

УДК 631.465

АГРОХИМИЯ

А. Ш. Галстян, В. Т. Вартанян

Определение активности аргиназы почвы

(Представлено академиком АН Армянской ССР Г. С. Давтяном 5/VI 1979)

Аргиназа (L-аргинин-уреогидролаза, КФ 3.5.3.1) играет важную роль в азотистом обмене веществ и способствует образованию подвижного азота в почве. Она осуществляет гидролитическое расщепление аргинина на карбамид и орнитин (1-4).

Аргинин содержит четыре атома азота и является одним из основных источников легкогидролизуемого азота в почве. Активность ферментов, участвующих в превращении аргинина в почве, до сих пор не изучена. В настоящей работе мы задались целью разработать методику определения активности аргиназы почвы и выяснить некоторые вопросы действия этого фермента в различных генетических типах почв.

Метод определения активности аргиназы почвы основан на учете количества аммиака, образующегося при гидролитическом расщеплении аргинина на карбамид и последующем его превращении в аммиак под действием уреазы. При определении активности аргиназы почвы нет необходимости прибавлять фермент уреазу, так как почвы обладают высокой уреазной активностью. Для разработки метода определения активности аргиназы были установлены соотношение почвы и субстрата, оптимальные условия реакции среды (рН), температуры и время инкубации. Активность аргиназы определяли в свежих воздушно-сухих, очищенных от растительных остатков и камней образцах почв. Почву просивали через сито с отверстиями диаметром в 0,25 мм.

Ход анализа. Навески (1 г) почвы помещали в колбы емкостью 50 мл, приливали 5 мл 1%-ного раствора L-аргинина, приготовленного на фосфатном буфере (рН — 4,9). Приготовленный раствор имеет рН 7,2, который соответствует оптимуму рН действия аргиназы почвы. Сдвиг рН субстратного раствора обусловлен щелочной реакцией аргинина (рН водного раствора 10,0). При определении толуол не прибавляли, так как он ингибирует аргиназу почвы. Колбы закрывали корковыми пробками, встряхивали и ставили в термостат при 30° на 48 час. Контролем служили стерилизованная почва (180° за 3 час) и субстра-

ты без почвы. По истечении времени взаимодействия субстрата с почвой в колбы добавляли 25 мл 1 н. раствора хлористого калия, 5 мин встряхивали для вытеснения из почвы поглощенного аммиака и содержимое колб фильтровали. Из фильтрата 10 мл переносили в прибор Кьельдаля для полумикроотгонки аммиака, прибавляли 5 мл 2%-ного раствора щелочи (KOH) и в течение 15 мин с момента закипания производили перегонку. В приемные колбы заранее брали 15 мл 0,1 н. раствора H_2SO_4 . Количество аммиака учитывали обратным титрованием 0,1 н. раствором KOH. Активность аргиназы выражали в миллиграммах карбамида на 1 г почвы за 48 час. Ошибка определения до 4%. Для пересчета аммиака (мг) в карбамид полученные данные умножали на коэффициент 1,765.

Исследования показали, что в почве обнаруживается активность аргиназы, которая полностью снимается при стерилизации почвы сухим жаром, в результате тепловой инактивации фермента (табл. 1). Уровень активности аргиназы в почвах различный. Высокая активность фермента обнаруживается в горно-луговых и лесных почвах, затем в черноземах и каштановых, низкая — в бурых, в содовых солончаках ее действие не обнаруживается. Аргиназа в засоленных почвах быстро инактивируется под влиянием щелочности и растворимых солей.

Таблица 1

Активность аргиназы почв

Почва	Гумус, %	Азот		рН _{1:0}	Активность аргиназы почвы	
		общий, %	легкогидролизуемый, мг на 100 г почвы		воздушно-сухая	стерилизованная
Горно-луговая дерновая	13.6	0.68	11.4	5.2	9.9	0.0
Коричневая лесная	10.5	0.99	7.3	6.4	9.0	0.0
Чернозем выщелоченный	7.1	0.37	6.3	6.8	4.2	0.0
Каштановая карбонатная	3.4	0.29	4.4	7.6	3.6	0.0
Бурая полупустынная	2.2	0.15	3.6	8.2	1.8	0.0
Содовый солончак	0.6	0.03	1.9	10.0	0.0	0.0

Наличие аргиназы в почве было доказано также хроматографическим анализом. В результате гидролиза аргинина в воздушно-сухой почве, по сравнению со стерилизованной, накопилось значительное количество оринтина. В горно-луговой почве наряду с оринтином образуется и цитруллин, что свидетельствует об отщеплении иминового азота гуанидиновой группы аргинина под действием аргининдезиминазы (L-аргинин-иминогидролаза, КФ 3.5.3.6).

В почве аргиназа активна в гумусовом горизонте, с глубиной ее действие резко снижается и в глубоких горизонтах не обнаруживается (рис. 1). Активность аргиназы находится в положительной тесной корреляционной связи с содержанием гумуса, общего и легкогидролизуемого азота и с амидазами почвы (табл. 2).

Таблица 2

Взаимосвязь активности аргиназы с амидазами, содержанием гумуса и азота в почве

Показатели	Коэффициент корреляции, $r \pm m_r$	Степень надежности, t
Аргиназа—гумус	0.80 ± 0.11	7
Аргиназа—общий азот	0.83 ± 0.10	8
Аргиназа—легкогидролизуемый азот	0.93 ± 0.06	15
Аргиназа—уреаза	0.95 ± 0.04	23
Аргиназа—глутаминаза	0.95 ± 0.04	23
Аргиназа—аспарагиназа	0.99 ± 0.01	99

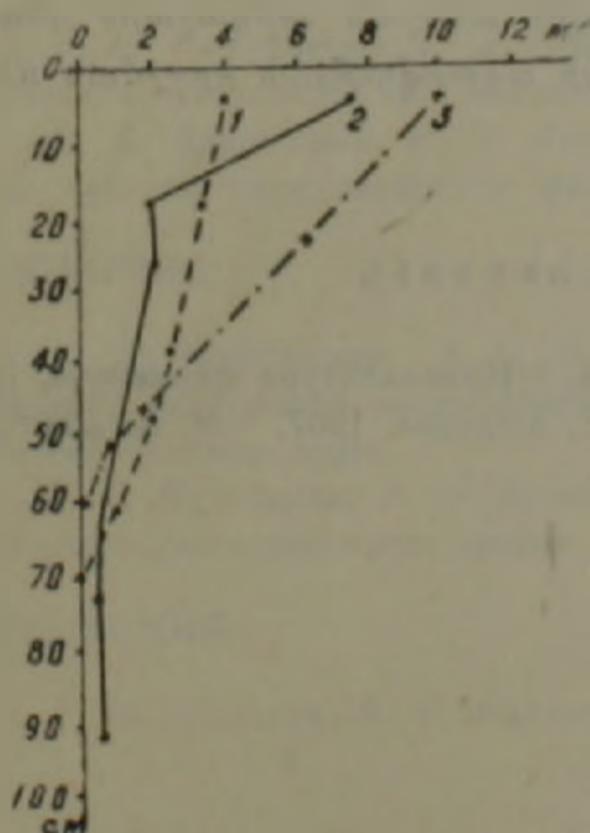


Рис. 1. Активность аргиназы по профилю почв. 1 — чернозем, 2 — бурая лесная, 3 — горно-луговая дерновая

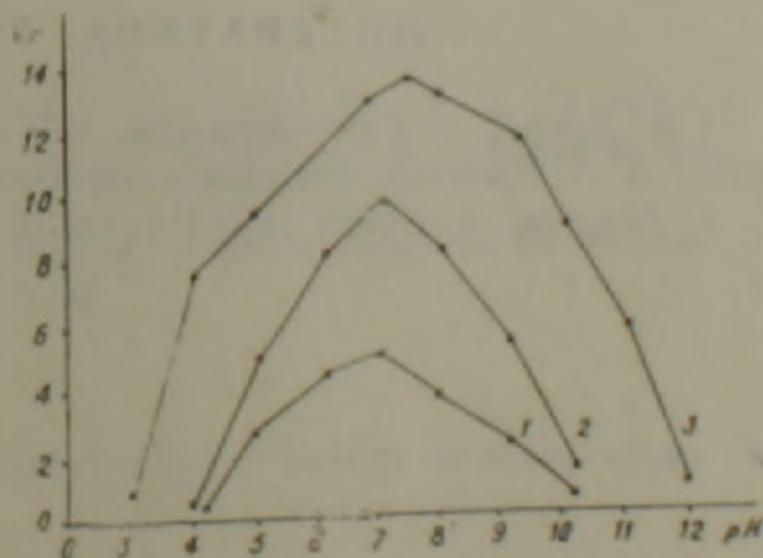


Рис. 2. Зависимость активности аргиназы почвы от pH среды. 1 — лугово-бурая; 2 — чернозем; 3 — горно-луговая

Активность аргиназы почвы в значительной степени зависит от кислотности среды, оптимум pH ее действия находится в нейтральном интервале pH 7,1—7,2. Его сдвиг в различных типах почв незначительный — 0,5 единиц (рис. 2).

Опыты показали, что тепловая инактивация аргиназы наступает при температуре выше 60°, определение ее активности проводится при 30°.

Таким образом, в почве обнаружена активность аргиназы, разработан метод ее определения и выявлены некоторые особенности действия этого фермента в почвах. Изучение активности аргиназы будет способствовать познанию азотистого обмена в почве с целью его регулирования в связи с питанием растений.

Институт почвоведения и
агрохимии МСХ Армянской ССР

Ա. Շ. ԳԱԼՍՏՅԱՆ, Վ. Խ. ՎԱՐԴԱՆՅԱՆ

Հողի արգինազայի ակտիվության որոշումը

Հողի ֆերմենտային սիստեմում հայտնաբերված է արգինազայի ակտիվությունը։ Այդ ֆերմենտի բարձր ակտիվություն ունեն լեռնամարդագետնային և անտառային հողերը, միջին՝ սևահողերը, ցածր՝ գորշ հողերը։ Աղուտներում արգինազայի ակտիվությունը չի հայտնաբերվում։ Հողի արգինազայի օլգոտիմում pH-ը գտնվում է չեղոք միջավայրում և ունի աննշան տեղաշարժ դեպի թույլ հիմնայինը։ Մշակված է հողի արգինազայի ակտիվության որոշման մեթոդը։

ЛИТЕРАТУРА — ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

¹ М. Диксон, Э. Уэбб, Ферменты, ИЛ, М., 1966. ² Номенклатура ферментов, М., 1966. ³ В. Л. Кретович, Введение в энзимологию, М., «Наука», 1967. ⁴ М. А. Давтян, Г. Х. Бунатян, Биохимия, 35, 412 (1970).

