

W. MYŚKÓW

ZAKŁAD MIKROBIOLOGII IUNG — PUŁAWY

WPLYW MIKROFLORY NA POWSTAWANIE PRÓCHNICY W GLEBIE

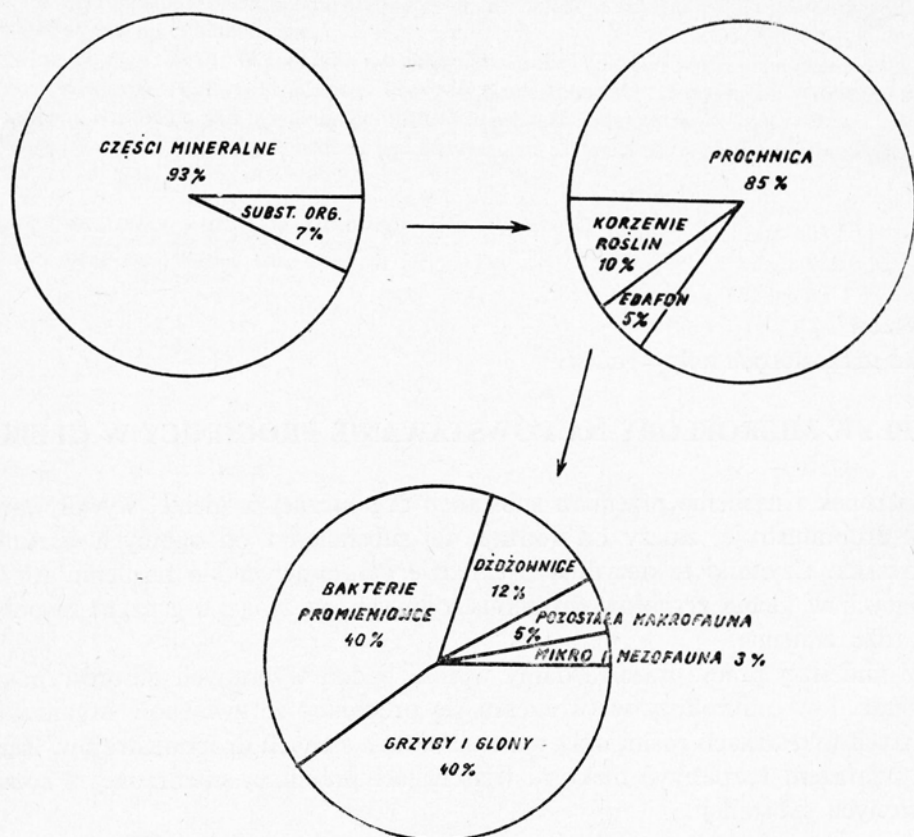
Kierunek i nasilenie przemian substancji organicznej w glebie, wywoływanych przez drobnoustroje, zależy od rodzaju tej substancji i od ogólnych warunków środowiska. Czynniki te decydują o składzie gatunkowym i o nasileniu rozwoju bytujących w glebie zespołów drobnoustrojowych, w związku z czym zespoły te są bardzo zmienne.

W niniejszej pracy przedstawiamy wyniki badań wybranych autorów poświęcone udziałowi mikroflory w tworzeniu się próchnicy ze związków organicznych zawartych w resztkach roślin oraz w metabolitach samych drobnoustrojów. Zamierzamy zarazem rozpatrzeć niektóre właściwości próchnicy utworzonej z różnych określonych substancji.

Mikroflora odgrywa zapewne dominującą rolę w procesach humifikacji substancji organicznej w glebie. Wg Tiurina i Kononowej (1963) w glebach uprawnych nasilenie reakcji wyłącznie chemicznych jest dużo słabsze, niż reakcji biochemicznych.

Swego czasu Żółciński (1926) uważał, że podczas humifikacji substancji organicznej procesy mikrobiologiczne zachodzą w glebie tylko do czasu wytworzenia się w niej toksycznie działających połączeń (np. fenoli). Następnie, zdaniem tego autora, przeważają w glebie procesy abiotyczne. Wydaje się nam, że badacz ten przypisywał zbyt dużą rolę procesom czysto chemicznym w późniejszym okresie humifikacji, nie biorąc pod uwagę zdolności przystosowawczej drobnoustrojów do rozwoju na różnych substratach. Niektóre bowiem gatunki są zdolne do rozkładania nawet silnych trucizn.

Substraty próchnicy i mikroflora. Jak wiadomo, w skład substancji organicznej gleby wchodzi m. in. ciała mikroflory i fauny glebowej. Rippel (1955) ocenia ilość masy żywych komórek drobnoustrojów w glebie na około 5% w stosunku do ogólnej zawartości w niej substancji organicznej. Biorąc pod uwagę, że zawartość próchnicy może się wahać w różnych glebach od około 50 do 300 ton na ha (Tiurin 1946), stanowiłyby drobnoustroje masę kilku do kilkunastu ton na ha.



Ryc. 1. Skład edafonu w glebie łąkowej wg Tischlera (1955)

Podobne wyniki obliczeń masy żywych komórek drobnoustrojów podaje Tischler (1955). Wg tego autora masa żywych komórek bakterii, promieniowców, grzybów i glonów wynosi w glebach łąkowych 4%, a żywej fauny — 1% w stosunku do ogólnej zawartości w niej substancji organicznej (rys. 1).

Należy jednak uwzględnić, że zespoły mikroflory są układami bardzo zmiennymi; organizmy te podczas sezonu wegetacyjnego szybko się namnażają i obumierają, mogą więc wydawać w tym czasie wiele generacji. Całkowita masa mikroflory glebowej, a więc złożona z komórek żywych i z ich szczątków, byłaby wielokrotnie wyższa w porównaniu z masą tylko żywych komórek i stanowiłaby poważną część substancji organicznej gleby.

Drobna fauna glebowa. Rozwój mikroflory łączy się z rozwojem fauny glebowej. Manil i Delecour (1964) uważają, że nie można rozgraniczać działalności mikroflory i drobnej fauny w procesach humifikacji substancji organicznej w glebie.

Na ogół przyjmuje się, że główne znaczenie fauny glebowej polega na mechanicznym rozdrabnianiu i rozprowadzaniu w glebie składników resztek roślin, dzięki czemu procesy ich rozkładu i humifikacji pod wpływem mikroflory są ułatwione (Doeksen i Van der Drift, 1963). Ponadto w organach trawiennych różnych przedstawicieli tych zwierząt bytuje swoista mikroflora przerabiająca substancję organiczną w warunkach dogodnych dla tworzenia się z niej próchnicy.

Ruschmann (1953) obliczył, że mikroflora jelitowa dżdżownic jest reprezentowana przeważnie przez promieniowce i w mniejszym stopniu przez bakterie i grzyby. Franz (1946) zwrócił uwagę na obecność w przewodzie pokarmowym roztoczy — jednokomórkowych organizmów roślinnych, bez których zwierzęta te nie mogą istnieć*.

W przewodzie pokarmowym różnych przedstawicieli fauny glebowej mogą zachodzić procesy humifikacji substancji organicznej. Mason (1955) oraz Whitehed i wsp. (1960) wykazali, że w wielu owadach glebowych występuje oksydaza fenolowa (zapewne wytwarzana przez rozwijające się tam drobnoustroje). Pod jej wpływem może następować utlenianie katechiny do ortochinonu i jego łączenie się ze związkami aminowymi. Obecność substancji próchnicowych w wydalinach fauny glebowej stwierdzili Kurczewa (1960), Dunger (1963) i inni.

UDZIAŁ MIKROFLORY W TWORZENIU SIĘ PRÓCHNICY

Głównym substratem organicznym, z którego powstaje próchnica w glebie są resztki roślin oraz szczątki mikroflory i drobnej fauny glebowej.

Powstawanie próchnicy w glebie z resztek roślin łączy się, jak wiadomo, z rozkładem zawartych w nich przyswajalnych związków organicznych, ze zmianami chemicznymi związków bardziej opornych na rozkład (Broadbent, 1954; Flaig, 1963), z syntezą nowych związków przez drobnoustroje i z autolizą obumierających komórek tych ostatnich organizmów, czemu towarzyszą łańcuchy reakcji biochemicznych i procesy kondensacji powstających produktów (Scheffer i Ulrich, 1960, Flaig, 1963).

Kononowa (1951) dzieli bieg przemian związków organicznych na dwa okresy: rozkład przyswajalnych związków i kolejną resyntezę substancji organicznych. Simonart (1964) stwierdził jednak z pomocą C^{14} , że substancje próchnicowe tworzą się już w pierwszych dniach rozkładu związków organicznych.

Przy rozkładzie i humusowaniu tak różnorodnego materiału, jakim są resztki roślin, współdziałają różne grupy mikroflory rozwijające się kolejno w miarę biegu tych procesów.

W naszym Zakładzie przeprowadziliśmy w warunkach laboratoryjnych badania

*) W przewodzie pokarmowym termitów bytują pierwotniaki, dzięki którym następuje trawienie celulozy przez te owady (Russell 1953, Marszewska-Ziemięcka, 1958).

nad przemianami resztek roślin motylkowych w piasku o odczynie zbliżonym do obojętnego. W pierwszych tygodniach dominowały w tym środowisku bakterie mineralizujące związki białkowe i grzyby pektolityczne, po 2 tygodniach nagromadzały się liczniej bakterie celulolityczne, ustępując w dalszym ciągu doświadczenia miejsca grzybom celulolitycznym. Po kilku (4—6) miesiącach główne grupy czynnej mikroflory stanowiły promieniowce i grzyby (Myśków, 1961, 1963).

Przechodząc do omawiania procesów humifikacji poszczególnych składników resztek roślin, chciałbym zwrócić uwagę na wyniki badań różnych autorów dotyczące ignin i węglowodanów.

Ligniny jako substrat próchnicy. W resztkach roślin znajduje się 10 do 30% lignin, które jako polimery związków aromatycznych są dość odporne na działalność drobnoustrojów. Wg Morrisona (1958), Flaiga (1963) i Simonarta (1964) stanowią one główny substrat próchnicy.

Ligniny mogą być rozkładane przez grzyby z grupy *Hymenomyces*, wyposażone w silne oksydazy fenolowe (Lindeberg, 1955). Uzdołnione w tym kierunku są wg Fischera (1953) także *Fusaria*. Sørensen (1962) stwierdził, że również bakterie z rodzajów *Pseudomonas* i *Flavobacterium* mogą rozkładać ligniny.

O zachodzeniu rozkładu i przemianach lignin w glebie świadczy fakt, że mimo dopływu do niej resztek roślin, połączenia te nie gromadzą się w większych ilościach w tym środowisku. Ostatnio Hurst i wsp. (1962), Hurst (1963) wykazali, że przy przemianach i rozkładzie lignin czynne są nie tylko oksydazy fenolowe jak lakkaza i tyrozynaza, ale także trudne do wyodrębnienia reduktazy. Autorzy ci zauważyli bowiem związek między zdolnością szczepów grzybów z grupy *Hymenomyces* do redukcji grupy karboksylowej kwasu m-hydroksybenzoesowego i zdolnością ich do rozkładania kwasów huminowych. Przy przekształcaniu się lignin czynne byłyby więc różne grupy enzymów.

Ważną właściwością lignin jest to, że mogą one w czasie przemian, po reakcji demetylacji łączyć się z innymi związkami, np. z metabolitami drobnoustrojów, jak aminokwasy, peptydy i białka. Przy badaniach różnych frakcji słomy podczas jej rozkładu z dodatkiem NaNO_3 , Flaig i wsp. (1959) stwierdzili po ok. 400 dniach przyrost ilości azotu w ligninach. Część azotu występowała w nich w formie białek, które zapewne były produktami działalności drobnoustrojów. Bremner (1957, 1963) wykazał, że preparaty ligninowe po zadaniu ich kwasem azotawym wiązały część azotu azotynowego, przy czym reakcji tej towarzyszył rozkład grup metoksylowych. Wg szczegółowych badań Stevenzona i Swabyego (1964) grupy metoksylowe lignin tworzą w wyniku reakcji z tlenkiem azotu lotny związek: CH_3ONO .

Na podstawie badań Morrisona (1958), Flaiga (1963), Simonarta (1964) i innych możnaby przyjąć dwa sposoby przebiegu humifikacji lignin zależne od stopnia ich skondensowania i od ich oporności na rozkład.

W ogólnym zarysie bieg przemian lignin przedstawiałby się następująco:

1. Ligniny bardziej złożone: przekształcanie się ich bocznych łańcuchów w wy-

niku demetoksytacji i utleniania, łączenie się zmodyfikowanej ligniny z azotem organicznym i mineralnym i kondensacja tych związków na kwasy huminowe (Bremner, 1957, Flaig, 1963).

2. Biologiczny rozkład i przemiany mniej złożonych lignin do pojedynczych chinonów, następnie reagowanie tych połączeń z aminokwasami i kondensacja tych produktów do kwasów huminowych (Horner i Sturm 1957; Flaig, 1963; Kononowa, 1963).

Kononowa (1963) opowiada się wyłącznie za tym drugim sposobem tworzenia się próchnicy. Wydaje się, że wobec dostatecznie udokumentowanych wyników badań innych autorów stanowisko jej jest zbyt jednostronne i że w glebie mogą zachodzić oba kierunki procesu humifikacji lignin. Potwierdzają to badania Morrisona (1958), Flaiga (1963) i Simonarta (1964), którzy znaleźli w kwasach huminowych frakcje ligniny chemicznie mało zmienionej. Simonart (1958, 1964) wykazał w swoich pracach nad humifikacją substratów znakowanych C^{14} , że z około 35% ligniny wprowadzonej do gleby utworzyły się po miesiącu kwasy huminowe, natomiast z aldehydów aromatycznych, tj. z pierwszych produktów rozkładu lignin — powstawało tylko około 5% tych kwasów (tab. 1).

Węglowodany jako substrat próchnicy. Jak wiadomo, resztki roślin zawierają około 50% lub więcej tych połączeń. Powstawanie próchnicy z węglowodanów zostało już stwierdzone przez wielu badaczy (Enders, 1943; Kononowa i Aleksandrowa, 1956; Simonart, 1958, 1959 i inni). Należy jednak zaznaczyć, że tylko nieduża część tych związków przekształca się w substancje próchnicowe, gdyż większość ich stanowi źródło energii dla drobnoustrojów.

Simonart i Mayaudon (1958, 1959), badając w glebie rozkład różnych węglowodanów znakowanych radioaktywnym węglem, stwierdzili, że około 10% glukozy przetwarzano się w glebie w kwasy próchnicowe, podczas gdy z hemicelulozy i celulozy powstawało dwa razy więcej tych produktów (tab. 2). Kwasy huminowe otrzymane przez Simonarta (1964) z glukozy, po miesiącu jej przemian w glebie zawierały dużo peptydów i białka. Ich frakcja ulegająca kwaśnej hydrolizie wynosiła około 85% suchej masy kwasów huminowych (tab. 1).

W naszym doświadczeniu (Myśków i wsp., materiały nieopublikowane) kwasy huminowe utworzone w czasie 4-miesięcznego rozkładu celulozy w piasku z dodatkiem pożywki mineralnej zawierały także stosunkowo duże ilości aminokwasów związanych (około 4% N aminowego w stosunku do suchej masy kwasów huminowych). Aminokwasy te były produktami syntezy rozwijających się w piasku grzybów i bakterii celulolitycznych. Tab. 2 przedstawia skład i ilość tych aminokwasów.

Na udział celulozy w powstawaniu próchnicy zwrócił już uwagę Winogradsky (1929). Sądził on, że rozkładające ten związek bakterie przekształcają celulozę w oksycelulozę, która następnie wchodzi w skład kompleksu próchnicowego. Jednakże zgodnie z badaniami Fullera i Normana (1943) oraz Staniera (1947), celuloza

Ilości kwasów huminowych *) powstałych z różnych połączeń (wg Simonarta, 1959 przy użyciu C¹⁴)

Substrat	Kwasy huminowe		Ilość kwasów huminowych w stosunku do materiału wyjściowego w %
	frakcja ulegająca kwaśnej hydrolizie %	frakcja nie ulegająca kwaśnej hydrolizie %	
Glukoza	86,2	13,8	3,9
Celuloza	83,1	16,9	5,9
Lignina	32,8	67,2	34,2
Aldehyd syringowy	33,1	67,0	7
Wanilina	26,0	74,0	7
p-OH-benzaldehyd	30,2	70,0	6

*) w glebie po 30 dniach

może być hydrolizowana do glukozy, wykorzystywanej w dalszym ciągu przez drobnoustroje jako źródło energii i węgla, a dopiero produkty rozkładu tych bakterii wchodziłyby w skład substancji próchnicowych. Wyniki tych ostatnich badań byłyby zgodne z cytowanymi przez nas wynikami Simonarta i Mayaudona (1958).

Wg Plotho'ego (1951) przekształcanie się celulozy w kwasy huminowe przebiegałoby poprzez takie produkty przejściowe, jak kwasy uronowe, furfuroł oraz połączenia chinoidowe.

Na możliwość innego sposobu przemian węglowodanów w kwasy próchnicowe wskazują badania Endersa (1943). Zwrócił on uwagę na metyloglioksal jako na produkt rozkładu węglowodanów w warunkach zakłóconego metabolizmu drobnoustrojów. Metyloglioksal w obecności połączeń zawierających grupy aminowe może przechodzić w brunatne produkty — t.zw. melanoidy.

Wg Rudakowa (1949) te ostatnie połączenia mogą też powstawać z kwasów uronowych poprzez ich reakcję z aminokwasami. W glebie substancje te tworzą się wg Drozdowej (1957) w wyniku złożonych przemian prostych aminocukrów lub chityny. Biochemizm tworzenia się połączeń melanoidowych i dalszych ich przemian w glebie na kwasy próchnicowe jest jeszcze mało zbadany.

Jak widzimy, zwłaszcza ligniny, a także węglowodany mogą stanowić substrat próchnicy. Nadto może się ona tworzyć z garbników, terpenów ze smoły, barwików i z innych połączeń. Mayaudon i Simonart (1959) otrzymali np. substancje próchnicowe z chlorofilu i karotenu (tab. 3).

Ważnym składnikiem próchnicy jest azot, który znajduje się w niej przeważnie w postaci takich połączeń jak aminokwasy, aminocukry, peptydy i białka będące produktami syntezy drobnoustrojów (Turczin i wsp. 1960, Simonart, 1964). Związki te występujące w bocznych łańcuchach makromolekuł próchnicy mogą

Tabela 2

Doświadczenie z rozkładem błonnika w piasku. Skład związanych aminokwasów we frakcjach substancji organicznej (wg Myśkowa i wsp.)

Rodzaj aminokwasu	Kwasy huminowe* z serii z grzybami	Huminy z serii z grzybami
	w mg/1 g. p. s. m. frakcji próchnicowej	
Kwas asparaginowy	23	10
Kwas glutaminowy	31	4,5
Seryna	12	1
Treonina	9	5,5
α -alanina	18	5
Tyrozyna	13	—
Walina	18	3,5
Leucyna — izoleucyna	12	2
Fenylalanina	4,5	—
Lizyna	19	6
Arginina	7	1
Kwas δ, α, ϵ -dwuaminopimelinowy	×	—
Glicyna	5,5	1
Histydyna	—	—
Prolina	19	5
Glukozamina	—	—
Razem:	191	45
Razem — w% N	4,1	1,0

U w a g i: — = nie wykryty, x = wykryty, ale nie oznaczony ilościowo. *) We frakcji tej znaleziono ponadto 2 aminokwasy, których nie zidentyfikowano

ulegać w glebie, jak wykazali Łoginow (1961), Haider i wsp. (1965) i inni, hydrolicie enzymatycznej, regenerujące się zapewne na skutek „wbudowywania“ się nowych połączeń aminowych w aromatyczne jądro, odporne na rozkład w stopniu większym niż peptydy i białka.

WYTWARZANIE SIĘ SUBSTANCJI PRÓCHNICOWYCH Z METABOLITÓW DROBNOUSTROJÓW I Z PRODUKTÓW AUTOLIZY ICH KOMÓREK

Zdaniem Kononowej (1951) oraz Miszustina i wsp. (1956) produkty humifikacji mogą być wytwarzane przez żywe komórki drobnoustrojów z pomocą enzymów wydzielanych przez nie do środowiska. Natomiast Williams (1939),

Skład próchnicy powstałej z różnych substratów w ciągu 30 dni ich rozkładu w glebie (wg P. Simonarta, 1964)

Fracje próchnicy	Glu-koza	Celu-loza	Glo-bulina	Hydroli-zat globu-liny	Ligni-na	Chlo-rofil b	β -ka-roten	*** Azo-tobacter (komórki)	*** Aspe-rgillus ni-ger (grzy-bnia)
Kwasy fulwowe	*27,4	25,3	30,1	25,8	10,3	7,8	16,4	41,0	22,6
Kwasy huminowe	31,5	29,7	51,3	26,0	48,6	27,0	44,2	31,5	22,4
Huminy	41,1	45,0	18,5	42,0	40,9	65,2	39,4	28,5	55
Całkowita radioaktyw-ność frakcji próchni-cowych	**10,6	20	55,0	29,0	70,3	17	23,4	40,6	54,8

* — w % radioaktywności pozostającej w glebie substancji organicznej ** — % radioaktywności pierwotnej substancji organicznej *** — po 60 dniach rozkładu

a także Rudakow (1949) wyrażali pogląd, że substancje próchnicowe tworzą się głównie wewnątrz tych organizmów. Biorąc pod uwagę, że omawiane substancje są polikondensatami różnych połączeń, które są w dużym stopniu zdegradowane i w związku z tym odporne na rozkład, należy sądzić, że wewnątrz żywych komórek drobnoustrojów mogą powstawać tylko takie połączenia, które są prekursorami związków próchnicowych. Przekształcanie się w kwasy próchnicowe takich połączeń pośrednich, po wydzielaniu ich do środowiska zachodziłoby pod wpływem enzymów znajdujących się na powierzchni lub w ogóle na zewnątrz komórek drobnoustrojów. Swaby i Ladd (1962) sądzą, że pierwsze produkty humifikacji mogą także powstawać wewnątrz komórek drobnoustrojów wkrótce po ich obumarciu i przed rozłożeniem się błony komórkowej.

Komórki drobnoustrojów syntetyzują składniki niezbędne do powstawania próchnicy; białka, węglowodany oraz różne związki aromatyczne. Te ostatnie produkty ich syntezy interesują nas szczególnie.

Okazało się, że niektóre rodzaje drobnoustrojów są energicznymi producentami związków aromatycznych*). Do produktów ich działalności należą aromatyczne aminokasy (fenyloalanina, tyrozyna, tryptofan) i barwiki. W hodowlach różnych rodzajów bakterii (np. *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Sarcina*, *Corynebacterium*, *Arthrobacter*) i szczególnie wśród grzybów (*Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Cladosporium*, *Alternaria*) i promieniowców (*Streptomyces*) znane jest tworzenie się ciemnych barwików (Plotho, 1951; Küster, 1952;

*) Synteza związków aromatycznych może przebiegać w grzybni *Penicillium griseofulvum* poprzez kondensację cząsteczek kwasu octowego do kwasu 6 metylo-salicylowego, natomiast w *Phycomyces blakesleeanae* — przez stadium sedoheptulozy i inozytu. U *Neurospora crassa* produktami przejściowymi w syntezie związków atomatycznych są kwasy chininowy, szikimowy i preferowy (Dagley, 1961, Bekker, 1963).

Wieringa, 1964 i inni). Wg Scheffera i Ulricha (1960) zabarwienie grzybni i spor grzybów i innych drobnoustrojów udziela się substancjom próchnicowym. Scheffer i Ulrich (1960), a także Wieringa (1964) uważają ciemne związki melaninowe wytwarzane przez *Azotobacter chroococcum* za produkty utleniania tyrozyny z pomocą tyrozinazy. W badaniach przeprowadzonych przez Nowogrudskiego (1959) ciemny barwik zsyntetyzowany przez *Azotobacter chroococcum* w pożywce z benzoesanem sodu dawał podobną krzywą sorpcji światła widzialnego, co kwasy huminowe wydzielone z czarnoziemiu.

Treccani (1950) obserwował powstawanie ciemnych barwików w hodowlach szczepów *Flavobacterium*, a Plotho (1951) i Wieringa (1964) — w hodowlach *Pseudomonas pyocyaneum*, *Bacterium prodigiosum* i bakterii z rodzajów *Corynebacterium* i *Arthrobacter*.

Prevot i Saissac (1947) wyodrębnili z gleb szczepy bakterii beztlenowych z rodzajów *Clostridium* i *Plectridium*, które syntetyzowały ciemne pochodne fenolu i p-krezolu.

Zawartość ciemnych barwików może dochodzić w grzybni *Aspergillus niger* do około 50% jej masy (Scheffer i Ulrich, 1960). Küster (1952) sądzi, że barwik ten jest pochodną naftochinonu. Wg tego badacza substancje próchnicowe powstające w wyniku autolizy grzybni *Aspergillus niger* mają właściwości zbliżone do kwasów huminowych z czarnoziemiu.

Morton (1951), Miszustin i wsp. (1956) opisali tworzenie w mineralnych pożywkach syntetycznych z dodatkiem cukrów, barwików będących pochodnymi fenolu i zawierających azot przez szczepy z rodzaju *Penicillium*. Badura (1964) wykazał, że dodatek peptonu do pożywki mineralnej wzmacnia wydzielanie się barwika w hodowli szczepu *Penicillium implicatum*.

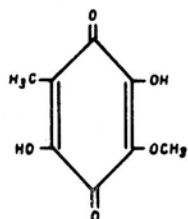
Ważnymi prekursorami substancji próchnicowych mogą być także antybiotyki o strukturze aromatycznej. Są one syntetyzowane przez drobnoustroje glebowe, szczególnie przez grzyby z rodzajów *Penicillium*, *Aspergillus* i *Fusarium* oraz promieniowce z rodzaju *Streptomyces*. Na rys. 2 przedstawiono wzory strukturalne niektórych z tych związków.

Widzimy, że są to pochodne m. in. benzochinonów (fumigatyna, spinulozyna), antrachinonu (endokrocyna) i fenantrenochinonu (alternariol), a więc związków wchodzących łatwo w połączenia z aminokwasami i dających poprzez dalszą kondensację produkty podobne do substancji próchnicowych (Scheffer i Ulrich, 1960; Flaig, 1963).

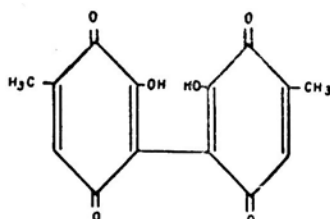
Obecność antybiotyków w różnych frakcjach próchnicy glebowej jest tym bardziej możliwa, że są one trudniej rozkładane przez drobnoustroje niż inne związki. Bekker (1963) znalazł ciekawą zależność zawartości w glebie poszczególnych frakcji próchnicowych od obecności grzybów uzdolnionych do wytwarzania antybiotyków o różnej budowie. Wykazał mianowicie, że w glebach, w których próchnica zawierała więcej kwasów huminowych niż fulwokwasów, główną grupę drobnoustrojów stanowiły grzyby wytwarzające antybiotyki o złożonej chino-

idowej strukturze, natomiast w glebach o przewadze frakcji fulw kwasów domino-
wały grzyby wytwarzające antybiotyki o budowie prostszej.

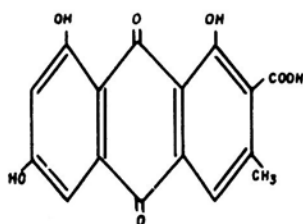
Być może, iż antybiotyki jako substancje biologicznie aktywne zachowują „ten
swoją charakter“, wchodząc w skład frakcji próchnicowych.



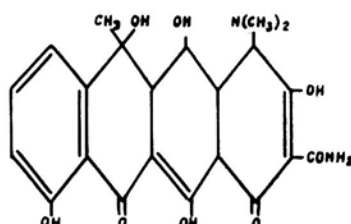
1. SPINULOZYNA



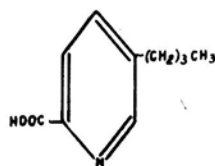
2. FENICYNA



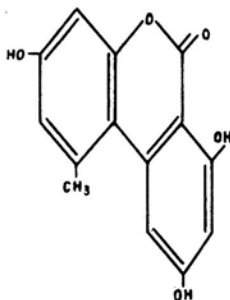
3. ENDOKROCZYNA



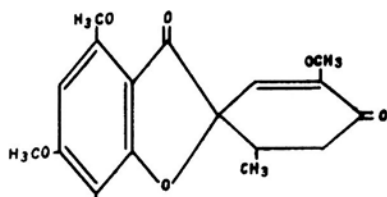
4. OKSYTETRACYKLINA



5. KWAS FUZARIOWY



6. ALTERNARIOL



7. GRIZEOFULWINA

Ryc. 2. Wzory strukturalne niektórych antybiotyków o budowie cyklicznej i heterocyklicznej wytwarzanych przez grzyby i promieniowce glebowe: 1 — *Penicillium spinulosum*, 2 — *Penicillium phoeniceum*, 3 — *Aspergillus amstelodami*, 4 — *Actinomyces rimosus*, 5 — *Fusarium heterosporium*, 6 — *Alternaria tenuis*, 7 — *Penicillium griseofulvum*.

Na uwagę zasługują także jako substancje biologicznie aktywne witaminy syntetyzowane przez drobnoustroje, szczególnie z grupy B, zawierające w swoich cząsteczkach połączenia cykliczne. Wg Meisela (1950, cyt. przez Kononową, 1963) drobnoustroje mogą syntetyzować w ciągu roku nawet do 1 kg na ha witamin należących do tej grupy.

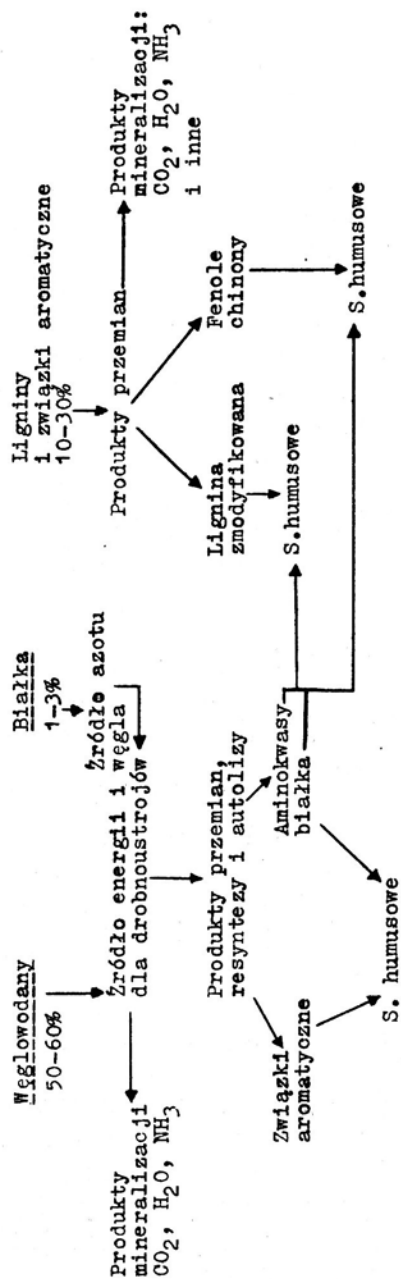
Nie tylko metabolity drobnoustrojów, ale produkty autolizy samych ich komórek mogą przekształcać się w związki próchnicowe. Wg Kononowej (1951) tworzenie się kwasów huminowych podczas rozkładu błonnika pod wpływem miksobakterii następuje wyraźniej dopiero w wyniku autolizy tych drobnoustrojów. O udziale produktów rozkładu komórek drobnoustrojów w powstawaniu próchnicy świadczą także badania Mayaudona i Simonarta (1963). Badacze ci wprowadzili do gleby żywe komórki *Azotobacter vinelandii* znaczone radioaktywnym węglem. Po 60 dniach znaleźli ten pierwiastek we frakcjach próchnicowych, głównie w kwasach huminowych i fulwokwasach. Grzybnia *Aspergillus niger* okazała się bardziej oporna na rozkład, niż komórki *Azotobacter vinelandii*. Większość bowiem radioaktywnego węgla zawartego w tej grzybni odnaleziono w huminach. Podobne wyniki w badaniach nad humifikacją grzybni *Aspergillus niger* znakowanej C^{14} otrzymali Zeller i wsp. (1963), a w naszym Zakładzie Kobus i wsp. (materiały nieopublikowane).

Pochodzenie i właściwości próchnicy. Za próchnicę pochodzenia roślinnego uważa się skondensowane produkty biochemicznie zmienionych składników roślin. Próchnica pochodząca z drobnoustrojów powstawałaby z ich metabolitów i z produktów autolizy ich ciał (rys. 3).

Głównym substratem próchnicy pochodzenia roślinnego, jak już podkreślano, są ligniny oraz bardziej złożone związki aromatyczne, spośród których zwraca się ostatnio szczególniejszą uwagę na związki flawonowe (Burges i wsp. (1964).

Część węgla węglowodanów wchodzi w skład związków organicznych komórek i ich metabolitów dających początek substancjom próchnicowym. Wg Simonarta (1964) w substancjach próchnicowych pochodzenia drobnoustrojowego (przeciwieństwie niż w próchnicy powstałej z ligniny) przeważa frakcja bogata w peptydy i białka ulegająca kwaśnej hydrolizie, podczas gdy frakcja nie ulegająca kwaśnej hydrolizie wynosi w nich tylko około 15% (tab. 1).

Zrozumieliśmy więc jest, dlaczego substancje próchnicowe utworzone w wyniku działania drobnoustrojów na węglowodany zawierają więcej azotu niż frakcje próchnicy powstałe z korzeni roślin, które mają obok węglowodanów znaczne ilości lignin. Wykazały to m. in. wyniki badań przeprowadzonych w naszym Zakładzie i przedstawione na rys. 4 (Myśków i wsp., materiały nieopublikowane). Z krzywych absorpcji w świetle podczerwonym kwasów huminowych powstałych z węgla samej celulozy i z mineralnego azotu widać, że frakcja ta ma znacznie więcej azotu (około 10% N ogólnego) niż kwasy huminowe utworzone z korzeni łubinu (ok. 5% N ogólnego). Natomiast te ostatnie połączenia zawierały więcej związków aromatycznych.



Substraty	Węglowodany	Białka	Ligniny i związki aromatyczne
x/ Ogólna ilość wytworzonej z nich próchnicy	5-10	0,5-1,5	7-20
Ilości frakcji kwasów huminowych:			
1/ ulegających hydrolizie	4,3-8,5	0,43-1,3	2-5
2/ nie ulegających hydrolizie	0,7-1,5	0,07-0,20	5-15

x/ w liczbach względnych w stosunku do wyjściowego materiału

Tabela 4

Skład związków aromatycznych w kwasach huminowych różnych gleb (wg Burgesa i wsp. 1964)

Rodzaj połączeń		Typ gleby, z której otrzymano kwasy huminowe				
		Gleba bielkowa	Rędzi- na	Czar- no- ziem	Próchnica mulowa	Próchnica z mchu (gleby arktyczne)
Pochodne flawonów	Floroglucyna	× × ×	Ślady	× ×	—	× ×
	Rezorcyzna	× × ×	×	× × ×	× ×	× ×
	Metylofloroglucyna	× ×	Ślady	× ×	—	×
	2,4— dwuhydroksytoluen	× ×	Ślady	×	—	×
Pochodne ligniny	Kwas p-OH benzoesowy	×	× ×	×	× ×	—
	Kwas wanilinowy	× ×	× × ×	× ×	× ×	—
	Kwas syringowy	—	× ×	×	× ×	—
	Kwas protokatechowy	×	×	×	×	—
	Kwas gwajakolopropionowy	×	× ×	×	—	—
	Kwas syringowopropionowy	—	×	×	—	—
Prawdopodobne produkty syntezy drobnoustrojów	Pyrogallol	×	×	×	—	—
	Kwas 3,5-dwuhydrobenzoesowy	× ×	Ślady	×	—	×

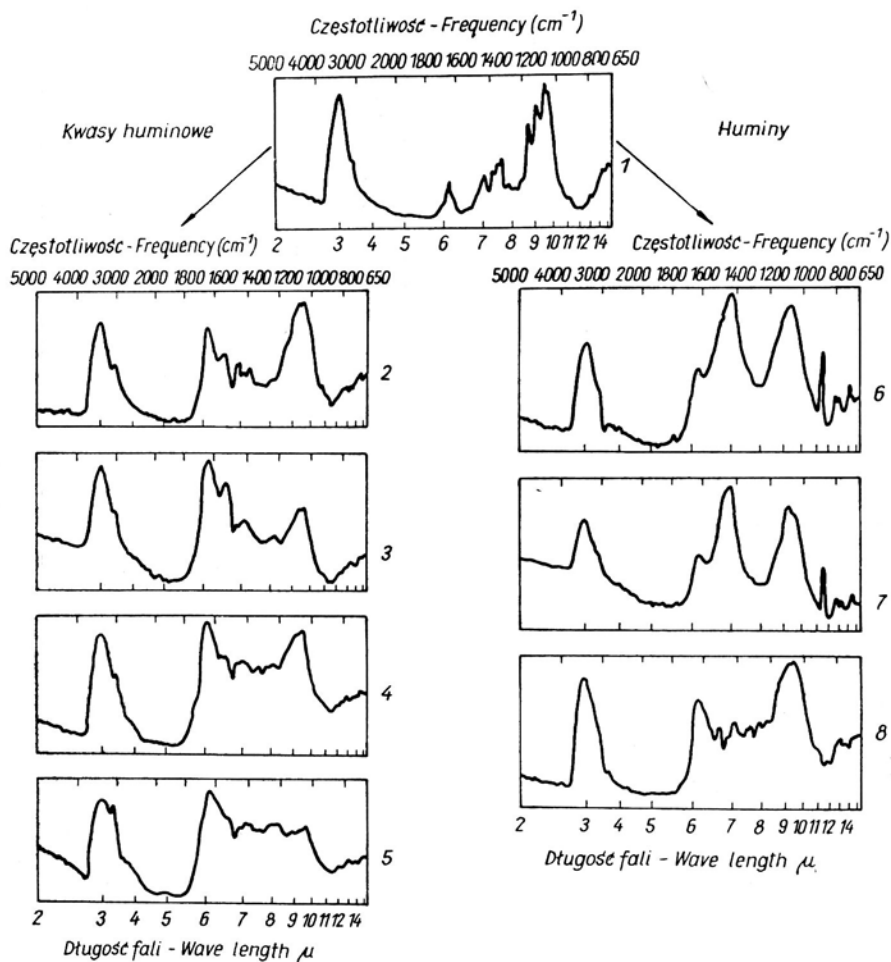
Objaśnienia:

- = brak
- × = stosunkowo małe ilości
- × × = stosunkowo średnie ilości
- × × × = stosunkowo duże ilości

Trzeba zaznaczyć, że w miarę „dojrzewania“ w glebie frakcji próchnicy zmniejsza się w nich zawartość związków azotowych, gdyż połączenia te ze względu na łatwą przyswajalność i podatność do enzymatycznej hydrolizy ulegają szybszym przemianom, niż połączenia bezazotowe. Na podstawie wieloletnich doświadczeń polowych nad przemianami azotu, przeprowadzonych z pomocą N^{15} , Jansson (1963) dochodzi do wniosku, że wprowadzony do gleby azot może utrzymywać się w glebie w ciągu 35 do 45 lat. Natomiast wiek węgla w próchnicy może dochodzić w niektórych glebach do kilkuset lat. Mianowicie Broecker i wsp. (1956) oraz Simonson (1959) oceniają z pomocą C^{14} wiek węgla próchnicy pod naturalnymi użytkami zielonymi na 200 do 400 lat.

Właściwości chemiczne próchnicy mogą zależeć od rodzaju drobnoustrojów

biorących udział w jej powstawaniu. Np. Jacquin i Mangenot (1959, 1960), badając w warunkach laboratoryjnych powstawanie próchnicy z trocin i z wiórów drzewnych pod wpływem grzybów z rodzajów: *Cytospora*, *Trechispora*, *Phialospora*, *Melanomma* i innych wykazali, że jakość próchnicy zależy od składu zespołu grzybów atakujących te materiały.



Ryc. 4. Krzywe absorpcji światła podczerwonego przez frakcje próchnicy otrzymanej z celulozy i korzeni łubinu; wg Myśkowa i wsp. 1 — Celuloza pierwotna, 2 — Kwasy huminowe utworzone z celulozy pod wpływem kultury mieszanej (bakterie i grzyby), 3 — Kwasy huminowe utworzone z celulozy pod wpływem grzybów, 4 — Kwasy huminowe utworzone z korzeni łubinu, 5 — Kwasy huminowe wyodrębnione z piasku słabo gliniastego, 6 — Huminy powstałe z celulozy w serii z kulturą mieszaną, 7 — Huminy powstałe z celulozy w serii z grzybami, 8 — Huminy z resztek łubinu.

Wpływ na skład chemiczny próchnicy może wywierać także rodzaj podłoża glebowego. Burges i wsp. (1964) badali skład związków aromatycznych w kwasach huminowych wyodrębnionych z różnych gleb. Stwierdzili przy tym, że kwasy huminowe miały charakterystyczny dla różnych gleb skład związków aromatycznych (tab. 4). Np. w kwasach huminowych z rędziny przeważały związki aromatyczne będące pochodnymi ligniny, a w kwasach huminowych z gleby biellicowej główną grupę stanowiły związki aromatyczne, pochodzące ze związków flawonowych zawartych w roślinach, a także związki aromatyczne — produkty syntezy drobnoustrojów. W kwasach huminowych utworzonych w glebach dalekiej północy z mchu, nie zawierającego ligniny, znajdowały się przeważnie pochodne związków flawonowych.

Widzimy więc, jak dalece skład chemiczny próchnicy zależy od rodzaju materiału wyjściowego i warunków glebowo-klimatycznych.

STRESZCZENIE I WNIOSKI

Ważniejsze wyniki badań różnych autorów nad wpływem drobnoustrojów na powstawanie próchnicy można przedstawić w następujących punktach:

1. Drobnoustroje są głównym czynnikiem, od którego zależy proces humifikacji.

2. W tworzeniu się próchnicy mogą brać udział różne rodzaje drobnoustrojów, zwłaszcza różne rodzaje grzybów i promieniowców. Natura ich zespołowej działalności nie jest jeszcze dostatecznie poznana. W obecnych doświadczeniach laboratoryjnych bada się zwykle oddziaływanie tylko wybranych szczepów na przemiany substancji organicznej w glebie. Należałoby badać również wpływ całych rodzimych zespołów drobnoustrojowych na te procesy, szczególnie w odniesieniu do opornych na rozkład lignin.

3. Należałoby się też bliżej zająć współdziałaniem mikroflory i drobnej fauny glebowej podczas rozkładu i humifikacji substancji organicznej.

4. Próchnica glebowa jest mieszaniną produktów humifikacji pochodzenia roślinnego i drobnoustrojowego. Związki aromatyczne stanowiące jądro substancji próchnicowych pochodzą głównie z roślin, a aminokwasy, peptydy i białka — głównie z drobnoustrojów. Z badań Simonarta (1964) wynikałoby jednak, że związki aromatyczne próchnicy mogą również pochodzić z drobnoustrojów. Między innymi prekursorami tych związków mogą być wytwarzane przez niektóre drobnoustroje antybiotyki o budowie cyklicznej.

Opierając się na wynikach badań Simonarta (1964), możnaby ocenić zawartość w glebie próchnicy pochodzenia drobnoustrojowego na około 25% w stosunku do ogólnej ilości (rys. 3).

5. Najbardziej interesujące teoretycznie i praktycznie są zapewne frakcje próchnicy „biologicznie aktywne“. Wydaje się, że aktywność tych frakcji może wynikać z obecności w nich metabolitów drobnoustrojów.

LITERATURA

1. Badura L. — *Acta Agrobotanica*, t. XVI, s. 67, 1964.
2. Bekker E. E. — *Fizjologija gribow*. Izd. Mosk. Uniw., s. 230, 1963.
3. Bremner J. M. — *J. Agric. Sci.*, 48, s. 352, 1957.
4. Bremner J. M. i Führ F. — *Techn. Met. on the Use of Isot.* Brunswick, 1963.
5. Broadbent F. E. — *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 18, s. 165, 1954.
6. Broecker W. S., Kulp J. L., Turck C. S. — *Science*, 124, s. 154, 1956.
7. Burges N. A., Hurst H. M. i Walkden B. — *Geochimica et Cosmochimica Acta*, t. 28, s. 1547, 1964.
8. Dagley S. — *J. of the Royal Institute of Chem. Nov.*, s. 393, 1961.
9. Doeksen J. i Van der Drift J. — *Soil organisms*. Amsterdam, s. 49, 76, 1963.
10. Drozdowa T. W. — *Biochimija*, 22, s. 487, 1957.
11. Dunger W. — *Soil organisms*. Amsterdam, s. 92, 1963.
12. Enders C. — *Chemie*, 56, s. 281, 1943.
13. Fischer G. — *Arch. Microbiol.*, 18, s. 397, 1953.
14. Flaig W., Schobinger U., Deuel H. — *Chem. Ber.* t. 8, s. 1973, 1959.
15. Flaig W. — *Techn. Met. on the Use of Isot.* Brunswick, 1963.
16. Franz H. i Leitenberger L. — *Osterr. Zool. Z.* 1(5), s. 498, 1946.
17. Fuller W., Norman A. — *J. Bacteriol* 46, s. 273, 1943.
18. Haider K., Frederick R., Flaig W. — *Plant a. Soil*, t. XXII, Nr 1, s. 49, 1965.
19. Horner L. i Sturm K. — *Liebigs Ann. Chem.*, 608, s. 128, 1957.
20. Hurst H. M., Burges A. i Latter P. — *Phytochemistry*, t. 1, s. 227, 1962.
21. Hurst H. M. — *Enzyme Chemistry of phen. comp.* Pergamon Press, s. 121, 1963.
22. Jacquin F., Mangenot F. — *Plant a. Soil*, IX, 4, s. 377, 1959.
23. Jacquin F., Mangenot F. — *Plant a. Soil*, XII, 3, s. 276, 1960.
24. Jansson Sven L. — „*Forskn og. forsk landbr*“, 14, Nr 3, s. 531, 1963.
25. Kobus J. i Myśków W. — *Powstawanie próchnicy z grzybni Aspergillus niger*, znakowanej C¹⁴ (materiały nie opublikowane).
26. Kononowa M. M. i Aleksandrowa I. W. — *Mikrobiologija*, t. 18, s. 42, 1949.
27. Kononowa M. M. — *Problema poczw. gumusa*. Izd. AN SSSR. Moskwa, 1951.
28. Kononowa M. M. — *Organ. wieszcz. poczw.* Izd. AN SSSR, s. 142, 1963.
29. Kurczewa G. F. — *Poczwowiedzenie*, Nr 4, s. 16, 1960.
30. Küster E. — *Zeitschr. f. Pflern. Düng. Bodenkunde*, 57, s. 51, 1952.
31. Lindeberg G. — *Zeitschr. f. Pflern. Düng. Bodenkunde*, 69, s. 142, 1955.
32. Łoginow W. — *Pam. Puł. Prace IUNG*, 2, s. 131, 1961.
33. Manil G. i Delecour F. — *Ann. Inst. Pasteur. supplement* Nr 3, s. 197, 1964.
34. Marszewska — Ziemięcka J. — *Mikrobiologia gleby i nawozów*. PWRiL, s. 138, 1958.
35. Mason H. — *Nature*, t. 175, N 4461, s. 771, 1955.
36. Mayaudon J., Simonart P. — *Plant a. Soil* IV, 11, s. 176, V. 11, s. 181, 1959.
37. Mayaudon J., Simonart P. — *Ann. de l'Institut Pasteur*, 105, s. 257, 1963.
38. Miszustin E. N., Dragunow S. S., Puszkinskaja O. I. — *Izw. ANSSR, ser. biol.*, 6, s. 83, 1956.
39. Morrison R. I. — *J. Soil Sci.* 1, s. 30, 1958.
40. Morton A. — *Nature*, 168, s. 333, 1951.
41. Myśków W. — *Pam. Puł. Prace IUNG*, zesz. 4, s. 25, 1961.
42. Myśków W. — *Pam. Puł. Prace IUNG*, zesz. 11, s. 177—224, 1963.
43. Nowogrudskij D. M. — *Poczw. gumus*. AN Kazach. SSR, Alma-Ata, 1959.
44. Plotho O. — *Zeitschr. f. Pflern. Düng. Bodenkunde*, 55, s. 151, 1951.
45. Prevot A. R., Saissac R. — *Ann. de l'Institut Pasteur*, 73, s. 1125, 1947.
46. Rippel A. — *Grundriss der Mikrobiologie*, Berlin, s. 303, 1955.

47. Rudakow K. J. — Mikrobiologija, 18, s. 481, 1949.
48. Ruschmann G. — Zeitschr. f. Acker u. Pflanzenbau, t. 96, zesz. 2, s. 14, 1953.
49. Russel E. J. — Warunki glebowe a wzrost roślin (tłum. polsk.) PWRiL, s. 192, 1958.
50. Scheffer F. i Ulrich B. — Humus u. Humusdüngung. Ferdinandenke Verlag Stuttgart, s. 28, 101, 173, 1960.
51. Simonart P., Mayaudon J. — Plant a. Soil, I. 9, s. 367, II. 9, s. 381, 1958.
52. Simonart P. — Ann. Inst. Pasteur, supplement Nr 3, s. 7, 1964.
53. Simonson R. W. — Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 23, s. 152, 1959.
54. Sorensen H. — J. Gen. Microbiology, 27, s. 21, 1962.
55. Stanier R. — J. Bacteriol., 53, s. 297, 1947.
56. Stevenson F. J. i Swaby R. J. — Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 28, s. 773, 1964.
57. Swaby R. J. i Ladd J. N. — Transact. Intern. Soc. Soil Sci. Comm. IV i V. New Zealand, 1962.
58. Terlikowski F. — Nawozy organiczne III. PWRiL, s. 255, 1956.
59. Tischler W. — Synökologie der Landtiere. Stuttgart, 1955.
60. Tiurin I. W. — Dokł. AN SSSR, t. 51, Nr 4, 1946.
61. Tiurin I. W., Kononowa M. M. — Poczwowiedienije, 3, s. 1, 1963.
62. Treccani Y. — Transact IV. Intern. Congress of Soil Science, Vol. I, s. 186, 1950.
63. Turczin F. B., Bersenjewa S. N., Korickaja I. A. — Transact 7th Intern. Congr. Soc. Soil Sci. Madison, t. II, s. 236, 1960.
64. Whitehead D., Brunet P., Kent P. — Nature, t. 185, N 4713, s. 610, 1960.
65. Wieringa K. T. — Plant a. Soil, XXI, no 3, s. 333, 1964.
66. Williams W. — Moskwa, Sielchozgiz., 1939.
67. Winogradsky M. S. — Ann. de l'Institut Pasteur, 43, s. 549, 1929.
68. Zeller A., Oberländer H. E., Roth K., Stadler I. — Techn. Met. no the Use of Isotopes. Brünswick, 1963.
69. Ziemięcka J. i Myśkow W. — Rozkład błonnika i powstawanie z niego humusu (materiały nie opublikowane).
70. Żołąciński J. — Roczn. Nauk Roln. i Leśn. 16, s. 42, 1926.