



ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ
ПО ИЗОБРЕТЕНИЯМ И ОТКРЫТИЯМ
ПРИ ГНТ СССР

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

1

(21) 4756390/15

(22) 09.11.89

(46) 23.01.92. Бюл. № 3

(71) Полтавский сельскохозяйственный институт

(72) С.В.Поспелов, В.Д.Муха,
Е.Л.Голынская и В.Н.Самородов

(53) 631.427.2 (088.8)

(56) Луцик М.Д., Панасюк Е.Н. и Луцик А.Д. Лектины. - Львов: Вища школа.

(54) СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ
ЛЕКТИНОВ В ПОЧВЕ

(57) Изобретение относится к почвоведению и может быть использовано при изучении биохимических и химических процессов в почве. Цель изобретения - повышение достоверности

2

определения. Для этого предварительно определяют актуальную или обменную кислотность почвы общепринятыми методами. Затем готовят фосфатную буферную смесь с величиной pH, равной pH почвенной вытяжки (водной или солевой). Путем дробного этанольного фракционирования из образцов почвы выделяют лектины и определяют их активность, проводя реакцию гемагглютинации в иммунологических планшетах в течение 1 ч при 25°C. Визуальную оценку гемагглютинирующей активности проводят по пятибалльной шкале. Преимущества способа заключаются в более высокой достоверности результатов определения активности лектинов в почве. 1 табл.

Изобретение относится к почвоведению и может быть использовано при изучении биохимических и химических процессов в почве.

Цель изобретения - повышение достоверности определения.

Пример. Актуальную и обменную кислотность почвы определяют общепринятыми методами. Для этого навеску почвы заливают соответственно дистиллированной водой или 1М раствором KCl в соотношении 1:2,5. После 5-минутного встряхивания суспензии дают отстояться и в ней определяют pH потенциометрическим методом. Затем готовится фосфатная буферная смесь с величиной pH, равной реакции почвен-

ной вытяжки (водной или солевой). Путем дробного этанольного фракционирования из образцов почвы выделяют лектины и определяют их активность. Для этого в лунки планшета для иммунологических реакций вносят по 0,05 мл приготовленного буфера, делают серию двухкратных последовательных разведений лектинов, добавляют по 0,05 мл 2%-ной суспензии трижды отмытых эритроцитов в каждую лунку и инкубируют 1 ч при 25°C. Визуальная оценка гемагглютинирующей активности проводится по 5-балльной шкале.

Для определения активности лектинов в почве важно знание актуальной или обменной кислотности почвы, по-

скольку она является важнейшим фактором внешней среды, влияющим на все биохимические процессы в почве.

Путем дробного этанольного фракционирования из образцов почвы под залежью и различными сельскохозяйственными культурами выделяют лектины (фракция, выпадающая в осадок при 76%-ном насыщении этанолом по объему) и определяют их активность.

Реакцию гемагглютинации проводят в иммунологических планшетах. По прототипу готовят фосфатный буфер pH 7,4. По предлагаемому способу pH буфера соответствует значению актуальной или обменной кислотности исследуемых образцов почвы, которая определяется потенциометрически. В лунки планшета при помощи полуавтоматического дозатора вносят по 0,05 мл соответствующего буфера в смеси с физиологическим раствором (1:1). Лектины последовательно двукратно разводят в восьми лунках для каждого из вариантов. После добавления по 0,05 мл 2%-ной суспензии трижды отмытых эритроцитов и инкубации 1 ч при 25°C, интенсивность реакции гемагглютинации оценивали по 5-балльной шкале.

В таблице представлены экспериментальные данные о эритроагглютинирующей активности лектинов в почве (в условных единицах) в зависимости от pH буфера.

Математическую обработку проводили методом оценки существенности разности средних по t -критерию Стьюдента. При этом $t_{теор}$, равное при 1%-ном уровне существенности 4,60, сравнивалось с $t_{факт}$, полученным при обработке экспериментальных данных. В том слу-

чае, когда $t_{факт} > t_{0,01}$, сравниваемые результаты имеют существенные отличия и являются достоверными. Во всех изучаемых вариантах активность лектинов, определяемая с учетом кислотности почвы, существенно выше по сравнению с прототипом ($t_{факт} > t_{0,01}$). Гемагглютинирующая способность лектинов по прототипу низкая и практически не изменяется по вариантам (2,0-3,5 ед.).

При оценке по предлагаемому способу их активность меняется в широких пределах (5,5-11,0 ед. в буфере с pH водной вытяжки, 7,5-11,5 ед. в буфере с pH солевой вытяжки), что указывает на зависимость от почвенных характеристик.

Все это свидетельствует о более высокой достоверности предлагаемого способа по сравнению с прототипом.

Данный способ может быть легко реализован в практической работе, так как необходимые для его осуществления реактивы и оборудование являются дешевыми и доступными.

Ф о р м у л а и з о б р е т е н и я

Способ определения активности лектинов в почве, включающий их дробное этанольное фракционирование из почвы и определение эритроагглютинирующей способности в фосфатном буфере, отличающийся тем, что, с целью повышения достоверности определения, предварительно определяют актуальную или обменную кислотность почвенной вытяжки, а определение эритроагглютинирующей способности ведут в фосфатном буфере при pH, равной pH почвенной вытяжки.

Образцы почвы, взятые под:	Активность по прототипу (буфер с pH 7,4)	Активность по предлагаемому способу				$t_{0,05}$
		Буфер с pH водной вытяжки	$t_{факт}$	Буфер с pH солевой вытяжки	$t_{факт}$	
Залежью	2,0	9,0	10,90	9,0	10,90	4,60
Сахарной свеклой	2,0	5,5	5,45	8,0	9,34	4,60
Озимой пшеницей	2,0	8,5	10,12	7,5	8,57	4,60
Кукурузой	3,5	11,0	11,68	11,5	12,46	4,60