

УДК 635.465

АГРОХИМИЯ

С. А. Абрамян, А. Ш. Галстян

Об иммобилизации фосфатазы почвой

(Представлено академиком АН Армянской ССР Э. Г. Африкяном 26/X 1983)

Вопросы иммобилизации внеклеточной фосфатазы (КФ 3.1.3.1; 3.1.3.2) гумусовыми препаратами и неорганическими коллоидами почв до настоящего времени не изучены. Фосфатаза осуществляет мобилизацию доступного для растений фосфора из фосфорорганических соединений почвы и регулирует его режим, поэтому изучение вышеуказанных вопросов представляет определенный интерес. Известно, что иммобилизация внеклеточных ферментов почвой приводит к стабилизации их структуры и сохранению в активном состоянии (¹⁻⁹).

Для выявления основных носителей при иммобилизации фосфатаз почвой были выделены препараты гуминовых кислот (ГК), фульвокислот (ФК), негидролизующиеся коллоиды и остаток почвы, которые представляют в основном ее минеральную часть (¹⁰⁻¹¹). Исследования проводили на различных типах почв: чернозем выщелоченный (А_d 0—14 см), тяжелосуглинистый, содержание гумуса 11,6%, рН водной суспензии 6,6, сумма обменных катионов 63,9 мэкв на 100 г почвы; горнолуговая дерновая (А_d 0—11 см), среднесуглинистая, содержание гумуса 15,7%, рН 5,0, сумма обменных катионов 23,0 мэкв, степень насыщенности основаниями 61,7%; каштановая карбонатная (А 0—16 см), среднесуглинистая, содержание гумуса 3,0%, рН 8,0, сумма обменных катионов 32,8 мэкв; орошаемая лугово-бурая (А_n 0—28 см), тяжелосуглинистая, содержание гумуса 2,5%, рН 8,1, сумма обменных катионов 29,5 мэкв (АрмССР); дерново-подзолистая (А₁ 0—10 см), суглинистая, содержание гумуса 3,8%, рН 5,2, сумма обменных катионов 11,2 мэкв на 100 г почвы, степень насыщенности 51,8% (Московская обл.); краснозем (А₁ 0—16 см), глинистый, содержание гумуса 5,1%, рН 4,5, сумма обменных катионов 9,4 мэкв, степень насыщенности 27,7% (ГрузССР). Для определения активности фосфатазы препараты гумусовых веществ подвергли диализу и высушивали при 40—45°.

Навески (50 мг) свежесвыделенного тонкорастертого гумусового препарата помещали в колбы емкостью 50 мл, прибавляли 2 мл этаноламин-ацетатного буфера рН 8,0, 0,2 мл толуола в качестве антисептика и оставляли на сутки для пептизации. Затем прибавляли 1 мл 0,1 М раствора глицерофосфата натрия (фенолфталеинфосфата натрия, п-нитрофенилфосфата натрия), приготовленного на этаноламин-ацетатном буфере рН 5,4 при определении кислой и рН 8,0—щелочной фосфатазы. рН среды проверяли индикаторной бумагой и при сдвигах до-

водили до требуемого значения. Контролями служили препараты с буфером и субстрат без препарата. Стерилизованные препараты не используются в качестве контроля, так как в процессе стерилизации происходит расщепление фосфорорганических соединений и получаются завышенные данные. Колбы закрывали корковыми пробками и ставили в термостат при 30° на 1 ч. В течение времени взаимодействия субстрата с препаратами колбы периодически встряхивали. После инкубации в колбы добавляли 50 мл буферной смеси Труога, встряхивали на ротаторе 30 мин для экстрагирования фосфорной кислоты и содержимое колб фильтровали. В фильтрате фосфор определяли по Труогу—Мейеру. Для этого 10 мл фильтрата переносили в 50 мл колбы, прибавляли 2 мл комплексообразователя—сернокислого молибдата аммония. Следует отметить, что растворы гумусовых кислот бывают окрашенными, что мешает колориметрическому определению фосфора. Однако после прибавления сернокислого молибдата аммония гумусовые кислоты выпадают в осадок. Полученный раствор с осадком гумусовых кислот фильтровали в 50-миллилитровые мерные колбы, доводили до метки дистиллированной водой, перемешивали, затем приливали 3 капли восстановителя—2,5%-ного раствора хлористого олова, немедленно перемешивали и в течение 15—20 мин фотоколориметрировали, используя 5-миллиметровые кюветы и светофильтр с пропусканием лучей длиной волны 650 нм. Количественный учет фосфорной кислоты, отщепленной от глицерофосфата под действием фосфатазы, производили с помощью калибровочного графика KH_2PO_4 . Активность фосфатазы выражали в миллиграммах P на 100 г препарата за 1 ч. Ошибка определения до 8%.

Исследования показали, что гумусовые препараты—гуминовые кислоты и фульвокислоты, выделенные из разных типов почв, обладают сравнительно высокой активностью фосфатазы (таблица). В негидролизующих коллоидах и остатке почвы активность фосфатазы очень незначительна. Следовательно, фосфатаза иммобилизована в основном гумусовыми веществами. В ненасыщенных основаниями почвах—красноземе, дерново-подзолистой, горно-луговой дерновой—препараты фульвокислот обладают большей активностью фосфатазы, чем гуминовых кислот. Как известно, в этих почвах в результате специфических условий почвообразования, в частности повышенной влажности, низкой температуры, слабощелочной и кислой среды, фульвокислоты преобладают над гуминовыми кислотами. Поэтому количество фермента, скомплексированного с фульвокислотами, больше, чем с гуминовыми кислотами. Кроме того, по-видимому, часть фермента в процессе выделения препаратов переходит в более растворимую фракцию фульвокислот.

В насыщенных основаниями почвах—черноземе, каштановой и орошаемой лугово-бурой—фосфатаза более активна в препаратах гуминовых кислот. Это обусловлено преобладанием в составе гумуса насыщенных оснований почв гуминовых кислот, а также степенью пептизации гелей гумусовых препаратов. Гуминовые кислоты насыщенных оснований почв пептизируются лучше, чем фульвокислоты.

Таким образом, препараты гуминовых кислот и фульвокислот, вы-

Активность фосфатазы в препаратах гуминовых кислот,
фульвокислот, негидролизующих коллоидах и остатке почвы
(мг Р на 100 г препарата, n=5)

Почва	Препарат	Активность фосфатазы M±m	Коэффициент вариации, %	Ошибка опреде- ления, %
Краснозем	ГК	12,6±0,8	14,7	6,3
	ФК	17,0±0,7	8,9	4,1
	Коллоиды	1,3±0,2	28,5	15,4
	Остаток	0,7±0,2	58,3	33,3
Дерново- подзолистая	ГК	13,4±0,6	9,8	4,5
	ФК	18,1±0,8	9,8	4,4
	Коллоиды	0,3±0,06	50,0	20,0
	Остаток	0,2±0,03	35,0	15,0
Горно-луговая дерновая	ГК	21,6±0,6	5,8	2,8
	ФК	30,7±3,6	25,4	11,7
	Коллоиды	0,3±0,1	66,6	33,3
	Остаток	0,4±0,02	25,0	5,0
Чернозем выщелоченный	ГК	50,2±1,7	7,4	3,4
	ФК	13,6±1,0	15,4	7,4
	Коллоиды	1,2±0,2	33,3	16,7
	Остаток	0,5±0,04	20,0	8,0
Каштановая карбонатная	ГК	36,5±1,7	10,3	4,7
	ФК	7,5±0,5	15,3	6,7
	Коллоиды	0,3±0,02	16,7	6,7
	Остаток	0,5±0,04	20,0	8,0
Орошаемая лугово-бурая	ГК	23,9±2,0	18,7	8,4
	ФК	5,2±0,5	19,2	9,6
	Коллоиды	0,8±0,1	31,3	12,5
	Остаток	0,5±0,2	70,0	40,0

деленные из различных типов почв, по сравнению с негидролизующими коллоидами и остатком, обладают значительной активностью фосфатазы, указывающей на то, что внеклеточная фосфатаза в почве иммобилизована гумусовыми веществами.

Научно-исследовательский институт
почвоведения и агрохимии МСХ
Армянской ССР

Ս. Ա. ԱՐՐԱՀԱՄՅԱՆ, Ա. Շ. ԳԱԼՍՅԱՆ

Հողում ֆոսֆատազայի իմոբիլիզացման մասին

Ուսումնասիրված է տարբեր հողատիպերից անջատված հումինաթթու-
ների, ֆուլվաթթուների, շիդրոլիզվող կոլոիդների և մնացորդի ֆոսֆատա-
զային ակտիվությունը: Հաստատված է, որ հողերի հումուսային նյութերը
օժտված են բարձր ֆոսֆատազային ակտիվությամբ, քան կոլոիդները և հո-

դի մնացորդը, որը նրա հիմնական հանքային մասն է կազմում: Պարզված է, որ հիմքերով հազեցված հողերում ֆոսֆատազայի հիմնական կրողները հումինաթթուներն են, իսկ չհազեցվածներում՝ ֆուլվաթթուները: Ուստի հողի հումուսային նյութերը ունեն կատալիտիկ բարձր ակտիվություն և իրագործում են մատչելի ֆոսֆորի մորֆիզացումը բույսերի սննդառությանում: Այդ ցուցանիշի որոշումը հնարավորություն է տալիս դնահատել հողերի կենսաբանական ակտիվությունը:

ЛИТЕРАТУРА — ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

- ¹ В. Ф. Купревич, Т. А. Щербакова, Почвенная энзимология, Минск, 1966. ² А. Ш. Галстян, Ферментативная активность почв Армении, Ереван, 1974. ³ Т. А. Щербакова, В. П. Максимова, Н. А. Галушко, ДАН БССР, т. 14, № 7 (1970). ⁴ М. Briggs, Segal, Life Sci., v. 2, № 1 (1963). ⁵ С. А. Абрамян, А. Ш. Галстян, ДАН АрмССР, т. 73, № 5 (1981). ⁶ С. А. Абрамян, А. Ш. Галстян, Докл. ВАСХНИЛ, т. 5 1982. ⁷ С. И. Шурухина, С. В. Мохова, Вестн. ЛГУ, Биология. № 3, 1977. ⁸ R. G. Burns, M. H. Elsayed, A. D. McLaren, Soil. Biol. Biochem., v. 4 (1972). ⁹ В. Ciccantl, P. Nannipieri, S. Cervelli, Soil. Biol. Biochem., v. 10 (1978). ¹⁰ М. М. Кононова, Органическое вещество почвы, Наука, М., 1963. ¹¹ Д. С. Орлов, Л. А. Гришина, Практикум по химии гумуса, Изд. МГУ, 1981.