

WPŁYW CZYNNYCH SUBSTANCJI WYCIĄGÓW TORFOWYCH NA ROZWÓJ MIKROFLORY TORFU STRUKTURALNEGO I ROZPYLONEGO. CZ. II

KAZIMIERZ BASSALIK,

LUDMIŁA JANOTA-BASSALIK, CECYLIA OLCZYK
HALINA HALWEG

Katedra Fizjologii Roślin U. W.

Grupa pracowników Katedry Fizjologii Roślin U. W. przeprowadziła w 1955 r. wstępne badania nad ogólną ilością oraz składem jakościowym mikroflory torfu strukturalnego i rozpylonego z PGR Rząśnik nad Narwią. Dzięki tym badaniom określono również działalność mikroorganizmów torfowych na podstawie intensywności szeregu ważnych procesów: rozkładu celulozy, nitryfikacji, denitryfikacji, rozkładu skrobi, wiązania wolnego azotu, utleniania siarki i siarczków oraz redukcji siarczanów (2).

Podjęte przez nas badania w 1956 r. (3) nad wpływem nieznanymi, czynnych substancji torfowych na rozwój mikroflory torfu mają nie tylko aspekt teoretyczny ale i gospodarczy. Znaczenie gospodarcze tych badań związane jest z postępującym procesem degradacji torfów meliorowanych.

Czteroletnie doświadczenia prowadzono nad próbami torfu rozpylonego i strukturalnego, pochodzącego z Biebrzy. Próbkę te pobierano zawsze z tych samych miejsc i głębokości: 2 — 10 cm. Wyjątkowo w 1957 r. badania obejmowały wyciągi torfowe z trzech poziomów torfu rozpylonego i strukturalnego (5). Określono wpływ różnych pożywek (z podstawowymi solami i glukozą) z wyciągiem z torfu gotowanego i niegotowanego, sterylizowanego tlenkiem etylenu i przez sączenie na rozwój mikroflory torfu. Opracowano metodę sterylizacji na zimno, tlenkiem etylenu. Ponadto przeprowadzono badania nad zmianami sezonowymi ilości mikroorganizmów w obu torfach. W wyniku tych doświadczeń stwierdzono, że wyciąg torfowy stymuluje wzrost mikroflory torfowej, lecz bardziej czynny okazał się wyciąg niegotowany. Najsłabsze działanie wykazał wyciąg torfowy sączony przez świecę Berkefelda „N”. Następnie w celu uzyskania wyciągów torfowych bogatszych w substancje czynne, zmieniono metodę ich otrzymywania. Wyeliminowano podsiąkanie wodą i zastosowano do

wyciskania prasę ręczną. Wyciągi określono pod względem zawartości: azotu, suchej masy organicznej oraz popiołu. W dalszym ciągu pracy zbadano wpływ temperatury i sączenia na substancje stymulujące i hamujące, obecne w wyciągach torfowych oraz obserwowano wpływ przechowywania próbek torfowych w pracowni w temperaturze 22 i 7°C na ilość mikroorganizmów w obu badanych torfach i na ich stosunek do czynnych substancji wyciągów torfowych.

Wyizolowano ponad 100 szczepów z obu torfów i zbadano wpływ czynnych substancji na wzrost 44 szczepów. Zaobserwowano, że największa ilość tych szczepów reagowała dodatnio na wyciąg niegotowany i niesączony, mniejsza na wyciąg gotowany, najmniejsza natomiast reagowała na wyciąg sączony, 14% szczepów w ogóle nie reagowało na wyciąg, zaś 4,6 % szczepów reagowało ujemnie na badane wyciągi, niezależnie od sposobu ich sterylizacji.

Posiadając dane odnośnie stymulującego działania na wzrost mikroflory torfowej wyciągów torfowych, wyjaławianych przez ogrzewanie, tlenkiem etylenu i sączeniem, w następnym odcinku pracy postanowiono stwierdzić, które frakcje wyciągów wykazują największą czynność. Znalezienie tych frakcji stanowi podstawę do badań analitycznych prowadzących do zidentyfikowania czynników wzrostowych występujących w torfach. Ponadto w 1959 r. badaniami objęto mikroorganizmy torfowe o charakterze psychrofilnym. Występowanie tej interesującej grupy fizjologicznej w torfach sugerowały dane otrzymane w 1958 r. (rozmnażanie się mikroflory w próbkach torfu przechowywanych w temp. 7°C przez okres 1 tygodnia). Ze względu na selektywność pożywek, zawierających 1% glukozy, wprowadzono dodatkowe kombinacje z wyciągiem torfowym, względnie z suchą masą wyciągu, bez glukozy lub z ilością glukozy zmniejszoną dziesięciokrotnie.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

I

Próbki torfu do badań pobierano w Biebrzy z tych samych miejsc i głębokości jak w 1958 r. Były to więc próbki torfu strukturalnego i rozpylonego z warstwy powierzchniowej 2—10 cm. W sezonie wiosennym wyciągi torfowe oraz frakcje tych wyciągów przygotowywano z torfu pobranego 27. IV. 1959 r., w sezonie jesiennym z torfu pobranego 11. IX. 1959 r. Próbki do szczepień pobrano 15. V. i 6. XI. Czas między pobraniem próbek do szczepienia, a szczepieniem wynosił tylko kilka godzin. Długi okres między pierwszym i drugim pobraniem próbek w obu sezonach poświęcony był na otrzymywanie frakcji wyciągów torfowych i sprawdzenie jałowości tych frakcji. Tak samo jak

w latach ubiegłych, w torfie pobieranym do szczepień oznaczono zawartość suchej masy (tab. 1). Ze względu na wyjątkową suszę w 1959 r. zawartość ta okazała się ogólnie wyższą o kilka procent od zawartości w 1958 r. W listopadzie w 1959 r. w przypadku torfu rozpylonego,

Tabela 1

Zawartość suchej masy w torfie strukturalnym i rozpylonym w maju i listopadzie 1959 r.

Torf poziom	Sucha masa w procentach	
	pobranym 15. V. odznaczony 16. V.	pobranym 6. XI. odznaczony 7. XI.
Strukturalny		
2—10 cm	28,36	24,90
Rozpylony		
2—10 cm	30,77	34,36

różnica w stosunku do analogicznego oznaczenia z roku poprzedniego, przewyższała 10⁰%. Wymieniony w omawianej tabeli 1 torf rozpylony, w maju i w listopadzie posiadał mniej wody niż torf strukturalny. W jesieni, gdy w torfie strukturalnym, prawdopodobnie na skutek pewnej, stosunkowo niewielkiej ilości opadów zawartość wody zwiększyła się, w torfie rozpylonym sucha masa była jeszcze większa niż w maju. Wynik ten potwierdza wnioski wysunięte na podstawie poprzednich oznaczeń zgodnie z którymi w roku specjalnie suchym może nastąpić znaczny ubytek wody w torfie rozpylonym.

Wyciągi torfowe otrzymywano jak w 1958 r. tj. bez podsiąkania torfu wodą. Na wiosnę ze 100 g torfu strukturalnego otrzymywano średnio 34 ml. wyciągu o pH 7,15, ze 100 g torfu rozpylonego otrzymywano średnio 30,5 ml. wyciągu o pH 7,0. Wyciągi z obu badanych torfów nie różniły się barwą, która odpowiadała wypadkowej ze zmieszania w jednakowym stosunku ugru jasnego i sieni palonej. Na jesieni ilość otrzymanego wyciągu z torfu strukturalnego była taka jak na wiosnę, pH tego wyciągu pozostało również bez zmiany. Ze 100 g torfu rozpylonego wskutek znacznego przesuszenia otrzymywano w listopadzie tylko 21 ml. wyciągu, pH wzrosło do 7,7.

Zawartość azotu oznaczonego metodą Kjeldahla, suchej masy doprowadzonej do stałej wagi w temp. 105° C, oraz popiołu w 100 ml. wyciągu, przedstawiono w tabeli 2. Oznaczenia wrześniowe uzupełniono podaniem zawartości suchej masy doprowadzonej do stałej wagi w temperaturze 40° C.

Zawartość azotu w wyciągach torfowych otrzymanych w kwietniu 1959 r. była bardzo zbliżona do zawartości azotu w analogicznych wyciągach otrzymanych w lipcu 1958 r. We wrześniu 1959 r. ilość azotu

w obu badanych wyciągach znacznie się zmniejszyła, jednak wyciąg z torfu strukturalnego był w dalszym ciągu bogatszy w azot. Ten sam wyciąg zawierał także większą ilość suchej masy. Oba torfy miały większą suchą masę w wyciągach jesiennych niż wiosennych. Wyciąg

Tabela 2

Zawartość azotu, suchej masy i popiołu w wyciągu torfowym w mg/100 ml

Torf poziom	Kwiecień 1959 r.				Wrzesień 1959 r.				
	Azot	Sucha masa	Popiół	Sucha m. org.	Azot	Sucha masa	Popiół	Sucha m. org.	Sucha masa temp. 40°C
Strukturalny									
2—10 cm	3,5	75,9	21,3	54,6	2,7	104,0	34,4	69,6	111,5
Rozpylony 2—10 cm	3,3	74,0	22,9	51,1	2,1	92,3	26,8	65,5	93,7

z torfu rozpylonego zawierał na wiosnę nieco więcej popiołu, ale na jesieni stosunek ten zmienił się znacznie na korzyść wyciągu z torfu strukturalnego. Z porównania ilości suchej masy wyciągów doprowadzonej do stałej wagi w temp. 40°C i 105°C wynika, że stosunkowo nieznaczna ilość wody pozostaje w masie wyciągu suszonej w niższej temperaturze.

W badaniach wiosennych zastosowano wyciąg, suchą masę wyciągu, popiół wyciągu i destylat wyciągu. Całość wyciągu otrzymanego z jednego torfu po zdekantowaniu doprowadzono do pH 7,0, część wyjałowiono trzykrotnie w aparacie Kocha, od części oddestylowano pod normalnym ciśnieniem w temperaturze $\approx 100^\circ\text{C}$ wodę z substancjami lotnymi z parą wodną. Zagęszczoną pozostałość po destylacji wysuszono w temp. 105°C do stałej wagi. Część suchej masy spalono do popiołu. Popiół i suchą masę po dokładnym roztarciu zawieszono w wodzie redestylowanej i wyjałowiono w aparacie Kocha. W ten sam sposób wyjałowiono destylat.

Jałowe wyciągi oraz wymienione powyżej frakcje wyciągów w ilościach równoważnych łączono z równą objętością podwójnie stężonej pożywki agarowej.

W badaniach jesiennych zastosowano wyciąg nieogrzewany, sterylizowany tlenkiem etylenu. Przygotowano zawiesinę wodną suchej masy wyciągu doprowadzonej do stałej wagi w temp. 40°C, którą wyjałowiono tlenkiem etylenu. Destylat otrzymano pod ciśnieniem 14—15 mm Hg przy temperaturze wrzenia 21—24°C. Część destylatu wyjałowiono tlenkiem etylenu, część zaś podobnie jak i zawiesinę popiołu wyjałowiono trzykrotnie w aparacie Kocha. Przed podziałem wyciągu na frakcje pH wyciągu doprowadzono do 7,0. Łączenie nieogrzewanego wyciągu, oraz nieogrzewanych frakcji wyciągu z pożywką agaro-

wą przeprowadzano przed rozlewaniem na szalki, w temperaturze nie przekraczającej 50°C. Tak jak na wiosnę, frakcje wyciągów łączono z agarem w ilościach odpowiadających wyciągom macierzystym. Na przykład zamiast 100 ml. wyciągu dodawano 100 ml. zawiesiny popiołu w wodzie redestylowanej, przy czym popiół był otrzymywany ze 100 ml. wyciągu.

W doświadczeniach wiosennych i jesiennych zarówno pożywka kontrolna jak i pożywki z wyciągami, względnie z frakcjami wyciągów, miały następujący skład:

1,5 ‰ agaru,

1,0 ‰ glukozy względnie 0,1 ‰ glukozy lub bez glukozy,

0,12 ‰ $\text{NH}_4 \text{NO}_3$,

0,1 ‰ K_2HPO_4 ,

0,05 ‰ $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$,

woda redestylowana pH 7,0.

Na 1 litr wyżej wymienionej pożywki dodawano 1 ml. roztworu A-Z Hoaglanda w modyfikacji prof. K. Bassalika.

Do izolacji oraz pasażowania szczepów mikroorganizmów torfowych zastosowano pożywkę:

1,5 ‰ agaru,

1,0 ‰ glukozy,

0,5 ‰ peptonu,

0,1 ‰ K_2HPO_4 ,

0,05 ‰ $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$.

woda wodociągowa pH 7,0

Pożywkę z wyciągiem z torfu strukturalnego szczepiono torfem strukturalnym, pożywkę z wyciągiem z torfu rozpylonego szczepiono torfem rozpylonym. Każdą kombinację szczepiono w trzech powtórzeniach i trzech rozcieńczeniach.

II

Określenie wpływu różnych frakcji wyciągów torfowych na rozwój mikroflory torfów

Do badań przeprowadzonych w sezonie wiosennym i jesiennym zastosowano różne frakcje wyciągów torfowych, których sposób otrzymywania opisano w części I-ej metodycznej. Ponieważ w sezonie wiosennym stosowano frakcje wyjaławiane wysoką temperaturą, a w sezonie jesiennym frakcje otrzymywane na zimno i wyjaławiane tlenkiem etylenu (za wyjątkiem jednej części destylatu oraz popiołu), nie możemy całości wyników uzyskanych w obu sezonach porównywać w sposób bezwzględny. Zmiany sezonowe w ogólnej ilości mikroorganizmów uwidocznione są na pożywkach kontrolnych. W tabeli

3 przedstawiono ilości mikroorganizmów w milionach w przeliczeniu na 1 g suchej masy torfu. Kolonie liczono na pożywce kontrolnej — A, pożywce z wyciągiem—B i pożywce z suchą masą wyciągu—C. Dane dotyczą obu badanych torfów i obu sezonów, natomiast jednej temperatury hodowli, a mianowicie $25^{\circ} \pm 1^{\circ}$. Kolonie liczono po 2, 4, 7, 10 i 14 dniach inkubacji za wyjątkiem jednego przypadku (torf strukturalny — maj), gdy na skutek przerośnięcia szalek liczenie zakończono po 10 dniach.

Tabela 3

Wpływ czynnych substancji wyciągów torfowych na rozwój mikroflory torfu. Ilość mikroorganizmów w milionach w przeliczeniu na 1 g s. m. torfu (hodowla prowadzona w temp. $\approx 25^{\circ} \text{C}$)

Torf poziom	Czas inkubacji w dniach	Maj — wyciąg i s. m. wyjał. temp.			Listopad — wyciąg i s. m. wyjał. tlenk. etylenu		
		Kontrola A	Wyciąg B	S. m. wyciągu C	Kontrola A	Wyciąg B	S. m. wyciągu C
Strukturalny 2—10 cm	2	32	118	45	2	34	23
	4	56	198	119	19	78	36
	7	105	550	218	25	174	53
	10	141	550	223	28	200	54
	14				32	217	86
Ostateczne dane w procentach		100	390	158	100	678	269
			100	40,5		100	39,7
Rozpylony 2—10 cm	2	8	72	19	11	63	24
	4	16	164	42	36	136	63
	7	27	188	60	45	184	81
	10	30	325	92	59	289	108
	14	31	357	116	65	342	122
Ostateczne dane w procentach		100	1 152	374	100	526	188
			100	32,5		100	35,7

W maju w torfie strukturalnym było więcej mikroorganizmów zdolnych do wzrostu na pożywce kontrolnej niż w torfie rozpylonym. W listopadzie, stosunek ten wypadł odwrotnie, na skutek znacznego spadku ilości mikroorganizmów w torfie strukturalnym i dwukrotnego zwiększenia się ilości mikroorganizmów w torfie rozpylonym.

W 1959 roku nie udało się stwierdzić powiązania (jak w latach ubiegłych) pomiędzy wzrostem ilości mikroorganizmów w torfie rozpylonym, a procentowym wzrostem ilości promieniowców. Stwierdzono natomiast, zgodnie z danymi opublikowanymi wcześniej (3, 4) silne stymulujące działanie wyciągów torfowych na wzrost mikro-

flory obu torfów. Dotyczy to zarówno wyciągu ogrzewanego jak i nieogrzewanego, sezonu wiosennego i sezonu jesiennego. O ile jednak na wiosnę korzystne działanie wyciągu z torfu rozpylonego było kilkakrotnie silniejsze, niż korzystne działanie wyciągu z torfu strukturalnego, w listopadzie wyniki były bardziej wyrównane, a nawet wyciąg z torfu rozpylonego działał nieco słabiej niż z torfu strukturalnego. Ujawniono ponadto występowanie substancji stymulujących w suchej masie uzyskanej z obu wyciągów. Uzupełnienie pożywek suchą masą z wyciągu gotowanego zwiększyło ilość rozwijających się na zestalonych agarach podłożach mikroorganizmów do 158% w przypadku torfu strukturalnego, do 374% w przypadku torfu rozpylonego. Uzupełnienie pożywek suchą masą z wyciągu niegotowanego (jak podano w części I-ej metodycznej, sucha masa w tym przypadku była również ogrzewana do temperatury nie wyższej niż 50°C.), analogicznie zwiększyło ilość rozwijających się mikroorganizmów do 269% i 188%. Przytoczone liczby wskazują na to, że sucha masa wyciągów działa słabiej stymulująco niż wyciągi, ale działanie to jest jeszcze bardzo silne. Zachowuje ona od 30 do 40% aktywności wyciągów. Ponieważ w okresie od maja do listopada zmienił się na pewno nie tylko skład ilościowy mikroflory torfów, ale i jakościowy, nie możemy na podstawie liczb przytoczonych w tabeli dla dwóch sezonów wyciągnąć wniosku, że wyciąg nieogrzewany z torfu rozpylonego względnie sucha masa nieogrzewana obu wyciągów, działa słabiej stymulująco niż wyciąg, względnie sucha masa ogrzewana. Wyniki doświadczeń przeprowadzonych w 1958 r., w których jednocześnie badano działanie wyciągu ogrzewanego do 100°C i nieogrzewanego, wskazywały jednoznacznie i powtarzalnie, że ogrzewanie niszczy część substancji stymulujących. W tabeli 4 i 5 przedstawiono wyniki doświadczeń przeprowadzonych analogicznie do doświadczeń omówionych powyżej, z tą tylko różnicą, że hodowle prowadzono w niskiej temperaturze (1,8—3,9°C) i przez dłuższy okres czasu (49 dni). Uzyskane ilości mikroorganizmów podano również w milionach w przeliczeniu na 1 g. suchej masy torfu. W maju ogólna ilość mikroorganizmów o charakterze psychrofilnym była większa w torfie strukturalnym, w listopadzie — w torfie rozpylonym. Ogólnie oceniając, stosunki te są więc podobne do stosunków ilości mikroorganizmów wyhodowanych w wyższej temperaturze. Do kładniejsze porównanie ilościowe wskazuje jednak na dość znaczne różnice spowodowane innym procentem mikroorganizmów o charakterze psychrofilnym w obu torfach. W maju stosunek ten wynosił dla torfu strukturalnego 5,0%, dla torfu rozpylonego — 12,3%, w listopadzie dla torfu strukturalnego i dla torfu rozpylonego — 6,3%. Z powyższego wynika, że przy ogólnym spadku ilości mikroorganizmów w torfie strukturalnym, w okresie letnim i wczesno-jesiennym, mniej więcej proporcjonalnie zmniejszyła się również ilość mikroorganiz-

mów o charakterze psychrofilnym. Natomiast w torfie rozpylonym rozmnożyły się w tym okresie mikroorganizmy o charakterze mezofilnym ogólna ilość tych, które rosły w stosowanej przez nas niskiej temperaturze, zwiększyła się stosunkowo nieznacznie.

Tabela 4

Wpływ czynnych substancji wyciągów torfowych na rozwój mikroflory torfu. Ilość mikroorganizmów w milionach w przeliczeniu na 1 g. s. m. torfu (hodowla prowadzona w temp. 1,8—3,9° C)

Torf poziom	Czas inkubacji w dniach	Maj — Czerwiec wyciąg i s. m. wyjał. temp.			Listopad — Grudzień wyc. i s. m. wyjał. tlenk. etylenu		
		Kontrola A	Wyciąg B	S. m. wyciągu C	Kontrola A	Wyciąg B	S. m. wyciągu C
Strukturalny	3	0,12	0,36	0,15	—	—	—
2—10 cm	13	1,17	10,79	6,31	0,88	1,85	0,24
	17	1,85	10,79	9,03	1,12	2,09	0,64
	23	3,47	47,60	9,03	1,12	2,41	1,53
	30	3,62	47,60	9,03	1,85	3,05	2,41
	37	5,15	47,60	9,03	1,85	3,21	2,65
	44	7,05	48,31	10,26	2,01	3,45	2,65
	49	7,05	50,42	10,26	2,01	3,45	2,65
Ostateczne dane w procentach		100	715 100	145 203	100	172 100	132 76,7
Po 49 dniach szalki przeniesiono do temp. 22°C	62	—	—	—	2,25	3,53	2,73
Ostateczne dane w procentach		—	—	—	100	157 100	121 77,3

Wyciągi torfowe, oraz sucha masa wyciągów działają stymulująco również na mikroorganizmy o charakterze psychrofilnym. Mikroorganizmy te w listopadzie reagowały słabiej na wyciąg z torfu strukturalnego niż w maju, odwrotnie zaś reagowały na wyciąg z torfu rozpylonego. Wielkość reakcji, na substancje czynne wyciągów jest różna dla mikroorganizmów o charakterze psychrofilnym i dla mikroorganizmów o charakterze mezofilnym.

Uzupełnienie pożywek suchą masą z wyciągu gotowanego zwiększyło ilość, mikroorganizmów o charakterze psychrofilnym do 145% w przypadku torfu strukturalnego, a do 222% w przypadku torfu rozpylonego. Uzupełnienie pożywek suchą masą z wyciągu niegotowa-

nego analogicznie zwiększyło ilość do 132% i 214%. Aktywność suchej masy wyciągów w porównaniu z aktywnością wyciągów jest zawsze niższa i waha się w dużym zakresie, bo od 20,3% do 76,7%. Tak dużych wahań w przypadku hodowli w wyższej temperaturze nie stwierdzono.

Tabela 5

Wpływ czynnych substancji wyciągów torfowych na rozwój mikroflory torfu. Ilość mikroorganizmów w milionach w przeliczeniu na 1 g. s. m. torfu (hodowla prowadzona w temp. 1,8—3,9° C)

Torf poziom	Czas inkubacji w dniach	Maj — Czerwiec			Listopad — Grudzień		
		Kontrola A	Wyciąg B	S. m. wyciągu C	Kontrola A	Wyciąg B	S. m. wyciągu C
Rozpylony	3	0,04	0,03	0,14	—	—	—
2—10 cm	13	0,30	2,21	0,93	3,14	7,74	6,52
	17	0,46	2,60	1,73	3,14	14,55	7,22
	23	1,02	6,27	2,90	3,72	16,70	7,74
	30	2,54	9,20	4,79	3,89	17,28	7,74
	37	3,14	14,95	5,58	3,89	17,46	7,74
	44	3,66	14,95	6,73	3,96	17,63	7,91
	49	3,80	14,95	8,45	4,07	19,61	8,73
Ostateczne dane w procentach		100	393 100	222 56,4	100	482 100	214 48,5
Po 49 dniach szalki przenie- siono do temp. 22°C	62	—	—	—	6,40	19,61	8,73
Ostateczne dane w procentach					100	306 100	136 44,4

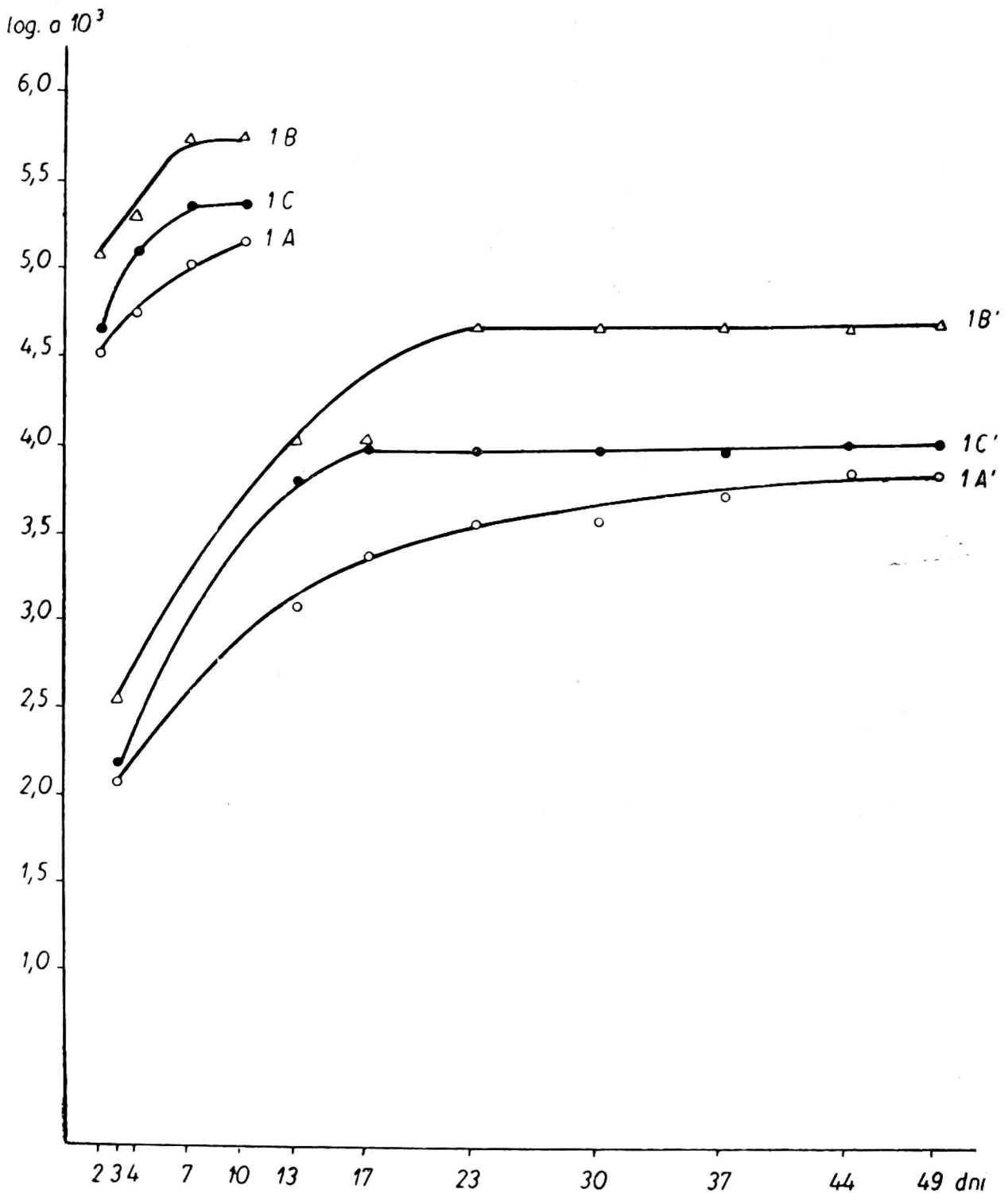
Uwaga: pożywka B i C z listopada wyjaławiana tlenkiem etylenu, pozostałe temperaturą.

Aby, stwierdzić czy duża ilość mikroorganizmów o charakterze mezofilnym przetrwała podczas hodowli szalek w temp. 11,8—3,9°C., szalki te przestawiono po 49 dniach (ale tylko w okresie jesiennym) do temp. 22°C. Wyniki uzyskane po 13 dniach wzrostu w temp. 22°C podano w rubryce dodatkowej. Na ogół wyrosło niewiele dodatkowych kolonii. Najwięcej przybyło w pożywce kontrolnej szczepionej torfem rozpylonym. Porównując ostateczne ilości mikroorganizmów wyhodowanych w okresie 62 dni w temp. niskiej (w tym ostatnie 13—14 dni w temperaturze 22°C) z ilością mikroorga-

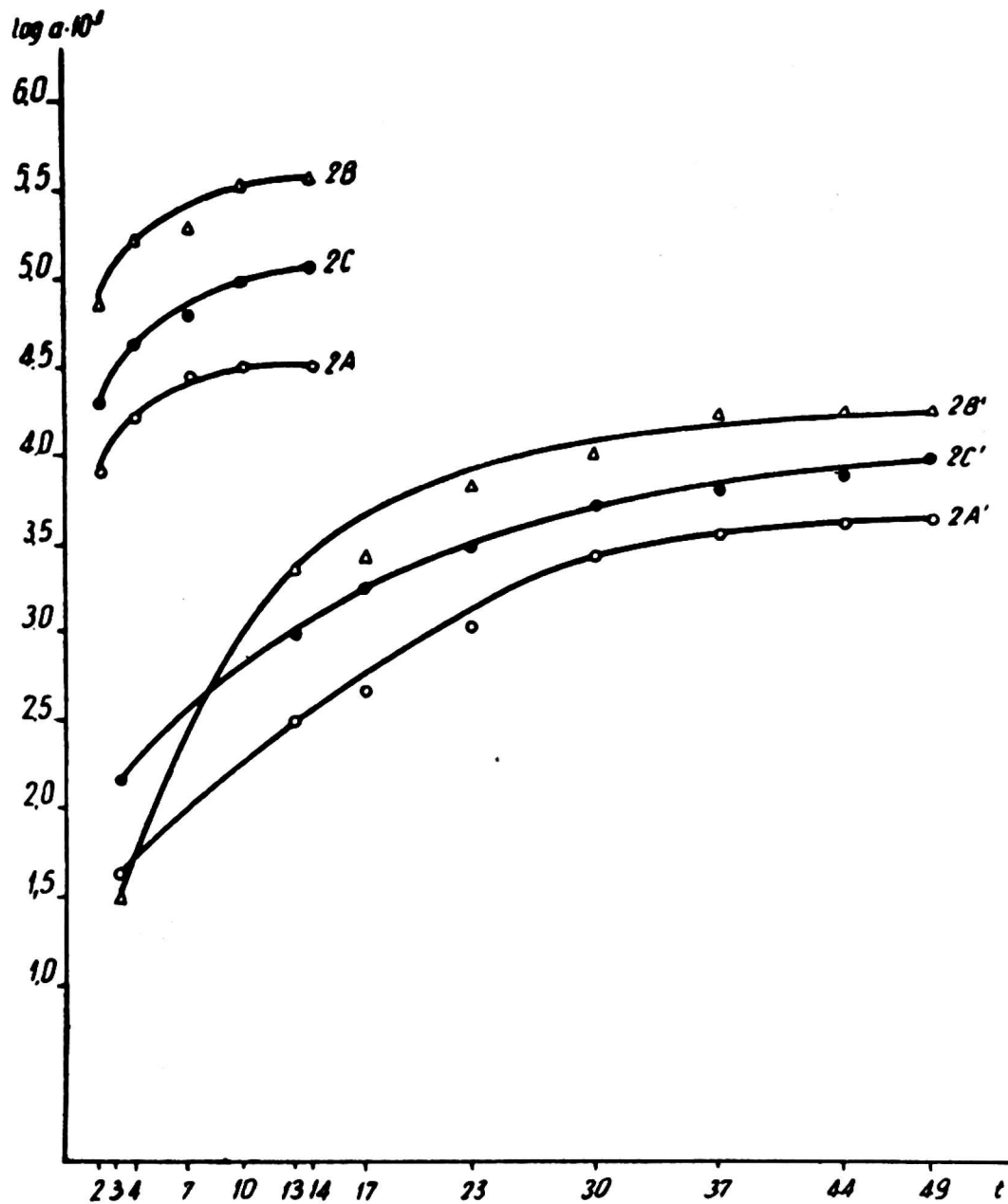
nizmów wyhodowanych w okresie 14 dni w temperaturze średnio optymalnej dla mezofili glebowych, możemy stwierdzić, że ogromna większość mikroorganizmów niezdolna do wzrostu w niskiej temperaturze, nie była zdolna również do przetrwania w tej temperaturze 7-miu tygodni.

Dane liczbowe uwzględniające ilości mikroorganizmów wyhodowanych na różnych frakcjach wyciągów, w różnych temperaturach i sezonach, a znajdujące się w tabelach 3, 4 i 5 po zlogarytmowaniu przedstawiono na wykresach I i II w odniesieniu do czasu.

W celu otrzymywania po zlogarytmowaniu we wszystkich przypadkach liczb większych od zera, logarytmowano zawsze dane ilościowe mikroorganizmów w tysiącach.



Rys. 1



Rys. 2

Wpływ wyciągu i suchej masy wyciągu z torfu strukturalnego i rozpylonego na ilość mikroorganizmów. Sezon wiosenny. Wyciąg i sucha masa sterylizowane wysoką temperaturą.

Objaśnienia:

Torf strukturalny — 1. Torf rozpylony — 2

1 A, 2 A — pożywka kontrolna z glukozą i z solami. Temp. 25° C,

1 A', 2 A' — jak wyżej. Temp. 1,8—3,9° C,

1 B, 2 B — pożywka z wyciągiem torfowym uzupełniona glukozą i solami. Temp. 25° C,

1 B', 2 B' — jak wyżej. Temp. 1,8—3,9° C,

1 C, 2 C — pożywka z suchą masą z wyciągu torfowego uzupełniona glukozą i solami. Temp. 25° C,

1 C', 2 C' — jak wyżej. Temp. 1,8—3,9° C.

Na wykresach 1 i 2 zobrazowany jest przyrost ilości rozwijających się mikroorganizmów w warunkach hodowli w różnych temperaturach podczas badań wiosennych. Zarówno w termostacie jak i w lodówce przyrost ten jest początkowo dość znaczny, następnie ulega osłabieniu i pod koniec hodowli prawie we wszystkich przypadkach zostaje całkowicie zahamowany. Stosunki pomiędzy ilościami mikroorganizmów wyhodowanych na podłożach uzupełnionych substancjami czynnymi z torfów i nieuzupełnionych, w hodowli w temperaturze $\approx 25^{\circ}\text{C}$, są mniej więcej wyrównane, krzywe nie przecinają się. Krzywa oznaczona 1 A (torf strukturalny, kontrola) biegnie zawsze niżej od krzywej oznaczonej 1 B (torf strukturalny, pożywka z wyciągiem torfowym). Krzywa 1 C (torf strukturalny, pożywka z suchą masą wyciągu) zajmuje miejsce pośrednie. To samo odnosi się do danych z torfu rozpylonego, krzywe 2 A, 2 B i 2 C.

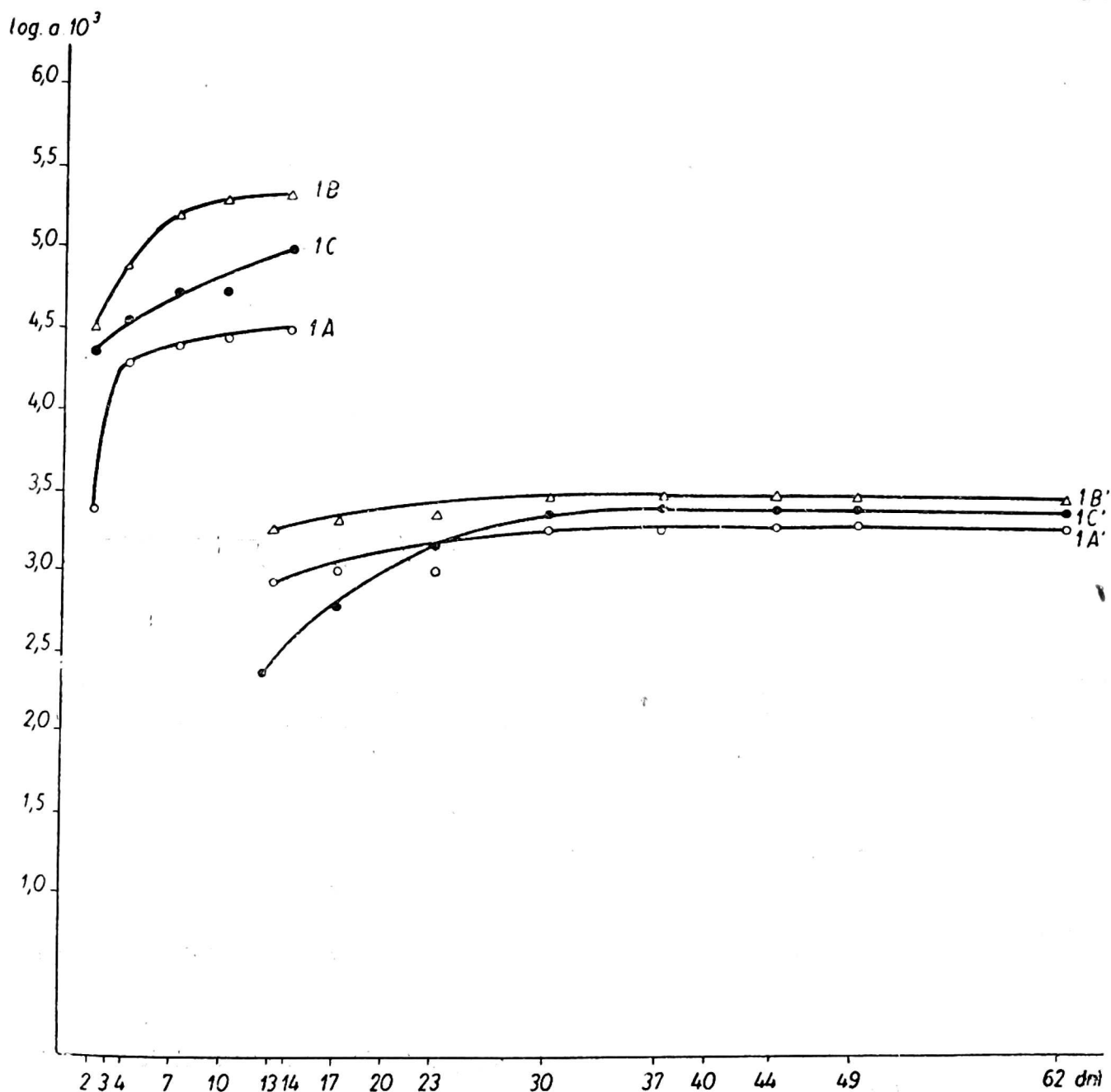
W hodowli o niskiej temperaturze obraz początkowo nie jest tak jasny odnośnie torfu rozpylonego.

Począwszy jednak od drugiej obserwacji, w obu torfach stosunki stają się unormowane i odpowiadają jakościowo stosunkom odczytywanym z krzywych uzyskanych dla wyższych temperatur. Należy tu nadmienić, że obserwacje szalek trzymanyh w niskiej temperaturze są znacznie uciążliwsze niż w wyższej temperaturze z powodu małych rozmiarów kolonii i skraplania się na szalkach pary wodnej po wyjęciu z lodówki. Z tego powodu błąd pierwszych obliczeń może być większy. Ponadto różnice w szybkości pojawiania się widocznych kolonii (uzależnione od wielu czynników) wpływają również na przedłużenie okresu, w którym wyniki nie są jeszcze dostatecznie pewne.

Na wykresach 3 i 4 zobrazowany jest przyrost ilości rozwijających się mikroorganizmów w warunkach hodowli w różnych temperaturach podczas badań jesiennych. W sezonie tym widoczny jest szybki i znaczny przyrost ilości mikroorganizmów w termostacie. Bardzo niewielki (poza torfem strukturalnym, pożywka z suchą masą wyciągu), jest przyrost kolonii w temperaturze lodówki. Najsilniejsze stymulujące działanie wyciągu, słabsze ale wyraźnie korzystne działanie suchej masy wyciągu, zaznacza się od początku obserwacji za wyjątkiem 2 pierwszych obserwacji, na pożywce z suchą masą wyciągu strukturalnego w lodówce. Ale i w tym — odbiegającym od zaobserwowanej prawidłowości — przypadku, w stosunkowo niedługim czasie wyrastają dodatkowe kolonie i prawidłowość zostaje przywrócona.

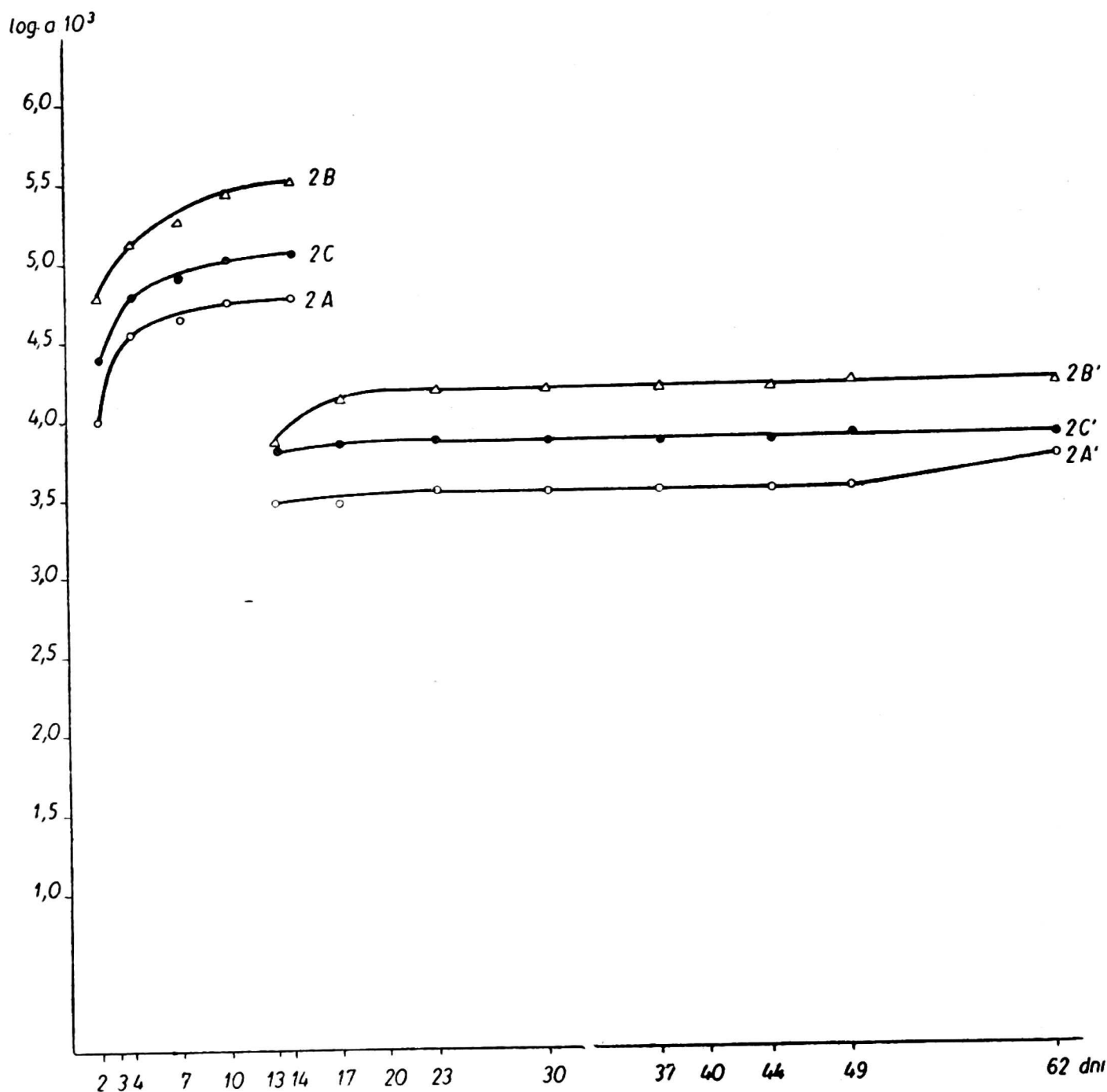
W tabeli 6 przedstawione są wyniki badań przeprowadzonych w celu wyjaśnienia zawartości substancji czynnych w destylacie, oraz substancji popiołowych wyciągów torfowych. W maju badano destylat uzyskany z wyciągu w temperaturze wrzenia przy ciśnieniu atmosferycznym, w listopadzie — destylat uzyskany z wyciągu w temperaturze wrzenia $21\text{--}24^{\circ}\text{C}$. przy ciśnieniu $14\text{--}15$ mm Hg. Część desty-

latu otrzymanego w sezonie jesiennym wyjałowiono następnie w aparacie Kocha, część na zimno tlenkiem etylenu. W przypadku torfu strukturalnego i hodowli w temperaturze 25°C, stymulujące działanie destylatu zaobserwowano tylko w jesieni przy czym odnosiło się ono do destylatu nieogrzewanego. Trzeba tu także podkreślić, że mimo zwiększenia ilości mikroorganizmów do 122% wynik ten należy uważać za wątpliwy, gdyż korzystne działanie destylatu ujawniło się dopiero w dwóch ostatnich liczeniach kolonii. Destylat otrzymany na gorąco w maju wykazał zdecydowane własności hamujące, które przez cały okres hodowli wpływały na zmniejszenie ilości wyrastających kolonii. Popiół z wyciągu torfu strukturalnego, w przypadku hodowli prowadzonej w termostacie okazał się nieczynny (przez cały czas hodowli odchylenia w obu kierunkach są prawdopodobnie w granicach błędu). W przypadku torfu rozpylonego i hodowli w temp. 25°C stwierdzono stymulujące działanie destylatu na wiosnę (ujawnione też dopiero w ostatnich dwóch liczeniach kolonii) oraz zdecydowanie hamujące



Rys. 3

działanie na jesieni, destylatu otrzymanego na zimno, następnie ogrzewanego lub nieogrzewanego. Popiół z wyciągu torfu rozpylonego stymulował wzrost mikroorganizmów w sezonie wiosennym.



Rys. 4

Wpływ wyciągu i suchej masy wyciągu z torfu strukturalnego i rozpylonego na ilość mikroorganizmów. Sezon jesienny. Wyciąg i sucha masa sterylizowane tlenkiem etylenu.

Objaśnienia:

torf strukturalny — 1. torf rozpylony — 2.

1 A, 2 A — pożywka kontrolna z glukozą i z solami temp. 25° C,

1 A', 2 A' — jak wyżej. Temp. 1,8—3,9° C,

1 B, 2 B — pożywka z wyciągiem torfowym uzupełniona glukozą i solami. Temp. 25° C,

1 B', 2 B' — jak wyżej. Temp. 1,8—3,9° C,

1 C, 2 C — pożywka z suchą masą z wyciągu torfowego uzupełniona glukozą i solami. Temp. 25° C,

1 C', 2 C' — jak wyżej. Temp. 1,8—3,9° C.

Tabela 6

Wpływ czynnych substancji wyciągów torfowych na rozwój mikroflory torfu. Ilość mikroorganizmów w milionach w przeliczeniu na 1 g s. m. torfu (hodowla prowadzona w temp. $\approx 25^{\circ}\text{C}$)

Torf poziom	Czas inkubacji w dniach	Maj			Listopad			
		Kontrola A	Destylat wyciągu D	Popiół wyciągu E	Kontrola A	Destylat wyciągu D nie ogrz.	Destylat wyciągu D _t ogrzew.	Popiół wyciągu E
Strukturalny 2—10 cm	2	32	17	30	2	3	3	2
	4	56	49	69	19	14	17	13
	7	105	81	111	25	25	25	18
	10	141	85	131	28	35	29	29
	14	—	—	—	32	39	31	31
Ostateczne dane w procentach		100	60,3	92,9	100	121,9	96,9	96,9
Rozpylony 2—10 cm	2	8	8	10	11	5	6	5
	4	16	14	25	36	20	20	32
	7	27	24	35	45	29	31	52
	10	30	33	38	59	41	45	61
	14	31	47	55	65	47	49	63
Ostateczne dane w procentach		100	151,6	177,4	100	72,3	75,4	96,9

Uwaga: Destylat wyc. nie ogrzewany wyjałowiono tlenkiem etylenu, pozostałe temperaturą.

W tabeli 7 i 8 znajdują się wyniki analogicznych doświadczeń do omówionych powyżej, z tą różnicą, że hodowle prowadzono w temperaturze $1,8\text{—}3,9^{\circ}\text{C}$. W przypadku torfu strukturalnego (tab. 7) destylat działał albo słabo stymulująco w sezonie wiosennym, albo słabo hamująco (destylat nieogrzewany) w sezonie jesiennym. Część destylatu, która w sezonie jesiennym poddana została wyjaławianiu temperaturą nie wykazała żadnego określonego działania. Popiół z wyciągu torfu strukturalnego zwiększył ilość kolonii wyrastających w niskiej temperaturze do 140% , ale tylko w sezonie jesiennym.

W przypadku torfu rozpylonego (tab. 8) działanie destylatu w sezonie wiosennym uległo znacznym wahaniom i w rezultacie zwiększenie ilości mikroorganizmów do 130% nie jest dostatecznie przekonujące. W sezonie jesiennym destylat otrzymany na zimno wykazał obecność substancji hamujących, niezależnie od tego czy następnie był ogrzewany czy nie. Silne działanie stymulujące rozwój mikroorganizmów o charakterze psychrofilnym miał popiół na wiosnę. Popiół wyciągu jesiennego zwiększył ilość wyrastających kolonii w znacznie słabszym stopniu.

Tabela 7

Wpływ czynnych substancji wyciągów torfowych na rozwój mikroflory torfu. Ilość mikroorganizmów w milionach w przeliczeniu na 1 g s. m. torfu (hodowla prowadzona w temp. 1,8—3,9°C)

Torf poziom	Czas inkubacji w dniach	Maj — Czerwiec			Listopad — Grudzień			
		Kontrola A	Destylat wyciągu D	Popiół wyciągu E	Kontrola A	Destylat wyciągu D nieogr.	Destylat wyciągu D _t ogrzew.	Popiół wyciągu E
Strukturalny	3	0,12	0,17	0,09	—	—	—	—
2—10 cm	13	1,17	1,41	0,89	0,88	0,40	0,24	0,56
	17	1,85	2,22	2,49	1,12	0,72	0,80	0,72
	23	3,47	3,55	2,96	1,12	0,80	1,04	1,37
	30	3,62	5,52	4,56	1,85	1,21	1,61	1,85
	37	5,15	6,06	5,24	1,85	1,45	1,93	2,25
	44	7,05	8,46	6,77	2,01	1,69	2,09	2,73
	49	7,05	8,46	7,48	2,01	1,77	2,17	2,81
Ostateczne dane w procentach		100	120	106	100	88	108	139,8
Po 49 dniach szalki przeniesiono do temp. 22°C	62	—	—	—	2,25	1,77	2,17	3,13
Ostateczne dane w procentach					100	78,7	96,4	139,1

Uwaga: w listopadzie destylat wyc. „D” wyjałowiono tlenkiem etylenu, pozostałe pożywki temperaturą.

Przeniesienie hodowli z lodówki do temperatury pokojowej nie zmieniło w sposób zasadniczy stosunków w ilościach kolonii pomiędzy różnymi stosowanymi kombinacjami. Dotyczy to zarówno torfu strukturalnego jak i rozpylonego.

Na podstawie przedstawionych doświadczeń, przeprowadzonych w celu wyjaśnienia zawartości substancji czynnych, działających na rozwój mikroflory torfów, w destylacie, oraz w substancjach popiołowych wyciągów torfowych, można wyprowadzić następujące wnioski:

1. Zawartość substancji hamujących względnie stymulujących wzrost mikroorganizmów torfu strukturalnego w destylatach wyciągu z tego torfu jest stosunkowo nieznaczna. Czynność destylatów zależy od metody otrzymywania oraz od mikroorganizmów testowych (mikroflora o charakterze mezofilnym lub psychofilnym). Stymulujące względnie hamujące działanie destylatów powinno być sprawdzone w dalszych badaniach.
2. Popiół wyciągu z torfu strukturalnego wykazał działanie korzystne na rozwój mikroflory z tego torfu tylko w jednej kom-

Tabela 8

Wpływ czynnych substancji wyciągów torfowych na rozwój mikroflory torfu. Ilość mikroorganizmów w milionach w przeliczeniu na 1 g s. m. torfu (hodowla prowadzona w temp. 1,8—3,9° C)

Torf poziom	Czas inkubacji w dniach	Maj — Czerwiec			Listopad — Grudzień			
		Kontrola A	Destylat wyciągu D	Popiół wyciągu E	Kontrola A	Destylat wyciągu D nieogrz.	Destylat wyciągu D _t ogrzew.	Popiół wyciągu E
Rozpylony	3	0,04	0,15	0,09	—	—	—	—
2—10 cm	13	0,30	0,56	0,59	3,14	0,52	0,35	2,79
	17	0,46	0,95	0,93	3,14	1,28	0,64	4,25
	23	1,02	1,37	1,57	3,72	2,79	1,57	4,60
	30	2,54	2,48	3,27	3,89	3,08	1,75	4,60
	37	3,14	3,03	3,59	3,89	3,26	2,04	4,66
	44	3,66	4,29	4,62	3,96	3,26	2,44	4,66
	49	3,80	4,94	8,19	4,07	3,37	2,62	4,83
Ostateczne dane w procentach		100	130	216	100	82,8	64,4	118,7
Po 49 dniach szalki przeniesiono do temp. 22°C	62	—	—	—	6,40	3,37	5,65	6,40
Ostateczne dane w procentach					100	52,7	88,3	100

Uwaga: Destylat nieogrzew. „D” z listopada wyjałowiono tlenkiem etylenu, pozostałe temperaturą.

- binacji (jesień, hodowla w niskiej temperaturze) na cztery zbadane. W pozostałych trzech przypadkach popiół był nieczynny.
3. W destylatach gotowanego wyciągu z torfu rozpylonego znajdują się prawdopodobnie substancje pobudzające wzrost mikroorganizmów tego torfu. Otrzymane wyniki wymagają jednak ponownego sprawdzenia. Należy również sprawdzić występowanie substancji hamujących w destylatach wyciągu nieogrzewanego.
 4. Popiół wyciągu z torfu rozpylonego w badaniach wiosennych zwiększył około dwukrotnie ilość rozwijających się mikroorganizmów. Na jesieni natomiast ten sam popiół nie wykazywał żadnego wpływu.

Badania jednoroczne nie wyjaśniły wpływu lotnych i popiołowych (mineralnych) substancji znajdujących się w torfach, na rozwój mikroflory torfowej. Dwukierunkowe odchylenia od kontroli w różnych kombinacjach, a w większości kombinacji nieznaczne różnice w stosunku do kontroli na razie nie pozwalają na uchwycenie prawidłowości. Możemy jednak stwierdzić, że mimo iż głównym czynnikiem wpływa-

jącym na mikroorganizmy torfowe są substancje organiczne i to w stanie koloidalnym, pewną rolę chociaż dużo słabszą odgrywiają substancje mineralne i lotne. Trudności spotykane przez nas w ostatnich doświadczeniach, są dwojakiej natury: po pierwsze przy słabej reakcji mikroflory stosowana metoda może być za mało czuła, po drugie słabszą reakcję mikroflory na główny, stosowany przez nas czynnik zmienny zacierają czynniki uboczne jak np. zmiany sezonowe, hodowle w różnych temperaturach itp.

III

Określenie wpływu glukozy na mikroflorę torfową hodowaną na pożywkach z wyciągami torfowymi

Biorąc pod uwagę selektywne działanie pożywek zawierających jako źródło węgla — glukozę, postanowiono sprawdzić jak wpłynie ominięcie glukozy, względnie dziesięciokrotne zmniejszenie jej stężenia na ilość rozwijających się kolonii mikroorganizmów torfowych. W przypadku całkowitego wyeliminowania glukozy z pożywki, pozostały do wykorzystania dla hodowanych mikroorganizmów tylko te substancje organiczne, które znajdowały się w wyciągach, względnie w suchej masie wyciągów.

W tabeli 9 przedstawiono ilościowe wyniki z hodowli prowadzonej w sezonie wiosennym i jesiennym w temperaturze $\approx 25^{\circ}\text{C}$. Dane dotyczą obu torfów. W badaniach wiosennych stosowano wyciąg i suchą masę wyciągu wyjałowione temperaturą, w jesiennych — tlenkiem etylenu. Ponadto, w badaniach wiosennych stosowano tylko pożywki z glukozą i bez glukozy, w badaniach jesiennych wprowadzono dodatkowe kombinacje zawierające dziesięciokrotnie zmniejszoną, w porównaniu z pożywką pełną, ilość glukozy. Ominięcie glukozy w pożywkach z wyciągami w badaniach wiosennych wpłynęło na zmniejszenie ilości mikroorganizmów w torfie strukturalnym. Znaczna różnica po dwóch dniach hodowli szybko uległa zmniejszeniu i dziesiątego dnia wynosiła tylko 25%. W torfie rozpylnym na pożywce bez glukozy wyrosła początkowo nawet większa ilość kolonii, pod koniec okresu hodowli wyniki wyrównały się. Analogiczne badania w sezonie jesiennym wykazały minimalny wpływ wyeliminowania glukozy z pożywki na ilość kolonii w obu torfach. Interesującym jest fakt najsilniejszego zahamowania wzrostu mikroorganizmów przez zmniejszenie w pożywce z wyciągiem stężenia glukozy do 0,1%. Dotyczy to tylko torfu strukturalnego.

Na pożywkach z suchą masą wyciągów, do których nie dodano glukozy, wyrosła znacznie większa ilość mikroorganizmów, niż na analogicznych pożywkach z glukozą. W omawianym przypadku końcowa

ilość kolonii wzrosła od około 180 do 280%. Charakterystyczny dla większości kombinacji, w których brak glukozy umożliwił rozwój większej ilości mikroorganizmów jest fakt, że gwałtowne przybywanie kolonii rozpoczynało się dopiero po czterech, względnie siedmiu dniach. Zmniejszenie dziesięciokrotne stężenia glukozy w pożywkach z suchą masą wyciągów okazało się też korzystne, ale ilościowo mniej, niż całkowite ominięcie cukru.

Tabela 9

Porównanie wzrostu mikroflory torfu na pożywkach z glukozą, ze zmniejszoną ilością glukozy i bez glukozy. Ilość mikroorganizmów w milionach w przeliczeniu na 1 g s. m. torfu (hodowla prowadzona w temp. $\approx 25^{\circ}\text{C}$)

Torf poziom	Czas inkubacji w dniach	Maj				Listopad					
		Wyciąg B 1% gluk.	Wyciąg b bez gluk.	S. m. wyciągu C 1% gluk.	S. m. wyciągu c bez gluk.	Wyciąg B 1% gluk.	Wyciąg b ₁ 0,1% gluk.	Wyciąg b bez gluk.	S. m. wyciągu C 1% gluk.	S. m. wyciągu c ₁ 0,1% gluk.	S. m. wyciągu c bez gluk.
Strukturalny 2—10 cm	2	118	32	45	42	34	17	32	23	25	2
	4	198	148	119	176	78	50	74	36	54	23
	7	550	353	218	449	174	93	166	53	90	77
	10	550	409	223	635	200	102	235	54	94	104
	14	—	—	—	—	217	123	263	86	158	169
Ostateczne dane w procentach		100	74,4	100	284,8	100	56,7	121,2	100	183,7	196,5
Rozpylony 2—10 cm	2	72	118	19	60	63	55	25	24	13	9
	4	164	197	42	122	136	148	91	63	66	47
	7	188	233	60	157	184	233	186	81	80	102
	10	325	292	92	228	289	314	265	108	140	198
	14	357	332	116	260	342	355	328	122	144	219

Ostateczne dane

w procentach 100 93 100 224 100 103,8 96 100 118 179,5

Uwaga: W maju pożywki wyjałowiono temperaturą, w listopadzie — tlenkiem etylenu.

W tabeli 10 i 11 przedstawiono wyniki doświadczeń analogicznych do doświadczenia omówionego wyżej, z tą różnicą, że hodowle prowadzono w niskiej temperaturze. Brak glukozy w pożywkach z wyciągami, wpłynął na obniżenie ilości rozwijających się mikroorganizmów o charakterze psychrofilnym, z wyjątkiem jednej kombinacji (torf rozpylony, doświadczenie wiosenne). W tym ostatnim przypadku w trzydziestym dniu hodowli rozpoczął się szybki przyrost ilości kolonii dający w ostatecznym wyniku podwojenie ilości mikroorganiz-

mów w stosunku do pożywki z glukozą. Dziesięciokrotne zmniejszenie stężenia glukozy w pożywkach z wyciągiem, albo prawie nie wpłynęło na ostateczny wynik przeliczeń (torf strukturalny), albo częściowo obniżyło rozwój mikroflory w niskiej temperaturze (torf rozpylony).

Tabela 10

Porównanie wzrostu mikroflory torfu na pożywkach z glukozą, ze zmniejszoną ilością glukozy i bez glukozy. Ilość mikroorganizmów w milionach w przeliczeniu na 1 g s. m. torfu (hodowla prowadzona w temp. 1,8—3,9° C)

Torf poziom	Czas inkubacji w dniach	Maj — Czerwiec				Listopad — Grudzień					
		Wyciąg B 1% gluk.	Wyciąg b bez gluk.	S. m. wyciągu C 1% gluk.	S. m. wyciągu c bez gluk.	Wyciąg B 1% gluk.	Wyciąg b ₁ 0,1% gluk.	Wyciąg b bez gluk.	S. m. wyciągu C 1% gluk.	S. m. wyciągu c ₁ 0,1% gluk.	S. m. wyciągu c bez gluk.
Strukturalny	3	0,36	0,16	0,15	0,17	—	—	—	—	—	—
2—10 cm	13	10,79	6,09	6,31	3,53	1,85	0,72	0,56	0,24	0,80	0,16
	17	10,79	15,04	9,03	7,77	2,09	1,29	0,64	0,64	1,69	0,56
	23	47,60	23,27	9,03	21,58	2,41	1,61	0,72	1,53	1,85	1,69
	30	47,60	25,11	9,03	23,27	3,05	2,81	0,80	2,41	2,89	1,85
	37	47,60	33,36	9,03	34,77	3,21	3,45	1,04	2,65	3,05	2,17
	44	48,31	34,06	10,26	46,97	3,45	3,53	1,21	2,65	3,29	2,41
	49	50,42	34,27	10,26	49,79	3,45	3,61	1,29	2,65	3,78	2,49
Ostateczne dane w pro- centach		100	68	100	485,3	100	104,1	37,4	100	142,6	94

Po 49 dniach
szalki prze-
niesiono
do temp.
22°

62	—	—	—	—	3,53	8,19	3,05	2,73	5,54	5,30
----	---	---	---	---	------	------	------	------	------	------

Ostateczne
dane

w procentach

100	232	86,4	100	202,9	194,1
-----	-----	------	-----	-------	-------

Uwaga: w maju pożywki wyjałowiono temperaturą, w listopadzie tlenkiem etylenu.

W pożywkach zawierających suchą masę wyciągów, ominięcie glukozy w doświadczeniach wiosennych, spowodowało rozwój kilkakrotnie większej ilości mikroorganizmów o charakterze psychrofilnym, niż w analogicznych pożywkach z glukozą. W doświadczeniach jesien-nych, zarówno brak glukozy, jak i zmniejszenie jej ilości, albo wpłynęło na stosunkowo nieznaczne zwiększenie ilości kolonii, albo nie miało prawie żadnego znaczenia (torf strukturalny, pożywka z suchą masą wyciągu, bez glukozy).

Tabela 11

Porównanie wzrostu mikroflory torfu na pożywkach z glukozą, ze zmniejszoną ilością glukozy i bez glukozy. Ilość mikroorganizmów w milionach w przeliczeniu na 1 g s. m. torfu (hodowla prowadzona w temp. 1,8—3,9° C)

Torf poziom	Czas inkubacji w dniach	Maj — Czerwiec				Listopad — Grudzień					
		Wyciąg B 1% gluk.	Wyciąg b bez gluk.	S. m. wyciągu C 1% gluk.	S. m. wyciągu c bez gluk.	Wyciąg B 1% gluk.	Wyciąg b ₁ 0,1% gluk.	Wyciąg b bez gluk.	S. m. wyciągu C 1% gluk.	S. m. wyciągu c 0,1% gluk.	S. m. wyciągu c bez gluk.
Rozpylony	3	0,03	0,08	0,14	0,24	—	—	—	—	—	—
2—10 cm	13	2,21	0,98	0,93	1,97	7,74	6,81	2,33	6,52	6,34	1,34
	17	2,60	3,87	1,73	4,47	14,55	8,50	4,42	7,22	7,45	2,68
	23	6,27	4,49	2,90	9,07	16,70	12,22	7,10	7,74	8,90	5,24
	30	9,20	17,94	4,79	18,85	17,28	14,55	14,14	7,74	9,31	5,30
	37	14,95	21,00	5,58	20,35	17,46	15,71	15,54	7,74	9,83	6,58
	44	14,95	29,45	6,73	26,00	17,63	16,19	15,54	7,91	10,07	7,04
	49	14,95	30,29	8,45	26,85	19,61	16,47	16,70	8,73	10,07	10,48
Ostateczne dane w procentach		100	202,7	100	317,8	100	84	85,2	100	115,3	120
Po 49 dniach szalki przeniesiono do temp. 22° C	62	—	—	—	—	19,61	25,20	21,53	8,73	14,37	12,22
Ostateczne dane w procentach						100	128,5	109,8	100	164,6	140

Uwaga: w maju pożywki wyjąłowiono temperaturą, w listopadzie tlenkiem etylenu.

Ciekawe wyniki uzyskano w doświadczeniach jesiennych, gdy po 49 dniach hodowle przeniesiono do temperatury około 22°. Na szalkach zawierających pożywki z glukozą (niezależnie od tego, czy do pożywek tych dodano wyciąg, czy suchą masę wyciągu) nastąpił bardzo nieznaczny przyrost ilości kolonii lub przyrostu tego wcale nie było. Na szalkach zawierających pożywki bez glukozy przybyło tyle nowych kolonii, że zmienił się całkowicie obraz poprzednio obserwowanych stosunków. Na pożywkach z wyciągami nie zawierających glukozy, ilość kolonii doszła do 86% w stosunku do kontroli, lub nawet w torfie rozpylonym przewyższyła ilość kolonii w odpowiedniej kontroli. Najkorzystniejsze okazało się dziesięciokrotne zmniejszenie stężenia glukozy i to nie tylko na pożywkach z wyciągami, ale i z suchą masą wyciągów. Na pożywkach z suchą masą wyciągów nie zawierających glukozy, ilość kolonii doszła do 194% w torfie strukturalnym i do 140% w torfie rozpylonym.

Ogólnie można stwierdzić, że w pożywkach z wyciągami torfowymi dziesięciokrotne zmniejszenie stężenia glukozy lub całkowite jej omińnięcie powoduje albo zmniejszenie ilości wyrastających kolonii, albo pozostaje bez wpływu. Jednak w dwóch przypadkach na szesnaście obserwowanych, nastąpiło dwukrotne zwiększenie ilości kolonii w stosunku do kontroli (torf strukturalny, jesień, dane po 62 dniach: torf rozpylony, wiosna, dane po 49 dniach).

W pożywkach z suchą masą wyciągów dziesięciokrotne zmniejszenie stężenia glukozy lub całkowite jej omińnięcie, powoduje przeciętnie dwukrotne zwiększenie ilości wyrastających kolonii mikroflory torfowej. Spotkaliśmy się tutaj z czterema przypadkami, (na szesnaście obserwowanych) odbiegającymi znacznie od podanej przeciętnej. Najbardziej skrajne dotyczą torfu strukturalnego, pożywki bez glukozy, hodowla w lodówce, dane po 49 dniach. A mianowicie, gdy w sezonie wiosennym brak glukozy spowodował prawie pięciokrotne zwiększenie ilości kolonii, na jesieni pozostał on bez wpływu.

Na podstawie wyników przedstawionych w części III-ej niniejszej pracy wydawałoby się, że glukoza w stężeniu normalnie stosowanym do pożywek izolacyjnych dla organizmów heteroficznych (1,0%) hamuje wzrost bardzo znacznej ilości tych organizmów. Powstaje jednak zagadnienie, dlaczego „hamujące” działanie glukozy uwidacznia się prawie wyłącznie na pożywkach zawierających suchą masę wyciągów, a nie na pożywkach zawierających wyciągi. Ilość substancji organicznych w obu tych przypadkach jest równa, różni się tylko ich stan. Substancje te są albo rozpuszczone w roztworze glebowym, względnie w stanie niezmienionym, koloidalnym (wyciąg), albo w stanie wysuszonym, zdegradowanym (sucha masa). Możliwe jest, że koloidy torfowe oprócz funkcji stymulującej rozwój mikroorganizmów (co wynika z części II-ej niniejszej pracy — porównanie wzrostu na wyciągach i na suchych masach wyciągów), związany z zawartością różnych czynników wzrostowych, spełniałyby również funkcje ochronne przed „toksycznym działaniem” zbyt dużych stężeń związków organicznych, które na ogół są doskonałymi źródłami energetycznymi dla organizmów heterotroficznych. Nie możemy tu pominąć naszych obserwacji jakościowych kolonii na szalkach. Tam, gdzie dodano do pożywek 1% glukozy, kolonie były duże i dorodne; przy braku glukozy, kolonie były na ogół drobne. A więc te substancje organiczne, które znajdowały się w wyciągach, względnie w suchych masach wyciągów, były co najmniej ilościowo niewystarczające, a być może, że i jakościowo w pewnych przypadkach wystarczały tylko dla zainicjowania wzrostu. Zagadnienie znalezienia najkorzystniejszych pożywek dla mikroflory torfów wymagałoby specjalnych doświadczeń i ogromnego nakładu pracy.

IV

Izolacja szczepów o charakterze psychrofilnym

Ze względu na to, że w latach ubiegłych izolowaliśmy tylko te mikroorganizmy torfowe, które wyrastały w hodowlach szalkowych w temperaturze 25°C, w 1959 r. postanowiliśmy nasze muzeum szczepów torfowych o charakterze mezofilnym uzupełnić jedynie okazami o ciekawszych typach kolonii, natomiast starać się otrzymać te mikroorganizmy w czystych kulturach, które rosną w temperaturach niskich. W wyniku izolacji prowadzonej w maju i listopadzie z szalek przechowywanych w temp. 1,8—3,9°C otrzymano 22 szczepy z torfu strukturalnego, oraz 21 szczepów z torfu rozpylonego. Mimo starań wyszczepiania mikroorganizmów z kolonii różniących się nawet w minimalnym stopniu, prawie zupełnie nie uzyskano zróżnicowania pod względem głównych typów morfologicznych. Wśród uzyskanych szczepów stwierdzono obecność tylko jednego szczepu pleśni, jednego szczepu promieniowca, dwóch szczepów drożdży. Pozostałe szczepy stanowią pałki w 90% gramujemne, ruchliwe lub nieruchliwe, wszystkie nie wytwarzające przetrwalników. Kilka z wyizolowanych szczepów wytwarza barwniki różowe, pomarańczowe i żółto-brązowe. Barwnik żółto-brązowy fluoryzuje odcieniami: czerwonym, fioletowym i zielonym.

W sezonie wiosennym wszystkie wyizolowane na skos agarowy szczepy pozostawiono w lodówce. Po wyrośnięciu każdy szczep przeszczepiono na 6 równoległych skosów i po 2 skosy umieszczono w temperaturach: 1,8—3,9°C, 17—20°C, 26—27°C. W okresie 10-ciu dni przeprowadzano codzienne obserwacje wzrostu w trzech różnych temperaturach. Wyniki obserwacji przedstawiono w tabeli 12.

W wyniku orientacyjnych obserwacji wzrostu na skosach agarowych stwierdzono zdolność wyrastania wszystkich wyizolowanych w sezonie wiosennym szczepów w temp. 1,8—3,9°C, w okresie od 1—6 dni po zaszczepieniu. Najwięcej szczepów dawało widoczny wzrost w niskiej temperaturze po upływie 3 dni od zaszczepienia. W wyższych stosowanych temperaturach, a mianowicie 17—20°C oraz 26—27°C, prawie wszystkie szczepy wyrastały już po jednym dniu.

Na podstawie codziennych obserwacji stwierdzono, że prawie wszystkie badane szczepy wyrastające powoli w lodówce, w okresie kilku zaledwie dni „dogoniły” (wyglądem) wzrost w wyższych temperaturach. Z zestawienia obserwacji wzrostu po 10 dniach wynika, że z wyjątkiem promieniowca i pleśni dla pasażowania omawianych szczepów prawie równie dobrą temperaturą jest temperatura około 3°C, jak i temperatura około 19°C. Na ogół mniej korzystną okazała się

Tabela 12

Obserwacje szczepów wyizolowanych w maju 1959 r. z hodowli w temp. 1,8—3,9° C

Nr szczepu	Obserwacje mikroskopowe				Obserwacja na skosach agarowych					
					Temp. 1,8—3,9°		Temp. 17—20°C		Temp. 26—27°	
					*	Wzrost po 10 dn.	*	Wzrost po 10 dn.	*	Wzrost po 10 dn.
Szczepy wyizolowane z torfu strukturalnego										
402	pałki	G—	ruchliwe	niesporujące	3	+++	1	+++	1	++
403	pałki	G—	nieruchliwe	niesporujące	3	+++	1	++	1	+
404	pałki	G—	ruchliwe	niesporujące	1	+++	1	+++	1	++
405	pałki	G—	nieruchliwe	niesporujące	1	+++	1	+++	1	++
406	pałki	G—	ruchliwe	niesporujące	3	+++	1	+++	1	++
409	pałki	G—	ruchliwe	niesporujące	3	++	1	+++	1	++
410	pałki	G—	ruchliwe	niesporujące	2	+++	1	+++	1	++
411	pałki	G—	ruchliwe	niesporujące	3	+++	1	+++	1	++
412	pałki	G—	nieruchliwe	niesporujące	4	+++	1	+++	1	+
413	pałki	G—	ruchliwe	niesporujące	1	+++	1	+++	1	++
414	pałki	G—	ruchliwe	niesporujące	1	++	1	+++	1	++
415	pałki	G—	ruchliwe	niesporujące	1	+++	1	+++	1	++
417	pałki	G—	nieruchliwe	niesporujące	3	+++	1	+++	1	++
419	pałki	G—	nieruchliwe	niesporujące	2	+++	1	+++	1	++
420	pałki	G—	ruchliwe	niesporujące	3	+++	1	+++	1	++
421	pałki	G—	ruchliwe	niesporujące	2	++	1	+++	1	++
422	pałki	G—	ruchliwe	niesporujące	2	++	1	+++	1	++
423	promie- niowiec		ruchliwe	niesporujące	6	śl. wzr.	2	+++	6	śl. wzr.
424	pałki	G+	ruchliwe	niesporujące	2	+++	1	+++	1	++
Szczepy wyizolowane z torfu rozpylonego										
300	pałki	G—	ruchliwe	niesporujące	2	++	1	+++	1	++
301	pałki	G—	ruchliwe	niesporujące	3	+++	1	+++	1	++
304	pałki	G—	ruchliwe	niesporujące	3	++	1	+++	1	++
305	pałki	G--	ruchliwe	niesporujące	4	+++	1	+++	1	++
306	pałki	G—	ruchliwe	niesporujące	2	++	1	+++	1	++
307	drożdże	G+			1	++	1	+++	1	+
308	pałki	G—	ruchliwe	niesporujące	2	+++	1	+++	1	++
309	pałki	G—	ruchliwe	niesporujące	1	+++	1	+++	1	++
310	pałki	G—	ruchliwe	niesporujące	3	+++	1	+++	1	++
311	pleśń				4	śl. wzr.	2	+++	8	+
312	pałki	G—	ruchliwe	niesporujące	3	++	1	+++	1	++
313	drożdże	G+	bezbarwne		2	++	1	+++	—	—
314	pałki	G+	ruchliwe	niesporujące	2	++	2	+++	2	++
315	pałki	G+	nieruchliwe	niesporujące	4	++	2	+++	2	++
316	pałki	G+	nieruchliwe	niesporujące	6	++	1	+++	1	++

Objaśnienie znaków: * po ilu dniach zaobserwowano wzrost ++ wzrost średni
+ wzrost słaby +++ wzrost dobry

temperatura około 27°C. Przytoczone wyniki są jednak zbyt powierzchowne aby określić dla poszczególnych szczepów temperaturę optymalną, zarówno w odniesieniu do szybkości wzrostu, jak i do masy wzrostu.

Wszystkie szczepy wyizolowane wiosną i jesienią z hodowli szalkowych w niskiej temperaturze pasażowane są na dwóch równoległych skosach agarowych, przy czym jeden skos przechowywany jest w lodówce, drugi do marca 1960 r. w piwnicy. Cały zestaw szczepów przeszczepiany jest co cztery tygodnie. Temperatura w lodówce i w piwnicy kontrolowana jest codziennie.

19 szczepów z torfu strukturalnego oraz 16 szczepów z torfu rozpylonego (szczepy wiosenne) przeszło przez 10 pasażów w lodówce (temp. ok. 3°C), oraz 10 pasażów w piwnicy w tym: 4 pasażów w temperaturze około 20°C, 2 pasażów — temp. około 14°C, 3 pasażów — temp. około 11°C, 1 pasaż — temp. około 9°C. Podczas każdego pasażu przeprowadzono dwukrotnie porównanie wzrostu szczepów hodowanych w lodówce i piwnicy.

Szczepy wyizolowane na jesieni w 1959 r. pasażowane są odpowiednio krócej, niż szczepy wyizolowane wiosną i w związku z tym nie podamy wyników obserwacji tych szczepów.

Oдноśnie szczepów wiosennych stwierdzono, że za wyjątkiem promieniowca i pleśni wszystkie pozostałe szczepy dają w lodówce wzrost co najmniej dostateczny, a w większości przypadków dobry. Pierwsze pasażów w piwnicy, podczas lata gdy temperatura wahała się w tym pomieszczeniu około 20°C, a nawet w krótkich okresach dochodziła do 22°C, doprowadziły do wyginięcia przy trzecim, względnie czwartym pasażu dziesięciu szczepów. Uzupełniono je przez doszczepienie z hodowli prowadzonych w lodówce. Gdy temperatura w piwnicy spadła poniżej 18°C wzrost szczepów przechowywanych dalej w temperaturach około 14, 11 i 9°C był na ogół lepszy niż w lodówce. Jednak prawie wszystkie szczepy niezależnie od tego, czy są prowadzone w piwnicy, czy w lodówce, rosną coraz słabiej. Osłabienie wzrostu jest bardzo powolne, ale wyraźne. Np. jeżeli początkowo pewien szczep rósł bardzo dobrze, obecnie daje wzrost dobry; jeżeli rósł dobrze, obecnie dostatecznie. Te szczepy, które dają po którymś kolejnym pasażu wzrost bardzo słaby, regenerowane są przez dodatkowy pasaż na agarze bulionowym. Jak dotychczas zregenerowaliśmy w ten sposób 3 szczepy z wynikiem dobrym. Promieniowiec i pleśń od początku pasażowania w lodówce dają po 4 tygodniach ślad wzrostu, jednak mogą być przeszczepiane i wzrost się powtarza. Po dwóch miesiącach na skosie wzrost pleśni i promieniowca jest dostateczny, ale bez zarodników. W wyższych temperaturach, te dwa szczepy dają wzrost dobry, lub nawet bardzo dobry. Fakt, że temperatura około 3°C jest nieodpowiednia dla promieniowców, znajduje potwierdzenie w obser-

wacji hodowli szalkowych. Wśród dużej ilości kolonii uzyskanych na szalkach trzymanyh w lodówce, nie zaobserwowaliśmy zupełnie kolonii promieniowców prócz tej, z której izolowano pasażowany następnie szczep.

Podsumowując wyniki badań, przeprowadzonych w 1959 r. nad mikroflorą torfu, i omówionych w tej części pracy możemy stwierdzić że udało nam się uzyskać szczepy o charakterze psychrofilnym, które mogą być hodowane w temp. około 3°C. Wśród szczepów tych nie posiadamy ani jednego o kształcie kulistym (koki czy sarcyny). Są to natomiast pałki nieprzetrwalnikujące. Temperatura około 3°C okazała się niekorzystna dla promieniowców i pleśni. Prawie wszystkie szczepy hodowane w niskiej temperaturze wykazują stopniowe osłabienie wzrostu spowodowane prawdopodobnie brakiem w stosowanej pożywce potrzebnych im czynników wzrostowych.

DYSKUSJA

W 1959 r. w *Annales de l'Institut Pasteur* ukazała się praca Rajka Strunjaka (7) pt. „Wpływ stosowanego rozcieńczenia na wyniki liczenia bakterii glebowych techniką szalkową”. W konkluzji tej pracy powiedziane jest, że wyniki liczenia bakterii glebowych, tylko wtedy mogą być uważane za wartościowe, jeżeli są uzupełnione dokładnym opisem stosowanej techniki i podaniem rozcieńczeń, które były podstawą do obliczeń. Uważamy, że wniosek ten jest całkowicie słuszny, natomiast mamy zastrzeżenia w stosunku do metody cytowanego autora, przy pomocy której uzyskuje on wielokrotnie większe wartości z przeliczeń bakterii na 1 g. s. m., gdy stosuje większe rozcieńczenia.

Pracując pięć lat metodą szalkową nie stwierdziliśmy zasadniczych odchyień przy stosowaniu przeliczeń z różnych rozcieńczeń, np. w 1959 r. zastosowaliśmy następujące rozcieńczenia torfów do szczepień: $1 \cdot 10^4$, $1 \cdot 10^5$, $1 \cdot 10^6$ i otrzymaliśmy następujące wyniki: rozcieńczenie $1 \cdot 10^4$ — przerośnięte, rozcieńczenie $1 \cdot 10^5$ — pierwsza szalka — 104 kolonie, druga — 88 kolonii, trzecia 91 kolonii, średnia z trzech szalek — wyniosła 94 kolonie; rozcieńczenie $1 \cdot 10^6$ — pierwsza szalka — 9 kolonii, druga — 7 kolonii, trzecia szalka — 11 kolonii, średnia z trzech szalek wyniosła 9 kolonii. Dziesięciokrotne rozcieńczenie materiału do szczepień dało w przybliżeniu dziesięciokrotne zmniejszenie ilości kolonii. Stosunki te kształtowały się podobnie we wszystkich stosowanych kombinacjach. Natomiast u Strunjaka (dane z cytowanej pracy, strona 260) podane są między innymi następujące wyniki: próbka gleby D 33, rozcieńczenie materiału do szczepienia: $1 \cdot 10^6$ średnia ilość kolonii — 32, rozcieńczenie $1 \cdot 10^7$ — średnia ilość kolonii 17, rozcieńczenie $1 \cdot 10^8$ — średnia ilość kolonii — 30. Z powyższego wynika, że autor nie otrzymuje proporcjonalnej zależności ilości kolonii od rozcieńczenia. Uważamy, że przyczyną tego stanu

jest niewłaściwe przygotowanie rozcieńczeń. Autor nie wypłukiwał pipety w danym rozcieńczeniu po przeniesieniu do niego materiału. Ponadto w każdym rozcieńczeniu stosował on kulki szklane do rozbijania materiału. W naszej pracy, tak jak i w pracy Strunjaka, przygotowując rozcieńczenia nie zmienialiśmy pipet, lecz płukaliśmy trzykrotnie w każdym rozcieńczeniu. Do rozcierania materiału używaliśmy przynajmniej dziesięciokrotnie więcej kulek szklanych niż Strunjak. W naszej metodzie „homogenizacja” była jednorazowa, ale przypuszczalnie całkowita. Rozcieranie materiału glebowego z małą ilością wody trwało 10 minut. Strunjak rozbijał materiał wielokrotnie i stopniowo. W największych stosowanych rozcieńczeniach otrzymywał najlepiej rozbity materiał.

Są badacze, którzy przyjmują z zastrzeżeniem zastosowanie ekstraktów glebowych do badań mikroorganizmów. Uważają oni, że pierwsze: skład tych ekstraktów jest nieznan. Na ten zarzut możemy odpowiedzieć, że dążymy do wyjaśnienia natury chemicznej substancji posiadających jakiegokolwiek znaczenie dla wzrostu mikroorganizmów. Poza tym do szeregu pożywek podstawowych dodaje się często ekstrakt mięsny, ekstrakt drożdżowy, surowicę i nikt nie wątpi w wartość tych pożywek. Następnym zarzutem jest zmienność ekstraktu glebowego. Mimo zmienności ekstraktu glebowego w okresie czteroletniej pracy, udało nam się stwierdzić powtarzające się prawidłowości w sensie jakościowym, np. ekstrakt niegotowany działa silniej stymulująco na wzrost bakterii glebowych niż ekstrakt gotowany, a sucha masa ekstraktu zawsze wykazuje własności stymulujące, co jest zgodne z danymi Bassalika (1) i Normana (6).

Norman w swojej pracy z 1958 r. badał wpływ różnych frakcji ekstraktów glebowych na rozwój mikroorganizmów glebowych. Ponieważ nie stosował on pożywki kontrolnej, mógł porównywać tylko działanie poszczególnych frakcji. Stwierdził on silniejsze, korzystne działanie ekstraktu glebowego niż suchej masy.

W ostatnich latach wzrosło zainteresowanie dotyczące mikroorganizmów o charakterze psychrofilnym. Ingraham (5) w 1959 r. podaje wyniki swoich badań nad wzrostem i metabolizmem bakterii psychrofilnych.

W naszej pracy wyizolowaliśmy z torfów kilkadziesiąt szczepów o charakterze psychrofilnym, jednak mamy zbyt mało danych, aby ustosunkować się do nowej definicji bakterii psychrofilnych, wprowadzonej przez cytowanego autora.

Streszczenie

W badaniach przeprowadzonych w 1959 r. przez zespół pracowników Katedry Fizjologii Roślin U. W. nad substancjami czynnymi wyciągów torfowych uwzględniono wpływ tych substancji na mikroflorę torfu

strukturalnego i rozpylonego, o charakterze mezofilnym i psychrofilnym. Stwierdzono, że w temp. $\approx 3^{\circ}\text{C}$. wyrasta w okresie 49 dni kilka do kilkunastu procent mikroorganizmów zdolnych do wzrostu w temp. $\approx 25^{\circ}\text{C}$. Wśród mikroorganizmów o charakterze psychrofilnym nie stwierdzono obecności form kulistych, promieniowców i pleśni.

Stosując metodę liczenia kolonii na szalkach zbadano wpływ wyciągów oraz frakcji wyciągów torfowych na wzrost mikroorganizmów. Frakcje wyciągów były następujące: sucha masa, suszona do stałej wagi w temp. 105°C ., sucha masa suszona do stałej wagi w temp. 40°C ., popiół, destylat otrzymywany w temperaturze wrzenia przy ciśnieniu atmosferycznym i destylat otrzymywany w temp. wrzenia $21\text{--}24^{\circ}\text{C}$. pod ciśnieniem $14\text{--}15$ mm Hg. Badania przeprowadzono w sezonie wiosennym i jesiennym — przy czym w sezonie wiosennym stosowano wyciągi i frakcje wyciągów wyjaławiane temperaturą, w sezonie jesiennym wyciągi i frakcje wyciągów (prócz popiołu i części destylatu) wyjałowiono tlenkiem etylenu. Potwierdzono stymulujące działanie wyciągów torfowych na rozwój mikroflory torfu o charakterze mezofilnym i stwierdzono, że wyciągi te działają również korzystnie na rozwój mikroorganizmów o charakterze psychrofilnym. Wykazano po raz pierwszy stymulujące działanie suchej masy wyciągów, zachowujące od około 30 do około 40% aktywności wyciągów w przypadku hodowli w termostacie i od około 20 do około 76% w przypadku hodowli w lodówce. W badaniach w 1959 r. stwierdzono nieznaczny wpływ, lub brak wpływu na rozwój mikroorganizmów torfowych popiołu, oraz destylatu wyciągów torfowych. W związku z powyższym wyprowadzono wniosek, że główne znaczenie czynne w wyciągach torfowych posiadają substancje organiczne i to w stanie rozpuszczonym lub koloidalnym.

Stwierdzono, że 10-krotne zmniejszenie stężenia glukozy lub całkowite jej ominięcie w pożywkach z wyciągami torfowymi powoduje na ogół zmniejszenie ilości wyrastających kolonii mikroorganizmów torfowych, względnie pozostaje bez wpływu. W pożywkach z suchą masą wyciągów zmniejszenie stężenia glukozy lub brak glukozy wpływa na zwiększenie ilości wyrastających kolonii.

W temperaturze $\approx 3^{\circ}\text{C}$. wyizolowano 43 szczepy w tym jeden szczep promieniowca, jeden szczep pleśni, dwa szczepy drożdży i 39 szczepów niesporujących pałek. Za wyjątkiem promieniowca i pleśni wszystkie pozostałe szczepy dają w temp. $\approx 3^{\circ}\text{C}$. wzrost conajmniej dostateczny lub dobry.

LITERATURA

1. Bassalik K., Neugebauer J.: *Acta Soc. Bot. Pol.* VIII, 3/4, 213 (1931).
2. Bassalik K., Janota L., Niewiarowska J., Fiuczek M., Halweg H.: *Zeszyty Problem. Postęp. Nauk Roln.* 2, 122 (1956).
3. Bassalik K., Janota-Bassalik L., Niewiarowska J., Olczyk C.: *Zeszyty Problem. Postęp. Nauk Roln.*, 10, 121 (1957).
4. Bassalik K., Janota-Bassalik L., Niewiarowska J., Olczyk C.: *Zeszyty Problem. Postęp. Nauk Roln.* 13, 153 (1958).
5. Ingraham J. L., a. Bailey G. F., *J. Bact.* 77 (5), 609 (1959).
6. Norman James: *Can J. Microb.*, 4 (4), 363 (1958).
7. Strunjak Rajka: *Annales de l'Institut Pasteur* 97 (2), 259 (1959).

К. Бассалик, Л. Янога-Бассалик, Ц. Ольчик, Г. Гальвер

ВЛИЯНИЕ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ТОРФЯНЫХ ВЫТЯЖЕК НА РАЗВИТИЕ МИКРОФЛОРЫ СТРУКТУРНОГО И РАСПЫЛЕННОГО ТОРФА

(часть II)

Кафедра физиологии растений, Отдел микробиологии Варшавского
Университета.

Резюме

В проведенных в 1959 году коллективом сотрудников Кафедры физиологии растений Варшавского университета исследованиях с активными веществами торфяных вытяжек, учитывалось влияние этих веществ на психрофильную и мезофильную микрофлору структурного и распыленного торфа. Было установлено, что в температуре около 3°C развивается в течение 49 суток от нескольких до двенадцати процентов микроорганизмов способных к росту в температуре около 25°C. Среди психрофильных микроорганизмов не установлено наличия шаровидных форм, актиномицетов и плесеней.

При применении метода счёта колоний на чашечках исследовалось влияние торфяных вытяжек и их фракции на рост микроорганизмов. Фракции вытяжек были следующие: сухая масса сушеная до постоянного веса в температуре 105°C, сухая масса сушеная до постоянного веса в температуре 40°C, зола, дистиллат получаемый в температуре кипения при атмосферном давлении и дистиллат получаемый в температуре кипения 21—24°C под давлением 14—15 мм ртут. Исследования проводились в весенний и осенний периоды, причем в весенний период использовывались вытяжки и фракции вытяжек стерилизуемые температурой, а в осенний период — вытяжки и фракции вытяжек (кроме золы и части дистиллата) стерилизуемые окисью этилена. Было подтверждено действие торфяных вытяжек на развитие мезофильной микрофлоры торфа а также установлено, что эти вытяжки благоприятно действуют также на развитие психрофильных микроорганизмов. Обнаружено впервые стимулирующее действие сухой массы вытяжек, сохраняющее от около 30% до около 40% активности вытяжек при выращивании в термостате, и от около 20% до около 76% при выращивании в холодильнике. В исследованиях 1959 года было устано-

влено незначительное влияние или отсутствие влияния на торфяные микроорганизмы эолы и дистиллата торфяных вытяжек. В связи с этим был сформулирован вывод, что основное активное значение имеют в торфяных вытяжках органические вещества в растворенном или коллоидальном состоянии.

Было установлено, что 10-кратное снижение концентрации глюкозы или ее полное отсутствие в питательных средах с торфяными вытяжками влияет на уменьшение количества развивающихся колоний торфяных микроорганизмов или вообще не оказывает влияния. В питательных средах с сухой массой вытяжек снижение концентрации глюкозы или отсутствие глюкозы влияет на увеличение количества развивающихся колоний.

При температуре около 3°С было выделено 43 штамма, в том числе один штамм актиноциета, один штамм плесени, два штамма дрожжей и 39 штаммов необразующих спор палочек. За исключением актиноциета и плесени все остальные штаммы отличаются в температуре около 3°С довольно хорошим или по крайней мере достаточным ростом.

THE INFLUENCE OF ACTIVE SUBSTANCES OF PEAT EXTRACTS
UPON THE PEAT MICROFLORA DEVELOPMENT

Summary

In the investigations carried out in 1959 by a team of workers of the Chair of Plant Physiology at the University of Warsaw, on active substances of peat extracts, the influence of these substances on the mesophilic and psychrophilic microflora in structural and pulverized peat was taken into consideration.

Amongst psychrophilic microorganism no spherical forms, actinomycetes or fungi were found.

The influence of peat extracts and its fractions on growth of microorganism was investigated through counting colonies on Petri dishes.

The following extract fractions were used: dry matter dried until constant weight in temperature of 105°C was reached, dry matter dried until constant weight in temperature 40°C was obtained, ashes, distillation product obtained in boiling temperature under atmospheric pressure and a distillation product obtained in boiling temperature 21—24°C under 14—15 mm Hg pressure.

Investigations were carried out in spring and in autumn season. In spring, extracts and extracts fractions sterilized by high temperature were used while in autumn those (excepting ashes and distillation parts) — by ethylene oxide. Stimulating action of peat extracts upon peat mesophilic microflora was confirmed as well as favourable influence on the development of psychrophilic microorganism having low requirement of temperature was found.

For the first time stimulating cation of extract dry matter was proved. Namely 30% up to about 40% activity of extracts was left in thermostat cultures while 20 up to 76% in those kept in refrigerator.

In the investigations carried out in 1959 it was found that there was hardly an influence of ash and peat extract distillates upon peat microorganisms development.

This resulted in a conclusion that organic dissolved or colloidal substances in peat extracts are the main active components.

Furthermore it was observed that tenfold decrease of glucose concentration or its total omission in culture medium with peat extracts causes generally a decrease of the number of growing colonies, or no influence upon it whatsoever. In culture media with a peat extracts dry matter, decrease of glucose or its absence causes an increase in number of growing colonies.

43 strains, including one of actinomyces one of fungi two strains of yeast and 39 strains of non sporulating bacteria were isolated in temperature of 3°C. With the exception of actinomyces and fungi all the rest of strains grow good or at least satisfactory in temperature of 3°C.