

УДК 631.465

БИОХИМИЯ

С. А. Абрамян, А. Ш. Галстян

Об иммобилизации инвертазы в почве

(Представлено академиком АН Армянской ССР Э. К. Африкяном 1/III 1983)

Вопросы иммобилизации инвертазы (β -фруктофуранозидазы, КФ 3.2.1.26) в почве до настоящего времени не изучены. Установлено, что почва обладает высоким иммобилизующим свойством в отношении внеклеточных ферментов, которые химически комплексируются с ее минеральными и органическими коллоидами. Это придает ферментам сравнительно высокую устойчивость. Их определение позволяет выявить генетические особенности почв, оценить биологическую активность и степень плодородия (¹⁻⁵).

В данной работе ставилась цель выявить основные носители при иммобилизации внеклеточной инвертазы в почве. Для этого из почвы были выделены препараты гуминовых кислот, фульвокислот, негидролизующих коллоидов и остатка почвы, которые представляют в основном ее минеральную часть (^{6,7}). Исследования проводили на различных типах почв: горно-луговая дерновая (A_d 0—11 см), среднесуглинистая, гумус 15,7%, рН водной суспензии 5,0, сумма обменных катионов 23,0 мэкв на 100 г почвы, степень насыщенности основаниями 61,7%, активность инвертазы 123,0 мг глюкозы на 1 г почвы; чернозем выщелоченный (A_d 0—14 см), тяжелосуглинистый, гумус 11,6%, рН 6,6, сумма обменных катионов 63,9 мэкв, активность инвертазы 74,6 мг; каштановая карбонатная (A 0—16 см), среднесуглинистая, гумус 3,4%, рН 8,0, сумма обменных катионов 32,8 мэкв, активность инвертазы 36,4 мг. Для определения активности инвертазы препараты гумусовых веществ подвергали диализу и высушивали при 40—45°.

Навески (50 мг) свежесыщенного тонкорастертого гумусового препарата и по 1 г негидролизующих коллоидов и остатка почвы помещали в колбы емкостью 50 мл, прибавляли 5 мл фосфатного буфера рН 8,0 и 0,2 мл толуола в качестве антисептика. Колбы с содержимым оставляли на сутки для пептизации препаратов, затем прибавляли 5 мл 6%-ного раствора сахарозы, приготовленного на фосфатном буфере рН 5,0 в случае гумусовых препаратов не насыщенных основаниями почв и рН 7,0—насыщенных. Контролем служили препараты без субстрата для учета их редуцирующих свойств, стерилизованные препараты (в автоклаве под давлением 1 ат. 1 ч или воздействуя сухим жаром при 180° в течение 3 ч, после предварительного увлажнения) и субстраты без препаратов. Колбы закрывали корковыми пробками, осторожно встряхивали и помещали в термостат при 30° на 24

ч. В процессе взаимодействия субстрата с гумусовыми препаратами колбы периодически встряхивали. По истечении соответствующего времени в колбы прибавляли 20 мл дистиллированной воды и фильтровали. В фильтрате (10 мл) редуцирующие сахара определяли по Бертрану (⁵). Активность инвертазы выражали в миллиграммах глюкозы на 1 г препарата.

Исследования показали, что гумусовые препараты—гуминовые кислоты и фульвокислоты обладают сравнительно более высокой активностью инвертазы, чем негидролизующиеся коллоиды и остаток почвы (таблица). Следовательно, внеклеточная инвертаза почвы в основном иммобилизована гумусовыми веществами. В не насыщенных основаниями горно-луговых почвах более высокой активностью инвертазы обладают препараты фульвокислот, а в насыщенных (чернозем, каштановая)—гуминовых кислот. Причем наблюдается определенное соответствие действия инвертазы в препаратах гумусовых кислот их соотношению в почве. Как известно, в насыщенных основаниями почвах гуминовые кислоты превалируют над фульвокислотами, отношение $C_{гк} : C_{фк}$ больше единицы, а в ненасыщенных—меньше единицы. Высокая активность инвертазы в препаратах фульвокислот не насыщенных основаниями почв при непосредственном ее определении связана также со степенью пептизации гелей гумусовых препаратов. Гуминовые кислоты по сравнению с фульвокислотами пептизируются труднее. Опыты показали, что при дальнейшей пептизации препаратов гумусовых веществ активность инвертазы в них возрастает. Этот факт был установлен при повторном определении активности инвертазы в одних и тех же препаратах по мере их пептизации. Причем при каждом определении реакция проводилась в присутствии толуола в качестве антисептика.

Активность инвертазы препаратов, выделенных из различных типов почв (n=5)

Препарат	П о ч в а								
	горно-луговая			чернозем			каштановая		
	$M \pm m$	V	P	$M \pm m$	V	P	$M \pm m$	V	P
Гуминовая кислота	75.9 ± 3.1	8.1	4.0	63.4 ± 2.6	8.2	4.1	38.6 ± 1.3	6.7	3.3
Фульвокислота	149.9 ± 13.5	17.9	9.0	25.5 ± 2.1	16.2	8.2	17.4 ± 1.3	14.4	7.5
Негидролизующиеся коллоиды	2.9 ± 0.3	21.4	10.7	9.2 ± 1.3	33.7	14.1	7.2 ± 0.5	13.9	6.9
Остаток почвы	9.4 ± 1.4	24.5	14.9	5.1 ± 0.8	25.5	15.7	8.2 ± 0.1	1.8	1.2

Активность инвертазы гумусовых препаратов по сравнению с почвой со временем инактивируется значительно, что, по-видимому, связано с присутствием в них свободных ферментов, деиммобилизованных из минеральной части почвы в процессе препаративного выделения гуминовых и фульвокислот.

Приведенные данные свидетельствуют о высоком каталитическом свойстве препаратов гумусовых веществ гидролитически расщеплять β -фруктофуранозидную связь субстрата сахарозы. Активность инвертазы находится в тесной коррелятивной связи с содержанием гумуса в почве— $r=0,85+0,06$, $t=14,2$, $n=40$. Инвертирующее свойство негидролизующих коллоидов и остатка почвы низкое или вовсе не обнаруживается, причем коэффициент вариации сравнительно высокий, а ошибка определения большая.

Изучение pH-зависимости препаратов гумусовых веществ свидетельствует о существовании двух форм инвертазы в почве (⁸). Для гумусовых веществ не насыщенных основаниями почв оптимум pH-действия фермента 5,0, а насыщенных—7,0. Это необходимо учитывать при биодиагностике и индикации различных типов почв и оценке их биологической активности.

Институт почвоведения и агрохимии
МСХ Армянской ССР

Ս. Ա. ԱՐԲԱՀԱՄԵԱՆ, Ա. Շ. ԴԱԼՍՅԱՆ

Ինվերտազայի իմոբիլիզացումը հողում

Ուսումնասիրված է սևահողի, լեռնա-մարգագետնային և շագանակագույն հողերի կողմից ինվերտազա ֆերմենտի իմոբիլիզացումը: Այս նրպատակով ուսումնասիրվող հողերից անջատվել են հումինաթթուների, ֆուլվոթթուների, չհիդրոլիզվող կոլոիդների և անօրգանական մասի պրեպարատներ և որոշվել նրանց ինվերտազայի ակտիվությունը: Պարզվել է, որ հումինաթթուների և ֆուլվոթթուների պրեպարատներն ունեն ինվերտազայի ավելի բարձր ակտիվություն, քան չհիդրոլիզվող կոլոիդները և հողի մնացորդը: Ուստի հողում արտաբջջային ինվերտազան հիմնականում կապված է հումինաթթուների և ֆուլվոթթուների հետ և վերջիններս հանդիսանում են այդ ֆերմենտի կրողները: Հողի կողմից ինվերտազայի իմոբիլիզացումը նրան տալիս է բարձր կայունություն:

ЛИТЕРАТУРА — ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

- ¹ Т. А. Щербакова, В. П. Максимова, Н. А. Галушко, ДАН БССР, т. 14, 7 (1970).
² J. M. Sarkar, L. Battistie, J. Mayaudon, Soil Biol. and Biochem., v. 12, 4 (1980).
³ R. G. Burns, M. H. El-sayed, A. D. McLaren, Soil Biol. Biochem., v. 4, (1972). ⁴ B. Ceccanti, P. Nannipieri, S. Cervelli, Saqui, Soil Biol. Biochem., v. 10 (1978). ⁵ А. Ш. Галстян, Ферментативная активность почв Армении, Ереван, 1974. ⁶ Д. С. Орлов, Л. А. Гришина, Практикум по химии гумуса. Изд. МГУ, 1981. ⁷ М. М. Кононова, Органическое вещество почвы, Наука, М., 1983. ⁸ А. Ш. Галстян, С. А. Абрамян, ДАН АрмССР, т. 71, № 3 (1980).