

OLGIERD NOWOSIELSKI, PIOTR SKŁODOWSKI

ŁĄCZNE OZNACZANIE DOSTĘPNYCH PIERWIASTKÓW
W GLEBIE ZA POMOCĄ *ASPERGILLUS NIGER*. MAGNEZ I CYNK

Zakład Chemii Rolniczej SGGW Warszawa

W poprzedniej pracy stwierdzono, że stosując pożywkę nie zawierającą jednocześnie fosforu i potasu można za pomocą jednej próby z *Aspergillus niger* oznaczać zasobność gleb w dostępne formy obu tych pierwiastków [1]. Jeśli plon grzybni na takiej pożywce z badaną glebą jest duży, wówczas gleba jest zasobna w oba pierwiastki, jeśli zaś jest mały, wówczas gleba jest uboga w jeden lub oba pierwiastki. Po wyglądzie grzybni i zarodnikowaniu można poznać, który pierwiastek bardziej ogranicza plon, a z krzywej wzorcowej można odczytać, ile zawiera go gleba.

Sądzone, że w analogiczny sposób można będzie oznaczyć zasobność gleb w mikroskładniki. W tej pracy zajęto się możliwością łącznego oznaczania dostępnego magnezu i cynku. W związku z tym przeprowadzono badania nad metodyką łącznego oznaczania tych pierwiastków, prześledzono współdziałanie różnych ich stężeń na wzrost i wygląd grzybni oraz porównano wyniki łącznego oznaczania tych pierwiastków w glebie z wynikami oznaczania ich oddzielnie.

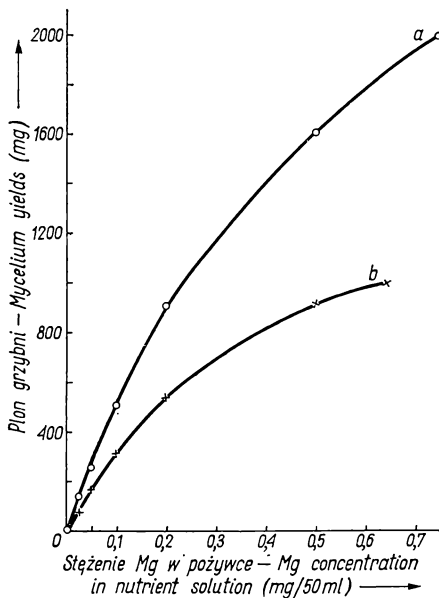
BADANIA NAD SKŁADEM POŻYWKI DO ŁĄCZNEGO OZNACZANIA
MAGNEZU I CYNKU

Aby móc oznaczać w jednej próbie oba pierwiastki, należy uzyskać pożywkę nie zawierającą ich. W wyniku przeprowadzenia licznych prób ustalono, że pożywkę dostatecznie wolną od magnezu i cynku można sporządzić rozpuszczając w litrze wody redystylowanej w szkle:

- 50 g sacharozy cz.,
- 2,5 g KNO_3 d.a.,
- 2,5 g KH_2PO_4 d.a.,
- 1,0 g Na_2SO_4 d.a.,

- 1,0 g kwasu cytrynowego d.a.,
- 2,5 ml mikropożywki wolnej od cynku [2].

Zależność między plonami grzybni a stężeniem magnezu i cynku w tej pożywce przy 50 jej ml i naczyniach o ϕ 5 cm (rys. 1 b i 2 b) przedstawia się podobnie jak w przypadku pożywek tylko dla magnezu lub tylko dla cynku [2, 3]. Wzrost plonów grzybni pod wpływem wzrostu stężenia mag-

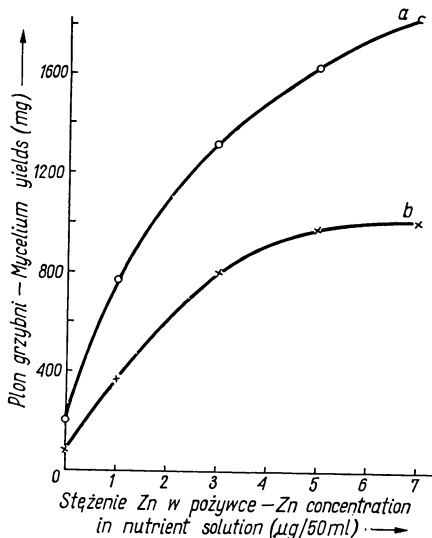


Rys. 1. Czułość i zakres metody oznaczania Mg w zależności od stężenia pożywki i średnicy naczynia

a — ϕ 7 cm — 2-krotne stężenie, b — ϕ 5 cm, 1-krotne stężenie

Sensitivity and range of Mg determination method as influenced by nutrient solution concentration and container diameter

a — ϕ 7 cm, concentration 2 \times , b — ϕ 5 cm, concentration 1 \times



Rys. 2. Czułość i zakres oznaczania cynku w zależności od stężenia pożywki i średnicy naczynia

Obj. patrz rys. 1

Sensitivity and range of Zn determination method as influenced by nutrient solution concentration and container diameter

Expl. see Fig. 1

nezu i cynku w pożywce uznano za niedostateczny dla łącznego oznaczania i dlatego spróbowano zwiększyć czułość i zakres metody przez zastosowanie pożywki o podwójnym stężeniu składników i naczyń o większej średnicy (zlewki Schotta — 7 cm). W wyniku tego zakres metody i czułość wzrosły niemal dwukrotnie (rys. 1 a i 2 a). Przyjęto więc, że do łącznego oznaczania należy stosować pożywkę dwukrotnie stężoną i naczynia o ϕ 7 cm.

Wzorec do łącznego oznaczania sporządzono zwiększając w pożywkach wzorca jednocześnie stężenie magnezu i cynku w takim stopniu, aby stężenia obu pierwiastków powodowały podobny wzrost plonów grzybni. Poniżej zamieszczono przykład takiego wzorca:

Stężenie w pożywce		Plon s.m. grzybni mg
Mg mg/50 ml	Zn γ/50 ml	
0	0	0
0,05	0,5	282
0,1	1,0	405
0,2	2,0	761
0,4	3,0	1210
0,6	5,0	1736

WSPÓLDZIAŁANIE RÓŻNYCH STĘŻEŃ MAGNEZU I CYNKU NA PLONY GRZYBNI

Aby poznać możliwość ilościowego oznaczania pierwiastka ograniczającego plony usiłowano stwierdzić, czy ogranicza on plon jednakowo, niezależnie od stężenia drugiego pierwiastka nie będącego w minimum. W tym

T a b l i c a 1

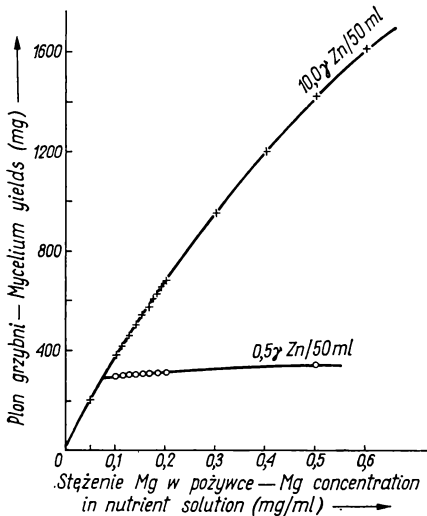
Wpływ różnych wzajemnych stężeń magnezu i cynku w pożywce
na plon grzybni *A. niger*
Influence of different reciprocal magnesium and zinc
concentrations in nutrient solution on the yields of
A. niger mycelium

Do 50 ml pożywki dodano: To 50 ml of nutr. solution was added:		Plon s.m. grzybni Dry mycelium yields mg
Zn μg	Mg mg	
0,0	0,5	361 - 414
0,5	0,075	257 - 335
0,5	0,5	582 - 582
1,0	0,1	376 - 395
2,0	0,2	753 - 759
3,0	0,4	1216 - 1259
5,0	0,0	0 - 0
5,0	0,1	403 - 409
5,0	0,5	1438 - 1453

celu badano wpływ różnych wzajemnych stężeń magnezu i cynku w pożywce na plony grzybni rozwijającej się w warunkach opisanych wyżej. Z uzyskanych danych, których część dla przykładu przedstawiono w tabl. 1,

wynika, że plon grzybni zależy wyłącznie od pierwiastka znajdującego się w minimum.

Wniosek ten potwierdziły także wyniki doświadczenia, w którym grzyb rósł na pożywce ze wzrastającymi stężeniami magnezu przy małym i dużym stężeniu cynku w pożywce. Okazało się, że jeśli cynk ograniczał plon grzybni, to niezależnie od stężenia magnezu w pożywce plon był jednakowo mały — około 300 mg (rys. 3).



Rys. 3. Wpływ wzrastających stężeń magnezu na plon grzybni *A. niger* przy małym (0,5 γ /50 ml) i dużym (10,0 γ /50 ml) stężeniu cynku w pożywce
Influence of increasing Mg concentrations on mycelium-yields of *A. niger* at low (0,5 γ /50 ml) and high (10,0 γ /50 ml) Zn concentration in nutrient solution

Na podstawie uzyskanych wyników można przypuszczać, że ilościowe oznaczenie pierwiastka ograniczającego plon grzybni jest, przynajmniej w przypadku pożywek bez gleby, możliwe.

WSPÓLDZIAŁANIE RÓŻNYCH STĘŻEŃ MAGNEZU I CYNKU NA WYGLĄD GRZYBNI

Wygląd grzybni przy niedoborach tylko magnezu lub tylko cynku opisano już w poprzedniej pracy [4]. W niniejszej pracy obserwowano wpływ wzajemnie różnych niedoborów magnezu i cynku jednocześnie na wygląd grzybni rozwijającej się w warunkach ustalonych dla łącznego oznaczenia.

Przy małych stężeniach cynku a większych magnezu obserwuje się typowe objawy głodu cynku (grzybnia śluzowata, pokryta czarnymi wyspkami zarodników). Przy małych stężeniach magnezu i dużych stężeniach cynku w pożywce grzybnia jest szaromatowa, zupełnie pozbawiona zarodników. Przy małych stężeniach jednocześnie magnezu i cynku grzybnia jest szaromatowa, ale pokryta nieco zarodnikami. Jeśli pożywka

zawiera jednocześnie dużo magnezu i cynku, wówczas grzybnia jest gruba, pomarszczona i mocno zarodnikuje.

Wydaje się, że po wyglądzie grzybni można rozpoznać pierwiastek ograniczający plon, a przy pewnej wprawie także zorientować się, jakie jest stężenie pierwiastka niedeficytowego (duże czy małe).

Badania nad łącznym oznaczaniem dostępnego magnezu i cynku w glebie

Aby dowiedzieć się, czy jest możliwe łączne oznaczenie zasobności gleb w dostępny magnez i cynk za pomocą jednego testu z *A. niger*, oznaczono w wielu glebach dostępny magnez i cynk łącznie oraz dla porównania oddzielnie dostępny magnez i dostępny cynk.

Pożywka do wszystkich tych oznaczeń była jednakowa o podwójnym stężeniu składników, z tym że przy oznaczaniu magnezu dodano do niej optymalną ilość cynku (10 γ na 50 ml), a przy oznaczaniu cynku — optymalną ilość magnezu (1 mg na 50 ml). Łączne i oddzielne oznaczenie tych pierwiastków wykonano w jednym czasie w tym samym termostacie — 35 °C, stosując we wszystkich przypadkach 1 g odważkę gleby na 50 ml pożywki i jednakowe zarodniki do szczepienia.

Plon grzybni na pożywce bez magnezu i cynku oraz pożywce tylko bez magnezu i tylko bez cynku zamieszczone w tabl. 2. Zawartość dostępnego magnezu i cynku odczytać można z wzorców (rys. 1 a i 2 a). Obok plonów z pożywki bez magnezu i cynku podano także pierwiastek, którego objawy głodu obserwowano na grzybni.

Plon grzybni na pożywce bez magnezu i cynku jest w przypadku wszystkich gleb podobny do mniejszego z plonów na pożywkach tylko bez magnezu i tylko bez cynku; na podstawie wyglądu grzybni można tym łatwiej zidentyfikować pierwiastek ograniczający plon im mniej zawiera go gleba.

Można więc uważać, że także w przypadku łącznego oznaczania dostępnego magnezu i cynku w glebie pierwiastek znajdujący się w minimum ogranicza plon w stopniu niezależnym od zawartości w glebie dostępnych form drugiego wyłączonego z pożywki pierwiastka. Ilościowe oznaczenie zawartości w glebie dostępnych form pierwiastka ograniczającego plon grzybni wydaje się zatem możliwe. Możliwe też okazało się zidentyfikowanie go na podstawie wyglądu grzybni.

Natomiast ilościowo nie można oznaczyć drugiego wyłączonego z pożywki pierwiastka nie będącego w minimum. Z wzorca dla tego pierwiastka można jednak odczytać, że gleba zawiera co najmniej taką jego ilość, na jaką wskazuje plon grzybni, zaś z wyglądu grzybni można określić z bardzo małą dokładnością, o ile zawiera go więcej niż na to wskazuje plon grzybni.

T a b l i c a 2

Łączne i oddzielne oznaczanie dostępnego magnezu i cynku w różnych glebach za pomocą *A.niger*
 Joint and separate determination of available magnesium and zinc in different soils
 using *A. niger*

Gleba - Soil	Głę- bokość Depth cm	Oznaczenie - Determination			
		oddzielne - separate		łącznie - joint	
		Mg pożywka bez Mg-nutr. sol.without Mg	Zn pożywka bez Zn-nutr. sol.without Zn	Mg - Zn pożywka bez Mg i Zn - nutr. sol.without Mg and Zn	
		plon s.m.grzybni - dry mycel.yields mg			objawy głodu na grzybni-de- ficyency sympt.
Gł. brun.ciężka Brown soil heavy	20	123-136	748-756	118-122	Mg
Pias.sł.glin.zbielic. Slightly loamy sand pods.	10	152-175	1236-1240	162-171	Mg
Pias.glin.m.zbiel. Loamy sand pods.	20	191-203	981-987	175-197	Mg
Gł.biel.wytw.z gliny zwał.l. Podsol.from light boulder loam	10	202-224	1090-1120	180-200	Mg
	70	382-399	739-777	315-322	Mg
Czarna ziem.lek. Black earth lig.	15	536-551	1133-1220	500-613	Mg
Gł.brun.wytw.z gliny lekkiej Brown earth from.l.bould.loam	10	668	1610-1754	662-681	-
Gł.biel.lekka Podsol light	20	800-837	1210-1254	773	-
Pias.sł.-glin.br. Sligh.loamy sand	15	831-853	1510-1555	800-810	-
Czarna ziem.cięż. Black earth h.	10	919-980	710-757	780-800	-
Gł.brun.średn. Brown earth med.	15	981-1005	798-855	753-774	-
Gł.brun.średn. Brown earth med.	30	1041-1077	366-395	455	Zn
Czarna ziem.cięż. Black earth heavy	10	1034-1112	976-1073	953-980	-
	90	1095-1132	900-917	923-940	-
Czarna ziem.pyłowa Black earth silty	20	1120-1174	798-823	780-801	-
Pias.glin.m.zbiel. Loamy sand pods.	90	1250-1272	651-708	725-750	Zn
	50	1496-1604	1295-1340	1247-1253	-
	10	1574-1777	1590-1714	1600-1620	-
Czarna ziem.ilasta Black earth clay	15	1610-1750	354-409	359-416	Zn

OPIS METODY ŁĄCZNEGO OZNACZANIA DOSTĘPNEGO
MAGNEZU I CYNKU W GLEBIE

Pożywką bez magnezu i cynku (o podwójnym stężeniu składników, tzn. zawierającą w 1 litrze 100 g sacharozy, 5 g KNO_3 d.a., 5 g KH_2PO_4 d.a., 2 g Na_2SO_4 d.a., 2 g kwasu cytrynowego, 5 ml mikropożywki wolnej od cynku) w ilości 50 ml zalewa się 1-gramową odważkę badanej gleby w naczyniu o ϕ 7 cm. Pożywkę szczepi się zarodnikami *A. niger* i po 3 dobach wzrostu w temperaturze 35 °C obserwuje się wygląd grzybni, po czym suszy się ją i waży.

Na podstawie wyglądu grzybni rozpoznaje się pierwiastek ograniczający plon grzybni, a na podstawie plonu odczytuje się z krzywej wzorcowej jego zawartość w glebie. Zawartość drugiego pierwiastka wyłączonego z pożywki jest co najmniej taka, jak wskazuje na to plon grzybni. Na podstawie wyglądu grzybni można przy pewnej wprawie określić z małą dokładnością, o ile zawiera go gleba więcej.

Wzorzec można sporządzić wg schematu podanego uprzednio albo poniższego:

Stężenie w pożywce			
Mg	Zn	Mg	Zn
$\mu g/50$ ml	$\mu g/50$ ml	$\mu g/50$ ml	$\mu g/50$ ml
0	0	200	3
50	1	200	5
50	3	500	1
50	5	500	3
200	1	500	5

WNIOSKI

1. Sporządzenie pożywki wolnej jednocześnie od magnezu i cynku jest stosunkowo łatwe.
2. Można zwiększyć czułość i zakres metody oznaczania dostępnego magnezu i cynku m. in. przez stosowanie pożywki o większym stężeniu składników oraz naczyń o większej średnicy.
3. Pierwiastek będący w minimum ogranicza plon grzybni niezależnie lub prawie niezależnie od stężenia w pożywce drugiego pierwiastka nie będącego w minimum; dzięki temu można ilościowo oznaczyć zawartość w glebie dostępnych form pierwiastka ograniczającego plon grzybni.
4. Wygląd grzybni zmienia się w sposób specyficzny w zależności od wzajemnego stężenia w pożywce magnezu i cynku; dzięki temu można zidentyfikować pierwiastek ograniczając plon grzybni i przy pewnej wprawie oceniać, o ile więcej zawiera gleba pierwiastka nie będącego w minimum niż na to wskazuje plon grzybni.

5. Łączne oznaczanie w glebie dostępnego cynku i magnezu daje podobny obraz zasobności w te składniki, co oznaczanie ich oddzielnie.

6. Łączne oznaczanie dostępnego magnezu i cynku w glebie jest znacznie mniej pracochłonne niż oznaczanie każdego z tych pierwiastków osobno i przypuszczalnie może być przydatne do odróżniania gleb ubogich od zasobnych w te składniki.

7. Wydaje się, że powinno się prowadzić dalsze badania nad możliwością łącznego oznaczania większej liczby mikroskładników i opracowania metody rozróżniania między glebami, w których istnieje i w których nie istnieje problem nawożenia mikroskładnikami.

LITERATURA

- [1] Nowosielski O.: Łączne oznaczanie dostępnych pierwiastków w glebie za pomocą *A. niger*. Fosfor, potas. Roczn. Nauk Roln., t. 87-A-2, 1963, 33—45.
- [2] Nowosielski I.: Uproszczona metoda oznaczania mikroskładników za pomocą *A. niger*. Roczn. Glebozn., 10, 1961, s. 151—163.
- [3] Nowosielski O.: Oznaczanie magnezu za pomocą uproszczonej metody *A. niger*. Roczn. Glebozn. t. 9, 1960, s. 89—102.
- [4] Nowosielski O.: Właściwości biologiczne grzyba *A. niger* a jego przydatność do oznaczania pierwiastków. Roczn. Nauk Roln. 87-A-2, 1963, 229—249.
- [5] Nowosielski O.: Ilościowe oznaczanie fosforu i potasu za pomocą *A. niger*. Roczn. Glebozn., t. XII, 1962, 269—279.

О. НОВОСЕЛЬСКИ, П. СКЛОДОВСКИ

СОВМЕСТНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДОСТУПНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ В ПОЧВЕ ПОСРЕДСТВОМ *ASPERGILLUS NIGER*, МАГНИЙ И ЦИНК

Кафедра Агротехники Варшавской Сельско-хозяйственной Академии

Резюме

Исследовали возможность совместного определения обеспеченности почв доступным магнием и цинком посредством одного определения с *Aspergillus niger*, применяя для этой цели питательную смесь свободную одновременно от обоих этих элементов. Установлено, что возможно количественно определить содержание в почве элемента ограничивающего урожай мицелия, так как элемент находящийся в минимуме подавляет развитие мицелия независимо или почти независимо от концентрации в смеси второго элемента не находящегося в минимуме (табл. 2 и 3, рис. 3).

По внешнему виду мицелия можно различить элемент ограничивающий урожай и при некотором опыте оценить на сколько больше содержит почва элемента не находящегося в минимуме, чем на это указывает урожай мицелия (табл. 3).

Совместное определение доступного магния и цинка в почве дает подобное изображение обеспеченности почв этими элементами как и их отдельное определение. Совместное определение значительно менее трудоемко и по всей вероятности может быть пригодно для разграничения почв бедных и обеспеченных этими элементами.

Подана пропись метода совместного определения доступного для растений магния и цинка в почве; установлено, что приготовление смеси без магния и цинка не трудно (2-кратная дистилляция воды, ректавы ч.д.а.) и что для совместного определения лучше применять питательную смесь с двойной концентрацией реактивов и стекло большего диаметра, благодаря чему увеличивается почти в двое предел и чувствительность метода (рис. 1а и 2а, также 1б и 2б).

Кажется, что целесообразно дальнейшее изучение возможности совместного определения большего числа доступных микроэлементов в почве и выделение таким образом почв, в которых существует и не существует вопрос удобрения микроэлементами.

O. NOWOSIELSKI, P. SKŁODOWSKI

JOINT DETERMINATION OF AVAILABLE SOIL ELEMENTS BY MEANS OF *ASPERGILLUS NIGER*. MAGNESIUM AND ZINC

Chair of Soil Science, Warsaw Agricultural University

S u m m a r y

Practicability of joint determination of soil content in available magnesium and zinc by means of a single *A. niger* test was investigated, using to this aim a culture medium free of both elements. It was found that it is possible to determine quantitatively the soil content of the element restricting the mycelium crop, since the element being in minimum restricts the crop independently (or almost independently) on the concentration in the nutrient medium of the element which is not in minimum (tabs. 2, 3, and fig. 3).

The crop-restricting element may be distinguished by the appearance of the mycelium; with some routine it is possible to estimate how much more of the element not being in minimum is contained in the soil than would appear from the mycelium crop (tab. 3).

Joint determination of available magnesium and zinc in soil gives a similar picture of their abundance as their separate determination. Since joint determination saves much labour, it may presumably be suitable for distinguishing between soils poor and rich in those elements.

A description of the method of joint magnesium and zinc determination in soil is given. It was found that preparation of a nutrient medium free of magnesium and zinc (redistilled water and reagents p. a. is easy, and that in joint determination it is better to use a medium with double elements concentration and vessels with greater diameter since range and sensitivity of the method is thereby nearly doubled (fig. 1 a, 2 a and 1 b, 2 b).

Further research on the possibility of joint determination of a greater number of available microelements in soil would seem advisable since this may allow to distinguish between soils in which the problem of fertilizing with microelements does or does not exist.

