

ПРОЦЕССЫ АММОНИФИКАЦИИ И НИТРИФИКАЦИИ В ПОЧВЕ

Кочкина Ангелина Владимировна
Аспирант, Тульский
Государственный Университет

PROCESSES OF AMMONIFICATION AND NITRIFICATION IN SOIL

A. Kochkina

Annotation

The aim of this research was to study the process of ammonification and nitrification in the soils of the Tula region. The content of ammonium and nitrate nitrogen in the soil samples was determined, the dependence of nitrogen mineral forms on soil type and soil horizon was researched, quantified by enzymatic activity of soils of the Tula region, determined the enzymatic activity of the distribution pattern in different types of the soil horizons.

Keywords: ammonification, nitrification, soil bioremediation, nitrogen cycle.

Аннотация

Целью данного исследования являлось изучение процессов аммонификации и нитрификации почв Тульской области. Для этого было определено содержание аммонийного и нитратного азота в почвенных образцах, установлена зависимость содержания минеральных форм азота от типа почв и почвенного горизонта, количественно оценена ферментативная активность почв Тульской области, определена закономерность распределения ферментативной активности в различных типах почв по горизонтам.

Ключевые слова:

Аммонификация, нитрификация, биоремедиация почв, цикл азота.

Введение

Важнейшей задачей рационального использования почв является изыскание путей регулирования темпов биологической минерализации органического вещества, с одной стороны, и максимальное использование растениями накапливающегося количества минерального азота и снижения непроизводительных потерь с другой. Переизбыток азота может приводить к подавлению некоторых биологических процессов в почве, резкому изменению кислотности, влиять на численность биоценозов и их состав, приводить к накоплению токсичных продуктов вследствие неполного окисления загрязнений. Дефицит азота часто ограничивает рост организмов в природных условиях [1]. Поэтому необходим регулярный мониторинг наличия азота (как переизбыток, так и недостаток) в почве [2–6], который впоследствии служит для решения важнейшей задачи эковиотехнологии – выбор способа биоремедиации почв.

Материалы и методы

В данной работе были изучены процессы аммонификации и нитрификации на примере почв Тульской области. По протеканию этих процессов в почве можно судить о ее экологическом состоянии, микрофлоре, а так же о наличии в почве минерального азота, необходимого для питания растений. В качестве модельных объектов были

использованы естественные и антропогенные виды биоценоза.

Почвы естественного биоценоза представлены: 1. Хвойно–широколиственный лес у д. Кураково (Белевский р–н) – Белев. Лес; 2. Широколиственный лес между д. Рвы и музеем–заповедником "Ясная Поляна" (Щекинский р–н) – Ясная Поляна; 3. Лугово–степная растительность у д. Монастырщино (Кимовский р–н) – Куликово Поле. Антропогенный биоценоз: 4. Территория города Белёва – Белёв Город; 5. Косогорский район города Тулы вблизи Косогорского металлургического завода – Косая Гора.

Точечные пробы отбирали на пробной площадке из одного или нескольких слоев или горизонтов методом конверта, по диагонали, с таким расчетом, чтобы каждая проба представляла собой часть почвы, типичной для генетических горизонтов или слоев данного типа почвы. Количество точечных проб соответствовало ГОСТ 17.4.3.01–83 [7].

Определение аммонийного азота проводили согласно ПНД Ф 16.2.2:2.3:3.30–02 [8] спектрофотометрическим методом с реактивом Несслера на спектрофотометре СФ 103 ("АКВИЛОН", Россия). Содержание нитратов в почве определялось согласно ПНД Ф 16.1:2:2.2:3.67–10 [9] спектрофотометрическим методом с салициловой кислотой на спектрофотометре СФ 103 ("АКВИЛОН", Рос-

сия). Для определения протеолитической активности почвы использовали метод Гоффманна и Тейхера. Для определения уреазной активности использовался метод Т.А. Щербаковой. Для определения нитритредуктазной активности использовали метод А.Ш. Галстяна и Э.Г. Саакян. Для определения нитратредуктазной активности использовали метод А.Ш. Галстяна и Л.В. Маркосян [10].

Результаты и их обсуждение

Содержание нитратов и аммония характеризует обеспеченность почвы минеральным азотом и степень выраженности процессов аммонификации и нитрификации.

По количеству нитратов можно судить об окультуренности почвы, т.к. для этого процесса наиболее благоприятны аэробные условия, характерные для структурных хорошо азотируемых почв.

Аммонийный азот является одним из главных компонентов питания растений, входит в состав белков и нуклеиновых кислот, которые образуются во всех растущих органах растения, а так же при избыточном содержании служит показателем загрязнения почвы. Содержание аммонийного азота в почве подвержено значительным сезонным колебаниям: весной уменьшается, летом увеличивается, за счет усиления бактериального разложения органических веществ. В целом повышенное содержание аммония указывает на ухудшение санитарного состояния почвы, поэтому его контроль имеет большое значение для оценки состояния почвенной экосистемы [11].

Аммиачный азот может находиться в почве в различных формах. Для вытеснения обменного NH_4^+ применяют солевые растворы, при этом помимо водорастворимых форм вытесняются так же поглощённый почвой аммоний, который находится в ней в большом количестве.

В данной работе было обнаружено, что содержание аммония и нитратов в почве (табл. 1) существенно разли-

чается, на несколько порядков, что связано с тем, что ни один из почвенных образцов не был отобран с сельскохозяйственной территории.

Аммонийный азот быстрее используется растениями для синтеза аминокислот и белков, чем нитратный. Аммонийный азот, поступивший в корни, уже в течение 5–10 мин почти полностью используется на синтез аминокислот и в виде органических соединений поступает в листья на образование белков. При поступлении в растение ионы аммония увлекают за собой фосфатные ионы, что способствует лучшему использованию фосфатов на фоне аммиачного питания растений по сравнению с нитратным [12].

Содержание аммония в почве напрямую зависит от ее типа и уменьшается в ряду чернозем – серая лесная – дерново-глеявая [13,14]. Содержания аммония выше в поверхностном слое почв естественных экосистем, чем в антропогенных.

Следует отметить низкое содержание нитратов по сравнению с аммонием, что объясняется быстрым вымыванием нитратов из поверхностного слоя почвы. Иными словами, ионы аммония задерживаются в почве гораздо лучше нитратов, особенно если они адсорбируются на глинистых минералах и более или менее прочно связываются с частицами гумуса, нитрат же легко вымывается. В связи с этим появилась тенденция к ограничению нитрификации в почвах сельскохозяйственных угодий [15].

Повышение уровня аммонийного азота обычно указывает на свежие загрязнения, которые попадают в почву с выхлопами автомобилей, выбросов различных заводов, а так же со сточными водами. Наиболее высокие концентрации аммонийного азота характерны для культуроземов и торфяных почв [16].

В данной работе концентрация нитратов не превышает ПДК [17], однако содержание нитратов в поверхностном слое почвы из Ясной Поляны выше, чем в остальных

Таблица 1.

Содержание минерального азота поверхностного слоя почв.

Образцы почвы (тип почвы)	Ясная Поляна (серая лесная)	Косая Гора (серая лесная)	Белёв Лес (дерново-глеявая)	Белёв Город Почва общая (дерново-глеявая)	Куликово Поле (чернозем)
Содержание аммония, мг/ кг почвы	1735±32	1338±13	1737±41	1030±151	1618±21
Содержание нитратов, мг/ кг почвы	31±8	17±4	4±1	14±4	2±1

образцах, что может быть связано с процессами почвообразования на данной территории. Почва из Леса Белева и Куликова поля, напротив содержит небольшое количество нитратов, что объясняется тем, что растения лесов и степей приспособились получать значительную долю азота из аммонийных форм, в то время как культурные растения получают свое азотное питание преимущественно из нитратов [18].

Содержание минерального азота в почвенных образцах так же было определено для трех почвенных образцов разного типа по горизонтам (глубине).

Содержание аммония резко уменьшается с увеличением глубины для всех типов почвы. Так, содержание ионов аммония в поверхностном слое почвы более чем в 2 раза выше, чем в последующем слое.

Эта зависимость связана с процессом аммонификации, который происходит в большей степени в поверхностном слое почвы, преобразуя органические формы азота в аммонийную.

Накопление нитратов в почве говорит о ее хорошем состоянии для роста растений, так как pH почвенного раствора и его состав, степень аэрации, влажность и температура городских почв способствуют процессу нитрификации. Однако обеспеченность 25 % почв техногенно-антропогенных зон города этими ионами низкая, данные почвы испытывают существенный недостаток нитратного азота. Это можно объяснить его выносом с растительностью, так как в городах не происходит возврата химических элементов в связи с удалением листового опада.

Анализируя результаты определения содержания ни-

тратов в зависимости от глубины было видно, что содержание нитратов с увеличением глубины почвы практически не изменяется, за исключением поверхностного слоя образца почвы "Ясная Поляна", которая находится с наибольшим содержанием нитратов, что может быть связано с процессами почвообразования. Не исключено воздействие экологических факторов, так как образцы почвы были взяты в летний период, когда выпадает значительное количество осадков, передвижение нитратов вниз по профилю незначительно, в метровом слое практически полностью сохраняются все нитраты, накопленные за осенний период. Значительное количество нитратов вымывается из глубинных слоев почвы ближе к осени.

Ферментативная активность почв

Для поверхностного слоя была оценена ферментативная активность (табл. 2). Рассматривалась активность ферментов, которые играют важнейшую роль в аммонификации: протеаза и уреазы, нитрификации: нитрит- и нитратредуктаза.

Активность протеаз возрастает при увеличении содержания в почве органических форм азота, каких предостаточно вблизи Косогорского Металлургического Завода. Наименьшая активность протеазы наблюдается в экосистемах: Белев Лес и Куликово Поле. Однако, в общем, активность протеаз невелика во всех образцах почвы.

Возможной причиной низкой активности протеазы является наличие гумопротеиновых комплексов, устойчивых к действию протеолитических ферментов [19].

В загрязненных почвах активность уреазы возрастает вследствие увеличения содержания органического уг-

Таблица 2.

Ферментативная активность поверхностного слоя почв.

Образцы почвы / Активность ферментов	Ясная поляна	Косая Гора	Белёв Лес	Белёв Город	Куликово Поле
Протеаза, мг аминного азота / 10 г почвы (20 ч инк.)	4,7±0,3	8,8±0,1	2,7±0,5	5,8±0,1	1,1±0,1
Уреазы, мг аммонийного азота / 10г почвы (за 4 ч инк.)	0,382±0,003	0,455±0,005	0,094±0,005	0,124±0,006	0,121±0,004
Нитритредуктаза, мг нитритов / 10 г почвы (24 ч инк.)	23,4±0,2	27,3±0,3	21,6±0,2	25,3±0,5	20,2±0,4
Нитратредуктаза, мг нитратов / 10 г почвы (22 ч инк.)	0,830±0,009	0,844±0,006	0,927±0,004	0,660±0,005	0,824±0,005

лерода. Из этого можно сделать вывод, что почва Косой Горы наиболее загрязнена, вследствие повышенного содержания в ней углеводов, например, такие как бензин и другие составляющие нефтепродуктов.

Таким образом, в районах Тульской области, наиболее удалённых от её центра, происходит уменьшение уреазной активности в почве [20]. Особенно следует отметить образец Белёв Лес, в котором наблюдается наименьшая уреазная активность, что свидетельствует об отсутствии антропогенного загрязнения.

Активность нитрат и нитритредуктаз напрямую зависит от нитрифицирующих микроорганизмов 1 и 2 фаз. Из результатов видно, что 1 фаза нитрификации во всех образцах почвы протекает примерно одинаково, а 2 фаза и активность нитритредуктазы соответственно, зависят не только от типа и состава почвы, но и от флоры и фауны соответствующей местности. Так, процесс нитрификации ингибируется при чрезмерном обилии влаги и наличии растений чрезмерными корневыми выделениями.

Исследование активности ферментов поверхностного слоя позволяет оценить, каким образом протекают процессы в различных типах почвы разных регионов Тульской области. Для оценки активности ферментов с точки зрения процессов, которые они катализируют, были исследованы образцы почв по горизонтам.

В результате деятельности протеаз в почве накапливаются аминокислоты. Некоторые из них вновь усваиваются растениями и микроорганизмами, другие вовлекаются в процессы органического синтеза.

Основная часть азота в почвах и торфах (до 96–99%) аккумулирована в сложных органических соединениях. Азот входит в состав двух основных групп веществ: белков и гумусовых кислот [20,21].

Протеолитическая активность уменьшается с увеличением глубины почвы. Активность протеаз напрямую связана с процессом аммонификации. Чем больше глубина, тем меньше аммония накапливается. Низкая протеолитическая активность так же объясняется неблагоприятным гидротермическим режимом. Несмотря на возможно высокое содержание органического азота, избыточная влажность, плохая аэрация, низкая температура препятствуют распаду белков [22].

Так же видно, что в черноземной почве с Куликово Поле, в которой находится наибольшее количество аммония и она обладает наименьшей протеолитической активностью, которая на глубине 110 – 120 см совсем отсутствует. Это обусловлено тем, что образование аммония не всегда связано только с активностью данного

фермента, так как в процессе аммонификации принимают участие ряд ферментов.

Уреазная активность

Уреаза катализирует гидролиз мочевины. Конечными продуктами гидролиза являются аммиак и углекислый газ.

Мочевина в почву попадает в составе растительных остатков, навоза и как азотное удобрение, она образуется также в самой почве в качестве промежуточного продукта в процессе превращения азотистых органических соединений – белков и нуклеиновых кислот. Продукт гидролиза мочевины – аммиак – служит непосредственным источником азотного питания для высших растений.

Активность уреазы так же уменьшается с увеличением глубины. Однако следует отметить, что уреазная активность почвы коррелирует с концентрацией аммония, что объясняется тем, что наибольшее количество аммония образуется именно при реакции, которую катализирует уреазы.

В отличие от протеолитической активности, уреазы активна и на глубине более 100 см, однако активность этого фермента так же падает с увеличением глубины залегания, что характерно не только для почв исследуемых типов, но и так же для торфяных почв [23].

Нитритредуктазная активность

Процессы восстановления нитратного азота в почве до аммиака катализируют ферменты – нитратредуктаза и нитритредуктаза. Нитритредуктаза осуществляет превращение нитритов через гидросиламины в гидрат окиси аммония. Нитриты образуются в начальной стадии восстановления нитратов в почве.

Вопрос о превращениях азотных соединений в почвах остаётся до конца невыясненным. Однако определение активности нитрат- и нитритредукции позволяет в какой-то мере проводить оценку процесса превращения азота на стадии восстановления нитратного азота до аммиака. И в комплексе с микробиологическими и агрохимическими исследованиями получается целостная картина процессов, происходящих в почвах [24].

Активность нитритредуктазы во всех образцах находится примерно в диапазоне от 19 до 23 мг / 10 г почвы за 24 часа, это связано с тем, что активность нитрифицирующих микроорганизмов с увеличением глубины почвы практически не изменяется.

Так же можно отметить, что активность нитритредук-

тазы не зависит от типа почвы, так как во всех образцах почвы примерно одинаковая активность этого фермента. Это указывает на то, что в данных образцах нитриты образуются преимущественно.

Нитратредуктазная активность

Нитратредуктаза действует на восстановленный НАД в качестве донора водорода и переносит водород к кислороду нитратов. В результате действия нитратредуктазы нитраты превращаются в нитриты и наоборот.

По сравнению с нитритредуктазной активностью, нитратредуктазная практически в 20 раз ниже, то есть от 0,8 до 0,95 мг на кг почвы за 22 часа.

Невысокая активность нитратредуктазы, возможно, объясняется тем, что процесс нитрификации, окисление аммиака до нитратов, заканчивается стадией образования нитритов и лишь незначительная их часть окисляется до конечного продукта – нитратов. Во всех исследованных в данной работе образцах почвы содержание нитратов невелико, что подтверждает данную теорию. Высокая активность нитритредуктазы в этом случае не зависит от содержания нитратов [17].

В образцах почвы активность нитратредуктазы не зависит от типа почвы и глубины. Однако процесс нитрификации зависит от времени года [7]. Поэтому активность этого фермента уменьшается с глубиной только ближе к зимнему периоду, а так как почвенные образцы были отобраны в летний период, то соответственно, и активность данного фермента не уменьшается с увеличением глубины почвы.

Активность ферментов зависит от того, какую реакцию в почве они катализируют. Так, активность ферментов, участвующих в процессе аммонификации, уменьшается в зависимости от глубины залегания почвенного горизонта, независимо от типа почвы. Что касается ферментов, участвующих в процессе нитрификации, то их активность не зависит от глубины почвы, что связано с процессами, происходящими в почве, а так же с микроорганизмами, от которых и зависит активность тех или иных ферментов.

Заключение

Содержание аммонийной и нитратной форм азота в почвах Тульской области зависит от, типа почвы, времени года и активности микроорганизмов, минерализующих азотсодержащие соединения и антропогенного воздействия. Концентрация ионов аммония во всех почвенных образцах выше, чем концентрация нитрат-ионов, что может быть связано с потребностью неокультуренных растений в аммонийном питании.

По мере увеличения глубины залегания почвенного горизонта содержание аммония во всех типах почв уменьшается, причем содержание ионов аммония в поверхностном слое почвы в 2 раза выше, чем в последующем слое. Однако количество нитратов практически не изменяется, что связано с отсутствием миграции нитрат-ионов вследствие выпадения значительного количества осадков.

Установлен уровень ферментативной активности почв Тульской области: активность протеазы составляет 1,0 – 8,9 мг аминного азота / 10 г почвы за 20 часов инкубации, уреазы – 0,089 – 0,460 мг аммонийного азота / 10 г почвы за 4 ч инк., нитритредуктазы – 19,8 – 27,6 мг нитритов / 10 г почвы за 24 ч инк., нитратредуктазы – 0,655 – 0,931 мг нитратов / 10 г почвы за 22 ч инк. При этом показано, что ферментативная активность протеазы, уреазы и нитритредуктазы зависит от воздействия антропогенных факторов на почву. Наибольшая активность ферментов наблюдается в образце почвы "Косая Гора", наименьшая – в образцах "Куликово Поле" и "Белый Лес".

Проанализированные образцы почв Тульской области биологически активны по всему горизонту.

Общей закономерностью в распределении ферментативной активности по горизонту почв является обнаружение наиболее высоких значений активности протеазы и уреазы в поверхностном слое. Вглубь по горизонту с усилением анаэробных условий, снижением количества биохимически неустойчивых веществ, активность ферментов снижается. Однако активность нитрифицирующих ферментов меняется незначительно по всей глубине профиля залегания почвы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кузнецов, А. Е. Прикладная экибиотехнология: учебное пособие: в 2 т. Т. 1 / А. Е. Кузнецов [и др.]. // М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2010. – 629 с.
2. Никитишен В.И. Питание растений и удобрение агроэкосистем в условиях ополей Центральной России. – М.: Наука, 2012. – 485 с.
3. Семенов В.М., Тулина А.С. Сравнительная характеристика минерализуемого пула органического вещества в почвах природных и сельскохозяйственных экосистем // Агрехимия. – 2011. – № 12. – С. 53–63.
4. Семенов В.М., Когут Б.М., Лукин С.М., Шарков И.Н., Русакова И.В., Тулина А.С., Лазарев В.И. Оценка обеспеченности почв активным органическим

- веществом по результатам длительных полевых опытов // *Агрохимия*. – 2013. – № 3. – С. 19–31
5. Кудряков В.Н. Азотно-углеродный баланс в почве // *Почвоведение*. – 1999. – № 1. – С. 73–82.
6. R. Well., F. Jaradat, I. Kurganova, V. Lopes de Gerenyu, H. Flessa Isotopomer signatures of N₂O emitted from an arable loess soil under different moisture conditions – a soil microcosm study // *Soil Biology and Biochemistry*. 2006. 38. P. 2923–2933
7. ГОСТ 17.4.3.01–83 Охрана природы. Почвы. Общие требования к отбору проб
8. "ПНД Ф 16.2.2.2.3.30–02. Методика выполнения измерений содержания азота аммонийного в твердых и жидких отходах производства и потребления, осадках, шламах, активном иле, донных отложениях фотометрическим методом"
9. ПНД Ф 16.1:2.2.2.3.67–10. Количественный химический анализ почв. Методика измерений массовой доли азота нитратов в пробах почв, грунтов, донных отложений, илов, отходов производства и потребления фотометрическим методом с салициловой кислотой.
10. Хазиев Ф.Х. Методы почвенной энзимологии / Ф.Х. Хазиев; Ин-т биологии Уфим. НЦ. // М.: Наука. 2005. – 252 с.
11. Возбуждая А.Е. Химия почвы // М.: Высшая школа, 1968. – 428 с.
12. Минеев В.Г. Агрохимия: Учебник. – 2-е изд., перераб. и доп. // М: Изд-во МГУ, Изд-во "КолосС", 2004. – 720 с.
13. Переверзев В.Н. Биохимия гумуса и азота почв Кольского полуострова. // Л.: Наука, 1987. – 303 с.
14. Орлов Д.С. Химия почв: Учебник/ Д.С. Орлов, Л.К. Садовникова, Н.И. Суханова. – М.: Высш. Шк., 2005. – 558 с.
15. Ленгелер Й. Современная микробиология под редакцией Й. Ленгелера, Г. Дрекса, Г. Шлегеля // Москва, 2005. – 288с.
16. Переверзев В.Н. Современные почвенные процессы в биогеоценозах Кольского полуострова // М.: Наука, 2006. – 153 с.
17. Предельно допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в почве. Гигиенические нормативы. ГН 2.1.7.2041–06.
18. Щербакова Т.А. Ферментативная активность почв и трансформация органического вещества. // Минск: Нит, 1983. – 222 с.
19. Щербакова Т.А. Ферментативная активность почв и трансформация органического вещества. // Минск: Наука и техника, 1983. – 222 с.
20. Мотузова Г.В., Безуглова О.С. Экологический мониторинг почв: учебник / Г.В. Мотузова, О.С. Безуглова. // М.: Академический Проект; Гаудеамус, 2007. – 237 с.
21. Ефимов В.Н. Торфяные почвы и их плодородие. // Л.: Агрозиздат. Лен. отд. 1986. – 264 с.
22. Савичева О. Г. Ферментативная активность торфяных почв и торфов южно-таежной подзоны западной Сибири. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук. // Томск, 2002 – 188 с.
23. Инишева Л.И. Руководство по определению ферментативной активности торфяных почв и торфов. / Инишева Л.И., Ивлева С.Н., Щербакова Т.А. // Томск: Изд-во том.ун-та, 2002. – 119 с.
24. Славнина Т.П., Инишева Л.И. Биологическая активность почв Томской области. // Томск: Изд-во ТГУ, 1987. 216 с.

© А.В. Кочкина, (lina9191@bk.ru), Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»,

