

УДК 631.465

## ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ГУМУСОВЫХ ПРЕПАРАТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПОЧВЫ РАЗЛИЧНЫМИ ВЫТЕСНИТЕЛЯМИ

С. А. АБРАМЯН, А. Ш. ГАЛСТЯН

Изучена активность ферментов в гумусовых препаратах, негидролизуемых коллоидах и остатке почвы, выделенных из почвы с помощью моноэтаноламина, диметилформамида, гидроокиси натрия и пирофосфата натрия. Показано, что моноэтаноламин является наиболее активным и мягким вытеснителем ферментных комплексов из почвы.

*Ключевые слова:* гумусовые препараты, вытеснители, ферментативная активность.

В настоящее время в результате разносторонних энзимологических исследований установлена способность почвы иммобилизовывать и сохранять в активном состоянии ферменты, продуцируемые растениями, микрофлорой и почвенной фауной [4, 5, 11]. Носителями ферментов в почве являются глинистые минералы и гумусовые вещества, которые связывают их своими функциональными группами—активными кислотными и основными центрами. Иммобилизация внеклеточных ферментов в почве стабилизирует их структуру, в результате чего они приобретают высокую устойчивость к неблагоприятным условиям и разлагающему действию микроорганизмов. Способность почвы адсорбировать ферменты проявляется уже на ранних стадиях процесса почвообразования. Это вызвано тем, что белковые молекулы ферментов лабильны и могут быть использованы микроорганизмами в качестве источника энергии. Между тем их сохранение в почве в качестве специфического биохимического регулятора процесса гумусообразования, питания растений и сохранения экологического равновесия крайне необходимо. Очевидно, в почве сохраняются и накапливаются не все ферменты, выделяемые их продуцентами, а лишь те, которые иммобилизуются на носителях. Следовательно, наличие носителей является фактором, регулирующим накопление стабилизированных ферментов в почве. Для каждого типа почвы существует определенный предел фиксации, обусловленный количеством носителей—гумусовых веществ и глинистых минералов.

В настоящее время имеются работы по выделению из почв белоксо-держащих фракций, обладающих ферментативной активностью [9, 10, 12—14]. При этом экстрагентами являлись различные буферные растворы с нейтральным и слабощелочным рН, а также растворы пирофосфата натрия и гидроокиси натрия. Высказывались предположения, согласно которым в почве присутствуют ионносвязанные ферменты, выделяемые растворами солей или буферов, а также ковалентно связанные с гуминовыми кислотами и экстрагируемые вместе с ними [12].

Данных о ферментативной активности гумусовых препаратов почв в доступной нам специальной литературе почти нет. Шурухиной и Моховой показано, что гуминовые кислоты способны разлагать Са-глициерофосфат и мочевины [8]. Наши исследования показали, что гуминовые кислоты и фульвокислоты обладают сравнительно высокой активностью инвертазы, фосфатазы, амидазы, каталазы, дегидрогеназы, нуклеотидазы. Экспериментально установлено также, что гумусовые кислоты являются основными носителями внеклеточных ферментов почв [3].

Для выделения из почв гумусовых препаратов обычно используют гидроокись натрия и пирофосфат натрия. Однако эти экстрагенты являются жесткими и инактивируют ферменты в процессе получения гумусовых препаратов. Исходя из этого, цель настоящей работы состояла в подборе более мягкого экстрагента, меньше инактивирующего ферменты.

*Материал и методика.* Исследования проводили на выщелоченном тяжелосуглинистом черноземе ( $A_{20-14}$  см), с содержанием гумуса 11,6%, pH водной суспензии 6,6 суммой обменных катионов 63,9 мэкв на 100 г почвы. С целью выявления основных носителей при иммобилизации внеклеточных ферментов почвой были выделены препараты гуминовых кислот, фульвокислот, негидролизуемые коллоиды и остаток почвы, которые представляют в основном ее минеральную часть. Выделение гумусовых препаратов проводили по принятой методике [6, 7]. В качестве экстрагентов использовали 0,1 н растворы гидроокиси натрия (pH 12,9), пирофосфата натрия (pH 13,0), диметилформамида (pH 6,9) и 0,2 М раствор моноэтаноламина (pH 11,3). Ферментативную активность гумусовых препаратов определяли разработанными нами методами [1—3].

*Результаты и обсуждение.* Изучение ферментативной активности полученных препаратов показало, что гуминовые и фульвокислоты, выделенные с помощью моноэтаноламина, обладают большей активностью гидролитических и окислительно-восстановительных ферментов, чем при выделении их с помощью гидроокиси натрия и пирофосфата натрия (табл. 1, 2). Активность ферментов в негидролизуемых коллоидах и остатке почвы значительно ниже. Это свидетельствует о том, что основными носителями при иммобилизации внеклеточных ферментов почв являются органические коллоиды—гуминовые и фульвокислоты.

При выделении препаратов гуминовых и фульвокислот с помощью пирофосфата натрия негидролизуемые коллоиды и остаток почвы обладают сравнительно высокой активностью ферментов, в частности, гидролитических—инвертазы, уреазы и фосфатазы. Каталаза и дегидрогеназы, по-видимому, связаны с более лабильной фракцией гумусовых кислот, которая выделяется при однократной обработке почвы пирофосфатом натрия. Поэтому их активность в основном обнаруживается в препаратах гуминовых и фульвокислот.

Сравнительно высокая активность гидролаз в негидролизуемых коллоидах и остатке почвы обусловлена тем, что пирофосфат натрия при однократной обработке почвы выделяет гуминовые и фульвокислоты не полностью. Очевидно, в этом случае выделяются лишь наиболее подвижные гумусовые кислоты, лабильно связанные с минеральной частью почвы.

Таблица 1

Активность гидролитических ферментов гумусовых препаратов, негидролизующих коллоидов и остатка чернозема, выделенных различными экстрагентами

Экстрагент	Препарат	Инвертаза			Уреаза			Фосфатаза		
		$M \pm m$	V	P	$M \pm m$	V	P	$M \pm m$	V	P
Гидроокись натрия	Гуминовые кислоты	50,7±0,9	3,9	1,8	41,1±0,7	3,8	1,7	35,8±0,9	5,2	2,5
	Фульвокислоты	26,3±0,7	6,0	2,7	30,7±1,3	9,1	4,2	8,8±0,5	12,7	5,7
	Негидролизующие коллоиды	10,7±0,9	19,6	8,4	4,7±0,4	18,1	8,5	1,2±0,1	20,8	8,3
	Негидролизующий остаток	3,2±0,4	25,0	12,5	5,6±0,5	17,8	8,9	0,3±0,05	33,3	16,6
Моноэтанол-амин	Гуминовые кислоты	75,7±1,2	3,4	1,6	50,3±1,2	5,4	2,4	51,1±1,0	4,5	1,9
	Фульвокислоты	35,3±1,2	7,2	3,4	48,6±0,7	3,0	1,4	10,9±0,6	12,4	5,5
	Негидролизующие коллоиды	6,6±0,3	11,4	4,5	4,8±0,4	17,3	8,3	0,9±0,06	14,4	6,6
	Негидролизующий остаток	5,3±0,4	17,9	7,5	5,2±0,3	11,5	5,8	0,4±0,08	45,0	20,0
Пирофосфат натрия	Гуминовые кислоты	35,7±1,0	6,1	2,8	30,2±0,8	6,1	2,6	29,1±0,8	6,3	2,7
	Фульвокислоты	20,5±0,6	6,3	2,9	39,5±1,0	5,5	2,5	16,5±0,7	9,2	4,2
	Негидролизующие коллоиды	25,3±0,6	5,2	2,4	15,6±0,5	7,1	3,2	17,0±0,4	4,9	2,4
	Негидролизующий остаток	9,9±0,7	17,7	7,8	20,1±0,7	7,4	3,5	7,9±0,45	12,4	5,7

Активность окислительно-восстановительных ферментов гумусовых препаратов, негидролизующих коллоидов и остатка чернозема, выделенных различными экстрагентами

Экстрагент	Препарат	Каталаза			Дегидрогеназы		
		M±m	V	P	M±m	V	P
Гидроокись натрия	Гуминовые кислоты	60,4±1,0	3,7	1,7	22,7±1,0	9,7	4,5
	Фульвокислоты	71,1±0,7	2,1	1,0	19,6±1,8	9,3	4,5
	Негидролизующие коллоиды	0,4±0,05	25,0	12,5	5,2±0,2	8,7	3,3
	Негидролизующий остаток	0,16±0,03	37,5	18,8	1,9±0,1	15,8	5,3
Моноэтаноламин	Гуминовые кислоты	61,7±1,0	3,5	1,6	28,2±1,3	9,8	4,6
	Фульвокислоты	86,0±1,3	3,4	1,5	19,4±0,7	7,8	3,6
	Негидролизующие коллоиды	0,3±0,03	25,0	10,0	4,9±0,4	15,9	8,5
	Негидролизующий остаток	0,1±0,02	50,0	20,0	0,0		
Пирофосфат натрия	Гуминовые кислоты	43,2±1,0	4,9	2,3	17,8±0,4	5,3	2,5
	Фульвокислоты	62,9±1,0	3,4	1,6	10,0±0,7	14,8	7,0
	Негидролизующие коллоиды	1,5±0,2	25,3	13,3	8,3±0,5	13,9	6,0
	Негидролизующий остаток	1,5±0,14	18,8	8,8	9,7±0,8	17,5	8,2

Следует отметить, что моноэтаноламин выделяет больше препаратов гумусовых веществ, чем гидроокись натрия и пирофосфат натрия. Так, из чернозема (200 г) этаноламин выделил 13,0 г гуминовой кислоты, гидроокись натрия—7,6, а пирофосфат натрия—3,0 г. Большая извлекающая способность моноэтаноламина по сравнению с гидроокисью натрия и пирофосфатом натрия объясняется тем, что при взаимодействии с почвой он не вступает в обменные реакции с почвенным поглощающим комплексом, и его рН, 11,3, сохраняется в процессе выделения гумусовых кислот. Гидроокись натрия и пирофосфат натрия вступают в обменные реакции с почвой, поэтому значение рН их растворов изменяется. Сдвиг при этом составляет 3—4 единицы, и выделение гумусовых препаратов фактически происходит при рН 9,5—10,0.

Опыты показали, что диметилформамид не выделяет из почв гумусовые препараты. Его раствор имеет нейтральный рН и нельзя использовать для экстрагирования органических веществ из почвы.

Таким образом, установлено, что моноэтаноламин является более активным и мягким экстрагентом гумусовых препаратов из почвы. Поэтому при их выделении из почв с целью изучения ферментативной активности рекомендуется использовать 0,2 М раствор моноэтаноламина.

Институт почвоведения и агрохимии  
МХС Армянской ССР

Поступило 2.IV 1984 г.

ՀՈՂԻՑ ՏԱՐՔԵՐ ԱՐՏԱՄՂԻԶՆԵՐՈՎ ԱՆՋԱՏՎԱԾ ՀՈՒՄՈՒՍԱՅԻՆ  
ՊԱՏՐԱՍՏՈՒԿՆԵՐԻ ՖԵՐՄԵՆՏԱՅԻՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ

Ս. Ա. ԱՐԱՋԱՄՅԱՆ, Ա. Շ. ԳԱԼՏՅԱՆ

Ուսումնասիրված է սևահողերից անջատված հումինաթթուների և ֆուլ-վոթթուների պատրաստուկների, չհիդրոլիզվող կոլոիդների և չհիդրոլիզվող հողի մնացորդի ֆերմենտային ակտիվությունը: Հողից հումուսային պատրաստուկների անջատման համար օգտագործվել են տարբեր արտամղիչներ՝ մոնոէթանոլամին, դիմեթիլֆորմամիդ, նատրիումի հիդրօքսիդ և նատրիումի պիրոֆոսֆատ: Պարզված է, որ մոնոէթանոլամինի 0,2 Մ լուծույթը հանդիսանում է հողից հումուսային պատրաստուկների անջատման առավել ակտիվ և մեղմ արտամղիչ: Այն կարելի է լայնորեն կիրառել փորձարարական գործում:

ENZYMATIC ACTIVITY OF HUMIC PREPARATIONS  
EXUDED FROM SOIL BY DIFFERENT SUPPLANTERS

S. A. ABRAHAMIAN, A. Sh. GALSTIAN

The activity of enzymes in humic preparations, in non-hydrolyzing colloids and residua of soil, exuded from chernozem with the help of monoethanolamine, dimethylformamide, natriumhydroxide and pyrophosphate has been studied. It has been shown that monoethanolamine is one of the most active and soft supplanters of enzymatic complexes from 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. Доклады ВАСХНИЛ, 5, 1982.
3. Абрамян С. А., Галстян А. Ш. Биолог. ж. Армения, 36, 8, 1983.
4. Галстян А. Ш. Ферментативная активность почв Армении, Ереван, 1974.
5. Звягинцев Д. Г., Алиев Р. А. Вестник МГУ, сер. биол., почвовед., 3, 1973.
6. Кононова М. М. Органическое вещество почвы. М., 1963.
7. Орлов Д. С., Гришина Л. А. Практикум по химии гумуса. М., 1981.
8. Шурухина С. И., Мохова С. В. Вестник Ленинградского ун-та, 1977.
9. Щербакова Т. А., Максимова В. П., Галушко Н. А. Докл. АН БССР, 14, 7, 1970.
10. Bremner Y. M., Zantua M. Y. Soil Biol. and Biochem., 7, 6, 1975.
11. Burns R. G., El-Sayed M. H., McLaren A. D. Soil Biol. Biochem., 4, 1972.
12. Ladd Y. N. Soil Biol. and Biochem., 4, 2, 1972.
13. Lloyd A. B. Soil Biol. and Biochem., 7, 6, 1975.
14. Martin-Smith M. Nature, 197, London, 1963.

