

BADANIA NAD WPŁYWEM NIEZNANYCH ZWIĄZKÓW ORGANICZNYCH NA URODZAJNOŚĆ TORFOWISK MELIOROWANYCH CZ. II

KAZIMIERZ BASSALIK, LUDOMIŁA JANOTA-BASSALIK, JANINA
NIEWIAROWSKA, CECYLIA OLCZYK

Zakład Fizjologii Roślin UW

Praca niniejsza jest kontynuacją badań rozpoczętych w 1955 r. przez zespół pracowników naukowych Zakładu Fizjologii Roślin U.W. pod kierunkiem prof. K. Bassalika.

W roku 1955 przeprowadzono badania mikroflory torfu strukturalnego i rozpylonego z PGR Rząśnik nad Narwią. Oznaczono ogólną ilość mikroorganizmów w próbkach pobranych z różnych głębokości torfów, uwzględniono procent występowania bakterii, promieniowców i grzybów oraz przebadano szereg ważnych procesów takich jak rozkład błonnika, rozkład skrobi, amonifikację, wiązanie wolnego azotu, nitryfikację, denitryfikację, utlenianie siarczków i utlenianie siarki, oraz redukcję siarczanów.

W 1956 r. starano się określić wpływ różnych pożywek (pożywki z glukozą, peptonem i solami, żywki z glukozą i wyciągiem z torfu gotowanym oraz żywki z glukozą i wyciągiem z torfu niegotowanym) na rozwój mikroflory torfu. Do badania otrzymano torf rozpylony z Biebrzy w końcu września oraz w końcu października 1956 r. z różnych poziomów, jednakże do oznaczeń użyto jedynie próbkę pobraną z poziomu 0—10 cm. Ponadto opracowano metodę sterylizacji wyciągu torfowego za pomocą tlenu etylenu.

W roku 1957 postanowiono uzupełnić przede wszystkim badania z 1956 r., a więc przeprowadzić oznaczenia ilości mikroorganizmów na różnych pożywkach późną wiosną, w lecie i jesienią oraz uwzględnić jednocześnie próbki pobrane z trzech głębokości torfu strukturalnego i torfu rozpylonego.

Do badania otrzymano torf strukturalny i rozpylony z Biebrzy, pobrany dnia 8 czerwca, 9 sierpnia i 17 października 1957 r. z następujących poziomów:

poziom M_1 — głębokość 8—12 cm
 „ M_2 — „ 12—20 „
 „ M_3 — „ 30—40 „

We wszystkich otrzymanych próbkach oznaczono procentową zawartość suchej masy.

Wyniki przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1

Zawartość suchej masy w torfie strukturalnym i rozpylonym w okresie wiosennym, letnim i jesiennym 1957 r.

Torf poziom	Sucha masa w procentach			Średnia sucha masa w trzech różnych okresach
	8. VI	9. VIII	17. X	
Torf strukturalny				
M_1	24,2	26,6	20,6	23,8
M_2	22,2	24,0	19,7	22,0
M_3	13,7	13,9	13,6	13,7
Średnia sucha masa dla torfu strukturalnego z trzech okresów badań i z trzech poziomów				19,8
Torf rozpylony				
M_1	23,0	31,7	17,1	23,9
M_2	18,4	17,4	15,1	17,0
M_3	13,3	12,9	12,1	12,8
Średnia sucha masa dla torfu rozpylonego z trzech okresów badań i z trzech poziomów				17,9

Z danych zawartych w tabeli 1 wynika, że zawartość suchej masy we wszystkich trzech poziomach torfu strukturalnego jest największa w sierpniu, zaś najmniejsza w październiku. Poziom pierwszy w stosunku do poziomu drugiego i trzeciego zawiera najmniejszą ilość wody, natomiast poziom trzeci o najmniejszej procentowej suchej masie zawiera najwięcej wody.

Analogiczne stosunki między suchą masą a zawartością wody dają się prześledzić w torfie rozpylonym jednak z tą różnicą, że największa procentowa zawartość suchej masy jest w czerwcu (z wyjątkiem poziomu pierwszego w sierpniu). Ogólnie zawartość suchej masy w torfie strukturalnym jest większa, na co wskazuje średnia sucha masa z trzech różnych okresów i z wszystkich trzech poziomów, niż zawartość suchej masy w torfie rozpylonym.

Do doświadczeń użyto następujące pożywki:

- 1) pożywka agarowa z wyciągiem z torfu sterylizowanym 1% tlenku etylenu,
- 2) pożywka agarowa z wyciągiem z torfu sterylizowanym w aparacie Kocha,
- 3) pożywka agarowa z wyciągiem z torfu sterylizowanym za pomocą sączenia przez świecę.

Wyciągi przygotowano oddzielnie z każdego poziomu torfu strukturalnego i rozpylonego. Każdy wyciąg torfowy otrzymano analogicznie do wyciągu nie gotowanego stosowanego w 1956 r., przesączono przez bibułę filtracyjną i podzielono na trzy równe objętości. Do pierwszej części wyciągu dodano 2% glukozy i nastawiono pH do około 7. Wyciąg wysterylizowano 1% tlenku etylenu. Jałowy i pozbawiony tlenku etylenu wyciąg podgrzano do temperatury 45° C i dodano do tej samej objętości rozpuszczonego i uprzednio wysterylizowanego agaru o podwójnym stężeniu w tej samej temperaturze. W rezultacie otrzymano pożywkę zawierającą wyciąg z torfu (nie ogrzewany powyżej 45—50° C), 1% glukozy i 1,2% agaru. Pożywkę tę przed zastygnięciem rozlewano na szalki i szczepiono.

Drugą część wyciągu od razu rozcieńczano dwukrotnie rozpuszczonym i przesączonym agarem. Po dodaniu 1% glukozy i zobojętnieniu pożywkę wysterylizowano trzykrotnie w aparacie Kocha. Ostatnią część wyciągu wysterylizowano za pomocą świecy Berkefelda „N”. Jałowy i zobojętniony wyciąg podgrzano do temperatury 45° C i dodano do tej samej objętości rozpuszczonego i uprzednio wysterylizowanego agaru o podwójnym stężeniu w tej samej temperaturze. Ponieważ agar zawierał 2% glukozy otrzymano w rezultacie pożywkę z wyciągiem torfowym sączonym przez świecę (nie ogrzewanym powyżej 45—50° C) z 1% glukozy i 1,2% agaru. Pożywkę tak jak pożywkę pierwszą przed zastygnięciem rozlewano na szalki i szczepiono.

Wyżej opisane pożywki zastosowano do doświadczeń przeprowadzonych w czerwcu w wyniku których stwierdzono, iż na pożywce z wyciągiem sączonym przez świecę wyrosła stosunkowo bardzo mała ilość mikroorganizmów. Fakt ten można było interpretować albo odsączeniem przez świecę substancji stymulujących wzrost, względnie odsączeniem substancji będących dla mikroorganizmów źródłem azotu. Dla uniknięcia błędnych interpretacji do pożywek stosowanych w sierpniu i październiku dodawano razem z glukozą następujące sole: 0,12% NH_4NO_3 ; 0,1% K_2HPO_4 ; 0,05% $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$.

Jak widać z zestawienia wyników przedstawionego w tabeli 3 po okresowym wzroście ilości mikroorganizmów w sierpniu, mimo uzupełnienia pożywek solami, nastąpił spadek ilości mikroorganizmów w październiku,

przy czym najsilniej zaznaczył się on na pożywce z wyciągiem sączonym przez świecę.

Ponadto w celu określenia ilości azotu zatrzymywanego przez świecę Berkefelda podczas sączenia oznaczono azot metodą Kjeldahla w wyciągu torfowym przed sączeniem i w wyciągu przesączonym. Orientacyjną analizę wykonano w sierpniu na wyciągu otrzymanym z poziomu M₂ torfu rozpylonego. Stwierdzono, iż

Tabela 2
Zawartość azotu wg Kjeldahla w wyciągu torfowym w mg na 100 ml wyciągu

Torf poziom	Październik 1957 r.	
	Wyciąg torfowy nie sączony	Wyciąg torfowy sączony przez świecę
Strukturalny		
M ₁	0,76	0,34
M ₂	1,78	0,34
Rozpylony		
M ₁	1,38	0,34
M ₂	0,83	0,47

wyciąg torfowy jest ubogi w azot (1,35 mg azotu/100 ml wyciągu niesączonego). Świeca Berkefelda zatrzymuje część substancji azotowych (0,81 mg azotu/100 ml wyciągu sączonego), jednakże nie w takiej ilości, która by mogła wpłynąć na wynik doświadczenia przeprowadzonego w czerwcu.

Wyniki oznaczeń zawartości azotu wykonanych w październiku podane są w tabeli 2.

Okazało się, że wyciąg z torfu pobranego z poziomu M₂ torfu rozpylonego zawierał mniej azotu w październiku niż w sierpniu, przy czym ilość zatrzymanego azotu przez świecę była bardzo zbliżona (40 i 43,4%).

Zmiany sezonowe ilości mikroorganizmów
Badania przeprowadzono

Poziom	Pożywka z wyciągiem torfowym sterylizowana w aparacie Kocha			średnia z poz. i 3 sez.	Pożywka z wy
	czerwiec	sierpień	październik		czerwiec
Torf strukturalny					
M ₁	55 000 000	157 000 000	135 000 000	54 000 000	110 000 000
M ₂	13 000 000	77 000 000	3 100 000		25 000 000
M ₃	21 000 000	22 000 000	2 700 000		44 000 000
Średnia z 3 poziomów	29 700 000	85 300 000	47 000 000		59 700 000
Torf rozpylony					
M ₁	43 000 000	44 000 000	11 000 000	23 700 000	28 000 000
M ₂	12 000 000	15 000 000	3 900 000		10 000 000
M ₃	44 000 000	39 000 000	1 300 000		55 000 000
Średnia z 3 poziomów	33 000 000	32 700 000	5 400 000		31 000 000

W torfie strukturalnym więcej azotu zawierał poziom M₂, w torfie rozpylonym poziom M₁. Ilości azotu odsączonego przez świecę z wyciągów otrzymanych z różnych poziomów są różne, co jest zrozumiałe, gdyż zależą one od stosunku w jakim występują w wyciągach substancje azotowe o większych i mniejszych cząsteczkach.

Wstępne badania dotyczące substancji znajdujących się w wyciągach torfowych stymulujących względnie hamujących rozwój mikroflory torfu.

Doświadczenia mające na celu stwierdzenie występowania w wyciągach substancji stymulujących, względnie hamujących przeprowadzono w czerwcu, sierpniu i październiku. Z próbek torfu strukturalnego i rozpylonego pobranych z poziomów M₁, M₂ i M₃ przygotowano rozcieńczenia jak w roku ubiegłym. Rozcieńczeniami tymi zaszczepiono pożywkę z wyciągiem torfowym sterylizowanym w aparacie Kocha, pożywkę z wyciągiem z torfu sterylizowanym tlenkiem etylenu, oraz pożywkę z wyciągiem z torfu sączonym przez świecę Berkefelda. Po zaszczepieniu szalki wstawiono do termostatu o temperaturze 28° C. Wyrośnięte na szalkach kolonie przeliczono, wyniki przedstawiono w odniesieniu do 1 g s. m. torfu (tabela 3).

Z danych przedstawionych w tabeli 3 wynika, że najlepszą ze stosowanych pożywką dla rozwoju mikroorganizmów torfu jest podłoże zawierające wyciąg torfowy sterylizowany tlenkiem etylenu. Na pożywce z wyciągiem torfowym sterylizowanym w aparacie Kocha wyrosła mniej-

w przeliczeniu na 1 g s. m. torfu
w miesiącach: VI, VIII i X 1957 r.

Tabela 3

ciągiem torfowym sterylizowana 1% tlenku etyl.		Średnia z poz. i 3 sez.	Pożywka z wyciągiem torfowym sączona przez świecę			Średnia z 3 poziomów i 3 sezonów
sierpień	październik		czerwiec	sierpień	październik	
132 000 000	124 000 000	60 900 000	3 900 000	133 000 000	1 300 000	24 200 000
79 000 000	18 400 000		7 300 000	48 000 000	500 000	
3 000 000	12 900 000		3 800 000	18 000 000	2 500 000	
71 300 000	51 700 000		5 000 000	66 300 000	1 400 000	
42 000 000	35 000 000	29 570 000	80 000	32 000 000	3 300 000	9 618 000
16 000 000	13 800 000		1 860 000	4 700 000	2 540 000	
56 000 000	10 500 000		22 000	39 000 000	3 200 000	
38 000 000	19 700 000		654 000	25 200 000	3 000 000	

sza ilość mikroorganizmów, znacznie mniejsza na pożywce z wyciągiem torfowym sączonym przez świecę. Wynik powyższy potwierdza dane otrzymane w 1956 r., z których wnioskowano, iż wyciąg torfowy zawiera substancje stymulujące rozwój mikroorganizmów. Substancje te muszą ulegać jednakże przynajmniej częściowemu zniszczeniu podczas sterylizacji w aparacie Kocha. Zastosowanie sączenia przez świecę Berkefelda jako metody sterylizacji wyciągu pozwala na wyprowadzenie również pewnych wniosków odnośnie substancji hamujących rozwój mikroflory zawartych w wyciągach. Słaby wzrost mikroorganizmów na pożywce z wyciągiem torfowym sączonym nie da się wytłumaczyć wyłącznie tym, że substancje stymulujące są zatrzymywane przez świecę.

Wobec powyższego zakładamy (hipoteza robocza), iż znajdujące się w wyciągach substancje hamujące wzrost mikroorganizmów mają mniejsze wymiary cząsteczek niż substancje stymulujące i przechodzą przez stosowaną w niniejszym doświadczeniu świecę.

Ponieważ nie przeprowadzono doświadczeń w których dodawanoby do pożywki wyciąg sączony przez świecę, a następnie sterylizowany w aparacie Kocha, nie posiadamy bliższych danych na podstawie których można by określić odporność substancji hamujących na temperaturę. Zaobserwowane ginięcie wyizolowanych szczepów na skosach agarowych z wyciągiem sterylizowanym w aparacie Kocha, mogłoby w pewnej mierze sugerować, iż substancje hamujące wzrost mikroorganizmów są mniej wrażliwe na temperaturę niż substancje stymulujące. Rozwiązanie tego zagadnienia wymaga jednak dalszych, dokładniejszych badań. Porównanie zmian sezonowych ilości mikroorganizmów wykazało, że w bogatym w opady 1957 r. najlepsze warunki rozwoju dla mikroflory torfu były w miesiącu sierpniu. Dotyczyło to wszystkich poziomów torfu strukturalnego jak i rozpylonego. Wynik powyższy staje się zrozumiały, gdy weźmie się pod uwagę różnice pomiędzy torfem a glebą mineralną. Duża zawartość wody jest przyczyną wolniejszego nagrzewania się torfu, co opóźnia rozwój mikroorganizmów tak, że ilość ich dochodzi do optymalnej wówczas, gdy ilość mikroorganizmów w glebie mineralnej uległa już zmniejszeniu na skutek przesuszenia.

Z porównania ilości mikroflory znajdującej się w obu badanych torfach i mającej możliwość rozwoju na stosowanych przez nas pożywkach wynika, iż we wszystkich poziomach torfu rozpylonego jest mniej mikroorganizmów niż w analogicznych poziomach torfu strukturalnego. Różnicy tej nie da się wytłumaczyć ani niedostatkami wody w torfie rozpylonym, ani mniejszą zawartością potasu czy sodu jak wynika z analiz wykonanych przez mgra Józefa Ducha w Instytucie Melioracji i Użytków Zielonych. Mniejszej ilości mikroorganizmów w torfie rozpylonym nie tłumaczą jasno także doświadczenia przez nas wykonane. Przyjmując

jednakże hipotezę, że w wyciągu sterylizowanym w aparacie Kocha równowaga pomiędzy substancjami stymulującymi i hamującymi przesunęła się na korzyść tych ostatnich, z tabeli 3 wynika, że przesunięcie to jest wyraźniejsze w torfie rozpylonym. (Średnia ilość mikroorganizmów ze wszystkich oznaczeń w torfie rozpylonym na pożywce z wyciągiem sterylizowanym w aparacie Kocha stanowi 80% średniej ilości mikroorganizmów ze wszystkich oznaczeń w torfie rozpylonym na pożywce z wyciągiem sterylizowanym tlenkiem etylenu. W torfie strukturalnym analogicznie obliczony spadek ilości mikroorganizmów na pożywce z wyciągiem sterylizowanym w aparacie Kocha dochodzi tylko do 88%). Można by więc dalej wyprowadzić wniosek, że w torfie rozpylonym ogólnie stosunek substancji hamujących do stymulujących jest bardziej przesunięty na korzyść substancji hamujących niż w torfie strukturalnym.

Z tabeli 3 wynika ponadto, że w torfie strukturalnym ilość mikroorganizmów jest największa w poziomie M_1 , maleje kolejno w poziomie M_2 i M_3 . W torfie rozpylonym brak jest takiej prawidłowości w rozmieszczeniu mikroorganizmów w różnych poziomach.