

А. Ш. Галстян

### Определение сравнительной активности пероксидазы и полифенолоксидазы в почве

(Представлено Г. С. Давтяном 18. XII. 1957)

Изучение ферментов почвы все больше привлекает внимание исследователей. Это объясняется тем, что определение ферментативной активности почвы является одним из показателей при оценке и характеристике ее биологической активности (1-5).

До сих пор сравнительно хорошо изучена активность некоторых ферментов почвы, причем изученные ферменты в основном являются гидролазами. Достаточно хорошо изучена также активность каталазы в почве, которая относится к ферментам расщепления.

Однако известно, что при почвообразовании и для плодородия почвы очень важное значение имеют также ее окислительно-восстановительные процессы, в которых участвуют соответствующие ферменты. Особенно велика роль этих процессов в деле разложения и синтеза органических веществ в почве. Установлено, что в процессе гумификации растительных остатков окислительные ферменты миксобактерий участвуют в реакции конденсации веществ при образовании молекулы гуминовой кислоты. Эти реакции осуществляются, в основном, с помощью пероксидазы и полифенолоксидазы (6).

Поскольку в биохимии процесса гумусообразования и вообще в обмене веществ в почве участвуют окислительные ферменты, то определение их активности является важным для познания плодородия почвы. Поэтому мы изучали некоторые вопросы, связанные с определением активности пероксидазы и полифенолоксидазы в почве. При разработке метода определения активности упомянутых ферментов в почве мы основывались на колориметрическом определении пероксидазы в растениях по Вильштеттеру (7).

Сравнительная активность пероксидазы и полифенолоксидазы нами определяется следующим образом. Средняя проба почвы составляется из 5-6 индивидуальных образцов, взятых равномерно, на всей площади участка или поля. Из аналитической пробы воздушно-сухой почвы (или в состоянии полевой влажности) берут навеску в 5 г,

помещают ее в коническую колбу емкостью 300 мл. Туда же прибавляют 100 мл дистиллированной воды, 0,5 мл толуола и содержимое встряхивают на ротаторе в течение 20 минут. При определении активности пероксидазы в естественновлажной почве одновременно берут навеску почвы для определения ее влажности. За время взбалтывания заготавливают плотный складчатый фильтр, воронку и стакан для фильтрата. Фильтрацию производят сейчас же после встряхивания. Фильтрат должен быть совершенно прозрачным, поэтому первые порции фильтрата снова приливают на фильтр, пока не появляются совершенно прозрачные капли жидкости.

Экспозиция вытяжки с субстратом производится в 50 мл мерных колбах с притертыми пробками. В мерные колбы приливают по 10 мл 1-процентного раствора пирогаллола, 2 мл 0,5-процентной перекиси водорода, затем прибавляют 20 мл фильтрата. Параллельно на плитке нагревают остальную часть фильтрата с обратным холодильником в течение 15 минут, охлаждают и 20 мл охлажденного фильтрата прибавляют в колбу в качестве контроля. В опыте контролем служит не только стерилизованный фильтрат, но и субстраты без фильтрата. Затем колбы закрывают пробками и при температуре 30° оставляют в термостате в течение 30 минут. По истечении соответствующего времени реакцию прекращают прибавлением 5 мл 20-процентной серной кислоты. Затем прибавляют серный эфир, взбалтывают и эфирный раствор пурпургалина подвергают фотоколориметрированию на основании величины эстинкции при 430 *mμ*. Таким же образом определяется активность полифенолоксидазы, только без добавления перекиси водорода. Активность ферментов выражается в мг пурпургалина, образовавшегося за сутки. В качестве стандарта используется раствор бихромата калия—0,75 г в литре 0,5 н раствора соляной кислоты, что соответствует 5 мг пурпургалина в 50 мл эфира.

Описанным методом мы определили сравнительную активность пероксидазы и полифенолоксидазы в образцах различных почв, взятых с пахотного слоя из-под озимой пшеницы во второй половине июня.

Некоторые результаты анализов приводятся ниже в таблице.

Активность пероксидазы и полифенолоксидазы в различных почвах различная. Наиболее высокой активностью пероксидазы и полифенолоксидазы характеризуются светло-каштановые, затем каштановые почвы. В черноземе и в бурой, бескарбонатной почве их активность сравнительно низкая. Следует отметить, что активность пероксидазы и полифенолоксидазы в карбонатных почвах вообще выше, чем в бескарбонатных, что связано с высокой микробиологической активностью этих почв. Как известно, об активности биологических процессов почвы можно судить по интенсивности дыхания, которая обуславливается, в основном, жизнедеятельностью живых организмов, населяющих почву (8, 9). Из приведенных данных видно, что активность пероксидазы и полифенолоксидазы находится в коррелятивной

Активность пероксидазы и полифенолоксидазы в различных почвах

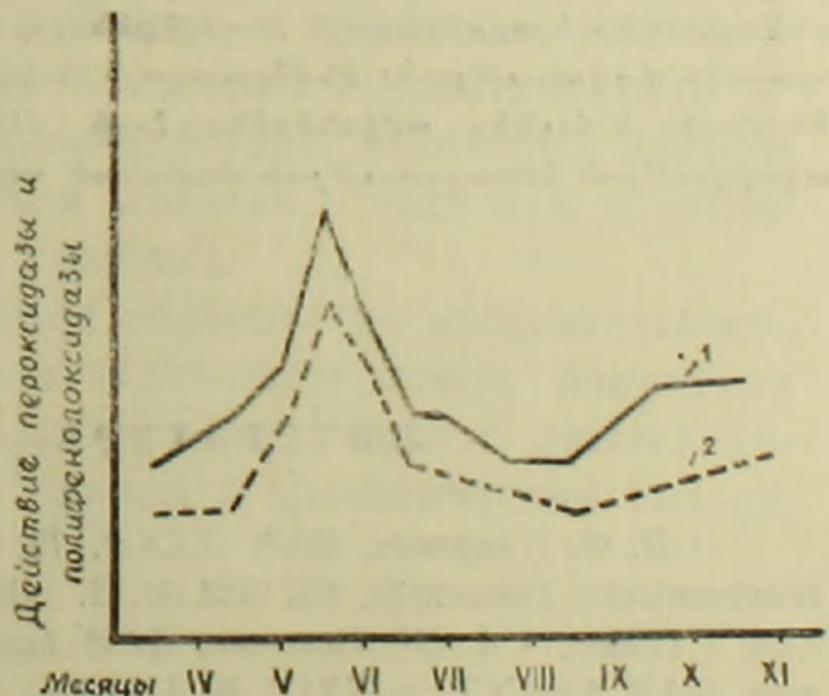
Почва и пункт взятия образца	Угодие	Активность в мг пурпургалина на 1 г сухой почвы		Интенсивность дыхания—CO <sub>2</sub> в мг на 100 г сухой почвы
		пероксидаза	полифенолоксидаза	
Светло-каштановая, суглинистая, карбонатная. Басаргечарский район, с. Мец Мазра	Озимая пшеница	10,0	8,1	31,9
Каштановая, карбонатная, суглинистая. Спитакский район, поселок Спитак	Озимая пшеница	7,5	6,2	25,3
Культурно-поливная, бурая, бескарбонатная, среднесуглинистая. Эчмиадзинский район	Озимая пшеница	4,3	2,5	8,3
Горный чернозем, выщелоченный, среднесуглинистая. Степанаванский район	Озимая пшеница	3,7	3,1	4,4

связи с интенсивностью дыхания почв (экспозиция—24 часа). Следовательно, их активность также может служить чувствительным показателем интенсивности биохимических процессов в почве.

Исследования показали, что угодие имеет существенное влияние на активность оксидаз в почве. Определение сравнительной активности пероксидазы в культурно-поливной почве Эчмиадзинского района показало, что под люцерной обнаруживается сравнительно большая активность (5,6 мг пурпургалина на 1 г сухой почвы), чем под кукурузой (4,3 мг пурпургалина на 1 г сухой почвы). Следовательно, для получения сравнительных данных об активности окислительных ферментов в различных почвах образцы необходимо брать с одинаковых угодий.

При изучении активности пероксидазы и полифенолоксидазы необходимо учитывать, что она значительно колеблется в течение вегетационного периода (см. рисунок).

Определение активности пероксидазы и полифенолоксидазы в культурно-поливной почве в течение вегетационного периода хлопчатника показало, что она повышается в конце весны и в начале лета. Летом, в частности в августе, активность ферментов



Активность пероксидазы и полифенолоксидазы в почве в течение вегетационного периода хлопчатника. 1—активность пероксидазы; 2—активность полифенолоксидазы.

падает, а к осени замечается ее некоторое повышение. Такая же закономерность нами была обнаружена для инвертазы и каталазы (4, 5).

Таким образом, в результате проведенных исследований был установлен метод определения сравнительной активности пероксидазы и полифенолоксидазы в почве. Выяснилось, что активность этих ферментов является чувствительным показателем биологических процессов в направлении окислительной способности почвы.

Лаборатория агрохимии  
Академии наук Армянской ССР

#### Ա. Շ. ԳՍԼՍՅԱՆ

### Պերօքսիդազայի և պոլիֆենոլօքսիդազայի համեմատական ակտիվության որոշումը հողի մեջ

Հայտնի է, որ հողագոյացման պրոցեսում և բերրիության ստեղծման ժամանակ հողի օքսիդացնող և վերականգնող հատկությունները մեծ դեր են խաղում: Այդ պրոցեսներում մասնակցություն են ունենում նաև օքսիդացնող ֆերմենտները:

Մինչդեռ, մինչև այժմ, հողի օքսիդացնող ֆերմենտները շատ քիչ են ուսումնասիրված: Քանի որ, մյուս ֆերմենտների հետ, օքսիդացնող ֆերմենտները ևս կարևոր դեր են խաղում հողի բերրիության ստեղծման գործում, ուստի նրանց ուսումնասիրությունը ներկայացնում է որոշակի հետաքրքրություն՝ հողի բիոլոգիական ակտիվության պարզաբանման ուղղությամբ:

Այս աշխատանքում նկարագրված է հողի մեջ պերօքսիդազայի և պոլիֆենոլօքսիդազայի որոշման մեթոդը: Վերջինիս մշակման ժամանակ հիմք է ծառայել բույսերի մեջ նրանց որոշման պուրպուրգալինի մեթոդը: Ստացված տվյալները ցույց են տվել, որ պերօքսիդազայի և պոլիֆենոլօքսիդազայի ակտիվությունը հողում հանդիսանում է նրա մեջ ընթացող բիոքիմիական պրոցեսների ցուցանիշ՝ հողի օքսիդացնող ընդունակության ուղղությամբ: Պարզված է, որ կարբոնատային հողերում օքսիդացնող ֆերմենտների ակտիվությունն ավելի բարձր է, քան ոչ կարբոնատային հողերում: Բուսական ծածկոցը նշանակալից չափով փոխում է օքսիդացնող ֆերմենտների ակտիվությունը հողում: Վեգետացիայի ընթացքում պերօքսիդազայի և պոլիֆենոլօքսիդազայի ակտիվությունը հողում կրում է որոշակի փոփոխություն: Ինվերտազայի և կատալազայի նման՝ նրանք էլ ակտիվ գործում են մայիս և հունիս ամիսներին: Հողի մեջ պերօքսիդազայի և պոլիֆենոլօքսիդազայի ակտիվության հետազոտության ժամանակ պետք է նկատի ունենալ վերը նշված փաստերը:

#### ЛИТЕРАТУРА — ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

- <sup>1</sup> В. Ф. Купревич, ДАН СССР, 79, № 5 (1951). <sup>2</sup> Е. Гофман и А. Зеегерер Biochemische Zeitschrift, Bd. 322, Н. 3. (1951). <sup>3</sup> Я. Дробник, Folia Biologica, vol. 1, Fase 1 (1955). <sup>4</sup> А. Ш. Галстян, ДАН АрмССР, т. XXIII, № 2 (1956). <sup>5</sup> А. Ш. Галстян, ДАН АрмССР, т. XXIV, № 1 (1957). <sup>6</sup> М. М. Кононова, „Микробиология“, т. 18, вып. 2 (1949). <sup>7</sup> А. И. Ермаков, В. В. Арасимович, М. И. Смирнова-Иконникова, И. К. Мурри, Методы биохимического исследования растений, 1952. <sup>8</sup> Б. Н. Макаров, „Природа“, № 9 (1953). <sup>9</sup> С. М. Моштакоева, Т. Н. Кулаковская и С. М. Гольдина, ДАН СССР, т. 98, № 1 (1954).