

ВЛИЯНИЕ ДЕСОРБЦИИ ПОЧВЕННЫХ БАКТЕРИЙ НА ИХ КОЛИЧЕСТВО В РАЗЛИЧНЫЕ СЕЗОНЫ

П. РАХНО,

кандидат биологических наук

Э. ПЯРСИМ

В некоторых предыдущих наших статьях (Рахно, 1960, 1961), а также в работах ряда других авторов (Сопп, 1912; Левинская, Мамичева, 1936 и др.) приведены данные, свидетельствующие о тенденции повышения количества почвенных бактерий зимой, в мерзлых почвах, по сравнению с другими сезонами. В литературе имеются указания (Войткевич, 1932 и др.), что подобное явление может быть объяснено десорбцией бактерий от почвенных частиц в условиях низких температур. Такого мнения придерживались и мы в начале своих опытов. В дальнейшем, однако, было установлено, что бактерии в замерзших почвах могут активно размножаться, так, например, в лабораторных условиях при добавлении в почву питательных веществ. Все-же это не исключает возможности, что наряду с другими причинами снижение степени адсорбции и, в силу этого, лучшая смываемость бактерий с почвенных частиц может оказать кажущееся влияние на увеличение количества почвенных бактерий при низких температурах.

Некоторые предварительные лабораторные опыты, при которых наблюдалось повышение общего количества бактерий при смачивании высушенной почвы стерильной водой, как-будто подтверждают подобную возможность. Однако не исключена и другая возможность, что увлажнение очень сухой почвы может вызвать быстрое активное размножение бактерий.

Чтобы подробнее разобраться в этом вопросе мы провели ряд анализов и опытов, в первую очередь серию микробиологических анализов почв биометров в течение двух лет.

Материалы и методика

В начале опытов было установлено, что бактериальные клетки могут в воде долго, в течение многих часов, оставаться во взвешенном состоянии, не оседая на дно. При взбалтывании почвенной пробы в воде взмученная почва, особенно крупного механического состава, оседает сравнительно быстро, увлекая за собой и адсорбированные бактерии. После оседания почвенных частиц те бактерии, которые не были адсорбированы, остаются во взвешенном состоянии. На подобное явление указывали уже Н. Н. Худяков (1926) и его сотрудники Е. В. Дианова и А. А. Ворошилова (1925).

Учитывая это, можно предполагать, что если провести анализы сразу после взбалтывания и потом снова через некоторый промежуток вре-

Таблица 1

Влияние десятиминутного отстаивания на количество азотобактера в почве

Дата анализа, сезоны	5 см горизонт						25 см горизонт					
	Температура, °C	Влажность, %	Клеток азотобактера на 1 г сухой почвы при посеве				Температура, °C	Влажность, %	Клеток азотобактера на 1 г сухой почвы при посеве			
			сразу		после 10 мин				сразу		после 10 мин	
			1	2	1	2			1	2	1	2
6. IX 1957	12,5	26,9	54	914	13	360	13,5	26,6	243	302	40	69
11. X "	8,0	27,5	246	445	68	153	8,2	24,4	274	353	180	81
25. X "	5,5	27,1	504	414	191	51	7,5	27,6	461	232	195	14
15. XI "	2,5	26,1	348	464	121	273	5,1	24,8	241	264	147	13
26. XI "	0,5	26,2	309	369	67	68	3,5	25,4	229	227	94	67
12. IX 1958	11,2	26,1	162	149	40	13	11,8	26,3	409	459	68	54
19. IX "	9,8	24,5	145	226	13	66	10,4	25,3	364	239	135	93
17. X "	6,0	27,1	179	273	41	55	7,8	29,4	592	740	98	427
31. X "	4,0	26,7	595	385	67	55	7,1	28,4	559	531	84	182
28. XI "	1,1	27,1	463	290	218	97	3,8	27,4	451	472	177	111
Средняя:	6,4	26,5	301	393	83	119	7,9	26,6	382	382	122	111
13. XII 1957	0,1	26,4	307	207	67	55	1,8	26,5	284	260	95	164
20. XII "	0	25,6	216	160	27	40	0,8	28,1	392	451	140	164
28. XII "	4,0	27,0	189	222	54	66	3,0	29,0	479	563	211	113
10. I 1958	-4,0	33,6	340	213	89	45	0	24,9	440	266	26	27
17. I "	-0,2	35,4	295	185	31	30	0,3	26,8	509	421	108	58
23. I "	0,8	28,9	222	285	69	100	0,7	32,6	280	404	88	90
28. I "	-0,2	37,4	486	320	117	75	0,4	23,3	327	338	60	162
7. II "	-1,2	42,0	284	285	70	56	0,4	26,9	590	354	205	68
14. II "	-0,2	42,3	387	250	34	72	0,4	26,1	393	608	41	149
21. II "	-1,1	42,7	300	183	83	18	0,2	27,7	191	443	27	110
Средняя:	-0,2	34,1	303	231	64	56	0,8	27,2	389	411	100	110
6. III 1958	-0,1	51,7	365	259	86	80	0	40,8	135	85	17	17
20. III "	-1,5	42,9	242	249	69	160	0	43,7	267	248	107	61
11. IV "	0	39,9	264	300	18	79	0	40,4	257	261	48	77
28. IV "	1,0	28,0	165	224	80	126	0	37,2	386	344	157	86
21. V "	9,2	27,8	263	263	97	83	0	30,1	442	726	171	185
31. V "	10,2	26,4	191	297	41	81	10,1	28,8	578	559	395	224
3. III 1959	0,2	28,5	430	520	112	127	0,5	34,1	523	439	104	154
10. IV "	3,2	27,0	435	306	152	95	3,0	31,1	527	510	217	364
22. V "	7,6	23,5	253	317	65	211	8,4	25,4	618	501	175	267
31. V "	5,5	28,6	150	214	27	170	5,5	29,8	584	183	128	48
Средняя:	3,5	32,3	276	295	75	121	2,8	33,1	432	386	152	148
6. VI 1958	8,6	27,2	342	165	178	138	9,6	27,7	289	556	69	306
17. VI "	11,0	25,0	213	387	40	27	11,0	26,3	547	377	213	188
27. VI "	13,0	24,8	345	360	80	53	15,0	26,3	502	366	195	204
4. VII "	15,3	24,4	287	268	78	94	14,1	24,6	367	470	144	242
23. VII "	14,0	27,1	248	286	40	54	13,1	27,7	362	426	264	247
22. VIII "	12,4	25,9	174	326	54	54	13,1	25,8	186	582	53	205
29. VIII "	12,9	25,4	202	279	67	93	13,0	25,6	390	499	109	229
15. VI 1959	12,0	24,0	240	299	84	90	13,1	24,1	350	335	225	85
22. VII "	12,5	25,1	219	350	40	53	14,2	24,5	547	366	123	204
29. VIII "	12,3	25,2	287	286	78	54	12,3	25,1	502	495	285	229
Средняя:	12,4	25,4	256	301	74	71	12,9	25,8	404	442	168	214

мени, при котором большинство почвенных частиц успеет осесть, то можно определить степень адсорбции бактерий по разнице между количеством бактерий при первом и втором анализах.

Для анализов мы использовали дерново-глеевую, легкую супесчаную почву из нашего биометра (бездонный лизиметр с просеянной и тщательно перемешанной почвой) с двух повторностей и двух горизонтов (в 5 и 25 см). В пробах определили количество азотобактера сразу после взбалтывания и затем снова после десятиминутного отстаивания. Предварительные опыты показали, что количество бактерий после десятиминутного отстаивания песчаной почвы уменьшается почти максимально, так что при дальнейшем отстаивании до нескольких часов существенного изменения в количестве бактерий уже не наблюдается. Азотобактер в качестве тест-объекта был избран как сравнительно сильно адсорбируемый микроорганизм, который притом дает весьма типичные колонии и, наконец, его содержание в данной почве невелико и позволило провести посев на питательную среду после первого-же разведения (10 г почвы на 100 мл воды).

После взбалтывания песчаная почва оседала в течение десяти минут почти полностью, после чего в воде оставались только имеющиеся в небольшом количестве илистые частицы и отмытые взбалтыванием от почвенных частиц бактерии. После десятиминутного отстаивания брали пробы пипеткой всегда с одинаковой глубины (1 см от поверхности), соблюдая при этом осторожность, чтобы не взмутить осевший осадок. Проба высевалась на среду Федорова в чашки Петри и, после выращивания колоний азотобактера, производили их подсчет.

В дальнейшем описанную методику стали применять и для определения степени адсорбции других почвенных бактерий. Было установлено, что десятиминутное отстаивание можно провести только с первого разведения, а дальнейшие разведения можно пересевать уже без отстаивания. Отстаивание только первого разведения оказывается вполне достаточным для определения степени адсорбции.

Применяемая методика приемлема для определения степени адсорбции бактерий частицами почвы в почвах крупного механического состава (песок), которые быстро оседают. При таких почвах нет надобности долго отстаивать болтушку, что может вызвать нежелательные сопутствующие явления, например, размножение бактерий во время отстаивания.

Результаты

Данные анализов, проведенных в течение двух лет с полевыми почвами для выяснения влияния отстаивания на степень адсорбции азотобактера, приведены в табл. 1.

Бросается в глаза большая разница между количеством клеток азотобактера при посеве сразу после взбалтывания и через десятиминутное отстаивание. В последнем случае клеток азотобактера значительно меньше.

Несмотря на наблюдаемые различия, нельзя было установить явного влияния сезонов на эти различия, и определение зависимости степени адсорбции от сезонности анализов оказалось возможным только при помощи многофакториального дисперсионного анализа полученных данных. Результаты такого анализа приведены в табл. 2.

Эти данные подтверждают, что основное значение в вариации опытных данных имеет само отстаивание почвенной суспензии, другими словами: адсорбция бактерий на почвенных частицах. Значение этого фак-

Таблица 2

**Результаты многофакториального дисперсионного анализа
микробиологических анализов естественных почв**

Тип варьирования S	Цена вариа- ции	Число степе- ней сво- боды n	Диспер- сия σ^2	F	F кри- тиче- ский (Fp 5%)
Тотальный	86 684	319	—	—	—
Отстаивания	45 267	1	45 267	553,37	3,84
Горизонтов	5 645	1	5 645	69,10	3,84
Повторности опытов	5 752	3	1 917	23,43	2,61
Сезонов	561	3	187	2,29	2,61
Отдельных анализов	7 214	39	185	2,30	1,43
Остаточный	22 245	272	81,8	—	—

тора превосходит примерно в 25 раз возможность погрешности определения. Второстепенное значение имеют различия между горизонтами и между отдельными повторностями взятых почвенных проб. Еще меньше значение различий между отдельными анализами и, наконец, меньше всего значение влияния различий между сезонами, которое не достигает предела возможной погрешности определения.

При этих опытах не было возможности отдельно анализировать значение температуры и влажности почвы, поскольку эти факторы сильно колебались, что затрудняло факториальный анализ. Чтобы подробнее исследовать значение влияния температуры и влажности на адсорбцию и десорбцию бактерий, мы проводили лабораторные опыты с выдерживанием почвы различной влажности при различных температурах, проводя затем анализы по вышеописанной методике. Данные двух лабораторных опытов на изменение степени адсорбции азотобактера приведены в табл. 3.

Таблица 3

**Влияние температуры и влажности почвы
на изменение коэффициента адсорбции
азотобактера при десятиминутном отстаивании в лабораторных опытах**

Температура почвы, °C	Влажность почвы (от общего веса), %			
	1-й опыт			
	0,8	9,3	17,0	26,2
—6,0	60	77	61	71
9,0	77	13	39	12
17,0	55	42	79	5
30,0	58	32	53	0
	2-й опыт			
	2,19	12,3	17,8	24,0
От —6,0 до —8,5	98	94	92	77
От 3 до 6	65	87	79	76
17,0	93	94	89	86
27,0	77	91	83	92

В этой и последующей таблицах не приведены количества бактерий до и после десятиминутного отстаивания. Вместо этого дан коэффициент адсорбции, который выражает разницу между этими числами, считая исходное количество равным 100%. Например, вместо указанного в табл. 1, первой строке (6. IX 1957), исходного количества 54 и после 10 минут — 13, можно привести коэффициент 76, вместо 914 и 360 — коэффициент 61 и т. д. Математический анализ полученных в лабораторном опыте данных приведен в табл. 4.

В этих опытах в одном случае значение температуры оказалось достоверным для объяснения изменения степени адсорбции, а в другом значение влажности при-

Таблица 4

Результаты многофакториального дисперсионного анализа данных лабораторных опытов с азотобактером

Тип варьирования <i>S</i>	Цена вариации	Число степеней свободы <i>л</i>	Дисперсия σ^2	<i>F</i>	<i>F</i> критический (<i>F</i> _p 5%)
1-й опыт					
Тотальный	12 114	15	—	—	—
Влажности	4 068	3	1356	2,279	3,86
Температуры	2 691	3	897	1,507	3,86
Остаточный	5 355	9	431	—	—
2-й опыт					
Тотальный	1 158	15	—	—	—
Влажности	192	3	64	1,231	3,86
Температуры	495	3	165	3,170	3,86
Остаточный	471	9	52	—	—

ближалось к достоверности. На основании этих опытов можно считать, что температура и влажность в некоторых случаях могут оказывать влияние на степень адсорбции. Ниже всего адсорбция была в первом опыте при температуре +9°C и при втором при +3 до +6°.

Данные лабораторных опытов с отстаиванием на степень адсорбции нескольких физиологических групп почвенных бактерий приведены в табл. 5 и математический анализ этих данных в табл. 6 (см. стр. 272).

Здесь довольно значительное влияние на степень адсорбции наблюдается только у денитрифицирующих бактерий, именно при самой высокой (28—30°) температуре. В остальных случаях такое влияние оставалось в пределах погрешности опыта.

Выводы

1. Выработана методика, позволяющая определить степень адсорбции почвенных бактерий в почвах с крупным механическим составом (в песочных и легких супесчаных почвах).

2. Степень адсорбции азотобактера существенно не изменяется в различные сезоны года.

3. Лабораторные опыты показали, что температура почвы в некоторых случаях может воздействовать на изменение степени адсорбции почвенных бактерий. Степень адсорбции снижалась у азотобактера при температурах от 3 до 9°C и у денитрифицирующих бактерий при 28—30°. Влияние температуры на степень адсорбции общего количества бактерий и количество бактерий большинства других физиологических групп почвенных бактерий оказалось ничтожно малым. Влияние влажности почвы ни в одном опыте не достигало пределов достоверности.

4. Ни в одном случае не удалось установить снижения степени адсорбции бактерий при температуре ниже 0°, т. е. в мерзлых почвах. Поэтому нельзя считать тенденцию увеличения количества бактерий зимой в мерзлых почвах следствием десорбции бактерий из-за влияния низких температур или повышенной влажности.

Таблица 5

Влияние температуры и влажности почвы на изменение коэффициента некоторых почвенных бактерий при десятиминутном отстаивании в лабораторных опытах

Температура почвы, °C	Влажность почвы, %			
	8,4—8,9	14,1—14,5	20,2—20,4	32,2—35,0

Общее количество бактерий

От —1 до —2	34	9	28	43
6	0	20	45	32
От 28 до 30	20	33	41	6

Азотобактер

От —1 до —2	53	58	22	44
6	77	30	57	35
От 28 до 30	91	54	36	67

Нитрифицирующие бактерии

От —1 до —2	95	90	90	0
6	90	81	91	76
От 28 до 30	76	0	59	59

Денитрифицирующие бактерии

От —1 до —2	72	90	97	94
6	90	0	71	36
От 28 до 30	65	0	0	0

Аэробные целлюлозо-разлагающие бактерии

От —1 до —2	90	80	0	90
6	0	0	76	0
От 28 до 30	81	0	0	92

Таблица 6

Результаты многофакториального дисперсионного анализа данных лабораторных опытов с различными почвенными бактериями

Тип варьирования S	Цена вариации	Число степеней свободы n	Дисперсия σ^2	F	F критический (Fp 5%)
--------------------	---------------	--------------------------	----------------------	---	-----------------------

Общее количество бактерий:

Тотальный	2 465	11	—	—	—
Влажности	712	3	237	0,832	4,76
Температуры	41	2	21	0,074	5,14
Остаточный	1 712	6	285	—	—

Азотобактер

Тотальный	4 430	11	—	—	—
Влажности	2 067	3	689	2,426	4,76
Температуры	658	2	329	1,158	5,14
Остаточный	1 705	6	284	—	—

Нитрифицирующие бактерии

Тотальный	12 410	11	—	—	—
Влажности	3 125	3	1 042	0,936	4,76
Температуры	2 605	2	1 303	1,171	5,14
Остаточный	6 680	6	1 113	—	—

Денитрифицирующие бактерии

Тотальный	18 672	11	—	—	—
Влажности	3 399	3	1 133	1,392	4,76
Температуры	10 392	2	5 196	6,383	5,14
Остаточный	4 881	6	814	—	—

Аэробные целлюлозоразлагающие бактерии

Тотальный	21 335	11	—	—	—
Влажности	3 128	3	1 043	0,448	4,76
Температуры	4 252	2	2 126	0,914	5,14
Остаточный	13 955	6	2 326	—	—

ЛИТЕРАТУРА

- Войткевич А. Ф., 1932. Курс микробиологии для с.-х. вузов, стр. 182. М.—Л.
 Дианова Е. В., Ворошилова А. А., 1925. Научно-агроном. ж., № 9, 520—542.
 Левинская Т. Б., Мамичева И. С., 1936. Архив биол. наук, т. 43, вып. 2—3.
 Рахно П. Х., 1960. Микробиология, т. XXIX, вып. 2, 229—233.
 Рахно П. Х., 1961. Изв. АН ЭССР. Сер. биол., № 3, 241—249.
 Худяков Н. Н., 1926. Почвоведение, № 2.
 Сопп Н. J., 1910, 1912, 1914. Zbl. Bakteriologie, Abt. 2, 28: 422—434; 32: 70—97; 42: 510—519.

MULLABAKTERITE DESORPTSIOONI MÕJU NENDE ARVUKUSELE ERI AASTAEGADEL

P. Rahno,
bioloogiakandidaat

E. Pärsim

Resümee

Mitmed uurijad, kaasa arvatud meie, on täheldanud talvel, külmunud muldades, mullabakterite arvukuse kasvutendentsi. Kirjanduses leidub andmeid, mille järgi selle põhjuseks on bakterite desorbeerumine mullaosakeste küljest kas temperatuuri või niiskuse muutumise tõttu mullas.

Oma artiklis esitame uurimistulemusi ühe võrdlemisi tugevasti adsorbeeruva mullabakteri, *Azotobacter*'i, adsorptsiooniastme muutumise kohta eri aastaegadel looduslikes tingimustes. Samal ajal jälgisime laboratoorsetes tingimustes mõnede teiste mullabakterite adsorptsiooniastme muutumist temperatuuri ja niiskusesisalduse kõikumise puhul mullas. Saadud katseandmeid analüüsisime statistiliselt.

Meie töö tulemused näitavad, et eri aastaajad ei mõjuta oluliselt *Azotobacter*'i adsorptsiooniastet. Küll võivad *Azotobacter*'i ja denitrifitseerijate bakterite adsorptsiooni mõningal määral mõjutada mullatemperatuuri muutused. Sel puhul langeb adsorptsiooniaste just kõrgemate temperatuuride mõjul, mitte aga külmunud mullas. Mulla niiskusesisalduse mõju bakterite adsorptsioonile oli ebaoimeline.

Esitatu põhjal võib konstateerida, et bakterite hulk külmunud muldades ei olene nende desorptsioonist.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Eksperimentaibioloogia Instituut

Saabus toimetusse
19. I 1963

THE INFLUENCE OF DESORPTION OF SOIL BACTERIA ON THEIR QUANTITY IN DIFFERENT SEASONS

P. Rahno, E. Pärsim

Summary

In our earlier works, as well as in contributions of other authors data were presented concerning the phenomenon of tendency to an increase in the number of soil bacteria in frozen soils in winter. Moreover, there were suggested some assumptions according to which this phenomenon may be conditioned by the desorption of bacteria from the soil particles due to changes in soil temperature and moisture. In this paper we present statistically analysed data concerning the alterations in the adsorption degree a) of the *Azotobacter*, a soil bacterium with a relatively high ability to be absorbed by soil particles, in the natural conditions of different seasons, and b) of some other soil bacteria in laboratory conditions of different soil temperatures and moisture.

It has been demonstrated that the adsorption degree of the *Azotobacter* is not sufficiently influenced by seasonal changes. However, it, as well as the adsorption degree of the denitrifiers may to a some extent be influenced by the changes in soil temperature. A drop in the adsorption degree of the bacteria has been observed in the conditions of higher temperatures, but not in frozen soil, as it was expected in earlier assumptions. The influence of the changes in soil moisture proved to be insignificant. On the grounds of these observations it may be concluded that the increase in the number of bacteria in frozen soils is not conditioned by the desorption of bacteria in winter.

Academy of Sciences of the Estonian S.S.R.,
Institute of Experimental Biology

Received
Jan. 19th, 1963