

УДК 631.433.3

ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОСТ-АГРОГЕННЫХ СЕРЫХ ЛЕСНЫХ ПОЧВ НАГОРНОЙ ДУБРАВЫ «ЛЕС НА ВОРСКЛЕ»

© 2017 Л.А. Овсепян¹, И.Н. Курганова¹, А.С. Мостовая², В.О. Лопес де Гереню¹,
В.И. Личко¹, Е.В. Благодатская^{1,3}, Я.В. Кузяков³

¹ Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, г. Пушкино

² Российский государственный аграрный университет -МСХА имени К.А. Тимирязева, г. Москва

³ Университет имени Георга – Аугуста, г. Гёттинген, Германия

Статья поступила в редакцию 06.04.2017

Ферментативная активность почв ввиду ее быстрого отклика на любые изменения землепользования является весьма чувствительным индикатором пост-агрогенных изменений, обусловленных снятием сельскохозяйственной нагрузки. Скорость базального дыхания (V_{basal}), содержание микробного углерода (C_{mic}) и ферментативную активность почв (гидролазы и оксидазы) определили в хроноряду пост-агрогенных серых лесных почв нагорной дубравы «Лес на Ворскле», включающем: старопашотный участок; залежи 10, 30 и 40 летнего возраста и зрелый коренной кленово-дубовый лес, возраст которого превышает 100 лет. Смешанные образцы почв были отобраны методом конверта из слоев 0 – 5, 5 – 10, 10 – 20 и 20 – 30 см. В верхнем 0 – 5 см слое в ряду от пашни к лесу выявлено последовательное увеличение V_{basal} (от 0,4 – 0,5 до 0,6 – 2,0 мг С кг почвы⁻¹ ч⁻¹) и C_{mic} (от 337 до 1433 мг С кг почвы⁻¹). Для молодых залежей, как правило, была характерна низкая активность гидролитических ферментов углеродного цикла. Для залежей старше 30 лет активность гидролаз была в 2-2,5 раза выше и сравнима с таковой в почвах лесного ценоза. Оксидазная активность, напротив, была самой высокой на пашне и в лесном ценозе, а на залежах снижалась. Показано, что активность гидролитических ферментов углеродного цикла в пост-агрогенных почвах на 50-70% обусловлена количеством микробного углерода в почве. Взаимосвязь активности оксидаз с динамикой микробной биомассы не выявлена.
Ключевые слова: пост-агрогенные почвы, микробная биомасса, ферментативная активность, гидролазы, оксидазы.

*Работа выполнена при поддержке ДААД,
РНФ (проект № 17-14-01207; обобщение данных и подготовка рукописи),
РФФИ (проект № 14-04-05156а) и Программы Президиума РАН № 15.*

ВВЕДЕНИЕ

Процесс пост-агрогенной эволюции бывших сельскохозяйственных угодий идет по классическим сукцессионным схемам в направлении формирования зональных типов экосистем [1].

*Овсепян Лилит Арменовна, аспирант, младший научный сотрудник лаборатории циклов азота и углерода.
E-mail: lill.ovsepyan@gmail.com*

Курганова Ирина Николаевна, доктор биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории циклов азота и углерода. E-mail: ikurg@mail.ru

Мостовая Анна Сергеевна, магистрант.

E-mail: ankhen2009@yandex.ru

Лопес де Гереню Валентин Овидиович, кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории циклов азота и углерода. E-mail: vlopes@mail.ru

Личко Валентина Ивановна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории циклов азота и углерода. E-mail: vlichko@mail.ru

Благодатская Евгения Валерьевна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории циклов азота и углерода. E-mail: janeblag@mail.ru

Кузяков Яков Викторович, профессор Геттингенского университета им. Георга-Аугуста.

E-mail: kuzyakov@gwdg.de

Параллельно с восстановлением зональной растительности, в ходе пост-агрогенной эволюции происходит также закономерное изменение морфогенетических характеристик почв [2, 3], их физических [4, 5], химических и биологических свойств [6, 19–22]. Показано, что выведение пахотных почв из сельскохозяйственного оборота ведет не только к увеличению их микробной (дыхательной) активности [7, 23–25], но и к изменению структуры микробного сообщества [8, 9, 26, 27].

Минерализация органического вещества осуществляется гетеротрофными микроорганизмами и влияет на глобальный цикл углерода [28]. Разложение поступающих в почву растительных остатков и образование устойчивых гумусовых соединений происходит при участии внеклеточных почвенных ферментов, вовлеченных в процессы окисления и гидролиза полимерных и олигомерных органических соединений [29]. Считается, что гидролитические ферменты осуществляют начальные стадии деструкции свежих растительных остатков, и являются ответственными за расщепление гидролизуемых соединений-углеводов (целлюлозы, хитина) и белков

[10, 30–32]. Например, целлюбиогидролаза отвечает за отщепление целлюбиозы от полимерных молекул целлюлозы, а хитиназа участвует в отщеплении хитоолигосахаридов и является индикатором активности мицелиальных грибов в почве [33]. Фенолоксидазы и пероксидазы участвуют, с одной стороны, в процессах минерализации фенольных соединений, включая окисление сложных ароматических структур лигнина и гумусовых кислот [11, 34, 35], а с другой стороны инициируют реакции синтеза специфических гумусовых кислот при окислении и спонтанной конденсации фенольных субстратов различной молекулярной массы [35, 36]. Активность почвенных ферментов может быть использована в качестве показателя плодородия почв и микробиологической активности [37], а также для оценки влияния землепользования на свойства почвы [38].

Однако в литературе практически нет сведений о том, как меняется ферментативная активность в ходе пост-агрогенной эволюции почв. В связи с этим, **цель настоящего исследования состояла в определении микробиологической и ферментативной активности пост-агрогенных серых лесных почв, представляющих собой последовательные стадии зарастания пахотных угодий в Белгородской области.**

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

Территория, где проводились исследования, расположена в лесостепной зоне на юго-западном склоне Среднерусской возвышенности с максимальными абсолютными отметками 200-250 м над уровнем моря. Климат района умеренно-континентальный с жарким и относительно сухим летом и холодной зимой. Среднегодовая температура воздуха составляет +6,0 °С, средняя температура января -8,1 °С, июля +19,9 °С [12]. Средняя годовая сумма атмосферных осадков составляет 565 мм в год, причём большая ее часть выпадает в теплое время года - с апреля по сентябрь.

Изучаемый хроноряд располагался на территории лесного массива «Лес на Ворскле» в Белгородской области (посёлок Борисовка, заповедник «Белогорье»; 50° 33' с.ш. 36° 03' в.д.) и включал следующие объекты: старопашотный участок (освоение около 150 лет, посеvy сои); залежь 10 лет, занятую рудеральной растительностью; залежь 30 лет под разнотравным лугом, который не косился около 5 лет; залежь 40 лет с луговой растительностью; залежь 40 лет с древесной растительностью (груша, берёза, ясень, дуб и липа) и разнотравным надпочвенным покровом; и зрелый коренной кленово-дубовый лес, возраст которого превышает 100 лет. Практически всю территорию дубравы занимают серые лесные почвы различных подтипов [12].

Смешанные образцы почв были отобраны методом конверта из 4 слоев: 0-5, 5-10, 10-20 и 20-30 см, которые затем подсушивались до воздушно-сухого состояния и просеивались через сито с диаметром ячеек 2 мм.

Микробиологическую (дыхательную) активность почв (V_{basal}) измеряли в лабораторных условиях по интенсивности выделения CO_2 из почвы при увлажнении, соответствующем 65-70% от ППВ, и температуре 24°C в 3-х кратной повторности. С этой целью навеску воздушно-сухой почвы (10 г) тщательно освобождали от корней и помещали во флаконы объемом 100 мл, увлажняли и закрывали пленками, пропускающими воздух, но препятствующими испарению влаги. После предварительного инкубирования почв при температуре 22-24°C в течение 5 суток флаконы герметично закрывали резиновыми пробками и выдерживали при той же температуре 10-12 часов. Затем определяли концентрацию CO_2 во флаконе с использованием портативного газоанализатора LiCor 840 (США). Расчет величины V_{basal} (мг С кг⁻¹ ч⁻¹) проводили по формуле:

$$V_{basal} = (C_1 - C_0) \cdot 12 \cdot V_{флак} \cdot 1000 / m \cdot 22.4 \cdot t \cdot 100, \quad (1)$$

где C_0 и C_1 – начальная и конечная концентрации CO_2 во флаконе, объемные %; $V_{флак}$ – объем флакона, мл; t – время инкубации, ч; m – навеска почвы, кг.

Содержание микробного углерода (C_{mic}) определяли методом субстрат-индуцированного дыхания [39]. С этой целью флаконы с почвой после измерения V_{basal} проветривали и вносили 1 мл раствора глюкозы из расчета 10 мг глюкозы на 1 г почвы. Через час после добавления питательного субстрата флаконы снова проветривали, герметично закрывали, инкубировали при температуре 24°C в течение 1,5-2 часов и затем снова определяли концентрацию CO_2 во флаконе. Скорость субстрат-индуцированного дыхания (V_{SIR}), отражающую отклик микробного сообщества почв на внесение дополнительного субстрата, рассчитывали по формуле (1). Содержание микробной биомассы (C_{mic}) оценивали согласно уравнению [39]:

$$C_{mic} = 40,04 \cdot V_{SIR} + 0,37, \quad (2)$$

где C_{mic} – содержание углерода в микробной биомассе (мкг С 100 г почвы⁻¹), V_{SIR} – скорость субстрат-индуцированного дыхания (мкг С 1 г почвы⁻¹ час⁻¹).

Определение активности гидролитических почвенных ферментов проводили в образцах естественной влажности, которые до проведения анализов хранили в холодильной камере при температуре 4°C. Перед началом определения ферментативной активности образцы инкубировали при комнатной температуре не менее 48 часов. Определение активности гидролаз проводили методом флюорогенно-меченых субстратов с образованием флюоресцирующего

соединения, метилумбеллиферона (MUF), количество которого измерялось флюорометрически [41]. Подготовительный этап включал приготовление почвенной суспензии путем разведения 1 г свежей почвы в 50 мл 0,1М раствора буфера MES (2-(N-морфолино)этансульфоновая кислота), которую затем обрабатывали ультразвуком (выработка в пределах 35-37%) в течение 2 минут. В 96-ти луночный черный планшет вносили по 50 μ л почвенной суспензии. Затем во все лунки добавляли по 50 μ л буфера и по 100 μ л раствора, содержащего флюорогенно-меченый субстрат для определения насыщающей способности. Такая схема внесения субстрата позволяла получить кинетическую кривую насыщения и определить минимальную концентрацию раствора субстрата, необходимую для полного насыщения почвы. Аппроксимацию данных проводили при помощи программы ModelMaker версии 3.0.3 [40].

Для определения активности ферментов в суспензии проводили измерение флюоресценции полученных растворов на спектрофотометре (Victor3 1420-050 Multi-label Counter, PerkinElmer, США) в момент внесения субстрата, через 15, 30, 60 и 120 минут при длине волны 450 нм. Для расчета ферментативной активности использовали формулу [41]:

$$A = (A_2 - A_1) * K / 50 * 50000 / 1000 / T \text{ (}\mu\text{M} * \text{г}^{-1} \text{ч}^{-1}\text{)}, \quad (3)$$

где $(A_2 - A_1)$ – разница активностей двух последовательных измерений, K – коэффициент пересчета, определяемый для каждой почвы при проведении предварительной калибровки прибора; T – период инкубации, ч.

Определение активности оксидаз проводили методом Л.А. Карягиной и Н.А. Михайловой [10]. Суть метода заключается в том, что в качестве субстрата используется гидрохинон, окисляющийся под действием пероксидазы в присутствии кислорода и перекиси в 1,4-п-бензохинон желтой окраски при инкубировании в течение 30 минут (30 °С). В качестве контроля использовали смесь растворов гидрохинона и перекиси водорода со стерильной почвой. Активность измеряли при длине волны 450 нм на спектрофотометре (UNICO 2080, США) и выражали в условных единицах, соответствующих преобразованию 1 мг бензохинона/г почвы/30 минут.

Все анализы проводились в 2-3-кратной повторности. В таблицах и на графиках представлены средние значения и величины стандартной ошибки. Оценка взаимосвязей между изучаемыми параметрами проводилась методом наименьших квадратов и оценивалась с помощью коэффициента детерминации – R^2 при уровне значимости 0,05. Все расчёты проводились с использованием программы Microsoft Office Excel и программного пакета Анализ данных.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе пост-агрогенного восстановления дыхательная активность почв на глубине 0-5 см и 5-10 см возрастала от 0,4 – 0,5 мг С кг почвы⁻¹ ч⁻¹ на пашне и достигала максимальных значений 0,6-2,0 и мг С кг почвы⁻¹ ч⁻¹ в лесных ценозах (рис. 1 А). Максимальная величина V_{basal} во всех почвах хронорядов наблюдалось в верхнем 0-5 см слое, и затем с глубиной происходило ее последовательное снижение. Сходные закономерности в изменении дыхательной активности почв были обнаружены в пост-агрогенных хронорядов на дерново-подзолистых почвах Костромской области [9], серых лесных почвах Московской и Белгородской областей [7, 14] и обыкновенных чернозёмах Ростовской области [15].

Содержание C_{mic} , как правило, было максимальным в верхнем 0-5 см слое и постепенно снижалось с глубиной (рис. 1 Б). В ходе пост-агрогенного восстановления содержание C_{mic} в слое 0-5 см постепенно возрастало от пашни (337 мг С кг почвы⁻¹) к залежам и достигало максимальных значений в лесном ценозе (1433 мг С кг почвы⁻¹). Аналогичные результаты были получены при сравнении содержания C_{mic} в хронорядов залежных почв, расположенных в южно-таежной [9, 16] и степной зонах [15].

В изученном хронорядов залежных почв от пашни к лесному ценозу наблюдалось отчетливое повышение активности гидролитических ферментов в слоях 0-5 и 5-10 см. Активность хитиназы и целлюбиогидролазы выражалась близкими величинами и возрастала в ряду пашня – залежи – лесной ценоз (рис. 2). Активность хитиназы для слоев 0-5 и 5-10 см возрастала от 4,7 и 3,9 μ л MUF г почвы⁻¹ ч⁻¹ на пашне до 20,0 и 8,1 μ л MUF г почвы⁻¹ ч⁻¹ на залежи 40 лет с лесной растительностью и 15,7 и 11,8 μ л MUF г почвы⁻¹ ч⁻¹ в почве лесного ценоза. Активность целлюбиогидролазы возрастала от 5,2 и 3,8 μ л MUF г почвы⁻¹ ч⁻¹ на пашне до 17,3 и 4,5 μ л MUF г почвы⁻¹ ч⁻¹ на залежи 40 лет с лесной растительностью и 17,4 и 7,7 μ л MUF г почвы⁻¹ ч⁻¹ в почве под лесом. Активность бета-галактозидазы была на порядок ниже и в почвах изучаемого хронорядов изменялась незначительно – от 1,2 μ л до 2,4 μ л MUF г почвы⁻¹ ч⁻¹. Активность фосфатазы увеличивалась от 64,8 и 35,0 μ л MUF г почвы⁻¹ ч⁻¹ на пашне до 99,6 и 67,7 μ л MUF г почвы⁻¹ ч⁻¹ на залежи 40 лет и затем вновь снижалась до 55,9 и 57,3 μ л MUF г почвы⁻¹ ч⁻¹ в почве лесного ценоза. Для более глубоких почвенных слоев достоверного и однонаправленного изменения активности гидролитических ферментов не выявлено. Обнаруженные нами существенные различия в активностях гидролитических ферментов объясняются как различным количеством самих ферментов в почве, так и неодинаковой доступностью субстратов.

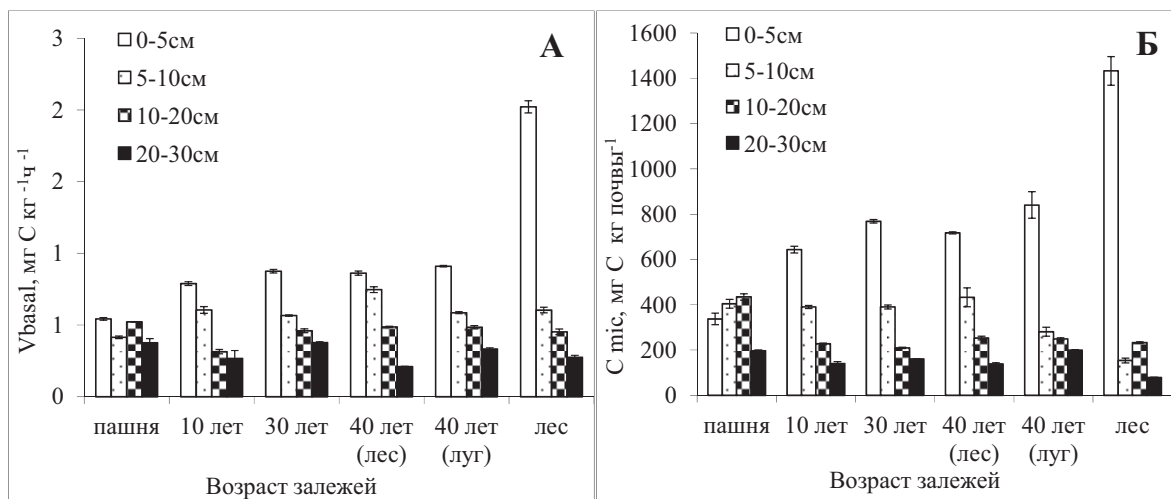


Рис. 1. Скорость базального дыхания (А) и содержание микробной биомассы (Б) в пост-агрогенных почвах Белгородской области

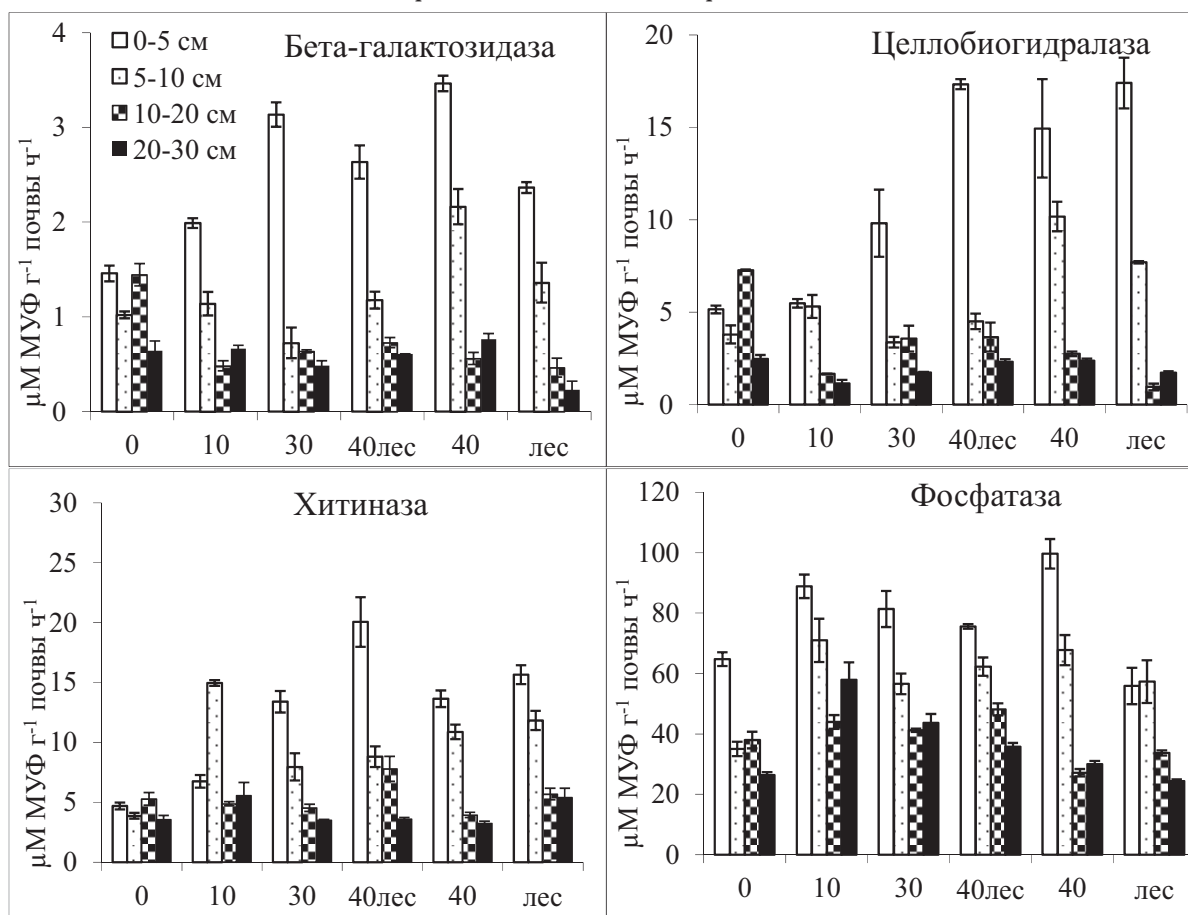


Рис. 2. Изменение активности гидролитических ферментов в серых лесных почвах в процессе пост-агрогенной эволюции

Закономерное возрастание активности внеклеточных ферментов углеродного цикла в процессе пост-агрогенного развития почв было обусловлено повышением активности почвенной микрофлоры, притоком питательных веществ и субстратов в процессе самовосстановления почв. Несмотря на разные величины, в целом, динамика активности гидролитических ферментов в верхнем 0-10 см слое сходна для всех четырех ферментов и характеризуется посте-

пенным повышением в первые годы после забрасывания и незначительными изменениями в залежах старше 40 лет.

Субстратами почвенных фосфатаз являются специфические гумусовые вещества, включающие фосфор гумусовых кислот, и неспецифические соединения, представленные нуклеиновыми кислотами, фосфолипидами и фосфопротеинами, а также метаболическими фосфатами. Первые накапливаются в почве в результате биогенеза

гумусовых веществ, вторые, как правило, поступают в почву с растительными остатками и накапливаются в ней, как продукты промежуточных метаболических реакций. Распашка приводит к значительному снижению активности фосфатазы, в результате снижения содержания гумуса, усиленной микробиологической минерализации органического фосфора и значительного уменьшения массы растительных остатков поступающих в почву [17]. Достаточно высокую активность фосфатазы на пашне, сравнимую с лесной почвой, можно объяснить ее высокой окультуренностью и, как следствие, высоким содержанием С и N. Выявлено, что высокая фосфатазная активность наблюдалась при внесении азота в почву [42], а для плодородной почвы было достаточно наличия доступного углерода, чтобы стимулировать активность фосфатазы [43]. Как правило, вниз по профилю наблюдалось снижение активности гидролитических ферментов, что можно объяснить уменьшением поступления легкодоступных органических веществ и снижением микробиологической активности. Поскольку почва на пашне подвергалась перемешиванию, мы не обнаружили отчетливой разницы в активности гидролаз в пределах 0-20 см слоя.

Активность пероксидазы в слое 0-5 см, как правило, сначала снижалась, достигая минимальных значений в почвах 40-летней залежи под лесом (53 мг бензохинона /г почвы), а затем опять возрастала в почве зрелого леса (111 мг бензохинона /г почвы) (рис. 3 А). На глубине 20-30 см пероксидазная активность принимала самые высокие значения в пределах всего изучаемого слоя (74-119 мг бензохинона /г почвы), за исключением пашни и зрелого лесного ценоза.

Полифенолоксидазная активность снижалась от пашни (113,7 мг бензохинона /г почвы) к зрелым залежам (70,8 мг бензохинона /г почвы для 40 летней залежи с лесной растительностью), демонстрируя максимальные значения в почве лесного ценоза (128 мг бензохинона /г

почвы, рис. 3 Б). За исключением почв под лесом и пашней, в верхнем 0-10 см слое наблюдалась более низкая активность полифенолоксидазы (70-97 мг бензохинона /г почвы) по сравнению с нижележащими горизонтами (82-123 мг бензохинона /г почвы на глубине 10-30 см).

Низкая активность фенолоксидаз в верхнем 0-10 см горизонте зрелых залежей может свидетельствовать о малом количестве субстратов, необходимых для проявления оксидазной активности или быть связана с тем, что фенолоксидазы и пероксидазы менее стабильны в окружающей среде, чем внеклеточные гидролазы [34]. Низкая активность оксидаз на залежах и естественных ценозах по сравнению с пашней была выявлена так же в работах по изучению ростовских почв [17], на почвах северного Мичигана [44] и на почвах лессового плато в Китае [45]. Распашка почв приводит к значительным изменениям в количественных и качественных характеристиках поступающего в почву растительного субстрата, а также в режиме его поступления. В результате активного сельскохозяйственного освоения интенсифицируются процессы микробиологического окисления органического вещества почв [17]. Снижение активности оксидаз в залежных почвах связывают с динамикой поступления в почву свободного азота [44, 45], а высокая активность оксидаз в почве под лесом может быть обусловлена тем, что по мере восстановления лесной растительности происходит образование подстилки [18], в которой развивается преимущественно грибная микрофлора [46], являющаяся основным продуцентом оксидаз [18]. Высокая пространственно-временная изменчивость этих ферментов в почве затрудняет установление четких связей с почвенными свойствами и факторами окружающей среды [11]. Активность оксидаз зависит от множества факторов, таких как поступление азота, фосфора, величины рН, температуры, аэрации, микробной массы [17], что по-видимому

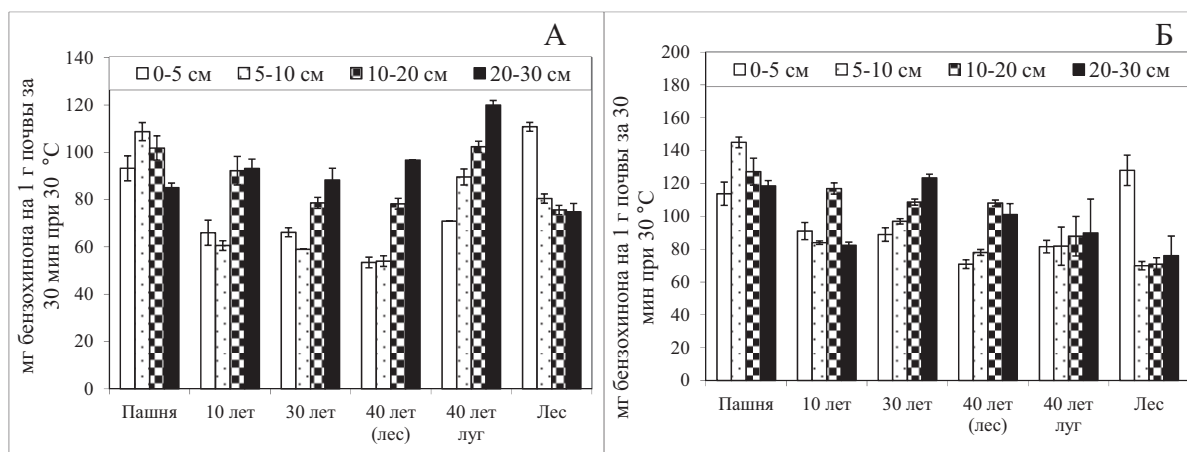


Рис. 3. Изменение активности пероксидазы (А) и фенолоксидазы (Б) в серой лесной почве в процессе пост-агрогенной эволюции

обуславливает высокую изменчивость их активности в течение вегетационного периода [32, 34].

Обнаружена тесная положительная взаимосвязь между содержанием микробной биомассы и активностью гидролитических ферментов \ на всех глубинах в изучаемом ряду пост-агрогенных почв ($R^2 = 0,46 - 0,70$, рис. 4). Между величиной микробной биомассы и активностью полифенолоксидаз и пероксидаз значимые корреляционные связи выявлены не были.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе пост-агрогенной эволюции серых лесных почв Белгородской области наблюдается последовательное повышение скорости базального дыхания и содержания микробной биомассы, обусловленное увеличением поступления свежих органических веществ по сравнению с пахотными почвами. Поскольку в пашню и молодые залежи по сравнению с естественным ценозом поступает меньше растительной продукции, для молодых залежей характерна более низкая активность гидролитических ферментов, в то время как для залежей старше 30 лет активность гидролаз сравнима с таковой в почвах лесного ценоза. Активность гидролитических ферментов в пост-агрогенных почвах на 50 – 70% обусловлена количеством содержащегося в них микробного углерода. Низкая активность фенолоксидаз в верхнем 0 – 10 см горизонте зрелых залежей может свидетельствовать о малом количестве субстратов, необходимых для проявления оксидазной активности, или быть связана с тем, что фенолоксидазы и пероксидазы менее стабильны в окружающей среде, чем внеклеточные гидролазы. Высокая пространственно-временная изменчивость оксидазной активности в почве затрудняет установление четких связей с почвенными свойствами и факторами окружающей среды.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Динамика сельскохозяйственных земель России в XX веке и пост-агрогенное восстановление растительности и почв / Д.И. Люри, С.В. Горячкин, Н.А. Караваяева, Е.А. Денисенко, Т.Г. Нефедова. М.: ГЕОС, 2010. 246 с.
2. Владыченский А.С., Телеснина В.М., Иванько М.В. Изменение гумусного состояния лесных почв Европейской территории и Сибири при выводе из сельскохозяйственного использования // Вестник МГУ, сер. 17, почвоведение. 2006. № 3. С. 3-10.
3. Владыченский, А.С., Телеснина В.М. Сравнительная характеристика постагрогенных почв южной тайги в разных литологических условиях // Вестник МГУ, сер. 17, почвоведение. 2007. № 4. С. 3-10.
4. Влияние составляющих водного баланса и температурного режима на свойства постагрогенных дерново-подзолистых почв Подмосковья /

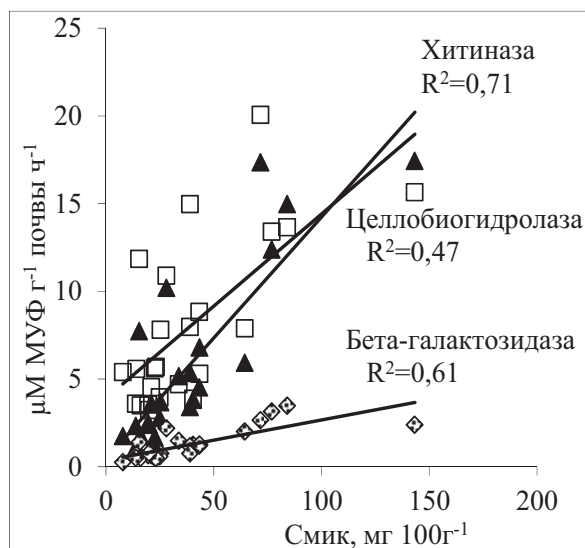


Рис. 4. Взаимосвязь между содержанием микробной биомассы и активностью гидролитических ферментов

Г.С. Базыкина, Е.Б. Скворцова, В.Д. Тонконогов, С.Ф. Хохлов // Почвоведение. 2007. №6. С. 685-697.

5. Кузнецова, И.В., Тихонравова П.И., Бондарев А.Г. Изменение свойств залежных серых лесных почв // Почвоведение, 2009, № 9, С. 1442-1150.
6. Кечайкина, И.О., Рюмин А.Г., Чуков С.Н. Постагрогенная трансформация органического вещества дерново-подзолистых почв // Почвоведение. 2011. № 10. С. 1178-1193.
7. Изменение микробиологической активности серых лесных почв в процессе естественного лесовосстановления / А.С. Мостовая, И.Н. Курганова, В.О. Лопес де Гереню, О.С. Хохлова, А.В. Русаков, А.С. Шаповалов // Вестник ВГУ. Сер. Химия. Биология. Фармация. 2015. № 2. С. 64-72.
8. Коробова Л.Н. Особенности сукцессии микробных сообществ в черноземах Западной Сибири. Автореф. ... докт. биол. наук. Новосибирск. 2007. 42с.
9. Грибная и бактериальная микробная биомасса (селективное ингибирование) и продуцирование CO₂ и N₂O дерново-подзолистыми почвами постагрогенных биогеоценозов / Н.Д. Ананьева, Е.В. Стольникова, Е.А. Сусьян, А.К. Ходжаева // Почвоведение. 2010. № 11. С. 1387-1393.
10. Хазиев Ф.Х. Методы почвенной энзимологии. М.: Наука. 2005. 252 с.
11. Зависимость активности полифенолпероксидаз и полифенолоксидаз в современных и погребенных почвах от температуры / А.В. Якушев, И.Н. Кузнецова, Е. В. Благодатская, С.А. Благодатский // Почвоведение. 2014. № 5. С. 590-596.
12. Почвы природных зон Русской равнины: Учебное пособие по общему курсу «Почвоведение» / Э.И. Гагарина, О.Г. Растворова, Л.С. Счастливая, Г.А. Касаткина, Н.Н. Федорова, С.Н. Чуков, А.В. Русаков и др. [под ред. Б.Ф. Апарина]. СПб.: Изд-во Санкт-Петербургского ун-та, 2007. 197 с.
13. Вадюнина А.Ф., Корчагина З.А. Методы исследования физических свойств почв. М.: Агропромиздат. 1986. 416 с.
14. Потoki и пулы углерода в залежных землях Подмосковья. Почвенные процессы и пространствен-

- но-временная организация почв / И.Н. Курганова, А.М. Ермолаев, В.О. Лопес де Гереню, А.А. Ларионова, Д.В. Сапронов, Т. Келлер, Ш. Ланге, Л.Н. Розанова, В.И. Личко, Т.Н. Мякина, Я.В. Кузяков, В.А. Романенков [Сб. научных трудов под ред. В.Н. Кудрярова]. М.: Наука. 2006. С. 271-284.
15. Изменение пулов органического углерода при самовосстановлении пахотных чернозёмов / В.О. Лопес де Гереню, И.Н. Курганова, А.М. Ермолаев, Я.В. Кузяков // *Агрохимия*. 2009. № 5. С. 5-12.
 16. Сравнительная оценка микробной биомассы почв, определяемой методами прямого микроскопирования и субстрат-индуцированного дыхания / Н.Д. Ананьева, Л.М. Полянская, Е.А. Сусьян, И.В. Васенкина, С. Вирт, Д.Г. Звягинцев. // *Микробиология*. 2008. том 11. № 3 С. 404-412.
 17. Применение показателей ферментативной активности при оценке состояния почв под сельскохозяйственными угодьями / Е.В. Даденко, М.А. Прудникова, К.Ш. Казеев, С.И. Колесников // *Известия Самарского научного центра РАН*. 2013. Т. 15. № 3(4).
 18. Звягинцев Д.Г., Бабьева И.П., Зенова Г.М. Биология почв. М.: МГУ. 2005. 445 с.
 19. Kalinina O., Goryachkin, S.V., Karavaeva, N.A., Lyuri, D.I., Najdenko, L., Giani L., Self-restoration of post-agrogenic sandy soils in the southern Taiga of Russia: soil development, nutrient status, and carbon dynamics // *Geoderma*. 2009. N. 152. P. 35–42.
 20. Kalinina O., Goryachkin, S.V., Karavaeva, N.A., Lyuri, D.I., Giani, L. Dynamics of carbon pools in post-agrogenic sandy soils of southern Taiga of Russia // *Carbon Balance and Management*. 2010. N. 5:1. URL: <http://dx.doi.org/10.1186/1750-0680-5-1> (дата обращения 04.02.2017).
 21. Kalinina O., Krause S.E., Goryachkin S.V., Karavaeva N.A., Lyuri D.I., Giani L. Self-restoration of post-agrogenic chernozems of Russia: soil development, carbon stocks, and dynamics of carbon pools // *Geoderma*. 2011. N. 162. P. 196–206.
 22. Kalinina O, Chertov O., Dolgikh A.V., Goryachkin S.V., Lyuri D.I., Vormstein S., Giani L. Self-restoration of post-agrogenic Albeluvisols: Soil development, carbon stocks and dynamics of carbon pools // *Geoderma*. 2013. N. 207-208. P. 221-233.
 23. Kurganova I.N., Lopes de Gerenyu V.O., Myakshina T.N., Sapronov D.V., Lichko V.I., Yermolaev A.M. Changes in the carbon stocks of former croplands in Russia // *Žemės Ūko Mokslai*. 2008. V. 15 (4). P. 10-15.
 24. Lopes de Gerenyu V., Kurganova I., Kuzyakov Ya. Carbon pools and sequestration in former arable Chernozems depending on restoration period // *Ekologija*. 2008. Vol. 54. N 4. P. 38-44.
 25. Vladychenskii A.S., Telesnina V.M., Rummyantseva K.A., Chalaya T.A. Organic matter and biological activity of postagrogenic soils in the Southern Taiga using the example of Kostroma Oblast // *Eurasian Soil Sci*. 2013. N. 46 (5). P. 518-529.
 26. van der Wal A., van Veen J.A., Smant W., Boschker T.S., Bloem J., Kardol P., van der Putten W.H., de Boer W. Fungal biomass development in a chronosequence of land abandonment // *Soil Biol. Biochem*. 2006. N. 38. P. 51-60.
 27. Susyan E.A., Wirth, S., Ananyeva, N.D., Stolnikova, E.V. Forest succession on abandoned arable soils in European Russia – Impacts on microbial biomass, fungal-bacterial ratio, and basal CO₂ respiration activity // *Eur. J. Soil Biol*. 2011. N. 47. P. 169-174.
 28. Sinsabaugh R.L., Lauber C. L., Weintraub M. N., Ahmed B., Allison S.D., Crenshaw Ch., Contosta A.R., Cusack D., Frey S., Gallo M.E., Gartner T.B., Hobbie S.E., Holland K., Keeler B.L, Jennifer S. Powers, Stursova M., Takacs-Vesbach C, Waldrop M.P., Wallenstein M.D, Zak D.R., Zeglin L.H. Stoichiometry of soil enzyme activity at global scale // *Ecology Letters*. 2008. N. 11. P. 1252–1264.
 29. Burns R.G., DeForest J.L., Marxsen J., Sinsabaugh R.L., Stromberger M.E., Wallenstein M.D., Weintraub M.N., Zoppini A. Soil enzymes in a changing environment: Current knowledge and future directions // *Soil Biology and Biochemistry*. 2013. N. 58. P. 216-234.
 30. Wallenstein M.D, McMahon S.K, Schimel J.P. Seasonal variation in enzyme activities and temperature sensitivities in Arctic tundra soils // *Global Change Biol*. 2009. N. 15. P. 1631–1639.
 31. Wallenstein M.D., Burns, R.G. Ecology of extracellular enzyme activities and organic matter degradation in soil: a complex community-driven process // In: Dick, R.P. (Ed.), *Methods of Soil Enzymology*. 2011. P 35-55.
 32. German D.P., Weintraub M.N., Grandy A.S., Lauber C.L., Rinkes Z.L., Allison S.D. Optimization of hydrolytic and oxidative enzyme methods for ecosystem studies // *Soil biology and Biochemistry*. 2011.V. 43.P. 1387-1397.
 33. Carreiro M.M., Sinsabaugh R.L., Repert D.A., Pankhurst D.F. Microbial enzyme shifts explain litter decay responses to simulated nitrogen deposition // *Ecology*. 2000. N. 81. P. 2359–2365.
 34. Sinsabaugh R.L. Phenol oxidase, peroxidase and organic matter dynamics of soil // *Soil biology and biochemistry*. 2010. V. 42. N. 3. P. 391-404.
 35. Zavarzina A.G. 2011. Heterophase synthesis of humic acids in soils by immobilized phenol oxidases // *Soil Enzymology* / Eds G. Shukla, A. Varma. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. P. 207–228.
 36. Bollag J.M., Dec J., Huang P.M. 1998. Formation mechanisms of complex organic structures in soil habitats // *Adv. Agron*. V. 63. P. 237–265.
 37. Badiane N.N.Y., Chotte J.L., Pate E., Masse D., Rouland C. Use of soil enzyme activities to monitor soil quality in natural and improved fallows in semi-arid tropical regions // *Applied Soil Ecology*. 2001. N. 18. P. 229–238.
 38. Sagar S., McIntosh P.D., Hedley C.B., Knicker H. Changes in soil microbial biomass, metabolic quotient, and organic matter turnover under Hieracium (*H. pilosella* L.) // *Biology and Fertility of Soils*. 1999. N.30. P. 232–238.
 39. Anderson, J.P.E., Domsch, K.H. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils // *Soil Biol. Biochem*. 1978. N. 10. P. 215–221.
 40. ModelMaker (ModelMaker Version 3.0.3 Software.) Cherwell Scientific Publishing Limited, Oxford. 1997. P. 578
 41. Marx M.C., Wood M., Jarvis S.C. A microplate fluorimetric assay for the study of enzyme diversity in soils // *Soil Biology and Biochemistry*. 2001. N. 33. P. 1633-1640.
 42. Allison S. D., Vitousek P. M. Responses of extracellular enzymes to simple and complex nutrient inputs // *Soil Biology & Biochemistry*. 2005. N. 37. P. 937–944
 43. Asmar F., Eiland F., Nielson N.E., 1994. Effect of extracellular-enzyme activities on solubilization rate

- of soil organic nitrogen. *Biology and Fertility of Soils* 17, 32–38.
44. *Sinsabaugh R.L., Gallo M.E., Lauber C., Waldrop M.P., Zak D.R.* Extracellular enzyme activities and soil organic matter dynamics for northern hardwood forests receiving simulated nitrogen deposition // *Biogeochemistry*. 2005. N. 75. P. 201–215.
45. *Wang Bing Xue Sha, Guo Bin Liu, Guang Hui Zhang, Gary Li, Zong Ping Ren.* Changes in soil nutrient and enzyme activities under different vegetations in the Loess Plateau area, Northwest China // *Catena*. 2012. N. 92. P. 186–195.
46. *Ananyeva N.D., Polyanskaya L.M., Susyan E.A., Vasenkina I.V., Wirth S., Zvyagintsev D.G.* Comparative Assessment of Soil Microbial Biomass Determined by the Methods of Direct Microscopy and Substrate-Induced Respiration // *Microbiology*, 2008, Vol. 77, No. 3, pp. 356–364.

ENZYMATIC ACTIVITY OF POST – AGROGENIC GRAY FOREST SOILS ON THE HIGHLAND OAKWOOD “FOREST ON THE VORSKLA”

© 2017 L.A. Ovsepyan¹, I.N. Kurganova¹, A.S. Mostovaya², V.O. Lopes de Gerenyu¹,
E.V. Blagodatskaya^{1,3}, Ya.V. Kuzyakov³

¹ Institute of Physicochemical and Biological Problems in Soil Science, RAS, Pushchino

² Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy

³ Georg-August University, Göttingen, Germany

The enzymatic soil activity is a sensitive indicator of post agrogenic changes due to its quick response to cessation of agricultural use. The rate of the basal soil respiration (V_{basal}), microbial carbon content (C_{mic}) and enzymatic activity (hydrolases and oxidases) were performed in the chronosequence of post-agrogenic gray forest soils (highland oakwood “Forest on the Vorskla”), which includes: arable soil; abandoned soils of 10, 30 and 40 years old, and mature oak forest, whose age exceeds 100 years. Mixed soil samples were collected from separate soil layers: 0-5, 5-10, 10-20 and 20-30 cm. An progressive increase of the V_{basal} (from 0.4 – 0.5 and to 0.6 – 2.0 mg C kg⁻¹ soil h⁻¹) and C_{mic} (from 337 to 1433 mg C kg⁻¹ soil) from arable soil to forest site was revealed for the upper 0-5 cm layer. As a rule, the young abandoned soils were characterized by the low activity of hydrolytic enzymes of carbon cycle. For the older abandoned soils (>30 years old), the hydrolase activity was 2-2.5 times higher than in younger one and comparable to that in the forest soil. In contrast, the oxidase activity was the highest in the arable and forest soils and decreased in the abandoned soils. We have shown that C_{mic} content explains about 50 – 70% variability of hydrolytic enzymatic activity of post-agrogenic soils. The correlation between the oxidase activity and C_{mic} has not been observed.

Keywords: post-agrogenic soils, microbial biomass, enzymatic activity, hydrolases, oxidases.

Lilit Ovsepyan, Graduate Student, Junior Researcher in the Laboratory of Nitrogen and Carbon Cycles.

E-mail: lill.ovsepyan@gmail.com

Irina Kurganova, Doctor of Biology, Associate Professor, Senior Researcher in the Laboratory of Nitrogen and Carbon Cycles. E-mail: ikurg@mail.ru

Anna Mostovaya, Master. E-mail: ankhen2009@yandex.ru

Valentin Lopes de Gerenyu Ph.D., Leading Researcher in the Laboratory of Nitrogen and Carbon Cycles.

E-mail: vlopes@mail.ru

Valentina Lichko, PhD, Senior Researcher in the Laboratory of Nitrogen and Carbon Cycles. E-mail: vlichko@mail.ru

Evgeniya Blagodatskaya, PhD, Senior Researcher in the Laboratory of Nitrogen and Carbon Cycles.

E-mail: janeblag@mail.ru

Yakov Kuzyakov, PhD, Professor of Georg-August University.

E-mail: kuzyakov@gwdg.de