

**ЗЕМЛЯРОБСТВА І РАСЛІНАВОДСТВА**  
**AGRICULTURE AND PLANT CULTIVATION**УДК 631.445:631.84:631.46  
<https://doi.org/10.29235/1817-7204-2022-60-4-362-371>Поступила в редакцию 21.06.2022  
Received 21.06.2022**Н. А. Михайловская<sup>1</sup>, С. А. Касьянчик<sup>2</sup>, Е. Г. Мезенцева<sup>1</sup>, Т. В. Погирницкая<sup>1</sup>**<sup>1</sup>*Институт почвоведения и агрохимии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь*<sup>2</sup>*Национальная академия наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь***ФЕРМЕНТАТИВНАЯ ДИАГНОСТИКА ДЛЯ ОЦЕНКИ ВЛИЯНИЯ  
АЗОТНЫХ УДОБРЕНИЙ НА ПРОЦЕССЫ МИНЕРАЛИЗАЦИИ  
И ГУМИФИКАЦИИ В ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТЫХ ПОЧВАХ**

**Аннотация.** Экологический менеджмент почвенных ресурсов – актуальная задача, предполагающая периодическую оценку влияния удобрений и других антропогенных факторов на скорость и направленность трансформации органического вещества. Минерализация и гумификация органических остатков – важнейшие функции почвы, определяющие ее плодородие и тесно связанные с биохимической деятельностью микробных сообществ. В условиях применения интенсивных аграрных технологий необходимо своевременно выявлять потенциальные риски снижения плодородия почв. Учитывая биохимическую природу процессов минерализации и гумификации органических веществ, для этой цели целесообразно использовать показатели ферментативной активности. Ферменты – важнейшие метаболиты микроорганизмов. При выборе ферментативных показателей для надежной оценки влияния естественных и антропогенных факторов на активность минерализации и гумификации принимали во внимание масштабные и универсальные процессы в циклах основных биогенных элементов – углерода и азота. Показаны возможности ферментативной диагностики для оценки влияния азотных удобрений на активность и соотношение процессов минерализации и гумификации в дерново-подзолистых почвах. Определены наиболее информативные ферментативные тесты для оценки влияния естественных и антропогенных факторов на активность минерализации и гумификации в циклах углерода и азота почвы. Для интерпретации данных ферментативной диагностики предложен результирующий оценочный показатель – биохимический коэффициент, позволяющий сравнивать скорости гумификации и минерализации, выявлять их дисбаланс и нормировать антропогенную нагрузку. Представлены экспериментальные данные по влиянию азотных удобрений на активность и соотношение гумификации и минерализации, полученные в длительных полевых экспериментах на дерново-подзолистых почвах разного гранулометрического состава и уровня окультуренности.

**Ключевые слова:** дерново-подзолистые почвы, азотные удобрения, ферментативная активность, минерализация, гумификация, биохимический коэффициент

**Для цитирования:** Ферментативная диагностика для оценки влияния азотных удобрений на процессы минерализации и гумификации в дерново-подзолистых почвах / Н. А. Михайловская [и др.] // Вес. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. аграр. наук. – 2022. – Т. 60, № 4. – С. 362–371. <https://doi.org/10.29235/1817-7204-2022-60-4-362-371>

**Natallia A. Mikhailouskaya<sup>1</sup>, Svetlana A. Kasyanchyk<sup>2</sup>, Alena G. Mezentseva<sup>1</sup>, Tatsiana V. Pagirnitskaya<sup>1</sup>**<sup>1</sup>*Institute for Soil Science and Agrochemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*<sup>2</sup>*National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus***ENZYME DIAGNOSTICS FOR EVALUATION OF EFFECT OF NITROGEN FERTILIZERS ON  
MINERALIZATION AND HUMIFICATION PROCESSES IN SOD-PODZOLIC SOILS**

**Abstract.** Ecological management of soil resources is an urgent task involving periodic assessment of effect of fertilizers and other anthropogenic factors on the rate and direction of organic matter transformation. Mineralization and humification of organic residues are the most important functions of the soil, which determine its fertility and are closely related to the biochemical activity of microbial communities. When using intensive agricultural technologies, it is required to timely identify potential risks of reducing soil fertility. Taking into account the biochemical nature of the processes of mineralization and humification of organic substances, it is advisable to use indicators of enzymatic activity for this purpose. Enzymes are

the most important metabolites of microorganisms. When choosing enzymatic indicators for a reliable assessment of influence of natural and anthropogenic factors on the activity of mineralization and humification, we took into account large-scale and universal processes in the cycles of the main biogenic elements – carbon and nitrogen. Soil enzyme diagnostics was shown to be likely useful instrument for evaluation of natural and anthropogenic factors effect on mineralization and humification processes in sod-podzolic soils. The most informative enzymatic tests for characterization of soil biochemical status in C and N cycles were determined. Biochemical coefficient was proposed as a resulting criteria for interpretation of enzymes activity data, allowing to compare humification and mineralization activities, reveal their disbalance and control of anthropogenic impact on soils. Experimental data on the effect of nitrogen fertilizers on the activity and ratio of humification and mineralization, obtained in long-term field experiments on soddy-podzolic soils of different granulometric composition and level of fertility are presented.

**Keywords:** sod-podzolic soils, nitrogen fertilization, enzyme activity, mineralization, humification, biochemical coefficient

**For citation:** Mikhailouskaya N. A., Kasyanchyk S. A., Mezentseva A. G., Pagirnitskaya T. V. Enzyme diagnostics for evaluation of effect of nitrogen fertilizers on mineralization and humification processes in sod-podzolic soils. *Vestsi Natsyonal' nay akademii navuk Belarusi. Seryya agrarnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Agrarian series*, 2022, vol. 60, no. 4, pp. 362–371 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1817-7204-2022-60-4-362-371>

**Введение.** Экологический менеджмент почвенных ресурсов – актуальная задача, предполагающая периодическую оценку влияния удобрений или других антропогенных факторов на скорость и направленность трансформации органического вещества [1]. Минерализация и гумификация органических остатков – важнейшие функции почвы, определяющие ее плодородие и тесно связанные с биохимической деятельностью микробных сообществ [1–3]. В условиях применения интенсивных аграрных технологий необходимо контролировать способность почвы выполнять эти ключевые функции и своевременно выявлять потенциальные риски снижения плодородия. Принимая во внимание биохимическую природу процессов минерализации и гумификации, для этой цели целесообразно использовать показатели ферментативной активности.

Ферменты – важнейшие метаболиты микроорганизмов [1, 3–6]. В почве действуют внутриклеточные ферменты, ассоциированные с живыми микробными клетками, и внеклеточные ферменты, которые выделяются живыми клетками или поступают в почву после их отмирания. Каталитические свойства почвы в значительной степени обусловлены действием внеклеточных ферментов, стабилизированных за счет связи с минеральными и органическими компонентами почвы [3, 7]. Имобилизованные ферменты устойчивы к протеолизу и длительно сохраняют активность, в том числе при неблагоприятных условиях. По современным представлениям гумусферментные комплексы играют важнейшую роль в функционировании почвы и регулировании ее плодородия [8–10].

Выбор биохимических показателей в качестве диагностических обусловлен их тесной корреляцией с органическим веществом [11], а также тем, что реакция активности ферментов на антропогенное воздействие регистрируется на несколько лет раньше, чем статистически достоверные изменения содержания органического вещества [12]. Это позволяет на ранних этапах выявлять негативные экологические тенденции. В пользу ферментативной диагностики свидетельствуют строгая субстратная специфичность ферментов [6, 10], более высокая стабильность энзиматических параметров [3, 4, 7] и относительная простота измерения по сравнению с другими биологическими показателями. Методы определения активности основных ферментов стандартизированы [13].

Анализ научной литературы дает возможность утверждать, что показатели ферментативной активности практически не используются для оценки влияния удобрений на процессы минерализации и гумификации органических веществ. Одной из причин может быть сложность выбора энзиматических тестов для решения такой задачи (отсутствие системного подхода к выбору энзиматических тестов). В связи с этим целесообразно выделить наиболее адекватные биохимические показатели для объективной оценки влияния естественных или антропогенных факторов на скорость процессов минерализации и гумификации в почвах.

Цель исследований – определить необходимый минимум биохимических показателей для количественной оценки влияния естественных и антропогенных факторов на активность процессов минерализации и гумификации в почвах; усовершенствовать интерпретацию данных ферментативной диагностики. Представить результаты ее применения для оценки влияния азотных

удобрений на скорость и соотношение процессов минерализации и гумификации в дерново-подзолистых почвах разного гранулометрического состава и уровня окультуренности.

**Объекты и методы исследований.** *Полевой опыт 1. Влияние азотных удобрений на биохимический статус высоко окультуренной дерново-подзолистой легкосуглинистой почвы.* Биохимические исследования проведены в 2017–2019 гг. в стационарном полевом опыте (ОАО «Гастелловское», Минский р-н). Почва опытного участка – дерново-подзолистая, оглеенная внизу, суглинистая, развивающаяся на мощном лессовидном суглинке. Агрохимическая характеристика пахотного слоя:  $pH_{KCl}$  – 6,3, гумус – 2,3 %, усвояемый азот – 17 мг/кг,  $P_2O_5$  – 656 мг/кг,  $K_2O$  – 363 мг/кг. Схема опыта включает 9 вариантов в 4-кратной повторности (табл. 1). Общий размер делянки – 36,0 м<sup>2</sup>. Возделываемые культуры: 2017 г. – озимая пшеница (*Triticum aestivum*), 2018 г. – яровой рапс (*Brassica napus*), 2019 г. – озимая пшеница (*Triticum aestivum*).

*Полевой опыт 2. Влияние азотных удобрений на биохимический статус средне окультуренной дерново-подзолистой супесчаной почвы.* Биохимические исследования проведены в 2017–2019 гг. в стационарном полевом опыте (ПРУП «Экспериментальная база им. Котовского»). Почва опытного участка – дерново-подзолистая супесчаная, подстилаемая песком. Агрохимическая характеристика пахотного слоя:  $pH_{KCl}$  – 6,3, гумус – 2,8 %, усвояемый азот – 11 мг/кг,  $P_2O_5$  – 276 мг/кг,  $K_2O$  – 284 мг/кг. Схема опыта включает 8 вариантов в 4-кратной повторности (табл. 2). Общий размер делянки – 49,5 м<sup>2</sup>. Возделываемые культуры: 2017 г. – яровой ячмень (*Hordeum vulgare*), 2018 г. – горохо-овсяная смесь (*Pisum sativum* + *Avena sativa*), 2019 г. – овес (*Avena sativa*).

*Полевой опыт 3. Влияние моноазотной системы удобрения на биохимический статус высоко окультуренной дерново-подзолистой легкосуглинистой почвы.* Биохимические исследования проведены в 2014–2018 гг. в стационарном полевом опыте (ОАО «Гастелловское», Минский р-н). Почва опытного участка – дерново-подзолистая, оглеенная внизу, суглинистая, развивающаяся на мощном лессовидном суглинке. Агрохимическая характеристика пахотного слоя почвы:  $pH_{KCl}$  – 6,0–6,3, гумус – 2,1–2,4 %,  $P_2O_5$  – 736–847 мг/кг,  $K_2O$  – 387–432 мг/кг. Схема опыта включает 6 вариантов в 4-кратной повторности (табл. 3). Общий размер делянки – 24,0 м<sup>2</sup>. Возделываемые культуры: 2014 г. – яровая пшеница (*Triticum aestivum*), 2015 г. – яровой ячмень (*Hordeum vulgare*), 2016 г. – яровой рапс (*Brassica napus*), 2017 г. – озимая пшеница (*Triticum aestivum*), 2018 г. – яровая пшеница (*Triticum aestivum*).

В полевых опытах технологии возделывания культур включали традиционную систему обработки почвы, интегрированную систему защиты растений от сорняков, вредителей и болезней. Фосфорные и калийные удобрения (аммонизированный суперфосфат и хлористый калий) вносили весной под предпосевную культивацию, азотные – в форме карбамида под предпосевную культивацию и для подкормки.

*Методы биохимических исследований.* Биохимические показатели определяли в воздушно-сухих почвенных образцах. Для оценки активности инвертазы (КФ 3.2.1.26) использован колориметрический метод Т. А. Щербаковой [3, 13], в котором для индикации редуцирующих сахаров используется 3,5-динитросалициловая кислота, а активность фермента рассчитывается в мг глюкозы / кг почвы. Активность почвенной уреазы (КФ 3.5.1.5) устанавливали колориметрическим методом по Т. А. Щербаковой [3, 13], где в качестве ферментного субстрата используется мочевины, активность фермента рассчитывается в мг N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> / кг почвы. Активность окислительных ферментов, полифенолоксидазы (КФ 1.10.3.1) и пероксидазы (КФ 1.11.1.7), определяли также колориметрически в соответствии с методиками Л. А. Карягиной и Н. А. Михайловской по трансформации гидрохинона в почве и выражали в мг превращенного субстрата – мг 1,4-р-бензохинона / кг почвы [11, 13].

**Результаты и их обсуждение.** В почвах присутствуют представители всех шести известных классов ферментов, однако наибольшее значение имеют два класса – гидролитические и окислительные ферменты, выполняющие критические функции – минерализацию и гумификацию органических веществ [1–4]. Строгая субстратная специфичность действия ферментов обеспечивает высокую информативность ферментативной диагностики [1, 3, 14].

При выборе ферментативных показателей для надежной оценки воздействия естественных или антропогенных факторов на активность минерализации и гумификации целесообразно

принимать во внимание наиболее масштабные и универсальные процессы в циклах основных биогенных элементов – углерода и азота.

По значимости можно выделить ключевые гидролитические ферменты, обеспечивающие разложение наиболее распространенных органических форм нахождения углерода (С) и азота (N) в почве. Интенсивность минерализации в цикле углерода целесообразно оценивать по ферментативному гидролизу полисахаридов, представляющих преобладающую форму органического углерода в почвах. Наиболее значимым полисахаридом, поступающим в почву, является целлюлоза, которая составляет 40–70 % с. в. растительных остатков [1, 15]. Начальные стадии гидролиза протекают внеклеточно при участии целлюлаз и целлюбиаз, финальные стадии минерализации – внутриклеточно. Принимая во внимание результаты исследований Д. Г. Звягинцева, установившего, что объективную оценку интенсивности многостадийных процессов дает определение активности ферментов завершающих стадий гидролиза, целесообразно использовать инвертазную активность [16]. Выбор инвертазы в качестве диагностического показателя минерализации в цикле углерода почвы обусловлен ее критической ролью в высвобождении конечных продуктов минерализации – низкомолекулярных сахаров. Инвертазная активность тесно положительно коррелирует с содержанием гумуса в почве ( $R^2 = 0,88–0,92$  при  $P \leq 0,05$ ) [11].

В цикле азота универсальным минерализационным процессом является аммонификация, в результате которой азот органических соединений переходит в доступную форму. Субстратами аммонификации служат белки, пептиды, аминокислоты, нуклеиновые кислоты, пуриновые и пиримидиновые основания, мочевины, хитин, гумус. На разных этапах аммонификации действуют специфические гидролитические ферменты. Под действием протеаз и пептидаз идет внеклеточный гидролиз до полипептидов и аминокислот, далее под действием дезаминаз и амидогидролаз – внутриклеточно. На завершающих стадиях аммонификации, обеспечивающих образование конечного продукта – аммония, действуют амидогидролазы, к которым относится уреазы. Интенсивность минерализации в цикле N целесообразно определять по активности почвенной уреазы, играющей критическую роль в высвобождении неорганического азота, который непосредственно ассимилируется растениями и микроорганизмами [1, 11]. Установлена тесная положительная корреляция активности уреазы с содержанием гумуса ( $R^2 = 0,72–0,79$  при  $P \leq 0,05$ ) в почве [11].

Наиболее универсальным и масштабным процессом, приводящим к образованию органического вещества, является гумификация лигнинов, составляющих 15–30 % с. в. растительных остатков [1, 3, 5]. Наряду с белками, лигнины служат основными источниками структурных единиц для гумификации [17, 18]. По современным представлениям начальные стадии разложения лигнина носят окислительный характер. основополагающим процессом считается окислительная полимеризация соединений фенольной природы (лигнинов) с азотсодержащими органическими соединениями [19]. Катализаторами гумификации разлагающегося лигнина признаны микробные оксидазы – полифенолоксидазы (ПФО) и пероксидазы (ПО), регулирующие окисление ароматических соединений до хинонов, способных вступать в реакции конденсации с азотсодержащими органическими соединениями с образованием гуминовых кислот [1, 3, 5, 17, 18, 20]. Полифенолоксидазы осуществляют процессы окисления с помощью кислорода воздуха, пероксидазы – за счет кислорода перекиси водорода [3, 5, 17–19]. Их активность служит показателем скорости протекания процессов гумификации в цикле углерода почвы. Теснота взаимосвязи активности почвенных пероксидаз с содержанием гумуса в почве характеризуется  $R^2 = 0,81–0,94$ , для полифенолоксидаз –  $R^2 = 0,62–0,84$  ( $P \leq 0,05$ ) [11].

Таким образом, в качестве показателя скорости гидролитической трансформации полисахаридов в цикле С предлагается использовать инвертазную активность, в качестве характеристики скорости аммонификации в цикле N – уреазную активность и для оценки скорости гумификации лигнинов растительных остатков – активность почвенных полифенолоксидаз и пероксидаз. Ферментативная диагностика дает возможность оценивать и соотносить скорости минерализации и гумификации в циклах С и N по биохимической трансформации основных форм нахождения этих элементов в почвах.

Активность фермента – количественная характеристика скорости конкретного биохимического процесса, выражаемая количеством превращенного субстрата за единицу времени на единицу массы почвы. Для интерпретации результатов ферментативной диагностики почвы предлагается результирующий оценочный показатель – биохимический коэффициент  $K_6$ , представляющий соотношение средних данных по скорости гумификации (полифенолоксидаза и пероксидаза) и минерализации (инвертаза и уреазы), выраженных в относительных единицах [11, 21]. Биохимический коэффициент показывает направленность трансформации органических веществ и тенденции изменения плодородия под влиянием естественных и антропогенных факторов.

Биохимический коэффициент  $K_6$  – информативный диагностический показатель, учитывающий 4 ключевых биохимических параметра, что позволяет сравнивать скорости гумификации и минерализации, выявлять их баланс или дисбаланс, оценивать системы удобрения с экологических позиций и нормировать антропогенную нагрузку. Близкие к единице значения  $K_6$  указывают на сбалансированность процессов минерализации и гумификации, снижение биохимического коэффициента ( $K_6 < 1$ ) указывает на преобладание минерализации, его повышение ( $K_6 > 1$ ) свидетельствует о более активном протекании гумификации.

Для иллюстрации потенциальных возможностей ферментативной диагностики приводим результаты ее применения для оценки влияния азотных удобрений на скорость и направленность трансформации органического вещества. В трех полевых опытах на высоко окультуренной дерново-подзолистой легкосуглинистой и средне окультуренной супесчаной почвах ежегодно выполняли ферментативную диагностику [11]. Для интерпретации экспериментальных данных использовали результирующий оценочный показатель – биохимический коэффициент  $K_6$ .

*Влияние азотных удобрений на процессы минерализации и гумификации органических веществ в высоко окультуренной дерново-подзолистой легкосуглинистой почве (полевой опыт 1).* Результаты ферментативной диагностики показали, что применение азотных удобрений в среднегодовых дозах  $N_{66}$ ,  $N_{96}$  и  $N_{126}$  на фонах последствия 60 т/га навоза и при его сочетании с  $P_{19}K_{41}$  обеспечивает сбалансированность процессов минерализации и гумификации. При внесении азотных удобрений отмечается тенденция снижения биохимического коэффициента, однако  $K_6$  варьирует не существенно – в пределах 0,97–1,01 (4 %), что не приводит к значимому дисбалансу процессов минерализации (М) и гумификации (Г) и не представляет риска снижения плодородия почвы (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Влияние азотных удобрений на биохимический статус высоко окультуренной дерново-подзолистой легкосуглинистой почвы, 2017–2019 гг.

Table 1. Effect of nitrogen fertilizers on biochemical status of high fertility sod-podzolic loamy sand soil, 2017–2019

Вариант	Инвертаза, мг глюкозы / кг (%)	Уреазы, мг N-NH <sub>4</sub> / кг (%)	М, %	ПФО	ПО	Г, %	K <sub>6</sub> (Г/М)
				мг хинона / кг (%)			
Контроль	2396 (100)	187 (100)	100	36,5 (100)	30,6 (100)	100	1,00
ОУ – фон 1	2612 (109)	193 (103)	106	37,7 (103)	34,2 (112)	107	1,01
Фон 1 + N <sub>66</sub>	2707 (113)	200 (107)	110	38,0 (104)	35,2 (115)	109	0,99
Фон 1 + N <sub>96</sub>	2827 (118)	224 (120)	119	40,5 (111)	37,3 (122)	116	0,97
Фон 1 + N <sub>126</sub>	2899 (121)	230 (123)	122	41,6 (114)	38,6 (126)	120	0,98
ОУ + P <sub>19</sub> K <sub>41</sub> – фон 2	2684 (112)	206 (110)	111	38,7 (106)	34,6 (113)	109	0,98
Фон 2 + N <sub>66</sub>	2755 (115)	213 (114)	114	40,9 (112)	36,4 (119)	115	1,01
Фон 2 + N <sub>96</sub>	2875 (120)	228 (122)	121	41,6 (114)	37,9 (124)	119	0,98
Фон 2 + N <sub>126</sub>	2947 (123)	243 (130)	126	43,4 (119)	38,9 (127)	123	0,98
НСР <sub>05</sub>	36,6	6,4		1,29	1,60	–	–

П р и м е ч а н и е. ОУ – последствие 60 т/га навоза; М – минерализация; Г – гумификация; ПФО – полифенолоксидаза; ПО – пероксидаза.

*Влияние азотных удобрений на процессы минерализации и гумификации органических веществ в средне окультуренной дерново-подзолистой супесчаной почве* (полевой опыт 2). По данным ферментативной диагностики на фоне последствия 40 т/га навоза (фон 1) и при его сочетании с  $N_{54}$  процессы минерализации и гумификации сбалансированы,  $K_6$  варьирует в пределах 0,98–1,02 (2 %). На фоне 2 относительный баланс процессов минерализации и гумификации отмечается по последствию 40 т/га навоза в сочетании с  $N_{54}$ , биохимический коэффициент снижается до 0,95–0,96 (4–5 %). Применение азота в среднегодовых дозах  $N_{84}$  и  $N_{96}$  приводит к существенному снижению  $K_6$  – до 0,89–0,91 (9–11 %), что указывает на преобладание минерализационных процессов и представляет потенциальный риск снижения плодородия почвы. По данным ферментативной диагностики для сохранения плодородия средне окультуренной дерново-подзолистой супесчаной почвы целесообразно ограничение доз азотных удобрений до  $N_{54}$ , что не приводит к дисбалансу процессов минерализации и гумификации (табл. 2). Биохимическая диагностика позволяет нормировать нагрузку по азотным удобрениям для сохранения плодородия почвы.

Т а б л и ц а 2. Влияние азотных удобрений на биохимический статус средне окультуренной дерново-подзолистой супесчаной почвы, 2017–2019 гг.

Table 2. Effect of nitrogen fertilizers on biochemical status of middle fertility sod-podzolic sandy loam soil, 2017–2019

Вариант	Инвертаза, мг глюкозы / кг (%)	Уреаза, мг N-NH <sub>4</sub> / кг (%)	М, %	ПФО	ПО	Г, %	K <sub>6</sub> (Г/М)
				мг хинона / кг (%)			
Без удобрений	2389 (100)	175 (100)	100	36,6 (100)	32,7 (100)	100	1,00
ОУ – фон 1	2490 (104)	193 (110)	107	40,6 (111)	35,2 (108)	109	1,02
фон 1 + $N_{54}$	2556 (107)	198 (113)	110	39,9 (109)	35,0 (107)	108	0,98
фон 1 + $N_{84}$	2609 (109)	208 (119)	114	39,9 (109)	34,5 (106)	107	0,94
ОУ + $P_{70}K_{150}$ – фон 2	2626 (110)	197 (112)	111	39,6 (108)	34,7 (106)	107	0,96
фон 2 + $N_{54}$	2700 (113)	207 (118)	116	40,3 (110)	36,0 (110)	110	0,95
фон 2 + $N_{84}$	2747 (115)	228 (130)	123	41,0 (112)	36,3 (111)	112	0,91
фон 2 + $N_{96}$	2938 (123)	235 (134)	129	43,5 (119)	36,6 (112)	115	0,89
НСР <sub>05</sub>	29,1	5,2	–	1,34	1,44	–	–

Пр и м е ч а н и е. ОУ – последствие 40 т/га навоза; М – минерализация; Г – гумификация; ПФО – полифеноксидаза; ПО – пероксидаза.

*Влияние моноазотной системы удобрения на процессы минерализации и гумификации органических веществ в высоко окультуренной дерново-подзолистой легкосуглинистой почве* (полевой опыт 3). Результаты ферментативной диагностики однозначно показали, что пятилетнее применение моноазотной системы удобрения приводит к прогрессирующему усилению минерализации органических веществ, скорость которой возрастает как во времени, так и с увеличением доз азотных удобрений от  $N_{60}$  до  $N_{90}$  и  $N_{120}$ . Наиболее существенный сдвиг в сторону минерализации отмечается на 4-й и 5-й годы исследований при внесении  $N_{90}$  и  $N_{120}$ .

На фоне без органики применение моноазотной системы удобрения в течение первых трех лет приводило к снижению биохимических коэффициентов  $K_6$  от 1,00 до 0,93 (7 %), в последующие два года ее применения – от 1,00 до 0,83 (17 %).

На фонах последствия навоза применение моноазотной системы удобрения также не обеспечивало сбалансированности процессов минерализации и гумификации. На фоне последствия 50 т/га навоза в течение первых трех лет одностороннее внесение азотных удобрений снижало величины биохимических коэффициентов от 0,99 до 0,89 (10 %), на 4-й и 5-й годы – от 0,96 до 0,85 (11 %). На фоне последствия 100 т/га навоза при моноазотной системе удобрения коэффициенты  $K_6$  снижались от 0,99 до 0,91 (8 %) в течение первых трех лет и от 0,95 до 0,85 (10 %) в последующие два года. Прогрессирующее усиление минерализации в циклах углерода и азота представляет потенциальный риск снижения плодородия и подтверждается данными по содер-

жанию гумуса в почве (табл. 3, 4). Следует отметить, что сдвиг в сторону минерализации на 4–5-й годы исследований не может быть обусловлен только длительностью последствия навоза, так как аналогичная ситуация наблюдается и на фоне без его внесения (табл. 3).

Т а б л и ц а 3. Влияние моноазотной системы удобрения на биохимический статус высоко окультуренной дерново-подзолистой легкосуглинистой почвы, 2014–2018 гг.

Table 3. Effect of mono nitrogen fertilizer system on biochemical status of sod-podzolic loamy sand soil, 2014–2018

Вариант	Биохимический коэффициент $K_6$ (Г (%) / М (%))			
	Без удобрений	N <sub>60</sub>	N <sub>90</sub>	N <sub>120</sub>
<i>1–3-й годы последствия навоза</i>				
Без органики	1,00	0,96	0,93	0,93
50 т/га навоза	0,99	0,96	0,92	0,89
100 т/га навоза	0,99	0,95	0,92	0,91
<i>4–5-й годы последствия навоза</i>				
Без органики	1,00	0,91	0,83	0,83
50 т/га навоза	0,96	0,89	0,85	0,85
100 т/га навоза	0,95	0,93	0,86	0,85

Ферментативная диагностика выявила прогрессирующее снижение биохимического коэффициента при использовании моноазотной системы удобрения, указывающее на ее потенциальную рискованность. В многолетних исследованиях, проведенных А. И. Ивановым, установлено снижение содержания гумуса в дерново-подзолистой почве на 0,22–0,32 %, доли гуминовых кислот – на 5–12 % в результате 12-летнего применения моноазотной системы удобрения [22].

Т а б л и ц а 4. Влияние моноазотной системы удобрения на содержание гумуса в высоко окультуренной дерново-подзолистой легкосуглинистой почве, 2014–2018 гг.

Table 4. Effect of mono nitrogen fertilizer system on humus content in high fertility sod-podzolic loamy sand soil, 2014–2018

Вариант	Содержание гумуса, %							
	Без удобрений		N <sub>60</sub>		N <sub>90</sub>		N <sub>120</sub>	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Без органики	2,15	2,10	2,20	2,09	2,15	2,06	2,17	2,00
50 т/га навоза	2,33	2,23	2,28	2,20	2,26	2,13	2,30	2,17
100 т/га навоза	2,45	2,37	2,34	2,26	2,37	2,16	2,35	2,20

П р и м е ч а н и е. 1 – 2014 г. (НСР<sub>05</sub> – 0,12); 2 – 2018 г. (НСР<sub>05</sub> – 0,10).

Российские исследователи отмечают допустимость краткосрочного (5 лет) применения моноазотной системы удобрения на высоко окультуренных дерново-подзолистых почвах и считают, что более длительный период ее использования приведет к снижению плодородия и ухудшению качества растениеводческой продукции [10, 22].

Проведенные нами пятилетние биохимические исследования подтверждают их выводы и позволяют внести уточнение. По данным ферментативной диагностики длительность экологически обоснованного применения моноазотной системы удобрения на высоко окультуренных дерново-подзолистых легкосуглинистых почвах не должна превышать три года. Ферментативная диагностика почвы по ключевым гидролитическим и окислительным ферментам в циклах углерода и азота с применением биохимического коэффициента  $K_6$  позволяет нормировать нагрузку по азотным удобрениям.

**Заклучение.** Показаны потенциальные возможности ферментативной диагностики для оценки влияния азотных удобрений на активность и соотношения процессов минерализации и гумификации в дерново-подзолистых почвах разного гранулометрического состава и уровня окультуренности. Определен необходимый минимум биохимических показателей для количественной оценки влияния естественных и антропогенных факторов на активность минерализации и гумификации в циклах углерода и азота почвы. Для интерпретации данных ферментативной диагностики почвы предложен результирующий оценочный показатель – биохимический коэффициент  $K_6$ , позволяющий сравнивать скорости минерализации и гумификации, выявлять их баланс или дисбаланс, контролировать влияние интенсификации на состояние почвенного плодородия и нормировать антропогенную нагрузку.

По данным ферментативной диагностики среднегодовые дозы азота,  $N_{66}$ ,  $N_{96}$  и  $N_{126}$ , на фонах последствия 60 т/га навоза и при его сочетании с РК-удобрениями обеспечивают баланс процессов минерализации и гумификации в высоко окультуренной дерново-подзолистой легкосуглинистой почве. Для сохранения плодородия средне окультуренной дерново-подзолистой супесчаной почвы целесообразно снижение дозы азота до  $N_{54}$ , так как внесение  $N_{84}$  и  $N_{96}$  на фонах последствия 40 т/га навоза в сочетании с  $P_{70}K_{150}$  и  $P_{50}K_{120}$  приводит к значимому снижению  $K_6$  – до 0,89–0,91 (на 9–11 %) и до 0,90–0,92 (на 8–10 %) соответственно, указывая на потенциальный риск снижения плодородия.

Ферментативная диагностика выявила прогрессирующее усиление минерализации в циклах С и N при пятилетнем применении моноазотной системы удобрения на высоко окультуренной дерново-подзолистой легкосуглинистой почве. Скорость минерализации возрастала как во времени, так и при увеличении дозы азота от  $N_{60}$  до  $N_{120}$ . На фоне без органики в течение первых трех лет биохимические коэффициенты  $K_6$  снижались от 1,00 до 0,93 (7 %), на 4-й и 5-й годы – от 1,00 до 0,83 (17 %); на фоне последствия 50 т/га навоза – от 0,99 до 0,89 (10 %) и от 0,96 до 0,85 (11 %), по последствию 100 т/га навоза – от 0,99 до 0,91 (8 %) и от 0,95 до 0,85 (10 %) соответственно. По данным ферментативной диагностики длительность экологически обоснованного применения моноазотной системы удобрения на высоко окультуренных дерново-подзолистых легкосуглинистых почвах не должна превышать три года.

### Список использованных источников

1. Звягинцев, Д. Г. Биология почв: учеб. для студентов вузов / Д. Г. Звягинцев, И. П. Бабьева, Г. М. Зенова. – 3-е изд., испр. и доп. – М.: Изд-во МГУ, 2005. – 445 с.
2. Микроорганизмы и охрана почв / С. В. Левин [и др.]; под ред. Д. Г. Звягинцева. – М.: Изд-во МГУ, 1989. – 206 с.
3. Щербакова, Т. А. Ферментативная активность почв и трансформация органического вещества: в естественных и искусственных фитоценозах / Т. А. Щербакова. – Минск: Наука и техника, 1983. – 221 с.
4. Tabatabai, M. A. Soil enzymes / M. A. Tabatabai // *Methods of soil analysis. Pt. 2. Microbiological and biochemical properties* / Soil Science Soc. of America; ed.: R. W. Weaver [et al.]. – Madison, 1994. – P. 775–833.
5. Туев, Н. А. Микробиологические процессы гумусообразования / Н. А. Туев. – М.: Агропромиздат, 1989. – 239 с.
6. Хазиев, Ф. Х. Системно-экологический анализ ферментативной активности почв / Ф. Х. Хазиев; отв. ред. Р. Г. Минибаев. – М.: Наука, 1982. – 202 с.
7. Boyd, S. A. Enzyme interactions with clays and clay-organic matter complexes / S. A. Boyd, M. M. Mortland // *Soil biochemistry* / ed.: J.-M. Bollag, G. Stotzky. – New York; Basel, 1990. – Vol. 6. – P. 1–28. <https://doi.org/10.1201/9780203739389>
8. Ceccanti, B. Biomonitoring the environment and its functionality / B. Ceccanti, G. Masciandaro, C. Garcia // *Environmental biochemistry in practice* / Ist. per la Chimica del Terreno, Consiglio Naz. delle Ricerche; ed.: B. Ceccanti, C. Garcia. – Pisa, 1994. – Vol. 1: Wastes and soil management. – P. 1–24.
9. Masciandaro, G. Assessing soil quality in different agroecosystems through biochemical and chemical-structural properties of humic substances / G. Masciandaro, B. Ceccanti // *Soil & Tillage Research*. – 1999. – Vol. 51, № 1–2. – P. 129–137. [https://doi.org/10.1016/S0167-1987\(99\)00056-2](https://doi.org/10.1016/S0167-1987(99)00056-2)
10. Хазиев, Ф. Х. Некоторые свойства гумус-пероксидазного комплекса / Ф. Х. Хазиев, А. Е. Гулько // *Почвоведение*. – 1990. – № 2. – С. 30–36.
11. Биохимические и микробиологические критерии оценки плодородия почв и нормирования антропогенной нагрузки: метод. рекомендации / В. В. Лапа [и др.]; Ин-т почвоведения и агрохимии. – Минск: [б. и.], 2015. – 40 с.
12. Application of soil enzyme activity test kit in a field experiment / M. Vepsäläinen [et al.] // *Soil Biology & Biochemistry*. – 2001. – Vol. 33, № 12–13. – P. 1665–1672. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(01\)00087-6](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(01)00087-6)
13. Хазиев, Ф. Х. Методы почвенной энзимологии / Ф. Х. Хазиев. – М.: Наука, 2005. – 252 с.



14. Dick, R. P. Soil enzyme activities as indicators of soil quality / R. P. Dick // *Defining soil quality for a sustainable environment: proc. of a symp., Minneapolis, 1992* / Soil Science Soc. of America; ed.: J. W. Doran [et al.]. – Madison, 1994. – P. 107–124. <https://doi.org/10.2136/sssaspecpub35.c7>
15. Caldwell, B. A. Enzyme activities as a component of soil biodiversity: a review / B. A. Caldwell // *Pedobiologia*. – 2005. – Vol. 49, № 6. – P. 637–644. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2005.06.003>
16. Звягинцев, Д. Г. Биологическая активность почв и шкалы для оценки некоторых ее показателей / Д. Г. Звягинцев // *Почвоведение*. – 1978. – № 6. – С. 48–54.
17. Кононова, М. М. Органическое вещество почвы. Его природа, свойства и методы изучения / М. М. Кононова. – М.: Изд-во Акад. наук СССР, 1963. – 314 с.
18. Александрова, Л. Н. Органическое вещество почвы и процессы его трансформации / Л. Н. Александрова. – Л.: Наука, Ленингр. отд-ние, 1980. – 287 с.
19. Flaig, W. Effects of micro-organisms in the transformation of lignin to humic substances / W. Flaig // *Geochimica et Cosmochimica Acta*. – 1964. – Vol. 28, № 10–11. – P. 1523–1535. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(64\)90003-1](https://doi.org/10.1016/0016-7037(64)90003-1)
20. Гулько, А. Е. Фенолоксидазы почв: продуцирование, иммобилизация, активность / А. Е. Гулько, Ф. Х. Хазиев // *Почвоведение*. – 1992. – № 11. – С. 55–67.
21. Ацци, Дж. Сельскохозяйственная экология / Дж. Ацци; пер. с англ. Н. А. Емельяновой [и др.]; под ред. и с предисл. В. Е. Писарева. – М.: Изд-во иностр. лит., 1959. – 479 с.
22. Иванов, А. И. Почвенно-агрохимическое обоснование системы удобрения на хорошо окультуренных дерново-подзолистых почвах Северо-Запада России: автореф. дис. ... д-ра с.-х. наук: 06.01.04 / А. И. Иванов; С.-Петерб. гос. аграр. ун-т. – СПб.; Пушкин, 2000. – 40 с.

## References

1. Zvyagintsev D. G., Bab'eva I. P., Zenova G. M. *Soil biology*. 3<sup>rd</sup> ed. Moscow, Publishing House of Moscow State University, 2005. 445 p. (in Russian).
2. Zvyagintsev D. G. (ed.). *Microorganisms and soil protection*. Moscow, Publishing House of Moscow State University, 1989. 206 p. (in Russian).
3. Shcherbakova T. A. *Soil enzymatic activity and organic matter transformation: in natural and artificial phytocenoses*. Minsk, Nauka i tekhnika Publ., 1983. 221 p. (in Russian).
4. Tabatabai M. A. Soil enzymes. *Methods of soil analysis. Pt. 2. Microbiological and biochemical properties*. Madison, 1994, pp. 775–833.
5. Tuv N. A. *Microbiological processes of humus formation*. Moscow, Agropromizdat Publ., 1989. 239 p. (in Russian).
6. Khaziev F. Kh. *System-ecological analysis of the enzymatic activity of soils*. Moscow, Nauka Publ., 1982. 202 p. (in Russian).
7. Boyd S. A., Mortland M. M. Enzyme interactions with clays and clay-organic matter complexes. *Soil biochemistry*. Vol. 6. New York, Basel, 1990, pp. 1–28. <https://doi.org/10.1201/9780203739389>
8. Ceccanti B., Masciandaro G., Garcia C. Biomonitoring the environment and its functionality. *Environmental biochemistry in practice. Vol. 1. Wastes and soil management*. Pisa, 1994, pp. 1–24.
9. Masciandaro G., Ceccanti B. Assessing soil quality in different agroecosystems through biochemical and chemico-structural properties of humic substances. *Soil & Tillage Research*, 1999, vol. 51, no. 1–2, pp. 129–137. [https://doi.org/10.1016/S0167-1987\(99\)00056-2](https://doi.org/10.1016/S0167-1987(99)00056-2)
10. Khaziyev F. Kh., Gul'ko A. Ye. Some properties of humus-peroxydase complex. *Pochvovedenie*, 1990, no. 2, pp. 30–36 (in Russian).
11. Lapa V. V., Mikhailovskaya N. A., Chernysh A. F., Kas'yanchik S. A., Ivakhnenko N. N., Barashenko T. B., Pogirnitckaya T. V., Dyusova S. V. *Biochemical and microbiological criteria for assessing soil fertility and anthropogenic load rationing*. Minsk, 2015. 40 p. (in Russian).
12. Vepsäläinen M., Kukkonen S., Vestberg M., Sirviö H., Niemi R. M. Application of soil enzyme activity test kit in a field experiment. *Soil Biology & Biochemistry*, 2001, vol. 33, no. 12–13, pp. 1665–1672. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(01\)00087-6](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(01)00087-6)
13. Khaziev F. Kh. *Methods of soil enzymology*. Moscow, Nauka Publ., 2005. 252 p. (in Russian).
14. Dick R. P. Soil enzyme activities as indicators of soil quality. *Defining soil quality for a sustainable environment: proceedings of a symposium, Minneapolis, 1992*. Madison, 1994, pp. 107–124. <https://doi.org/10.2136/sssaspecpub35.c7>
15. Caldwell B. A. Enzyme activities as a component of soil biodiversity: a review. *Pedobiologia*, 2005, vol. 49, no. 6, pp. 637–644. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2005.06.003>
16. Zvyagintsev D. G. Biological activity of soils and some scales for its evaluation. *Pochvovedenie*, 1978, no. 6, pp. 48–54 (in Russian).
17. Kononova M. M. *Soil organic matter. Its nature, properties and methods of study*. Moscow, Publishing House of the Academy of Sciences of the USSR, 1963. 314 p. (in Russian).
18. Aleksandrova L. N. *Soil organic matter and its transformation processes*. Leningrad, Nauka Publ., 1980. 287 p. (in Russian).
19. Flaig W. Effects of micro-organisms in the transformation of lignin to humic substances. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1964, vol. 28, no. 10–11, pp. 1523–1535. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(64\)90003-1](https://doi.org/10.1016/0016-7037(64)90003-1)

20. Gul'ko A. E., Khaziyeu F. Kh. Soil phenoloxidase: provenance, immobilization, activity. *Pochvovedenie*, 1992, no. 11, pp. 55–67 (in Russian).
21. Azzi G. *Agricultural ecology*. Constable, London, 1956. 424 p.
22. Ivanov A. I. *Soil-agrochemical substantiation of the fertilizer system on well-cultivated soddy-podzolic soils of the North-West of Russia*. St. Petersburg, Pushkin, 2000. 40 p. (in Russian).

### Информация об авторах

*Михайловская Наталья Алексеевна* – кандидат сельскохозяйственных наук, доцент, заведующая лабораторией, Институт почвоведения и агрохимии НАН Беларуси (ул. Казинца, 90, 220108, Минск, Республика Беларусь). E-mail: bionf1@yandex.ru

*Касьянчик Светлана Ананьевна* – кандидат сельскохозяйственных наук, заместитель академика-секретаря Отделения аграрных наук Национальной академии наук Беларуси (пр-т Независимости, 66, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: agroprezidium@bas-net.by

*Мезенцева Елена Геннадьевна* – кандидат сельскохозяйственных наук, доцент, заведующая лабораторией, Институт почвоведения и агрохимии НАН Беларуси (ул. Казинца, 62, 220108, Минск, Республика Беларусь). E-mail: e\_mezentseva@list.ru

*Погирницкая Татьяна Викторовна* – младший научный сотрудник, Институт почвоведения и агрохимии НАН Беларуси (ул. Казинца, 62, 220108, Минск, Республика Беларусь). E-mail: microlab.cx@gmail.com

### Information about the authors

*Natallia A. Mikhailouskaya* – Ph. D. (Agricultural), Associate Professor, Head of the Laboratory, Institute for Soil Science and Agrochemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (90, Kazintsa Str., 220108, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: bionf1@yandex.ru

*Svetlana A. Kasyanchyk* – Ph. D. (Agricultural), Deputy Academician-Secretary of the Department of Agrarian Sciences of the National Academy of Sciences of Belarus (66, Nezavisimosti Ave., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: agroprezidium@bas-net.by

*Alena G. Mezentseva* – Ph. D. (Agricultural), Associate Professor, Head of the Laboratory, Institute for Soil Science and Agrochemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (62, Kazintsa Str., 220108, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: e\_mezentseva@list.ru

*Tatsiana V. Pagirnitskaya* – Junior Researcher, Institute for Soil Science and Agrochemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (62, Kazintsa Str., 220108, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: microlab.cx@gmail.com