

VLIV PROTEINOGENNÍCH A NEPROTEINOGENNÍCH AMINOKYSELIN NA NATIVNÍ PROTEASOVOU AKTIVITU LESNÍCH PŮD

LADISLAV HOLÍK, VALERIE VRANOVÁ
a KLEMENT REJŠEK

Ústav geologie a pedologie, Lesnická a dřevařská fakulta,
Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 3, 613 00 Brno
ladislav.holik@mendelu.cz

Došlo 1.8.16, přijato 16.8.2016.

Rukopis byl zařazen k tisku v rámci placené služby
urychleného publikování.

Klíčová slova: aminokyseliny, půdní proteasa, mineraliza-
ce dusíku, lesní ekosystém

Úvod

Lesní ekosystém je jedním ze základních suchozemských ekosystémů a půda v lesním prostředí je klíčovým prvkem pro existenci organismů^{1,2}. V lesním ekosystému je rozklad organického materiálu z velké části výsledkem činnosti půdních enzymů, které produkují komunity bakterií a hub^{3,4}. Půdní enzymy mají klíčové biochemické funkce v celkovém procesu rozkladu organické hmoty v půdním prostředí⁵⁻⁷. Mají důležitou roli pro životní procesy mikroorganismů v půdě, stabilizaci půdní struktury, rozklad organických zbytků, přeměnu organických látek a koloběh živin⁸⁻¹⁰. Hydrolyza bílkovin je první fází mineralizace půdního organického dusíku a je závislá na proteolytických enzymech, které jsou syntetizovány rostlinami a půdními mikroorganismy^{11,12}.

Půdní dusík obsažený v aminokyselinách představuje snadno dostupný zdroj dusíku a uhlíku pro výživu rostlin a pro půdní mikroorganismy¹³. Aminokyseliny se do půdy dostávají z různých zdrojů, ať už z biomasy rostlin, kořenových exudátů, mikroorganismů či výkalů zvířat¹⁴⁻¹⁷. Všechny biogenní (proteinogenní) aminokyseliny, se mohou, vyjma glycinu, vyskytovat jako tzv. enantiomery (tedy L- nebo D-formy). Obě formy aminokyselin se v přírodě vyskytují, ale v organismech a jejich metabolitech se častěji vyskytují L-isomery. Z D-enantiomerů aminokyselin se nejčastěji vyskytují D-alanin a D-glutamová kyselina, které se podílejí na stavbě buněčných stěn mikroorganismů jako peptidoglykany^{18,19}. Neproproteinogenní aminokyseliny se vyskytují v hydrolyzátech půd a humusových látkách. Koncentrace v humusových látkách se liší podle typu těchto látek a obecně nejširší spektrum a současně i největší podíl těchto aminokyselin se nachází ve

fulvokyselinách. Ve výluzích z lesních půd byly zjištěny relativně vysoké koncentrace L-ornithinu a v zaplavaných půdách a pod porosty borovice byly naměřeny vysoké koncentrace neproteinogenní aminokyseliny γ -aminomáselné²⁰.

Práce je zaměřena na vliv vybraných proteinogenních a neproteinogenních aminokyselin na aktivitu tzv. nativní půdní proteasy. Jejich stimulace/inhibice byla studována v několika odstupňovaných koncentracích proteinogenních a neproteinogenních aminokyselin a měření byla provedena na výzkumných plochách v lesních porostech buku, dubu a smrku.

Experimentální část

Odběr půdních vzorků

Ke studiu proteasové aktivity byly zvoleny porosty na Školním lesním podniku Masarykův les Křtiny (ŠLP MI Křtiny), které se rozkládají v nadmořské výšce 210–575 m n. m., roční průměrná teplota je 7,5 °C a průměrné roční srážky jsou 610 mm. Vybrány byly čtyři plochy, tři s listnatým porostem (2× buk a 1× dub) a jedna s jehličnatým porostem (smrk). První lokalitou byl Máchův památník (N 49° 19'24'', E 16°40'19''), kde se nachází porost buku lesního (BK, věk 70 let) s půdním typem rendzina melanická. Zde byly odebrány organický (Oe) a organominerální (Ahk) horizont. Druhou lokalitou byl Útěchov (N 49° 18'1'', E 16°37'31'') s porostem dubu letního (DB, věk 35 let) a půdním typem kambizem modální. Odebírány byly organický (Oe) a organominerální (Ah) horizont. Poslední lokalita byly Jedovnice se dvěma zkoumanými porosty (BK, N 49°19'19'' E 16°47'48''; SM, N 49° 19'21'', E 16°47'38''), a to bukový porost (BK, věk 90 let) a porost smrku (SM, věk 100 let). V obou porostech je půdní typ kambizem modální a odebíraly se organický a organominerální horizont (Oe a Ah). Byly odebírány směsné vzorky ze tří náhodných odběrů z jednotlivých půdních horizontů. Následně byly vzorky přesety přes síto s velikostí oka 2 mm a uskladněny v chladnu a temnu. Vzorky byly odebrány na konci června roku 2016. Tabulka I udává vybrané fyzikální a chemické vlastnosti testovaných půd. Plochy byly vybrány tak, aby zachytily heterogenitu půdního prostředí ve vazbě jak na vlastní půdní typ, tak na různou dřevinnou skladbu, přičemž platí, že zastoupené půdní typy i porosty jsou typické pro území České republiky.

Stanovení proteolytické aktivity půd

Stanovení nativní proteasové aktivity půd proběhlo dle metodiky²¹. V této metodice je TRIS-HCl pufr (pH 8,55) nahrazen demineralizovanou vodou (DEMI H₂O) s cílem měřit proteasovou aktivitu při hodnotách pH, které jsou blízké skutečnému pH půdy ve zkoumaném půdním vzorku. Do Erlenmeyerovy baňky byl navážen 1 g vlhké půdy, přidáno 2 ml DEMI H₂O a 100 μ l DEMI H₂O

Tabulka I
Vybrané fyzikální a chemické vlastnosti zkoumaných půd^a

Stanoviště	C _{tot} [%]	N _{tot} [%]	C/N	pH H ₂ O	pH 1M KCl	Jíl [%]	Prach [%]	Písek [%]
BK, Oe horizont (rendzina)	10,26	0,94	10,9	7,13	6,55	–	–	–
BK, Ahk horizont (rendzina)	1,99	0,22	9,0	7,31	6,47	12,47	65,04	22,49
BK, Oe horizont (kambizem)	13,20	0,70	18,9	4,26	3,38	–	–	–
BK, Ah horizont (kambizem)	4,49	0,30	15,0	4,01	3,29	6,40	48,80	44,70
DB, Oe horizont (kambizem)	20,58	1,36	15,1	6,63	6,16	–	–	–
DB, Ah horizont (kambizem)	17,75	1,17	15,2	5,65	5,14	6,81	50,03	43,15
SM, Oe horizont (kambizem)	26,10	1,37	19,1	4,13	3,06	–	–	–
SM, Ah horizont (kambizem)	9,45	0,54	17,5	4,42	3,32	10,40	50,90	38,60

^a Oe horizont – organický horizont; Ah, Ahk – organominerální horizont; DB – dubový listnatý porost; BK – bukový listnatý porost, SM – smrkový jehličnatý porost. C_{tot} – celkový uhlík; N_{tot} – celkový dusík; C/N – poměr celkového uhlíku a dusíku; pH – půdní reakce

s rozpuštěnou aminokyselinou v koncentracích 5, 50 a 100 µg na gram suché půdy. Dále byly přidány 2 ml 1% roztoku kaseinu (sodná sůl) a vzorky byly inkubovány při teplotě 50 °C po dobu 2 hodin. Kontrolní vzorky byly připraveny stejným způsobem, jen s tím rozdílem, že roztok kaseinu byl přidán až na konci inkubace. Zastavení reakce (inkubace) proběhlo přidáním 1 ml 7,5% kyseliny trichloroctové (TCA) a vzorky poté centrifugovány při 4000 ot/min. Po centrifugaci byl odebrán 1 ml supernatantu a smíchán se 7 ml 3,7% roztoku Na₂CO₃ a poté byl přidán 1 ml 0,06% roztoku CuSO₄. Vzorky byly ponechány 30 min při pokojové teplotě, následně se přidal 1 ml Folin-Ciocalteu reagentu (smíchán s demineralizovanou vodou v poměru 1:3) a tato směs se inkubovala 5 min při teplotě 37 °C a následně byla ponechána 15 min při pokojové teplotě. Proteolytická aktivita byla měřena na základě produkce aminokyseliny L-tyrosinu spektrofotometricky při vlnové délce 578 nm (Biochrom Libra S22). Kalibrační křivka byla připravena z roztoku L-tyrosinu v demineralizované vodě a roztoku DEMI H₂O / 7,5% TCA (v poměru 3:1).

Studovány byly proteinogenní aminokyseliny L- a D-alanin, L- a D-glutamová kyselina a neproteinogenní aminokyseliny kyselina γ-aminomáselná, L-ornitin, L-citrulin a β-alanin.

Statistická analýza

Výsledky proteolytické aktivity jednotlivých vzorků byly statisticky vyhodnoceny pomocí modulu jednofaktorialní ANOVA a vícenásobné porovnání LSD Fischerovým testem. Použit byl statistický program Statistica 12.0.

Výsledky a diskuse

Přidání proteinogenních aminokyselin alaninu a kyseliny glutamové (jejich L- a D-enantiomerů) mělo převážně stimulační vliv na aktivitu nativní proteasové aktivity. Plně stimulační vliv se projevil v organickém horizontu (Oe horizont) bukového porostu s půdním typem kambizem (tab. II) a v organominerálním horizontu (Ah horizont) dubového a smrkového porostu (tab. II) se shodným půdním typem (kambizem). Shodnou opověď na přidávek proteinogenních aminokyselin ukázalo měření proteasové aktivity v bukovém porostu s půdním typem rendzina, kdy shodně došlo ke statisticky nevýznamné reakci ($P < 0,05$) u D-alaninu a to v organickém i organominerálním horizontu (tab. II). Velmi slabý vliv proteinogenních aminokyselin se ukázal v organominerálním horizontu bukového porostu s půdním typem kambizem, kdy se stimulační efekt projevil jen u L-alaninu v koncentraci 100 µg a u ostatních nebyla zaznamenána statistická významnost ($P < 0,05$). Stimulační vliv nebyl zjištěn u organického horizontu smrkového porostu, kdy se aktivita nativní půdní proteasy nedostala nad hranici statistické významnosti ($P < 0,05$), ale naopak došlo k inhibici u D-enantiomeru kyseliny glutamové u koncentrací 50 µg a 100 µg (tab. II). Vliv L- i D-alaninu na nativní proteasovou aktivitu byl stimulační stejně jako v práci²², kdy se měřila potenciální proteasová aktivita (byl použit TRIS-HCl pufr, pH 8,55), a celkově stejná byla i velikost stimulace (cca 10 %) i rozdíl mezi L- a D-enantiomerem alaninu. Rozdíl byl však u kyseliny glutamové, kdy autoři zjistili silnou inhibici proteas (cca 40 %), zatímco v našich měřeních došlo k inhibici pouze v jednom případě, a to u D-enantiomeru v organickém horizontu smrkového porostu. U D-enantiomerů však docházelo častěji k výskytu statisticky nevýznamných měření. Stimulující vliv alaninu a kyseliny glutamové se prokázal na mikrobiální biomasu jako celek,

Tabulka II

Nativní proteolytická aktivita^a po přidavku proteinogenních aminokyselin v množství 0, 5, 50 a 100 µg g⁻¹ suché půdy

Stanoviště ^c	0	5	50	100	SE ± ^b
<i>Bukový porost, Oe horizont (rendzina)</i>					
L-Alanin	553,15	565,07*	565,37*	563,58*	2,70
D-Alanin	553,15	555,54	557,62	558,52	3,35
L-Glutamová kyselina	553,15	558,52	563,28*	564,48*	2,80
D-Glutamová kyselina	553,15	555,83	562,09*	563,29*	2,98
<i>Bukový porost, Ahk horizont (rendzina)</i>					
L-Alanin	255,67	259,15	264,86*	268,33*	2,52
D-Alanin	255,67	258,41	256,17	255,67	2,51
L-Glutamová kyselina	255,67	261,88*	268,83*	274,54*	2,51
D-Glutamová kyselina	255,67	260,64	262,62*	260,64	2,32
<i>Bukový porost, Oe horizont (kambizem)</i>					
L-Alanin	30,26	40,61*	41,03*	46,00*	4,01
D-Alanin	30,26	35,64	41,85*	51,80*	3,90
L-Glutamová kyselina	30,26	43,10*	43,93*	40,20*	3,84
D-Glutamová kyselina	30,26	31,25	49,32*	42,68*	4,82
<i>Bukový porost, Ah horizont (kambizem)</i>					
L-Alanin	30,32	29,84	33,43	37,96*	1,70
D-Alanin	30,32	29,84	31,52	31,52	1,72
L-Glutamová kyselina	30,32	30,32	31,76	31,99	1,68
D-Glutamová kyselina	30,32	33,67	28,41	29,61	1,60
<i>Dubový porost, Oe horizont (kambizem)</i>					
L-Alanin	317,40	316,64	331,87*	327,55*	3,23
D-Alanin	317,40	313,60	315,63	312,08	2,60
L-Glutamová kyselina	317,40	326,28*	334,66*	341,51*	2,36
D-Glutamová kyselina	317,40	312,40	320,96	314,87	2,59
<i>Dubový porost, Ah horizont (kambizem)</i>					
L-Alanin	104,98	113,65*	118,52*	112,60*	0,89
D-Alanin	104,98	113,87*	122,97*	124,24*	1,07
L-Glutamová kyselina	104,98	109,84*	125,51*	122,12*	1,37
D-Glutamová kyselina	104,98	106,03	109,21*	125,72*	1,35
<i>Smrkový porost, Oe horizont (kambizem)</i>					
L-Alanin	38,58	35,99	40,91	41,17	1,61
D-Alanin	38,58	37,03	40,91	37,03	1,83
L-Glutamová kyselina	38,58	44,02	35,47	38,32	2,35
D-Glutamová kyselina	38,58	39,61	34,18*	29,77*	1,69
<i>Smrkový porost, Ah horizont (kambizem)</i>					
L-Alanin	37,60	58,17*	46,74*	47,78*	1,50
D-Alanin	37,60	38,85	41,96*	43,62*	1,19
L-Glutamová kyselina	37,60	42,17	42,58*	41,75	2,03
D-Glutamová kyselina	37,60	43,00*	41,34	40,71	1,66

^a Výsledky představují množství produkovaného L-tyrosinu v µg h⁻¹ g⁻¹ suché půdy, * jsou statisticky významné ($P < 0,05$, $n = 3$). Standardní chyba, ^bSE ± pro Fisherův LSD test. ^cOe horizont – organický horizont; Ah, Ahk – organominerální horizont

Tabulka III

Nativní proteolytická aktivita^a po přidavku neproteínogenních aminokyselin v množství 0, 5, 50 a 100 µg g⁻¹ suché půdy

Stanoviště ^c	0	5	50	100	SE ± ^b
<i>Bukový porost, Oe horizont (rendzina)</i>					
γ-Aminomáselná kyselina	557,03	572,23*	573,42*	568,65*	1,83
L-Ornithin	557,03	561,37	561,20	560,91	2,22
L-Citrullin	557,03	569,84*	573,72*	567,16*	2,77
β-Alanin	557,03	576,70*	579,38*	582,96*	2,33
<i>Bukový porost, Ahk horizont (rendzina)</i>					
γ-Aminomáselná kyselina	257,42	271,56*	262,13*	264,86*	2,12
L-Ornithin	257,42	271,56*	269,08*	269,08*	2,28
L-Citrulin	257,42	271,35*	271,35*	271,35*	1,72
β-Alanin	257,42	270,32*	271,56*	269,08*	1,48
<i>Bukový porost, Oe horizont (kambizem)</i>					
γ-Aminomáselná kyselina	30,25	43,10*	55,12*	60,51*	3,26
L-Ornithin	30,25	33,57	40,61	56,36*	5,98
L-Citrulin	30,25	63,41*	64,65*	65,06*	4,91
β-Alanin	30,25	47,66*	58,02*	50,14*	4,43
<i>Bukový porost, Ah horizont (kambizem)</i>					
γ-Aminomáselná kyselina	33,19	41,31*	37,49*	39,40*	1,77
L-Ornithin	33,19	35,81	35,81	38,20*	2,16
L-Citrulin	33,19	35,10	34,14	34,14	1,82
β-Alanin	33,19	34,62	36,29	38,20*	1,66
<i>Dubový porost, Oe horizont (kambizem)</i>					
γ-Aminomáselná kyselina	320,45	320,70	322,73	320,96	2,14
L-Ornithin	320,45	319,94	323,75	322,48	1,52
L-Citrulin	320,45	322,48	316,64	317,91	1,95
β-Alanin	320,45	318,93	318,17	319,69	1,89
<i>Dubový porost, Ah horizont (kambizem)</i>					
γ-Aminomáselná kyselina	104,55	111,11*	114,08*	115,14*	2,04
L-Ornithin	104,55	109,21*	108,57*	104,98	1,52
L-Citrulin	104,55	103,92	105,61	102,65	1,94
β-Alanin	104,55	105,61	105,82	104,76	0,82
<i>Smrkový porost, Oe horizont (kambizem)</i>					
γ-Aminomáselná kyselina	36,77	46,87*	47,90*	53,60*	2,00
L-Ornithin	36,77	46,35*	44,02*	49,71*	2,26
L-Citrulin	36,77	42,49*	50,49*	53,60*	1,78
β-Alanin	36,77	38,58	38,06	47,38*	1,92
<i>Smrkový porost, Ah horizont (kambizem)</i>					
γ-Aminomáselná kyselina	37,18	42,58*	44,04*	35,31	1,71
L-Ornithin	37,18	28,25*	29,29*	31,78*	1,28
L-Citrulin	37,18	28,25*	32,61*	28,25*	1,46
β-Alanin	37,18	39,47	36,56	35,94	1,11

^a Výsledky představují množství produkovaného L-tyrosinu v µg h⁻¹ g⁻¹ suché půdy, * jsou statisticky významné ($P < 0,05$, $n = 3$). Standardní chyba, ^b SE ± pro Fisherův LSD test. ^c Oe horizont – organický horizont; Ah, Ahk – organominerální horizont

kdy ve studii²³ došlo po jejich přidání do půdního vzorku k nárůstu mikrobiální biomasy i respirační aktivity. Stejně pozitivní vliv měly i alanin ve studii²⁴ na množství půdního organického uhlíku.

Na přítomnost neproteinogenních aminokyselin reagovala proteasa podobně jako na proteinogenní aminokyseliny (tab. III). Statisticky nevýznamný vliv ($P < 0,05$) se ukázal u dubového porostu v organickém horizontu (Oe horizont), v organominerálním horizontu (Ah horizont) pak byly statisticky významné změny (stimulace) u aminokyseliny L-Citrulin a β -alanin a statisticky nevýznamné u kyseliny γ -aminomáselné a L-Ornitinu (tab. III). Zjištěna byla také inhibice proteasové aktivity a to v organominerálním horizontu (Ah horizont) smrkového porostu u aminokyselin L-Ornitinu a L-Citrulin (tab. III), stimulační vliv měla naopak kyselina γ -aminomáselná. Neproteinogenní aminokyseliny jsou významnými zdroji organického dusíku v mnoha ekosystémech. Výzkumy naznačují, že hrají důležitou roli ve formě metabolitů, či jako signální látky při akvizici živin, nebo jako odpověď na stres²⁵. Výsledky studie naznačují, že zvýšená mineralizace neproteinogenních aminokyselin by mohla být odpovědí mikroorganismů na stresující podmínky na stanovišti (vodní deficit v půdním prostředí). Kromě možného stresu může hrát roli jak kvantita a kvalita organické hmoty, vstupující do mineralizačního procesu (v závislosti na dřevině), tak rozdílné pH jednotlivých stanovišť, které je vhodné pro dané druhy mikroorganismů žijících v tomto prostředí²⁶.

Závěr

Cílem této práce bylo zjistit, jak reagují nativní půdní proteasy na proteinogenní a neproteinogenní aminokyseliny. Dusík a uhlík obsažený v aminokyselinách představuje zdroj výživy a proteasy zprostředkovávají jeho dostupnost pro půdní prostředí. Výsledky ukazují, že vliv na nativní proteasovou aktivitu je převážně stimulační a vyskytly se pouze tři případy, kdy došlo k jejich inhibici.

Príspevek vznikl za podpory grantu IGA 13/2013 MENDELU (Interní grantová agentura Mendelovy univerzity v Brně) a TAČR č. projektu TA04020888.

LITERATURA

- Montagnini F., Jordan C. F.: *Tropical forest ecology: the basis for conservation and management*. Springer, Heidelberg 2005.
- Cheng F., Peng X., Zhao P., Yuan J., Zhong C.: *PLoS One* 8, 6, e 67353 (2013).
- Aragón R., Sardans J., Peñuelas J.: *Plant Soil* 384, 169 (2014).
- Liu S., Hu R., Zhao J., Brüggemann N., Bol R., Cai G., Lin S., Shaaban M.: *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 177, 541 (2014).
- Burns R. G., v knize: *Microbes in their natural environment* (Slater J. H., Wittenbury R., Wimpenny J. W. T., ed.), kap. 8. Cambridge University Press, London 1983.
- Sinsabaugh R. L., Antibus R. K., Linkins A. E.: *Agric. Ecosys. Environ.* 34, 43 (1991).
- Turner S., Schippers A., Meyer-Stüve S., Guggenberger G., Gentsch N., Dohrmann R., Condon L. M., Eger A., Almond P. C., Peltzer D. A., Richardson S. J., Mikutta R.: *Soil Biol. Biochem.* 68, 31 (2014).
- Dick R. P., Sandor J. A., Eash N. S.: *Agric. Ecosyst. Environ.* 50, 123 (1994).
- Dilly O., Munch J. C., Pfeiffer E.-M.: *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 170, 197 (2007).
- Karasawa T., Takebe M., Sato F., Komada M., Nagao K., Takenaka M., Urashima Y., Nishimura S., Takahashi S., Kato N.: *Soil Sci. Plant Nutr.* 61, 295 (2014).
- Ladd J. N.: *Soil Biol. Biochem.* 4, 227 (1972).
- Rasche F., Musyoki M. K., Röhl C., Muema E. K., Vanlauwe B., Cadisch G.: *Soil Biol. Biochem.* 74, 204 (2014).
- Owen A. G., Jones D. L.: *Soil Biol. Biochem.* 33, 651 (2001).
- Christensen B. T., Bech-Andersen S.: *Soil Biol. Biochem.* 21, 35 (1989).
- Henry H. A. L., Jefferies R. L.: *Plant Cell Environ.* 25, 665 (2002).
- Bown A. W., MacGregor K. B., Shelp B. J.: *Trends Plant Sci.* 11, 424 (2006).
- Badri D. V., Vivanco J. M.: *Plant Cell Environ.* 32, 666 (2009).
- Weidel W., Pelzer H.: *Adv. Enzymol.* 26, 193 (1964).
- O'Dowd R. W., Hopkins D. W.: *Soil Biol. Biochem.* 30, 2009 (1998).
- Vranová V., Formánek P., Rejšek K.: *Chem. Listy* 105, 661 (2011).
- Rejšek K., Formánek P., Pavelka M.: *Amino Acids* 35, 411 (2008).
- Dundek P., Holík L., Vranová V., Rejšek K., Formánek P.: *Acta Univ. Agric. Silv. Mendeliana Brun.* 59, 29 (2011).
- Hopkins D. W., O'Dowd R. W., Shieli R. S.: *Soil Biol. Biochem.* 29, 23 (1997).
- Hamer U., Marschner B.: *Soil Biol. Biochem.* 37, 445 (2005).
- Vranová V., Rejšek K., Skene K. R., Formánek P.: *Plant Soil* 342, 31 (2010).
- Vranová V., Rejšek K., Formánek P.: *Appl. Soil Ecol.* 70, 23 (2013).

L. Holík, V. Vranová, and K. Rejšek (*Department of Geology and Soil Science, Faculty of Forestry and Wood Technology, Mendel University in Brno*): **Effect of Proteinogenic and Non-proteinogenic Amino Acids of the Native Protease Activity of Forest Soils**

Soil proteolytic complex plays an important role in nutrient cycling in the ecosystem. Interactions of this enzyme complex with proteinogenic and non-proteinogenic amino acids were studied on the cambisol (stands of beech, oak and spruce) and Rendzic Leptosol (beech stand) soil types. The aim of the study was to find out how

does native soil protease react for the presence of amino acids, i.e., substances which are released during the decomposition of organic matter, get into the soil and the environment and represent important sources of nitrogen and carbon. The overall activity of the native soil protease was stimulated by the proteinogenic and non-proteinogenic amino acids. In three cases there was an inhibition. In one case, an inhibitory effect of the protease on proteinogenic amino acids (D-glutamic acid) was observed in an organic horizon of a spruce stand and, in two cases, on non-proteinogenic amino acids (L-ornithine and L-citrulline) in an organomineral horizon of a spruce stand.