

УДК 631.46+577.15

АГРОХИМИЯ

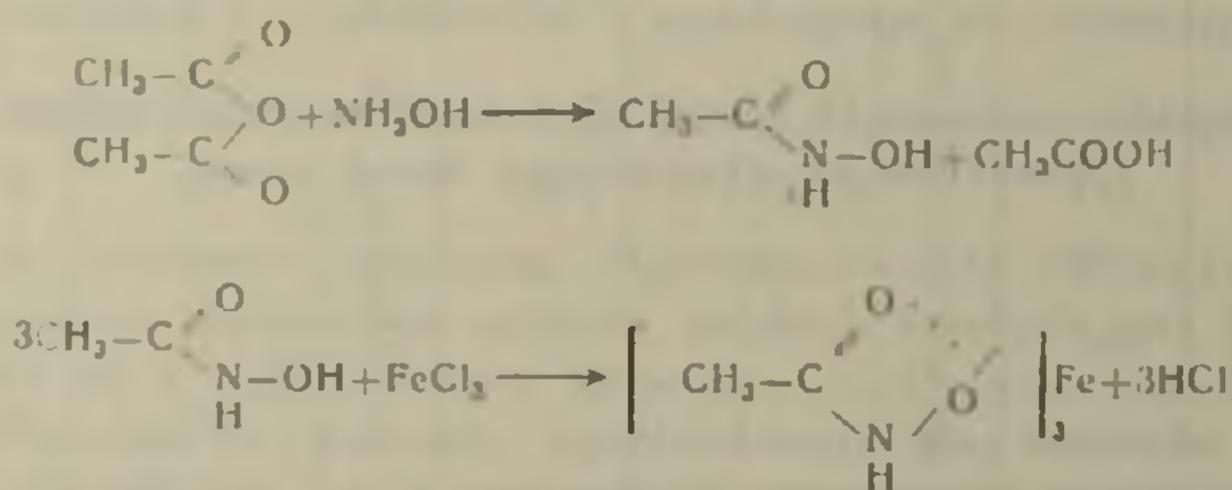
А. Ш. Галстян, Э. Г. Саакян

Метод определения активности гидроксиламинредуктазы почвы

(Представлено академиком АН Армянской ССР Г. С. Давтяном 9/IV 1971)

Гидроксиламинредуктаза (1.7.99.1, Аммиак : акцептор оксидоредуктаза), флавопротенд, осуществляет восстановление гидроксиламина в аммиак, донорами служат различные восстановленные соединения (1).

До настоящего времени активность гидроксиламинредуктазы почвы не изучена из-за отсутствия метода ее определения. Нами предложен метод определения активности гидроксиламинредуктазы почвы, основанный на реакции гидроксиламина с уксусноокислым ангидридом и с хлорным железом:



Навески (0,5 г) воздушно-сухой почвы, просеянной через сито диаметром отверстий в 1 мм, помещали в 100-миллилитровые колбы с притертыми стеклянными пробками, прибавляли 20 мг углекислого кальция и тщательно смешивали, затем добавляли 1 мл 0,5%-ного раствора гидроксиламина (солянокислого) и 1 мл 1%-ного раствора глюкозы в качестве донатора водорода. Воздух из колбы эвакуировали при разрежении 10–12 мм рт. ст. Колбу осторожно встряхивали и ставили в термостат при 30°C на 5 часов. Контролем служили стерилизованная почва (180° за 3 часа), субстраты без почвы и почва с водой. После выдерживания почвы с субстратом в колбы добавляли 50 мл дистиллированной воды, 2 мл насыщенного раствора алюмокалиевых квасцов и фильтровали через плотный фильтр. 10 мл фильтрата переносили в 50-миллилитро-

ную мерную колбу, добавляли 0,5 мл уксуснокислого ангидрида и 0,4 мл 1 молярного раствора хлорного железа. Полученный окрашенный раствор хорошо смешивали, объем доводили до метки дистиллированной водой, и колориметрировали прибором ФЭК-М. Использовали 5 мм кюветы и светофильтр длиной волны 600 м. Активность гидроксиламинредуктазы выражали в миллиграммах восстановленного NH_2OH на 1 г почвы за 5 часов. Показатель ошибки определения до 7%. Количественный учет гидроксиламина был произведен с помощью калибровочной номограммы (рис. 1), полученной из стандартных растворов солянокислого гидроксиламина (2,1046 г в 1 л). Из этого раствора 100 мл переносили в литровую мерную колбу, объем доводили до метки дистиллированной водой, 1 мл полученного раствора содержит 0,1 мл гидроксиламина, затем соответствующее количество его от 0,1 до 2,0 мг перенесли в 50 миллилитровые мерные колбы, прибавляли 0,5 мл уксуснокислого ангидрида, 0,4 мл хлорного железа, дистиллированной водой объем доводили до метки и фотоколориметрировали.

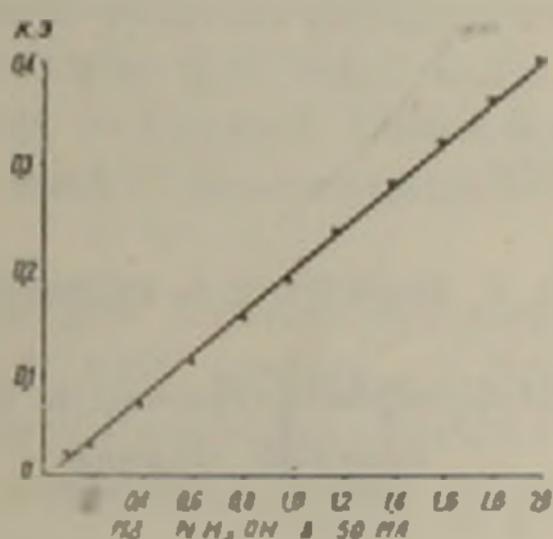


Рис. 1. Калибровочная номограмма гидроксиламина для фотоколориметрического определения активности гидроксиламинредуктазы почвы

В дегидрогеназной системе почвы обнаружено действие гидроксиламинредуктазы (табл. 1), осуществляющей восстановление гидроксиламина в аммиак путем передачи мобилизованных дегидрогеназами водорода $\text{НАД}\cdot\text{H}_2$ и $\text{НАДФ}\cdot\text{H}_2$ гидроксиламину. Коферментом является ФАД и активизируется металлом — марганцем. Гидроксиламин рассматривается как один из основных промежуточных продуктов при восстановлении нитратов в аммиак, его роль установлена в азотистом обмене в растениях (24). Активность гидроксиламинредуктазы почвы находится в коррелятивной связи с действием дегидрогеназ с содержанием общего азота и гумуса. Различные типы почв обладают неодинаковой активностью этого фермента — горно-луговые, лесные почвы и черноземы имеют сравнительно высокую активность, а бурные и каштановые низкую. В почве фермент активен в гумусовом горизонте и по профилю его действие снижается в соответствии с уменьшением содержания органического вещества и количества микроорганизмов. Оптимум рН гидроксиламинредуктазы почвы находится в щелочном интервале (рН 8,0—8,5), что установлено с по-

мощью фосфатных буферов. Эти значения pH в почве устанавливались с помощью прибавления углекислого кальция. Тепловая инактивация гидроксиламинредуктазы почвы наступает с 50°, она по своему характеру аналогична с дегидрогеназами (5), поэтому определение ее активности проводили при 30°C.

Таблица 1

Активность гидроксиламинредуктазы почвы

Почва	Гумус, %	Общий азот, %	pH, H ₂ O	Дегидроге- назы, мг ТФФ	Гидроксила- минредуктаза, мг NH ₂ OH
Бурая	2,2	0,15	8,0	5,2	1,5
Кашилановая	3,4	0,29	7,6	6,3	2,1
Чернозем	8,2	0,70	7,5	10,2	3,4
Горно-луговая	13,6	0,68	5,2	14,8	5,5
Коричневая лесная	10,5	0,99	6,4	9,1	4,3

Таким образом, на основании проведенных исследований предлагается метод определения активности гидроксиламинредуктазы почвы, имеющий важное значение в познании азотного обмена в почве.

Институт почвоведения и агрохимии
АН АрмССР

Ա. Շ. ԴԱՍՏԱՆ, Է. Գ. ՍԱՀԱԿՅԱՆ

Հողի հիդրոքսիլամինոնեղուկտազայի ակտիվության որոշման մեթոդը

Մշակված և հողի հիդրոքսիլամինոնեղուկտազայի ակտիվության որոշման մեթոդ, որը հիմնված է հիդրոքսիլամինի, քաջախաթթվային անհիդրիդի և հոարժեր ևրկաթի քլորիդի ռեակցիայի վրա: Հողի դեհիդրոգենազների սիստեմում հայտնաբերված է հիդրոքսիլամինոնեղուկտազայի ակտիվություն, որն իրականացնում է հիդրոքսիլամինի վերականգնումը ամոնիակի: Հիդրոքսիլամինոնեղուկտազայի ակտիվության օպտիմում pH 8,0-8,5 գտնվում է հիմնային միջավայրում: Այդ ֆերմենտի ամենարարժր ակտիվությունը հայտնաբերվում է սեահոգերում և լեռնա-մարգագետնային հողերում: Գորշ և շագանակագույն հողերն ունեն համեմատաբար պակաս ակտիվություն: Հողի խորությամբ նրա ակտիվությունը ընկնում է և ներքին շերտերում չի հայտնաբերվում: Հիդրոքսիլամինոնեղուկտազայի ակտիվության որոշման մեթոդի կիրառությունը հնարավորություն կտա պարզելու ադոտոկան նյութափոխանակությունը հողում և վերջինիս նպատակադիր կարգավորումը բույսերի սննդառությունում:

ЛИТЕРАТУРА — ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1 Номенклатура ферментов, М., 1966. 2 Д. Н. Прянишников, Азот в жизни растений и в земледелии СССР, М., 1945. 3 А. А. Бундель, В. Л. Кретович, Г. А. Прокошев, Физиология растений т. 12, вып. 6 (1965) 4 В. Л. Кретович, Биохимия автотрофной ассимиляции азота, М., 1961 5 А. Ш. Галстян, ДАН АрмССР, т. 40, № 3 (1965)