

УДК 631.445:631.465

ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ ФРАКЦИЙ ГУМУСОВЫХ КИСЛОТ ПОЧВ

С. А. АБРАМЯН, А. Ш. ГАЛСТЯН

Изучена активность амидаз, нуклеотидаз, фосфатазы, инвертазы и каталазы различных фракций гуминовых кислот и фульвокислот, выделенных из насыщенных и ненасыщенных оснований почв. Показано распределение внеклеточных ферментов при их иммобилизации в почве различными фракциями гумусовых кислот, а также негидролизруемыми коллоидами и остатком почвы.

Ключевые слова: почва, ферменты, гумусовые кислоты.

В настоящее время установлена способность почвы иммобилизовать внеклеточные ферменты, что приводит к стабилизации их структуры и сохранению в активном состоянии [6, 8, 9—11]. При этом основными носителями являются гумусовые вещества, которые связывают белковые молекулы ферментов своими кислотными и основными функциональными группами. Выявлено, что препараты гуминовых кислот (ГК) и фульвокислот (ФК) обладают сравнительно высокой активностью ферментов [1—3, 5]. До настоящего времени активность ферментов различных фракций гумусовых кислот не изучена. В связи с этим целью настоящей работы явилось изучение активности ферментов фракций гумусовых кислот в почве и выявление закономерностей их иммобилизации.

Материал и методика. Исследования проводили на следующих типах почв: луговая дерновая (А_д 0—11 см), среднесуглинистая, гумус 15,7%, рН водной суспензии 5,0, сумма обменных катионов 23,0 мэкв на 100 г почвы, степень насыщенности основаниями 61,7%; чернозем выщелоченный (А_д 0—14 см), тяжелосуглинистый, гумус 11,6%, рН 6,6, сумма обменных катионов 63,9 мэкв; орошаемая лугово-бурая (А_п 0—28 см), тяжелосуглинистая, гумус 2,5%, рН 8,1, сумма обменных катионов 29,5 мэкв. Для выделения различных фракций гумусовых кислот были взяты по две навески почвы. Из первой навески обработкой 0,1 н раствором гидроокиси натрия выделяли свободные и связанные с подвижными полуторными оксидами (R_2O_3) гуминовые кислоты и фульвокислоты (фракция 1). Вторую навеску подвергали декальцированию обработкой 0,1 н раствором серной кислоты. В кислотной вытяжке определяли свободные и связанные с подвижными R_2O_3 фульвокислоты (фракция 1а). Затем декальцированную почву обрабатывали 0,1 н раствором гидроокиси натрия с целью выделения наиболее характерной и генетически важной фракции гумусовых кислот, связанной в основном с кальцием (фракция 2). Остаток почвы после выделения фракции 2 гумусовых кислот заливали 0,02 н раствором гидроокиси натрия и нагревали на кипящей водяной бане в течение 6 ч для выделения гумусовых кислот, связанных с глинистыми минералами и устойчивыми R_2O_3 (фракция 3). При нагревании на водяной бане температура щелочной вытяжки не превышала 60°, поэтому тепловой инактивации ферментов не происходило.

Активность ферментов определяли в аликвотном объеме вытяжки различных фракций с учетом содержания препаратов гуминовых кислот и фульвокислот модифицированными нами методами [4], а также в негидролизруемых коллоидах и остатке почвы, выделенных методом получения чистых препаратов ГК и ФК [7]. Активность инвер-

тазы выражали в мг глюкозы на 1 г препарата, каталазы—см³ O₂ за мин на 1 г, амидаз—мг NH₃ на 1 г, нуклеотидаз—мг Р на 100 г препарата.

Результаты и обсуждение. Исследования показали, что первая и вторая фракции гуминовых кислот и фульвокислот обладают высокой активностью инвертазы и каталазы (табл. 1). В этих фракциях горно-

Таблица 1

Активность инвертазы и каталазы в различных фракциях ГК, ФК, негидролизуемых коллоидах и остатке почвы

Почва	Препарат	Инвертаза, мг глюкозы				Каталаза, см ³ O ₂			
		ф р а к ц и и							
		1а	1	2	3	1а	1	2	3
Горно-лу- говая дер- новая	ГК		45,6	30,4	6,2		58,2	22,5	6,0
	ФК	21,6	65,1	63,3	5,0	45,0	217,3	196,0	2,8
	негидролизуемые кол- лоиды		2,9	3,3	1,7		0,0	0,0	0,0
	остаток почвы		4,8	6,4	2,1		0,0	0,0	0,0
Чернозем выщелочен- ный	ГК		23,0	36,6	10,3		72,2	21,3	8,0
	ФК	4,1	8,4	12,2	5,0	44,0	216,3	57,1	3,7
	негидролизуемые кол- лоиды		2,5	5,3	2,0		0,2	0,3	0,0
	остаток почвы		2,0	1,8	1,5		0,2	0,0	0,0
Орошаемая лугово-бу- рая	ГК		10,1	26,2	5,1		30,7	16,7	10,0
	ФК	2,4	6,7	17,0	4,9	21,0	114,2	9,0	4,9
	негидролизуемые кол- лоиды		2,6	4,5	2,8		0,0	0,0	0,0
	остаток почвы		3,0	2,5	2,0		0,0	0,0	0,0

луговой почвы обнаруживается 82,8—92,3% активности инвертазы и 87,0—93,0—каталазы, черноземе—69,2—85,2 и 85,0—92,0, орошаемой лугово-бурой—76,4—87,5 и 75,8—82,5% соответственно. В третьей фракции гуминовых кислот и фульвокислот, связанной с глинистыми минералами и устойчивыми R₂O₃, обнаруживается незначительная активность инвертазы (3,2—16,2%) и каталазы (0,7—16,0%). Фракция 1а фульвокислот—свободных и связанных с подвижными R₂O₃—также обладает невысокой активностью этих ферментов, 7,7—13,9 и 12,1—14,0% соответственно. Это свидетельствует о том, что инвертаза и каталаза в почве иммобилизованы, в основном свободной, рыхлосвязанной с R₂O₃, а также связанной с кальцием фракциями гуминовых кислот и фульвокислот.

Негидролизуемые коллоиды и остаток почвы по сравнению с гуминовыми кислотами и фульвокислотами во всех изученных типах почв обладают низкой активностью инвертазы и каталазы. Это согласуется с полученными нами ранее данными и свидетельствует о том, что, основными носителями внеклеточных ферментов в почве являются гумусовые вещества.

Изучалась также активность амидаз—уреазы, глутаминазы и аспарагиназы—в различных фракциях ГК и ФК, негидролизуемых коллоидов и остатке почвы. Приведенные в табл. 2 данные показывают, что

Таблица 3

Активность фосфатазы и нуклеотидаз в различных фракциях ГК, ФК, негидролизующих коллондах и остатке почвы, мг Р

Почва	Препарат	Фосф атаза				АДФаза				АТФаза				АМФаза			
		ф р а к ц и и															
		1a	1	2	3	1a	1	2	3	1a	1	2	3	1a	1	2	3
Горно-лу- говая дер- новая	ГК	5,4	17,3	10,6	1,3	5,1	11,6	8,4	3,9	4,6	8,6	5,1	4,3	7,9	12,4	10,6	1,3
	ФК		20,3	9,6	6,4		20,3	10,4	3,4		19,7	8,6	2,4		42,1	9,5	1,3
	негидролизуемые коллоиды		0,3	0,3	0,0		0,3	0,3	0,0		0,0	0,0	0,0		1,3	0,0	0,0
	остаток почвы		0,4	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0
Чернозем выщело- ченный	ГК	2,8	28,2	23,8	5,3	1,8	13,5	11,8	0,0	1,7	19,9	6,6	3,9	1,2	24,4	6,6	1,3
	ФК		10,7	6,3	1,4		6,7	2,1	0,0		5,7	3,9	0,0		2,1	3,8	0,0
	негидролизуемые коллоиды		0,5	0,0	0,0		0,2	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0		0,3	0,3	0,0
	остаток почвы		0,6	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0
Орошаемая лугово--бу- рая	ГК	1,7	7,8	18,5	0,0	1,4	10,0	15,6	0,0	1,0	12,7	8,8	0,0	0,5	5,1	12,2	0,0
	ФК		4,7	6,3	0,0		5,3	3,9	0,0		5,5	0,8	0,0		1,1	1,9	0,0
	негидролизуемые коллоиды		0,5	0,4	0,0		0,6	0,6	0,0		0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0
	остаток почвы		0,4	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0

фракции ГК и ФК обладают значительной активностью амидаз. Во всех изученных типах почв высокая активность уреазы обнаруживается в свободной, связанной с подвижными R_2O_3 (1) и кальцием (2) фракциях гуминовых кислот и фульвокислот. В указанных фракциях горно-луговой дерновой почвы выявлено 68,9—82,5% активности уреазы, черноземе—65,2—86,1, а орошаемой лугово-бурой—56,9—83,7. Третья фракция гуминовых кислот и фульвокислот обладает сравнительно меньшей активностью уреазы (10,9—17,5%). Глутаминаза и аспарагиназа, так же как и уреазы, более активны в первой и второй фракциях ГК и ФК. Однако следует отметить, что третья фракция гуминовых и фульвокислот проявляет значительно высокую активность глутаминазы (23,4—46,5%). Это, по-видимому, обусловлено особенностями азотного режима почв, а также необходимостью сохранения определенной части ферментов в более прочной связи с глинистыми минералами и устойчивыми R_2O_3 . Активность аспарагиназы в указанных фракциях, особенно в горно-луговой почве, ниже (1,6—7,0%).

Опыты показали, что свободная, связанная с подвижными полутормозными окислами (1) и кальцием (2) фракции имеют высокую активность фосфатазы и нуклеотидазы—АТФазы, АДФазы и АМФазы (табл. 3). Фракция, связанная с глинистыми минералами и устойчивыми R_2O_3 , обладает низкой активностью указанных ферментов. В черноземе эта фракция не обладает активностью АТФазы, а в орошаемой лугово-бурой почве—фосфатазы, АТФазы, АДФазы и АМФазы. Высокая активность фосфатазы и нуклеотидазы в первой и второй фракциях гуминовых и фульвокислот, очевидно, обусловлена тем, что значительная часть фосфора в почве находится в органической форме и сосредоточена в этих фракциях. Поэтому для регуляции фосфорного питания иммобилизация и накопление ферментов фосфорного режима происходят в первой и второй фракциях гумусовых кислот. Этим же объясняется иммобилизация инвертазы, каталазы и амидазы в основном в первой и второй фракциях гуминовых кислот и фульвокислот.

Следует отметить, что не всегда ферментативная активность различных фракций гуминовых и фульвокислот соответствует процентному содержанию углерода в них. В особенности это касается первой фракции гуминовых кислот и фульвокислот, где обнаруживается высокая активность ферментов. Это несоответствие, по-видимому, обусловлено тем, что часть ферментов, лабильно связанных с гумусовыми веществами, переходит в первую фракцию гумусовых кислот, кроме того, происходит инактивация в процессе декальцирования почвы, проводимого с целью выделения второй фракции гуминовых кислот и фульвокислот.

Таким образом, выявлены закономерности иммобилизации внеклеточных ферментов различными фракциями гуминовых кислот и фульвокислот в почве. Показано, что инвертаза, каталаза, фосфатаза, нуклеотидазы и амидазы в почве иммобилизуются в основном первой и второй фракциями гуминовых кислот и фульвокислот.

ՀՈՂԻ ՀՈՒՄՈՒՍԱԹՔՈՒՆԵՐԻ ՏԱՐԵՐ ՖԵՐՄԵՆՏԱՆԵՐԻ ՖԵՐՄԵՆՏԱՑԻՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ

Ս. Ա. ԱՐԲՆԱՄՅԱՆ, Ա. Շ. ԳԱԼՍՏՅԱՆ

Ուսումնասիրված է հիմքերով հագեցած և չհագեցած հողերից անջատվող հումինաթթուների և ֆուլվաթթուների տարբեր ֆրակցիաների ամրագրված նուկլեոտիդազների, ֆոսֆատազայի, ինվերտազայի և կատալազայի ակտիվությունը: Ցույց են տրված հողում արտաբջջային ֆերմենտների տարաբաշխման օրինաչափությունները հումուսաթթուների տարբեր ֆրակցիաների, չհիդրոլիզող կոլոիդների և հողի մնացորդի միջև: Ապացուցված է, որ հումինաթթուների ֆուլվաթթուների առաջին և երկրորդ ֆրակցիաներ հանդիսանում են ինտերկլիզացված ֆերմենտների հիմնական կրողները:

FERMENTATIVE ACTIVITY OF VARIOUS FRACTIONS OF SOIL HUMOUS ACIDS

S. A. ABRAHAMIAN, A. Sh. GALSTIAN

The activity of amidase, nucleotidase, phosphatase, invertase and catalase of various fractions of humous acids and fulvoacids, exuded from the saturated and unsaturated bases of soil has been studied. The distribution of extra-cellular enzymes during their immobilization by various fractions of humous acids in the soil has been shown, as well as by the non-hydrolyzed colloids and residue of soil.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Абрамян С. А., Галстян А. Ш. ДАН АрмССР, 73, 5, 1981.
2. Абрамян С. А., Галстян А. Ш. Докл. ВАСХНИЛ, 5, 1982.
3. Абрамян С. А., Галстян А. Ш. ДАН АрмССР, 77, 5, 1983.
4. Абрамян С. А., Галстян А. Ш. Биолог. ж. Армении, 36, 8, 1983.
5. Абрамян С. А., Галстян А. Ш. Докл. ВАСХНИЛ, 4, 1984.
6. Галстян А. Ш. Ферментативная активность почв Армении. Ереван, 1974.
7. Орлов Д. С., Гришина Л. А. Практикум по химии гумуса, М., 1981.
8. Щербакова Т. А., Максимова В. П., Галушко Н. А. Докл. АН БССР, 14, 7, 1970.
9. Briggs M. Segal. Life Sci., 2, 1, 1963.
10. Burns R. G., El-sayed M. H., McLaren A. D. Soil Biol. Biochem., 4, 9, 1972.
11. Ceccanti B., Nannipieri P., Cervelli S. Soil Biol. Biochem., 10, 1978.