

УДК 631.461

DOI: 10.31040/2222-8349-2018-0-3-45-51

О КИНЕТИКЕ ФЕРМЕНТАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ В ПОЧВАХ

© Ф.Х. Хазиев

Изучены кинетические параметры ферментативной активности генетического ряда почв Предуралья по показателям константы Михаэлиса (K_m), максимальной скорости ферментативной реакции ($V_{\max}$), температурного коэффициента (Q_{10}), энергии активации (E) и теплоты активации (ΔH), которые характеризуют скорость реакции в зависимости от особенностей ферментов и условий среды. В почвах K_m более стабильна, чем $V_{\max}$ и по этим показателям черноземы близки между собой. K_m почвенных ферментов сходны с K_m микроорганизмов. Термодинамические константы ферментативных реакций в пределах значений температуры 10–50°C в генетически различных почвах не одинаковы. Предполагается, что при низкой температуре в реакции участвуют преимущественно свободные и лабильно связанные ферменты, с повышением температуры активируются доминирующие в почве иммобилизованные ферменты, характеризующиеся высокой энергией активации. Характер изменений кинетических параметров свидетельствует о гетерогенности почвенных ферментов по состоянию (свободные и связанные) и составу, а также об идентичности их по состоянию и составу в генетически близких почвах и о преимущественно микробиальном происхождении ферментов почвы.

Ключевые слова: почвенные ферменты, кинетика, константы Михаэлиса, максимальная скорость ферментативных реакций, термодинамические параметры.

Кинетический подход, состоящий в количественном описании протекания метаболической реакции на основе молекулярных представлений и законов химической кинетики и термодинамики, является перспективным в исследовании различных аспектов ферментативной активности почвы. Кинетические параметры ферментативных процессов в почве характеризуют состояние ферментов в почве и влияние на них окружающих условий. Выполненные к настоящему времени кинетические исследования ферментативной активности почв [1, 2] показывают возможность применения методов классической стационарной кинетики для описания энзиматических процессов в почве и познания механизмов действия почвенных ферментов. Результаты таких исследований представляют и практический интерес в связи с почвенным плодородием, в формировании которого ферментативная активность играет важную роль, и в диагностике состояния почвы в условиях усиливающихся антропогенных воздействий.

Ферменты в почве находятся преимущественно в иммобилизованном состоянии, лишь незначительная их часть представлена свобод-

ными ферментами, выделение которых из почвы в достаточно чистом виде не удастся. Определяемая «*in situ*» активность характеризует суммарную активность всего ферментного комплекса почвы, поэтому определяемые кинетические параметры отличаются от соответствующих величин, характеризующих свободные ферменты. Это зависит от целого ряда свойств и режимов почвы как матрицы для иммобилизации ферментов. Кроме того, почвенная ферментативная активность гетерогенна по происхождению – из микроорганизмов, растений, почвенной фауны. Неоднородны также условия действия ферментов в силу полидисперсности среды протекания энзиматических реакций и разнообразия ферментного пула почвы в результате мозаичности локализации в почве основных его продуцентов – микроорганизмов [3].

Из кинетических параметров ферментативных процессов наибольший интерес представляют константы Михаэлиса (K_m , $V_{\max}$, $K_m/V_{\max}$), характеризующие скорость ферментативных реакций в зависимости от количества ферментов (в почве – ферментного пула) и концентрации субстрата, и термодинамические

характеристики: температурный коэффициент (Q_{10}), энергию активации (E) и теплоту активации – энтальпию (ΔH), описывающие температурную зависимость ферментативных процессов [4]. Следует сказать, что этот аспект исследований в почвенной энзимологии представлен недостаточно, хотя имеет большое значение в понимании сложных механизмов ферментативных процессов в почве.

Статья посвящена анализу результатов исследований некоторых основных кинетических характеристик – констант Михаэлиса, термодинамических параметров ферментативных процессов, определяющих фосфорный, азотный, углеводный режимы, биодинамику гумуса и выявлению особенностей почв региона по этим показателям.

Объекты и методы исследования. Константы Михаэлиса и термодинамические характеристики изучали для протеазы, уреазы, фосфатазы, инвертазы и дегидрогеназы в основных типах почв Предуралья. Подробные сведения о свойствах и общей ферментативной активности исследованных почв приводятся в наших публикациях [5, 6]. Активность ферментов определяли общепринятыми методами: инвертазы, уреазы, дегидрогеназы, каталазы по А.Ш. Галстяну, протеазы и фосфатазы по Ф.Х. Хазиеву и Я.М. Агафаровой [7]. Значения K_m и V_{max} для каждого фермента были рассчитаны по результатам определения их активности (V) при различных концентрациях субстратов графическим способом с применением линеаризованного уравнения Михаэлиса – Ментен по Лайнуиверу и Бэрку: $S/V = S/V_{max} + K_m/V_{max}$ [4], где S – концентрация субстрата. При использованных концентрациях субстратов для конкретного фермента график S/V по S представляет собой прямую линию, что свидетельствует о правомочности применения теории Михаэлиса для кинетического анализа ферментативных реакций в почве.

Температурные коэффициенты (Q_{10}), энергию активации (E) и теплоту активации (ΔH) (энтальпия) протеазы, уреазы, инвертазы, фосфатазы, дегидрогеназы и каталазы изучали также в генетическом ряду преобладающих почв Предуралья. Активность ферментов определялась в образцах почв при температурах инкубации 10°C (283°K), 20°C (293°K), 30°C (303°K), 40°C (313°K) и 50°C (323°K). Температурный коэффициент рассчитывали по формуле Вант-

Гоффа: $Q_{10} = V_{t+10^\circ}/V_t$, где V_t и V_{t+10° – скорости реакций при заданной температуре и выше на 10°C соответственно. Для расчета E использовали видоизмененное эмпирическое уравнение Аррениуса [4] для 10-градусных интервалов температур, основанное на принципе прямо пропорциональной связи между E и Q_{10} . $E = 0.23 \cdot R \cdot \lg Q_{10} / T_1 \cdot T_2$, где R – универсальная газовая постоянная (1.987 кал/моль·град), T_1 – температура изменения скорости ферментативной реакции по абсолютной шкале ($273 + t^\circ$), $T_2 = T_1 + 10^\circ$. Теплоту активации рассчитывали по формуле $H = E - RT$, где $T = (T_1 + T_2)/2$. На основании анализа полученных термодинамических характеристик была сделана попытка доказать гетерогенность ферментов в почве по составу и состоянию и идентичность генетического ряда почв как по их ферментному комплексу, так и по показателям константы Михаэлиса.

Обсуждение результатов исследований.

Константы Михаэлиса. К наиболее фундаментальным кинетическим константам химии ферментов относятся константа Михаэлиса – K_m и максимальная скорость ферментативной реакции – V_{max} . Эти характеристики ферментативной кинетики в почве позволяют судить об источниках ферментов (микроорганизмы или растения), их состоянии в почве, а также выявить характер влияния различных факторов на отдельные стадии ферментативных реакций.

Известно, что K_m представляет собой совокупность элементарных констант скоростей реакции образования и распада фермент-субстратного комплекса и характеризует величину, обратную сродству фермента к субстрату [4]. Чем выше значение K_m , тем ниже сродство и вероятность образования эффективного фермент-субстратного комплекса, и наоборот. Максимальная скорость характеризует кинетику последней стадии ферментативной реакции – распада фермент-субстратного комплекса на продукты реакции. Численно она равняется скорости ферментативной реакции, которая достигается при полном насыщении фермента субстратом.

Связь скорости ферментативной реакции (V) с K_m и V_{max} описывается уравнением $V = V_{max} \cdot (S) / K_m + (S)$ [4], где S – концентрация субстрата. Факторы, определяющие скорость ферментативных реакций, могут проявляться влиянием на образование фермент-субстратного комплекса и его устойчивость (K_m), на его

распад ($V_{\text{макс}}$) или на оба процесса одновременно. Определение K_m и $V_{\text{макс}}$ позволяет изучать эти пути влияния раздельно. K_m и $V_{\text{макс}}$ являются показателями, характерными для каждого фермента, в то же время они могут значительно меняться в зависимости от pH, температуры, адсорбции ферментов и субстратов и т.д. Однако следует подчеркнуть, что здесь допускается некоторое упрощение представления о механизме ферментативных процессов в гетерогенной системе (в данном случае – почве) и в интерпретации полученных кинетических параметров. Тем не менее эти константы в первом приближении позволяют характеризовать одну из важных сторон кинетики ферментативных реакций в почве.

Полученные данные показывают, что значения K_m для гидролитических ферментов в разных подтипах черноземов, дерново-подзолистой и серой лесной почвах находятся в пределах одного порядка (табл. 1), хотя они значительно колеблются.

Колебания значений K_m могут быть обусловлены молекулярным окружением ферментов в почве, степенью адсорбции фермента и субстрата, различиями pH, Eh, наличием ингибиторов и кофакторов. Адсорбция, в свою очередь, определяется содержанием гумуса, соотношением гранулометрических фракций, pH, емкостью поглощения и другими свойствами почвы. Эти свойства изученных почв, особенно близких в генетическом ряду оподзоленных, выщелоченных и типичных черноземов, с одной стороны, и дерново-подзолистой и серой лесной почв – с другой, различаются незначительно. В карбонатном черноземе, который отличается от других подтипов черноземов как по pH, так и другим свойствам, особенно по содержанию свободных карбонатов, значения K_m и $V_{\text{макс}}$ ферментов различаются в большей степени. Инвертаза и фосфатаза в этой почве образуют фермент-субстратный комплекс с более жесткой связью, о чем свидетельствуют более низкие значения K_m для этих ферментов. Однако в связи с низкими значениями $V_{\text{макс}}$ в карбонатном черноземе возможность для высокой активности фосфатазы и инвертазы не реализуется, их активность значительно ниже, чем в других черноземах [5]. В то же время в карбонатном черноземе низкое значение K_m и высокое $V_{\text{макс}}$ для протеазы обуславливают более высокую скорость действия этого фермента. Хотя K_m для дегидрогеназы в карбонатном чер-

ноземе значительно выше, чем в других почвах, но высокая скорость заключительной стадии ферментативной реакции обуславливает повышенную активность реакции восстановления субстрата в этой почве.

В отличие от других ферментов активность уреазы в изученных почвах по значениям как K_m , так и $V_{\text{макс}}$ мало различается. Возможно, это связано с тем, что уреазы продуцируются преимущественно микроорганизмами, спектр видов которых в почве не очень велик, в то время как фосфатаза, протеаза и инвертаза продуцируются большинством сапрофитов, облигатно обитающих во всех почвах. Значительно более высокая активность уреазы в карбонатном черноземе в отличие от других подтипов черноземов обусловлена высокой концентрацией ферментов в этих почвах. Слабощелочная реакция среды является более благоприятной как для развития уробактерий – основных продуцентов уреазы, так и для сохранения активности поступающих ферментов в силу близких значений кислотности почвы и оптимума pH для действия этого фермента. Поэтому K_m для уреазы в кислых дерново-подзолистых и серых лесных почвах имеет повышенное значение, а $V_{\text{макс}}$ – наоборот, пониженное. Результатом является низкая уреазная активность этих почв.

Относительно близкие значения констант Михаэлиса для гидролитических ферментов позволяют предполагать идентичность их происхождения в почвах региона. А дегидрогеназа, как известно, находится внутри клеток почвенных микроорганизмов или связана с фрагментами распадающихся отмерших клеток. Наши опыты показали [6], что дегидрогеназа не выделяется бактериями в культуральную среду, в то время как гидролитические ферменты интенсивно продуцируются ими. Очевидно, меньшее накопление дегидрогеназ по сравнению с гидролитическими ферментами и большая привязанность к живым клеткам микроорганизмов определяют гетерогенность их состава в соответствии с изменениями состава почвенной микрофлоры. Между тем в более близких в генетическом ряду подтипах черноземов дегидрогеназы более гомогенны, как и гидролитические ферменты.

Сравнение величин кинетических констант почвенных ферментов с аналогичными значениями соответствующих ферментов, выделенных из различных растений и микроорганизмов (по литературным данным), выявило сущест-

венные различия между ними. При этом наблюдается довольно близкое соответствие значений K_m почвенных и микробных гидролитических ферментов, особенно фосфатазы, уреазы и инвертазы, что свидетельствует об их идентичности и преимущественно микробиальном происхождении этих ферментов в почвах.

Термодинамические характеристики.
Наиболее важной термодинамической констан-

той ферментативной реакции является энергия активации (E). Каждый фермент характеризуется определенным уровнем энергии активации в стандартных условиях. По ее величине и изменению с температурой возможно судить о сравнительной однородности ферментов из различных источников, их состоянию, т.е. о степени иммобилизации связанных ферментов, что особенно важно при изучении почвенных ферментных комплексов.

Т а б л и ц а 1

Значения K_m и V_{max} для ферментов в почвах

Почвы	Протеаза		Уреаза		Инвертаза		Дегидрогеназа	
	K_m , мг/ мл	V_{max} , мг тирози- на	K_m , $M \cdot 10^{-2}$	V_{max} , мг NH_3	K_m , $M \cdot 10^{-2}$	V_{max} , мг глюкозы	K_m , $M \cdot 10^{-2}$	V_{max} , мг формаза- на
Дерново- подзолистая	7.0	0.28	10.5	0.17	6.2	47	1.4	0.09
Серая лесная	10.0	0.99	9.5	0.32	6.0	80	1.6	0.12
Черноземы								
оподзоленный	7.7	0.43	8.0	0.44	6.5	32.5	0.8	0.13
выщелоченный	6.0	0.33	5.8	0.32	6.0	21.4	0.9	0.13
типичный	9.7	0.54	7.0	0.39	6.0	15.0	1.0	0.09
карбонатный	3.7	0.47	7.5	0.42	4.0	10.8	3.1	0.22

Т а б л и ц а 2

Активность ферментов в почвах при различной температуре

Почвы	°C	Инвертаза, мг глюкозы	Уреаза, мг NH_3	Протеаза, мг тирозина	Дегидрогеназа, мг формаза	Каталаза, мл O_2
Серая лесная почва	10	2.19	0.13	0.25	0.008	2.80
	20	7.57	0.28	0.43	0.012	4.35
	30	9.18	0.45	0.63	0.027	6.60
	40	12.63	0.77	0.87	0.162	10.65
	50	16.11	1.16	0.97	0.198	15.35
Оподзоленный чернозем	10	6.48	0.32	0.13	0.005	1.73
	20	10.82	0.44	0.21	0.018	2.33
	30	18.18	0.75	0.39	0.087	2.78
	40	34.36	0.83	0.56	0.253	4.79
	50	38.32	0.89	0.59	0.412	4.98
Типичный чернозем	10	7.94	0.21	0.12	0.005	0.58
	20	11.28	0.28	0.14	0.010	1.40
	30	14.10	0.67	0.27	0.139	2.25
	40	23.94	0.75	0.36	0.339	3.57
	50	26.94	0.82	0.40	0.386	1.77
Карбонатный чернозем	10	6.96	0.40	0.12	0.013	5.98
	20	9.82	0.61	0.22	0.028	7.64
	30	11.56	1.14	0.44	0.122	17.66
	40	15.08	1.50	0.62	0.346	17.70
	50	16.08	1.90	0.65	0.421	10.14

Термодинамическая характеристика активного комплекса ферментов в почвах

Почвы	Интервалы температур, °С	Q_{10}	E	ΔH	Q_{10}	E	ΔH	Q_{10}	E	ΔH
			ккал / моль			ккал / моль			ккал / моль	
		Протеаза			Уреаза			Инвертаза		
Дерново-подзолистая	10 – 20	4.5	24.9	24.4	2.3	14.1	13.5	1.8	10.0	9.4
	20 – 30	2.2	13.7	13.2	2.8	18.2	17.5	1.4	5.7	5.1
	30 – 40	1.4	6.6	6.0	2.2	14.6	14.0	2.0	12.8	12.2
	40 – 50	1.3	5.9	5.2	1.2	4.0	3.4	1.1	1.7	1.1
Серая лесная	10 – 20	1.7	8.9	8.4	2.1	12.5	12.0	3.5	20.4	19.9
	20 – 30	1.5	6.5	5.9	1.6	8.1	7.5	1.2	3.4	2.8
	30 – 40	1.4	6.1	5.5	1.7	10.4	9.8	1.4	6.1	5.5
	40 – 50	1.1	2.3	1.7	1.5	8.0	7.4	1.3	5.0	4.3
Черноземы										
оподзоленный	10 – 20	1.6	8.0	7.4	1.4	5.2	4.6	1.7	8.5	7.9
	20 – 30	1.9	11.3	10.8	1.7	9.3	8.8	1.7	9.2	8.6
	30 – 40	1.4	6.5	5.9	1.1	1.8	1.2	1.9	12.0	11.4
	40 – 50	1.1	1.0	0.4	1.1	1.6	0.9	1.1	2.1	1.5
выщелоченный	10 – 20	1.5	6.1	5.6	1.3	4.7	4.1	1.6	7.6	7.1
	20 – 30	1.7	9.4	8.8	1.7	8.8	8.3	1.5	7.3	6.7
	30 – 40	1.5	8.0	7.4	1.1	1.6	1.1	1.5	7.4	6.8
	40 – 50	1.1	2.5	1.9	1.1	1.9	1.3	1.1	1.7	1.1
типичный	10 – 20	1.4	4.9	4.4	1.3	4.7	4.2	1.4	5.8	5.2
	20 – 30	2.0	12.2	11.7	2.4	15.3	14.8	1.3	3.9	3.4
	30 – 40	1.3	5.1	4.5	1.1	2.1	1.5	1.7	4.2	3.6
	40 – 50	1.1	2.1	0.9	1.1	1.9	1.3	1.1	2.3	1.7
карбонатный	10 – 20	1.8	9.9	9.3	1.5	6.9	6.3	1.4	5.5	5.0
	20 – 30	2.0	12.4	11.8	1.9	11.0	10.5	1.2	2.8	2.2
	30 – 40	1.4	6.6	6.0	1.3	4.8	4.2	1.3	4.9	4.4
	40 – 50	1.1	1.0	0.4	-	-	-	1.7	1.2	0.6

С увеличением температуры (табл. 2) наблюдается общая закономерность для всех рассматриваемых ферментов во всех почвах – при 10°C активность ферментов довольно низкая, в интервале температуры 20–40°C она резко увеличивается. При этих температурах термальная денатурация свободных ферментов, очевидно, незначительна, а адсорбированные ферменты активируются. При 50°C активность ферментов, за исключением каталазы, также возрастает, но незначительно по сравнению с 40°C. При этой температуре, очевидно, значительный удельный вес приобретает термическая денатурация ферментов и температурный коэффициент приближается к единице, что свидетельствует о выравнивании интенсивности процессов активации и инактивации ферментов.

Как известно [6, 8], для действия большинства ферментов в почве оптимальной является температура около 60°C. В то же время

при 50°C в выщелоченных, типичных и карбонатных черноземах каталаза значительно денатурировала. В силу иммобилизованного состояния оптимальные значения температуры для действия почвенных ферментов несколько выше. При адсорбции оптимум температуры для протекания ферментативных реакций сдвигается в область более высоких температур и возрастает температурный коэффициент [9]. По значениям температурных коэффициентов ферментативной активности генетически разобщенные почвы заметно различаются (табл. 3).

Значения Q_{10} ферментов в дерново-подзолистой и серой лесной почвах, особенно для гидролитических ферментов, в связи с пониженной ферментативной активностью значительно превосходят таковые для черноземов, обладающих высокой ферментативной активностью. Следовательно, для ферментативных

реакций в нечерноземных почвах необходима более высокая энергия активации.

По изменению температурного коэффициента, т.е. степени активации ферментов при повышении температуры до оптимальной, почвы Приуралья отличаются от почв более теплых регионов – Кавказа, Армении, Румынии, Италии, Испании, в которых были проведены аналогичные исследования [1, 8]. В этих почвах с ростом температуры Q_{10} обычно постепенно падает. Исследованные нами почвы по термодинамическим характеристикам их ферментов тяготеют к «холодным» почвам Сибири [10].

Это значит, что для изученных почв температура является одним из главных лимитирующих факторов биологической активности: при повышении температуры активность ферментов этих почв резко возрастает, в то время как активация ферментов «теплых» почв при таких же условиях происходит более равномерно. С другой стороны, это свидетельствует о гетерогенности состояния ферментов в почве, их некоторая часть находится в свободном или непрочном связанном состоянии, а другая – прочно связана с органо-минеральными коллоидами. При инкубации реакционной смеси при температуре 10–20°C в реакции участвуют главным образом свободные или непрочно связанные ферменты, так как энергия активации связанных ферментов значительно выше [9]. Кроме того, при повышении температуры адсорбированные ферменты могут частично десорбироваться, изменять конфигурацию молекул, освобождая или обнажая при этом заблокированные активные центры. В результате будет возрастать сродство фермента к субстрату и вероятность образования активного фермент-субстратного комплекса и, соответственно, снижение K_m и повышение V_{max} . Все это приводит к повышению скорости ферментативных реакций в почве за счет активации иммобилизованных ферментов в температурных интервалах 20–40°C. Кроме того, почвы Приуралья характеризуются глинистым гранулометрическим составом и высокой гумусированностью, что обуславливает относительно высокую прочность связи ферментов с почвенными компонентами, а следовательно, и высокую энергию их активации.

Энергия активации и теплота активации ферментативных реакций изменяются аналогично температурным коэффициентам (табл. 3). Для большинства ферментов, кроме гидролити-

ческих, в серой лесной и дерново-подзолистой почвах энергия активации в интервале температуры 10–20°C оказалась меньшей, значение E при этой температуре близко к значению E свободных ферментов. При повышении температуры до 40°C в реакции участвуют и иммобилизованные ферменты, характеризующиеся более высокой энергией активации. Поэтому в интервале температуры 20–40°C энергия активации ферментативных реакций выше. Это является доказательством того, что в реакции участвуют ферменты, различающиеся как по своей природе, так и состоянию в зависимости от микроокружения в почве.

Активность иммобилизованных ферментов зависит от характера связей с адсорбирующей поверхностью и локализации фермента. Ферменты, адсорбированные на поверхности органо-минеральных коллоидов почвы, очевидно, более доступны для активации, чем ферменты внутри адсорбентов, имеющих внутреннюю поверхность. Такими адсорбентами могут быть вторичные глинистые минералы или молекулы гумусовых кислот. Поэтому не всегда наблюдается постоянство значений E и однотипная температурная зависимость отдельных стадий каталитических процессов в условиях сложного ферментного комплекса почвы, что соответствует изменениям и значений K_m и V_{max} .

Таким образом, кинетические параметры ферментативных процессов отражают генетические особенности почв Приуралья. В соответствии с более низкой биологической активностью энергетика ферментативных процессов в этих почвах понижена, что выражается в повышенных значениях K_m и термодинамических констант. Это в значительной степени связано с генетическими особенностями почв региона – высокой гумусированностью и тяжелым гранулометрическим составом, создающими высокую адсорбционную емкость почвенной матрицы. В связи с этим основная часть ферментного пула почв находится в прочно связанном (иммобилизованном) состоянии и не в полной мере проявляет активность.

Литература

1. Shula G., Varma A. (eds). Soil Enzymology. Berlin: Springer-Verlag, 2011. 384 p.
2. Burns R., DeForest J.L., Marxen J.C., Sinsabaugh R.L., Stromberger M.E., Wallenstein M.D., Weintraub M.H., Zoppini A. Soil enzymes in a changing environment: Current knowledge and future // Soil Biology and Biochemistry. 2013. V. 58. № 2. P. 216–234.

3. Звягинцев Д.Г. Основные принципы функционирования комплекса почвенных микробов // Проблемы почвоведения. М.: Наука, 1978. С. 87–102.

4. Диксон М., Уэбб Э. Ферменты. М.: Мир, 1966. 816 с.

5. Хазиев Ф.Х., Мукатанов А.Х., Хабиров И.К., Кольцова Г.А. Почвы Башкортостана. Уфа: Гилем, 1995. Т. 1. 384 с.

6. Хазиев Ф.Х. Системно-экологический анализ ферментативной активности почв. М.: Наука, 1982. 205 с.

7. Хазиев Ф.Х. Методы почвенной энзимологии. М.: Наука, 2005. 255 с.

8. Галстян А.Ш. Ферментативная активность почв Армении. Ереван: Айастан, 1974. 275 с.

9. Великанов Л.Л., Великанов Н.Л., Звягинцев Д.Г. Влияние температуры на активность свободных и связанных ферментов // Почвоведение. 1971. № 3. С. 62–68.

10. Козлов К.А. Биологическая активность почв Восточной Сибири: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Таллинн: АН ЭССР, 1970. 37 с.

References

1. Shula G., Varma A. (eds). Soil enzymology. Berlin, Springer-Verlag, 2011. 384 p.

2. Burns R., DeForest J.L., Marxen J.C., Sinsabaugh R.L., Stromberger M.E., Wallenstein M.D., Weintraub M.H., Zoppini A. Soil enzymes in a changing environment: Current knowledge and future. Soil Biology and Biochemistry, 2013, vol. 58, no. 2, pp. 216–234.

3. Zvyagintsev D.G. Basic principles of soil microbial community functioning. Problemy pochvovedeniya. Moscow, Nauka, 1978, pp. 87–102.

4. Dixon M., Webb E. Enzymes. Russian edition. Moscow, Mir. 1966. 816 p.

5. Khaziev F.Kh., Mukatanov A.Kh., Khabirov I.K., Koltsova G.A. Soils of Bashkortostan. Vol. 1. Ufa, Gilem, 1995. 384 p.

6. Khaziev F.Kh. Eco-systemic analysis of soil enzymatic activity. Moscow, Nauka, 1982. 205 p.

7. Khaziev F.Kh. Methods of soil enzymology. Moscow, Nauka, 2005. 255 p.

8. Galstyan A.Sh. The enzyme activity of soils of Armenia. Erevan, Ayastan, 1974. 275 p.

9. Velikanov L.L., Velikanov N.L., Zvyagintsev D.G. The effect of temperature on the activity of bound and free enzymes. Pochvovedenie, 1971, no. 3, pp. 62–68.

10. Kozlov K. Biological activity of soils of Eastern Siberia. Dr. Sci. Thesis in Biology. Tallinn, AS ESSR, 1970. 37 p.

ON THE KINETICS OF ENZYMATIC PROCESSES IN SOILS

© F.Kh. Khaziev

Ufa Institute of biology – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre
of the Russian Academy of Sciences,
69, prospect Oktyabrya, 450054, Ufa, Russian Federation

Kinetic parameter values of enzyme activity in the genetic soil series of the Cis-Urals have been measured based on the Michaelis constant (K_m), maximum velocity (V_{max}), temperature coefficient (Q_{10}), activation energy (E) and activation enthalpy (ΔH) that characterize the reaction rate depending on the characteristics of enzymes and environment conditions. In soils K_m is more stable than V_{max} , and according to these parameters chernozems are closely related. The K_m value of soil enzymes resembles that of microorganisms. Thermodynamic constants of enzymatic reactions in the range of 10–50°C differ in genetically different soils. It is supposed that at low temperatures the reaction involves mostly free and labile-bound enzymes, and with a rise in temperature immobilized enzymes that prevail in the soil are activated being characterized by high activation energy. The pattern of changes in the kinetic parameters attests to heterogeneity of soil enzymes both by their state (free and bound) and composition as well as to their identity by the state and composition in genetically close soils and their primarily microbial origin.

Key words: soil enzymes, kinetics, Michaelis constant, maximum velocity of enzymatic reactions, thermodynamic parameters.