

Э. К. Африкян, Р. А. Бобикян, З. Г. Авакян

**Выявление и распространение витамина B₁₂
в различных типах почв**

В микробиологии давно было известно, что многие виды микроорганизмов, которые не могут расти на средах, лишенных витаминов, хорошо развиваются при добавлении почвенного экстракта. Работами многих ученых с достоверностью установлено наличие в почве веществ органической природы, которые в очень малых дозах резко улучшают рост и развитие растений. Впоследствии было выяснено, что подобными активаторами роста растений являются имеющиеся в почве витамины, ауксины, ферменты, некоторые аминокислоты и другие биологически активные вещества органической природы. Эти соединения играют важную роль в плодородии почвы в жизни растений и объединяются в группу биотических веществ почвы.

Изучение распространения в почве витаминов и других ростовых веществ стало возможным после разработки методов их выявления и количественного определения.

Развитие исследований в этой области связано с известными работами Шопфера, которому и принадлежит заслуга в разработке и широком использовании микробиологических методов, определения витаминов (Schopfer, 1943). Поскольку витамины в почве, как правило, находятся в очень незначительных количествах, то их можно выявить только микробиологическим методом, позволяющим установить ничтожное количество витаминов. После работ Шопфера в 1935 г. достигнут значительный прогресс в разработке микробиологических методов определения витаминов, и в настоящее время они получили весьма широкое распространение при изучении различных вопросов распространения физиологии и биохимии витаминов.

В настоящее время в науке накоплен большой материал о природе биотических веществ почвы, распростране-

чественного состава микробных ценозов почвы. Проводимые в этом направлении плодотворные исследования Локхид и его сотрудников свидетельствуют о больших перспективах данной области микробиологии. К сожалению, приходится констатировать, что в этом направлении ряд важных вопросов еще недостаточно проработан. Исследования еще Шопфера, подтвержденные в последующем другими авторами, показали, что витамины обнаруживаются в сравнительно большом количестве главным образом в верхнем горизонте почвы, на глубине до 10 см, т. е. в том слое почвы, где наиболее интенсивно протекают биологические процессы. Так, Шопфер в 1937 г. в одной из своих ранних работ показал, что лесная почва, которая никогда не удобрялась, содержала на глубине 0—10 см около 1 мкг биотина и 0,02 мкг тиамин, на глубине 10—50 см биотин в почве было на 2/3 меньше, а тиамин на 1/7 того количества, которое обнаруживалось в вышележащем горизонте. Образование витаминов в почве он ставил в связь с жизнедеятельностью микроорганизмов, поскольку витамины обнаруживаются в почвах, никогда не удобренных.

Как показывают работы Шопфера (1943), витамины в почве могут иметь различное происхождение. Одним из наиболее важных источников витаминов в почве являются ее органические вещества, в частности гумус, в образовании которого микроорганизмы играют решающую роль. Витамины могут быть внесены в почву вместе с естественными (навоз, сидераты) и другими искусственными удобрениями, при использовании поливной воды из слишком загрязненного или ассенизационного источника. Важным источником накопления витаминов в почве являются продукты распада различных веществ животного и растительного происхождения.

Изучение распространения витамина B₁₂ в почве весьма выгодно по сравнению с другими витаминами и ростовыми биологическими активными веществами.

Витамин B₁₂, в отличие от других витаминов, образуется лишь различными микроорганизмами и отчасти водорослями. Поэтому изучение его распространения в почве может в из-

вестной мере служить показателем микробиологической активности и биогенности данной почвы. С другой стороны, определенные закономерности его распределения в почве могут послужить основанием для объяснения различных вопросов экологии отдельных видов почвенных микроорганизмов — продуцентов витамина B_{12} . Эти данные имеют не менее важное значение для объяснения некоторых вопросов экологии в почве культур бактерий, нуждающихся в витамине B_{12} . Предпосылкой к подобной постановке вопроса являются данные многих авторов о широком распространении в почве микроорганизмов — продуцентов витамина B_{12} и наличие в почве сравнительно большого числа бактерий, нуждающихся для своего развития в присутствии этого витамина (Красильников, 1958; Lochead, 1958).

Ранее нами были сообщены некоторые данные о наличии и образовании витаминов B_{12} в почве (Африкян, Бобилян, 1959). Было установлено, что витамин B_{12} обнаруживается в различных типах почв в неодинаковом количестве. Специальными опытами, проведенными в условиях стерильной почвы, было показано образование и накопление в почве витамина B_{12} при развитии в ней культуры продуцента витамина.

В настоящем сообщении мы излагаем более подробные данные, полученные при изучении около 300 образцов различных типов почв, собранных главным образом в АрмССР. Образцы почв брались с активного пахотного горизонта на глубине 0—20 см.

Применялся микробиологический метод определения с использованием индикаторной культуры кишечной палочки. Стабилизация витамина в исследуемом материале производилась добавлением 0,01% водного раствора цианистого калия, подкислением до pH 4—5 и последующим автоклавированием при 1 атм. 10 минут. В основном применялась методика, описанная Букиным, Арешкиной и Куцевой (1954), с изменением в подготовке материала. Последнее заключалось в том, что при обследовании бурых или сероземных сильно карбонатных почв они разводились не на дистиллированной воде, а на ацетатном буфере с pH 4,6. Мы счи-

нии и роли их в жизни растений (Овчаров, 1955; Красильников, 1958). В обстоятельной монографии Н. А. Красильникова подытожены многочисленные данные, накопленные в этой области.

Вопрос о витаминности почвы имеет очень большое значение для выяснения различных вопросов микробиологии и растениеводства. Высшие растения, являясь одним из основных источников витаминов, конечно, обогащают почву различными витаминами. Однако совершенно очевидно, что для нормального развития растения на определенной стадии развития нуждаются в поступлении извне — в первую очередь из почвы — различных витаминов и ростовых веществ. В этом отношении наличие или отсутствие в почве различных витаминов может иметь решающее значение для жизнедеятельности высших растений.

Не менее важное значение имеют витамины для жизнедеятельности почвенной микрофлоры. Как известно, различные виды микроорганизмов для своего развития требуют наличия в среде определенных витаминов, при отсутствии которых их жизнедеятельность прекращается. Отсюда очевидно, какое огромное значение имеют витамины и витаминоподобные вещества в почве для различных биологических процессов, протекающих в ней с участием микроорганизмов. Ряд авторов (Stewart а. Anderson, 1942) плодородие почвы ставят в связь с количеством содержащихся в ней ростовых веществ. Так, по их данным, очень плодородные почвы содержат в верхнем, наиболее активном горизонте почвы около 0,175 г ауксина на килограмм почвы; малоплодородные почвы содержат в верхнем горизонте гораздо меньше ауксинов, а в подпахотном — очень мало или совсем не содержат. Разумеется, подобный подход является односторонним и мало обоснован, однако данные этих исследований вскрывают ряд интересных закономерностей о распространении витаминов в различных типах почв.

Витамины и витаминоподобные вещества почвы представляют первостепенный интерес для выяснения закономерностей эколого-географического распространения различных групп микроорганизмов и изучения качественного и коли-

Таблица 4

Интенсивность фиксации атмосферного азота азотобактериями и бактериями-песнопониками
(связанный азот в мг 1 г разложившегося минита)

Типы почв	Варианты	Озимая пшеница			Люцерна			Хлопчатник			Томат			Табак			Эспарцет		
		первая кушечная	стадия стробилообразования	стадия цветения	стадия цветения	стадия цветения	стадия цветения	стадия цветения	стадия цветения	стадия цветения	стадия цветения	стадия цветения	стадия цветения	стадия цветения	стадия цветения	стадия цветения	стадия цветения	стадия цветения	
Почва без корней	Почва без корней	аз	16,54	17,22	18,18	19,26	14,0	15,68	14,70	16,36	17,3	13,3	19,6	12,6	—	—	—	—	
	Почва без корней	пс	0,9	1,2	1,8	2,5	2,8	3,5	4,6	4,2	3,6	2,1	2,4	2,8	—	—	—	—	
	Почва прикорневая	аз	17,9	18,6	19,4	16,7	14,5	17,7	8,3	10,1	9,4	11,4	13,5	17,1	—	—	—	—	
	Почва прикорневая	пс	1,6	1,4	1,8	3,7	2,9	4,2	3,6	4,2	4,8	1,9	2,0	1,5	—	—	—	—	
Почва без корней	Почва без корней	аз	16,1	14,3	17,2	14,7	17,4	19,6	3,2	5,1	6,2	8,6	10,5	15,1	—	—	—	—	
	Почва без корней	пс	2,7	3,6	4,1	4,2	5,2	4,8	1,9	2,2	2,7	3,5	3,7	4,2	—	—	—	—	
	Почва прикорневая	аз	14,7	17,5	18,3	12,5	10,6	13,5	0	0	0	5,7	9,5	12,7	—	—	—	—	
	Почва прикорневая	пс	4,2	4,8	3,9	3,4	3,9	4,2	2,5	2,0	1,8	2,6	2,9	3,4	—	—	—	—	
Почва без корней	Почва без корней	аз	14,25	17,0	13,8	14,8	14,8	14,4	—	—	—	15,2	15,4	12,6	15,3	15,5	15,4	—	
	Почва без корней	пс	4,2	3,9	3,6	5,6	4,7	4,0	—	—	—	3,1	4,7	4,2	2,2	1,9	1,7	—	
	Почва прикорневая	аз	17,5	15,4	16,0	16,0	17,0	16,1	—	—	—	16,1	16,3	16,1	17,1	17,8	17,6	—	
	Почва прикорневая	пс	5,2	4,7	4,3	4,1	3,8	4,5	—	—	—	2,5	3,2	3,9	1,5	1,7	2,1	—	
Почва без корней	Почва без корней	аз	13,2	12,1	14,8	14,8	14,8	14,2	—	—	—	11,5	11,8	12,7	14,6	13,2	13,9	—	
	Почва без корней	пс	2,8	3,5	3,9	3,7	4,4	3,5	—	—	—	4,2	4,7	3,8	1,5	1,4	1,3	—	
	Почва прикорневая	аз	14,8	—	15,2	15,2	15,2	14,5	—	—	—	12,3	12,5	13,6	18,5	16,3	17,4	—	
	Почва прикорневая	пс	4,6	4,7	3,8	3,3	2,8	3,6	—	—	—	3,7	3,1	3,4	2,4	2,7	2,5	—	
Почва без корней	Почва без корней	аз	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0	
	Почва без корней	пс	2,8	2,9	3,4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3,6	
	Почва прикорневая	аз	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0	
	Почва прикорневая	пс	3,4	2,9	3,8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2,8	
Почва без корней	Почва без корней	аз	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0	
	Почва без корней	пс	4,0	3,8	4,2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3,2	
	Почва прикорневая	аз	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0	
	Почва прикорневая	пс	4,2	4,0	3,7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3,5	

таем более пригодным использование ацетатного буфера при обследовании всех типов почв. Последующая титрация и учет результатов производились по общепринятой методике с помощью ФЭКН-54. Схема микробиологического определения витамина В₁₂ в почве прилагается отдельно (схема 1).

Таблица 1

Содержание витамина В₁₂ в различных типах почв
(γ/кг воздушно-сухой почвы)

Почвы		Число об- следован- ных образ- цов	Витамин В ₁₂ , γ/кг
Бурые	окультуренные	85	1—3
	неокультуренные	24	0,5—2
Черноземы	окультуренные	34	2—5
	неокультуренные	8	2—4
Горно-луговые		18	3—10
Лесные		6	3—5
Красноземы		20	0—1,0

В 1957 году нами, при участии дипломанта Ереванского университета Л. Данелян, проводилось сравнительное испытание различных методов определения витамина В₁₂ с помощью индикаторной культуры кишечной палочки. Испытано было множество различных методов качественного выявления витамина В₁₂ как на твердых, так и в жидких питательных средах. Опыты показали, что для целей качественного определения витамина В₁₂ может быть с успехом использован метод наложения агаровых ломтиков или почвенных комочков на агаризованную питательную среду с глубинным посевом индикаторной культуры. В качестве среды применялась обычная опытная синтетическая среда, используемая при нефелометрическом микробиологическом методе определения витамина В₁₂, с добавлением 1% промытого агара. Наличие витамина В₁₂ в исследуемом субстрате определяется по наличию зоны роста тест-культуры вокруг наложенного агарового блока или комочка почвы; при этом

обязательно наложение контрольной пробы после гидролиза с разрушенным витамином. Этими методами можно весьма успешно проверить за короткий срок на наличие витамина B_{12} большое количество культур бактерий или образцов почвы и других субстратов (пищевые продукты, органы животных, ткани и другие материалы).

В табл. 2 приведены выборочные данные о содержании витамина B_{12} в бурой почве на фоне разного растительного покрова и применения различных удобрений.

Таблица 2

Содержание витамина B_{12} в бурых почвах опытного участка
Института земледелия МСХ АрмССР (Эчмиадзин)

№ почв. обр.	Агрофон, растительность	Содержа- ние вита- мина B_{12} в $\gamma/\text{кг}$
1	Хлопчатник 4-го года, вспашка с оборотом пласта	0.25
2	То же, вспашка без оборота пласта	0.5
3	То же, вспашка с оборотом пласта	1.0
4	То же, вспашка без оборота пласта	1.0
5	Там же, неокульт. травянистая растительность .	2.0
6	Там же, оз. пшеница 2-го года	3.0
8	Там же, люцерна 2-го года	2.5
9	Там же, хлопчатник 1-го года, обычная вспашка	2.0
10	То же, гузкорчевание	2.0
11	То же, вспашка без оборота пласта	2.2
12	Там же, люцерна 3-го года	2.5
13	Там же, люцерна 4-го года	3.0
15	Там же, хлопчатник 2-го года, обычная вспашка	3.0
16	То же, боронование	3.0
17	То же, безотвальная вспашка	2.7
18	То же, поверхностное рыхление	2.5
19	Там же, хлопчатник 12-го года, без удобрения .	1.5
20	То же, аммиачная селитра	2.5
21	То же, азот + суперфосфат	2.0
23	То же, азот + фосфор + KCl + навоз	2.0

Как показывают данные этих опытов, отмечается несколько высокое содержание витамина B_{12} в почве под травосмесями, бобовыми культурами, в частности под люцерной. Применение разных методов обработки почвы также влияет на содержание витамина B_{12} . Как правило, при безотвальной вспашке в верхнем горизонте витамин B_{12} обна-

руживается в более высокой концентрации, нежели в соответствующем слое почвы при обычной вспашке.

Характерное более высокое содержание в почве витамина В₁₂ под травосмесями коррелирует с общей активностью микробиологических процессов под этой растительностью.

Приведенные в табл. 3 выборочные данные указывают на характерное для обследованных типов почв содержание

Таблица 3

Содержание витамина В₁₂ в каштановых, черноземных и горно-луговых почвах

№ почв. обр.	Место взятия, почва, растительность	Содержание витамина В ₁₂ в г/кг
116	Котайкский район АрмССР, каштановая почва, неокульт.	1,5
117	Там же, огородная почва	2,5
123	Бакуриани, ГрузССР, каштановая почва, огород	3,0
118	Ахтинский район, АрмССР, выщелоченный чернозем, богара	2,5
126	Боржоми, ГрузССР, чернозем, садовая почва . .	3,5
123	Там же, оз. пшеница	4,0
111	Склон горы Арагац, АрмССР, горно-луговая почва, неокультуренная	4,0
112	Там же, травосмеси	6,5
101	Бассейн оз. Севан, горно-луговая почва	3,0
103	Над Бакуриани, ГрузССР, горно-луговая почва (2300 м над уровнем моря)	9,0
106	Боржоми, смешанный лес	3,5
122	Бакуриани, хвойный лес	2,5
135	Дилижан, АрмССР, лесная почва	5,0

витамина В₁₂. По указанным данным также можно вынести представление о сравнительно высоком содержании витамина В₁₂ в окультуренных почвах. Наиболее показательно, что количество выявляемого витамина в почве увеличивается по мере увеличения содержания органического вещества в почве. Это заключение особенно обосновывается при ознакомлении с результатами наших опытов по изучению содержания витамина В₁₂ в красноземных почвах (табл. 4). Из всех обследованных нами типов почв, эти почвы, характеризующиеся интенсивными процессами минерализации органи-

ческих веществ, отличаются наиболее незначительным содержанием витамина B_{12} . В красноземах, видимо, немалую роль играет вымывание витамина из верхних горизонтов почвы. Так, при обследовании почв, где был снят горизонт 0—40 см (табл. 4, почвенный образец 11), было выявлено сравнительно высокое содержание витамина B_{12} —2,0 $\gamma/\text{кг}$.

Таблица 4

Содержание витамина B_{12} в красноземах ГрузССР
(Анасеули, Махарадзевский район)

№ почв. обр.	Почва; агрофон, растительность	Содержа- ние вита- мина B_{12} , в $\gamma/\text{кг}$
1	Краснозем, лизиметр, чай, N	0
4	То же, NPK Ca	0
8	То же, целина, трав. растительность	0,5
11	Краснозем, чай без удобрений, снят слой 0—40 см	2,0
13	Краснозем, чай + NPK + навоз	0,5
21	Сочи, среднеоподзоленная почва, Сочи, цитрусы. Сочинская опытная станция	1,8
26	Краснозем, PKCa + навоз + лимон	1,0
28	Там же, NPK + сидераты	0,5
35	Там же, лесная почва	1,0
37	Там же, цитрусовая плантация, NPK Ca	1,5
43	Там же, люцерна 2-го года	0,5
45	Там же, целина	0
48	Там же, дно оврага, бурая трав. растительность	2,5
49	Там же, склон, без трав. растительности	0

Данные проведенных нами исследований позволяют сделать следующие выводы:

1. Витамин B_{12} выявляется в различных типах почв в неодинаковом количестве. Содержание его в отдельных типах почв варьирует в определенных пределах, характерных для данного типа почвы.

2. Наиболее бедны витамином B_{12} почвы с интенсивными процессами минерализации органического вещества (красноземы, бурые почвы). Количество витамина B_{12} сравнительно велико в горно-луговых и черноземных почвах, богатых органическим веществом.

3. Окультуривание и растительный покров почвы за-

метно влияют на содержание витамина B₁₂ в почве в сторону его увеличения, особенно посевы травосмесей и бобовых.

Է. Գ. ԱՖՐԻԿՅԱՆ, Ռ. Հ. ԲՈԲԻԿՅԱՆ, Զ. Գ. ԱՎԱԿՅԱՆ

ՎԻՏԱՄԻՆ B₁₂-Ի ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԵՎ ՏԱՐԱԾՎԱԾՈՒԹՅՈՒՆԸ
ՏԱՐԲԵՐ ՀՈՂԱՏԻՊԵՐՈՒՄ

Ա մ փ ն փ ն լ մ

1. Վիտամին B₁₂-ը հայտնաբերվում է զանազան տիպի հողերում տարբեր քանակությամբ: Նրա քանակությունը տատանվում է որոշակի սահմաններում՝ յուրահատուկ տվյալ հողատիպի համար:

2. Վիտամին B₁₂-ը համեմատաբար փոքր քանակությամբ գտնվում է օրգանական նյութերով աղքատ գորշ և կարմրահողերում: Առավել մեծ քանակությամբ նա գտնվում է օրգանական նյութերով հարուստ մարգագետնային և սևահողերում:

3. Հողում վիտամին B₁₂-ի կուտակման և նրա քանակի ավելացման վրա որոշակի ազդում են մշակված և բուսական ծածկոց ունեցող, հատկապես թիթեռնածաղկավոր և խոտախառնուրդային ցանքերով հողերը:

E. G. Afrikian, R. A. Bobikian, S. G. Avakian

The determination and distribution of vitamin B₁₂ in various types of soils of Armenian SSR

S u m m a r y

More than 300 samples of various soils have been investigated on the occurrence of vitamin B₁₂. Microbiological method of vitamin B₁₂ assay with some modifications has been applicated.

The occurrence of vitamin B₁₂ in soils is correlated with the amount of organic matter. The presence and amount of vitamin B₁₂ in various types of soils might be ascribed to the distribution of vitaminproducing species of microorganisms. Vitamin B₁₂ has been found at a concentration of 0,5 to 15 μg per g of soil at a depth of 0—30 cm.

Л И Т Е Р А Т У Р А

- Африкян Э. К., Бобикян Р. А. 1959. Наличие и образование витамина B_{12} в почве. ДАН АрмССР, т. 39, в. 2.
- Букия В. И., Арешкина Л. Я. и Куцева Л. С. 1954. Макро- и микроопределения витамина B_{12} . „Биохимия“, АН СССР, т. 19, вып. 6.
- Красильников Н. А. 1958. Микроорганизмы почвы и высшие растения. М., Изд. АН СССР.
- Овчаров К. Е. 1955. Витамины в жизни растений, М., Изд. АН СССР.
- Locshead A. G. 1958. Soil bacteria and growth-promoting substances. Bact. Rev., vol. 22, № 3, 145.
- Schopfer W. 1943. Plants a. vitamins. Pull. Chron. Bot. Co.
- Stewart W. a. Anderson M. 1942. Auxin in American soil. Bot. Gaz., vol. 103, № 3, 570.