

Биология

УДК 631.465+541.127+632.9

Г. А. ПАРСАДАНЯН

ФОСФАТАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ КОРИЧНЕВЫХ ЛЕСНЫХ И ДЕРНОВО-КАРБОНАТНЫХ ПОЧВ, НЕИНФИЦИРОВАННЫХ И ИНФИЦИРОВАННЫХ БАКТЕРИЯМИ ВИДА *BACILLUS THURINGIENSIS BERLINER*

Изучено влияние новой препаративной формы инсектина (титр 60 млрд. спор/г) на фосфатазную активность коричневых лесных и дерново-карбонатных почв. Показано, что слабая обработка инсектином не влияет, а сильная даже увеличивает фосфатазную активность исследуемых почв.

В системе мероприятий по защите сельскохозяйственных и лесных культур от вредителей химический метод является одним из самых эффективных. Однако широкое применение химических средств защиты растений приводит к ряду нежелательных последствий. В связи с этим наметились тенденции к ограничению применения ядохимикатов и к замене их препаратами, содержащими живые микроорганизмы или же продукты их метаболизма. Эти препараты не только более безопасны, но в ряде случаев более экономичны [1]. При применении последних необходимо контролировать их воздействие на живую фазу почвы, одним из индикаторов состояния которой может служить ферментативная активность, характеризующая способность почвы к биохимической трансформации природных и ксенобиотических соединений [2].

В настоящее время на практике широко используются препараты, содержащие споры и кристаллические включения *Bacillus thuringiensis Berliner*, в том числе и инсектин (титр 60 млрд. спор/г).

Следовательно, изучение влияния препаративной формы инсектина на фосфатазную активность почв имеет теоретическое и практическое значение для исключения отрицательных последствий, возникающих при применении новых препаратов, на ферментативную активность почв и окружающую среду в целом.

**Объекты и методы исследований.** Исследования проводили на коричневых лесных и дерново-карбонатных почвах, подвергшихся слабой и сильной обработке инсектином: при слабой – почву опрыскивали раствором препарата из пульверизатора, а при сильной – хорошо смачивали тем же раствором. Контролем служили образцы почв, неинфицированных препара-

том. Фосфатазную активность измеряли по общепринятой методике на основе колориметрического определения концентрации ортофосфата, образующегося в результате гидролиза субстрата под действием почвенной фосфатазы [3]. Субстратом служил Na-β-глицерофосфат.

**Экспериментальная часть.** Установлено, что для всех изученных почв (инфицированных и неинфицированных) скорость фосфатазной реакции по мере роста концентрации субстрата растет, а при высоких концентрациях — уменьшается (рис. 1). Максимумы на этих кривых свидетельствуют о том, что действие фосфатазы в исследуемых почвах подчиняется механизму субстратного ингибирования, ранее обнаруженного для фосфатазы в водном растворе [4] и в почвах [5–8]. Поскольку полученные максимумы симметричны относительно  $S_{\text{опт}}$ , то число дополнительных молекул субстрата, присоединяющихся к кинетически активному комплексу ES, равно единице. Следовательно, образующийся кинетически неактивный комплекс имеет состав  $ES_2$  [9].

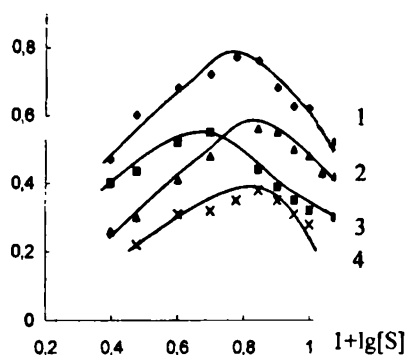


Рис. 1. Зависимость скорости фосфатазной реакции от концентрации субстрата в полулогарифмических координатах инфицированных (кр. 1, 2), контрольных образцов коричневой лесной (кр. 1, 3) и дерново-карбонатной почв (кр. 2, 4).

Изучение кинетики фосфатазной активности почв показало, что активности слабо обработанных и необработанных инсектином образцов мало отличаются, поэтому ниже приведены расчеты только для сильно обработанных и необработанных образцов коричневой лесной (рис. 1, кр. 1 и 3) и дерново-карбонатной почв (кр. 2 и 4) соответственно.

Сильная обработка образцов изучаемых почв бактериальным препаратом при всех концентрациях субстрата увеличивает скорость их фосфатаз-

ной реакции, причем в коричневой лесной — в большей мере, чем в дерново-карбонатной (рис. 1).

Максимальные скорости фосфатазной реакции достигаются при оптимальных значениях концентраций субстрата ( $S_{\text{опт}}$ ), равных  $0.64$  и  $0.71M$  для сильно обработанных (кр. 1) и необработанных (кр. 3) коричневых лесных почв и  $0.50$  и  $0.70M$  соответственно для дерново-карбонатных (кр. 2 и 4, см. также табл.).

При малых концентрациях субстрата  $[S]_0 < [S]_{\text{опт}}$  кинетические данные удовлетворяют уравнению Михаэлиса–Ментен, для расчета постоянных которого, кинетические данные фосфатазной реакции почв представлены в координатах двойных обратных величин (рис. 2а и 3а).

Кинетические данные фосфатазной активности при высоких концентрациях субстрата ( $[S]_0 > [S]_{\text{опт}}$ ) удовлетворяют зависимости  $1/V$  от  $[S]$  (рис. 2б и 3б).

Значения постоянных фосфатазной реакции инфицированных и неинфицированных почв (0.5г почвы + 1.5мл раствора субстрата за 1 час взаимодействия)

№ образца		1	2	3	4
$S_{\text{огт}}, M$		0.64	0.50	0.71	0.70
Параметр	Условия				
$V_m$ , отн. ед	$[S]_0 < [S]_{\text{огт}}$	1.25	1.05	0.95	0.50
	$[S]_0 > [S]_{\text{огт}}$	1.25	1.0	1.0	0.48
$K_m, M$	$[S]_0 < [S]_{\text{огт}}$	0.33	0.41	0.54	0.25
	$[S]_0 > [S]_{\text{огт}}$	0.33	0.47	0.54	0.28
$K_s, M$		1.23	0.53	0.55	1.74
$V_m \cdot 10^3, M / 0.5z$ почвы: ч	$[S]_0 < [S]_{\text{огт}}$	2.50	2.10	1.90	1.0
	$[S]_0 > [S]_{\text{огт}}$	2.50	2.0	2.0	0.96

На основании рис. 2 и 3 рассчитаны кинетические ( $V_m$  и  $K_m$ ) и термодинамическая ( $K_s$ ) постоянные фосфатазной реакции исследуемых почв.

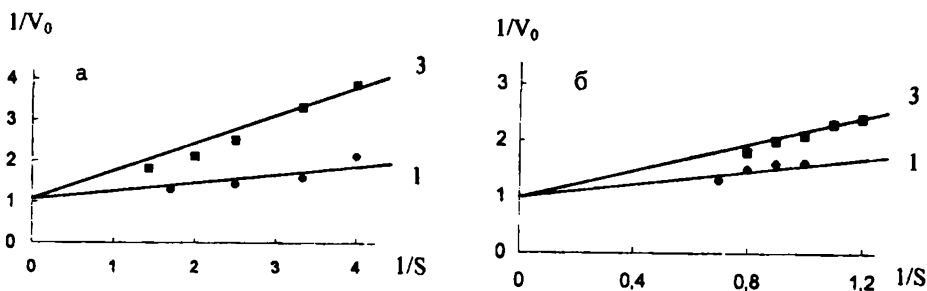


Рис. 2. Линеаризация кинетических данных фосфатазной реакции инфицированного (1) и контрольного (3) образцов коричневой лесной почвы при  $[S]_0 < [S]_{\text{огт}}$  (а) и  $[S]_0 > [S]_{\text{огт}}$  (б).

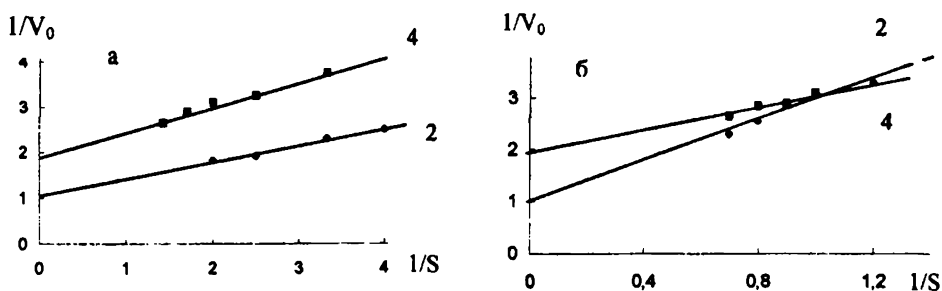


Рис. 3. Линеаризация кинетических данных фосфатазной реакции инфицированного (2) и контрольного (4) образцов дерново-карбонатной почвы при  $[S]_0 < [S]_{\text{огт}}$  (а) и  $[S]_0 > [S]_{\text{огт}}$  (б).

Из таблицы видно, что значения  $V_m$  и  $K_m$ , определенные для каждого образца в двух концентрационных областях субстрата ( $[S]_0 < [S]_{\text{огт}}$  и

$[S]_0 > [S]_{\text{онт}}$ ), совпадают. Это свидетельствует о том, что сделанное предположение о подчинении фосфатазной реакции почв механизму субстратного ингибирования, а также принятая схема процесса справедливы.

Чтобы полученные в относительных единицах значения постоянных перевести в абсолютные, пользовались калибровочной кривой оптической плотности  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  в воде (рис. 4). При этом  $V_m$  выражается в  $M/0,5g$  почвы-ч, а  $K_m$  и  $K_s'$  – в  $M$ .

Обобщая получен-

ные результаты, можно заключить, что слабая обработка исследуемых почв практически не влияет, а сильная – увеличивает их фосфатазную активность. Это, очевидно, связано с тем, что внесенные в почву с бактериальными препаратами микроорганизмы также обладают определенной фосфатазной активностью.

Кафедра экологии и охраны природы

Поступила 13.07.2001

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Саркисян М.А. Биоэкологические основы применения бактериальных препаратов против главных вредителей сельскохозяйственных культур и леса в Армении – Автореф. дис. на соискание уч. ст. докт. биол. наук. Научный центр земледелия и защиты растений. Ер., 1999.
2. Егорова Е.В. – Вестн. МГУ, сер. 17. Почвоведение, 1995, № 3, с. 64.
3. Галстян А.Ш. – Почвоведение, 1978, № 2, с. 107.
4. Бресткин А.П., Новикова Н.В., Прокофьева Е.Г., Ржегина Н.И. – Биохимия, 1961, т. 26, № 2, с. 226.
5. Паников Н.С., Ксезенко С.М. – Почвоведение, 1982, №11, с. 43.
6. Геворкян М.Г., Вартанян В.Т., Галстян А.Ш., Бейлерян Н.М. – Почвоведение, 1987, №5, с. 85.
7. Геворкян М.Г., Саркисян К.В. – Биолог. ж. Армении, 1999, т. 52, № 2, с. 133.
8. Парсаданян Г.А., Григорян К.В., Геворкян М.Г. – Сб. статей молодых ученых, (Ест. Науки). Ер., 2000, № 2, с. 116.
9. Келети Т. Основы ферментативной кинетики. М.: Мир, 1990, 348 с.

#### Գ.Ա. ՓԱՐՍԱԴԱՆՅԱՆ

*BACILLUS THURINGIENSIS* BERLINER ՏԵՍԱԿԻ ԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐՈՎ ՎԱՐԱԿՎԱԾ ԵՎ ԶՎԱՐԱԿՎԱԾ ԱՆՏԱՌԱՅԻՆ ԴԱՐՉՆԱԳՈՒՅՆ ԵՎ ՃՍԱԿԱՐԲՈՆԱՏԱՅԻՆ ՀՈՂԵՐԻ ՖՈՍՖԱՏԱԶԱՅԻՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ

#### Ա մ փ ո փ ո ս մ

Ուսումնասիրված է ինսեկտիցի մոր (60 մլրդ.սպոր/գ) պատրաստուկա-  
յին ձևի ազդեցությունը գորշ անտառային և ճմակարթոնատային հողերի

Ֆոսֆատազային ակտիվության վրա: Ցույց է տրված, որ թույլ մշակումը  
ինսեկտինով չի ազդում, իսկ ուժեղ մշակումը նույնիսկ մեծացնում է հետա-  
զոտված հողերի ֆոսֆատազային ակտիվությունը:

G.A. PARSADANIAN

PHOSPHATASE ACTIVITY OF FOREST CHESTNUT AND CARBONATE  
SOILS, NONINFECTED AND INFECTED BY *BACILLUS THURINGIENSIS*  
*BERLINER* BACTERIA

Summary

It have been studied the influence of new form of insectine (titr 60 mld  
spor/g) on phosphatase activity of forest chestnut and carbonate soils. It has been  
shown that low insectine treatment doesn't influence while high treatment even  
increases the phosphatas activity of investigated soils.