

KÜLÖNBÖZŐ TALAJOK DEHIDROGENÁZ AKTIVITÁSA*

S. RUSSEL

Mezőgazdasági Főiskola, Mikrobiológiai Tanszéke, Warszawa

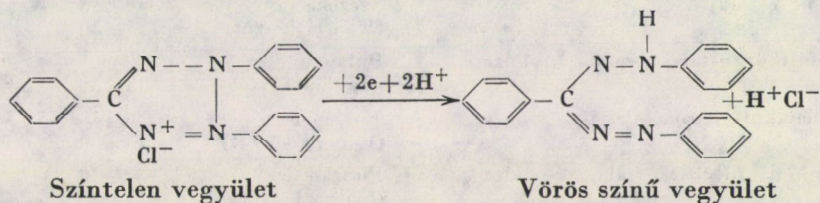
J. KOBUS

Talajtani és Növénytani Intézet, Mikrobiológiai Osztálya, Pulawy

A talajok biológiai aktivitásának vizsgálatára szolgáló módszerek között fontos szerepük van az enzimológiai vizsgálatoknak. A szakirodalomban leggyakrabban a talajok α - és β -amiláz, invertáz, ureáz, polifenoloxidáz, peroxidáz, dehidrogenáz aktivitásával kapcsolatos közleményekkel találkozhatunk [BARTHA és BORDLEAU (1969), GALSZTJAN (1962), HIRTE (1963), HOFFMANN és TEICHER (1959), HOFMANN és HOFFMANN (1966), KISS és BOARU (1965), KOZLOV (1964), KOZLOV és MIHAJLOVA (1965), LADD (1972), LADD és BUTLER (1972), LENHARD (1956), MYERS és MCGARITY (1968), ROSS (1968), TABATABAI és BREMNER (1969), VOETS és DEDEKAN (1966)].

Elsőként LENHARD (1956) mutatott rá, hogy a 2,3,5-trifeniltetrazolium-klorid felhasználható a talajok dehidrogenáz aktivitásának mérésére. Mint ismeretes, a dehidrogenázok a hidrogénnek az oxidált szubsztrátumra való átvitelét katalizálják. A hidrogén akceptor állati vagy növényi eredetű szerves anyag, illetve mesterséges szubsztrátum lehet. Így a 2,3,5-trifeniltetrazolium-klorid (TTC) is alkalmazható hidrogén akceptorként.

A dehidrogenáz ferment hidrogént visz át, a TTC-re és az a redukció eredményeképpen vörös színű trifenilformazánná alakul (TPF). A reakció az alábbi kémiai formula szerint megy végbe.



A talaj dehidrogenáz aktivitásának meghatározása — a talajminta által — 24 órás inkubáció alatt redukált trifeniltetrazoliumklorid mennyiségének mérésén alapul. Lenhard (1956) 10 g talajt kezelt 1 ml, 1%-os TTC oldattal, 20 C°-os hőmérsékleten. Inkubáció után a trifenilformazánt metanollal extrahálta.

* Előadás a Talajbiológiai Tudományos Ülésen, Debrecen 1973. szeptember 5.

Ezt az eljárást KOZLOV és MIHAJLOVA (1965), PETERSON (1967), GALSZTJAN (1962), CASIDA és munkatársai (1964), valamint THALMANN (1968) módosították. A módosítás abból állt, hogy a szerzők különböző koncentrációjú TTC oldatot, eltérő inkubációs hőmérsékletet és oldószereket alkalmaztak

Munkánk során CASIDA és munkatársai által módosított Lenhard eljárást alkalmaztunk a különböző lengyelországi talajok dehidrogenáz aktivitásának meghatározására, és egyben megvizsgáltuk a dehidrogenáz aktivitás összefüggését a talaj összmikrobaszámának, oxigén elnyelésének, szén- és nitrogéntartalmának változásával.

Anyag és módszer

Kilenc különböző eredetű talajt vizsgáltunk. Mindegyik talajból két mintát vettünk 0–15 és 15–30 cm-es rétegből, polietilén zacskókba. A talajmintákat 1971 júniusában gyűjtöttük be, szántóföldekről, illetve legelőkről. Az össz-baktériumszámot, oxigénelnyelést, dehidrogenáz aktivitást a friss talajmintákból, közvetlenül a laboratóriumba való beszállítás után meghatároztuk. A talajminták szén- és nitrogéntartalmát egy hónappal később határoztuk meg a 4 C°-on tártult mintákból.

I. táblázat
A vizsgált talajok néhány

A talajok megnevezése	A termesztett növény	A mintavétel		pH ; H ₂ O
		helye	mélysége	
Laza homok talaj	burgonya	Sadlowice (Lublíni körzet)	0–15 15–30	7,0 6,9
Könnyű öntéstalaj	rét	Szczekociny (Kielcei körzet)	0–15 15–30	6,8 7,2
Középkötött öntéstalaj	búza	Pulawy (Lublíni körzet)	0–15 15–30	8,2 8,0
Löszön kialakult barna talaj	búza	Antropol (Lublíni körzet)	0–15 15–30	7,4 7,5
Agyagon kialakult barna talaj	búza	Piotrkowice (kielcei körzet)	0–30 15–30	8,1 8,1
Bentoniton kialakult fekete talaj	kobakos	Jadzejew (Kielcei körzet)	0–15 15–30	7,9 7,9
Csernozjom talaj	búza	Miechow (Krakkói körzet)	0–15 15–30	6,1 6,5
Nehéz rendzina talaj	búza	Wislica (Kielcei körzet)	0–15 15–30	7,6 7,8
Közepesen mély tőzegláptalaj	rét	Porebka (Katowicei körzet)	5–15 15–30	7,5 7,5

A mikrobaszámot talajkivonatot és K_2HPO_4 -et tartalmazó agarlemeze-
ken határoztuk meg.

Dehidrogenáz aktivitás meghatározása:

20 g talajt 0,2 g $CaCO_3$ -al összekevertünk, három darab 15×150 mm-es
kémcsőbe 6–6 g-t mértünk be e talajokból. Mindegyik kémcsőbe 1 ml 3%-os,
vizes TTC oldatot és 2,5 ml desztillált vizet adagoltunk. A kémcsövek tartalmát
üvegbottal alaposan összekevertük, majd a kémcsöveket bedugaszoltuk és
24 órán át $37^\circ C$ -on inkubáltuk.

A trifenilformazánt etanollal extraháltuk, színintenzitását spektrofoto-
méterrel határoztuk meg, $485 m\mu$ -nál a tiszta etanollal szemben. A spektrofoto-
metrikus mérések eredményeiből számítás útján határoztuk meg a TPF men-
nyiségét, oly módon, hogy a leolvasási értékeket összehasonlítottuk a külön-
böző, ismert TPF mennyiségeket tartalmazó alkoholos oldatok segítségével
nyert Standard-görbe értékeivel. A dehidrogenáz aktivitást 20 g talajban
redukált TTC, azaz a TTC által felvett μl H mennyisége alapján értékeltük.

A talajok oxigénelnyelését Warburg manometrikus módszerével hatá-
roztuk meg. A respirációs aktivitást 5 g talajminta által 3 óra alatt elnyelt
 O_2 mennyiségével jellemeztük.

A talajok nitrogéntartalmának meghatározása Kjeldahl módszerével, a
szerves széntartalom meghatározása pedig „Carhograph-8” berendezéssel
történt.

biológiai és kémiai sajátossága

Nedvesség- tartalom	Összes C %	Összes N %	C : N arány	Baktériumok és sugárgombák száma milliókban	Talajlégzés $\mu l O_2/3^h$ 5 g talajra	Dehidrogenáz aktivitás $\mu l H/24^h$ 20 g talajra
3,91	0,92	0,050	18	31,7	41,1	12,0
5,50	0,73	0,030	24	23,5	38,8	11,8
24,30	3,24	0,258	12	717,2	402,5	519,0
22,80	2,14	0,196	13	588,4	85,0	337,0
19,60	2,31	0,259	9	154,7	59,0	183,2
18,90	1,06	0,157	7	21,5	17,4	169,8
5,41	1,01	0,045	23	352,5	63,2	129,8
8,87	0,85	0,046	18	20,1	61,6	38,5
11,50	3,57	0,150	23	203,9	222,3	441,6
10,20	1,53	0,114	13	18,8	138,9	184,2
17,60	2,59	0,144	18	149,8	60,2	249,2
12,50	1,10	0,092	12	15,9	29,4	78,0
7,41	1,77	0,143	12	211,0	40,4	70,4
7,29	1,37	0,111	12	56,8	35,3	21,6
24,40	2,85	0,393	7	491,7	103,8	397,8
23,50	2,01	0,230	9	406,6	90,0	160,4
62,20	26,70	2,250	21	338,8	1364,3	6757,2
66,0	39,80	2,743	14	234,6	2000,0	3134,0

Eredmények

Különböző eredetű, eltérő mennyiségű szerves szén és nitrogén tartalmú talajokat tanulmányoztunk. A talajok agyagfrakciójának mennyisége 6–60% között változott. A vizsgált talajok között láptalaj is volt. A laza öntéstalaj és a láptalaj kivételével a talajmintákat szántóföldről gyűjtöttük be.

Az ásványi talajok 0,92–3,57% szén tartalmaztak, az össznitrogén-tartalom 0,03–0,5% között változott. A tőzegetalaj mintegy 2,5% nitrogént tartalmazott. A szén és nitrogén aránya 7–24 : 1 között változott.

A baktériumok és sugárgombák együttes száma, mint az 1 táblázat adataiból kitűnik, 31,7–717 millió között változott 1 g talajra számítva. Általában 0–15 cm-es talajrétegben a mikrobák száma magasabb volt mint a 15–30 cm-es rétegben. A talajok N és C tartalmának növekedésével emelkedett a mikroorganizmusok száma is.

A magasabb légzési aktivitást (oxigénfelnyelést) a kotus tőzegetalajnál tapasztaltuk. Az ásványi talajok közül a könnyű öntéstalaj volt a legaktívabb. Az anyagos márgán kialakult barna talaj légzési aktivitása mintegy fele volt a könnyű öntéstalaj légzési aktivitásának. A többi talaj oxigénfelnyelése kisebb volt 17–100 $\mu\text{l O}_2$ között változott 5 g talaj háromórás respirációjára vonatkoztatva.

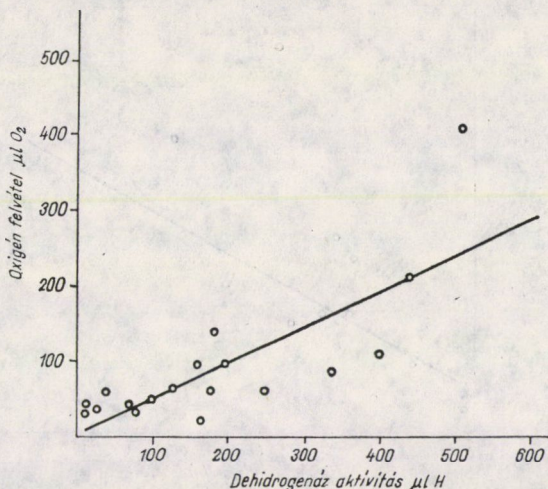
A dehidrogenáz aktivitás szintén függ a talaj minőségétől. A legaktívabb a láptalaj volt, amelynek aktivitása 13–20-szor felülmúlta a könnyű öntéstalaj, a rendzina talaj és a meszes márgán kialakult barna talaj aktivitását.

Vizsgálataink során összefüggésbe hoztuk a talaj dehidrogenáz aktivitását a mikrobiológiai aktivitás olyan kritériumaival, mint a talaj oxigénfelnyelése, összmikrobaszáma, valamint C és N tartalma. Megállapítottuk, hogy a talaj dehidrogenáz aktivitása függ a talaj minőségétől, C és N tartalmától, valamint légzési aktivitásától.

Az eredmények megvitatása

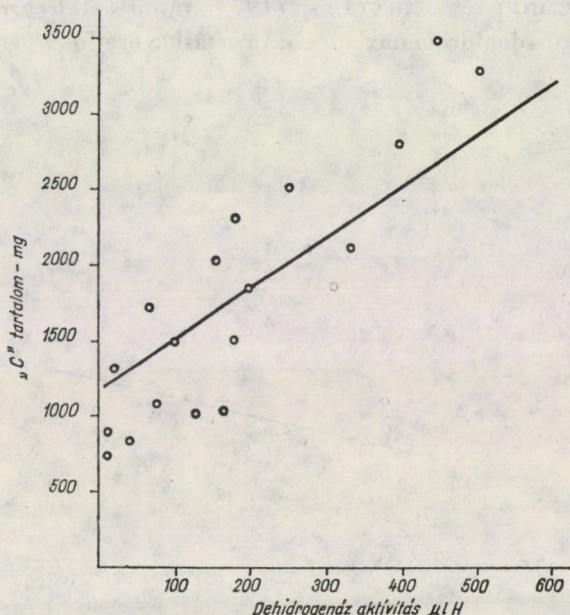
CASIDA és munkatársai (1964) által módosított Lenhard-módszer igen alkalmas a különböző talajok dehidrogenáz aktivitásának tanulmányozására. Közvetlen összefüggést tapasztaltunk a talajminták formázán képzése és légzési aktivitása között (1. ábra). Hasonló megállapításra jutottak korábban LENHARD (1956, 1957, 1966) STEVENSON (1956, 1962), HIRTE (1963), RAWALD és munkatársai (1968) és mások.

Korrelációs összefüggést tapasztaltunk a TTC redukció, valamint a talaj szerves C és N tartalma között is (2., 3. ábrák). GALSZTJAN (1962, 1964, 1965), KOZLOV (1964) szerint a dehidrogenáz aktivitás függ a talaj szervesanyag-tartalmától. RAWALD és munkatársai (1968) úgy találták, hogy a humusz

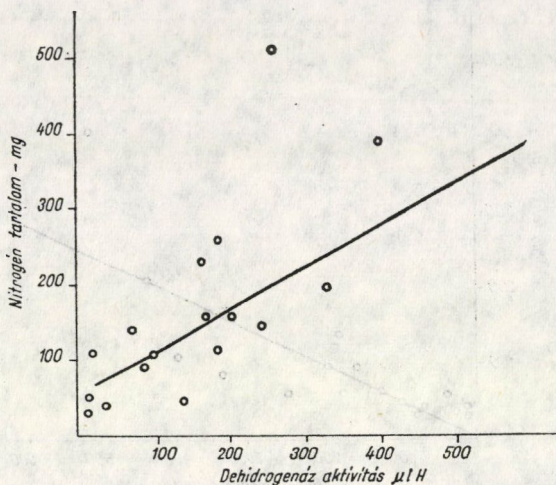


1. ábra. Összefüggés a talajok dehidrogenáz aktivitása és oxigén felvétele között 3 órás inkubáció folyamán, $r = 788$, $n = 16$

minősége, az összbaktériumszám és a dehidrogenáz aktivitás között korrelációs kapcsolat van. Vizsgálataink során nem tapasztaltunk szoros összefüggést a talaj TTC redukciója és mikroorganizmus száma között, de mint a 4. ábrából is kitűnik, bizonyos tendencia fennáll. STEVENSON (1962), CASIDA és munkatársai (1964), MYŚKÓW és TOBOLSKA (1965) vizsgálataik során közvetlen össze-



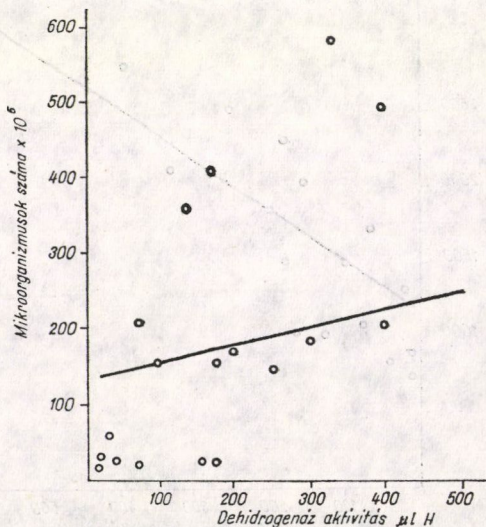
2. ábra. Összefüggés a talajok dehidrogenáz aktivitása és széntartalma között $r = 896$, $n = 16$



3. ábra. Összefüggés a talajok dehidrogenáz aktivitása és N-tartalma között, $r = 0.689$, $n = 16$

függést tapasztaltak a talaj dehidrogenáz aktivitása és a talaj szerves anyagának lebontásában résztvevő mikroorganizmusok száma között. KOZLOV és MIHAJLOVA (1965) irkutszki talajokban korrelációs viszonyt talált a talajok dehidrogenáz aktivitása között és a mikroorganizmusok száma között.

CERNA (1972) szerint a talaj dehidrogenáz aktivitása függ a nedvességtartalomtól. BREMNER és TABATABAI (1973) rámutattak arra, hogy a TTC módszerrel történő dehidrogenáz meghatározások eredményeit befolyásolja a



4. ábra. Összefüggés a dehidrogenáz aktivitás és a talajok mikroorganizmus száma között, $r = 0.408$, $n = 16$

nitrát és más szervesen talajalkotók átalakulása. A szerzők úgy találták, hogy a nitrit, nitrát és ferri ionok csökkentették a TTC módszerrel mért dehidrogenáz aktivitás értékét, míg a MnO_2 , foszfát, szulfát és klorid fokozták azt. A TTC-vel meghatározott dehidrogenázaktivitási értékek nem esnek egybe a redoxpotenciál változásokkal.

Összefoglalás

A szerzők Casida és munkatársai által módosított *Lenhard*-módszerrel vizsgálták a különböző mechanikai és kémiai összetételű talajok dehidrogenáz aktivitását.

Megállapították, hogy a talajok TTC redukciója, oxigénelnyelése, valamint nitrogén- és széntartalma között korrelációs összefüggés áll fenn.

A talajok dehidrogenáz aktivitása, valamint a mikroba számok változása között nem volt korrelációs összefüggés.

A tanulmányozott talajok közül a láptalaj legmagasabb aktivitású. Az ásványi talajok közül a legelőről származó könnyű aluviális talaj, a meszes márgán kialakult barna talaj, valamint a rendzina és csernozjom volt igen aktív. A laza homoktalaj dehidrogenáz aktivitása nagyon kicsi volt.

IRODALOM

- BARTHA, R.—BORDLEAU, L. (1969): Cell-free peroxidase in soils. *Soil Biol. Biochem.* **1**, 139—143.
- BREMNER, K. M.—TABATABAI, A. M. (1973): Effects of some inorganic substances on TTC assay dehydrogenase activity in soils. *Soil Biol. Biochem.* **5**, 385—386.
- CASIDA, L. E.—KLEIN, D. A.—SANTORE, T. (1964): Soil dehydrogenase activity. *Soil Science* **98**, 371—376.
- CERNA, S. (1972): Vliv některých ekologických faktorů na dehydrogenázovou aktivitu v půdě. *Rostlinna Výroba* **18**, 101—106.
- GALSTJAN, A. SZ. (1962): K metodike opredelenija degidrogenaz v pocsvu. *Doklady Akademii Nauk Arm. SSR*, 165:166—167.
- GALSTJAN, A. SZ. (1964): O degidrogenazah pocsvu. *Doklady Akademii Nauk SSSR*. **156**, 166—167.
- GALSTJAN, A. SZ. (1965): K metodike opredelenija aktivnosti gidroliticeszkich fermentov pocsvu. *Pocsvovedenie* **2**, 68—74.
- HIRTE, W. (1963): Determination of soil dehydrogenase activity. *Ztbl. Bacteriol. Parasitenk. Abt. II*. **116**, 478—484.
- HOFFMANN, G.—TEICHER, K. (1959): Das Enzymsystem unserer Kulturboden. VIII. Proteasen. *Z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenkunde* **85**, 193.
- HOFMANN, E.—HOFFMANN, G. (1966): Die Bestimmung der biologische Tätigkeit in Böden mit Enzymmethoden. *Adv. in Enzymology* **28**, 365.
- KISS, S.—BOARU, M. (1965): Some methodological problems of soil enzymology. *Symposium on Methods in Soil Biology*, Bucharest, pp. 115—127.
- KOZLOV, K. A.—MIHAJLOVA, E. N. (1965): Degidrogenaznaja aktivnoszt nekotoryh pocsv Vostocnoj Sibiri. *Pocsvovedenie* **2**, 58—63.
- KOZLOV, K. A. (1964): Enzymatic activity of the rhizosphere and soils in the East Siberia Area. *Folia Microbiologica* **9**, 145—149.

- LADD, N. J. (1972): Properties of proteolytic enzymes extracted from soil. *Soil Biol. Biochem.* **4**, 227—237.
- LADD, N. J.—BUTLER, A. H. J. (1972): Short term assays of soil proteolytic enzyme activities using proteins and dipeptide derivatives as substrates. *Soil. Biol. Biochem.* **4**, 19—30.
- LENHARD, G. (1956): Die Dehydrogenaseaktivität des Bodens als Mass für Mikroorganismen-tätigkeit im Boden. *Z. Pflanzennähr. Düng. Bodenkunde* **73** (118), 1—11.
- LENHARD, G. (1966): The dehydrogenase activity for the study of soils and river deposits. *Soil Sci.* **101**: 400.
- LENHARD, G. (1957): Die Dehydrogenaseaktivität des Bodens als Mass für die Menge an mikrobielle abbaubaren Humusstoffen. *Z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenk.* **77**, 193—198.
- MYERS, G. M.—MCGARITY, J. W. (1968): The urease activity in profiles of five great soil groups from Northern New South Wales. *Plant and Soil* **34**.
- MYŚKÓW, W. — TOBOLSKA, H. (1965): Aktywnosc biologiczna gleby w czasie rozkladu w niej resztek roslin. *Pamiętniki Pulawskie.* **18**, 351.
- PETERSZON, N, V. (1967): Degidrogenoznaja aktivnoszt v pocsve kak projavlenie aktivnoszti jej mikroflori mikrobiologija. **36**, 518
- RAWALD, W.—DOMKE, K.—STOHR, G. (1968): Studies on the relations between humus quality and microflora of the soil. *Pedobiologia* **7**, 375—380.
- ROSS, J. D. (1968): Some observations on the oxidation of glucose by enzymes in soil in the presence of toluene. *Plant and Soil* **28**, 1—11.
- STEVENSON, I. L. (1956): Dehydrogenase activity in soils. *Can. J. Microbiol.* **5**, 229—235.
- STEVENSON, I. L. (1962): The effect of decomposition of various crop plants on the metabolic activity of the soil microflora. *Can. J. Microbiol.* **8**, 501—509.
- TABATABAI, M. A.—BREMNER, J. M. (1969): Use of p-nitro-phenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biol. Biochem.* **4**, 301—307.
- THALMANN, A. (1968): Zur Methodik der Bestimmung der Dehydrogenaseaktivität im Boden mit Triphenyltetrazoliumchloride (TTC). *Landwirtschaftliche Forschung* **21**, 249—258.
- VOETS, J. P.—DEDEKAN, M. (1966): Soil enzymes. *Mededelingen Rijksfaculteit Landbouwwetenschappen Gent.* **31**, 177.