ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՍՍՀ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԿԱԴԵՄԻԱՅԻ ԶԵԿՈՒՅՑՆԵՐ
ДОКЛАДЫ АКАДЕМИИ НАУК АРМЯНСКОЙ ССР

XXIX 1959 2

МИКРОБИОЛОГИЯ

Э. К. Африкян и Р. А. Бобикян

Наличие и образование витамина B_{12} в почве

(Представлено академиком АН Армянской ССР М. А. Тер-Карапетяном
28.II.1959)

Работами многих авторов с достоверностью установлено наличие в почве различных витаминов и витаминоподобных веществ [1–3]. Особенно хорошо это показано в отношении витаминов группы В. Витамины и другие ростовые вещества почвы оказывают большое влияние на развитие высших растений и деятельность почвенных микроорганизмов [4,5]. Ряд авторов [6] плодородие почвы ставит в связь с содержанием в ней различных ростовых веществ, например, ауксина.

Витамин B_{12} в отличие от других витаминов образуется различными микроорганизмами и отчасти водорослями, и изучение его распространения в почве может в известной 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} или культур бактерий, нуждающихся в нем. 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 [7,8]. Работ по изучению содержания витамина B_{12} в разных типах почв не проведено.

Нами было изучено содержание витамина B_{12} на материале более 200 образцов различных типов почв, представляющих как широтную, так и вертикальную зональность. Почвенные образцы брались с активного пахотного горизонта, на глубине 0—20 *см*.

Определение витамина B_{12} в почве производилось микробиологическим методом, разработанным в Институте биохимии АН СССР с некоторыми видоизменениями. Стандартный раствор витамина готовился на ацетатном буфере pH 4,6 с добавлением 0,01% раствора KCN

на дистиллированной воде с расчетом 10 *мг* KCN на 10 *г* витамина B_{12}. Стандартный раствор разливался в ампулы, которые запаивались, стерилизовались в автоклаве при 1 атм. 10 мин. и сохранялись в холодильнике. На каждое определение бралось по 5 *г* обследуемого образца почвы, к которому добавлялось 50 *мл* воды, 2 *мл* 0,01% раствора KCN. Наши опыты показали, что в ряде случаев предварительное подкисление разводки почвы на дистиллированной воде не достигает цели, так как карбонатность и буферность почвы очень быстро, после кратковременного нагревания, восстанавливают первоначальную реакцию. Последующее автоклавирование образца почвы при щелочной реакции приводит к разрушению витамина, и поэтому данный метод подготовки образца неприемлем для анализа карбонатных почв. Более пригодным надо считать разводку почвенного образца на ацетатном буфере с pH 4,6, хотя в ряде случаев также не удается поддержать кислую реакцию среды, особенно, когда исследуются сильно карбонатные бурые или сероземные почвы. При обследовании кислых почв (красноземы, некоторые горнолуговые почвы и др.) предварительного подкисления почвенной разводки не требуется.

По данным ряда авторов [9], с применением вместо цианидов других веществ (натрий нитрит, натрий сульфит и др.), стабилизирующих витамин B_{12}, достигается больший выход витамина в почве. Проверка нами этих данных не выявила значительной разницы в количестве определяемого витамина; из испытанных веществ сравнительно лучшие результаты получались с нитритом натрия. В качестве тест-организмов применялись индикаторная культура кишечной палочки Института биохимии АН СССР и американская культура этого вида 113—3. Интенсивность роста культуры бактерий определялась нефелометром с помощью ФЭКН-54.

В табл. 1 приведены сводные данные содержания витамина B_{12} в разных типах почв. Образцы почв взяты, в основном, на территории Армянской ССР, образцы красноземов из Махарадзевского района Грузинской ССР. Количество витамина B_{12} варьирует в известных пределах в образцах одного и того же типа почв, отмечается и определенная разница в содержании витамина B_{12} на фоне окультуривания почвы. Как правило, почвы, занятые бобовыми и травосмесями, отличаются сравнительно бо́льшим содержанием витамина.

Как показывают данные приведенной таблицы, содержание витамина B_{12} сравнительно велико в горнолуговых почвах, несколько меньше его в лесных, а затем в черноземных почвах. В бурых почвах этот витамин обнаруживается, в среднем, в количестве 1—2 *γ/кг* почвы, причем в целинных почвах и того меньше. В обследованных нами образцах красноземов витамин B_{12} обнаруживался в очень малом количестве или не отмечался вовсе. В большинстве случаев, по данным наших опытов, содержание витамина B_{12} в различных образцах почв варьирует в определенных пределах, характерных для данного типа почв. Значительно больше он обнаруживается в богатых органическим

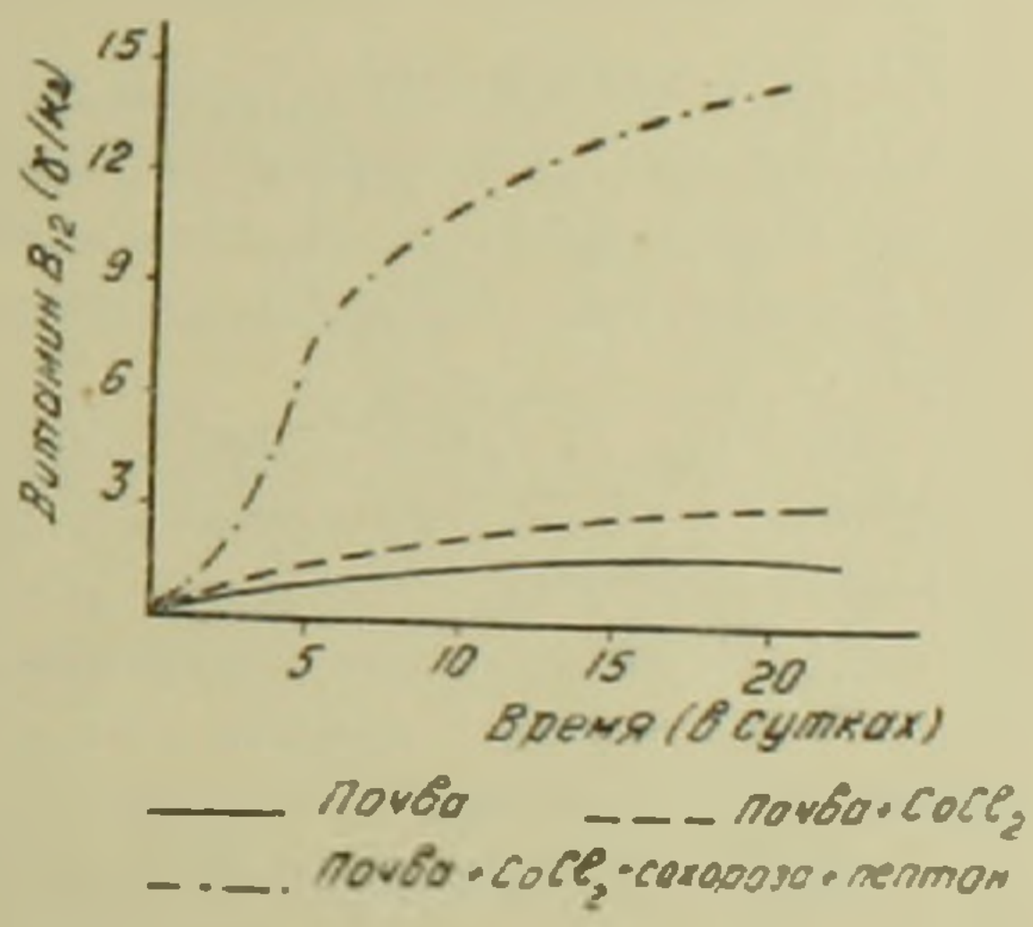
веществом почвах, гораздо меньше в красноземах и бурых почвах, где протекают интенсивные процессы минерализации органики.

Таблица 1

Содержание витамина B_{12} в различных типах почв (γ/кг воздушно-сухой почвы)

Почвы		Число обследованных образцов	Витамин B_{12} γ/кг
Бурые	окультуренные	85	1—3
	неокультуренные	24	0,5—2
Черноземы	окультуренные	34	2—5
	неокультуренные	8	2—4
Горнолуговые		18	3—10
Лесные		6	3—5
Красноземы		20	0—1,0

Для установления факта образования и накопления витамина B_{12} в естественных условиях нами был поставлен специальный опыт. Бурая почва с содержанием витамина B_{12} 0,5 γ/кг заполнялась в чашках Петри, увлажнялась, стерилизовалась в автоклаве и заражалась суспензией культуры спорообразующей бактерии—продуцента витамина. В процессе инкубации при 26° С определялось развитие бактерии и количество витамина B_{12} в почве. Опыт ставился в двухкратной повторности при 60% от полной влагоемкости почвы. Применялись культуры Bac. megaterium и Bac. nov sp. Почвы заражались суспензией указанных культур с расчетом 50 тыс. клеток на 1 г почвы. Опыт ставился в различных вариантах: в одном случае в почву вносился хлористый кобальт в количестве 2 мг Со на 1 кг почвы, в другом—в почву добавлялись пептон и сахароза в конечной концентрации 0,5%.



Фиг. 1.

Результаты опытов, представленные в табл. 2, показывают, что витамин B_{12} значительно накопляется в почве, особенно в варианте опытов с внесением в почву пептона и сахарозы. Биосинтез витамина имеет место в зависимости от интенсивности развития бактерии в почве (фиг. 1).

Представленный материал исследований показывает, что витамин B_{12} обнаруживается в различных типах почв в определенных количествах. Он образуется и накапливается в условиях почвы в процессе развития бактерий—продуцентов витамина B_{12}.

Таблица 2

Образование витамина B_{12} в почве (число бактерий в *млн/г*, содержание витамина B_{12} *γ/кг*)

Вариант опыта	3 суток		5 суток		10 суток		15 суток	
	число б-ий	вит. B_{12}	число б-ий	вит. B_{12}	число б-ий	вит. B_{12}	число б-ий	вит. B_{12}
Bac. megaterium, шт. 10								
Почва	80	0,5	200	0,6	200	0,6	300	0,7
Почва + $CoCl_2$	85	0,7	250	0,8	300	0,8	300	1,0
Почва + пептон + $CoCl_2$ + сахароза	300	3,0	1000	3,5	1200	4,0	1200	6,0
Bac. nov. sp., шт. 212								
Почва	25	0,6	150	1,0	360	1,4	300	1,4
Почва + $CoCl_2$	20	0,8	200	1,2	250	2,0	300	3,0
Почва + пептон + $CoCl_2$ + сахароза	1000	3,0	1500	8,0	2000	11,5	2000	13,0

Է. Գ. ԱՖՐԻԿՅԱՆ ԵՎ Ռ. Հ. ԲՈՔԻԿՅԱՆ

Վիտամին B_{12}-ի առկայությունը և նրա առաջացումը հողում

Հողում կատարվող բիոլոգիական պրոցեսների և բույսերի պարզացման համար մեծ նշանակություն ունեն հողում տարբեր վիտամինների և աճման գործոնների առկայությունը և տարածվածությունը: Վիտամին B_{12}-ը արտադրվում է միկրոօրգանիզմների կողմից և հանդիսանում է հողի բակտերիների աճման անհրաժեշտ նյութերից մեկը:

Մեր կողմից հետազոտվել է վիտամին B_{12}-ի տարածվածությունն ավելի քան 200 տարբեր տիպի հողերի նմուշներում: Վիտամին B_{12}-ի քանակությունը որոշվել է միկրոբիոլոգիական մեթոդով՝ ագիլային գուպիկի ինդիկատորային շտամի օգնությամբ:

Մեր հետազոտություններից պարզվել է, որ վիտամին B_{12}-ը հայտնաբերվում է գրեթե բոլոր հողերում տարբեր քանակությամբ: Առավել մեծ քանակությամբ նա պարունակվում է մարգագետնային, անտառային և մասամբ անապատային հողերում (4–10 γ/կգ): Վիտամին B_{12}-ը համեմատաբար փոքր քանակությամբ պարունակում է օրգանական նյութերով աղքատ որոշ հողերում: Մեր կողմից հետազոտված կարմրահողերի նմուշներում ամբողջ վիտամինը կամ բացակայել է, կամ հայտնաբերվել է չնչին քանակությամբ (0,5 γ/կգ):

Ինչպես ցույց ավեցին մեր կողմից կատարված փորձերը հողում վիտամին B_{12} արտադրող բակտերիաների պարզացման ժամանակ նկատվում է նշված վիտամինի դեֆիցիտ:

ЛИТЕРАТУРА — ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

[1] *Н. А. Красильников*, Успехи совр. биол., в. 3, 321, 1952. [2] *М. А. Руле*, Experientia 4, 140, 1948. [3] *N. H. Schopfer*, Plants a. vitamins, 1943. [4] *Н. А. Красильников*, Микроорганизмы почвы и высшие растения. М., 1958. [5] *К. Е. Овчаров*, Витамины в жизни растений. М., 1955. [6] *Н. Стьюарт и др.*, Soil Sci., 53, 1942. [7] *А. Г. Локхид*, Bact. Rev. 22, № 3, 145, 1958. [8] *А. Г. Локхид* и *М. О. Бартон*, Can. g. Microb. 3, 35, 1957. [9] *П. Р. Беркхольдер* и *Л. М. Беркхольдер*, Science, 123, 1071, 1956.