

HENRYK ZIMNY

Zakład Ekologii Roślin SGGW
Warszawa

Badania nad występowaniem *Clostridium* w glebach łąkowych

Clostridium jest mikroorganizmem szeroko rozprzestrzenionym w glebach.

Zdawać by się mogło, że jako organizm ściśle beztlenowy najlepsze warunki rozwojowe znajduje w niższych warstwach gleby, bardziej wilgotnych i mniej przewiewnych, jednak grupuje się podobnie jak i inne mikroorganizmy w poziomie próchnicznym gleb (Mantieffiel i Kozłowa 1955, Rybkińska 1960, Zimny 1960). W warstwie powierzchniowej gleby stymulująco na rozwój *Clostridium* wpływa obecność azotobaktera oraz wydzieliny korzeniowe niektórych gatunków roślin naczyniowych (Woźniakowska 1948a, 1948b, Szklar 1956, Strzelczyk 1958b, Gołowaczewa 1959, Rybkińska 1960).

Dotychczasowe badania nad występowaniem *Clostridium* odnoszą się głównie do gleb uprawnych i leśnych. Brak jest natomiast opracowań tego zagadnienia jeśli chodzi o gleby łąkowe.

Celem niniejszej pracy było zbadanie występowania *Clostridium* w glebach łąkowych w zależności od niektórych czynników glebowych i szaty roślinnej.

Opis zbadanego materiału i użytych metod

W celu zbadania rozmieszczenia *Clostridium* w glebach łąkowych pobrano i zanalizowano 113 próbek z różnych łąk pięciu województw: biłostockiego z doliny Supraśli (33 próbki) i doliny Narewki (18 próbek), kieleckiego z doliny Nidy w rejonie Pińczowa (7 próbek), warszawskiego z torfowiska „Biel” koło Otwocka (44 próbki), koszalińskiego w rejonie Łaz i Jezierzan (10 próbek) i lubelskiego z pojezierza Łęczyńsko-Włodawskiego (1 próbka).

Badania prowadzono w okresie sezonu wegetacyjnego, pobierając próbki średnie z poziomu darniowego różnych zbiorowisk roślinnych. Gleby z województw koszalińskiego, kieleckiego i lubelskiego pobrano

Tabela I

Liczebność *Clostridium* w poziomie darniowym gleb łąkowych
 Number of *Clostridium* in surface layer of meadow soils

Typ gleby Type of soil	Ilość zbadanych prótek gleb Number of samples examined	% wody w próbce % os water in sample	% substancji organicznej w suchej masie % of organic substance in dry mass	pH	Ilość próbek, w których stwierdzono <i>Clostridium</i> w tysiącach na 1 g świeżej gleby Number of samples with <i>Clostridium</i> in 1000s per 1 gr. of fresh soil			
					1 000 000	100 000	10 000	1000
Torf niski Low peat	49	66—90	47—88	5,1—7,2	1	27	21	0
Organiczno-mineralna Organo-mineral	20	45—79	20—42	5,4—7,9	2	10	7	1
Mineralna Mineral	11	8—33	8—16	4,0—5,5	0	2	7	2
Ogółem General	80				3	39	35	3
%	100				3,75	48,75	43,75	3,75

jednorazowo (1958 r.). Natomiast z białostockiego i warszawskiego — przez dwa sezony wegetacyjne (1958—1959 dol. Supraśli, 1959—1960 dol. Narutki). Całość materiału zebrano w okresie trzech lat (1958—1960).

Nadto na glebach torfowych torfowiska „Biel“ wykonano wstępne badania nad wpływem nawożenia na stan *Clostridium*, korzystając z doświadczeń prowadzonych przez dra R. Moraczewskiego z Zakładu Uprawy Łąk i Pastwisk SGGW. Doświadczenie nawozowe zostało założone w 1959 r. metodą bloków losowych w pięciu pasach i pięciu powtórzeniach na poletkach o powierzchni 60 m² w następujących kombinacjach: 1) kontrolne, 2) K, 3) KP, 4) KPN, 5) KPCa, 6) KPZn, 7) KPMn, 8) KPCu, 9) KPB, 10) KPMo i 11) obornik. W jesieni 1959 r. stosowano obornik i wapniak, pozostałe nawozy wiosną 1960 r. Nawozy stosowano w następującej ilości:

- 25 kg/ha P₂O₅ w postaci superfosfatu pylistego,
- 120 kg/ha K₂O w postaci soli potasowej 40%,
- 60 kg/ha N w postaci saletry amonowej,
- 10 q/ha wapniaku mielonego (CaCO₃),
- 30 kg/ha siarczanu cynku (ZnSO₄·7H₂O),
- 60 kg/ha chlorku magnezowego (MnCl₂·4H₂O),
- 60 kg/ha bezwodnego siarczanu miedzi (CuSO₄),
- 30 kg/ha boraksu (Na₂B₄O₇·2H₂O),
- 30 kg/ha molibdenianu sodu (Na₂MoO₄·2H₂O),
- 400 q/ha obornika.

W badaniach laboratoryjnych stosowano następujące metody:

Obecność *Clostridium* sprawdzono makroskopowo przez gazowanie oraz mikroskopowo wykonując preparaty barwione płynem Lugola. Liczebność *Clostridium* oznaczano w słupach agarowych z sacharozą i wyciągiem glebowym, metodą rozcieńczeń. Hodowlę prowadzono w termostacie w temperaturze 28°C w ciągu 6 dni.

Liczebność azotobaktera (torfowisko „Biel“) oznaczano w pożywce płynnej Beijersincka — metodą rozcieńczeń.

Nadto w próbkach gleb oznaczono: 1) wilgotność — susząc je do stałej wagi w temperaturze 105°C, 2) zawartość substancji organicznej — przez ubytek żarzenia w piecu mulfonowym w temperaturze 400°C, 3) pH gleby — potencjometrycznie w roztworze wodnym gleby.

Wyniki przedstawiono na figurach 1 i 2 i w tabelach I—IV.

W glebach łąkowych *Clostridium* występowało w ilości od 1 tys. do 1 mln w przeliczeniu na g świeżej gleby (tab. I). W 93% gleb znaleziono ich od 10 tys. do 100 tys. organizmów, a tylko w 7% maksymalne i minimalne ilości (fig. 1, tab. I).

Wpływ niektórych czynników na występowanie *Clostridium*

Typ gleby. W torfach niskich i glebach organiczno-mineralnych, zwłaszcza madach, znaleziono znacznie więcej *Clostridium* niż w glebach mineralnych (tab. I). W glebach tych górna granica beztlenowych asymilatorów wolnego azotu wynosiła 1 mln, dolna zaś 10 tys. na g świeżej gleby. W glebach mineralnych natomiast górna granica ilości *Clostridium* sięgała 100 tys., dolna 1 tys.

Tabela II

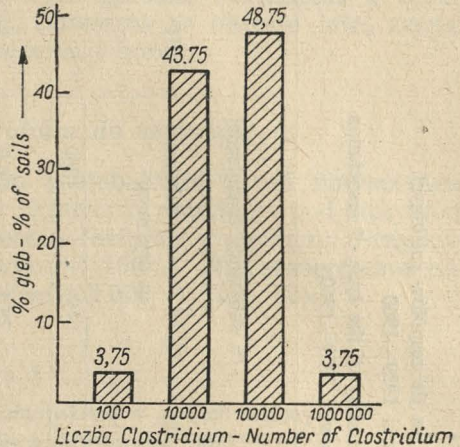
Charakterystyka gleb o maksymalnej i minimalnej liczbie *Clostridium*
 Features of soils with maximal and minimal number of *Clostridium*

Zespół Association	Typ gleby Type of soil	Województwo District	Miejscowość Locality	% wody w próbce % of water in sample	% substancji organicznej w suchej masie % of organic substance in dry mass	pH	<i>Clostridium</i> w tysiącach na 1 g świeżej gleby <i>Clostridium</i> in 1000s per 1 gr. fresh soil
<i>Carici canescentis</i> — <i>Agrostidetum caninae</i>	Torf niski low peat mada alluvial soil	białostockie	Supraśl	81,8	74,1	6,2	1000
		kieleckie	Pińczów	57,7	31,1	6,1	1000
				78,6	40,3	7,9	1000
<i>Nardetum</i>	organiczno-mine- ralna organo-mineral piasek luźny loose sand	koszalińskie	Jezierzany	62,5	38,4	5,6	1
		kieleckie	Pińczów	33,4	14,0	5,2	1
		białostockie	Białowieża	28,0	8,5	4,5	1

Wilgotność gleby. W glebach o zawartości wody ponad 50% *Clostridium* występowało w większych ilościach niż glebach o małej wilgotności (tab. I).

Zawartość masy organicznej. W glebach zasobnych w związki organiczne znaleziono więcej beztlenowych asymilatorów wolnego azotu niż w glebach ubogich w te związki (tab. I).

Fig. 1. Liczba *Clostridium* w glebach łąkowych
Number of *Clostridium* in the meadow soils



Odczyn gleby. W glebach o pH powyżej 5 *Clostridium* rozwijało się lepiej niż w glebach silniej zakwaszonych (tab. I).

Typ szaty roślinnej. Najliczniej *Clostridium* występowało w glebach zbiorowisk eutroficznych związki: — *Magnocaricion elatae* (Koch 1926), *Agropyro-Rumicion* (Nordh. 1940), *Arrhenatherion* (Pawł. 1928). Maksymalne ilości *Clostridium* w glebach mineralnych znaleziono

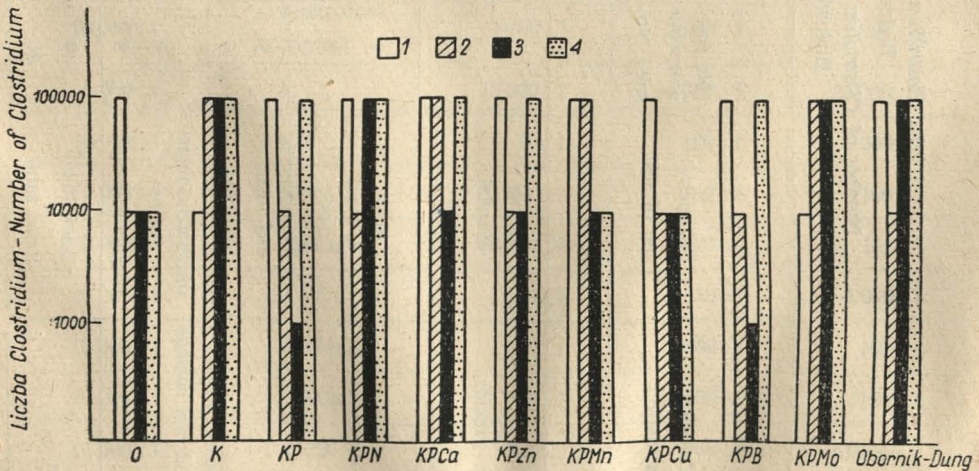


Fig. 2. Wpływ nawożenia na liczebność *Clostridium* w glebach torfowych

1 — nie nawożone (15.V.1959); 2, 3, 4 — nawożone (2 — 27.V.1960, 3 — 5.VII.1960, 4 — 5.IX.1960)

Influence of fertilization on the development of *Clostridium* in the peat soils

1 — not fertilized (15.V.1959); 2, 3, 4 — fertilized (2 — 27.V.1960, 3 — 5.VII.1960, 4 — 5.IX.1960)

Tabela III

Liczba *Clostridium* w glebach łąkowych na tle zespołów roślinnych
Białowieża — dolina Narewki 1959—1960

Number of *Clostridium* in meadow soils depending of the type of association
Białowieża — valley of Narewka 1959—1960

Zespół Association	Typ gleby Type of soil	Nr powierzchni Area No.	% wody w próbce % of water in sample		% substancji organicznej w suchej masie % of organic substance in dry mass		pH	<i>Clostridium</i> w tysiącach na 1 g świeżej gleby <i>Clostridium</i> in 1000s per 1 gr. fresh soil	
			1959	1960	1959	1960		1959	1960
<i>Caricetum gracilis</i>	mada alluvial soil	1	45,3	66,0	28,1	26,0	5,5	100	100
		2	72,8	70,2	31,0	33,1	5,5	100	100
<i>Rumici—Alopecuretum</i>	mada alluvial soil	3	57,8	65,0	23,7	25,8	5,9	10	100
		4	53,3	45,5	26,0	29,7	7,1	10	100
<i>Carici canescentis— —Agrostidetum caninae</i>	torf niski low peat	5	85,9	81,0	87,3	81,7	5,1	10	100
		6	68,5	81,2	80,1	81,5	5,9	10	100
	organiczno-mine- ralna organo-mineral	7	45,0	66,0	29,0	41,6	5,3	10	100
		8	—	66,2	—	41,6	5,5	10	100
<i>Nardetum</i>	piasek luźny loose sand	9	—	33,2	—	12,1	4,0	—	10
		10	28,0	32,9	8,5	10,9	4,6	1	10

w dwóch próbkach gleb, pobranych z płątów typu *Arrhenatheretum* z doliny Nidy i doliny Supraśli. W glebach oligotroficznych porośniętych przez roślinność typu *Nardetum* znaleziono najmniejsze ilości *Clostridium* (tab. II i III).

Nawożenie. Wstępne wyniki badań nawozowych wykazują tendencję do wzrostu liczby *Clostridium* pod wpływem potasu i molibdenu (fig. 2). Należy zaznaczyć, że potas w tych glebach znaleziono w małej ilości (0,08%). Zmniejszenie się ilości, zwłaszcza w okresie lata, zaznaczyło się na poletkach nawożonych fosforem i borem.

Stosunki liczbowe *Clostridium* do azotobaktera

Stosunek liczbowy *Clostridium* do azotobaktera przed nawożeniem utrzymywał się w granicach 1000 : 1 i 10 000 : 1, natomiast pod wpływem nawożenia spadł do 10 : 1 przy nawożeniu fosforem i cynkiem. Przy nawożeniu azotem, wapniem i borem wynosił 100 : 1. Nie stwierdzono natomiast zmian przy nawożeniu obornikiem (10 000 : 1) (tab. IV).

Tabela IV

Stosunek liczbowy *Clostridium* do azotobaktera w glebach torfowych nawożonych i nie nawożonych. Torfowisko „Biel”

Relation between *Clostridium* und *Azotobacter* in the peat soils fertilized and unfertilized Peatbog „Biel”

Nie nawożone Not fertilized 15. V. 1959	Nawożenie Fertilation	Nawożone — Fertilized		
		27. V. 1960	5. VII. 1960	5. IX. 1960
10 000 : 1	kontrolne control	1 000 : 1	1 000 : 1	1 000 : 1
1 000 : 1	K	10 000 : 1	10 000 : 1	10 000 : 1
10 000 : 1	KP	10 : 1	100 : 1	1 000 : 1
10 000 : 1	KPN	1 000 : 1	100 : 1	100 : 1
10 000 : 1	KPCa	10 000 : 1	100 : 1	100 : 1
10 000 : 1	KPZn	100 : 1	10 : 1	1 000 : 1
10 000 : 1	KPMn	1 000 : 1	1 000 : 1	100 : 1
10 000 : 1	KPCu	100 : 1	1 000 : 1	100 : 1
10 000 : 1	KPB	100 : 1	100 : 1	10 000 : 1
1 000 : 1	KPMo	1 000 : 1	10 000 : 1	10 000 : 1
10 000 : 1	Obornik Dung	10 000 : 1	10 000 : 1	10 000 : 1

Omówienie wyników

Uzyskane wyniki badań nad występowaniem *Clostridium* w glebach łąkowych wykazują, że mikroorganizmy te w poziomie darniowym występują najczęściej w ilości od 10 tys. do 100 tys. na g świeżej gleby. Podobne wyniki otrzymał Strzelczyk (1958a) dla gleb uprawnych. W glebach leśnych natomiast *Clostridium* znajdowano w nieco mniejszych ilościach, bo od 1 tys. do 10 tys. (Zimny 1960).

Występowanie stosunkowo dużej ilości *Clostridium* w glebach łąkowych można wyjaśnić silnym uwodnieniem tych gleb oraz dużą zawartością związków organicznych. Nie bez znaczenia jest również zadarnienie gleby i wydzielenie korzeniowe roślin. Rybkina (1960) stwierdziła dodatni wpływ na ilość *Clostridium* wieloletnich traw, zwłaszcza w drugim i trzecim roku ich vegetacji, kiedy dostatecznie się rozkrzewiły i zadarniły powierzchnię gleby. W rizosferze niektórych roślin uprawnych znajdowano znacznie więcej beztlenowych asymilatorów wolnego azotu niż poza zasięgiem roślin (Woźniakowska 1948b, Strzelczyk 1958b i inni).

Pomimo że doświadczenia nawozowe są w początkowym stadium realizacji, stwierdzić już można, że pewne tendencje do wzrostu ilości *Clostridium* wykazały poletka nawożone potasem i molibdenem. Natomiast zmniejszenie się ilości zanotowano pod wpływem nawożenia fosforem i borem. Doświadczenia nawozowe będą powtórzone i ostateczne wnioski dotyczące wpływu poszczególnych nawozów będzie można wyciągnąć po kilku latach.

PIŚMIENICTWO

1. Gołowaczewa, S. R. 1959 — O wzaimootnoszenijach azotobaktiera s *Clostridium pasteurianum* w poczwiennych usłowijach — Izv. An Eston. SSR, s. biol. 8.
2. Mantiejfel, A. J., Kozłowa, E. I. 1955 — Swobodnożywuszczije azotofiksatory w poczwach pod stiepuju i pod lesom rajonow Kamyszyna, Stalingrada i Tunguty — Mikrobiologija 24.
3. Rybkina, N. A. 1960 — Rasprostranienije anaerobnych azotofiksirujuszczich bakterij po polam siewooborota — Wiestn. Sielchoz. Nauki 5.
4. Strzelczyk, E. 1958a — Wpływ nawożenia fosforem mineralnym na zespoły mikroflory w glebie — Ann. UMCS s. E, 11.
5. Strzelczyk, E. 1958b — Wpływ różnych roślin uprawnych na liczebność azotobaktera i *Clostridium* w ich rizosferze — Acta Microbiol. Polon. 7.
6. Szklar, M. Z. 1956 — Wlijanije aerobow na żyzniediejatelnost' *Clostridium pasteurianum* w smieszannoju kulturie — Dokł. wsiesojuz. Ord. Lenina Akad. sielchoz. Nauk im. W. I. Lenina 21.
7. Woźniakowska, J. M. 1948a — Rol *Clostridium pasteurianum* kak faktora, powyszajuszczego efektiwnost' baktierizacji siemian azotobaktierom — Mikrobiologija 17.
8. Woźniakowska, J. M. 1948b — Wlijanije korniewoj sistemi pszenicy na mikrofloru poczwy — Mikrobiologija 17.
9. Zimny, H. 1960 — Badania nad występowaniem *Clostridium* w glebach leśnych — Ekol. Pol. B, 6.

INVESTIGATIONS OF THE OCCURRENCE OF *CLOSTRIDIUM* IN MEADOW SOILS

S u m m a r y

Investigations were carried out from 1958—1960 of the occurrence of *Clostridium* in meadow soils, and examination made of 113 soil samples obtained from five provinces: Białystok province from the Supraśl valley (33 samples), and the Narewka valley (18 samples); the Kielce province from the Nida valley in the Pińczów district (7 samples); the Warsaw province from the „Biel“ peat deposits near Otwock (44 samples); the Koszalin province from the Łazy and Jezierzany district (10 samples); and the Lublin province from the Łęczna-Włodawa lake district (1 sample).

Examinations were carried out in the vegetation season. Preliminary experiments on the effect of fertilizers were made on the „Biel“ peat deposits.

The amount of *Clostridium* was determined in an agar culture with saccharose and soil extract, using the dilution method. The cultures were kept in test tubes at a temperature of 28°C for six days.

The results are given in Figs. 1 and 2, and Tabs. I—IV, and indicate that *Clostridium* occurs in the surface layer of meadow soils in amounts varying from 10,000 to 100,000 per 1 gr. of fresh soil (Fig. 1, Tab. I). It was found that the numbers of these micro-organisms depended on the moisture content of the soil, organic mass contents and soil pH. The numbers of *Clostridium* exhibited a tendency to increase with transition from oligotrophic to eutrophic associations (Tab. II and III). Initial results investigations using fertilisers demonstrate the favourable influence on the numbers of *Clostridium* of potash and molybdenum, and the unfavourable effect of phosphorus, copper and boron (Fig. 2).