

УДК 631.465

АГРОХИМИЯ

А. Ш. Галстян, С. А. Абрамян, Е. Н. Бадалян

Изучение ферментативной активности гумусовых веществ

(Представлено академиком АН Армянской ССР Г. С. Давтяном 14/VII 1979)

Источником почвенных ферментов являются растения, микроорганизмы и фауна почвы (1-2). Продуцированные организмами ферменты иммобилизуются почвенными коллоидами, приобретают высокую устойчивость и обуславливают биокаталитическую активность почвы. Часть внеклеточных ферментов в почве находится в слабоадсорбированном состоянии и выделяется с помощью фосфатных буферных растворов со слабоосновной реакцией (2-5).

Исследование биокаталитических свойств минеральных и органических фракций почвы представляет определенный интерес для познания ее генетических особенностей и сущности формирования плодородия. Изучение ферментативной активности гумусовых веществ проводится на препаратах, выделенных из почвы. Для этой цели необходимо применять мягкие экстрагенты, которые не инактивируют ферменты.

В настоящей работе показана возможность применения аминокспиртов в качестве экстрагентов для выделения гумусовых веществ с целью изучения их ферментативной активности. Исследования проводили на горно-луговой дерновой почве (A₁O—13 см, среднесуглинистая, гумус—15,7%, рН водной суспензии 5,1, сумма поглощенных оснований 28,8 мэкв на 100 г почвы, степень насыщенности—57,3%).

Для извлечения гумусовых веществ из почвы применяли 0,1; 0,2; 0,3 М растворы моно-, ди- и триэтаноламинов, которые обладают щелочными свойствами и хорошо растворимы в воде. Почву заливали раствором аминокспирта соответствующей концентрации, при соотношении 1:10, и тщательно перемешивали. Обработку почвы проводили при комнатной температуре, многократно, до осветления экстракта. После отстаивания суспензии (24 ч) вытяжку осторожно сливали через сифон в другой сосуд и добавляли коагулятор — насыщенный раствор Na₂SO₄. Полученные вытяжки гумусовых веществ для отделения от минеральных примесей пропускали через проточную суперцентрифугу при скорости вращения 18 тыс. об./мин. В экстракте гуминовые (ГК) и фульвокислоты (ФК) разделяли концентрированной серной кисло-

той (рН 1,5). Полученные гели ГК после сливания раствора ФК промывали водой, анализировали в целлофановых мешочках для снижения зольности препарата и высушивали при 50°. Одновременно препараты ГК и ФК выделяли с помощью 0,1 н. NaOH по общепринятой методике (6-8).

Исследования показали, что из горно-луговой почвы с высоким уровнем накопления гумуса аминосирты (0,2 М) выделяют намного больше гумусовых веществ, чем 0,1 н. NaOH. Причем препараты ГК, выделенные аминосиртами, содержат меньше золы и характеризуются большим выходом $C_{гк}$ (табл. 1).

Таблица 1
Выделение гуминовых кислот из почвы различными экстрагентами

Экстрагенты	Концентрация, М	рН	Вес препарата		Зола, %	С _{гк} , % от	
			г	%		песа почвы	C _{орг}
NaOH	0,1	12,9	19,0	10,1	9,0	1,24	13,6
Моноэтаноламин	0,2	11,3	53,0	279	6,3	1,94	21,8
Диэтаноламин	0,2	10,6	53,5	282	6,3	2,57	28,2
Триэтаноламин	0,2	10,3	79,5	418	6,0	2,34	25,7

Следует отметить, что препараты гумусовых веществ, выделенные аминосиртами, находятся в различном состоянии: гуминовые кислоты — в кристаллизованном, фульвокислоты — слабокристаллизованном, чешуйчатом при моноэтанолаmine и аморфном, несколько вязком при ди- и триэтаноламинах. Поэтому для выделения препаратов гумусовых веществ рекомендуется применять 0,2 М раствор моноэтаноламина.

В полученных препаратах гумусовых веществ (0,1 г) определяли активность некоторых ферментов (9). Препараты измельчали и просеивали через сито с диаметром отверстий 0,25 мм. Необходимо отметить, что гумусовые вещества в кристаллическом состоянии проявляют сравнительно меньшую активность ферментов, в частности тех, оптимум рН которых находится в слабокислом интервале. При растворении гумусовых веществ обнаруживается высокая ферментативная активность. В жидкой фазе создаются оптимальные условия для ферментативной реакции, так как граница раздела между молекулой фермента и субстратом снимается и имеет место гомогенный катализ. Для этого необходимо препараты гумусовых веществ предварительно растворить в 1—2 мл фосфатного буферного раствора (рН 8,0), затем определить активность ферментов.

Опыты показали, что препараты гумусовых веществ обладают очень высокой активностью ферментов (табл. 2). Ферменты гумусовых препаратов электрофоретически не разделяются, следовательно, они находятся в сложном комплексе с гуминовыми и фульвокислотами и иммобилизованы ими. В качестве контроля служили стерилизованные сухим жаром при 180° в течение 3—4 ч препараты. Стерилизация пол-

ностью не снимает ферментативное действие гумусовых веществ. Гуминовые и фульвокислоты как высокомолекулярные, сложные структурные образования обладают значительными каталитическими свойствами (10, 11). Приведенные данные показывают, что препараты гумусовых веществ, выделенные с помощью NaOH, имеют низкую фермен-

Таблица 2

Ферментативная активность препаратов гуминовых кислот, выделенных различными экстрагентами (на 1 г препарата)

Экстрагент	Инвертаза, мг глюкозы	Фосфатаза, мг P	Уреаза, мг NH ₃	АТФаза, мг P	Дегидрогеназы, мг ТФФ	Каталаза, см ³ O ₂
NaOH	34.7	21.4	22.9	5.2	0.4	4.0
Моноэтаноламин	66.9	34.3	28.1	28.0	16.4	16.0
Диэтаноламин	65.2	21.4	28.1	28.8	16.3	9.5
Триэтаноламин	65.9	27.4	28.1	29.2	16.5	10.0

тативную активность. NaOH, по сравнению с моноэтаноламином, сильно инактивирует дегидрогеназы — на 97,5%, каталазу — 75%, АТФазу — 81,4%, затем инвертазу — 48,1%. Уреаза и фосфатаза инактивируются меньше — соответственно на 18,5 и 37,6%. Аналогичная картина получена и для препаратов фульвокислот. Следовательно, NaOH является жестким экстрагентом гумусовых веществ, и его не целесообразно применять при изучении ферментативной активности препаратов гуминовых и фульвокислот. Для этой цели рекомендуется использовать 0,2 М раствор моноэтаноламина.

Таким образом, препараты гумусовых веществ обладают высокой активностью ферментов. Молекулы гуминовых и фульвокислот являются носителями при иммобилизации ферментов почв.

Институт почвоведения и агрохимии МСХ Армянской ССР

Ա. Շ. ԿԱՍՏՅԱՆ, Ի. Ա. ԱՔՐԱՀԱՄՅԱՆ, Ե. Ե. ԲԱԴԱԼՅԱՆ

Հումուսային էյուրերի ֆերմենտային ակտիվության ուսումնասիրությունը

Հողից հումուսային էյուրերի անջատման համար կիրառվել են նոր արտամղիչներ՝ մոնո-, դի- և տրիէթանոլամինների տարբեր խտություններով 4 կիրառված ամինապիրտները նատրիումի հիդրօքսիդի համեմատությամբ ավելի նուրբ արտամղիչներ են: Այդ նպատակի համար առաջարկվում է օգտագործել մոնոէթանոլամինի 0,2 մոլյարանոց լուծույթ: Պարզված է, որ հումինաթթուները և ֆուլվոթթուներն օժտված են ֆերմենտային ակտիվությամբ: Ուստի հումուսային էյուրերը հանդիսանում են հողի արտաբջջային ֆերմենտների կրողները: Այս հարցերի ուսումնասիրությունը բացահայտում է հողի ֆերմենտների գործունեության առանձնահատկությունները:

ЛИТЕРАТУРА — ЭРЦЧЦЬЛРԲՅՈՐԸ

- ¹ В. Ф. Куревич, Т. А. Щербакова. Почвенная энзимология. Минск, 1966. ² А. Ш. Галстян, Ферментативная активность почвы Армении. „Айастан“, Ереван, 1974.
³ M. H. Brigs, S. Segal, *Life Sci.*, 2, 1963. ⁴ Martin-Smitn, *Nature*, 197, 4965 (1963).
⁵ Т. А. Щербакова, В. П. Максимова, Н. А. Голушко. ДАН БССР, т. 14, № 7 (1970)
⁶ И. М. Колонов, Органическое вещество почвы. „Наука“, М., 1964. ⁷ Д. С. Орлов, А. А. Гришин, Н. Л. Еротичева, Практикум по биохимии гумуса. Изд. МГУ, М., 1969. ⁸ Д. С. Орлов, Гумусовые кислоты почвы. Изд. МГУ, М., 1974. ⁹ А. Ш. Галстян, Почвоведение, № 2, 1978. ¹⁰ A. D. Mc Laren, *Chemica Scripta*, № 8, 1975.
¹¹ A. D. Mc Laren, A. H. Pak:to, J. Varshad, *Soil. Science*, vol. 119, № 2 (1975).

