

ЛИТЕРАТУРА

1. Дживанян К. А. Биолог. журн. Армении, 41, 3, 248-252, 1988.
2. Дживанян К.А., Мхитарян А.А. Уч. зап. ЕГУ, 1(170), 151-153, 1989.
3. Шкурулий В.А., Малыгина А.Е., Короленко Т.А. Архив анотом., гистол. и эмбриологии, 84, 5, 56-63, 1983.
4. Юдаев Н.А., Афиногенова О.А. Вестн. АМН СССР, 2, 3-9, 1983.
5. Bakar Alfred L. Acta Med. Scand., 218, 703, 201-208, 1985.
6. Bucher N.L.R., Schrock Theodore R., Moolten Frederick L.J. Hopkins Med. J., 125, 5, 250-257, 1969.
7. Butulescu Joana. Rev. roum. physiol., 9, 1, 75-85, 1972.
8. Chizari Eugenia, Parteni Lucia, Butulescu Joana. Rev. roum. physiol., 9, 6 513-518, 1972.
9. Koga Matuyosi, Hasegawa Kauru. Dokkyo J. Med. sci., 4, 2, 135-138, 1977.
10. Molina Trigueros L.M., De Diego Carmona J. A., Del Canizo Lopes J.f., Ramos Y., Fernandes Represa Y.A. Cir. esp., 35, 2, 69-74, 1981.
11. Ozawa K., Yamada T., Ukikusa M., Ngala K., Yda T., Nakase A., Tobe T.J. Surg. Res., 31, 1, 38-45, 1981.

Получено 19. III. 1996

Биолог. журн. Армении, 3-4 (49), 1996

УДК 631.465:541.127

КИНЕТИКА ГИДРОЛИТИЧЕСКОГО РАСЩЕПЛЕНИЯ Na-β-ГЛИЦЕРОФОСФАТА В ОБЫКНОВЕННОМ ЧЕРНОЗЕМЕ

М.Г. ГЕВОРКЯН, В.Т. ВАРГАНЯН, Б.П. СИМОНЯН

Ереванский государственный университет, кафедра физической и коллоидной химии, 375049.

Институт почвоведения и агрохимии МСХ РА, 375085, Ереван

Установлено, что кинетика гидролиза Na-β-глицерофосфата в неэродированном и среднеэродированном черноземах подчиняется механизму субстратного ингибирования. Получены кинетико-термодинамические параметры изучаемой реакции.

Հաստատվել է, որ երոզիայի չենթարկված և միջին չափով երոզիայի ենթարկված սևահողերում Na-β-գլիցերոֆոսֆատի հիդրոլիզի կինետիկան ենթարկվում է սուբստրատային արգելակման մեխանիզմին: Ստացվել են ուսումնասիրվող ռեակցիայի կինետիկա-թերմոդինամիկական չափանիշները:

The kinetics of Na-β-glycerophosphate hydrolysis in non-eroded and middle-eroded black soils (czernozyoms) is submitted to the mechanism of substrate inhibition. The kinetic and thermodynamic parameters of studied reaction have been revealed.

Чернозем - Na-β-глицерофосфат - кинетика расщепления

Для определения фосфатазной активности почв предложен ряд методов [2, 5, 7], в которых в качестве субстрата применяются различные по строению фосфаты спиртов и фенолов. При этом фосфатазная активность почвы определяется по степени протекания реакции гидролитического расщепления органофосфата за определенное время взаимодействия субстрата с почвой с образованием фосфат - иона и соответствующего органического компонента.

В зависимости от структуры субстрата мера протекания реакции устанавливается по

концентрации в вытяжке из реакционной суспензии либо органического продукта (п-нитрофенола, фенолфталейна), либо ортофосфата. В данной работе нами изучена кинетика гидролитического расщепления почвой Na-β-глицерофосфата по концентрации образовавшегося во времени фосфат-иона.

Материал и методика. Исследования проводили на обыкновенном черноземе Сптакского района и его эродированных разновидностях. Фосфатазную активность определяли колориметрическим измерением в реакционных суспензиях после 60 мин взаимодействия субстрата с почвой по концентрации отщепляющегося ортофосфата по методу Труога-Мейера [3]. К навеске почвы (1 г), помещенной в термостат ($t=30^{\circ}\text{C}$), добавляли 3 мл раствора субстрата соответствующей концентрации. Через 60 мин после начала реакции приливали 50 мл буферной смеси Труога, встряхивали на ротаторе 30 мин для экстрагирования фосфорной кислоты, фильтровали и в фильтрате колориметрически определяли фосфор.

Результаты и обсуждение. Исследования показали, что сильноэродированные черноземы обладают очень низкой фосфатазной активностью. Например, при варьировании концентрации субстрата от $5 \cdot 10^{-3}$ до 0,2 М фосфатазная активность в этой почве за час взаимодействия субстрата с почвой практически не выявляется. Поэтому изучение кинетики действия фосфатазы проведено на образцах неэродированного и среднеэродированного черноземов.

Ранее было установлено, что действие щелочной фосфатазы в почве [4, 6], как и в гомогенных водных растворах [1], подчиняется механизму субстратного ингибирования. При этом в обыкновенном черноземе при использовании в качестве субстратов п-нитрофенилфосфата и фенолфталейнфосфата натрия образуется кинетически неактивный комплекс ES_2 , и скорость фосфатазной реакции в зависимости от концентрации субстрата проходит через максимум, причем значения $[S]_{\text{opt}}$ соответственно равны: $3,3 \cdot 10^{-2}$ М (1 г почвы на 3 мл водной фазы) и $1,6 \cdot 10^{-2}$ М (0,5 г почвы на 3 мл водной фазы).

На рис. 1 представлена зависимость значения оптической плотности реакционных смесей при $t=60$ мин (т. е. относительной скорости ферментативной реакции) от концентрации субстрата в полулогарифмических координатах в неэродированном и среднеэродированном черноземах.

В обеих разновидностях почв активность фосфатазы по мере увеличения концентрации субстрата вначале повышается, а затем, по достижении оптимального значения, снижается, т. е. в обеих разновидностях почв выполняется механизм субстратного ингибирования исследуемой реакции. Симметричность обеих кривых относительно $[S]_{\text{opt}}$ свидетельствует о том, что ингибирование реакции обусловлено образованием неактивного комплекса ES_2 .

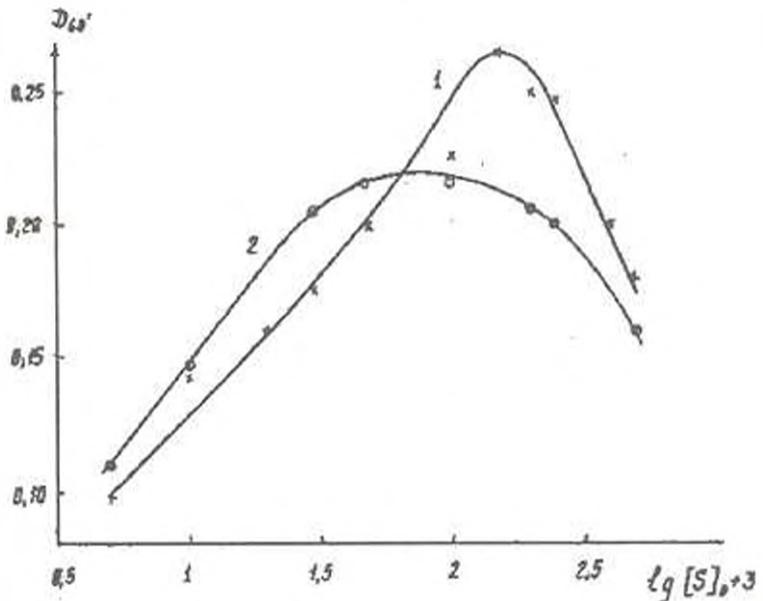
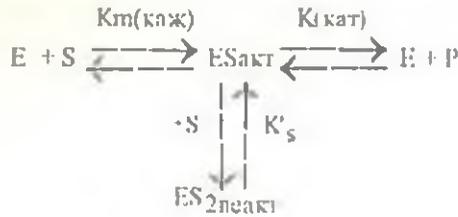


Рис. 1. Зависимость значения оптической плотности реакционных смесей при 60-минутном взаимодействии субстрата с почвой от $\lg[S]$: 1-в неэродированном, 2-в среднеэродированном черноземах.

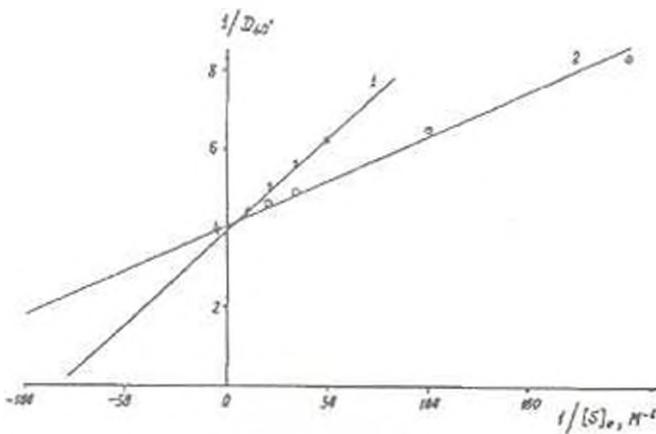
Процесс протекает по следующей схеме:



Скорость ферментативной реакции в зависимости от концентрации субстрата выражается трехпараметровым уравнением:

$$V_0 = \frac{V_{\text{max}} \cdot [S]_0}{K_m(\text{каж}) + [S]_0 + [S]_0^2 / K_i}$$

Для нахождения кинетико-термодинамических параметров этого уравнения оно линеаризуется при условиях $[S]_0 < [S]_{\text{огт}}$ и $[S]_0 > [S]_{\text{огт}}$. В первом случае ($[S]_0 < [S]_{\text{огт}}$) кинетические данные анализируются в координатах двойных обратных величин (рис. 2), что позволяет рассчитать значение максимальной скорости реакции V_{max} (в относительных единицах) и константу нестойкости кинетически активного комплекса ES_2 , K'_s .



Во втором случае ($[S]_0 > [S]_{\text{огт}}$) кинетические данные представлены в координатах $1/V_0 - [S]_0$ (рис. 3), что позволяет рассчитать V_{max} (в относительных единицах), $K'_s = \frac{1}{V_{\text{max}} \cdot t_{\text{огт}}}$

(т. е. константу нестойкости кинетически неактивного комплекса ES_2), используя полученные значения K'_s и $[S]_{\text{огт}}$ (из рис. 3), рассчитали значение константы Михаэлиса

$$K_m = \frac{[S]_{\text{огт}}}{K'_s}$$

Рис. 2. Зависимость относительной скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата при $[S] < [S]_{\text{огт}}$: 1 - в незеродированном, 2 - в среднеэродированном черноземах.

Значения параметров фосфатазной реакции в исследуемых почвах представлены в таблице.

Кинетико-термодинамические параметры фосфатазной реакции

Условия	Параметр реакции	Чернозем незеродированный	Чернозем среднеэродированный
$[S]_0 < [S]_{\text{огт}}$	$[S]_{\text{огт}}$, М	0,15	0,07
	K'_s , М	1,6	0,89
	V_{max} , отн.ед.	0,26	0,24
	$K_{\text{неакт}}$, мМ	13	5,4
$[S]_0 > [S]_{\text{огт}}$	$V_{\text{огт}}$, отн.ед.	0,27	0,26
	$K_{\text{неакт}}$, мМ	14	5,3

Таким образом, установлено, что кинетика фосфатазной активности неэродированного и среднеэродированного чернозема подчиняется механизму субстратного ингибирования. В среднеэродированном черноземе значения $[S]_{\text{ост}}$ ниже, чем в неэродированном. Константы нестойкости кинетически активного и неактивного фермент-субстратных комплексов в среднеэродированной почве ниже, чем в неэродированной.

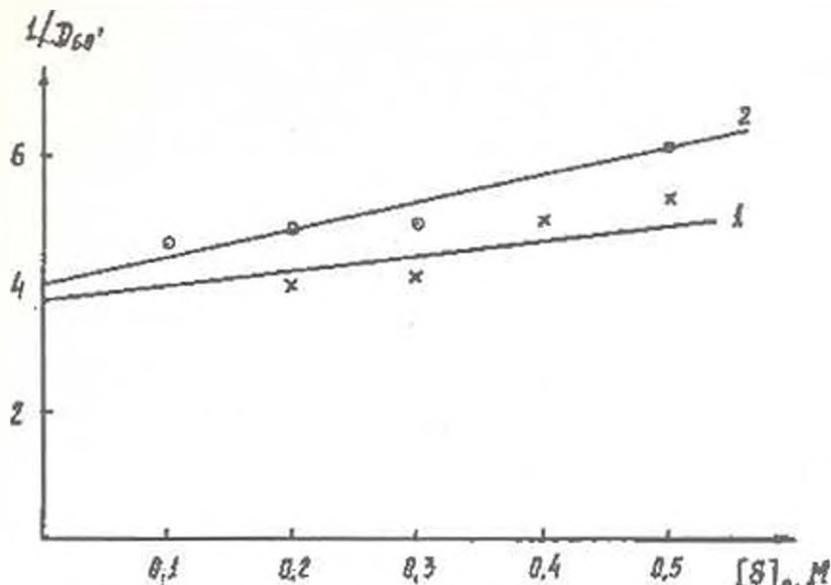


Рис. 3. Зависимость относительной скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата при $[S] > [S]_{\text{ост}}$: 1-в неэродированном, 2-в среднеэродированном черноземах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бресткин А.П., Новиков Н.В., Прокофьева Е.Г., Ржехина Н.И. Биохимия, 26, 226, 1961.
2. Галстян А.Ш., Арутюнян Э.А. Биолог. журн. Армении, 19, 3, 25, 1966.
3. Галстян А.Ш. Почвоведение, 2, 107, 1978.
4. Геворкян М.Г., Галстян А.Ш., Бейлерян Н.М. Тез. докл. VIII Всесоюз. конф. по коллоидной химии и физико-хим. механике. Ташкент, секц. V, 61, 1983.
5. Геллер И.Т., Гинзбург К.Е. Тез. докл. V делег. съезда ВОП. 2, 250, Минск, 1977.
6. Паников Н.С., Ксензенко С.М. Почвоведение, 11, 43-50, 1982.
7. Хазиев Ф.Х. Тез. докл. симпозиума по ферментам почвы, 66, Минск, 1967.

Получено 5 V 1993

Биолог. журн. Армения, 3-4 (49), 1996

УДК 619:615(679)

МЕРЫ ПО БОРЬБЕ С ТРИПАНОСОМОЗОМ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА, ВЫЗВАННЫМ *TRYPANOSOMA VIVAX*

С.Р. ПОСТОЯН

НИИ ветеринарной медицины МСХ РА, 375005, Ереван

В борьбе с трипаносомозом крупного рогатого скота необходимо учитывать видовой состав трипаносом, их переносчиков-мух цеце, интенсивность инвазивности последних трипаносомами и экстенсивность.