

## БИОХИМИЯ

А. Ш. Галстян

## К методике определения активности дегидраз в почве

(Представлено академиком АН Армянской ССР Г. С. Давтяном 16/VI 1962)

Основным методом обнаружения дегидраз и изучения специфичности их к субстратам дегидрирования является восстановление окислительно-восстановительных индикаторов с низким редокспотенциалом типа метиленовой сини. Неоднократные попытки определения активности дегидраз почвы, по скорости обесцвечивания метиленовой сини, которая акцептируя водород, восстанавливается в бесцветное лейкосоединение, не увенчались успехом. До сих пор из-за методических трудностей определения дегидразы почвы изучены слабо.

В последние годы для определения активности дегидраз в качестве акцептора водорода применяются соли тетразолия. При этом бесцветные соли тетразолия восстанавливаются в красные соединения формазанов. Активность дегидраз почвы впервые определял Г. Ленхард и рассматривал как показатель жизнедеятельности микроорганизмов и количества гумусовых веществ, поддающихся разложению микробами (1, 2). Для этой цели почва (10 г) увлажнялась до 90% и в присутствии лептона, глюкозы и углекислого кальция инкубировалась в термостате при 29°C в течение суток. Затем в колбу прибавлялся хлорид 2, 3, 5-трифенилтетразолия (ТТХ) и инкубация продолжалась 24 часа. После инкубации в колбу прибавлялось 50 мл метилового спирта и полученный окрашенный раствор трифенилформазана (ТФФ) фотоколориметрировался.

В дальнейшем И. Л. Стевенсон (3) несколько модифицировал метод Ленхарда, в основном увеличивая навеску почвы (20 г) и уменьшая количество метилового спирта в два раза. Такое изменение нарушает отношение растворителя к субстрату, поэтому получаются заниженные результаты. Последнее обусловлено еще и тем, что определение дегидраз в почве по Ленхарду не проводится под вакуумом (табл. 1).

Указанные недостатки устранялись при видоизменении этого метода. Было установлено, что для определения активности дегидраз под вакуумом трубки Тунберга менее удобны, поэтому использова-

лись вакуумные колбы. Кроме этого, во избежание некоторых неудобств работы с метиловым спиртом при массовых анализах, его заменили этиловым. Этиловый спирт из почвы количественно извлекает

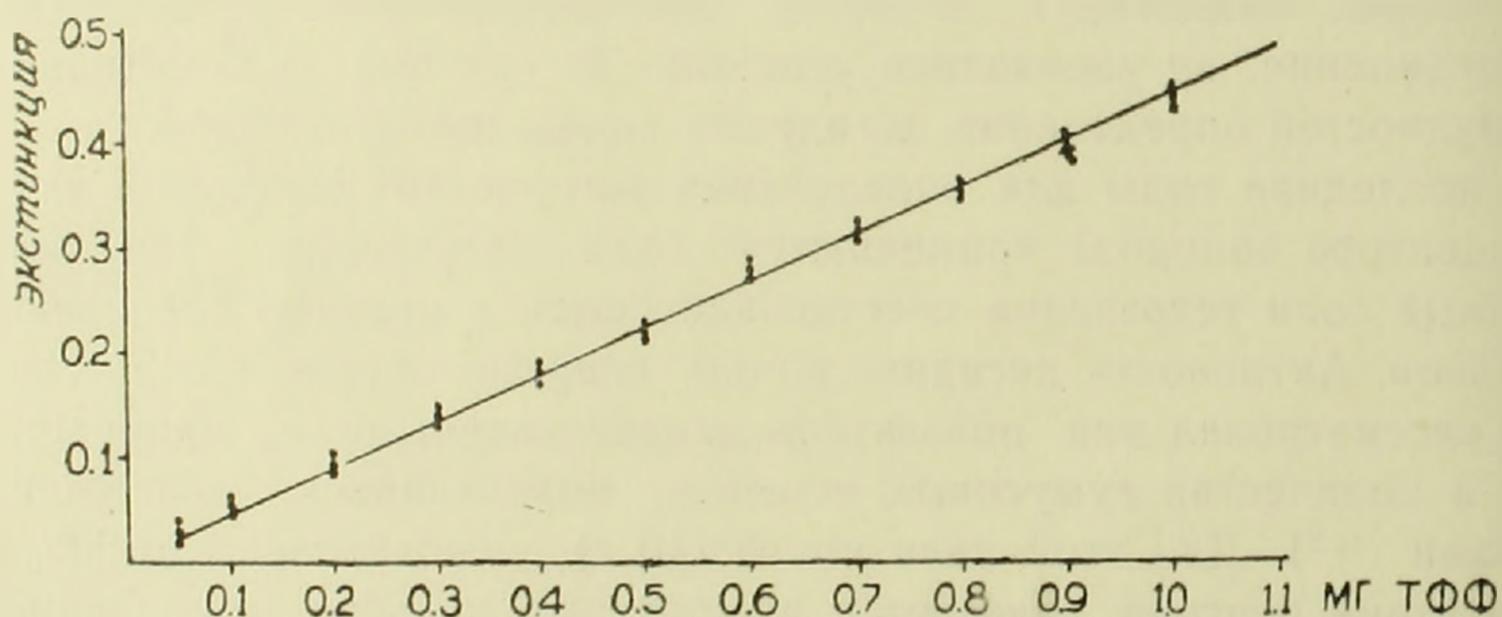
Таблица 1

Сравнительное определение активности дегидраз в почве (мг ТФФ на 100 г почвы)

П о ч в а	По Ленхарду	В вакуумных колбах
Каштановая . . . . .	9,7	28,5
	10,2	29,0
	9,6	28,7
Бурая . . . . .	4,4	16,7
	4,9	17,0
	4,6	17,8

продукт дегидразной реакции, поэтому и его можно использовать как растворитель ТФФ (фиг. 1).

После ряда испытаний условий, необходимых для активации и переноса водорода от метаболитов к акцептору, активность дегидраз



Фиг. 1. Содержание трифенилформазана в 25 мл этиловом спирте и экстинкция

в почве определялась следующим образом. Навеска воздушно-сухой почвы (1 г) помещалась в 50 мл вакуумную колбу, добавлялось 15 мг углекислого кальция и производилось смешивание. Затем почва смачивалась 1% раствором глюкозы и добавлялся 1 мл 1% раствора соли 2, 3, 5-трифенилтетразолия. Из колбы воздух выкачивался с помощью масляного насоса. Колбы осторожно встряхивались и ставились в термостат при 37—38°С на 24 часа. Контролем служила стерилизованная почва (180°С за 3 часа) и субстраты без почвы. После инкубации в колбы добавлялось по 25 мл этилового спирта и они встряхивались 5 минут. Содержание колб фильтровалось и полученный окрашенный раствор формазина колориметрировался прибором ФЭК—М. Использовались 5 мм кюветы и светофильтр с пропуска-

нием лучей света, длиной волны 500—600 мμ. Активность дегидраз выражалась в мг трифенилформаза (ТФФ) на 100 г почвы за сутки.

Так как действие дегидраз Ленхардом было принято как показатель интенсивности микробиологических процессов почвы, то его можно использовать также для оценки ее биологической активности и плодородия. С целью уточнения этого положения активность дегидраз изучалась в различных по плодородию почвах. Выяснилось, что плодородные, хорошо окультуренные почвы имеют высокую активность дегидраз (табл. 2).

Таблица 2

Биологическая активность бурой почвы и урожай озимой пшеницы

П о ч в а	Дегидразы, мг ТФФ на 100 г почвы за сутки	Дыхание, мг СО <sub>2</sub> на 100 г почвы за сутки	Инвертаза, мг глюкозы на 1 г почвы за сутки	Урожай ц/г
Слабоокультуренная	12,5	11,5	4,8	9,6
Среднеокультуренная	19,0	18,7	8,9	15,0
Сильноокультуренная	23,5	20,3	15,5	21,7

Действие дегидраз вместе с инвертазой и интенсивностью дыхания, которые приняты как отзывчивые показатели биологической активности почвы, находится в прямой коррелятивной связи с урожайными данными озимой пшеницы. Следовательно, активность дегидраз может быть одним из показателей биологической активности и плодородия почв. Для этой цели определение активности дегидраз в почвах необходимо производить в вакуумных колбах. В результате получают более достоверные данные, чем методом Ленхарда.

Институт почвоведения и агрохимии  
МП и ЗСХП Армянской ССР

Ա. Շ. ԳԱԼՍՅԱՆ

### Հողում դեհիդրազների ակտիվության ուժեղացումը եղանակի մասին

Գեհիդրազները կարևոր դեր են խաղում հողի օրգանական նյութերի օքսիդացման և վերականգնման ժամանակ: Նրանք հիմնական շնչառական ֆերմենտներն են: Չնայած դրան հողի գեհիդրազները անբավարար են ուսումնասիրված: Վերջինս պայմանավորված է եղել մի շարք ֆեթոլական դժվարություններով: Հատկապես մեթիլենի կապույտը՝ որպես ջրածնի ակցեպտոր նարավորություն չի տվել գեհիդրազները հայտնաբերելու անմիջապես հողում:

Հողում գեհիդրազները հայտնաբերելու և նրանց առանձնահատկությունները ուսումնասիրելու համար համապատասխան ակցեպտոր են հանդիսանում տետրադոլիումի աղերը: Առաջին անգամ այս եղանակը առաջարկել է Լենհարդը: Այստեղ 2, 3—5 տրիֆենիլտետրադոլիումի բյուրեղի անկույն աղը գեհիդրազների կողմից վերականգնվելով վեր է ածվում դունավոր ֆորմացիայի, որին կարելի է ֆոտոսկոլորիմետրել: Հողի գեհիդրազների որոշման Լենհարդի եղանակը մի շարք թերություններ, որոնց վերացմանն է նվիրված այս աշխատանքը: Մեր կողմից

կատարված ձևափոխություններից հետո գեներացները կարելի է որոշել հետևյալ ձևով՝ 1 գ. օդաչոր հողը տեղափոխել վակուում կուլթի մեջ, ավելացնել 15 մգ կալիճ, լավ խառնել և թրջել գլյուկոզի լուծույթով, այնուհետև ավելացնել 1 մլ/մեկ տոկոսանոց տեսրագուլիում քլորիդի լուծույթ և կուլթը պահել թերմոստատում 37—38° C. 24 ժ. հետո ավելացնել 25 մլ գինու սպիրտ ու ստացված գունավոր լուծույթը կուլտրիմետրել ՖՆԿ—Մ գործիքով:

Գեներացների որոշման այս եղանակները կարելի է լայն կիրառել հողի բիոլոգիական ակտիվությունը որոշելիս:

#### ЛИТЕРАТУРА — Գ Բ Ա Կ Ա Ա Ն Ո Ւ Թ Յ Ո Ւ Ն

<sup>1</sup> И. Ленхард, Zeit für Pflanz. Düngung, Bodenkunde, 73 (118), H 1, 1956. <sup>2</sup> И. Ленхард, Zeit. für Pflanz. Zungung, Bodenkunde 77 (122). H 3, 1957. <sup>3</sup> И. Л. Стивенсон, Canadian Journal of Microbiology, vol 5, № 2, 1959.