

БИОЛОГИЯ ПОЧВ

ГРНТИ 68.05.45

https://doi.org/10.51886/1999-740X_2022_4_10Ф.Д. Микаилсой^{1*}ВЛИЯНИЕ ВЫСОКИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ СУБСТРАТА НА КАТАЛАЗНОЙ РЕАКЦИИ
В СУГЛИНИСТОЙ ПОЧВЕ (ПРОВИНЦИЯ ЫГДЫР, ТУРЦИЯ)II. ОПРЕДЕЛЕНИЕ КИНЕТИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ФЕРМЕНТА
КАТАЛАЗЫ В ПОЧВЕ

¹Сельскохозяйственный факультет университета «Ыгдыр», кафедра почвоведения и питания растений, 76000, Ыгдыр, Кампус имени Шехит Бюлент Юртсевер, Турция, *e-mail: fariz.mikailsoy@igdir.edu.tr

Аннотация. В данном исследовании были проведены анализы при различных концентрациях (3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 30 %) субстрата H_2O_2 для расчета кинетических параметров фермента каталазы почвы (V_{max} , K_M , V_{max} / K_M , K_{SEE} , $[S]_{opt}$ и $v_{0,max}$). Чтобы рассчитать эти параметры, сначала были рассчитаны значения скорости (v) с использованием результатов анализа. Затем были определены различные модели, выражающие отношение продукт-субстрат: $[P]=f([S])$. Далее, по критериям выбора модели (R^2 , R^2_{adj} , σ , A , D , Ull , AIC) определялась наиболее подходящая модель, отражающая соотношение $[P]=f([S])$. Начальная скорость в соответствии с установленной моделью была рассчитана по формуле: $v_0=d([P])/dt|_{t=0}$. В результате исследования установлено, что засоленность и щелочность снижают активность каталазы. По мере увеличения концентрации субстрата наблюдалось значительное ингибирование ферментативной реакции каталазы. Значения коэффициента разложения (K_{ESS}) ферментативной реакции выше в засоленных почвах, то есть наблюдается торможение образования продуктов.

Ключевые слова: почва, каталаза, ингибирование субстратом, кинетические параметры.

ВВЕДЕНИЕ

Ферментативная активность почв – один из важнейших показателей, который достаточно адекватно отражает изменение плодородия почвы и экологические условия ее функционирования. Комплексы ферментов активно реагируют на внешние воздействия, что позволяет использовать параметры ферментативной активности для характеристики почвенного плодородия и оценки их экологического состояния. По мнению многих ученых, первоочередное внимание в этом плане уделяется оценке активности ферментов, относящихся к классу оксидоредуктаз [1-2], которые играют ведущую роль в регуляции скорости протекания в почвах окислительно-восстановительных реакций, лежащих в основе синтеза гумусовых веществ, а также в катализе биохимических

процессов, протекающих в клетках живых организмов. Поэтому наиболее часто при изучении изменения почвенного плодородия под воздействием антропогенных факторов из группы оксидоредуктаз используют активность фермента каталазы [3].

Засоленность и щелочность являются одними из важных почвенных проблем в Ыгдырском районе с засушливым-полузасушливым климатом. Хотя негативное влияние засоления и щелочности на свойства почвы известно, исследований активности и кинетики ферментов недостаточно. По этой причине это исследование было проведено для определения влияния засоления и щелочности на каталазную активность и кинетику в почве.

Как правило, кинетические исследования при стационарном режиме

проводиться для выяснение зависимости скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата. В случае подтверждения факта применимости уравнения Михаэлиса-Ментен далее осуществлялся расчет кинетических параметров этого уравнения - константы Михаэлиса (K_M) и максимальной скорости реакции (V_{max}) [4-8].

Как правильно отмечается в [8], эти кинетические параметры (K_M и V_{max}) далеко не исчерпываются возможности стационарной ферментативной кинетики для исследования механизма действия почвенных ферментов.

Особый интерес представляет кинетический анализ ингибирования ферментов избытком субстрата и продуктами реакции, и тем самым изменяют его каталитические свойства. Изучение действия ингибиторов позволяет получить более полную информацию о механизме ферментативного катализа протекающий в почве [8].

В настоящей работе излагаются результаты кинетических исследований ингибирования каталазы в суглинистых (засоленных, щелочных и обычных) почвах избытком субстрата.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материал. Равнина Ыгдыр демонстрирует особый микроклимат, характерный для региона Восточной Анатолии (рисунок 1). Изучаемый регион характеризуется жарким летом и мягкой зимой, что обусловлено особенностями микроклимата. Она расположена на небольшой высоте и окружена высокими горами. Высота исследуемого участка 850 м, уклон орошаемых земель в центральном районе равнины пологий и почти пологий (0-2 %). Наибольшее количество осадков на равнине выпадает в мае, а наименьшее - в августе. Среднегодовое количество осадков в Ыгдыре составляет 254,2 мм, а испарение - 1094,9 мм. Самый холодный месяц - январь, а самый жаркий - июль (Anonim, 2018) [9].



Рисунок 1 - Провинции Ыгдыр

Метод. Методы исследования: полевые - экспедиционные, лабораторно-аналитические и математическое моделирование. В качестве объектов исследования были выбраны почвы опытного участка научно-прикладного центра Ыгдырского университета. В этом исследовании было взято 4 разных образца почвы с глубины 0-30 см почв с разным содержанием

солей с испытательного научно-прикладного центра Ыгдырского университета в районе Ыгдыр. Образцы почвы 1 и 4 относятся к классу засоленно-щелочных, образец почвы 2 - к щелочному, образец почвы 3 - к нормальному классу. Отбор проб для определения ферментативной активности почв проводили в период 2019-2020 годы в 3-кратной повторности на

каждом выделенном участке. Определены важные физико-химические и биологические свойства этих почв которые приведены в таблице 1.

Для физических, химических и биологических анализов почв, образцы деградированных и ненарушенных почв были отобраны по глубине, просеяны через сито 2 мм и проведены анализы.

Почвенные Анализы. Анализы почвенных образцов выполнены в аналитической лаборатории кафедры почвоведения и агрохимии университета. Механический анализ: (Текстура, гранулометрический состав почвы) определяли в соответствии с методом ареометра (Woyoucus) [10], а классы текстуры определялись в соответствии с Руководством по

исследованию почв (Soil Survey Manual) [11]. Объемный вес (ρ_b) определяли по Blake and Hartge [12]. Удельный вес (ρ_k), пористость и соленость (ЕС·10³ мм вод. ст./см) определяли согласно Demiralay [13]. Известь (CaCO₃, %) определяли кальциметром Шейблера, как описано в (Hizalan ve Ünal) [14]. Реакция почвы (pH): определяли в смеси почва: вода 1:2,5 с помощью pH-метра со стеклянным электродом (McLean [15]). Определение органического вещества (%) определяли, согласно Walkley and Black [16]. Общий азот (N): Общее содержание азота в образцах почвы определяли по методу Къельдалю, как описан в Bremner [17].

Некоторые физико-химические свойства почв опытного участка приведены в таблице 1.

Таблица 1 - Физико-химические свойства почв опытного участка

Свойства почвы	Результаты анализа			
	П1	П2	П3	П4
Органическое вещество, %	1,06	1,11	1,34	1,06
Плотность, г/см ³	1,47	1,56	1,16	1,47
pH (1:2,5)	9,06	9,09	8,22	9,0
ЕС, dS/m	15,32	2,47	1,2	13,03
Пористость, %	0,41	0,35	0,50	0,38
Общий азот, %	0,053	0,056	0,067	0,054
CaCO ₃ , %	10,00	9,37	9,04	10,77
Удельный вес, г/см ³	2,50	2,42	2,35	2,42

Почвы опытного участка имеют суглинистый гранулометрический состав и относятся к низкому классу по содержанию органического вещества. Кроме того, на некоторых почвах были обнаружены высокие значения объемного веса.

Определение активности фермента каталазы в почве. Поскольку ферменты сильно адсорбируются почвенными коллоидами, их невозможно выделить из почвы. Поэтому вместо количества почвенных ферментов определяют их активность. Для определения активности каталазы

разработаны многочисленные методы. Впервые Купревич разработал методы определения активности ферментов в растениях и почве. В последующие годы было проведено множество исследований по этому вопросу, и методы были усовершенствовались. Более детально об этом описаны в работе [18].

Каталазная активность почв определяется по скорости разложения в ней H₂O₂, протекающего под воздействием биологических и небиологических катализаторов. В этом исследовании активность фермента

каталазы определяли с помощью кальциметра Шейблера по методу Векс [14]. Для этого из образцов почвы, взятых с глубины 0–30 см, берут 5 г почвы и помещают в колбу Эрленмейера вместимостью 500 мл в лаборатории. На образец почвы добавляют 20 мл фосфатного буфера (рН 7) и 10 мл 3 % раствора субстрата (H_2O_2). Кроме того, на образец-свидетель добавляют 2 мл NaN_3 . Подготовленные образцы выдерживают в течение 30 минут. Через 3 минуты количество выделившегося O_2 при лабораторной температуре ($20^\circ C$) определяют по объему. Каждый анализ проводился с 3 повторениями, и полученные результаты были выражены как «мл O_2 /мин 5 г почвы».

С целью кинетических исследований анализ продолжали до момента насыщения (фиксация количества, выделившегося O_2). Кроме того, с целью исследования кинетических параметров, время считывания выхода O_2 из кальциметрического устройства были следующие: $t=0, 0.25, 0.50, 0.75, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 5.0$ и 6.0 мин. Полученные результаты были выражены как «мл O_2 /мин·5 г почвы».

$$v_0 = \frac{V_{\max} [S]_0}{K_M + [S]_0} \quad (1)$$

легко рассчитываются с помощью различных пакет программ кинетические параметры V_{\max} , K_M , K_{ESS} и K_S .

Уравнение (2) рекомендуется анализировать отдельно при низких и высоких концентрациях субстрата. При малых концентрациях субстрата, т.е.

Расчет кинетических параметров. Определение кинетических параметров фермента каталазы (V_{\max} , K_M , V_{\max}/K_M и K_{ESS}), а также общих кинетических параметров (начальная скорость реакции, мгновенная скорость, время установившегося состояния и др.) важны для выявления механизма ферментативная реакция. Для определения этих параметров необходимо сначала определить значения начальные скорости. Для этого; необходимо знать значение начальных скоростей реакции разложения пероксида водорода (H_2O_2) для каждого концентрации: 3 %, 6 %, 9 %, 15 %, 21 %, 27 %, 30 %.

Для этого определяют количество O_2 , выделившегося через 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 300 и 360 секунд в ходе реакции [6, 18]. Время реакции продолжают до тех пор, пока выделившийся продукт не станет стабильным.

После определения значений начальной скорости v_0 , определенных для различных концентраций субстрата $[S]_0$, по нижеследующим формулам:

$$v_0 = \frac{V_{\max} \cdot [S]_0}{K_M + [S]_0 + [S]_0^2 / K_{ESS}} \quad (2)$$

когда $[S]_0^2 \ll K_{ESS}$, уравнение (2) упрощается до классического уравнения Михаэлиса-Ментен (1).

При больших концентрациях субстрата, т.е. $[S]_0^2 \gg K_M$, уравнение (2) упрощается и принимает вид:

$$v_0 = \frac{V_{\max}}{1 + \frac{K_M}{[S]_0} + \frac{[S]_0}{K_{ESS}}} = \frac{V_{\max}}{1 + \frac{[S]_0}{K_{ESS}}} = \frac{K_{ESS} \cdot V_{\max}}{K_{ESS} + [S]_0} \quad (3)$$

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Значения реакции фермента каталазы. Каждая почва, принадлежащая к месту исследования, в соответствии с лабораторными условиями проводилась газометрическим методом с использованием кальциметра Шейблера и проводились измерения оттока кислорода из почвы.

Находя количество выхода кислорода в воздушно-сухой почве, коэффициенты разности выхода кислорода в печно-сухой почве, были найдены

только временные распределения фермента каталазы, перекиси водорода (H_2O_2), скорости реакции и степени разложения на воду и молекулярный кислород. Результаты значений каталазной реакции приведены в таблице 2. При рассмотрении таблицы видно, что самый высокий продукт получается при 15 % концентрации субстрата. Также наблюдается уменьшение продукта с последующим увеличением концентрации субстрата H_2O_2 .

Таблица 2 - Количество выхода O_2 в зависимости от концентрации H_2O_2 в исследуемых почвах

i	Время, t мин	[S]= %, H_2O_2						
		3	6	9	15	21	27	30
1	0,25	1.15	1.78	1.92	2.21	1.45	0.85	0.42
2	0,5	1.68	2.51	2.94	3.15	2.68	1.42	0.74
3	0,75	2.05	3.10	3.72	4.12	3.44	1.78	0.97
4	1,0	2.52	3.73	4.12	4.75	4.12	2.07	1.25
5	1,5	3.00	4.67	4.97	6.24	4.59	2.60	1.61
6	2,0	3.45	5.42	6.05	6.87	4.91	3.03	1.99
7	2,5	3.85	5.93	6.55	7.43	5.22	3.45	2.31
8	3,0	4.08	6.37	7.28	8.30	5.79	3.78	2.63
9	3,5	4.42	6.88	7.86	9.17	6.15	4.12	2.88
10	4,0	4.67	7.12	8.17	9.95	6.75	4.56	3.09
11	5,0	5.00	7.65	9.15	11.25	7.23	4.82	3.32
12	6,0	5.35	8.25	10.25	12.30	7.85	5.25	3.51

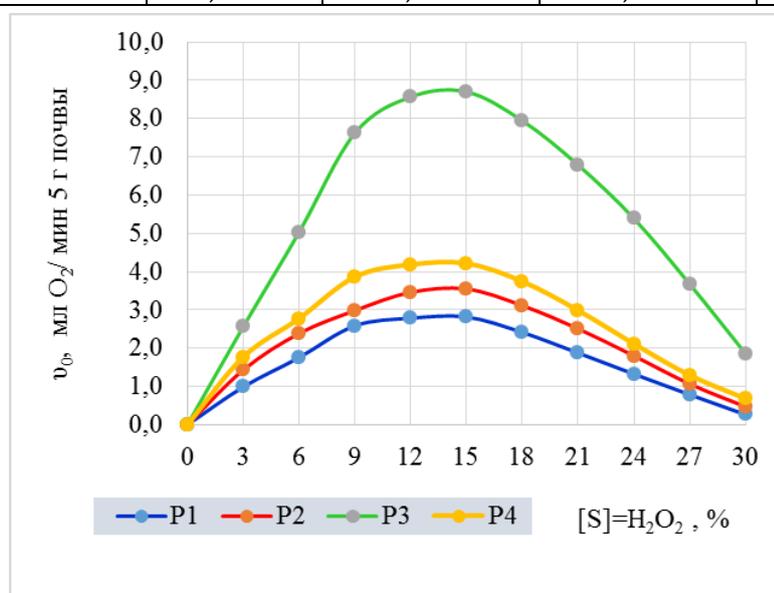
Определение начальной скорости. Для каждой концентрации H_2O_2 значения начальных скоростей реакции (v_0) были определены согласно методики описанный в [18]. Для этого использовались различные модели-гиперболическая, биномиальная, биномиально-параболическая, полиномиальная 5-й степени, полиномиальная 6-й степени, псевдополиномиальная 5-й степени и псевдополиномиальная модель 6-й степени.

Далее, было выбрано наиболее подходящей модели с использованием

статистических критериев. Биномиальная модель: $[P(t)] = a_1 t a_2 e^{-a_3 t}$ дает наиболее подходящий результат в соответствии с критериями выбора. Согласно этой модели, начальная скорость (v_0) была рассчитана для $[H_2O_2]=3$ % и найдено наиболее подходящее значение $v_0=2,5580$. Наконец, с использованием результатов анализа (таблица 2), наиболее подходящие значения v_0 были определены по статистическим критериям для выбора модели, и они приведены в таблице 3 и на рисунке 3.

Таблица 3 - Значения начальной скорости (v_0) каталазной реакции в почвах П1, П2, П3 и П4 при различных концентрациях H_2O_2

№	[S]	v_0 - Начальная Скорость			
	%	П1	П2	П3	П4
1	3	0,9879	1,4304	2,5580	1,7692
2	6	1,7559	2,3835	5,0248	2,7764
3	9	2,5872	2,9857	7,6178	3,8653
4	12	2,7865	3,4621	8,5678	4,1856
5	15	2,8183	3,5488	8,6990	4,2183
6	18	2,4158	3,1153	7,9453	3,7459
7	21	1,8771	2,5104	6,7866	2,9894
8	24	1,3268	1,8014	5,3866	2,1154
9	27	0,7883	1,0658	3,6728	1,2959
10	30	0,2655	0,4740	1,8557	0,6829

Рисунок 2 - Изменение начальных скоростей (v_0) почв П1, П2, П3 и П4 в зависимости от начальной концентрации субстрата $[S]_0$

Определение параметров V_{max} , K_M и K_{ESS} . При анализе экспериментальных результатов было установлено, что образование продукта уменьшалось с увеличением концентрации субстрата. Был сделан вывод, что причиной этого снижения может быть ингибирование ферментативной реакции с субстратом. По этой причине для расчета кинетических параметров необходимо применять методы, описанные выше, т.е. формулы (1) и (3) [18].

Поэтому в дополнение к активному комплексу ES использовались модели, выведенные из теории стационар-

ной кинетики ферментативной реакции, в которой образуется неактивный комплекс ESS. Иными словами, используя объясненные выше модели (1) и (3) для низких и высоких концентраций субстрата и пакет программ (ISTATISTIKA-10) рассчитывали кинетические параметры: V_{max} , K_M , K_{ESS} и K_S .

Сначала, используя значения начальной скорости при низких концентрациях субстрата в таблице 4 и уравнение под номером (1), были рассчитаны кинетические параметры V_{max} , K_M и значения V_{max}/K_M , и результаты приведены в таблице 5.

Таблица 4 - Значения начальной скорости (v_0) для реакции каталазы почв П1, П2, П3 и П4 при низких концентрациях субстрата

№	[S]	v_0 , мл O_2 / 1 мин 5 г почвы			
	%	П1	П2	П3	П4
1	3	0,9879	1,4304	2,5580	1,7692
2	6	1,7559	2,3835	5,0248	2,7764
3	9	2,5872	2,9857	7,6178	3,8653
4	12	2,7865	3,4621	8,5678	4,1856
5	15	2,8183	3,5488	8,6990	4,2183

Таблица 5 - Значения кинетических параметров каталазной реакции почв при низких концентрациях субстрата (V_{max} , K_M , V_{max}/K_M)

Почвы	Кинетические параметры			Статистические параметры			
	V_{max} мл O_2 / 1 мин 5 г почва	K_M %	V_{max}/K_M	R^2 %	A %	σ	UII
П1	5,1379	10,7862	0,4763	98,137	6,064	0,201	0,068
П2	5,7169	8,4515	0,6764	99,690	2,088	0,099	0,027
П3	18,695	15,3317	1,2194	98,058	7,326	0,640	0,072
П4	6,7754	7,974	0,8497	98,895	4,025	0,227	0,050

Затем, используя значения рассчитаны значения V_{max} и V_{ESS} начальной скорости при высоких кинетических параметров, и результаты приведены в таблице 6 и уравнение под номером (3), были

Таблица 6 - Значения начальной скорости (v_0) для реакции каталазы почв П1, П2, П3 и П4 при высоких концентрациях субстрата

№	[S]	v_0 , мл O_2 / 1 мин 5 г почвы			
	%	П1	П2	П3	П4
1	15	2,8183	3,5488	8,6990	4,2183
2	18	2,4158	3,1153	7,9453	3,7459
3	21	1,8771	2,5104	6,7866	2,9894
4	24	1,3268	1,8014	5,3866	2,1154
5	27	0,7883	1,0658	3,6728	1,2959
6	30	0,2655	0,4740	1,8557	0,6829

Таблица 7 - Значения кинетических параметров каталазной реакции почв при высоких концентрациях субстрата (V_{max} и V_{ESS})

Почвы	Кинетические параметры		Статистические параметры			
	V_{max} мл O_2 /1 мин 5 г почва	K_{ESS} %	R^2 %	A %	σ	UII
П1	5,1379	10,1128	49,363	90,224	0,693	-0,416
П2	5,7169	12,9226	48,387	68,306	0,856	0,007
П3	18,695	9,8609	60,496	38,320	1,644	1,312
П4	6,7754	13,1925	49,394	58,189	0,988	0,293

Видно, что ингибирование больше в засоленных почвах, где значения K_{ESS} высокие и, следовательно, активность меньше. С другой стороны, в почве № 3, где значения K_{ESS} малы, видно, что ингибирование меньше и,

следовательно, активность выше. Графики, показывающие ход кинетических кривых при отсутствии и наличии ингибирования с использованием значений кинетических параметров в таблице 3, 4 и на рисунке 3.

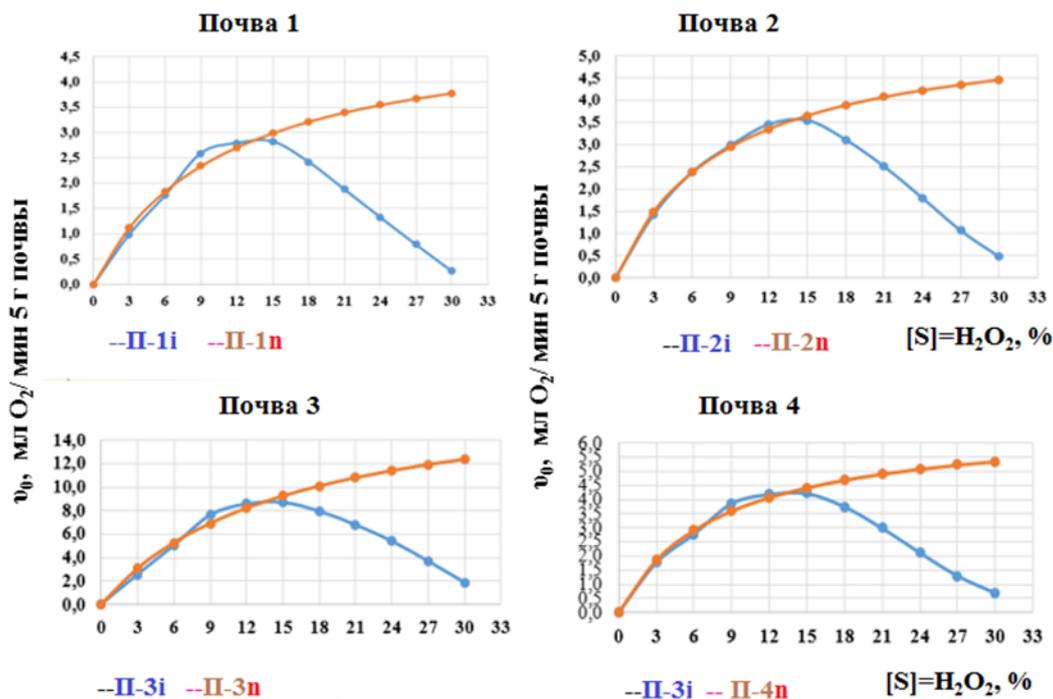


Рисунок 3 - Субстратное ингибирование ферментативной реакции: П-1, 2, 3, 4 n – ожидаемая гиперболическая кривая в отсутствие ингибирования; П-1, 2, 3, 4 i – экспериментальные данные, свидетельствующие об увеличении ингибирования при увеличении концентрации субстрата.

Экстремальные значения ферментативной реакции. Наконец, были рассчитаны экстремальные значения (оптимальный субстрат, $[S]_{opt}$ и скорость $v_{0,max}$), полезные для более детальной интерпретации механизмов ферментативных реакций. Экстремаль-

ное значение важно для определения удельной активности фермента при оптимальной концентрации субстрата. Расчеты проводились с использованием нижеследующих формул [18]. Эти значения приведены в Таблице 8.

$$[S]_{0,opt} = \sqrt{K_M \cdot K_{ESS}}, \quad v_{max} = f([S]_{opt}) = \frac{V_{max}}{1 + 2\sqrt{K_M / K_{ESS}}} \quad (4)$$

Таблица 8 - Экстремальные значения каталазной реакции почв

Почвы	Кинетические параметры						
	V_{\max}	K_M	V_{\max}/K_M	K_{ESS}	K_M/K_{ESS}	$[S]_{opt}$	$U_{0, \max}$
П1	5,1379	10,7862	0,4763	10,1128	1,0666	10,4441	1,6760
П2	5,7169	8,4515	0,6764	12,9226	0,6540	10,4506	2,1842
П3	18,6950	15,3317	1,2194	9,8609	1,5548	12,2957	5,3508
П4	6,7754	7,9740	0,8497	13,1925	0,6044	10,2566	2,6519

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследования установлено, что засоленность и щелочность снижают активность каталазы. Другой полученный результат - кинетические параметры (V_{\max} , K_M , K_{ESS}) существенно варьируют в зависимости от исследуемых почв и концентраций внесимого субстрата. По мере увеличения концентрации субстрата наблюдалось значительное ингибирование ферментативной реакции каталазы. Значения коэффициента разложения (K_{ESS}) ферментативной реакции выше в засоленных почвах, то есть наблюдается торможение образования продуктов.

Результаты исследования: было обнаружено, что с увеличением концентрации субстрата (H_2O_2) продукт (O_2) уменьшается и было замечено, что субстрат ингибировал ферментативную реакцию каталазы. Для определения начальной скорости было обнаружено, что наиболее подходящая модель в соответствии с критериями выбора модели является биномиальная.

Кинетические параметры рассчитывали с использованием значений начальной скорости, соответствующих низким и высоким значениям концентрации субстрата.

Максимальная скорость, характеризующая реакцию фермента каталазы: $V_{\max} = 18.695$ мл $O_2/1$ мин на 5 г почвы. $K_M = 15.3317$ %. Установлено, что $V_{\max}/K_M = 1.2194$ а $K_{ESS} = 9.8604$ %.

Кроме того, при оптимальном значении субстрата (12.2957 %) была достигнута максимальная начальная скорость ($U_{0, \max} = 5.3508$ мл $O_2/1$ мин 5 г почвы).

При изучении кинетики ферментативных реакций в почвах необходимо рассчитывать начальную скорость, в отличие от использования активности ферментов при расчете скорости. Кроме того, при расчетах кинетических параметров, отличных от графических методов, следует использовать пакет компьютерных программ «Statistica» и другие.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Звягинцев Д.Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии. – М.: МГУ, 1991. – 304 с.
2. Хазиев Ф.Х. Методы почвенной энзимологии. – М.: Наука, 2005. – 252 с.
3. Гармашов В.М., Гармашова Л.В. Каталазная активность чернозема обыкновенного при минимализации обработки почвы и прямом посеве в условиях юго-востока ЦЧР// Межд. науч.-иссл. жур. – 2022. – №5 (119). – Ч. 2, – С. 40–43.
4. Алиев С. А., Гаджиев Д. А., Михайлов Ф. Д. Кинетические показатели активности каталазы в основных типах почв Азербайджанской ССР// Почвоведение. – 1981. – № 9. – С. 107–112.
5. Michaelis L., Menten M.L. Die Kinetik der Invertinwirkung. Biochem. - P. 333–369.

6. Михайлов Ф.Д., Хабиров И.К. Некоторые вопросы моделирования ферментативных процессов в почве// Почва как связующее звено функционирования природных и антропогенно-преобразованных экосистем: матер. III Междунар. науч. –практ. конф. – Иркутск, 2011. – С. 166–171.
7. Михайлов Ф. Оценка основных кинетических параметров каталазы в почве// Живые и биокосные системы. – 2018. – С. 1–7.
8. Паников Н.С., Ксензенко С.М. Кинетический анализ ингибирования фосфолипазной реакции в древне-подзолистой почве// Почвоведение. – 1982. – № 11, – С. 43–49
9. Anonim Devlet Meteoroloji İşleri Genel Müdürlüğü, Ankara. - 2018.
10. Bouyoucos G. J. A recalibration of the hydrometer method for making mechanical analysis of soils// Agronomy journal. – 1951. pp. 434-438.
11. Soil Survey Manual. - USDA Handbook, 1951. - № 18. - P. 503
12. Blake G. R., Hartge, K. H. Bulk density. Methods of soil analysis: Part 1 Physical and mineralogical methods. – 1986. - P. 363–375.
13. Demiralay İ., Toprak Fiziksel Analizleri// Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. –1993. – № 143. – P. 131.
14. Hizalan A., Ünal H. Topraklarda önemli kimyasal analizler. - Ankara. – 1966.
15. McLean E.O. Soil pH and lime requirement. Methods of soil analysis: Part 2 Chemical and microbiological properties. – 1983. - P. 199-224.
16. Walkley A., Black L.A. An examination of the degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method// Soil Science. – 1934. - P. 29–38.
17. Bremner J.M. Total nitrogen. Methods of Soil Analysis: Part 2 Chemical and Microbiological Properties. – 1965. – P. 1149-1178.
18. Михайлов Ф.Д. Влияние высоких концентраций субстрата на каталазной реакции в суглинистой почве. Теоретические основы кинетики ферментативных реакций в почве// Почвоведение и агрохимия. – Алматы, 2022. – № 3. – С. 60 – 86.

REFERENCES

1. Zvyagintsev D.G. Metody pochvennoy mikrobiologii i biokhimii. – M.: MGU, 1991. – 304 s.
2. Khaziyev F.Kh. Metody pochvennoy enzimologii. – M.: Nauka, 2005. – 252 s.
3. Garmashov V.M., Garmashova L.V. Katalaznaya aktivnost chernozema obyknovennogo pri minimalizatsii obrabotki pochvy i pryamom poseve v usloviyakh yugo-vostoka TsChR// Mezhd. nauch-issl. zhur. – 2022. – №5 (119). – Ch. 2, – S. 40–43.
4. Aliyev S. A., Gadzhiev D. A., Mikayylov F. D. Kineticheskiye pokazateli aktivnosti katalazy v osnovnykh tipakh pochv Azerbaydzhanskoy SSR// Pochvovedeniye. – 1981. – № 9. – S. 107–112.
5. Michaelis L, Menten M.L. Die Kinetik der Invertinwirkung. Biochem. - P. 333–369.
6. Mikayylov F.D., Khabirov I.K. Nekotorye voprosy modelirovaniya fermentativnykh protsessov v pochve// Pochva kak svyazuyushcheye zveno funktsionirovaniya prirodnykh i antropogenno-preobrazovannykh ekosistem: mater. III Mezhdunar. nauch. –практ. конф. – Irkutsk, 2011. – S. 166–171.
7. Mikayylov F. Otsenka osnovnykh kineticheskikh parametrov katalazy v pochve// Zhivye i biokosnye sistemy. – 2018. – С. 1–7.

8. Panikov N.S., Ksenzenko S.M. Kinetichesky analiz ingibirovaniya fosfogidrolaznoy reaktsii v drevno-podzolistoy pochve// Pochvovedeniye.- 1982. - № 11, - С. 43-49
9. Anonim Devlet Meteoroloji İşleri Genel Müdürlüğü, Ankara. - 2018.
10. Bouyoucos G. J. A recalibration of the hydrometer method for making mechanical analysis of soils// Agronomy journal. - 1951. pp. 434-438.
11. Soil Survey Manual. - USDA Handbook, 1951. - № 18. - P. 503
12. Blake G. R., Hartge, K. H. Bulk density. Methods of soil analysis: Part 1 Physical and mineralogical methods. - 1986. - P. 363-375.
13. Demiralay İ., Toprak Fiziksel Analizleri// Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. -1993. - № 143. - P. 131.
14. Hizalan A., Ünal H. Topraklarda önemli kimyasal analizler. - Ankara. - 1966.
15. McLean E.O. Soil pH and lime requirement. Methods of soil analysis: Part 2 Chemical and microbiological properties. - 1983. - P. 199-224.
16. Walkley A., Black L.A. An examination of the degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method// Soil Science. - 1934. - P. 29-38.
17. Bremner J.M. Total nitrogen. Methods of Soil Analysis: Part 2 Chemical and Microbiological Properties. - 1965. - P. 1149-1178.
18. Mikailsoy F.D. Vliyaniye vysokikh kontsentratsy substrata na katalaznoy reaktsii v suglinistoy pochve. Teoreticheskiye osnovy kinetiki fermentativnykh reaktsy v pochve// Pochvovedeniye i agrokimiya. - Almaty, 2022. - № 3. - S. 60 - 86.

ТҮЙІН

Ф.Д. Микаилсой^{1*}

СУБСТРАТТЫҢ ЖОҒАРЫ КОНЦЕНТРАЦИЯСЫНЫҢ САЗДЫ ТОПЫРАҚТАҒЫ КАТАЛАЗА РЕАКЦИЯСЫНА ӘСЕРІ (ИГДИР ПРОВИНЦИЯСЫ, ТҮРКИЯ)
II. ФЕРМЕНТТІҢ КИНЕТИКАЛЫҚ ПАРАМЕТРЛЕРІН АНЫҚТАУ
ТОПЫРАҚТАҒЫ КАТАЛАЗАЛАР

"Игдир" университетінің ауыл шаруашылығы факультеті, Топырақтану және өсімдіктерді қоректендіру кафедрасы, 76000, Сехит Бюлент Юрцевен кампусы, Игдир, Түркия, e-mail: fariz.mikailsoy@igdir.edu.tr,

Бұл зерттеуде талдаулар әртүрлі концентрацияларда жүргізілді (3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 30%) топырақ каталаза ферментінің кинетикалық параметрлерін есептеуге арналған H_2O_2 субстраты (V_{max} , K_M , V_{max}/K_M , K_{SEE} , $[s]_{орт}$ және γ 0, макс.). Бұл параметрлерді есептеу үшін алдымен талдау нәтижелерін пайдаланып жылдамдық (v) мәндері есептелді. Содан кейін өнім мен субстрат арасындағы байланысты білдіретін әртүрлі модельдер анықталды: $[P] = f([S])$. Ары қарай, модельді таңдау критерийлеріне сәйкес (R^2 , R^2_{adj} , σ , A , D , U_{II} , AIC), $[P]=f([S])$ қатынасын көрсететін ең қолайлы модель анықталды. Белгіленген модельге сәйкес бастапқы жылдамдық мына формула бойынша есептелді: $\tau_0=d([P])/dt|_{T=0}$. Зерттеу нәтижесінде тұздылық пен сілтілік каталаза белсенділігін төмендететіні анықталды. Субстрат концентрациясы жоғарылаған сайын каталазаның ферментативті реакциясының айтарлықтай тежелуі байқалды. Ферментативті реакцияның ыдырау коэффициентінің (K_{ESS}) мәні тұзды топырақта жоғары, яғни өнім түзілуінің тежелуі байқалады.

Түйінді сөздер: топырақ, каталаза, субстраттың тежелуі, кинетикалық параметрлер.

SUMMARY

F.D. Mikailsoy^{1*}

INFLUENCE OF HIGH SUBSTRATE CONCENTRATIONS ON CATALASE REACTION IN
LOAMY SOIL (YGDİR PROVINCE, TURKEY)

II. DETERMINATION OF THE KINETIC PARAMETERS OF THE ENZYME
CATALASES IN SOIL

*Faculty of Agriculture of the University "Iğdir", Department of Soil Science and Plant
Nutrition, 76000, Şehit Bulent Yurtseven Campus, Iğdir, Turkey,
e-mail: fariz.mikailsoy@igdir.edu.tr*

Abstract. In this study, analyzes were performed at various concentrations (3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 30 %) of the H₂O₂ substrate to calculate the kinetic parameters of the soil catalase enzyme (V_{max} , K_M , V_{max} / K_M , K_{SEE} , $[S]_{opt}$ and $v_{0,max}$). In order to calculate these parameters, the velocity values (v) were first calculated using the results of the analysis. Various models were then defined expressing the product-substrate relationship: $[P]=f([S])$. Further, according to the model selection criteria (R^2 , R^2_{adj} , σ , A , D , UII , AIC), the most suitable model was determined, reflecting the ratio $[P]=f([S])$. The initial speed in accordance with the established model was calculated by the formula: $v_0=d([P])/dt|_{t=0}$. As a result of the study, it was found that salinity and alkalinity reduce the activity of catalase. As the substrate concentration increased, significant inhibition of the catalase enzymatic reaction was observed. The values of the coefficient of decomposition (K_{ESS}) of the enzymatic reaction are higher in saline soils, that is, inhibition of the formation of products is observed.

Keywords: Soil, catalase, substrate inhibition, kinetic parameters.

СВЕДЕНИЕ ОБ АВТОРЕ

Микаилсой Фариз Дунямалыоглу - Сельскохозяйственный факультет университета «Ыгдыр», Кафедра почвоведения и питания растений, e-mail: fariz.mikailsoy@igdir.edu.tr