

УДК 631.465

АГРОХИМИЯ

С. А. Абрамян, А. Ш. Галстян

## Дегидрирующее свойство гумусовых препаратов почв

(Представлено чл.-корр. АН Армянской ССР Э. К. Африкяном 11/IX 1981)

Дегидрогеназная активность гумусовых препаратов почв в зависимости от субстратов дегидрирования до настоящего времени не изучена. Выяснение этого вопроса будет способствовать познанию сущности иммобилизации ферментов почвой и каталитических свойств гумусовых кислот.

Исследования проводили на препаратах гуминовых кислот (ГК) и фульвокислот (ФК), выделенных из выщелочных черноземов, красноземов, каштановых карбонатных, орошаемых лугово-бурых, дерново-подзолистых и горно-луговых дерновых почв. Гумусовые препараты из почвы были выделены общепринятыми методами (1-4).

Для определения дегидрогеназной активности гумусовых препаратов нами модифицирован ранее предложенный для почв метод (5), где в качестве акцептора водорода применяли бесцветные соли тетразолия (2,3,5-трифенилтетразолий хлористый, ТТХ,  $E_h=0,26$ ), которые восстанавливаются в красные соединения формазанов (трифенилформазан, ТФФ).

Навески (10—20 мг) тонко растертого гумусового препарата, пропущенного через сито с диаметром отверстий 0,01 мм, помещали в стаканы на 50 мл, прибавляли 3 мл фосфатного буфера рН 7,0. Затем прибавляли 1 мл 0,1 М раствора субстрата дегидрирования (глюкоза) и 1 мл 1%-ного раствора ТТХ. Определение проводили в анаэробных условиях, для чего стаканы после осторожного встряхивания помещали в вакуумный эксикатор, воздух эвакуировали при разряжении 10—12 мм рт. ст. в течение 10 мин. Эксикатор ставили в термостат при 30° на 24 ч. При выдерживании гумусовых препаратов с субстратами толуол в качестве антисептика не прибавляли, так как он сильно ингибирует действие дегидрогеназ. Контролем служили гумусовый препарат без ТТХ, стерилизованный препарат (полученный в автоклаве под давлением 1 атм. в течение 1 ч или под воздействием сухого жара пос-

ле предварительного увлажнения при 180° в течение 3 ч), а также субстраты без препарата. В течение инкубации эксикатор периодически встряхивали. После выдерживания гумусовых препаратов с субстратом в стаканы приливали 20 мл этилового спирта и с помощью стеклянной палочки содержимое перемешивали 5 мин. Полученный окрашенный раствор ТФФ фильтровали и колориметрировали, используя 5-миллиметровые кюветы и светофильтр с пропусканием лучей длиной волны 500—600 нм. Количество формазана в миллиграммах рассчитывали по стандартной кривой (0,1 мг в 1 мл). Активность дегидрогеназ выражали в миллиграммах ТФФ на 1 г гумусового препарата за 24 ч. Ошибка определения—до 8%.

Опыты показали, что препараты гуминовых кислот и фульвокислот различных типов почв без прибавления субстратов дегидрирования и коферментов—импортные препараты никотинамидадениндинуклеотид (НАД) и никотинамидадениндинуклеотид фосфат (НАДФ)—обладают дегидрирующим свойством (табл. 1). Это означает, что гумусовые препараты содержат некоторые дегидрогеназы и соответствующие им субстраты. При добавлении к гумусовым препаратам 0,5 мг коферментов НАД и НАДФ отмечается ускорение восстановления соли тетразолия, что свидетельствует о ферментативном характере этой реакции. Причем гумусовые препараты черноземов и горно-луговых почв больше нуждаются в коферментах, чем красноземов и бурых почв, а каштановых и дерново-подзолистых—занимают промежуточное положение. Дегидрирующая активность гумусовых препаратов черноземов и горно-луговых почв сравнительно выше, чем каштановых и дерново-подзолистых. Низкая активность обнаруживается в лугово-бурых почвах—ГК—2,7, ФК—0,8 мг ТФФ на 1 г препарата и красноземах—1,6 и 1,2 соответственно.

Таблица 1

Активность дегидрогеназ гумусовых препаратов почв  
(мг ТФФ на 1 г препарата)

Почва	Гумусовые препараты	Без коферментов и донаторов	Глюкоза			Глутаминовая кислота		
			без кофермента	НАД	НАДФ	без кофермента	НАД	НАДФ
Горно-луговая дерновая	ГК	6,4	15,2	19,8	21,4	6,9	9,0	12,6
	ФК	4,0	13,8	18,2	20,0	5,0	10,4	11,0
Чернозем выщелоченный	ГК	7,6	26,5	34,9	36,3	12,0	13,9	15,2
	ФК	6,0	20,8	32,1	30,8	6,8	12,7	12,0
Дерново-подзолистая	ГК	3,3	6,7	8,9	10,3	5,2	7,4	8,1
	ФК	2,8	5,8	7,4	6,4	4,5	5,0	8,0

Для обнаружения дегидрогеназной активности гумусовых препаратов в качестве донаторов водорода были взяты: моно-, ди- и полисахара, многоатомные спирты, органические кислоты, аминокислоты и глицерофосфат. Опыты показали, что все прибавленные донаторы во-

дорода, кроме глицерофосфата, подвергаются дегидрированию гумусовыми препаратами (табл. 2). Гумусовые препараты имеют специфическое отношение к субстратам дегидрирования. Сравнительно активно дегидрируются углеводы, слабо—многоатомные спирты, затем органические кислоты и аминокислоты, а глицерофосфат нуждается в коферментах НАД и НАДФ.

Таблица 2

Влияние донаторов водорода на дегидрогеназную активность гумусовых препаратов почв (мг ТФФ на 1 г препарата)

Донаторы водорода	Горно-луговая дерновая		Чернозем выщелоченный		Дерново-подзолистая	
	ГК	ФК	ГК	ФК	ГК	ФК
Без донаторов	6,2	4,6	7,4	5,8	3,8	3,0
Глюкоза	15,6	12,0	24,8	21,4	6,9	5,2
Арабиноза	7,1	6,2	10,2	8,4	6,0	4,7
Мальтоза	18,6	19,0	17,9	14,5	5,8	5,0
Сахароза	14,4	10,8	20,4	20,8	4,9	4,1
Маннит	6,9	5,8	11,4	9,7	5,8	3,8
Сорбит	7,5	5,8	13,5	11,4	5,4	4,2
Лимонная кислота	8,3	10,2	12,5	9,8	4,6	5,0
Янтарная кислота	7,8	8,5	11,8	10,3	5,0	5,9
Глутаминовая кислота	8,0	9,4	10,6	10,9	5,2	4,5
Глицерофосфат	4,8	4,0	6,0	4,9	3,9	2,8

В гумусовых препаратах обнаруживается весьма активная глюкодегидрогеназа (КФ 1.1.1.47), действие которой еще больше усиливается в присутствии коферментов (табл. 1). Следует отметить, что аналогичная закономерность обнаруживается в разных типах почв (6-8). Известно, что прибавление к почве гумусовых препаратов активизирует действие почвенных ферментов (9, 10).

С помощью фосфатного буфера установлен оптимальный pH действия дегидрогеназ гумусовых препаратов; он находится в основном интервале pH 8,0, а его сдвиг составляет единицу.

Таким образом, гумусовые препараты (ГК, ФК), выделенные из разных типов почв, обладают свойством восстанавливать соли тетразолия в формазаны, причем прибавление донаторов водорода и коферментов (НАД, НАДФ) ускоряет эту реакцию. Следовательно гумусовые вещества обладают дегидрирующим каталитическим свойством и являются носителями дегидрогеназ в почве. Установлено, что наиболее активно дегидрируются углеводы, затем многоатомные спирты, слабо—органические кислоты и аминокислоты. Полученные данные являются дополнительным критерием для диагностики почв и оценки степени их биологической активности.

Институт почвоведения и агрохимии  
МСХ Армянской ССР

## Հողի հումուսային պրեպարատների դեհիդրոգենացնող հատկությունը

Ուսումնասիրված է տարրեր հողատիպերից անջատված հումինաթթուների և ֆուլվաթթուների դեհիդրոգենացնող հատկությունը՝ կախված ջրածնի դոնատորների բնույթից: Հաստատված է, որ հողերի հումուսային նյութերն օժտված են դեհիդրոգենազային ակտիվությամբ: Հումուսային նյութերի կողմից առավել ակտիվ դեհիդրոգենացվում են շաքարները, այնուհետև բազմատոմ սպիրտները, օրգանական թթուները և ամինաթթուները: Գլիցերաֆոսֆատը դեհիդրոգենացվում է կոֆերմենտների առկայությամբ: Պարզված է, որ հումուսային նյութերը հողում դեհիդրոգենազների հիմնական կրողներն են այդ ֆերմենտների իմորտիլիզացման ընթացքում:

Ուստի հողի հումուսային նյութերն ունեն կատալիտիկ բարձր ակտիվություն, որի որոշումը հնարավորություն է տալիս գնահատել նրանց կենսաբանական ակտիվությունը:

## ЛИТЕРАТУРА — ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

- <sup>1</sup> М. М. Кононова, Органическое вещество почвы, Изд. АН СССР, М., 1963.  
<sup>2</sup> Д. С. Орлов, Л. А. Гришина, Практикум по биохимии гумуса, Изд. МГУ, 1981.  
<sup>3</sup> Д. С. Орлов, Гумусовые кислоты почв, Изд. МГУ, 1974. <sup>4</sup> А. Ш. Галстян, С. А. Абрамян, Е. Н. Бадалян, ДАН АрмССР, т. 70, № 1 (1980). <sup>5</sup> А. Ш. Галстян, Почвоведение, № 2, 1978. <sup>6</sup> А. Ш. Галстян, ДАН СССР, т. 156, № 2 (1964). <sup>7</sup> I. Kiss, M. Voagu Symposium on Methods in soil. Biologu, Bucharest, 1965. <sup>8</sup> L. E. Casida, D. A. Klein, T. Santoro, Soil Sci., vol. 98 (1964). <sup>9</sup> В. Г. Дудченко, А. К. Бескровный, А. В. Попова и др., Сборник докладов международного Симпозиума, т. 3, Брно, 1979  
<sup>10</sup> W. Pflug, GES, Cöttingen, Bd. 29, H. 1 (1979).