ДОКЛАДЫ АКАДЕМИИ НАУК АРМЯНСКОЙ ССР

LV 1972 2

УДК 631.46 577.15

АГРОХИМИЯ

А. Ш. Галстян

О ферментативном восстановлении двуокиси марганца в почве

(Представлено академиком АН Армянской ССР Г. С. Давтяном 1 II 1972)

Природа реакции восстановления двуокиси марганца в почве почти не изучена. Выяснение этого вопроса представляет определенный научный интерес, так как можно будет получить сведения о сущности процесса образования двухвалентного марганца в почве, являющегося основным источником питания растений этим элементом ([1-3]). Мы пытались установить возможное участие ферментов в этом процессе и разработать метод определения их активности.

Обнаруженный в почве фермент относится к классу оксидоредуктаз; его систематическое название -Восстановленный НАД (ф): MnO_2 — оксидоредуктаза (1. 6. 99. .), рекомендуемое тривиальное название — $Mn.O_2$ — редуктаза ([1]). На основании изучения зависимости действия MnO_2 — редуктазы почвы от продолжительности инкубации, температуры, pH, количества навески, субстрата и донатора водорода предложен метод определения активности этого фермента, основанный на количественном учете восстановленного марганца персульфатным способом ([4]).

Навески (1 *г*) воздушно-сухой почвы, просеянной через сито с отверстиями диаметром в 0,25 *мм*, помещали в 100-миллилитровые колбы с притертыми стеклянными пробками, прибавляли 20 *мг* тонкоизмельченной двуокиси марганца и 20 *мг* углекислого кальция. Тщательно перемешивали, затем добавляли 2 *мл* 1 %-ного раствора глюкозы в качестве донатора водорода. Воздух из колбы эвакуировали при разряжении 10—12 *мм* рт. ст. Колбы осторожно встряхивали и ставили в термостат при 30° на 48 часов. Контролем служили стерилизованная почва (1 : 3 часа), субстраты без почвы и почва с водой. После выдерживания почвы с субстратом восстановленный марганец экстрагировали 0,4 %-ным $Na_2SO_3 \cdot 7H_2O$ в нейтральном 1М растворе ацетата аммония. В колбу прибавляли 25 *мл* указанного раствора и взбалтывали в течение 30 *мин*. 5 *мл* фильтрата в фарфоровой чаш-

ке взвинали досуха. Сухой остаток обрабатывали концентрированной HNO_3 (1 *мл*) и пергидролем (2 *мл*) для окисления органического вещества и удаления хлора. Эту процедуру повторяли до получения белого осадка. Затем осадок растворили в 0,5 *мл* концентрированной HNO_3 и дистиллированной водой переносили в 100-миллилитровые мерные колбы. К раствору добавляли по 0,5 *мл* концентрированных H_2SO_4 и H_3PO_4, 1 *мл* 2 %-ного раствора $AgNO_3$ и 0,2 *г* персульфата аммония или калия. Колбы нагревали на электроплитке до появления первого пузырька. Прибавление персульфата повторяли до появления устойчивой розовой окраски. Колбы охлаждали до комнатной температуры, объем раствора дистиллированной водой доводили до метки и фотоколориметрировали прибором ФЭК-М. Использовали 10 *мм* кюветы и зеленый светофильтр. Активность MnO_2-редуктазы выражали в миллиграммах восстановленной MnO_2 на 10 *г* почвы. Количественный учет восстановленной двуокиси марганца был произведен с помощью калибровочного графика (рис. 1), полученного из стандартных растворов марганцовокислого калия. Для этого 10 *мл* 0,1*н.* раствора $KMnO_4$ переносили в 100-миллилитровую мерную колбу и объем доводили водой до метки. 1 *мл* такого раствора содержит 0,11 *мг* марганца. Из этого раствора приготовили шкалу.

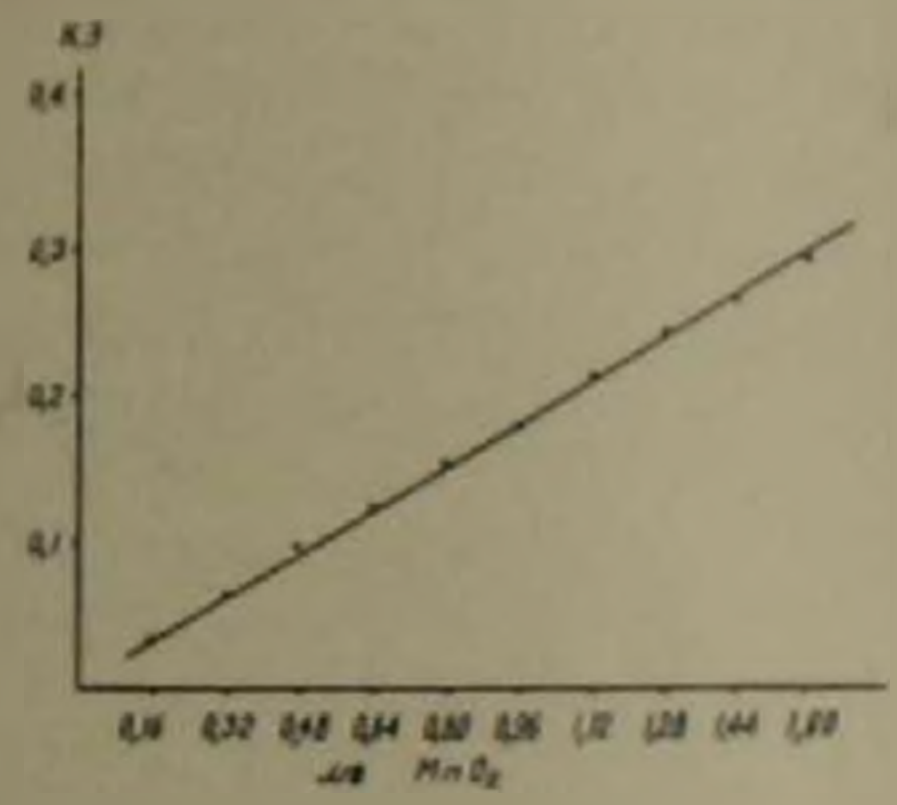

Рис 1. Калибровочный график двуокиси марганца для фотоколориметрического определения активности MnO_2-редуктазы почвы

Опыты показали, что в анаэробных условиях в почве происходит восстановление двуокиси марганца до двухвалентного состояния:

$$MnO_2 + 4H + 2e \longrightarrow Mn^{2} + 2H_2O.$$

Эта реакция в основном осуществляется каталитическим путем, где переносчиком водорода являются дегидрогеназы. Стерилизация почвы сухим жаром и прибавление ингибитора цианистого натрия полностью снимает действие ферментов, осуществляющих восстановление двуокиси марганца (табл. 1). При этом происходит инактивация дегидрогеназ почвы, в системе которых действует MnO_2-редуктаза.

Для установления ферментативного характера реакции восстановления двуокиси марганца в почве было изучено влияние доноторов водорода и коферментов НАД (Ф) и ФАД (импортные препараты) на активность MnO_2-редуктазы (табл. 2). В почве без прибавления субстратов происходит слабое восстановление двуокиси марганца. Здесь реакция осуществляется оксидоредуктазами, где донатором водорода является органическое вещество почвы (К—H_2). При прибавлении коферментов НАД (Ф) и ФАД (0,5 *мг*) и доноторов водорода глюкозы и лимонной кислоты (20 *мг*) наблюдается ускорение реакции вос-

Таблица 1

Влияние стерилизации и ингибирования на восстановление двуокис марганца в почве

Варианты	Восстановление MnO_2, *мг* на 10 *г* почвы	
	чернозем	каштановая
Почва + MnO_2 + глюкоза	23.0	17.0
Стерилизованная почва + MnO_2 + глюкоза	0.0	0.0
Почва + NaCN + MnO_2, глюкоза	0.0	0.0
Контроль почва + H_2O	0.4[1]	0.0[1]

[1] (Mn^{2+}, *мг*)

становления MnO_2 в почве, что указывает на ее ферментативный характер. Наибольший эффект получается при прибавлении кофермента

Таблица 2

Влияние коферментов и доноторов водорода на активность MnO_2 - редуктазы бурой почвы

Варианты	Коэффициент экстинкции	Активность, *мг* MnO_2 на 10 *г* почвы
Почва без субстратов	0.02	3.6
+ НАД + ФАД	0.03	5.1
+ глюкоза	0.07	12.0
+ лимонная кислота	0.06	10.0
+ НАД + глюкоза	0.12	20.0
+ НАД + ФАД + глюкоза	0.21	34.6

флавинадениндинуклеотида. По-видимому, MnO_2 - редуктаза относится к флавопротеидам [3] и ФАД участвует при переносе водорода к кислороду двуокиси марганца:

$$R \cdot H_2 + НАД(Ф) \longrightarrow R + НАД(Ф) \cdot H + H^+$$

$$НАД(Ф) \cdot H + H^+ + ФАД \longrightarrow НАД(Ф)^+ + ФАД \cdot H_2$$

$$MnO_2 + 2ФАД \cdot H_2 \longrightarrow Mn^{2+} + 2H_2O + 2ФАД$$

Следовательно, кислород пиролюзита в почве может служить акцептором водорода при дыхании анаэробных микроорганизмов, в частности железо-марганцовых бактерий [3-7].

Активность MnO_2 - редуктазы в различных типах почв неодинакова (табл.3). Она сравнительно активна в почвах, богатых органи-

ческим веществом, где обнаруживается интенсивное действие дегидрогеназ ([6]). Оптимум pH действия MnO_2 — редуктазы находится в слабо-

Таблица 3

Активность MnO_2 — редуктазы различных типов почв

Почва	Гумус, %	pH, H_2O	Активность, *мг* MnO_2 на 10 *г* почвы
Лугово-черноземная	7.1	5.2	25.0
Чернозем выщелоченный	7.1	6.8	24.2
Каштановая карбонатная	3.1	7.6	17.0
Бурая полупустынная	2.2	8.2	12.3
Мелиорированный солончак	1.1	7.5	8.0

щелочном интервале pH 8,0—8,5. Тепловая инактивация фермента начинается при 60°.

Таким образом, в ферментной системе почвы обнаружено действие MnO_2—редуктазы (Восстановленный НАД(Ф): MnO_2—оксидоредуктаза, 1. 6. 99. . .), которая мобилизованный дегидрогеназами водород органических веществ передает кислороду двуокиси марганца, осуществляя реакцию ее восстановления. Следовательно, эта реакция имеет ферментативную природу. Разработан метод определения активности MnO_2—редуктазы почвы, играющей важную роль в процессе мобилизации марганца для питания растений.

Институт почвоведения и агрохимии МСХ
Армянской ССР

Ա. Շ. ԳԱԼՍՏՅԱՆ

Հողում մանգանի երկօքսիդի վերականգնման ռեակցիայի բնույթի մասին

Ապացուցված է, որ մանգանի երկօքսիդը հողում հիմնականում վերականգնվում է ֆերմենտների օգնությամբ, որոնց սիստեմում գործում է մանգանռեդուկտազան։ Այս ֆերմենտը պատկանում է օքսիդառեդուկտազների դասին։ Նա դեհիդրոգենազների ջրածինը փոխանցում է մանգանի երկօքսիդի թթվածնին և վերականգնում այն։ Ռեակցիայի հետևանքով հողում գոյանում է երկարժեք մանգան, որը մատչելի է բույսերի համար։ Այդ ուսումնասիրությունների հիման վրա մշակված է մանգանէրկօքսիդ-ռեդուկտազայի ակտիվության որոշման եղանակ։

ЛИТЕРАТУРА—ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

[1] *И. В. Пейве*, Биохимия почв, М., 1961. [2] *П. А. Власюк*, Биологические элементы в жизнедеятельности растений, Киев, 1969. [3] Номенклатура ферментов, М., 1966. [4] Методические указания по определению микроэлементов в почвах и растениях, Изд. АН Латв. ССР, Рига, 1961. [5] *А. Н. Цыпакова*, «Почвоведение», № 3, 1967. [6] *Н. А. Дараселия, Т. Г. Рухиладзе*, Сообщения АН Груз. ССР, 41, № 3, 1966. [7] *В. И. Дуда, Л. В. Калакуцкий*, Научные доклады высшей школы, № 1—2, 1964. [8] *А. Ш. Галстян*, ДАН СССР, т. 156, № 1 (1964).