

Prilog proučavanju bakterija prema fiziološkim funkcijama u šumskim asocijacijama Fagetum abietetosum i Blechno-Abietum Gorskoga Kotara

Prša, Mara

Source / Izvornik: **Glasnik za šumske pokuse: Annales pro experimentis foresticis, 1972, 169 - 176**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:108:999517>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-21**



Repository / Repozitorij:

[University of Zagreb Faculty of Forestry and Wood Technology](#)



Dr MARA PRŠA

Zavod za mikrobiologiju
Poljoprivredni fakultet, Zagreb

**PRILOG PROUČAVANJU BAKTERIJA
PREMA FIZIOLOŠKIM FUNKCIJAMA U ŠUMSKIM
ASOCIJACIJAMA *FAGETUM ABIETETOSUM*
I *BLECHNO-ABIETUM* GORSKOG KOTARA**

CONTRIBUTION À L'ÉTUDE DES BACTÉRIES EN CE
QUI CONCERNE LEURS FONCTIONS PHYSIOLOGIQUES
DANS LES ASSOCIATIONS FORESTIÈRES DE *FAGETUM*
ABIETETOSUM ET DE *BLECHNO-ABIETUM* DE
GORSKI KOTAR (YUGOSLAVIE)

UDK 634.0.114.61 : 634.0.187

Sadržaj — Sommaire

1. Uvod — *Introduction*
2. Metoda rada — *Méthode de travail*
3. Rezultati i diskusija — *Résultats et discussion*
4. Zaključci — *Conclusions*
Literatura — *Bibliographie*
Résumé

UVOD — INTRODUCTION

U prvom dijelu naših istraživanja (6) postavili smo zadatak, da utvrdimo individualnost mikrobioloških karakteristika šumskih zajednica *Fagetum abietetosum* i *Blechno-Abietum* Gorskog Kotara. Određivanje sveukupnog broja aerobnih bakterija te identificiranje izoliranih vrsta bakterija, koje smo proveli, nije nam dalo potpunu sliku o mikrobakterijskoj flori tla spomenutih biljnih asocijacija, iako se pokazalo, da među njima postoje razlike u broju i vrstama bakterija.

Prema tome bio je cilj naših istraživanja, da proučimo bakterije po fiziološkim funkcijama, koje su važne za razumijevanje biokemijskih procesa u tlu i koje će omogućiti, da se utvrdi individualnost bakterioloških karakteristika tala istraživanih šumskih zajednica.

Ovaj rad je predan za tisak 4. V. 1961.

Tim putem išli su i drugi istraživači. Da bi utvrdio mikrobiološke karakteristike podzlostih tipova Hrvatske, *Starc* (8) proučava mikroorganizme prema njihovim fiziološkim funkcijama. Istim načinom *Fehér* (2) utvrđuje karakteristike mikroflore šumskih tala, a *Sillinger* i *F. Petru* (9) utvrđuju karakteristike biljnih asocijacija u slovačkim šumama.

Ovom prilikom ograničili smo se na određivanje bakterija, koje sudjeluju u nekim najvažnijim procesima u tlu:

1. aerobne azotofiksacije
2. anaerobne azotofiksacije
3. nitrifikacije
4. denitrifikacije
5. amonifikacije
6. aerobne razgradnje celuloze

METODA RADA — MÉTHODE DE TRAVAIL

Kod rada služili smo se metodom *Winogradskoga*, modificiranoj prema *Pochonu* i *Tchanu* (7).

1. Aerobni fiksatori dušika izolirani su:
1) metodom spontane kulture i 2) metodom kremičnog gela. Kao energetski materijal dodavali smo: glukozu, manit i Ca-beonzoat.
2. Anaerobni fiksatori dušika izolirani su metodom razrjeđenja. Otopini *Winogradskoga* dodavali smo kao energetski materijal manit i glukozu. (Postupak isti kao kod izoliranja ostalih anaerobnih bakterija.)
3. Nitrifikatori su izolirani metodom razrjeđenja i 2) metodom kremičnog gela.
4. Denitrifikatori su izolirani metodom razrjeđenja. Otopini *Winogradskoga* dodavali smo KNO_3 i glukozu. Pokus je trajao mjesec dana. Svaki dan smo kontrolirali proces odnosno redukciju nitrata preko nitrata do amonijaka odgovarajućim reagensima.
5. Amonifikatori su izolirani: 1) metodom razrjeđenja i 2) metodom kremičnog gela.
6. Aerobni razarači celuloze izolirani su: 1) metodom razrjeđenja i 2) metodom kremičnog gela.

Određivane su vrste bakterija iz fizioloških grupa po principu, koji služi općenito za determinaciju bakterija. Upotrijebljen je *Bergeyev* ključ (1).

REZULTATI I DISKUSIJA — RÉSULTATS ET DISCUSSION

1. Aerobni fiksatori dušika

Kako smo naveli, u metodi rada određivali smo aerobne fiksatore dušika metodom spontane kulture i metodom na kremičnom gelu.

Objema metodama dobili smo negativan rezultat. Nedostatak aerobnih fiksatora dušika u obje biljne asocijacije mogli bismo objasniti nepovoljnim uvjetima za razvitak te grupe mikroorganizama. Kod biljne asocijacije *Blechno-Abietum* možemo to objasniti nepovoljnom (kiselom) reakcijom tla. pH tla te biljne zajednice iznosi 4,2, a poznato je da aerobni fiksatori imaju optimum razvitka kod pH 7—8.

U navedenim biljnim zajednicama vladaju nepovoljni uvjeti za razvoj *Azotobacter* grupe, u prvom redu nepovoljni oblici hrane (ugljikohidrati), slaba aeracija, siromaštvo nekih elemenata npr. fosfora, koji služi kao katalizator u procesu aerobne azotofiksacije. Uz povoljan pH za *Fagetum abietetosum* koji se kreće oko 6,1 dobiven negativni rezultat mogao bi biti uvjetovan baš navedenim nepovoljnim fizikalno kemijskim svojstvima tla, koja vladaju u navedenim biljnim asocijacijama.

Starc (8) u svojim istraživanjima nije također našao aerobne fiksatore dušika u šumskim tipovima tala. Međutim je *Feher* (2) našao neke sojeve *Azotobacteria* i u kiselim tipovima tala čak kod pH 4. Prema tome čini se, da reakcija tla u prirodnim uvjetima nije uvijek presudan faktor za pojavljivanje te grupe bakterija.

Winogradsky (10) je podijelio tla na 3 kategorije prema gustoći pojavljivanja aerobnih azotofiksatora služeći se pri tome metodom spontane kulture i to: 1. aktivna tla s maksimalnom gustoćom aerobnih fiksatora, koja lako daju spontane kulture unošenjem energetskog materijala; 2. slabo aktivna tla s mnogo manjom gustoćom aerobnih fiksatora, te kasnije mogu nastati samo ograničene spontane kulture; 3. neaktivna tla, u kojima nema aerobnih fiksatora, pa ne daju spontane kulture.

Prema navedenoj podjeli *Winogradskoga* naše istraživane biljne asocijacije spadaju s obzirom na aerobne fiksatore u *neaktivna* tla.

2. Anaerobni fiksatori dušika

Kako smo se u našim istraživanjima ograničili samo na kvalitativnu sliku, tj. da odredimo pojavljivanje određene vrste ili njezinu odsutnost, to ni kod anaerobnog procesa slobodne azotofiksacije nismo određivali kvantitativan broj vrsta.

Upotrijebljenom tehnikom rada dokazali smo prisutnost anaerobnih fiksatora dušika u obje istraživane biljne asocijacije i to u zajednici *Fagetum abietetosum* već nakon 4 dana, a kod biljne asocijacije *Blechno-Abietum* tek nakon 14 dana.

Podaci iz literature (*Feher* 2, *Sillinger* 9, *Starc* 8 itd.) potvrđuju raširenost *Clostridium pasteurianum* u šumskim tipovima tala. Čini se da je baš ta vrsta bakterija jedini predstavnik fiksacije dušika u šumskim tlima, gdje za aerobne fiksatore vladaju nepovoljni uvjeti života.

Iz dobivenih rezultata možemo zaključiti, da je proces anaerobnih fiksacija dušika intenzivniji u šumskoj zajednici *Fagetum abietetosum*, a slabiji u *Blechno-Abietum*, ali da je fiksacija atmosferskog dušika za obje šumske zajednice sekundarnog značenja.

3. Nitrificirajuće bakterije

Pomoću prije navedenih metoda za određivanje nitrificirajućih bakterija dobili smo negativne rezultate.

Pretpostavljali smo, da se nitrificirajuće bakterije nalaze u inaktivnom stanju u tlu. No, budući da proces nitrifikacije metodom razrjeđenja teče polako, produžili smo vrijeme pokusa na 40 dana, iako obično traje samo 30 dana. Osim toga dodavali smo u većim količinama CaCO_3 , da bismo zasitili adsorpcijski kompleks i neutralizirali kiseline stvorene procesom. Rezultati su ipak ostali negativni.

Metodom na kremičnom gelu pokazale su se oko zrnaca zemlje providne aureole, što bi moglo indicirati na prisutnost nitritnih bakterija, jer su i njihove kolonije providne. Mikroskopska slika nije potvrdila tu pretpostavku. *J. Kaufmann* i *Boquel* (4) tumače spomenutu pojavu providnih aureola oko zrnaca tla kiselošću samog zemljišta, a *Starc* (8) to objašnjuje kao uzrok topljenja karbonata.

Kolonije nitratnih bakterija na kremičnom gelu nisu se također pojavljivale.

Negativni rezultati mogli bi se objasniti činjenicom, da u istraživanim biljnim zajednicama vladaju nepovoljni uvjeti za život i djelovanje nitrificirajućih bakterija. Poznajući uvjete koji su potrebni, da bi proces nitrifikacije mogao teći, mogli bismo pretpostaviti da u navedenim asocijacijama vladaju nepovoljni uvjeti: nedovoljna količina pristupačnih dušičnih spojeva, slaba aeracija, kisela reakcija (u *Blechno-Abietumu* je pH oko 4,1) te opće siromaštvo hranjivih tvari.

Starc (8) je u svojim istraživanjima metodom razrjeđenja dokazao prisutnost nitrificirajućih bakterija u profilima šumskih tala. *Feher* i *Sillinger* također nalaze metodom razrjeđenja tu vrstu bakterija u kiselim tlima. Međutim, *Winogradsky* osporava dobivene rezultate metodom razrjeđenja te ukazuje na nesigurnost upotrijebljene metode kao i na griješke, koje nastaju kod određivanja kemijskih reakcija. Prema *Winogradskom* nitrificirajuće su bakterije uopće malobrojne u tlu, pa njihov broj i u plodnim obrađenim tlima, koja imaju optimalna svojstva za razvitak te vrste bakterija, rijetko prelazi nekoliko hiljada u 1 gramu tla.

Po *Sillingeru* i *F. Petru* (9) utvrđen je proces nitrifikacije $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ u šumskom tlu samo pod bukvom (asocijacija *Oxalis asperula* i *Oxalis majanthemum*) te da porastom intenziteta nitrifikacije raste broj pratilaca bukove šume.

U zajednici *Fagetum abietetosum* uspjeli smo direktno u tlu dokazati vrlo malu količinu nitrata, dok je u zajednici *Blechno-Abietum* i taj pokušaj bio negativan.

Na osnovi dobivenih rezultata mogli bismo utvrditi, da proces nitrifikacije u obje biljne asocijacije nema nikakav praktični značaj.

4. Amonifikacijske bakterije

Gore navedenim metodama za određivanje amonifikacijskih bakterija dobili smo pozitivne rezultate za obje biljne asocijacije.

Najviše zastupljena vrsta bila je u zajednici *Fagetum abietetosum Pseudomonas fluorescens*, koju se moglo utvrditi već makroskopski (zelenkasto-plava boja), zatim *Bacillus mucoides* te *Bacillus mesentericus*. Iste vrste izolirane su iz *Blechno-Abietuma*, jedino što se *Pseudomonas fluorescens* nije tako često pojavljivao.

Rezultati pokazuju, da je ovo najviše zastupljena fiziološka grupa bakterija u istraživanim zajednicama, te možemo pretpostaviti, da je proces amonifikacije veoma intenzivan u obje biljne zajednice.

Na osnovi dobivenih rezultata mogli bismo zaključiti, da se istraživane šumske zajednice ne razlikuju po vrstama bakterija amonifikatora te da je proces amonifikacije intenzivan u obje istraživane asocijacije.

5. Denitrifikacijske bakterije

Bakterije, koje reduciraju nitrate, određivane su na način, kako je to u metodi rada navedeno.

U šumskoj zajednici *Fagetum abietetosum* već nakon 4 dana (metoda razrjeđenja) sav je nitratni oblik dušika reduciran do NH_3 , dok se u *Blechno-Abietumu* zadržao na nitritnom obliku te samo djelomično prešao u amonijski oblik dušika.

Ni nakon 30 dana, koliko su trajali pokusi, nije se moglo dokazati potpuno iščezavanje dušika ni kod jedne istraživane asocijacije. U *Blechno-Abietumu* čak ni sav nitratni oblik nije za čitavo vrijeme prešao u amonijski oblik.

Izoliranje denitrifikatora obavljeno je na čvrstom hranivom supstratu po *Giltaye*u na asparagin-agaru. Mikroflora denitrifikatora bila je ista u obje biljne zajednice. Izolirali smo rod *Achromobacter*, *Bacillus* te rod *Pseudomonas*. Vrsta *Pseudomonas fluorescens* utvrđena je u obje šumske asocijacije.

Mogli bismo pretpostaviti, da u istraživanim asocijacijama uvjeti za jači rad denitrifikatora nisu povoljni, pa zbog toga nismo ni mogli dokazati redukciju nitrata do elementarnog dušika. Male količine nitrata (nismo dokazali nitrifikacijske bakterije, ali smo male količine nitrata dokazali direktno u samom tlu pod zajednicom *Fagetum abietetosum*) zatim kisela reakcija sredine stvaraju nepovoljne uvjete za rad denitrifikatora u istraživanim biljnim zajednicama te sprečavaju njihovo djelovanje.

Iz dobivenih rezultata mogli bismo ustvrditi, da se istraživane šumske zajednice razlikuju po intenzitetu denitrifikacije. Ona je intenzivnija u zajednici *Fagetum abietetosum* (zadržana do amonijskog oblika dušika), dok je u zajednici *Blechno-Abietum* mnogo slabija (nitratni oblik reducirao se na nitritni i djelomično prešao u amonijski oblik dušika).

6. Aerobni razarači celuloze

Rezultati jedne i druge metode bili su pozitivni za obje šumske zajednice.

U *Fagetum abietetosum* proces razgradnje celuloze metodom razrjeđenja bio je intenzivniji, te je već nakon 20 dana počela razgradnja celuloze, dok je proces razgradnje u zajednici *Blechno-Abietum* počeo tek nakon 30 dana, tekao vrlo polako i to samo u pojedinim epruvetama. Slično se ponovilo i kod metode na kremičnom gelu.

Obojene partije filter-papira na pločama kremičnog gela indicirale su prisutnost bakterija razarača celuloze. Nakon nekoliko precjepeljivanja s kremičnog gela mikroskopska slika doista je pokazala duge, nešto izvijene štapiće. Međutim, pojavljivali su se i okrugli oblici, za koje *Winogradsky* smatra, da ne pripadaju istoj vrsti, ali da su simbionti sa štapićastim oblicima. Kasnija istraživanja (*Imšenjeckij* 3, *Isačenko* cit. po *Tešić* 12) dokazala su, da spomenuti kokoidni oblici nisu ništa drugo do razvojni stadij *Cytophaga hutchinsoni*, odnosno da su to makrocisti kao razvojni stadij mirovanja navedenih bakterija.

Razaranje celuloze u epruvetama kao i na kremičnom gelu teklo je kod proba iz zajednice *Fagetum abietetosum* mnogo brže i intenzivnije nego kod onih iz zajednice *Blechno-Abietum*, gdje su se samo na pojedinim epruvetama i na kremičnom gelu mogle zapaziti žute odnosno narančaste mrlje.

Konstatirana je prisutnost samo jedne vrste *Cytophaga hutschinsoni* u obje šumske zajednice, koje smo prema boji kolonija identificirali kao *Cytophaga lutea* i *Cytophaga aurantiaca*.

Interesantno je, da je dobivena samo jedna vrsta bakterija kao aerobni razarač celuloze za obje šumske zajednice. Prema podacima iz literature (Feher 2, Winogradsky 10 i drugi) moglo bi se reći, da je *Cytophaga hutschinsoni* kozmopolit, jer je nađen gotovo u svim tipovima tala.

Dominantna uloga u aerobnom razaranju celuloze za jednu i drugu zajednicu ne pripada bakterijama nego jednoj drugoj grupi mikroorganizama — gljivama, koje su se nakon nekog vremena počele širiti u epruvetama kao i na kremičnom gelu, usprkos tome što hranjivi supstrat favorizira bakterije.

Mnogo češće pojavljivanje *Cytophaga hutschinsoni* u tlu zajednice *Fagetum abietetosum* moglo bi se objasniti odnosno pripisati optimalnoj reakciji, jer je dokazano, da ta vrsta ne podnosi visoki aciditet (minimum pH 5,4), pa je i sam proces razgradnje celuloze intenzivniji nego u zajednici *Blechno-Abietum*.

ZAKLJUČCI — CONCLUSIONS

Na osnovi dobivenih rezultata određivanja nekih fizioloških grupa bakterija, koje sudjeluju u biokemijskim procesima u šumskim zajednicama *Fagetum abietetosum* i *Blechno-Abietum* možemo zaključiti sljedeće:

1. Istovremeno te šumske asocijacije razlikuju se po intenzitetu nekih biokemijskih procesa. Utvrđeno je, da je anaerobni proces azotifikacije, denitrifikacije, aerobne razgradnje celuloze mnogo intenzivniji u biljnoj zajednici *Fagetum abietetosum* nego u *Blechno-Abietum*. Fiziološka grupa aerobnih fiksatora dušika te nitrifikatora nije dokazana ni za jednu biljnu zajednicu. Grupa amonifikatora utvrđena je za obje biljne asocijacije, jer je ta grupa manje specifična te obuhvaća heterogene mikroorganizme. Proces je intenzivan u obje asocijacije.

2. Iako postoje razlike u intenzitetu nekih biokemijskih procesa, one ipak nemaju takva obilježja, da bi davale tipičnu individualnu fizionomiju istraživanih biljnih zajednica. Nedostatak je u tome, što se iz općega biocenotičkog kompleksa izdvojila samo jedna grupa mikroorganizama — bakterija, tako da je prekinuta cjelovitost biocenotičke ravnoteže, koja vlada u biljnim asocicijama.

3. U prvom dijelu naših istraživanja (5) utvrđeno je, da su biljne asocijacije siromašne brojem i vrstama bakterija, pa bismo mogli zaključiti, da su i njihovi mikrobiološki procesi svedeni na minimum, naročito u šumskoj zajednici *Blechno-Abietum*.

LITERATURA — BIBLIOGRAPHIE

1. *Bergey's manual of determinative bacteriology*, Baltimore 1948.
2. *Feher D.*, Untersuchungen über die Mikrobiologie des Waldbodens, Berlin 1930.
3. *Imšeneckij A. A.* i *Ruban E. L.*, Polučenie čistyh kultur *Nitrosomonas*, *Mikrobiologija*, T. XXII, 1953.
4. *Kaufmann J.* et *Boquel G.*, Nouvelle méthode de détermination du pouvoir nitrificateur d'une terre, *Annales de l'Institut Pasteur*, T. 81, 1951.
5. *Krasiljnikov N. H.*, Opredelitel' bakterij i aktinomicetov, *Akad. Nauk SSSR*, 1949.
6. *Lupret M.*, Prilog izučavanju aerobnih bakterija u šumskim asociacijama *Fagetum abietetosum* i *Blechno-Abietum*, *Šum. List*, 9/10, 1955, Zagreb.
7. *Pochon J.* et *Tchan Y. T.*, Précis de microbiologie du sol, Paris 1948.
8. *Starc A.*, Mikrobiološka studija nekih podzoolastih tala Hrvatske, Zagreb 1941. (Disertacija).
9. *Sillinger P.* i *Petru F.*, Untersuchungen über die Mikrobiologie und Biochemie des Bodens einiger Waldgesellschaften im Slowakischen Erzgebirge, *B. B. C.*, 1937 A, cit. prema *Starc A.* (8).
10. *Winogradsky S.*, *Microbiologie du sol*, Paris 1949.
11. *Tepljakova F.*, *Sitnikova A. S.* i *Karagniševa D.*, Rasprostranenie *Azotobacter* v nekotoryh počvah Kazahstana, *Mikrobiologija*, T. XXII, 1953.
12. *Tešić Ž.*, Ekološka načela S. N. *Winogradskog* u zemljišnoj mikrobiologiji, Beograd 1953.

Résumé

L'étude des fonctions des bactéries du sol présentes sous les associations forestières de *Fagetum abietetosum* et de *Blechno-Abietum* de Gorski Kotar.

Le but de cette étude était d'examiner les fonctions physiologiques des bactéries du sol sous les associations forestières de *Fagetum abietetosum* et de *Blechno-Abietum* de Gorski Kotar qui contribuent à la compréhension des processus biochimiques du sol, et de déterminer les caractères bactériologiques individuels du sol sous ces associations.

Cette étude est limitée à seul examen des bactéries effectuant un certain rôle dans: 1) la fixation aérobie de l'azote; 2) la fixation anaérobie de l'azote; 3) la nitrification; 4) la dénitrification; 5) la synthèse ammoniacale; 6) la décomposition de la cellulose.

La méthode employée était celle de *Winogradsky*, modifiée par *Pochon* et *Tschan*.

Nos conclusions résultant des données de cette étude:

1) L'intensité des processus biochimiques du sol sous les associations forestières mentionnées n'est pas stable. Il y a une accentuation évidente de la fixation de l'azote, de la décomposition de la cellulose sous l'association *Fagetum abietetosum*. Tous les efforts de démontrer la présence des fixateurs aérobie de l'azote était sans succès, mais le groupe des amonificateurs était présent provoquant la même intensité des processus du sol sous les deux types d'associations forestières.

2) Les différences d'intensité de certains processus biochimiques ne suffisent pas à donner une physionomie typique et individuelle au sol sous associations forestières en question. Il y a une interruption de l'intégrité d'équilibre biocénotique causée par l'isolement de ce complexe général biocénotique d'un seul groupe de microorganismes — des bactéries.

3) Des données d'une de nos études (5) résulte la constatation que le sol sous les associations des plantes mentionnées n'est pas riche en bactéries ce qui pourrait nous conduire aux conclusions que les processus microbiologiques des sols sous ces associations ont atteint un minimum.