

TOPRAKLARDA ANZİMLERİN MENŞEİ, AKTİVİTELERİ VE ÖNEMLERİ

Abdüsselâm ERGENE (1)

Giriş

Canlı varlıkların hayatiyetlerini kaybettikten sonra geriye kalan artıklarının toprakta mineralize olması, humus teşekkülü ve bitki gelişmesi için lüzumlu olan elementlerin, bitkilerin istifade edebileceği formlara dönmeleri eskidenberi bilinmekle beraber hadisenin tabiatı bir asır öncesine kadar tam anlamı ile aydınlanmış değildi. Bu hususta kimyagerler, fizyologlar, mikrobiyologlar ve ziraatçılar arasında görüş ayrılıkları bulunmakta idi. Mesalâ kimyagerler organik maddenin ayrışmasına pür kimyasal bir olay nazarı ile bakmışlardır. Bu görüşün temsilciliğini Liebig, Berzelius ve Wöhler yapmıştır. Bitki fizyologları maddenin sadece bitki veya hayvan bünyesinde değişikliğe uğrayabileceğini iddia etmişlerdir. Bu görüşün temsilcileri Dumas ve Bous-singault'tur. Pasteur bitkiler ve hayvanlar alemine ilveten üçüncü bir canlı varlıklar aleminin yani mikroorganizmaların hayat zincirine katıldıklarını ve bunların organik artıkları mineralize ettiklerini ortaya koymuştur (Waksman, 1957).

Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalar ve araştırmalar anzimlerin top-

raktaki bitkisel ve hayvansal artıkları ayrıştırmadaki rollerini aydınlatmaya yönemiş bulunmaktadır.

Topraklarda yaşayan geniş mikroorganizmalar aleminin toprak oluşu, toprak strüktürü ve verimliliği üzerine olan tesirleri iyice alaşılmış olup toprakta cereyan eden olayların çoğunluğunun biyolojik menşeli ve biyolojik faktörlerin etkisi altında bulunduğu şüphe götürmez bir gerçektir. Bu böyle olmakla beraber son zamanlarda anzimlerin topraktaki aktiviteleri üzerine yapılmış bazı çalışmalar biyolojik aktiviteyi değerlendirmede klasik mikrobiyolojik metodların yalnız başına yeterli olmadığını ortaya koymuştur (Hofmann, 1963 b).

Toprak mikrobiyolojisi sahasında mikroorganizmaların türleri ve sayıları üzerinde yapılan çalışmalar topraktaki biyolojik hayatı tanıtmak, bunların faaliyetleri hakkında temel bilgileri vermekle beraber kullanılan metodların, sonuçların değerini düşürücü mahiyette üç zayıf tarafının bulunduğu öne sürülmektedir (Hofmann, 1963 b):

(1) Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Toprak Bölümü Öğretim Üyesi.

1. Siyima tekniğinin düşük değerler vermesi;
2. Topraktaki mikroorganizmaların sayısının sabit olmaması; sıcaklık, rutubet, gübreleme ve diğer faktörlerin etkisi altında önemli surette değişmesi; bu sebeple de ortalama değer bulunabilmesi için müteaddit tayin ve tahminlerin yapılmasına ihtiyaç duyulması;
3. Tayin edilen sayıların aktivite ile ilgili bulunmaması. Aktivite anzimlerin sayı ve miktarına bağlıdır ki, bu da bütün toprak florası ile ilgili değildir.

Bu sebeplerden ötürü toprağın mikrobiyolojik aktivitesinin tayininde klasik metodların uygulanması yerine çalışmalar anzimlerin aktivitesi üzerine yönelmiş bulunmaktadır.

Hoffmann ve Hofmann'ın (1953, 1954) yaptıkları araştırmalar toprak tarafından absorbe edilmiş anzimlerin ortam şartlarına ve anzim zehirlerine karşı dayanıklı olduklarını göstermiştir. Toprak normal oda şartlarında kurutulduğu zaman mikroorganizmaların vejetatif formlarının büyük bir kısmının hayatiyetlerini kaybetmelerine mukabil aktivite önemli surette azalmamaktadır.

Hofmann'a (1961) göre Pochon ve De Barjac yaptıkları araştırmalarda toprak örneğinde bulunan anzimlerin aktivitelerinin toprak düşük sıcaklık derecelerinde kurutulduğu takdirde azaldığını ve kurutma esnasında mikroorganizmaların vejetatif formlarının büyük bir kısmının canlılıklarını kaybetmelerine mukabil aktivite üzerine pek az etkili olduğunu tesbit etmişler-

dir. Bu yüzden toprakların anzim aktivitelerini her mevsimde tayin etmek mümkün olmaktadır.

Toprakadaki anzimlerin kalitatif analizleri üzerinde ilk defa çalışan Permi (1910) proteolitik anzimleri teşhis etmiştir. Toprakta üreaze Conrad, ve Fosfataze Jackman ve Black tarafından tesbit edilmiştir (Ünal, 1967).

Topraklardaki anzim aktivitesi ile ilgili çalışmalar son yirmi yıl içinde önemli ilerlemeler kaydetmiştir. Billhass Hofmann ve mesai arkadaşları (1953, 1954, 1955, 1966) ve Hoffmann ve arkadaşlarının (1959, 1961, 1965) çalışmaları topraklardaki çeşitli anzimlerin teşhislerinin ve aktivitelerinin kantitatif olarak tayinini mümkün kılmıştır.

Memleketimizde Ünal (1967) Rize topraklarının anzim aktiviteleri üzerinde, çalışmış ve toprakların çeşitli özellikleri ile anzim aktiviteleri arasında önemli ilişkiler tesbit etmiştir. Ergene (1970) Erzurum ovası topraklarındaki çeşitli anzimlerin aktivitelerini tayin etmiştir.

Topraklardaki anzimlerin mahiyeti ve menşei

Anzimler organizmaların hücrelerinde oluşan yüksek moleküllü katalizörlerdir. Bunlar organizmanın hayati fonksiyonları için lüzumlu bütün kimyasal reaksiyonlara girmektedirler.

Anzimler birbirinden farklı iki sınıftan oluşmaktadır: Birinci kısım *apo-anzim* veya *feron* denilen kısım olup büyük bir protein molekülünden ibarettir ve aktif kısmın taşıyıcısı olarak vazife görür. Yüksek sıcaklığa dayanıklı değildir. Apo-anzimin molekülü büyük olduğu için semi permeabl zarların

çoğundan geçemezler. İkinci kısım *ko-anzim* veya *agon* adı verilen ve katalizör vazifesi gören aktif kısımdır. Bu kısım protein tabiatında olmayıp sıcaklığa daha dayanıklıdır. Apo-anzimlerle ko-anzimler diyalizle birbirinden ayırd edilebilmektedir.

Anzimler husule geldikleri hücrelerin içinde veya dışında çalıştıklarına göre ikiye ayrılırlar:

1. *Endo anzimler*, hücrelerin içinde reaksiyona girenler;

2. *Ekto anzimler*, hücre dışında salgılanan ve hücre dışındaki büyük moleküllü besin maddelerini parçalayarak hücre tarafından absorbe edilebilecek duruma getiren enzimlerdir. Topraktaki enzimlerin çoğunluğu bu gruptandır.

Bir enzim ancak belli kimyasal yapıdaki bir maddeye tesir edebilmektedir ki bu maddeye o enzimin sübüstratı adı verilmektedir. Enzim önce parçalayacağı sübüstrat molekülüne bağlanmakta, sübüstratı daha basit bileşiklere parçalamakta ve sonra aynı tarzda yeni bir molekül parçalamak üzere yeniden reaksiyona girmektedir. Böylece reaksiyon devam ederek kısa zamanda çok sayıda molekül parçalanmaktadır. Ayrışma ürünleri hücre tarafından absorbe edilemeyecek kadar büyük ise başka bir enzimin etkisi ile daha basit parçalara ayrılmaktadır.

Azimlerin aktiviteleri üzerine ortamın reaksiyonu (pH) ve sıcaklık önemli surette etki yapar. Her enzimin bir optimal pH ve sıcaklık derecesi vardır. Anzimlerin aktiviteleri ayrıca toprak işlemesine, verilen gübrelerin mahiyetine ve topraktaki hasat artıkları gibi faktörlere bağlı olarak değişmektedir. Uy-

gun olmayan toprak işleme ameliyeleri, toprağın zamanında ekime hazırlanması ve tek taraflı tarımın topraktaki enzim seviyelerini düşürdüğü anlaşılmıştır.

Topraklarda çok çeşitli enzimler bulunmakla beraber önemli olanlar hidrolazlardır. Hidrolazlar büyük moleküllü organik bileşikleri hidroliz ile daha küçük moleküllü basit maddelere ayırıştırırlar. Genellikle C-O ve C-N bağlarını hidroliz ile parçalarlar.

Topraklardaki önemli enzimlerden:

Karbohidrazlar, sellüloz, nişasta ve benzeri polisakkaritleri ayırıştırırlar. Proteazlar, proteinli maddeleri polipeptid, dipeptid ve sonunda amino asitlerine çevirirler.

Esterazlar, nükleik asit ve diğer fosfat esterlerini fosfat anyonlarına kadar parçalarlar.

Pektin parçalayıcı enzimler, pektin maddelerini ayırıştırırlar.

Meydana gelen ayrışma ürünlerinden gene enzimlerin etkisi ile oksidasyon, redüksiyon, karboksilasyon ve nitrifikasyon gibi karışık reaksiyonlardan sonra NH_4^+ , NO_3^- , PO_4^{3-} , SO_4^{2-} , Ca^{++} , K^+ , Na^+ ile bazı iz elementlerin iyonları serbest hale geçer. Açığa çıkan ürünlerin bir kısmını topraktaki mikroorganizmalar besin maddesi olarak kullanırlar. Parçalanma ürünlerinin büyük bir kısmı da yüksek bitkilerin besin maddelerini teşkil eder.

Bu olayların diğer bir yönü de ayrışma ürünlerinden bir kısmının gene enzimlerin tesiri ile kendi aralarında birleşerek humus maddelerini teşkil etmeleridir.

Yukarda verilen izahat toprak anzimlerinin önemini ve toprağın verimliliğine etkisini açıkça göstermektedir.

Topraklardaki amzimlerin büyük çoğunluğunun orijini toprakta yaşayan mikroorganizmalardır. Bunlar toprağa iki şekilde ihtikal etmektedirler.

1. Toprakta yaşayan mikroorganizmaların salgıladıkları, ekto anzimler;
2. Topraktaki mikroorganizmaların ölümünden sonra serbest hale geçerek toprağa karışmış olan anzimlerdir.

Bitki artıklarından toprağa karışmış olan anzimler ortam şartlarına dayanıksız olduklarından kısa zamanda parçalanarak aktivitelerini kaybederler. Bu sebeple bitkisel anzimlerin toprak anzim aktivitesi üzerine önemli bir etkisi bulunmamaktadır.

Topraktaki anzimler daha ziyade kil ve silt fraksiyonlarının humus ile örtülmüş parçacıkları üzerinde lokalize olmuşlardır. Absorbe edilmiş azimler dış etkilere karşı dayanıklıdır ve aktivitelerini uzun süre muhafaza ederler (Hofmann, 1963 b, 19663).

Topraklarda Anzim Aktivitesinin Tayini ve Değerlendirilmesi

Anzler toprak kollidleri tarafından kuvvetle absorbe edilmiş olduklarından topraktan izole edilmeleri mümkün olmamaktadır. Toprak anzimlerinin miktarlarının tayini yerine aktiviteleri ölçülmektedir. Yani toprak, bir anzim taşıyıcısı olarak kullanılmakta, toprağın üzerine aktivitesi tayin edilecek anzimin sübstratından belli miktar ilave

edilmekte, ayrışma ürünü miktarından aktivite tayin edilmektedir.

Anzim aktiviteleri tayin edilecek topraklar oda şartlarında havada kurularak 2 mm. lik elekten geçirilir ve genellikle 10 gr. lık miktarda tayinler yapılır. Analiz aşağıdaki esaslara göre yapılır.

1- Toprak örneğindeki mikroorganizmaların tesirini bertaraf etmek için toprak örneği Toluol ile doyurulur. Toluol ile doyurulmuş toprak örneğinde kuluçka müddeti içinde sadece hidrolitik parçalanma reaksiyonu cereyan eder, başka parçalanma ürünleri meydana gelmez. Örneğe ilâve edilmiş substrat da başka reaksiyonlar için sarfedilmiş olur.

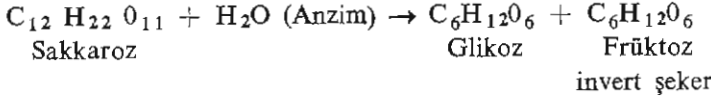
2- Analizi yapılan toprak örneğine, aktivitesi tayin edilecek anzimin sübstratının sudaki çözeltisinden belli bir hacim ve miktar ilave edilir (Mesela 10 cm³).

3- Anzim aktivitesi ortamın reaksiyonuna bağlı olduğundan ortamın pH'sını sabit tutmak için, toprak örneğine belli miktarda ve pH'sı aktivitesi tayin edilecek anzimin optimal pH'sına uygun bir tampon çözeltisi ilâve edilir.

4- Toluol ile doyurulmuş, sübstrat ve tampon çözeltisi ilâve edilmiş toprak örneği 37°C'ye ayarlanan inkübatörde belli bir müddet (kuluçka müddeti) tutulur. Bu müddet içinde ilave edilen substrattan ölçülebilecek miktarda parçalanma ürünü ayrılmış olur. Parçalanma ürünü suda çözünür olduğundan toprak çözeltisine geçer. Toprak çözeltisi süzülerek elde edilen filtrattan belli

hacimler alınarak titrasyonla veya kolorimetrik olarak aktivite tayini yapılır.

Sakkaraz, Üreas ve Fosfataz enzimlerinin aktivite tayinlerindeki esaslar aşağıda belirtilmiştir.

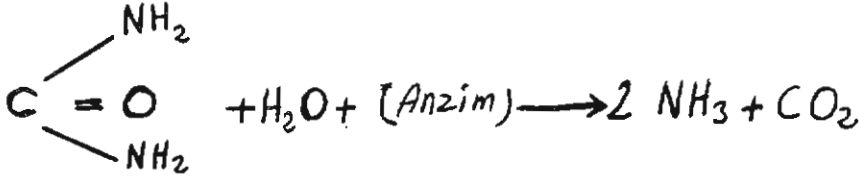


Sakkaroz indirgen değildir, fakat invert şeker indirgendir. Karbonatlı bakır sülfat çözeltisindeki iki değerli bakır iyonu bir değerli bakır iyonuna indirgenir. Hasıl olan bakır oksidül, ortama ilâve edilen fosfomolibdatı molibden mavisine indirger. Teşekkül eden mavi rengin tonu kolorimetrik ola-

rak tayin edilerek bir değerli bakır ve dolayısı öle invert şeker iktarı tayin edilmiş olur.

Üreas Aktivitesi Tayininin Esası

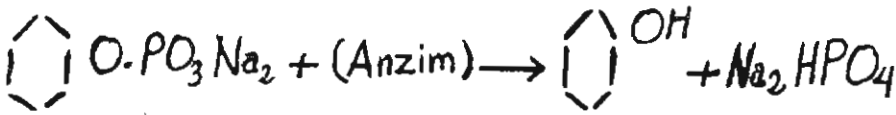
Toprakta üreas aktivitesi tayininde substrat olarak üre kullanılır. Üreas hidroliz ile üreyi NH_3 ve CO_2 de parçalar:



Anzimin etkisi ile toprağa ilâve edilmiş ürenin parçalanmasından toprak çözeltisinde husule gelen amonyak miktarı tayin edilerek üreas aktivitesi tayin edilir.

Fosfataz Aktivitesi Tayininde Esas

Toprakta fosfataz enzimlerinin tayininde substrat olarak Disodyum-fenilfosfat çözeltisi kullanılır. Fosfataz enzimlerinin etkisi ile bu maddefenol ve sodyum-asit-fosfata hidrolize olur.



Disodyum fenil-fosfat

Fenol sodyum asit fosfat

Açığa çıkan fenol kalevi ortamda 2.6-Dibromchinon-chlorimid ile mavi renkli bir indofenol renk maddesi verir. Husule gelen rengin intensitesinden serbest hale gelen fenol miktarı tayin edilerek aktivite bulunur.

Değerlendirme

100 gr. toprakta bulunan herhangi bir enzim inkübasyon süresi içinde substratından 1 mg. madde hidroliz ederse o enzimin aktivitesi 1 aktivite birimi olarak kabul edilmektedir. Meselâ 100 gr.

toprakta bulunan üreaz enzimi toprağa sübstrat olarak ilâve edilen üreden 1 mg. parçalamış ise o toprağın üreaz aktivitesi 1'dir.

Hafmann ve mesai arkadaşları (1966) toprakları anzim aktivitelerine göre cetvel: 1 de görüdüğü gibi düşük, normal ve yüksek olmak üzere ifade etmişlerdir.

Cetvel 1. Tarla topraklarının anzim aktivitesi seviyeleri.

Anzim	Aktivite		
	Düşük	Normal	Yüksek
Sakkaraz	15 den küçük	15—30	30 dan yüksek
B. Glikozidaz	20 " "	20—40	40 " "
Üreaz	8 " "	8—16	16 " "
Proteaz	15 " "	15—40	40 " "

Anzim aktivitesinin toprağın derinliği, mikroorganizma sayısı ve toprağın çeşidi ile ilişkisi

Topraklarda anzim aktivitesi şartlara göre değişmektedir. Bilindiği üzere topraklarda mikroorganizmaların sayısı toprağın üst katlarından alt katlara inildikçe azalmaktadır. Anzimler de mikroorganizmaların mahsulü olduğundan

mikroorganizmalarda olduğu gibi, toprakların alt katlarına indildikçe anzim aktivitesinin de azaldığı görülmektedir. Toprağın derinliği ile anzim aktivitesi arasındaki münasebet cetvel: 2 ve 3'de gösterilmiştir. Cetvel 2 ve 3'ün jetkikinden de anlaşılacağı üzere hem bakteri sayısı hem de aktivite toprağın alt katlarına doğru azalmaktadır (Hoffmann, 1963 b).

Cetvel 2. Bakteri sayısı ile sakkaraz aktivitesi arasındaki ilişki

Profil	Derinlik cm.	Bakteri sayısı 10 ⁶	Sakkaraz aktivitesi (x)
A	0—10	7.3	6.6
	10—20	7.1	6.2
	20—40	4.1	4.2
B	0—10	7.6	6.4
	10—20	6.2	6.2
	20—40	3.2	3.8

(x) 37°C de 24 saatlik inkübasyon devresinde 2 gr. topraktan açığa çıkan monosakkaridleri titre etmek için sarfedilen 0.1 N soyum tiyosülfatın cm³ olarak miktarı.

Anzim aktivitesi toprağın çeşidine göre de değişiklik göstermektedir. Cetvel: 3'teki rakamlardan, anzim aktivitenin çayır topraklarında tarla top-

raklarından daha yüksek olduğu ve her iki toprakta da derinlikle anzim aktivitesinin azaldığı görülmektedir (Hoffmann, 1963 b).

Cetvel 3. Tarla ve çayır topraklarında çeşitli derinliklerde anzim aktivitesi.

Derinlik cm.	Sakkaroz		B. Glükozidaz		Üreaz	
	Tarla	Çayır	Tarla	Çayır	Tarla	Çayır
0—10	8.5	14.8	2.0	4.0	7.9	16.8
10—20	9.4	7.3	1.6	1.8	7.0	11.0
20—40	5.0	3.0	1.0	0.8	3.2	8.1
40—60	3.3	2.6	1.0	0.4	1.2	2.3
60—80	2.3	0.6	0.3	0.3	0.9	1.0
80—100	2.3	0.5	0.2	0.3	0.0	0.7
150—170	—	0.1	—	—	—	—

LİTERATÜR

- Ergene, A: 1970. Erzurum Ovası topraklarını temsil eden önemli toprak çeşitlerinin kimyasal özellikleri, fosfor durumları ve biyolojik aktiviteleri üzerinde araştırmalar. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi S. 29-41, Erzurum.
- Hofmann, E. ve Hoffmann, G. 1953. Über das Enzymsystem unserer Kulturböden. IV. die β -Glucosidase Biochemische Zeitschrift, Bd. 324. S. 297-400.
- Hofmann, E. 1961. Über Zuverlässigkeit der Methoden zur Bestimmung der Aktivität von Bodenenzymen. Plant and soil vol. XIV. No. 1,
- Hofmann, E. 1963 a. Moderne Methoden der pflanzenanalyse S. 429.
- Hofmann, E. 1963 b. The Origin and importance of enzymes in soil. Reprint from Recent Progress in Microbiology VIII. University of Toronto Press.
- Hofmann, E. ve Hoffmann, G. Über das Enzymsysteme unserer Kulturböden V. α und β -Galaktosidase und α Glucosidase. Biochemische Zeitschrift, Bd. 325, s. 329-332, 1954.
- Hofmann, E. ve Hoffman, G. 1955. Über Herkunft, Bestimmung und Bedeutung der Enzyme im Boden. Z. Pflanzenernährung Düngung Bodenkunde, 70.
- Hofmann, E. Über Zuverlässigkeit der Methoden zur Bestimmung der Biologischen Tätigkeit im Böden mit Enzymmethoden. Reprinted from Advances in Enzymology and related subject of Biochemistry. Vo. 28. s. 365-390. 1966.
- Hoffmann, G. 1959 Verteilung und Herkunft einiger Enzyme in Boden. Z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenkunde, 85.
- Hoffmann, G ve Teicher, K. 1961. Ein Kolorimetrisches Verfahren zur Bestimmung der Urease Aktivität im Böden Z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenkunde, 91.
- Hoffman, G. ve Pallauf, j. 1965. Eine Kolorimetrische Methode zur Bestimmung der Saccharase Aktivität von Böden. Z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenkunde, 110.
- Ünal, H. 1967. Rize Çay Topraklarının Anzim Aktiviteleri ve Bu Aktivitelerle Önemli Toprak Özellikleri Arasında İlgiler s. 14.
- Waksman, S. A. 1957. Soil Microbiology. j. Willey and Sons Inc. Newyork S. 1-2.