

З. С. АВУНДЖЯН, А. Ш. ГАЛСТЯН

О СВЯЗИ МЕЖДУ АКТИВНОСТЬЮ ФЕРМЕНТОВ И МЕХАНИЧЕСКИМ СОСТАВОМ ПОЧВЫ

В настоящее время сравнительно хорошо изучены вопросы химического и минералогического составов механических фракций почв. Установлены определенные закономерности в распределении химических элементов, гумуса и минералов по фракциям [5, 7—15]. Однако до сих пор очень слабо изучена взаимосвязь между активностью ферментов и механическим составом почвы. Изучение этого вопроса даст возможность познать сущность фиксации ферментов механическими фракциями почв. В данной работе изучалась активность ферментов в зависимости от механического состава почв в пределах одного и того же типа и подтипа и их распределение по фракциям. Такая постановка вопроса вызвана тем, что отдельные генетические типы почв обладают различной ферментативной активностью, которая нами рассматривается как их дополнительный диагностический показатель [2, 3].

Исследования проводились на бурой почве, черноземе и мелиорированном солончаке. Ферменты почв определяли по ранее опубликованным методам [2]. Активность ферментов выражалась: инвертазы в мг глюкозы, амилазы в мг мальтозы, уреазы в мг аммиака на 1 г почвы за сутки, каталазы в $\text{см}^3 \text{O}_2$ на 1 г почвы за минуту, дегидрогеназы в мг трифенилформазана (ТФФ) на 10 г почвы за сутки, фосфатазы в мг P_2O_5 на 10 г почвы за час. Механический состав определяли по Качинскому [6]. Данные по механическому составу были пересчитаны на бессолевою и бескарбонатную массу.

Одна из особенностей настоящих исследований заключается в том, что чистые ферментные препараты вносились в почвы, которые не обладали ферментативной активностью. Затем изучалось их распределение и фиксация по механическим фракциям. Опыты ставились на мелиорированном содовом солончаке (сумма солей—0,11%, CO_2 полностью отсутствовал, HCO_3 —0,06%), который в естественных условиях и после мелиорации не обладал активностью гидролитических ферментов, при незначительной активности дегидрогеназ (0,02 мг ТФФ), и на стерилизованной бурой почве.

К просеянной (1 мм) почве были прибавлены водные растворы ферментных препаратов с известной активностью, рассчитанной на 1 г почвы за час: инвертаза (β -фруктофуранозидаза, 3.2.1.26)—20 мг глюкозы, амилаза (α и β -амилазы, 3.2.1.1, 3.2.1.2)—24 мг мальтозы; уреазы

(3.5.1.5)—16,3 мг аммиака и глюкозодегидрогеназа (1.1.1.47)—11 мг трифенилформазана (ТФФ). Взаимодействие ферментов с почвой происходило за 20 дней, в течение которых периодически прибавляли толуол в качестве антисептика.

Для выделения отдельных фракций механических элементов почву многократно растирали до пастообразного состояния и отмучивали до полного выделения фракции. В течение 30 мин почва, при влажности, равной нижней границе текучести, разминалась в фарфоровой ступке каучуковым пестиком, после чего переносилась в стеклянный сосуд объемом 18 л, в котором производилось разделение на отдельные фракции с учетом скорости падения по формуле Стокса. Слитая через сифон суспензия выпаривалась в термостате при 45°C. Высушенные до воздушно-сухого состояния образцы растирались в агатовой ступке, просеивались через 0,25 мм и переносились в банки. Такой метод подготовки почвы для разделения на фракции был применен во избежание воздействия химических агентов, которые обычно применяются при механическом анализе, так как они могут изменить ферментативную активность и отдельные свойства выделяемых фракций. Выделенные фракции и образцы нерасчлененной почвы поступали в анализ.

Ферменты, как биологические катализаторы, продуцируются населяющими ее живыми организмами. После выделения из организма часть их инактивируется, а другая поглощается почвенными частицами и долгое время сохраняет активность. Степень связывания ферментов зависит от условий почвообразования, физико-химических свойств и дисперсности почв (табл. 1). Приведенные данные показывают, что актив-

Таблица 1
Активность ферментов почв с различным механическим составом

Почва	Угодье, № раз- реза	Глубина, см	Гумус, %	Потеря от обра- ботки НС1	Фракции в мм, %				Ивергаза	Уреаза	Дегидрогеназы	Каталаза	Фосфатаза
					песок 1—0,05	пыль 0,05—0,001	ил 0,001	физ. глина 0,01					
Бурая окуль- туренная	кукуруза	0—27	1,77	20,0	8,6	38,8	32,6	53,0	11,3	2,0	1,4	6,3	3,3
	31	27—39	1,59	19,5	9,1	40,2	31,2	54,1	5,2	0,9	0,8	6,5	1,1
	люцерна	0—22	1,71	25,0	22,7	29,7	22,6	35,2	7,7	0,7	1,0	5,2	0,8
	6	22—46	1,48	29,5	8,4	42,1	20,0	45,0	3,9	0,8	0,1	5,6	0,9
люцерна	0—22	1,14	40,0	19,5	26,8	13,7	26,8	3,9	0,2	0,1	3,3	1,7	
	23	22—37	1,09	41,7	21,6	24,5	12,2	25,5	2,0	0,2	0,07	2,0	0,6
Луговое- чернозем- ная	312	0—15	10,34	11,0	13,3	45,5	30,2	60,5	41,3	8,4	8,6	4,0	10,8
		15—31	8,33	10,8	3,2	57,4	28,6	71,9	8,9	1,4	1,6	0,3	3,1
	237	0—12	13,59	9,3	25,5	50,4	14,8	42,0	25,3	5,6	2,0	1,7	10,4
		12—28	10,16	6,1	43,6	46,2	4,1	24,2	17,7	5,9	0,8	0,4	5,9

ность ферментов зависит не только от содержания гумуса, но и от величины частиц. Почвы с легким механическим составом обладают мень-

шей ферментативной активностью, чем тяжелые (когда физ. глина не превышает 65—70%).

Сравнительно высокая ферментативная активность тяжелых почв обусловлена наличием значительного количества тонкодисперсных частиц, которые имеют наиболее активную адсорбционную способность. В пределах одного и того же подтипа почв, в которых содержание органического вещества почти одинаково, активность ферментов резко отличается. Ферменты в основном фиксируются илистой и пылеватой фракциями почвы. При этом фиксация ферментов механическими частицами происходит различно (рис. 1). На единицу веса частиц активность ферментов распределяется следующим образом: инвертаза больше всего закрепляется в предилистой фракции (0,005—0,001 мм), амилаза—предилистой и илистой, а во фракциях больше 0,01 мм ее активность не обнаруживается; уреазы—в илистой, предилистой и в среднепылевой (0,01—0,005 мм), в отличие от других ферментов она фиксируется также в мелком песке (0,1—0,05 мм); дегидрогеназы в основном связываются с илистой фракцией, затем по мере увеличения размера частиц пылевой фракции их действие снижается; в песчаных фракциях активность дегидрогеназ, как и остальных ферментов, отсутствует [9].

Аналогичная закономерность распределения активности ферментов по механическим фракциям наблюдается также у естественных почв (рис. 1—1, 2). Характер распределения активности ферментов по механическим фракциям бурой бескарбонатной почвы и выщелоченного чернозема тождествен распределению искусственно внесенных ферментов. Следовательно, существует определенная закономерность в фиксации ферментов отдельными фракциями почвы. Причем они в почве закрепляются не только ее коллоидными частицами, но и пылевыми [9, 11]; фиксация пылевыми и илистыми частицами в определенной степени сохраняет все структурные элементы молекулы фермента, в частности третичные и четвертичные, определяющие каталитические свойства его.

Существует определенный предел фиксации ферментов для каждой почвы. Мелиорированный солончак и стерилизованная бурая почва из прибавленных ферментов связывали приблизительно одинаковые количества их, причем по активности, приближающейся к бурой естественной почве. Согласно приведенным данным, у различных типов почв существует некоторая тенденция к определенной емкости фиксации для отдельных ферментов.

Распределение активности ферментов по механическим фракциям тесно связано с органическими веществами. Активность гидролаз находится в корреляции с содержанием органического вещества $r=0,76 \pm \pm 0,09$. В пылеватых фракциях представлена основная часть гумуса; здесь главным образом накоплены инвертаза, амилаза и уреазы. Поэтому корреляционная связь между активностью инвертазы и содержанием физической глины сравнительно более тесная, чем ила (табл. 2).

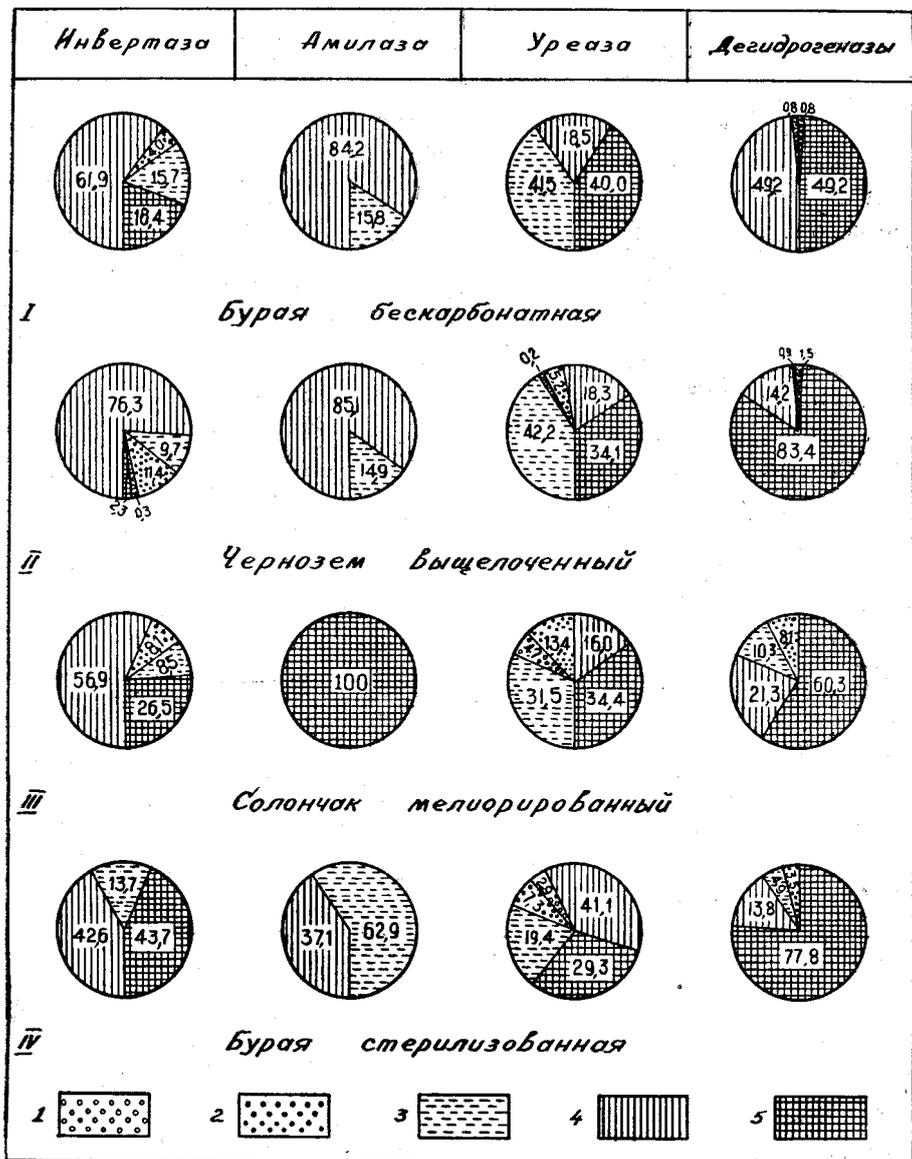


Рис. 1. Распределение активности ферментов по механическим фракциям почв, %.

1 — песок, 1,0—0,05 мм, 2 — пыль крупная, 0,05—0,01 мм; 3 — пыль средняя, 0,01—0,005 мм; 4 — пыль мелкая, 0,005—0,001 мм; 5 — ил < 0,001 мм.

Действие дегидрогеназ, как дыхательных ферментов, коррелирует с общим количеством микроорганизмов. В илистой фракции общее количество адсорбированных микроорганизмов и их отдельных групп (бактерии, грибы, актиномицеты и т. д.) сравнительно больше, чем в других фракциях (табл. 3). В этой фракции общая дегидрогеназная активность также высокая. По мере увеличения размеров частиц количество адсорбированных микроорганизмов и действие дегидрогеназ уменьшается. Хотя грубые фракции адсорбируют значительное количество

микроорганизмов, ферменты ими не адсорбируются, так как они не содержат органического вещества и глинистых минералов.

Таблица 2

Взаимосвязь активности инвертазы почвы с содержанием физической глины и ила

Почва	Показатели	Активность M_1 содержание M_2	Коэффициент корреляции $r \pm m_r$
Бурая полупустынная	инвертаза, физическая глина	$M_1=5,0$ $M_2=40,3$	$0,60 \pm 0,12$
	инвертаза, ил	$M_1=5,0$ $M_2=15,4$	$0,52 \pm 0,13$
Каштановая	инвертаза, физическая глина	$M_1=16,6$ $M_2=60,6$	$0,49 \pm 0,20$
	инвертаза, ил	$M_1=16,6$ $M_2=9,7$	$0,28 \pm 0,18$
Чернозем выщелоченный	инвертаза, физическая глина	$M_1=19,9$ $M_2=53,0$	$0,43 \pm 0,17$
	инвертаза, ил	$M_1=19,9$ $M_2=13,3$	$0,36 \pm 0,18$

Таблица 3

Распределение микроорганизмов по механическим фракциям бурой почвы
(в тыс. на 1 г навески)

Фракции, мм	Группы микроорганизмов						
	растущие на		споровые	грибы	актино- цеты	целлюлозо- разрушаю- щие	нитрофико- торы
	МПА	КАА					
<0,001	1294	2370	268	8	540	27	110
0,001—0,005	910	1740	50	20	20	27	110
0,005—0,01	470	955	4	6	2	4	100
0,01—0,05	265	1275	24	47	10	14	67
0,05—0,1	110	90	4	23	2	14	58
0,1—0,25	285	200	15	1	10	11	14
0,25—1,0	280	510	24	3	—	5	14

Фиксация обусловлена также минералогическим и химическим составами. Во фракциях было изучено содержание первичных и глинистых минералов. Грубые фракции в основном представлены полевыми шпатами, плагиоклазами, где SiO_2 составляет 85—95%. Причем SiO_2 обладает очень низкой адсорбционной способностью. Поэтому эти фракции не фиксируют ферменты. Из первичных минералов в грубых фракциях преобладают гиперстен, роговая обманка, авгит, магнетит и т. д. По мере повышения степени дисперсности частиц уменьшается участие тяжелых минералов во фракциях. В илистой и предилистой фракциях они почти отсутствуют, следовательно, не играют роли при связывании ферментов.

В мелких фракциях, особенно в илистой и предилистой, преобладают легкие минералы, где решающая роль принадлежит глинистым минералам — монтмориллониту, гидрослюде и каолиниту. В составе глинистых минералов содержание SiO_2 сравнительно меньше; эти фракции значительно обогащены полуторными окислами, которые выступают как более активные адсорбенты для связывания ферментов. Известно, что вторичные минералы имеют большую адсорбционную способность в отношении ферментов и белков [12—14].

Ферменты, адсорбированные механическими фракциями, обычно трудно десорбируются. Фиксированные ферменты не извлекаются из фракции органическими растворителями и дистиллированной водой. Это означает, что связь молекул ферментов с частицами почв очень прочная. Фиксация ферментов диспергированными частицами предотвращает их диффузию.

При фиксации ферментов определенное значение имеет рН почвы: если ее величина близка к оптимуму рН ферментов, то они фиксируются больше, чем при значительном их расхождении [1]. Установление значительной активности ферментов после их адсорбции со стороны механических частиц свидетельствует о том, что активный центр в молекуле остается свободным. Закрепление молекул ферментов происходит за счет других функциональных групп, не участвующих в каталитической реакции. В некотором отношении избирательная адсорбция ферментов одновременно означает, что катализируемые ими биохимические реакции соответственно локализованы в структурных элементах отдельных фракций, в которых ферменты не теряют свое уникальное строение, структуру и вполне определенную биохимическую специфичность.

Таким образом, было установлено, что активность ферментов почв зависит от их механического состава. Тяжелые по механическому составу почвы (с физ. глиной, не превышающей 70%) обладают сравнительно более высокой активностью ферментов, чем легкие.

Институт почвоведения и агрохимии
МСХ АрмССР

Поступило 10.IX 1969 г.

Զ. Ս. ՀԱՎՈՒՆԶՅԱՆ, Ա. Շ. ԳԱԼՍՅԱՆ

ՀՈՂԻ ՖԵՐՄԵՆՏԱՅԻՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ԵՎ ՄԵԽԱՆԻԿԱԿԱՆ ԿԱԶՄԻ ՄԻՋԵՎ
ԵՂԱԾ ԿԱՊԻ ՄԱՍԻՆ

Ա Վ Փ Ո Փ Ո Ւ Մ

Հողի ֆերմենտների ակտիվությունը պայմանավորված է մի շարք գործոններով, այդ թվում նաև մեխանիկական կազմով: Մանր մեխանիկական կազմ ունեցող հողերը (որոնք պարունակում են 65—70 %-ից ոչ բարձր ֆիզիկական կավ), միևնույն տիպի սահմաններում, օժտված են ավելի բարձր ֆերմենտային ակտիվությամբ, քան թեթև հողերը: Դա բացատրվում է նրանով, որ հողի ֆերմենտները հիմնականում կապված են մեխանիկական

նուրբ մասնիկների՝ տիղմի և մանր փոշու հետ: Ֆերմենտները կլանվելով հողի նուրբ մասնիկների կողմից, երկար ժամանակ պահպանում են իրենց ակտիվությունը:

Հողի մեխանիկական մասնիկների կողմից ֆերմենտները ֆիքսվում են հետևյալ կերպ. ինվերտազան հիմնականում կուտակվում է նուրբ փոշու ֆրակցիայում (0,005—0,001 մմ), ամիլազան՝ նուրբ փոշում և տիղմում, ուրեազան՝ նաև միջակ փոշու մասնիկներում (0,005—0,001 մմ), իսկ դեհիդրոգենազները կուտակվում են տիղմի մեջ (<0,001 մմ): Ֆերմենտների ակտիվության տեղաբաշխումը ըստ մեխանիկական մասնիկների դասվում է ուղղակի կապի մեջ օրգանական նյութերի և ադսորբված միկրոօրգանիզմների ընդհանուր բանակի հետ:

Ֆերմենտների ֆիքսացիան տղմային և փոշու մասնիկների կողմից պայմանավորվում է նաև նրանց միներալոգիական կազմով, որտեղ վճռական դերը պատկանում է կավային միներալներին: Ֆերմենտների ֆիքսացիան մեխանիկական նուրբ մասնիկների կողմից արգելակում է նրանց դիֆուզիան հողից: Հողի մասնիկների կողմից ֆերմենտների կլանման ընթացքում նրանց ակտիվ կենտրոնները մնում են ազատ, նշանակում է՝ ֆերմենտների մոլեկուլի ամրացումը տեղի է ունենում ֆունկցիոնալ այլ խմբերի հաշվին, որով և պահպանում են իրենց մոլեկուլի բիոքրիմիական առանձնահատկությունները:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Галстян А. Ш. ДАН АрмССР, т. 36, 4, 1963.
2. Галстян А. Ш., Татевосян Г. С. Физика, химия, биология и минералогия почв СССР. Доклады к VIII Международному конгрессу почвоведов, М., 1964.
3. Галстян А. Ш., Авунджян З. С. Известия АН АрмССР (биол. науки), т. 19, 10, 1966.
4. Грати В. П., Синкевич З. А., Клещ Ф. И. Почвоведение, 10, 1965.
5. Качинский Н. А. Механический и микроагрегатный состав почвы. 1958.
6. Кочерина Е. И. Почвоведение, 12, 1954.
7. Петухов М. П. Почвоведение, 3, 1939.
8. Трофименко К. И., Кизяков Ю. Е. Почвоведение, 2, 1967.
9. Galstyan A. Sh., Tatevosian G. S., Avundjian Z. S. Trans. of 9th Inter. Congress of Soil Science, Soil Conference, v. 3, Serial 378, 1968.
10. Hofmann E. Z. Pflanzenernähr., Dueng., Bodenkunde, Bd 56, 68, 1952.
11. Hofmann G. Z. Pflanzenernähr., Dueng., Bodenkunde, Bd 85, 2, 1959.
12. Kiss I. Nature, v. 182, 4329, 1958.
13. Kiss S. Z. Pflanzenernähr., Dueng., Bodenkunde, Bd 81, 2, 1958.
14. McLaren A. D., Peterson G. H., Barshad I. Soil Sci. Amer. Proc., v. 22, 3, 1958.
15. Williams E. G. and Saunders W. M. Journal of Soil Science, v. 7, 1, 1956.