

УДК 631.46 : 577.15

АГРОХИМИЯ

А. Ш. Галстян, Л. Г. Марукян

Определение активности аскорбинатоксидазы в почве

(Представлено академиком АН Армянской ССР Г. С. Давтяном 9/II 1973)

Изучена активность аскорбинатоксидазы (Н.Ф.1.10.3.3) в почве, катализирующей реакцию окисления аскорбиновой кислоты, т. е. витамина С, в дегидроаскорбиновую кислоту (^{1,2}).

Для определения активности аскорбинатоксидазы в почве применена реакция Тильманса, основанная на редуцирующих свойствах аскорбиновой кислоты, приводящей к обесцвечиванию синеокрашенного индикатора 2,6-дихлорфенолиндофенола (³). После ряда испытаний по выявлению соотношений почвы и субстрата, а также условий оптимального действия аскорбинатоксидазы был разработан метод определения ее активности.

Исследования проводили на различных типах почв Армении. Почву высушивали при комнатной температуре, очищали от растительных остатков, просеивали через сито с отверстиями диаметром 0,25 мм. Навески свежей почвы (1 г) помещали в 50-миллиметровые колбы, добавляли 1 мл 1%-ного раствора аскорбиновой кислоты, 1 мл дистиллированной воды. Колбы осторожно встряхивали, закрывали корковыми пробками и ставили в термостат при температуре 30° на 1 час. По истечении времени взаимодействия субстрата с почвой в колбы добавляли по 28 мл 1%-ного раствора соляной кислоты, встряхивали 5 минут и фильтровали. 5 мл фильтрата переносили в 250-миллилитровые колбы, где заранее было налито 45 мл дистиллированной воды. Количество аскорбиновой кислоты определяли титрованием 0,001н. раствором 2,6-дихлорфенолиндофенола, до не исчезающего в течение одной минуты розового окрашивания, что обусловлено избытком индикатора в кислой среде. Контролем служили субстраты без почвы, стерилизованная почва (в автоклаве, 1,5 атм/час) и почва с водой. Из контроля—(субстраты без почвы) вычитывали количество аскорбиновой кислоты в варианте с воздушно-сухой и со стерилизованной почвой. Разница между последними—воздушно-сухой и стерилизованной почвой, составляет активность аскорбинатоксидазы, выраженной в миллиграммах дегидроаскорбиновой кислоты на 100 г почвы за час.

Опыты показали, что в почве аскорбиновая кислота интенсивно

окисляется в дегидроаскорбиновую кислоту под воздействием биологических и неорганических катализаторов (табл. 1).

Активность окисления аскорбиновой кислоты в почве

Таблица 1

П о ч в а	Гумус, %	Миллиграмм дегидроаскорбиновой кислоты на 100 г почвы, час		
		воздушно- сухая	стерилизо- ванная	активность аскорбинат- оксидазы
Горно-луговая дерново-торфя- нистая	21,6	670,6	263,4	407,2
Горно-луговая дерновая	13,6	548,0	317,9	230,1
Лугово-степная типичная	8,9	455,1	263,4	191,7
Коричневая лесная	7,5	461,1	294,1	167,0
Чернозем выщелоченный	7,1	479,0	341,4	137,6
Каштановая карбонатная	3,4	353,0	279,0	74,0
Бурая полупустынная	2,1	242,4	188,2	54,2
Солончак содовой	0,6	383,2	411,0	0,0

Из биокатализаторов эту реакцию осуществляет аскорбинатоксидаза, относящаяся к классу оксидоредуктаз; этот фермент, как и 0-дифенолоксидазы, действует на эндиольные группировки, где акцептором водорода служит кислород. Аскорбинатоксидаза является купропротенидом и содержит 0,24% меди ⁽²⁾. Поэтому из микроэлементов медь, по сравнению с другими, наиболее интенсивно активизирует действие аскорбинатоксидазы в почве.

Приведенные данные показывают, что стерилизация почвы полностью не устраняет ее окисляющую способность по отношению к аскорбиновой кислоте, а иногда даже повышает. Следовательно, в этом процессе участвуют неорганические катализаторы—соединения меди, железа, марганца и других элементов. При определении активности аскорбинатоксидазы в почве целесообразно ее стерилизацию проводить в автоклаве в присутствии ингибиторов.

Исследованиями установлено, что аскорбинатоксидаза сравнительно активна в горно-луговых и в лесных почвах, затем в черноземах; в каштановых и бурных почвах ее активность низкая, а в солонцах—солончаках сильно подавлена. В соответствии с активностью аскорбинатоксидазы в почве, по-видимому, накапливается у субстрат его действия—витамин С. Аналогичная закономерность распределения витамина В₁₂ по основным типам почв Армении обнаружена Э. Г. Африкяном и Р. А. Бобикян ⁽⁴⁾. Активность аскорбинатоксидазы по профилю почвы снижается, и в глубоких горизонтах ее действие не обнаруживается, что связано с уменьшением содержания органического вещества и количества микроорганизмов. Аскорбинатоксидаза в почве инактивируется сравнительно быстро, за 6 месяцев ее активность снижается на 60--70% от первоначальной. Активность аскорбинатоксидазы в почве находится в тесной связи с содержанием гумуса. Следовательно, можно считать, что основным источником аскорбиновой кислоты и аскорбинатоксидазы в почве являются продукты распада

различных веществ растительного и животного происхождения (5,6). Источником накопления витаминов в почве могут быть также удобрения (навоз, сидераты) и ассенизационная поливная вода. Образование аскорбиновой кислоты в почве, по-видимому, связано с ферментативным превращением глюкозы, что требует дальнейших исследований.

Институт почвоведения и агрохимии
МСХ Армянской ССР

Ա. Շ. ԳԱԼՍՅԱՆ, Լ. Գ. ՄԱՐՈՒՔՅԱՆ

Ասկորբինատօքսիդազայի ակտիվության որոշումը հողում

Ասկորբինատօքսիդազայի ակտիվությունը հայտնաբերված է տարբեր տիպի հողերում: Մշակված է հողերի մեջ նրա որոշման մեթոդը: Ապացուցված է, որ ասկորբինաթթվի օքսիդացումը հողերում ընթանում է բարձր ուժգնությամբ, որին մասնակցում են կենսաբանական և անօրգանական կատալիզատորները: Ասկորբինատօքսիդազային ակտիվությունը հողում կախված է հումուսի պարունակությունից: Այս տեսակետից օրգանական նյութով հարուստ հողերը՝ լեռնա-մարգագետնային, անտառային և սևահողարն ունեն նշված ֆերմենտի համեմատական բարձր ակտիվություն: Ասկորբինատօքսիդազայի գործունեությունը հողում վկայում է նրա կարևոր դերի մասին՝ հողագոյացման պրոցեսում:

ЛИТЕРАТУРА — ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

- ¹ Номенклатура ферментов, М., 1966. ² В. Л. Кретович, Введение в энзимологию М., 1967. ³ А. И. Ермаков и др., Методы биохимического исследования растений. М.—Л., 1952. ⁴ Э. Г. Африкян, Р. А. Бобикян, ДАН Арм. ССР, т. 29, № 2 (1959). ⁵ W. Schopfer, Plants a vitamins. Pull. Chron. Bot. 1943. ⁶ И. А. Красильников, Микроорганизмы почвы и высшие растения, М., 1958.