

КИНЕТИЧЕСКИЕ И ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ
ИНВЕРТАЗЫ В ПОЧВАХ АРАРАТСКОЙ РАВНИНЫ

С. М. АРАКСЯН, С. А. АБРАМЯН, А. Ш. ГАЛСТЯН, В. Г. АГАБАБОВА

Ереванский ордена «Знак почета» зоотехническо-ветеринарный институт,
Институт почвоведения и агрохимии Госагропрома Армянской ССР

Определены кинетические и термодинамические показатели — константа Михаэлиса K_m , максимальная скорость V_{max} , энергия активации E_a , теплота активации ΔH и температурный коэффициент Q_{10} инвертазы в орошаемых лугово-бурых почвах и мелиорированных солонцах-солончаках. Установлено, что по перечисленным показателям мелиорированные солончи-солончаки приближаются к зональным орошаемым лугово-бурым почвам.

Որոշվել է կինետիկական և թերմոդինամիկական ցուցանիշները — հոգերում որոշված էն իմպուլսային կոնստանտան և թերմոդինամիկական ցուցանիշները՝ Միխաէլիսի հաստատունը (K_m), առավելագույն արագությունը (V_{max}), ակտիվացման էներգիան (E_a), ակտիվացման ջերմությունը (ΔH) և ջերմաստիճանային գործակիցը (Q_{10}):

Բացահայտված է, որ բոլոր ցուցանիշները մելիորացված ագրո-սոլիային հողերը նմանվում են զոնալ որոշվող մարգագետնա-գորշ հողերին:

Kinetic and thermodynamic indices — Michaelis constant (K_m), the highest speed (V_{max}), energy activation (E_a), heat activation (ΔH), temperature coefficient (Q_{10}) of invertase in irrigated brown-meadow soil and meliorized solonchak-solonchaks are determined. It is established that by the above mentioned indices meliorized solonchak-solonchaks approach irrigated brown-meadow soils.

Ключевые слова: почва, инвертаза, энергия активации.

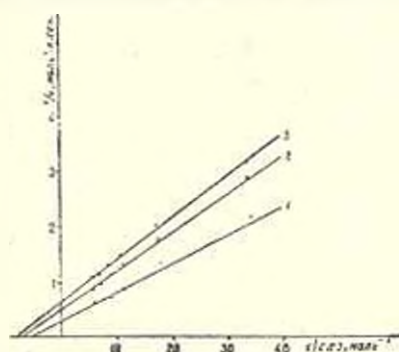
Изучение кинетических и термодинамических показателей почвенных ферментов имеет важное значение для выявления механизма их действия, а также интенсивности и направленности биохимических процессов, лежащих в основе формирования эффективного плодородия почвы [4, 8, 10]. Исследования в этом направлении малочисленны. Имеются единичные работы, посвященные изучению кинетики действия инвертазы в различных генетических типах почв [2, 6, 7, 9]. В указанных работах определены величины основных кинетических констант Михаэлиса-Ментен — K_m и V_{max} и рассчитаны термодинамические показатели. Сделаны попытки установить происхождение и состояние внеклеточных ферментов в почве по указанным показателям.

С практической точки зрения большой интерес представляет изучение кинетики действия ферментов в зависимости от различных естественных и антропогенных факторов почвообразования. В настоящей работе ставилась цель определить и сопоставить кинетические и термодинамические показатели инвертазы в орошаемых лугово-бурых почвах, а также в различной степени мелиорированных солонцах-солончаках Араратской равнины, что позволит выявить возможность использования указанных показателей при изучении мелиоративного состояния почв и прогнозировании направления почвообразовательного процесса в них.

Материал и методика. Исследования проводили на орошаемой лугово-бурой почве (0–30 см)—гумус 2,1%, pH 8,1, сумма обменных катионов 33,1 мэкв из 100 г почвы, сумма солей 0,13%; мелиорированном солонце-солончаке (0–25 см)—гумус 1,33%, pH 7,6, сумма обменных катионов 29,5 мэкв, сумма солей 0,25%, немелиорированном солонце-солончаке (0–25 см)—гумус 0,70%, pH 9,0, сумма обменных катионов 23,2 мэкв, сумма солей 0,6%. Активность инвертазы определяли микрометодом [5] в течение 1–6 ч при различных температурах—10, 20, 30, 40, 50, 60°. Для этой цели подготовленную почву с субстратом предварительно инкубировали при указанных температурах в течение 1–6 часов. Исходя из принципа нахождения начальных скоростей образования продукта реакции (v_0) определение активности инвертазы проводили при различных концентрациях субстрата—0,0292, 0,0585, 0,0877, 0,117, 0,146, 0,175 моль/л. Полученные данные (v_0) использовали для графического расчета K_m и V_{max} с применением линейной трансформации уравнения Михаэлиса-Ментен, предложенной Лайнуивером-Берком [4, 8]. Температурный коэффициент рассчитывали по формуле Вант-Гоффа: $Q_{10} = k(T+10)/k(T)$, где $k(T)$, константа скорости реакции при температуре T . Q_{10} для стадии образования и распада фермент-субстратного комплекса (ФСК) вычисляли по величинам V_{max} и K_m при различных температурах T_1 и T_2 . Энергию активации (E_a) рассчитывали по модифицированному эмпирическому уравнению Аррениуса $E_a = 0,23 \cdot R \cdot \lg Q_{10}$, где R —универсальная газовая постоянная 1,987 кал/моль·град, теплоту активации ΔH по формуле $\Delta H = E_a - RT$, где $T = (T_1 + T_2)/2$ [4, 7, 8].

Полученные данные о гидролизе сахарозы при различных концентрациях субстрата и времени его взаимодействия с почвой использовали для построения кинетических кривых. Проводили касательные к начальным участкам полученных кинетических кривых и по тангенсу угла их наклона определяли начальные скорости инвертазной реакции.

Результаты и обсуждение. Исследования показали, что механизм действия инвертазы в почвах Араратской равнины подчиняется уравнению Михаэлиса-Ментен. Об этом свидетельствует линейность зависимости между скоростью реакции и концентрацией субстрата в координатах уравнения Лайнуивера-Берка $1/V$, $1/S$ (рис.). Полученные пря-



Зависимость начальной скорости инвертазной реакции от концентрации субстрата в координатах уравнения Лайнуивера-Берка: 1—орощаемая лугово-бурая, 2—мелиорированный солонец-солончак, 3—немелиорированный солонец-солончак.

мые пересекают ось $1/V$ в точках $1/V_{max}$, а ось $1/S$ —в точке $1/K_m$. Графически были рассчитаны величины K_m и V_{max} в орошаемой лугово-бурой почве и мелиорированных солонцах-солончаках (табл. 1). Полученные данные показывают, что в процессе мелиорации происходит возрастание основных кинетических констант— K_m и V_{max} в интервале температур 10–60°. Наименьшие значения K_m и V_{max} обнаруживают-

Таблица 1. Значение K_m и V_{max} в почвах Араратской равнины при различных температурах

Температура, °C	Орошаемая лугово-бурая				Мелиорированный солонец-солончак				Недомелиорированный солонец-солончак			
	V_{max}	$\frac{M}{\text{д-сек}}$	K_m	$\frac{M}{\text{д}}$	V_{max}	$\frac{M}{\text{д-сек}}$	K_m	$\frac{M}{\text{д}}$	V_{max}	$\frac{M}{\text{д-сек}}$	K_m	$\frac{M}{\text{д}}$
10	1.25		0.25		0.95		0.29		0.37		0.10	
20	2.50		0.22		1.18		0.25		0.75		0.089	
30	3.33		0.17		2.00		0.14		1.54		0.074	
40	4.00		0.15		2.50		0.13		2.22		0.069	
50	5.00		0.13		3.33		0.11		3.33		0.058	
60	6.67		0.10		4.55		0.10		4.00		0.050	

ся в недомелиорированных солонцах-солончаках, что свидетельствует о высокой прочности фермент-субстратного комплекса и меньшей вероятности протекания стадии его распада, показателем которой является V_{max} . Поэтому недомелиорированные солонцы-солончаки обладают низкой активностью инвертазы—3—4 мг глюкозы. Следует отметить, что содовые солонцы-солончаки не обладают активностью инвертазы. Это обусловлено повышенной щелочной реакцией, значительным содержанием солей и высокой насыщенностью почвенного поглощающего комплекса натрием, блокирующим активные кислотные центры, иммобилизующие белковые молекулы ферментов [1, 3].

В мелиорированных солонцах-солончаках возрастают величины K_m и V_{max} (табл. 1), что объясняется созданными благоприятными условиями для иммобилизации и действия ферментов в результате снижения рН до 8,0, содержания солей—0,2% и поглощенного натрия—2 мэкв. Активность инвертазы в мелиорированных солонцах-солончаках возрастает и составляет 11,8 мг глюкозы. Опыты показали, что в среднем за год освоения в пахотном слое этой почвы активность иммобилизованной инвертазы возрастает на 1 мг глюкозы [3].

В орошаемой лугово-бурой почве и мелиорированном солонце-солончаке величины K_m при всех изученных температурах отличаются незначительно, что свидетельствует о близком механизме первой стадии ферментативной реакции—образования фермент-субстратного комплекса. Значение V_{max} в орошаемой лугово-бурой почве выше, чем в мелиорированном солонце-солончаке, поэтому в ней интенсивнее протекает стадия распада фермент-субстратного комплекса. Это является причиной более высокой активности инвертазы в орошаемой лугово-бурой почве—23,0 мг глюкозы.

Исследования показали, что термодинамические показатели инвертазы—энергия активации, теплота активации и температурный коэффициент—изменяются в процессе мелиорации солонцов-солончаков (табл. 2).

Приведенные средние значения термодинамических показателей показывают, что в мелиорированных солонцах-солончаках, по сравнению

Таблица 2. Средние значения энергии активации, теплоты активации и температурного коэффициента инвертазы в почвах Араратской равнины

Почва	кал/моль		Q_{10}
	E_a	ΔH	
Орошаемая лугово-бурая	7677	7065	1.56
Мелиорированный солонец-солончак	7837	7225	1.58
Недомелиорированный солонец-солончак	9916	9304	1.77

с недомелиорированными, происходит снижение энергии активации, теплоты активации и температурного коэффициента инвертазы. Это свидетельствует о более благоприятных условиях для протекания инвертазной реакции в мелиорированных солонцах-солончаках, при которой преодолевается меньший энергетический барьер. Мелиорированные солонцы-солончаки по своим термодинамическим показателям приближаются к зональным орошаемым лугово-бурым почвам. Следовательно, эти показатели отражают мелиорированное состояние почв.

Необходимо отметить, что по уровню активности инвертазы мелиорированные солонцы-солончаки со временем приближаются к орошаемым лугово-бурым почвам [1, 3]. Очевидно, этим объясняются близкие средние значения энергии активации, теплоты активации и температурного коэффициента в мелиорированных солонцах-солончаках и орошаемых лугово-бурых почвах.

Таким образом, установлено, что в процессе мелиорации содовых солонцов-солончаков Араратской равнины происходит закономерное возрастание кинетических (K_m и V_{max}) и уменьшение термодинамических (E_a , ΔH , Q_{10}) показателей инвертазы. По их величине мелиорированные солонцы-солончаки приближаются к зональным орошаемым лугово-бурым почвам. Следовательно, кинетические и термодинамические показатели инвертазы отражают мелиоративное состояние солонцов-солончаков.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абрамян С. А., Оганисян А. С., Баграмян А. Н., Галстян А. Ш. Биолог. ж. Армении, 31, 10, 1978.
2. Алиев С. А., Гаджиев Д. А., Михайлов Ф. Д. Почвоведение, 11, 1984.
3. Баграмян А. Н., Абрамян С. А., Галстян А. Ш. Докл. АН АрмССР, 68, 2, 1979.
4. Березин Н. В., Варфоломеев С. Д. Биокинетика, М., 1979.
5. Ожегов К. С., Питрюк А. П., Абрамян С. А., Галстян А. Ш. Экспертная практика, 19, 1982.
6. Хабиров И. К. Почвоведение, 10, 1983.
7. Хазиев Ф. Х. Системно-экологический анализ ферментативной активности почв. М., 1982.
8. Яковлев В. А. Кинетика ферментативного катализа, М., 1965.
9. Röss D. J. N. L. 1. Sci., 26, 3, 1983.
10. Tabatabai M. A., Bremner J. M. Soil Biol. and Biochem., 3, 4, 1971.

Поступило 9 X 1987 г.