

БІОЛОГІЯ

А. П. ДОБУШ

(Наукові керівники Р. Т. Ріпецький, Л. С. Литвінов)

МІНЕРАЛІЗАЦІЯ ОРГАНОФОСФАТІВ *PENICILLIUM* *VAR. RUBER*, ВИДІЛЕНИМ З ҐРУНТУ КАРПАТСЬКОЇ ПОЛОННИ «МЕНЧУЛ»

Ще в 1890 р. російський вчений П. А. Костичев [4] в книзі «Обработка и удобрение чернозема» висловив припущення, що фосфор у ґрунті піддається перетворенням під впливом мікробіологічних процесів.

Пізніше це припущення знайшло підтвердження в численних працях вітчизняних та зарубіжних вчених. Цьому питанню присвячені роботи С. Северіна [12], Д. Н. Прянішнікова [9], А. В. Соколова [14], К. І. Рудакова [11], П'єра [16], Стоклаза [17] та інших.

Особливо велику роль відіграють мікроорганізми в перетворенні органічних форм фосфору в ґрунті.

С. А. Кудрін [5], Д. І. Сідері [13], П'єр [16], Н. М. Лазарев [2] і інші дослідники родючим у відношенні фосфатів вважають той ґрунт, в якому організми можуть використовувати для свого живлення найбільш легкорухомі форми фосфору, що безперервно утворюються при мінералізації орґанофосфатів.

На думку цих авторів, нормальне, найбільш продуктивне живлення рослин фосфором здійснюється в природних умовах свіжоутвореними мінеральними продуктами життєдіяльності ґрунтової мікрофлори.

Дані вищевказаних авторів знаходять часткове підтвердження і в дослідях з міченим фосфором (P_{32}). В цих дослідях рослини краще засвоювали фосфор в присутності мікроорганізмів [6].

Органічний фосфор в ґрунті становить $\frac{1}{3}$, а в деяких випадках $\frac{2}{3}$ загальної кількості фосфору [9, 3].

В ґрунті розрізняють органічний фосфор, який міститься в рослинних і тваринних рештках і мікроорганізмах, і фосфор, який через зв'язок з півторинними окислами входить до складу гумусу [11].

Органічні сполуки фосфору, наявні у відмерлих бактеріальних клітинах і рослинних рештках порівняно недавнього походження, мають вирішальне значення у збагаченні ґрунту мінеральними фосфатами. Органічний фосфор, який входить до складу гумусу, розкладається повільніше [16].

Основна маса органічного фосфору в ґрунті знаходиться у формі нуклеопротеїдів, фітину, а значно менша кількість — у формі фосфороліпідів. Мінералізація органофосфатів здійснюється мікроорганізмами завдяки дії ферментів фосфатаз.

За К. Рудаковим [11] розклад нуклеїнових кислот з відщепленням ортофосфорної кислоти здійснюється мікроорганізмами, які мають ферментативний комплекс нуклеази.

Р. Менкін [8] при висіві різних ґрунтів на цукровомінеральне середовище, в якому джерелом фосфору були органофосфати, вдалось виділити бактерії, названі нею фосбактеріями. Встановлено, що фосбактерії являють собою різні штами спорової палички *Bac. megatherium* і безспорової палички *Serratia corallina*. Спорова культура активно мінералізувала нуклеїнову кислоту і нуклеїн з накопиченням в середовищі до 74—86% P_2O_5 від внесеного P_2O_5 в цих сполуках і лецитин з накопиченням 17—50% P_2O_5 . Неспорова паличка енергійніше мінералізувала лецитин і слабше — нуклеїнову кислоту.

Р. Менкін [8] використала фосбактерії для виготовлення бактеріального препарату фосбактерину, який застосовується зараз на мільйонах гектарів. Цей автор виділяє фосбактерії в окрему фізіологічну групу, яка відіграє головну роль в мінералізації органофосфатів у природі.

Дослідами, проведеними у Львівському університеті, в'яснено, що здатність мінералізувати органофосфати властива також мікроорганізмам амоніфікаторам *Bac. micoides*, *Proteus vulgaris*, *Bac. mesentericus* [10].

Відкривши фосбактерії, Р. Менкін [8] підкреслює, що їх оптимальна активність до мінералізації органофосфатів проявляється в нейтральних або навіть слаболужних умовах середовища.

Природно виникає питання, які мікроорганізми мінералізують органофосфати на кислих ґрунтах.

За даними П'єра [16], мінералізація органофосфатів, зокрема фітину, на кислих ґрунтах іде повільніше, ніж на нейтральних. Відносно мікроорганізмів, що викликають перетворення фосфору на кислих ґрунтах, даних в літературі дуже мало.

В зв'язку із збільшенням грибної мікрофлори на кислих ґрунтах деякі автори, зокрема Є. Мішустін і В. Мірзоева [7] та інші, схильні надавати їй важливе значення в біохімічних перетвореннях на цих ґрунтах, але експериментальних підтверджень цього немає.

На можливість переведення неорганічних форм фосфору ґрунту грибами в органічні форми вказують П. Костичев [4], С. Северін [12], Д. Фостер [15]. Однак питання, в якій мірі грибна мікрофлора може викликати зворотний процес, тобто мінералізацію орґанофосфатів, залишається нев'ясненим.

Мета нашої роботи — встановити, чи може грибна мікрофлора кислого карпатського ґрунту викликати мінералізацію різних типів орґанофосфатів і при цьому накопичувати мінеральний фосфор у середовищі.

Об'єктом нашого дослідження був ґрунт карпатської полонини «Менчул» біля межі лісу, на висоті 1300 м над рівнем моря, з-під асоціації черничника. Цей ґрунт, як і інші ґрунти карпатських полонин, являється кислим дерново-буроземним ґрунтом з високим вмістом орґанофосфатів і дуже низькою кількістю мінерального фосфору [1, 18].

Природно, що мінералізація орґанофосфатів повинна тут мати важливе значення у фосфорному живленні рослин.

МЕТОДИКА ПОСТАНОВКИ ДОСЛІДІВ І ЇХ РЕЗУЛЬТАТИ

Для того, щоб з'ясувати, чи може грибна мікрофлора використовувати для свого живлення органічні сполуки фосфору, свіжий карпатський ґрунт висівався на середовище, рекомендоване Р. Менкіною для фособактерій. Це звичайне цукрово-мінеральне середовище, джерелом фосфору в якому служать різні типи орґанофосфатів. РН для цього середовища — 7,4. Однак ми в своєму досліді створювали в середовищі РН — 5,5, тобто відповідне визначеному потенціометричним методом в досліджуваному ґрунті.

Реактиви і агар-агар перевірялись на відсутність мінерального фосфору.

Як джерело фосфору ми вносили в одному випадку очищений гліцерофосфат натрію, в другому — очищену дріжджеву РНК. В зв'язку з тим, що стерилізація може викликати відщеплення ортофосфорної кислоти від вищевказаних сполук, розчини цих сполук вносились до середовища в пастеризованому виді. Пастеризація практично не приводила до відщеплення ортофосфорної кислоти.

Для порівняння досліджуваний ґрунт паралельно висівався на середовище рекомендоване Менкіною, з РН — 5,5, де джерелом фосфору служив мінеральний фосфор у формі K_2HPO_4 . В усіх варіантах фосфор вносився в однаковій кількості з розрахунку 0,23 г Р на 1 л.

Результати аналізу по підрахунку грибів, що вирости на цих середовищах, наведені в таблиці 1.

Як видно з цієї таблиці, кількість грибів на середовищах, де єдиним джерелом фосфору були орґанофосфати, не менша, а на середовищі з гліцерофосфатом натрію більша, ніж на се-

Таблиця 1

Ріст грибів на різних джерелах фосфору

Варіант	Тітр грибів	
	повторності	середнє значення
K_2HPO_4	3,12.10 ⁶ 3,36.10 ⁶	3,24.10 ⁶
Гліцерофосфат натрію	4,44.10 ⁶ 4,56.10 ⁶	4,50.10 ⁶
РНК дріжджева	2,52.10 ⁶ 2,76.10 ⁶	2,64.10 ⁶

редовищі з мінеральним фосфором. Необхідно відмітити, що за зовнішнім виглядом колонії грибів на РНК відрізнялися від колоній на гліцерофосфаті натрію та мінеральному фосфорі.

Однією з найбільш поширених грибних колоній на чашках були колонії грибка з роду *Penicillium*, який виділяв у середовище червоний пігмент. Цей грибок був виділений із середовища з гліцерофосфатом натрію.

Виділивши цей грибок у чисту культуру, ми вирішили більш детально перевірити його здатність мінералізувати основні типи орґанофосфатів. З цією метою був поставлений слідуючий дослід.

Рідке мінеральне середовище розливалось по 15 мл в колбочки об'ємом 50 мл. В різних варіантах вносились різні форми фосфору: в першому варіанті K_2HPO_4 , в другому — фітін, в третьому — гліцерофосфат натрію і в четвертому — РНК. Фосфор вносився в колбочки з розрахунку 230 γ/мл.

Гліцерофосфат натрію, РНК, фітін вносились стерильно в пастеризованому вигляді. Стерильні колбочки заражались однією краплею суспензії спор виділеного нами *Penicillium*'а.

Після того колбочки ставились в термостат при $T\ 27^\circ\text{C}$ на 12 днів, потім міцелій грибів виймали з колбочок, промивали і висушували.

В культурі, на якій ріс грибок, визначали доступний фосфор, а в міцелію грибка з кожної колбочки визначали загальний фосфор.

Фосфор визначався за методикою Білозерського з допомогою фотоелектроколориметра. Дані аналізу наведені в табл. 2.

З цієї таблиці видно, що вага 12-денного міцелію грибка в усіх варіантах була майже однаковою, за винятком міцелію

Таблиця 2

Мінералізація Ренісіліїум'ом ваг гiber різних типів органофосфатів

Варіант	Внесено фосфору в мг/15 мл середовища	Вага (повітряносуха) цвili в мг (повторності)	Спожито фосфору в г/мг ваги	Накопичено в середовищі фосфору в г/мг ваги	% мінералізованого фосфору від внесеного (в середньому)	% спожитого фосфору від внесеного (в середньому)
KH_2PO_4	3,45	60	5,10	— 5,10	—	11,08
		64	7,50	— 7,50		
		61	6,00	— 6,00		
Фітин	3,09	62	6,00	+ 20,60	45,60	13,80
		64	7,50	+ 25,00		
		64	6,90	+ 22,80		
Гліцерофосфат натрію	3,20	68	7,50	+ 34,00	63,26	13,90
		65	6,90	+ 32,00		
		63	6,00	+ 27,00		
РНК дріжджева	2,85	55	11,40	+ 21,40	42,68	21,48
		56	12,45	+ 25,00		
		51	10,20	+ 21,20		

на середовищі з РНК. В усіх варіантах споживання фосфору на одиницю ваги міцелію приблизно однакове.

На середовищі з РНК фосфору споживається значно більше. З таблиці ясно видна властивість виділеного *Penicillium*'а не тільки забезпечити себе фосфором, але й накопичувати значну кількість його у середовищі.

Кількість накопиченого фосфору при мінералізації грибом різних органофосфатів виявляється неоднаковою. При рості на гліцерофосфаті натрію кількість накопиченого в середовищі фосфору приблизно в п'ять разів більша від спожитої кількості фосфору, у випадку з фітином вона приблизно в три рази, а при рості *Penicillium*'а на РНК — лише в два рази більша.

ВИСНОВКИ

1. Грибна мікрофлора кислого ґрунту карпатської полони-ни добре розвивається на органічних джерелах фосфору.

2. Виділений нами широко розповсюджений в цьому ґрунті грибок з роду *Penicillium*, мінералізуючи гліцерофосфат натрію, фітин, РНК, може накопичувати в середовищі значну кількість мінерального фосфору.

3. При мінералізації виділеним грибом різних типів органічних сполук фосфору відношення між накопиченим в середовищі та спожитим фосфором неоднакове.

Найбільше воно для гліцерофосфату натрію і найменше при мінералізації РНК дріжджевої.

4. Грибна мікрофлора кислих ґрунтів, очевидно, відіграє значну роль в мінералізації органічних сполук фосфору та в забезпеченні рослин доступними фосфатами.

ЛІТЕРАТУРА

1. Б рад і с Е. М. Полонины Закарпатської області, Київ, 1951.
2. Доросинский М. М. и Лазарев Н. М. Роль микроорганизмов в корневом питании растений. Агробиология № 4, 1949.
3. Костычев П. А. О составе и некоторых свойствах перегноя. Сельское хозяйство и луговодство № 4, 1884.
4. Костычев П. А. На какой почве фосфорная мука увеличивает урожай. Сельское хозяйство и луговодство № 4, 1884.
5. Кудрин С. А. Круговорот фосфора в почве и превращение в ней фосфатов удобрений. Агробиология № 5, 1952.
6. Котелев В. В. Поступление фосфора P_{32} в клетки микроорганизмов и передача его растению. Изотопы в микробиологии. Издательство АН СССР, 1955.
7. Мишустин Е. Н. и Мирзоева В. А. Соотношение основных групп микроорганизмов в почвах разных типов. Почвоведение № 6, 1953.
8. Менкина Р. А. Бактерии, минерализующие органические соединения фосфора. Микробиология XIX, вып. 4-й, 1950.
9. Прянишников Д. Н. Избранные сочинения, том I, 1952.
10. Ріпецький Р. Т. Про роль амоніфікаторів в мінералізації органофосфатів. Дипломна робота, Львів, 1954.

11. Рудаков К. И. О роли микроорганизмов в круговороте фосфора. Природа № 3, 1956.
 12. Северин С. Мобилизация почвенной фосфорной кислоты под влиянием жизнедеятельности бактерий. Вестник бактериолого-агрономической станции № 17, 1910; № 18, 1911.
 13. Сидери Д. И. К биологии разложения органического вещества в почве. Агробиология № 1, 1950.
 14. Соколов А. В. Агрохимия фосфора. Изд-во АН СССР, М.—Л., 1950.
 15. Фостер Д. Химическая деятельность грибов. ИЛ, М., 1950.
 16. Pierre W. H. The phosphorus Cycle and Soil fertility. Sour of Am. Soc. of agronomy, January, № 1, 1948.
 17. Stoklasa I. Biochemischer Kreislauf des Phosphat — Jons im Boden. Centralblatt für Bact II. Abt. Bd. 29. N 15/19.
 18. Swederski W. Studia nad glebami górskimi w Karpatach Wschodnich. Pamiętnik Państwowego Instytutu Naukowego gospodarstwa Wiejskiego w Putawach. Tom 12, Putawy, 1931.
-