	<i>Robinia pseudoacacia</i> L.		<i>Betula pendula</i> Rosh.		<i>Quercus robur</i> L.		<i>Acer platanoides</i> L.	
		<i>M ± m</i>	<i>K</i>	<i>M ± m</i>	<i>K</i>	<i>M ± m</i>	<i>K</i>	<i>M ± m</i>	<i>K</i>
Травень	контроль	1,98 ± 0,10	1,76	2,49 ± 0,14	1,04	2,68 ± 0,14	0,30	4,37 ± 0,21	0,89
	дослід	3,48 ± 0,17		2,58 ± 0,12		0,80 ± 0,04		3,88 ± 0,19	
Вересень	контроль	0,40 ± 0,02	5,98	1,79 ± 0,08	1,11	4,67 ± 0,23	0,69	1,89 ± 0,09	2,10
	дослід	2,39 ± 0,12		1,98 ± 0,09		3,18 ± 0,16		3,96 ± 0,18	

Примітки: див. табл. 1.

Дослідження активності ґрунтових ферментів відкриває широкий спектр процесів, які формуються у ґрунтах, сприяє оціненню стану експериментальних деревних рослинних форм за фізіолого-біохімічними характеристиками у напрямку прогнозування вектора даних показників у різних видів рослин, задіяних у рекультивациі шахтних виробок, виявленню найстійкіших форм.

Висновки

Активність інвертази та уреазі залежить від типу біогеоценозу та змінюється за сезонами року. У ґрунтах активність інвертази в абсолютних одиницях вимірювання була вищою восени, ніж улітку (в 1,5–2,0 раза) на фоні підвищення/зниження співвідношення дослід/контроль в 2,0–2,5 раза.

Активність уреазі у ґрунтах антропогенно змінених біогеоценозів порівняно з вектором інвертазної активності за абсолютними показниками, навпаки, вища на початку вегетаційного терміну, ніж наприкінці терміну росту (в 2–5 разів).

Виходячи з незначних відмінностей отриманих результатів визначення активності ферментів і біологічної цінності ґрунту, можна рекомендувати посадку даних деревних рослин на ґрунт варіанта 2 без додаткового збагачення чорноземом, що має місце у варіанті 4. Це забезпечує зменшення трудомісткості та собівартості зі збереженням потрібної якості едафотопу.

Бібліографічні посилання

1. Аринушкина Е. В. Руководство по химическому анализу почв. – М. : МГУ, 1970. – 487 с.
2. Бабьева И. П. Биология почв / И. П. Бабьева, Г. М. Зенова. – М. : МГУ, 1993. – 248 с.
3. Боєчко Ф. Ф. Основні біохімічні поняття, визначення і терміни / Ф. Ф. Боєчко, Л. О. Боєчко. – К. : Вища школа, 1993. – 528 с.
4. Долгова Л. Г. Ферментативна активність та мікробіологічні процеси в едафотобах техногенних регіонів // Екологія та ноосферологія. – 1999. – Т. 8, № 4. – С. 18–23.
5. Ефремов А. Л. Микробиота и биогенность почв пойменных лугов // Почвоведение. – 2000. – № 5. – С. 251–255.
6. Зверковский В. Н. Вопросы лесной рекультивации нарушенных земель Западного Донбасса / В. Н. Зверковский, Н. П. Тупика, Н. А. Белова // Вопросы степного лесоведения и охраны природы. – Д. : ДГУ, 1977. – С. 64–69.
7. Зверковский В. Н. Участки лесной рекультивации на нарушенных землях Западного Донбасса // Мониторинговые исследования биогеоценологических катен степной зоны. – Д. : ДГУ, 1995. – С. 104–110.
8. Зверковский В. М. Експериментально-виробничі ділянки лісової рекультивациі Західного Донбасу // Екологія кризових регіонів. Тези доп. Міжнар. конф. – Д. : ДНУ, 2001. – С. 11.
9. Кузнецов К. Л. Ферменты в почве. – М. : Просвещение, 1993. – С. 215–235.

10. **Кулик А. Ф.** Динамика биологической активности почв лесных экосистем Присамарья // Биомониторинг лесных экосистем лесной зоны. – Д. : ДГУ, 1992. – С. 103–108.
11. **Кулик А. Ф.** Микробоценоз и устойчивость лесных биогеоценозов // Экологія та ноосферологія. – 1999. – № 3–4. – С. 145–147.
12. **Кулик А. Ф.** Микробиологический мониторинг экологического состояния почво-грунтов рекультивированных земель Западного Донбасса // Экологія кризових регіонів. Тези доп. Міжнар. конф. – Д. : ДНУ, 2001. – С. 12.
13. **Кулік А. Ф.** Активність інвертази та уреазы у ґрунтах лісових біогеоценозів Присамар'я / А. Ф. Кулік, О. М. Василюк, О. В. Рошка // Вісник Дніпропетр. ун-ту. Біологія. Екологія. – 2007. – Вип. 3/1. – С. 77–81.
14. **Лакин Г. Ф.** Биометрия. – М. : Высшая школа, 1990. – 293 с.
15. **Ларионова А. А.** Дыхание почвы. – Пущино, 1993. – 145 с.
16. **Методы** биохимического исследования растений / А. И. Єрмаков, В. В. Арасимович, М. И. Симрнова-Иконникова, И. К. Мурри. – М. : Изд-во с.-х. лит., 1952. – 520 с.
17. **Орлов Д. С.** Химия почв. – М. : МГУ, 1992. – 400 с.
18. **Плешков Б. П.** Практикум по биохимии растений. – М. : Колос, 1985. – 255 с.
19. **Починок Х. Н.** Методы биохимического анализа растений. – К. : Наукова думка, 1976. – 334 с.
20. **Смагин А. В.** Газовая функция почв // Почвоведение. – 2000. – № 10. – С. 805–808.
21. **Травлев А. П.** Рекультивация нарушенных земель и полицикличность процессов почвообразования / А. П. Травлев, Н. А. Белова // Экологія кризових регіонів. Тези доп. Міжнар. конф. – Д. : ДНУ, 2001. – С. 7–8.
22. **Хазиев Ф. Х.** Ферментативная активность почв. – М. : Наука, 1990. – 147 с.
23. **Яковлев А. С.** Биологическая диагностика и мониторинг состояния почв // Почвоведение. – 2000. – № 1. – С. 51–52.

Надійшла до редколегії 14.09.2009