

problemy agrofizyki

POLSKA AKADEMIA NAUK • ZAKŁAD AGROFIZYKI



ZAGADNIENIE SORPCJI MIKROORGANIZMÓW W GLEBACH

P O L S K A A K A D E M I A N A U K
ZAKŁAD AGROFIZYKI W LUBLINIE

PROBLEMY AGROFIZYKI

25

WROCŁAW · WARSZAWA · KRAKÓW · GDAŃSK
ZAKŁAD NARODOWY IMIENIA OSSOLIŃSKICH
WYDAWNICTWO POLSKIEJ AKADEMII NAUK

PROBLEMY AGROFIZYKI

25

MAŁGORZATA DĄBEK-SZRENIAWSKA
MARIA DRAŹKIEWICZ

ZAGADNIENIA SORPCJI MIKROORGANIZMÓW W GLEBACH

WROCŁAW · WARSZAWA · KRAKÓW · GDAŃSK
ZAKŁAD NARODOWY IMIENIA OSSOLIŃSKICH
WYDAWNICTWO POLSKIEJ AKADEMII NAUK

1977

Komitet Redakcyjny
BOHDAN DOBRZAŃSKI (przewodniczący)
JAN GLIŃSKI, BOGUSŁAW SZOT

Okladkę projektował ZYGMUNT ZIEMKA
Redaktor BARBARA SKWARCZYŃSKA

Wykonano z oryginałów tekstowych
dostarczonych przez Zakład Agrofizyki

Wszelkie prawa zastrzeżone. Printed in Poland

Zakład Narodowy im. Ossolińskich — Wydawnictwo. Wrocław 1977.
Nakład: 400 egz. Objętość: ark. wyd. 2,5, ark. druk. 3,63. Papier
offsetowy kl. III, 70 g, 61 x 86. Oddano do druku 20 X 1977.
Druk ukończono w grudniu 1977. Wrocławska Drukarnia Naukowa.
Zam. 438/77 — G-3 Cena zł 15.—

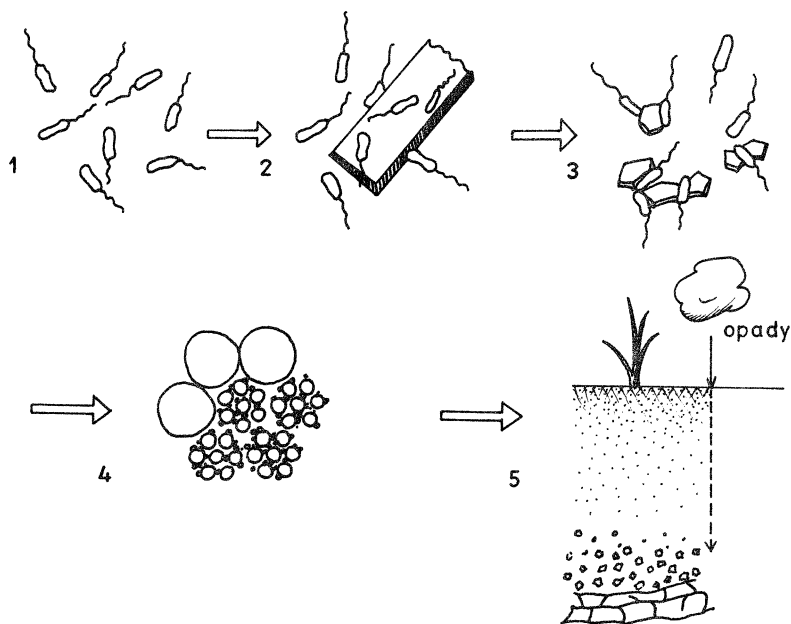
W S T Ę P

Dotychczasowe badania mikrobiologiczne w większości przypadków prowadzone były z czystymi hodowlami w ściśle określonych warunkach. Zwracano w nich uwagę na wpływ chemicznego składu środowiska na drobnoustroje. Dla mikroorganizmów glebowych ważny jest również fizyczny stan środowiska. Próbie rozszerzenia podstaw mikrobiologii glebowej poprzez stopniowe odtwarzanie środowiska fizycznego stanowi praca Hattorich (7). Autorzy analizują mikroorganizmy w odniesieniu do powierzchni granicznych w glebach, jak: ciało stałe - ciecz, czy ciecz - powietrze, cząstek koloidalnych, agregatów glebowych i profilu glebowego, by w ten sposób uzyskać pełniejszy obraz życia drobnoustrojów w naturalnym środowisku glebowym (ryc. 1).

Jedną z cech odróżniających glebę od innych środowisk naturalnych, w których żyją mikroorganizmy, jest przewaga fazy stałej nad wodną i gazową. Właściwości fizykochemiczne tej fazy wywierają wpływ na bytujące w glebie drobnoustroje (30). Różnorodne stałe składniki gleby dają sposobność współdziałania mikroorganizmów z powierzchnią tych składników. Marshall (19) podaje, że większość mikroorganizmów w glebie znajduje się w stanie zasorbowanym. Według Estermana i Mc Larena (cyt. za 15) istnieją duże różnice w zdolności sorpcji mikroorganizmów przez różne rodzaje gleb, co związane jest w znacznym stopniu z wielkością powierzchni i właściwościami ładunku cząstek gleby (19).

O wielkości powierzchni właściwej w glebach decydują przede wszystkim minerały ilaste (15). Wzajemne oddziaływanie pomiędzy komórkami mikroorganizmów a cząstkami ilastymi jest jednym z ważniejszych zagadnień związanych ze zjawiskiem sorpcji w glebie.

Różne aspekty tego zagadnienia były przedmiotem zainteresowania wielu autorów (1,2,6,15,16,17,18,20,22,24,26,28,29).



Ryc. 1. Stopniowa rekonstrukcja fizycznego środowiska mikroorganizmów glebowych. Mikroorganizmy w środowisku płynnym (1) mogą być przytwierdzone do dużych powierzchni stałych (2), a następnie do cząstek koloidalnych (3). Gdy cząstki stałe są agregowane, mikroorganizmy mogą być rozprzestrzeniane w dużej ilości odrębnych mikrośrodków (4). Życie mikroorganizmów glebowych in situ może być kontrolowane przez przepływ wody i gazu przez profile glebowe (5) (cyt. za Hattorimi, 7)

Przeprowadzono liczne obserwacje jakościowe i podjęto próby oceny ilościowej zjawiska sorpcji drobnoustrojów w glebie. W szeregu prac opisywano eksperymenty przeprowadzone na sztucznych sorbentach (4,5,8,9,10,11,21,22,23,33,35). Podjęto próby wyjaśnienia prawidłowości, uwarunkowań i mechanizmów sorpcyjnego oddziaływania pomiędzy drobnoustrojami oraz powierzchniami stałymi. Badano wpływ tychże współdziałań na czynność biologiczną sorbowanych mikroorganizmów.

Jak wiadomo, drobnoustroje odgrywają ważną rolę w procesach mineralizacji i przemian substancji organicznej w glebie. Zagadnienie lokalizacji drobnoustrojów w glebie nie zostało dostatecznie opracowane. Liczni autorzy uważają, że mikroorganizmy rozprzestrzeniane są przeważnie na powierzchni cząstek glebowych. Na powierzchni gruzełków stwierdzono obecność wielu rodzajów bakterii, takich jak: ziarniaki, laseczki zarodnikujące i nie zarodnikujące, laseczki wrzecionowate oraz promieniowce i pączkujące drożdże. Do rzadziej spotykanych należały śrubowce, spory grzybów oraz mycelium grzybów, to ostatnie w stadium rozkładu przez populację bakterii (3,32). Stwierdzono występowanie wolnych komórek, przy czym ich liczba była różna, zależna od typu gleby, np. gleba darniowo-bielicowa zawierała ich więcej aniżeli czarnoziem (36). Poszczególne cząstki gleb różnią się między sobą ilością zasiedlających je drobnoustrojów. Więcej mikroorganizmów obserwuje się na cząstkach bogatszych w substancję organiczną. Gray i współaut. (cyt. za 19) wykazali, że 60% bakterii w glebie wytworzonej z płasków wydmych gromadzi się na cząstkach organicznych, stanowiących 15% powierzchni w glebie. Zróżnicowany stopień zasiedlenia zaznacza się również na poszczególnych częściach tej samej cząstki glebowej (36). Nie-

równomierność ta zwiększa się wskutek tego, że mikroorganizmy występują na ogół w postaci kolonii składających się z licznych komórek.

Zwrócono uwagę na zależność pomiędzy wielkością cząstek glebowych a stopniem ich zasiedlenia przez drobnoustroje, przede wszystkim bakterie. Burrichter, (cyt. za 19) twierdzi, że najwięcej drobnoustrojów obserwuje się na cząstkach o średnicy 20-25 μ , mało natomiast jest ich na dużych cząstkach glebowych. Obserwacje na glebie próchniczo-glejowej, przeprowadzone przez Zwiagincewa (36), wskazują na wprost proporcjonalną zależność pomiędzy rozmiarami cząstek glebowych (w granicach 1-500 μ) a liczbą skupionych na nich drobnoustrojów. W glebie darniowobielicowej tenże autor stwierdził stosunkowo mało mikroorganizmów w porównaniu z liczbą wyliczoną teoretycznie, zasorbowanych na dużych (400-500 μ) cząstkach (37). Również niewiele drobnoustrojów ulegało sorpcji na ziarnach piasku. Autorzy obliczają, że bakterie zasiedlają tylko 0,02% dostępnej powierzchni ziarenek piasku (19).

Peele (cyt. za 19) zauważył, że stopień sorpcji badanych mikroorganizmów w glebie wzrasta wraz ze zwiększającą się wartością kationów wysycających tę glebę. Drobnoustroje mogą więc być mocniej lub słabiej, związane z cząstkami gleby, zależnie od jej rodzaju, a także od stadium rozwoju.

Według Chudiakowa (cyt. za 19), jeżeli gleba jest nasycona jednym mikroorganizmem (w omawianym przypadku *Serratia marcescens*), to sorpcja innego mikroorganizmu nie następuje. Zwiagincew (36) natomiast nie wyklucza możliwości sorbowania drugiego drobnoustroju w przypadku, gdy na cząstkach gleby znajdują się miejsca niezdolne do sorbowania danego gatunku mikroorganizmów.

Przykład sorpcji wymiennej przedstawił Rubienczik (cyt. za 19).

Zwrócono uwagę na selektywność sorpcji drobnoustrojów w glebie. Eisenberg i Krasilnikow (cyt. za 19) wskazali, że bakterie Gram+ łatwiej ulegały sorpcji aniżeli Gram-. Potwierdzeniem tego jest praca Kagawy (12).

Przedmiotem niniejszego opracowania są sorpcyjne oddziaływania pomiędzy mikroorganizmami i powierzchniami stałymi w ogólności, a szczególnie pomiędzy drobnoustrojami glebowymi i stałą fazą gleby. Zostało ono wykonane w ramach problemu węzłowego 10.2.10. „Określanie współzależności pomiędzy czynnikami biologicznymi, fizycznymi i fizykochemicznymi w glebie”, koordynowanego przez Instytut Ekologii PAN.

RODZAJE WSPÓŁDZIAŁANIA POMIĘDZY CZĄSTKAMI GLEBY I DROBNOUSTROJAMI

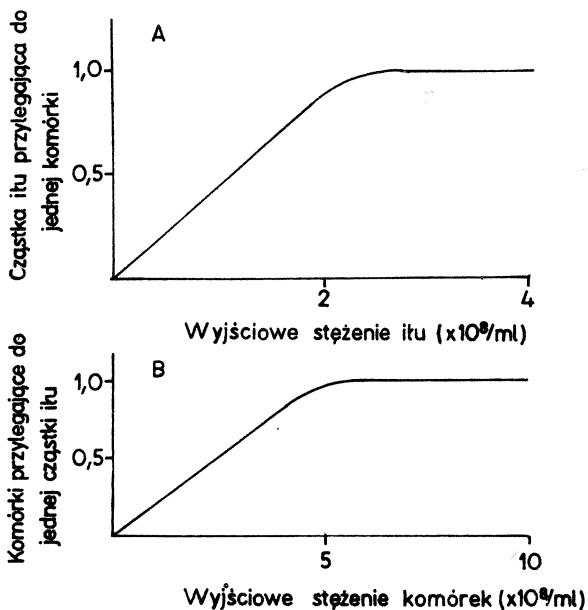
Jedną z form współdziałania pomiędzy stałymi składnikami gleby a komórkami mikroorganizmów jest mechaniczne ich zatrzymywanie w wąskich porach glebowych podczas filtracji przez profil glebowy. Współdziałanie pomiędzy wymienionymi komponentami może zachodzić również w przypadku, gdy pozostają one w pewnej odległości od siebie. Jego przejawem jest wówczas układanie się komórek wokół cząstek, promieniście lub w postaci koncentrycznych okręgów. Ścisły kontakt drobnoustrojów z cząstkami gleby, stanowiący inny rodzaj współdziałania pomiędzy wymienionymi komponentami daje sposobność występowania następujących procesów:

- a) adsorpcji komórek mikroorganizmów na powierzchni cząstek glebowych, co jest zjawiskiem najczęściej spotykanym,
- b) agregacji tych składników, w wyniku której powstają konglomery,

c) adsorpcji drobnych cząstek glebowych na powierzchni komórek drobnoustrojów (36).

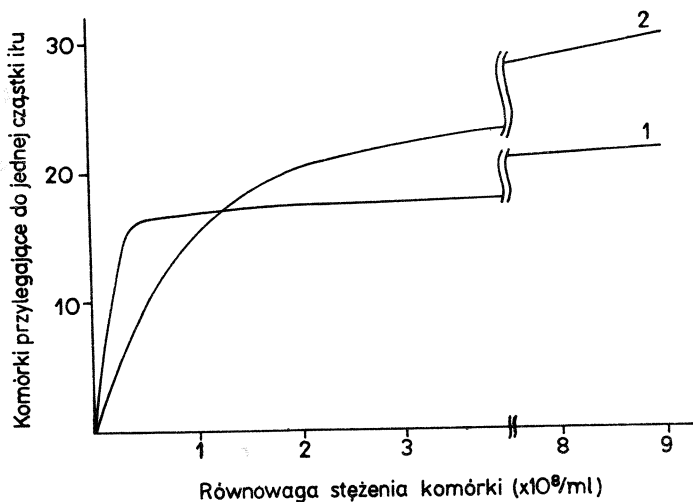
Adsorpcja drobnoustrojów na powierzchni cząstek gleby

Rezultatem tego rodzaju sorpcji są kompleksy BmC, gdzie m oznacza liczbę komórek bakterii B adsorbowanych na cząstce ilastej C. Kompleks taki został opisany przez Hattoriego (cyt. za 19) w przypadku *E. coli* i profillitu sodu (ryc. 2 i 3). Charakterystyczną jego cechą jest niezwykle nieregularny ruch, co zmniejsza szansę efektywnych zderzeń tego kompleksu z następ-



Ryc. 2. Łączenie się komórek *E. coli* (B) z cząstkami ilastymi pirofillitu sodowego (A) jako funkcja ich stężenia. Komórki i cząstki iłu pirofillitowego miały średnicę odpowiednio $0,8 \mu$ i $0,9 \mu$ (cyt. za Hattorim 6)

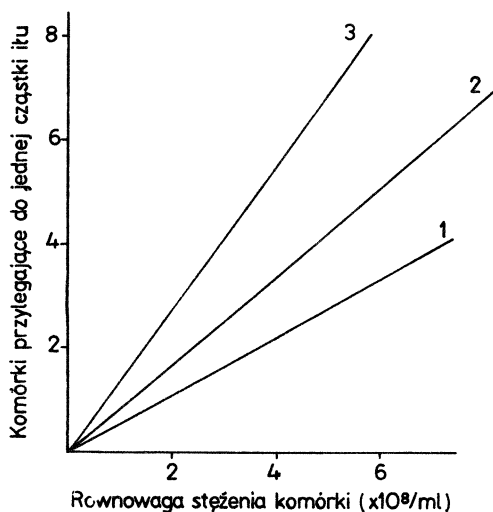
nyimi komórkami (7). Kompleksy BmC mogą powstawać w wyniku wiązań pomiędzy dodatnimi ładunkami krawędzi cząstki ilastej i ujemnymi powierzchniami komórek bakteryjnych lub wskutek wiązań koordynacyjnych pomiędzy komponentami. Pierwszy typ kompleksów jest



Ryc. 3. Izoterma adsorpcji komórek *E. coli* na cząstkach pirofillitu - Na
1 - cząstki o średnicy 2,2 μ , 2 - cząstki o średnicy 2,9 μ
(cyt. za Hattorim 6)

charakterystyczny dla ilów wysyconych jonami Na^+ , natomiast drugi - dla cząstek ilastych wysyconych dwu- i trójwartościowymi jonami Cu^{2+} , Co^{2+} , Fe^{3+} (4). Przeprowadzone obserwacje mikroskopowe wskazały, jak wspomniano wyżej na korelację pomiędzy ilością sorbowanych bakterii oraz ich rozmieszczeniem na cząstce gleby a zawartością w tejże cząstce substancji organicznej. Stopień sorpcji komórek na dużych cząstkach, takich jak kwarc, może być niski. Obecność cząstek ilastych bądź substancji organicznej

powoduje gromadzenie się większej ilości bakteriina tych cząstkach (19).



Ryc. 4. Izotermy adsorpcji komórek *E. coli* na ilach traktowanych Cu^{2+} i Co^{2+}

1 - kaolinit traktowany jonami Cu^{2+} , 2 - pirofillit traktowany jonami Cu^{2+} , 3 - pirofillit traktowany jonami Co^{2+} .

Średnica cząstek kaolinitu i pirofillitu wynosiła odpowiednio $0,7 \mu$ i $0,9 \mu$ (cyt. za Hattori, 6)

Powstawanie agregatów

Zdaniem Marshalla (19) w wyniku sorpcyjnego oddziaływania pomiędzy komórkami mikroorganizmów a cząstkami gleby o zbliżonych rozmiarach powstają a g r e g a t y. Hattori (6,7) zdefiniował agregat BmCn jako połączenie bakterii B i cząstek ilu C, w którym zarówno liczba m jak i n jest większa od 1. Badania Santoro i Stotzky'ego (cyt. za 19) wykazały, że warunkiem powsta-

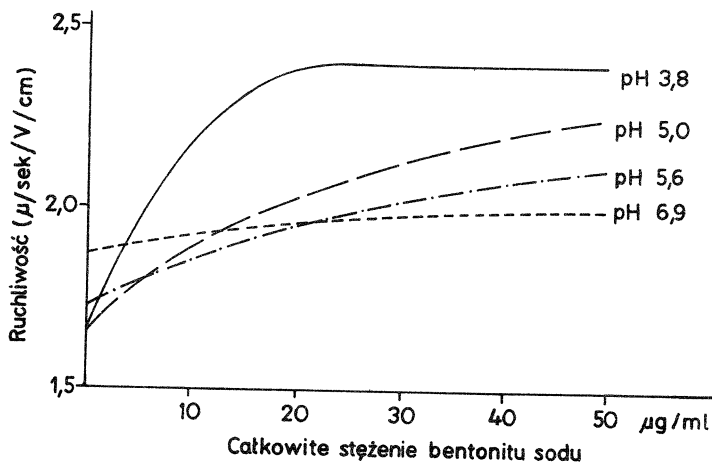
wania agregatów złożonych z komórek bakterii i cząstek montmorylonitu wysyconego jednowartościowymi kationami było niskie pH środowiska. Agregaty z komórkami drożdży powstawały tylko w obecności kationów trójwartościowych (26).

Adsorpcja drobnych cząstek gleby na powierzchni komórek mikroorganizmów

Występowanie drobnych cząstek (głównie ilastych) w glebie sprzyja tworzeniu się kompleksów BCn, w których na 1 komórkę bakteryjną przypada pewna ilość ilu. W tego typu kompleksie występuje adsorpcja typu Langmuira, według Marshalla (cyt. za 7). Może ona wskazywać na istnienie szeregu poziomów nasycenia adsorbowanych cząstek ilastych na jednostkę powierzchni komórki. Z kolei poziom nasycenia ściśle wiąże się z orientacją cząstek ilastych na powierzchni komórki bakteryjnej (7). Występowanie tego rodzaju sorpcji wykazano pośrednio przy użyciu mikroskopu fluorescencyjnego (17). Wprowadzenie montmorylonitu wysyconego sodem do zawiesiny laseczek *Bacillus subtilis* powoduje obniżenie intensywności ich obrazu fluorescencyjnego. Wynik ten sugeruje, iż cząstki montmorylonitu pokrywają powierzchnię bakterii. Mikroskopia elektronowa umożliwiła bezpośrednie obserwacje sposobu sorpcji cząstek ilastych na komórkach bakteryjnych. Przedstawione przez Marshalla (17) mikrografy elektronowe wyraźnie ukazują sorbowane cząstki ilaste, otaczające komórkę *Rhizobium trifolii*. Zauważa się, że więcej cząstek montmorylonitu wporównaniu z illitem jest sorbowanych przez komórkę *Rhizobium*. Widoczna jest również różnica grubości pomiędzy cząstkami montmorylonitu i illitu.

Szczegółowe badania omawianego zjawiska podjął Lahav (15).

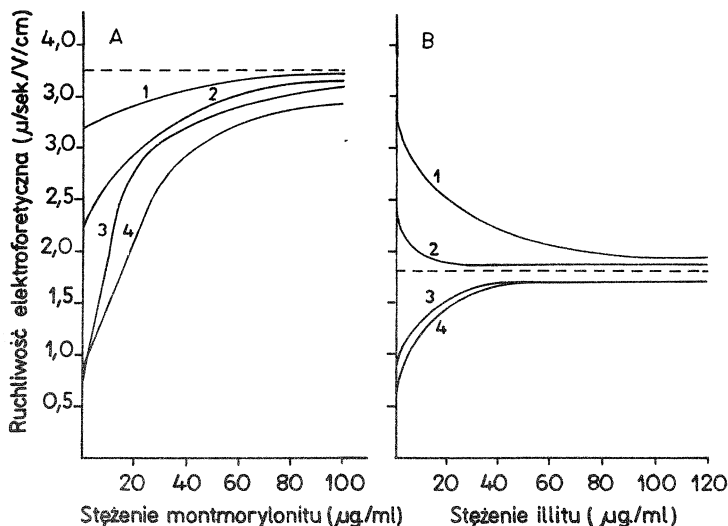
Stwierdził on, że sorpcja bentonitu na komórkach *Bacillus subtilis* jest procesem odwracalnym. Ilość cząstek ilastych sorbowanych na jednej komórce zależy od pH. Lahav wykazał, że ilość ta, w przeliczeniu na bakterię spada odwrotnie proporcjonalnie w stosunku do pH w granicach pH 3,8–6,9 (ryc. 5); przy pH = 8 natomiast nie zauważono sorpcji cząstek ilastych.



Ryc. 5. Ruchliwość elektroforetyczna *B. subtilis* jako funkcja całkowitego stężenia bentonitu - Na przy różnych wartościach pH, bufor: malonian - Na, moc jonowa 0,05 (cyt. za Lahavem, 15)

W badanej populacji bakterii wyróżniono 2 typy *Bacillus subtilis* różniące się ruchliwością elektroforetyczną w obecności bentonitu-Na. Bakterie, których ruchliwość elektroforetyczna zależała od dodania bentonitu do zawiesiny, oceniono jako adsorbujące. Bakterie niesorbujące nie zmieniały ruchliwości elektroforetycznej w obecności wymienionego minerału. Marshall (17) stwierdził, że wszystkie komórki różnych gatunków *Rhizobium*

i różne szczepy *Bacillus subtilis* jednakowo reagowały na dodanie montmorylonitu czy illitu-Na. Jak opisuje autor, wzrostowi zawartości cząstek ilastych towarzyszyło zwiększenie ruchliwości elektroforetycznej różnych gatunków *Rhizobium* (ryc.6). Świadczy to o stopniowym pokrywaniu komórek bakterii przez cząstki ilaste. Obserwowane zmiany ruchliwości elektroforetycznej uzależnione były od ruchliwości elektroforetycznej zarówno cząstek ilastych jak i komórek bakteryjnych. Wzrost stężenia cząstek ilastych w mieszaninie z komórkami bakteryjnymi o wyższej ruch-



Ryc. 6. Zmiany ruchliwości elektroforetycznej *Rhizobium* wraz ze wzrostem stężenia cząstek ilastych w roztworze wolnym. 1 - *Rhizobium trifolii* SU298D, 2 - *trifolii* TAI, 3 - *R. lupini* UT 12, 4 - *R. trifolii* SU297B, A - linia przerywana wskazuje ruchliwość cząstek montmorylonitu - Na, B - linia przerywana wskazuje ruchliwość cząstek illitu - Na (cyt. za Marshalllem, 17)

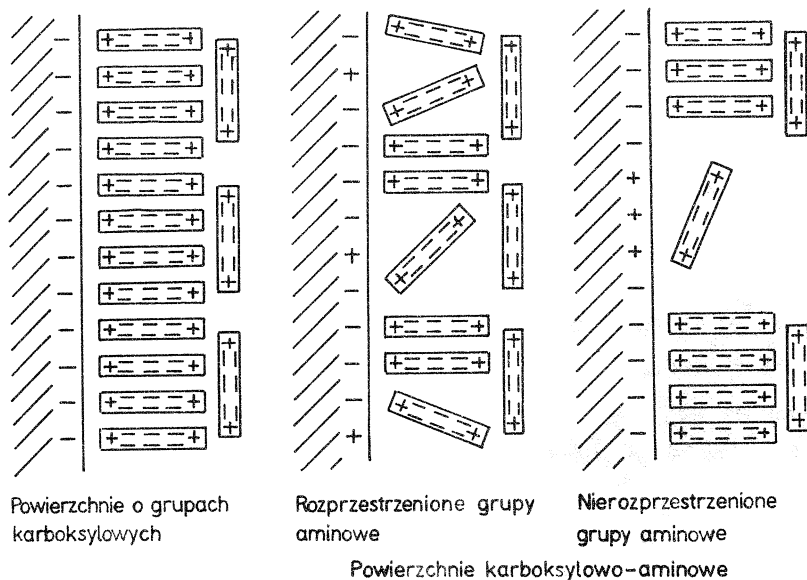
liwości elektroforetycznej niż ruchliwość cząstek ilastych, prowadził do spadku ruchliwości elektroforetycznej komórek bakteryjnych aż do wartości ruchliwości elektroforetycznej cząstek ilastych. Wskazuje to na sorbowanie się cząstek ilastych na komórkach bakteryjnych.

Zdaniem Marshalla (19) ilość cząstek ilastych sorbowanych na powierzchni komórek bakteryjnych nie zależy od gęstości ładunku na powierzchni komórki. Autor zwraca uwagę na związek pomiędzy ilością sorbowanych cząstek iłu a charakterem grup jonogennych występujących na powierzchni komórki bakteryjnej. Na zależność tę wskazuje również Hattori (6) podkreślając, że komórki o powierzchni z ładunkiem ujemnym sorbują średnio dwukrotnie większą ilość cząstek ilastych, w porównaniu z bakteriami o powierzchni karboksylowej i aminowej. Ładunek na powierzchni cząstek ilastych nie wpływa na ilość tych cząstek sorbowanych przez komórkę bakteryjną. Jedna komórka sorbowała jednakową ilość zarówno cząstek montmorylonitu jak i illitu.

Biorąc pod uwagę płaską budowę cząstek bentonitu-Na Lahav (15) rozważa możliwość 3 sposobów ułożenia tych cząstek na powierzchni bakterii w zależności od warunków doświadczenia:

- 1) krawędź z powierzchnią,
- 2) powierzchnia z powierzchnią,
- 3) sorpcja mieszana - obydwoma sposobami.

Pierwszy rodzaj sorpcji, jak przypuszcza Marshall (17,19), jest charakterystyczny zarówno dla komórek posiadających na powierzchni tylko wolne grupy karboksylowe, jak również karboksylowe i aminowe (ryc. 7). Biorąc pod uwagę komórki z czynnymi grupami karboksylowych i aminowych na powierzchni, należałoby się spodziewać mniejszej liczby sorbowanych na nich cząstek iłu.



Ryc. 7. Interpretacja połączenia „krawędź do powierzchni” pomiędzy blaszkami montmorylonitu i komórkami o różnych powierzchniach jonogennych (Marshall, cyt. za Hattorim, 6)

Przypuszczenia te znalazły potwierdzenie w doświadczeniach Marshalla (17), z których wynikało, że komórki o wyłącznie karboksylowych grupach na powierzchni sorbowały niemal dwukrotnie większą ilość cząstek ilastych niż komórki o powierzchni z czynnymi grupami karboksylowymi i aminowymi.

Drugi rodzaj sorpcji - „powierzchnia z powierzchnią”, jak sugeruje Marshall (16), występuje w przypadku komórek o powierzchni z wolnymi grupami karboksylowymi i aminowymi. Szczególnie zlokalizowany sposób rozmieszczenia grup aminowych sprzyja tego rodzaju sorpcji. Bardzo istotne dla potwierdzenia teoretycznych rozważań dotyczących tego zjawiska okazały się doświadczenia,

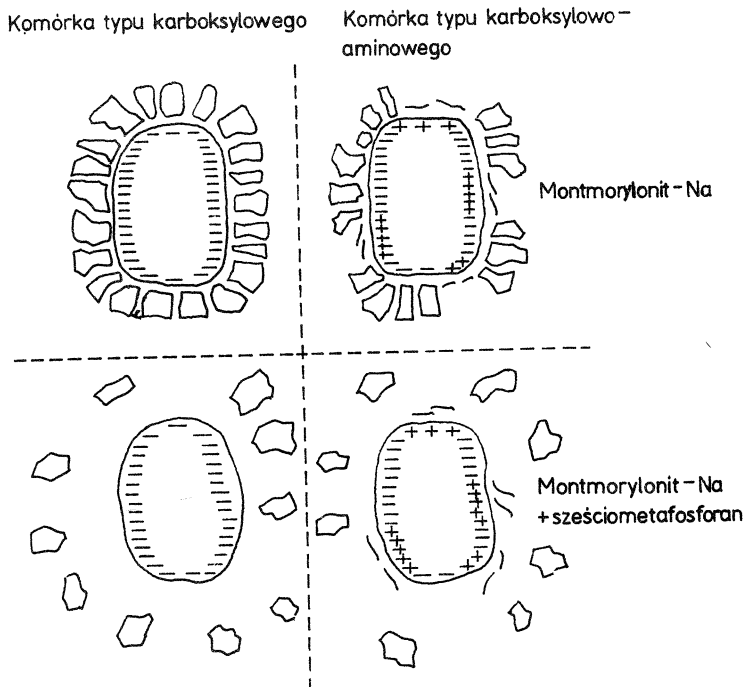
podczas których badano wpływ montmorylonitu-Na z sześciometafosforanem sodowym na ruchliwość elektroforetyczną komórek różnych gatunków *Rhizobium* o karboksylowo-aminowych oraz karboksylowych grupach na powierzchni. Sześciometafosforan sodowy zobojętnia ładunki dodatnie na krawędziach blaszek iżu eliminując sorpcję typu pierwszego (16). Ilustracją wymienionych uprzednio rodzajów sorpcji jest ryc. 8. Omówione zależności dotyczą sorpcji na powierzchniach bakterii drobnych cząstek ilastych wysycanych kationami jednowartościowymi. Natomiast montmorylonit-Ca zmniejsza ruchliwość elektroforetyczną komórek bakterii (15).

W bardzo złożonym środowisku glebowym, zawierającym szeroki zakres rozmiarów cząstek, występuje sorpcja zarówno drobnych cząstek gleby na komórkach bakteryjnych, jak również powstawanie agregatów pomiędzy tymi składnikami o podobnych rozmiarach. Należy oczekiwać również sorbowania się drobnoustrojów na dużych cząstkach gleby pokrytych koloidalną powłoczką.

CZYNNIKI WPŁYWAJĄCE NA ZJAWISKO SORPCJI DROBNOUSTROJÓW NA CZĄSTKACH GLEBY

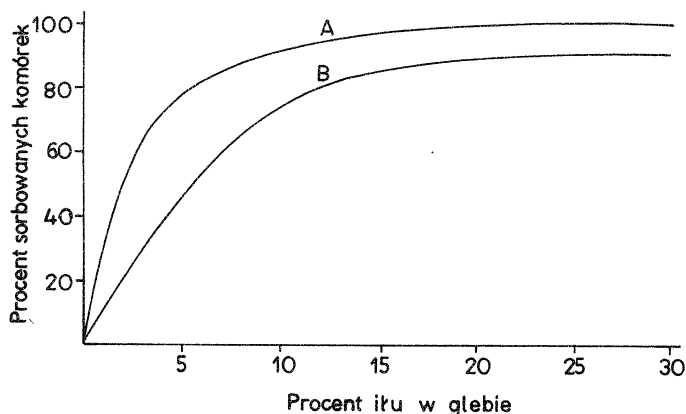
Stopień sorpcji pomiędzy mikroorganizmami i cząstkami gleby związany jest z wielkością powierzchni i właściwościami ładunku elektrycznego cząstek ilastych gleby. Wymienione czynniki są różne, zależne od rodzaju minerałów ilastych, ich zawartości i rozmieszczenia w glebie oraz od charakteru kationów wysycających je (19).

Badania stopnia sorpcji 2 gatunków bakterii na kilku rodzajach gleb różniących się zawartością cząstek ilastych, przeprowadzone przez Minenkowa (cyt. za 19), wykazały wzrost sorpcji do pewnych granic wraz ze zwiększającą się zawartością cząstek ilas-



Ryc. 8. Przedstawienie połączenia „krawędź do powierzchni” pomiędzy blaszkami montmorylonitu-Na i ujemnie naładowaną powierzchnią komórki typu karboksylowego przy braku sorpcji sześciometafosforanomontmorylonitu na tym typie komórki. Na komórce typu karboksylowo-aminowego przedstawiono sorpcję montmorylonitu-Na, zarówno „krawędzią do powierzchni”, jak i „powierzchnią do powierzchni”. W przypadku, gdy dodatnie ładunki przy krawędzi blaszek są zubożone przez sześciometafosforan występuje sorpcja „powierzchnia do powierzchni” (cyt. za Marshall, 19)

tych (ryc. 9). Zauważono przy tym różnicę w stopniu sorpcji pomiędzy gatunkami drobnoustrojów. Komórki *Bacillus cereus* były silniej sorbowane aniżeli *Serratia marcescens*.



Ryc. 9. Wzrost sorpcji bakterii w miarę zwiększającej się zawartości cząstek ilastych w glebach: (A) *B. cereus* var. *mycoides*; (B) *S. marcescens*. (Minenkov, cyt. za Marshall, 19)

Czynnikiem modyfikującym sorpcję drobnoustrojów są również kationy wysycające glebowy kompleks sorpcyjny (ryc. 4). Peele (cyt. za 19) zwrócił uwagę na wysoki stopień sorpcji komórek *Azotobacter chroococcum* w przypadku nasycenia gleby trójwartościowymi kationami Al^{3+} i Fe^{3+} w przeciwieństwie do wysycenia go jonami jednowartościowymi (tab. 1). Podobną zależność zauważyli Ruddick i Williams (25) w przypadku sorpcji zarodników promienioców na piasku oraz Stotzky i Bystricky (29) w odniesieniu do minerałów ilastych sorbowanych na komórkach mikroorganizmów. Oksentian (cyt. za 19), badając stopień sorpcji drożdży i bakterii kwasu mlekowego na cząstkach o różnych wartościach ładunku

Tabela 1. Wpływ kationów wysycających kompleks wymienny gleby gliniasto-pyłastej na sorpcję *A. chroococcum* (Peele, cyt. za 19).

Kation wysycający	sorpcja (%)
Li^+	1
K^+	4
Na^+	0
NH_4^+	1
Mg^{2+}	9
Ba^{2+}	35
Ca^{2+}	22
Mn^{2+}	61
Fe^{3+}	94
Al^{3+}	92
Kontrola	22

ujemnego, wskazał na wprost proporcjonalną zależność pomiędzy tymi wielkościami.

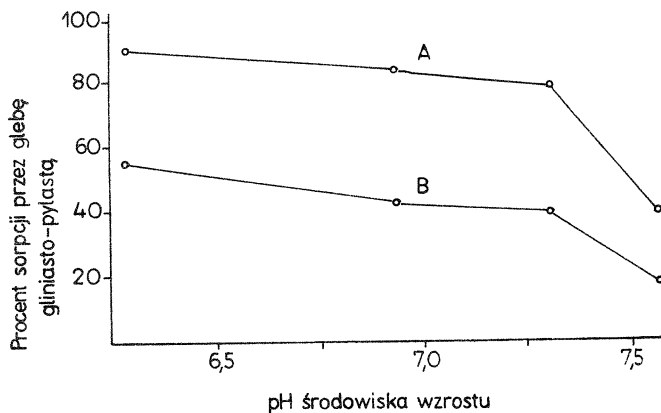
Jak podaje Filip (1), sorpcja wzrastała wraz z powierzchnią sorbenta. Największa sorpcja występowała zwykle w przypadku cząstek mineralnych o średnicy 1,5–30 μ (2).

Analizując sorpcję bakterii w profilu glebowym po wprowadzeniu do gleby stałej liczby mikroorganizmów, zauważono wzrost sorpcji wraz z głębokością aż do maksimum charakterystycznego dla danej gleby albo dla drobnoustroju (19). Wiąże się to zapewne z wykazaną przez Zwiagincewa (37) prawidłowością, iż w głębszych poziomach gleb wstanie naturalnym utrzymuje się mniej zasorbowanych komórek aniżeli w poziomach górnych. Gleba oraz kaolinit słabiej sorbuje drobnoustroje aniżeli montmorylonit (37).

Istotne znaczenie dla mikrobiologii rolnej miały podjęte przez Zwiagincewa (35) próby ustalenia niektórych prawidłowości adsorpcji mikroorganizmów na żywicach jonowymiennych. Przebadane przez autora drobnoustroje (*Proactinomyces*, bakterie, drożdże) wykazywały w różnym stopniu sorpcję na żywicy anionitowej, przy czym zdecydowanie lepszą sorpcję obserwowano przy niższych wartościach pH (pH 4). Na kationicie natomiast adsorbowały się tylko określone mikroorganizmy. Zauważono przy tym zależność sorpcji od kationów wysycających żywicę: najlepiej adsorbowały się drobnoustroje, gdy żywica wysycona była jonami H^+ , najsłabiej natomiast w przypadku wysycenia jonami NH_4^+ . Zatem najlepsza adsorpcja drobnoustrojów występuje wówczas, gdy żywica nasycona jest kationami silnie obniżającymi potencjał elektrokinetyczny komórek mikroorganizmów. Obserwowano trwałą adsorpcję mikroorganizmów (poza *Saccharomyces cerevisiae*) na cząstkach żywicy. Adsorbent charakteryzował się określoną dla danego gatunku drobnoustrojów pojemnością sorpcyjną. Nie wykluczało to możliwości adsorbowania się w jakimś stopniu drugiego mikroorganizmu. Nie następowało to jednakże w wyniku desorpcji pierwszego drobnoustroju. W przypadku użycia jako sorbenta mułu ze słonego jeziora, sorpcja danego drobnoustroju (w analizowanym przypadku *Serratia marcescens*) następowała w wyniku desorpcji komórek bakterii zasiedlających dany materiał. Średnio na jedną desorbowaną komórkę przypadało 10 zasorbowanych komórek *Serratia marcescens* (Rubieniczak i współaut., cyt. za 19). Wcześniejsze badania Chudiakowa (cyt. za 19) wskazywały na brak sorpcji innych mikroorganizmów na cząstkach gleby w przypadku wysycenia jej jednym mikroorganizmem.

Wielu autorów zauważyło różnice w stopniu sorpcji różnych

bakterii przez gleby w zależności nie tylko od gatunku bakterii, lecz również od pH podłoża, na którym były hodowane, jako czynnika modyfikującego właściwości powierzchni komórki. Związek ten ujmuje ryc. 10.



Ryc. 10. Wpływ pH środowiska wzrostu na sorpcję bakterii (A) *Azotobacter chroococcum* i (B) *Bacillus cereus* var. *mycoides* przez glebę gliniasto-pyłastą (Peele, cyt. za Marshalllem, 19)

Zwiagincew (37) wskazał na różnice w zdolnościach adsorpcyjnych bakterii hodowanych na podłożach stałych i płynnych, a także na minimalnych i wzbogaconych.

Szukano zależności pomiędzy zdolnościami sorpcyjnymi bakterii a reakcją Grama. Eisenberg i Bogopolski (cyt. za 19) twierdzili, że bakterie Gram+ łatwiej ulegały sorpcji aniżeli Gram-. Również Kagawa (12) wskazał na lepszą sorpcję bakterii Gram+. O łatwej sorpcji drobnoustrojów Gram+ na cząstkach gleby można także wnioskować w oparciu o mikroskopowe obserwacje wzrostu mikroorganizmów w mikrośrodkach glebowych przeprowadzone przez Wadę i Ishii (32), podczas których zauważono, że mikroorganizmy swo-

bodnie rosnące poza cząstkami gleby były Gram-. Również Yamagishi i współaut. (33) na podstawie badań na adsorbentach organicznych i nieorganicznych podali, że bakterie Gram+ lepiej adsorbowały się niż Gram-. Wniosek ten jednakże nie został potwierdzony. Modelowe doświadczenia Müllera i Hickisha (22) na syntetycznych sorbentach oraz minerałach ilastych, podobnie jak doświadczenia Filipa (2) oraz Santoro i Stotzky'ego (26) na minerałach ilastych, wykazały, że różnica reakcji Grama nie wpływała na szybkość sorpcji bakterii na cząstkach. Również Zo Bell (cyt. za 7), obserwując przyczepianie się mikroorganizmów wyizolowanych z wody morskiej do powierzchni szklanej, zwrócił uwagę na jego selektywność, jednakże nie zauważył żadnej współzależności pomiędzy reakcją Grama a zdolnościami sorpcyjnymi tych drobnoustrojów. Sorpcja mikrogrzybów oraz zarodników promieniowców, zarówno na cząstkach gleby, jak minerałach ilastych, była przedmiotem zainteresowania Novogrudskiego (cyt. za 2) oraz Ruddicka i Williamsa (25).

Występowanie w świecie mikrobiologicznym, zarówno organizmów ruchliwych, jak i nie posiadających tej właściwości, skłoniło licznych autorów do podjęcia badań nad zdolnościami sorpcyjnymi drobnoustrojów w zależności od tej cechy. Analiza omawianego zjawiska przeprowadzona przez licznych autorów (cyt. za 2) wykazała, że mogą mu podlegać zarówno organizmy ruchliwe, jak i nieruchliwe. Sorpcja mikroorganizmów martwych nie była również negowana (2, 26, 37). Piercowska i Zwiagincew (23) wskazują na jednaki stopień sorpcji komórek żywych i zabitych przez autoklawowanie. Sorbowane bakterie ruchliwe zachowują zdolność do życia i ruchliwość, zmuszając też do ruchu cząstki gleby przewyższające rozmiarami komórki bakteryjne (np. *Pseudomonas violacea* - 36).

Bakterie ruchliwe sorbowały się biegunem w sposób określony przez Lahava (15) „krawędź do powierzchni” i wykazywały ruch rotacyjny dookoła bieguna. Bakterie ruchliwe wykazujące sorpcję typu „powierzchnia z powierzchnią” obracały się w obu kierunkach w sposób naśladujący śmigło. W przypadku bakterii nieruchliwych obserwowano sorpcję „powierzchnia z powierzchnią”. Mikroorganizmy te przejawiały tylko ruchy Browna (7,21). Wyniki otrzymane przez Müllera i Hickisha (22) wskazują na większą skłonność do sorpcji komórek urzęsionych w porównaniu z nie urzęsionymi tego samego szczepu, co może być rezultatem bądź czynnego przemieszczania się komórek, bądź też powiększenia ich powierzchni przy niewielkim wzroście objętości. Jednakże Santoro i Stozky (26) nie znaleźli korelacji pomiędzy ruchliwością bakterii i stopniem ich sorpcji na minerałach ilastych, a także rozmiarami bakterii i cząstek ilów.

Zwrócono również uwagę na zależność zdolności sorpcyjnych bakterii od fazy rozwoju hodowli (23). Kagawa (12) badając stopień sorpcji 6 rodzajów bakterii, dominujących w analizowanej glebie zauważył, że w fazie logarytmicznej t.j. w głównym okresie wzrostu – bakterie były sorbowane silniej niż w fazie stacjonarnej. Obserwacje te zostały potwierdzone w doświadczeniach modelowych przeprowadzonych przez Hattoriego i współaut. (11). Liczba komórek silnie przyczepionych do powierzchni obniżała się ze wzrostem wieku hodowli (Zwiagnicew, cyt. za 20 oraz Filip, 2). Na zmianę zdolności sorpcyjnych bakterii, zależnie od wieku, wskazuje również Hattori (6). Natomiast w przypadku szczepów analizowanych przez Müllera i Hickisha (22) tylko 2 spośród 6 wykazywały zmniejszanie się szybkości adsorpcji komórek wraz z wiekiem.

Müller i Hickish (22) zwrócili uwagę na korelację pomiędzy długością komórek bakteryjnych a ich szybkością sorbowania się na minerałach ilastych oraz syntetycznych żywicach adsorpcyjnych: kationowymiennych i anionowymiennych. Szybkość adsorpcji spadała w miarę wzrostu długości komórek bakteryjnych.

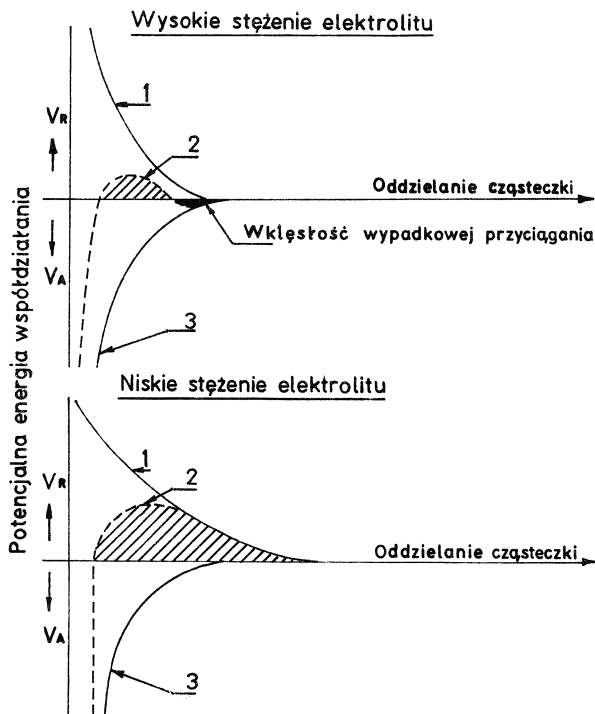
Bakterie wytwarzające śluz były adsorbowane w mniejszym stopniu aniżeli bakterie nie posiadające tej zdolności. Autorzy próbowali wyjaśnić to zjawisko wzrostem lepkości zawiesiny komórek, utrudniającym zbliżanie się komórek do adsorbenta, bądź agregującym oddziaływaniem śluzu na cząstki adsorbenta, prowadzącym do ograniczenia jego powierzchni sorpcyjnej (22).

MECHANIZMY SORPCJI DROBNOUSTROJÓW

Występowanie wzajemnego współdziałania pomiędzy komórkami mikroorganizmów a cząstkami gleby warunkuje charakter i wielkość ładunku elektrycznego na powierzchniach. Pochodzenie ładunku na powierzchni komórek bakteryjnych wiąże się z jonotwórczymi grupami $R-COOH$ i $R-NH_2$ makrocząstek budujących ścianę komórkową (6). Haydon (cyt. za 6) przypisuje obecność ładunku na powierzchni komórki bakteryjnej występowaniu względnej desorpcji kationów na powierzchniach niejonogennych, czego wynikiem jest ładunek ujemny, oraz adsorpcji kationów dwu- albo trójwartościowych na powierzchni z grupami jonogennymi (prawdopodobnie karboksylowymi), co daje w efekcie przynajmniej 1 ładunek dodatni. Allen natomiast (cyt. za 6) uważa, iż ładunek powierzchniowy drobnoustrojów związany jest z czynnym metabolizmem komórek, podczas którego następowałoby ciągle przenoszenie elektronów z cytoplazmy bądź błony cytoplazmatycznej na powierzchnię ściany komórkowej.

Cząstki ilu, stanowiące główną część koloidów glebowych posiadają ładunki: płaskiej powierzchni i krawędzi wynikające z budowy tych cząstek. Charakter ładunku krawędzi cząstek ilu uzależniony jest od kwasowości środowiska i przybiera w środowisku kwaśnym wartość dodatnią, zaś w alkalicznym - ujemną.

Siły przyciągania i odpychania pomiędzy cząstkami gleby i komórkami drobnoustrojów decydują o przyleganiu komponentów do siebie. Hattori (6) i Marshall (20) wymieniają jako czynnik odpychający powstanie podwójnej warstwy elektrycznej w wyniku przyciągania jonów o ładunkach przeciwnych do powierzchniowych i odpychania jonów o ładunku identycznym. Pomiedzy jonami o przeciwnych znakach zachodzi ruch termiczny, dążący do równomiernego rozprowadzania jonów w całej fazie ciągłej oraz oddziałuje ładunek powierzchniowy, dążący do skupienia jonów na powierzchni zetknięcia się. Wynikiem działania wymienionych sił jest rozrzedzona atmosfera jonowa wokół każdej cząstki. Energia odpychania podwójnej warstwy elektrycznej neutralizowana jest przez siły przyciągania Van der Waalsa każdego ciała, których wartość uzależniona jest od składu elektrolitu (20). Przy niskich stężeniach elektrolitu energia odpychania jest bardzo efektywna poza strefą wpływu energii przyciągania (ryc.11) i dwa ciała są odpychane od siebie. Przy wyższych stężeniach elektrolitu dyfuzja podwójnej warstwy może być skupiona w punkcie, gdzie siły Van der Waalsa są efektywne w przyciąganiu ciał pozostających w określonej odległości. Zdaniem Marshalla i współaut. (21) wartość energii odpychania podwójnej warstwy elektrycznej wokół powierzchni oraz wielkość energii przyciągania Van der Waalsa między komponentami, a także odległość pomiędzy nimi, wpływają na odwracalną fazę sorpcji, o której mowa niżej.



Ryc. 11. Krzywe potencjalnej energii współdziałania pomiędzy dwiema stałymi cząstkami jako funkcja odległości międzycząsteczkowej przedstawiona dla wysokiego i niskiego stężenia elektrolitu

V_A - energia przyciągania, V_R - energia odpychania, 1 - podwójna warstwa odpychania, 2 - zgięcie wypadkowej odpychania, 3 - przyciąganie siłami Van der Waalsa (cyt. za Marshalllem, 20)

Siły Van der Waalsa i wiązania wodorowe są prawdopodobnie odpowiedzialne za sorpcję pomiędzy minerałami ilastymi i drobno-ustrojami w przypadku obniżania potencjału elektrycznego cząstek przez wielowartościowe kationy (2,26). Do czynników zmieniają-

cych potencjał elektrokinetyczny, a przez to warunkujących wystąpienie sorpcji, należą, wg Santoro i Stozky'ego (26):

a) pH mikrośrodowiska zwykle powyżej punktu izoelektrycznego komórek drobnoustrojów, warunkujące ujemny ładunek komórek;

b) metabolity drobnoustrojów uczulające iły na drobnoustroje bądź przytwierdzające je do komórek bakteryjnych, lub też przekształcające bakterie, albo oddziałujące poprzez redukcję potencjału przed sorpcją.

W przypadku niskich wartości pH występuje współdziałanie Coulomba pomiędzy drobnoustrojami i cząstkami iłu (26). Na ważność sił Coulomba w procesie sorpcji wg Oksentiana (cyt. za 19), wskazuje wzrost stopnia sorpcji w miarę zmniejszania się ujemnego ładunku na adsorbencie, bowiem powierzchnie o niższym czystym ładunku ujemnym mogą mieć miejsca z ładunkiem dodatnim, gdzie zachodzić może sorpcja ujemnie naładowanych komórek. Dowodów na rolę przyciągania elektrostatycznego w omawianym zjawisku dostarczyły wspomniane wyżej doświadczenia Santoro i Stozky'ego (26) oraz innych (16,17,19). Jednakże Dikusar i inni badacze (cyt. za 19) uważali, że przyciąganie elektrostatyczne odgrywa niewielką rolę w procesie sorpcji, bowiem oba składniki przy normalnych poziomach pH wykazują bardzo wyraźny ładunek ujemny. Zwiagincew (36), obserwując przytwierdzenie się komórek bakteryjnych do cząstek gleby, zarówno biegunami jak też bokami, sugeruje istnienie nierównomiernego rozmieszczenia ładunków dodatnich i ujemnych na powierzchni komórek. Ze względu na kompleksowość współdziałania pomiędzy bakteriami a cząstkami gleby różne mechanizmy sorpcji są prawdopodobne.

Hattori (cyt.za.19) wysunął przypuszczenie, że wyższy stopień sorpcji drobnoustrojów przez iły nasycone kationami wielo-

wartościowymi może powstawać na skutek „mostków kationowych” między powierzchniami komponentów. Obserwacje sorpcji kilku rodzajów bakterii na anionicie przeprowadzone przez Zwiagincewa i Guziewa (38), wskazują na wymianę jonów pomiędzy sorbentem i komórką bakteryjną, co warunkuje powiązanie między nimi. Autorzy zwrócili uwagę na rolę wadsorpcji karboksylowych grup funkcjonalnych występujących na powierzchni komórek bakteryjnych. Grupy te biorą udział w tworzeniu elektrostatycznych powiązań z grupami amoniowymi powierzchni anionitu. Ich liczba na powierzchni bakterii decyduje o sile sorpcji komórki mikroorganizmu na anionicie. Potwierdził to również Hattori(6) w oparciu o zaobserwowaną korelację pomiędzy adsorpcją komórek *Escherichia coli* na żywicy Dowex-1, a liczbę jonów Cl^- uwolnionych z żywicy. Autor ten zwraca też uwagę na rolę śluzu zarówno bezkształtnego, jak też zorganizowanego w otoczki w procesie tworzenia kompleksów bądź agregatów zarówno z ilastymi, jak i innymi cząstkami gleby. Podobnie Filip(2), opierając się na pracach innych autorów, sugeruje, że substancje lepkie (przypuszczalnie polisacharydy) mogą być czynnikami sprzyjającymi trwałemu łączeniu komórek i cząstek mineralnych. Nie potwierdziły tego jednakże doświadczenia Müllera i Hickisha (22). Zdaniem Marshalla i współaut. (21), delikatne polimeryczne wypustki wytwarzane przez bakterie mogą przeciwdziałać odpychaniu drobnoustrojów od powierzchni stałej decydując o sorpcji nieodwracalnej pomiędzy komponentami. Rolę polimerów w tym procesie podkreśla fakt, iż w doświadczeniach z ruchliwymi bakteriami morskimi, w przypadku braku wytwarzania przez nie wspomnianych wyżej wypustek, nie obserwowano również sorpcji nieodwracalnej.

Obserwacje za pomocą mikroskopu elektronowego wykazały, że

rzęski bakterii mogą stanowić wiązania drobnoustrojów z cząstkami gleby (cyt. za 6 i 19). Yamagishi i współaut. (33), na podstawie doświadczeń modelowych wysuwają przypuszczenie, iż sposób sorpcji uzależniony jest od stosunków ilościowych pomiędzy komórkami bakteryjnymi a cząstkami żelu. Gdy cząstek żelu jest mniej w mieszaninie niż komórek, są one prawdopodobnie adsorbowane przez powierzchnię komórki irzęski. W przeciwnym przypadku następuje koagulacja komórek z cząstkami, prowadząca do powstawania kompleksu.

Bardzo licznie występujące na powierzchni wielu komórek bakteryjnych wyrostki cytoplazmatyczne (fimbrie) prawdopodobnie odgrywają ważną rolę w procesach sorpcji, ponieważ przyczyniają się do zmiany gęstości czystego ładunku na powierzchni komórek (cyt. za 19). Szczególnie trwałą sorpcję niektórych mikroorganizmów (*Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*, *Flexibacter aurianticus* i in.) wyjaśniono, opierając się na obecności bardzo cienkich wyrostków na ścianie komórkowej albo mikrootoczek, stwierdzonych za pomocą obserwacji mikroskopowej kultur bakteryjnych (2,39).

Oprócz wymienionych, Pethica (cyt. za 7) uwzględnia następujące siły warunkujące sorpcję pomiędzy komórkami bakterii i powierzchniami cząstek mineralnych:

- a) tworzenie par jonowych i trypletów,
- b) siły będące następstwem wahań ładunku,
- c) napięcie powierzchniowe albo energia powierzchniowa.

Marshall i współaut. (21) oraz Zwiagincew (37) wskazują na ruch Browna jako czynnik odgrywający rolę w sorpcji komórek nieruchliwych, natomiast chemotaksja może prowadzić do sorpcji drobnoustrojów ruchliwych (7,20).

EFEKTY SORPCJI DROBNOUSTROJÓW

Marshall i współaut. (21), w oparciu o badanie sorpcji bakterii na powierzchni szklanej, wyodrębnili 2 odmienne fazy sorpcji:

a) szybko następująca faza odwracalna, w której komórki wykazują ruch Browna;

b) faza nieodwracalna, zależna od czasu, charakteryzująca się brakiem tego rodzaju ruchu.

Istnienie fazy odwracalnej wyjaśniono w świetle oddziaływań energii odpychania podwójnej warstwy elektrycznej przy różnych stężeniach elektrolitów i energii przyciągania Van der Waalsa. Nieodwracalna faza sorpcji wskazuje na silne powiązanie pomiędzy powierzchnią bakterii i sorbenta. Autorzy zwracają uwagę na rolę polimerycznych mostków pomiędzy wymienionymi powierzchniami przewyższających barierę odpychania. Interesujący jak podkreśla Hattori (7), w obserwacjach Marshalla i współaut. (21) jest fakt, iż niezwykle niskie poziomy dostępnego węgla stymulująco oddziaływały na nieodwracalną fazę sorpcji, podczas gdy wyższe hamowały ten proces. Autorzy ci wskazują na wysoką selektywność omawianego procesu, bowiem nie zawsze następstwem fazy odwracalnej była nieodwracalna.

Proces sorpcji i oddzielania się komponentów od siebie nie są ilościowo odwracalne. W przypadku uwolnienia się nieodwracalnie sorbowanych komórek płaszczyzna rozdziału biegnie przez miejsca o najmniejszej sile spójności. Efektem tego mogą być fragmenty komórek przyklejone do powierzchni, sorbenta bądź fragmenty tej powierzchni przylegające do komórki (Weiss, cyt. za 7).

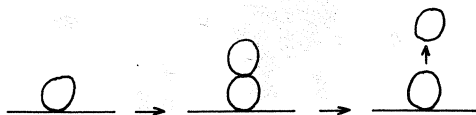
Jak sugeruje Zwiagincew (36), stan zasorbowania komórek może być czasowym etapem w rozwoju mikroorganizmu. Na określonych

etapach rozwoju adsorbowane komórki mogą wychodzić ze stanu przytwierdzenia, a przy zmienionych warunkach ponownie sorbować się. Autor uwzględnia dwustapowość sorpcji.

a) adsorpcja komórek z płynnego środowiska i przytwierdzenie się ich do powierzchni sorbenta,

b) rozmnażanie i rozwój przytwierdzonych komórek.

Również Hattoriowie (7) odróżniają stan wolny i sorbowany komórek i ich wzajemne przechodzenie. Autorzy ci podkreślają, iż w badaniach wzrostu mikrobiologicznego na powierzchni sorbenta istotny jest sposób ułożenia na niej komórek, tzn. określenie, czy występuje sorpcja biegunem do powierzchni, czy powierzchnią do powierzchni oraz, czy komórki adsorbowane są na powierzchni w postaci jednej warstwy czy też wielowarstwowo. Ustalono, że w przypadku inkubacji sorbowanych komórek w pożywce, zarówno w hodowli ciągłego przepływu, jak również w hodowli partiami, duża ilość komórek odrywa się od powierzchni (Helmstetter, cyt. za 7) oraz Hattori i współaut. (1). Przedstawiono dwa modele odrywania się komórek. Pierwszy z nich, opracowany przez Helmstettera i współaut., obrazuje ryc. 12.



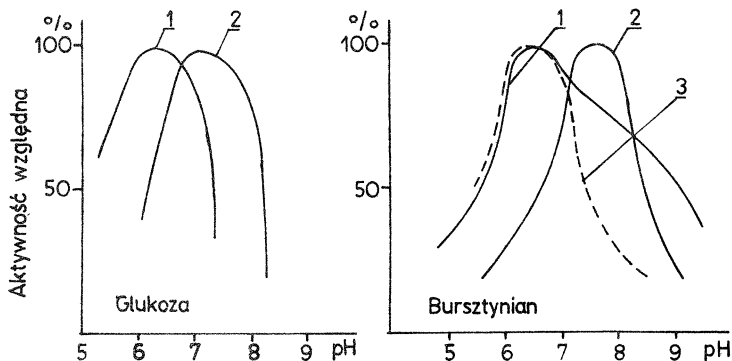
Ryc. 12. Wzrost bakterii na powierzchni - model Helmstettera (cyt. za Hattorimi, 7)

Odnosi się on do sorpcji typu „biegun do powierzchni”. W tym przypadku tylko powstałe w wyniku podziału komórki siostrzane odrywają się od powierzchni i przechodzą do roztworu. Drugi model, Larsena i Dimmicka oraz Topiwala i Hamera (cyt. za 7) w roz-

winięciu Hattorich i współaut. (10,11), zakłada, że komórki siostrzane, powstałe w wyniku mnożenia się sorbowanych komórek, również mogą pozostawać w stanie sorbowanym aż do momentu osiągnięcia maksymalnej gęstości komórek bakteryjnych na powierzchni sorbenta, po czym mogą być uwalniane do pożywki. Odrywanie się sorbowanych komórek (poza wymienioną przyczyną) może być spowodowane również zmianą zdolności desorpcyjnych bakterii zależnie od ich stanu fizjologicznego. Fakt, iż komórki *E. coli* odrywały się od powierzchni żywicy podczas inkubacji, może być ważny z ekologicznego punktu widzenia, bowiem, jak sądzi Krasilnikow (cyt. za 11), komórki mikroorganizmów łatwo odrywają się od cząstek gleby wtedy, gdy są w stanie rozwoju.

Z wielu badań mikrobiologii gleby i morza wynika, że powierzchnia zetknięcia się płynu z ciałem stałym ma znaczny wpływ na rozwój i aktywność bakterii (10). Zo Bell (cyt. za 7), w oparciu o badania własne i innych autorów, wskazuje na korzystny wpływ procesu sorpcji bakterii morskich na powierzchni stałego sorbenta ze względu na gromadzenie się składników odżywczych na powierzchni oraz zwolnienie dyfuzji egzoenzymów lub uwalnianie hydrolizatorów z komórki, co podwyższa asymilację składników odżywczych.

Wykazano w warunkach laboratoryjnych, że aktywność chemiczna niektórych bakterii adsorbowanych na żywicy Dowex-1 różniła się od aktywności komórek wolno żyjących (7,8,9). Wolne komórki *E. coli* utleniały szybciej substancje organiczne w porównaniu z zasorbowanymi. Podobną zależność stwierdzono dla *Azotobacter agilis* (8). Również krzywe obrazujące relację: aktywność komórek - pH środowiska (ryc. 13), miały podobny przebieg dla komórek sorbowanych i wolnych w przypadku hodowli na glukozie z tym, że opti-



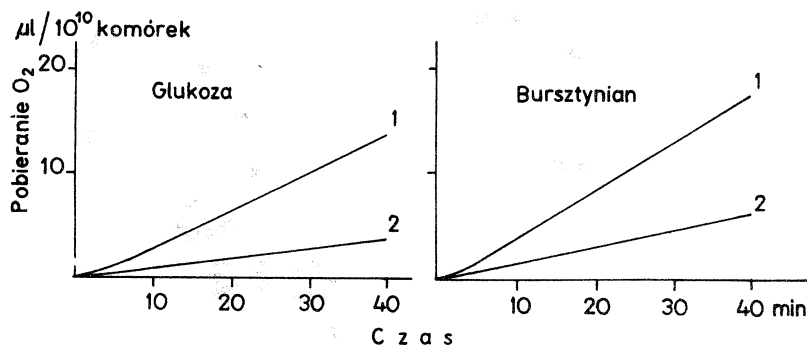
Ryc. 13. Aktywność utleniania glukozy i bursztynianu przez wolne i adsorbowane komórki jako funkcja pH
1 - utlenianie przez komórki wolne, 2 - utlenianie przez komórki adsorbowane, 3 - utlenianie przez komórki desorbowane

Optimum pH komórek adsorbowanych przesunięte było o jedną jednostkę w górę. Optimum pH wyższe o jedną jednostkę zaobserwowano również dla komórek sorbowanych hodowanych na bursztynianie, lecz kształty krzywych dla adsorbowanych i desorbowanych komórek różniły się. Autorzy interpretują to zjawisko zatrzymywaniem się na żywicy pewnych substancji komórkowych, biorących udział w utlenianiu bursztynianu bądź inaktywowaniem ich.

Zauważono, że adsorpcja komórek wpływała na skracanie bądź zanik fazy zastoju inkubowanych procesów utleniania, co skłania do przypuszczenia o inaktywacji lub zaginięciu jakiegoś składnika komórek adsorbowanych na żywicy (6).

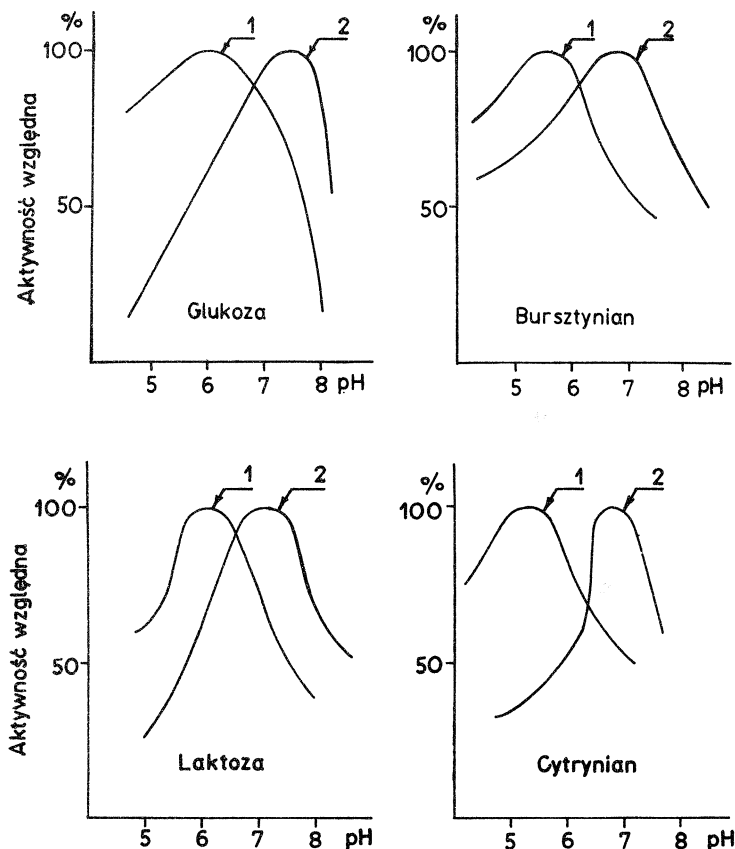
Interesujące było, czy zależności zaobserwowane dla *E. coli* i *A. agile* - bakterii Gram- zachodzą w przypadku różniących się od nich budową powierzchni bakterii Gram+. Przeprowadzone doświadczenia przyniosły potwierdzenie wyników otrzymanych dla

bakterii Gram-. Jak wskazuje ryc. 14, maksymalna szybkość utleniania glukozy czy bursztynianu przez adsorbowane komórki była znacznie niższa w porównaniu z wolnymi komórkami. Autorzy przypisują to zmniejszeniu, na skutek sorpcji powierzchni komórki, przez którą substrat i tlen dostają się do jej wnętrza (6,9,17),



Ryc. 14. Utlenianie glukozy i bursztynianu przez wolne i adsorbowane komórki
1 - komórki wolne, 2 - komórki adsorbowane (cyt. za Hattorimi, 9)

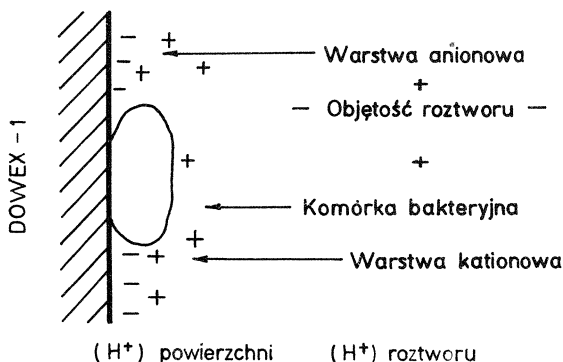
oraz zatrzymywaniu przez żywicę niektórych kofaktorów, prawdopodobnie nukleotydów biorących udział w procesie utleniania. Przebieg krzywych obrazujących zależność pomiędzy aktywnością adsorbowanych i wolnych komórek a pH środowiska był zgodny z obserwowanym dla *E. coli* i *A. agile* (ryc. 15). Autorzy uważają to zjawisko, zwane „wpływem B” za wspólne dla wszystkich bakterii sorbowanych na żywicy Dowex-1 i wyjaśniają je na ryc. 16. Adsorbowane komórki, pokryte warstwą kationową, są narażone na wyższe stężenia jonów wodorowych aniżeli komórki wolne, stąd optymalne pH w fazie objętościowej roztworu jest wyższe w porównaniu z pH komórek wolnych. We wspomnianej warstwie kationowej stężenie



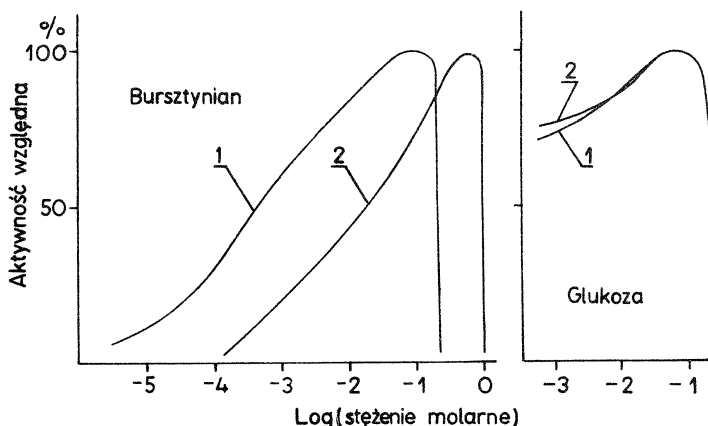
Ryc. 15. Utlenianie różnych substratów przez wolne i adsorbowane komórki jako funkcja pH
 1 - komórki wolne, 2 - komórki adsorbowane (cyt. za Hattorimi, 9)

anionów bursztynianu było niższe aniżeli ich stężenie w całości roztworu, dlatego maksimum prędkości utleniania bursztynianu przez adsorbowane komórki występowało przy wyższym stężeniu bursztynianu niż w przypadku komórek wolnych. Stężenie glukozy-substratu nie jonowego, przy którym zaobserwowano maksimum szyb-

kości jej utleniania, było identyczne dla bakterii wolnych i sorbowanych (ryc. 17), co wynika z jednakowego stężenia substratu zarówno w warstwie kationowej, jak w całym roztworze. „Wpływ B” zatem



Ryc. 16. Interpretacja mechanizmu „wpływu B” (cyt. za Hattorimi, 9)



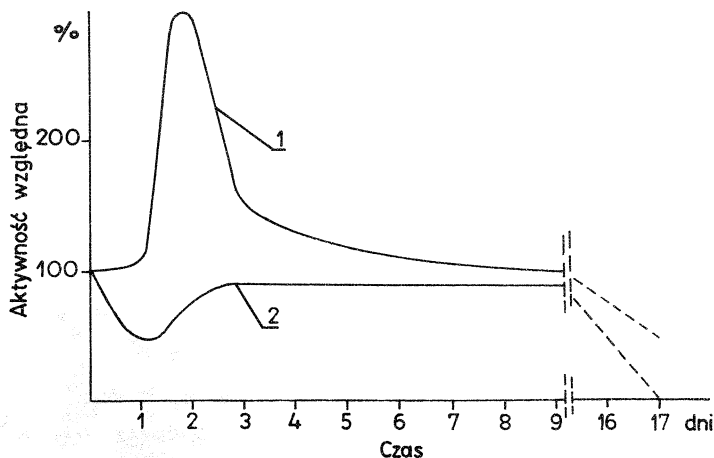
Ryc. 17. Utlenianie bursztynianu i glukozy przez wolne i adsorbowane komórki jako funkcja stężenia substratu
1 - komórki wolne, 2 - komórki adsorbowane (cyt. za Hattorimi, 9)

może być wynikiem pośredniego oddziaływania na mikroorganizmy powierzchni zetknięcia się żywicy z cieczą poprzez różnice stężeń jonów nieorganicznych, bądź substancji odżywczych na granicy powierzchni: ciało stałe-ciecz. Fakt ten jest bardzo istotny w rozważaniach zagadnień mikrośrodowiska, bowiem w przyrodzie w każdym miejscu zetknięcia się powierzchni stałej z cieczą występuje pewna warstwa jonowa (9).

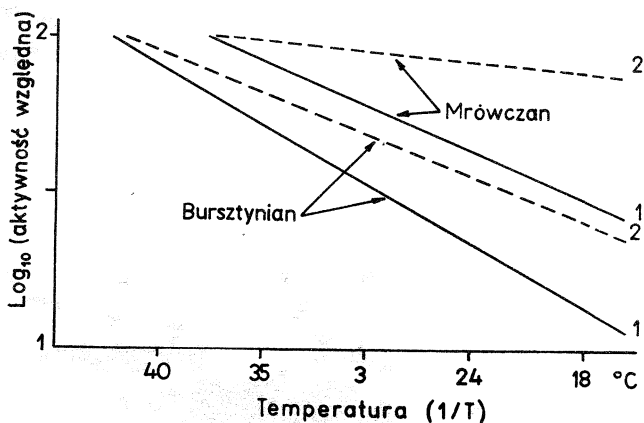
Powierzchnia: ciało stałe - roztwór, może również bezpośrednio oddziaływać na mikroorganizmy, prowadząc do zmian fizjologicznych i chemicznych. Jak wykazali Hattoriowie i współaut. (10), zawartość RNA w komórkach desorbowanych była znacznie niższa niż w wolnych. Długotrwałe przyleganie komórek bakteryjnych do powierzchni stałej prowadzi do ustalenia się ich aktywności na pewien czas (ryc. 18), po którym, podobnie jak w przypadku wolnych komórek, spada niemal do 0.

Temperatura, jako jeden z naturalnych czynników otoczenia, wywiera bardzo ważny wpływ na życie mikroorganizmów. Zwrócono uwagę na fakt, że wpływ temperatury na aktywność drobnoustrojów jest różny dla komórek wolnych i sorbowanych (ryc. 19), co może być istotne w ekologii.

Sorpcja bakterii w pewnych przypadkach może prowadzić do zmian optimum pH niektórych procesów fizjologicznych drobnoustrojów. Jak zauważyli Hattoriowie (9), optimum pH utleniania glukozy przez komórki *Pseudomonas fluorescens* adsorbowanych na żywicy kationowej Dowex - 50 było o około 1 jednostkę niższe niż komórek wolnych. W przypadku sorpcji mikroorganizmów na żywicy anionowymiennej Dowex-1 obserwowano podwyższenie o około 1 jednostkę optimum pH wzrostu tych komórek. Sorpcja na tej żywicy prowadziła do zmian fizjologicznych, rosnących na niej komórek



Ryc. 18. Wpływ żywicy anionowej na utlenianie bursztynianu przez *M. luteus*



Ryc. 19. Utlenianie bursztynianu i mrówczanu przez wolne i adsorbowane komórki *E. coli* jako funkcja temperatury
1 - komórki wolne, 2 - komórki adsorbowane (cyt. za Hattorimi, 9)

lecz również tych, które desorbowały się z niej (10). Zaobserwowane zmniejszenie ilości tlenu pobieranego przez drobnoustroje sorbowane na żywicy Dowex-50 w porównaniu z niesorbowanymi może wiązać się z pewnymi modyfikacjami komórek w wyniku sorpcji (9). Zmniejszenie wydzielania CO_2 po sorpcji Karpińska (cyt. za 19) wiąże z zamieraniem bakterii w następstwie sorpcji, jednakże sugestie te nie zostały doświadczalnie potwierdzone.

Gleby nasycone kationami trójwartościowymi wykazywały bardzo silne zahamowanie aktywności metabolicznej przez sorpcję, podczas gdy nasycone jednowartościowymi kationami dawały bardzo słabą sorpcję i nieznaczne zahamowanie wydzielania CO_2 (19). Oddychanie *Bacillus subtilis* hamowane było przy niskim stężeniu montmorylonitu, gdy następowało agregowanie komórek bakterii. Wzrost stężenia montmorylonitu wpływał stymulująco na omawiany proces. Następowало przy tym rozpraszanie się komórek w roztworze (Lahav i Keynan, cyt. za 19). Wzrost intensywności oddychania sorbowanych komórek obserwowano również w doświadczeniach Müllera i Hickisha (22). Zaznaczyła się przy tym zbieżność pomiędzy zwiększaniem się ilości wydzielanego CO_2 a szybkością sorpcji. Montmorylonit i kaolinit w stężeniach poniżej 4% nie wpływał na oddychanie grzybów (31). Hamujące oddziaływanie tych minerałów obserwowano przy dawkach powyżej 4% w przypadku montmorylonitu i powyżej 40% - kaolinitu. Stopień hamowania oddychania związany był z lepkością zawiesiny jako czynnikiem prawdopodobnie zmieniającym szybkość dyfuzji tlenu. Kaolinit wywierał nieznaczny wpływ na oddychanie bakterii (27,28,30). Natomiast ilły o typie 2:1 stymulowały omawiany proces dzięki zdolności utrzymywania pH układu na odpowiednim dla życia mikroorganizmów poziomie. Zdolności stymulujące montmorylonitu są zależne

zdanien Stotzky'ego (27), od wysycających go kationów i układają się następująco: $\text{Na} > \text{Ca} > \text{Mg} > \text{K} > \text{H}$.

Intensywność oddychania wiąże się również z pojemnością kationowymienną cząstek ilastych, (28). Iły wymieniają powstające podczas metabolizmu kationy H^+ z kationami podstawowymi dla danego kompleksu wymiennego. Mineraleo większej zdolności wymiennej są zdolne do eliminowania ze środowiska większej ilości H^+ i tym samym dłużej utrzymują pH roztworu na odpowiednim dla metabolizmu drobnoustrojów poziomie (7). Interesujący jest fakt, iż chociaż proces sorpcji wpływał obniżająco na utlenianie różnych substancji, jednakże podnosił szybkość wzrostu i powstawania zarodników. Wpływy te wszakże zmieniały się w zależności od typu bakterii i powierzchni sorbującej (7).

Współdziałanie pomiędzy drobnoustrojami a cząstkami gleby, szczególnie minerałami ilastymi, ma modyfikujący wpływ na przeżywalność drobnoustrojów (20). Buforujące oddziaływanie montmorillonitu sprzyja rozwojowi bakterii w środowisku, ograniczając rozwój grzybów (27,28,30,31). Na ewentualność fungistatycznego oddziaływania minerałów ilastych zwraca uwagę Filip(2). Skinner (cyt. za 14) wykazał, że dodatek kaolinitu powstrzymuje antagonyistyczne oddziaływanie grzybów na bakterie.

Zdolność minerałów ilastych do sorbowania wytwarzanych przez drobnoustroje antybiotyków bądź ich inaktywowanie może podnosić przeżywalność wrażliwych na nie bakterii (20). Jest to więc pewien rodzaj ochronnego oddziaływania minerałów ilastych, podobnie jak możliwość osłaniania komórek przed wysuszeniem poprzez modyfikowanie szybkości ruchu wody do wewnątrz i na zewnątrz komórek bakteryjnych, bądź poprzez redukowanie ich stopnia hydratacji (28,20).

Minerały ilaste działają osłaniająco przed zabójczym wpływem temperatury, promieni Roentgena (2,14,20), jak też wpływają na stosunki antagonistyczne i konkurencję pomiędzy mikroorganizmami (2). Wykazano osłaniające działanie koloidów ekstrahowanej substancji organicznej oraz montmorylonitu w stosunku do komórek *E. coli* przed atakiem bakteriofaga (24). Nasuwa to sugestię, że w przypadku niskiego poziomu elektrolitu, komórki bakteryjne są otaczane przez substancję koloidalną, podczas gdy przy wysokim stężeniu elektrolitu powstaje dodatkowa osłona, stworzona przez adsorpcję zarówno bakterii, jak i fagów na większych cząstkach (20). Jak przedstawia Filip (2), w oparciu o obserwacje innych autorów, sorpcja przez minerały ilaste czy inne cząstki gleby wpływa też na przedłużenie przeżywalności wirusów. Thungi i Dijkstra oraz Van der Want (cyt. za 14) stwierdzili, że wirusy roślinne zasorbowane na minerałach ilastych mogły przetrwać w glebie nawet przez kilkanaście lat.

Zmniejszenie aktywności sorbowanych drobnoustrojów próbowano wyjaśnić równoczesną sorpcją komórek i substancji inhibujących (19).

Niektórzy autorzy (19,20) zwracają uwagę na adsorpcję enzymów pozakomórkowych przez minerały ilaste jako proces wpływający na zmniejszenie przeżywalności drobnoustrojów w glebie. Badania Kobayashi i Aomne (cyt. za 14) wykazywały, że sorpcja niektórych enzymów na minerałach ilastych prowadzi do opóźnienia przebiegu reakcji enzymatycznych wskutek bądź pozytywnego oddziaływania na twórczenie się kompleksu enzym-substrat i opóźnianie jego rozpadu (w przypadku montmorylonitu i proteazy oraz α -amylazy), bądź też częściowej inhibicji tworzenia się kompleksu enzym-substrat (alofan w odniesieniu do β -amylazy).

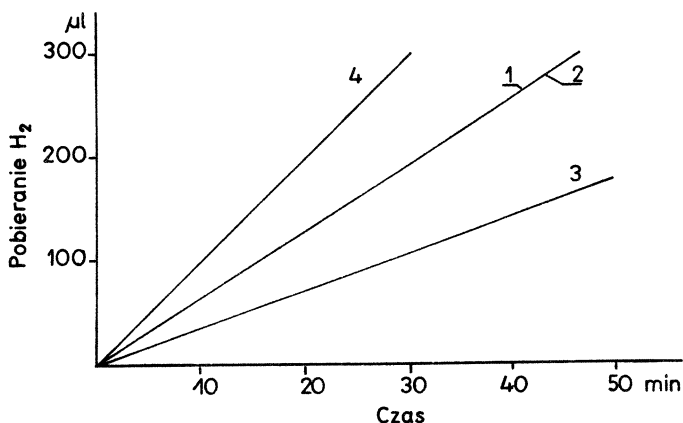
Sorpcja enzymów pomiędzy przestrzeniami pakietów minerałów ilastych eliminuje częściowo ich udział w reakcjach (14). Aktywność adsorbowanego enzymu zdaniem Mc Larena oraz Babcocka i współaut. (cyt. za 6) jest zależna raczej od stężenia H^+ naładowanej powierzchni aniżeli od jej aktywności jonowej. Według Mc Larena i Babcocka (cyt. za 7) optimum pH dla aktywności enzymu adsorbowanego na ujemnie naładowanych powierzchniach miało wyższą wartość aniżeli w roztworze.

W zaadsorbowanych komórkach może wchodzić w grę rozwijanie pofaladowanych zwykle łańcuchów polipeptydowych stanowiących części składowe enzymów. Stąd jak sądzi Fraser i współaut. (cyt. za 6), wynika utrata aktywności enzymów oraz zmiana wartości ich stałych termodynamicznych (energia aktywacji, entropia, entalpia).

Z aktywnością enzymów wytwarzanych przez drobnoustroje związana jest intensywność prowadzonych przez nie procesów. Wykazano stymulujący wpływ sorpcji na niektóre procesy mikrobiologiczne. Kaliużny (cyt. za 6) obserwował stymulację fermentacji alkoholowej prowadzonej przez drożdże adsorbowane na włóknach mielonej celulozy. Na ryc. 20 Hattori i Furusaka (cyt. za 6) przedstawili inny przykład stymulującego wpływu sorpcji, śledząc aktywność dehydrogeny u bakterii redukujących siarczan. Jest to zgodne z wynikami otrzymanymi poprzednio przez Rubieniczka i współaut. (cyt. za 19). Autorzy ci zwrócili również uwagę na brak zależności pomiędzy procesem sorpcji a utlenianiem tiosiarczanu.

Nie uzyskano jednoznacznej odpowiedzi na pytanie dotyczące wpływu omawianego zjawiska na niesymbiotyczne wiązanie azotu oraz utlenianie amoniaku, bowiem, jak przedstawia Marshall (19) w oparciu o obserwacje innych autorów, zdarzały się wypadki za-

równy stymulacji, jak i hamowania tych procesów. Obniżenie aktywności procesów nitryfikacji prowadzonych przez sorbowane na glebach bądź żywicach kationowymiennych drobnoustroje Mc Laren i Skujins (cyt. za 19) wyjaśnili odpychaniem jonów NO_2^- od ujemnie naładowanych powierzchni sorbentów na odległość wystarczającą do tego, by mogły one być dostępne dla sorbowanych bakterii. Welch i Scott oraz Kai Harola (cyt. za 14) obserwowali natomiast dodatni wpływ montmorylonitu na szybkość nitryfikacji.



Ryc. 20. Wpływ żelu krzemionkowego na aktywność hydrogenazy bakterii redukujących siarczany. Różne ilości żelu krzemionkowego dodawano do zawiesiny bakterii z roztworem siarczanu (jako akceptorem wodoru). Faza gazowa została zastąpiona przez wodór gazowy. Faza płynna powyżej powierzchni stałej prawie znikła po dodaniu 1,0 do 1,2 g żelu ze względu na pochłanianie wody przez żel, a dzięki temu większość komórek bakteryjnych była umieszczona przy powierzchni granicznej gaz - powierzchnia stała. Ilość dodanego żelu krzemionkowego: 1 - 0 g; 2 - 1,2 g; 3 - 1,0 g; 4 - 1,4 g (cyt. za Hattorim, 6)

Zjawisko stymulacji i hamowania procesów glebowych w związku z występowaniem sorpcji w skomplikowanym środowisku glebowym może być wyjaśnione po przeprowadzeniu bardziej szczegółowych badań metabolizmu drobnoustrojów w stanie zasorbowanym. Celowi temu służyły doświadczenia omówione przez Filipa (1). Obserwacje wpływu minerałów ilastych na procesy cyklu azotowego nasunęły przypuszczenie, że minerały typu montmorylonitu, sorbujące białka w przestrzeniach międzywarstwowych, opóźniają ich rozkład przez enzymy proteolityczne w przypadku, gdy zawartość białek w kompleksach minerał-białko wynosi 10-20%. W miarę wzrostu zawartości białek minerały wykazują nawet stymulujący wpływ na ich rozkład. Dodatek iłu podnosił liczebność mikroorganizmów proteolitycznych i potencjalną aktywność mineralizacyjną mikroflory oraz ilość azotu wbudowywanego w związki organiczne.

Zdania na temat wykorzystawania sorbowanych aminokwasów przez mikroorganizmy są podzielone. Według niektórych autorów (Putmana i Schmidta, Velikanowa i Zwiagincewa, cyt. za 1) w przypadku silnej sorpcji substratu i mikroorganizmów jest on wykorzystywany w stanie zasorbowanym w takim samym lub większym stopniu aniżeli w stanie wolnym. Niekiedy sorbowane aminokwasy są prawie zupełnie wyłączone z cyklu biologicznego ze względu na utrudnione wykorzystywanie ich przez mikroorganizmy (Greenwood i Lees, cyt. za 1). Istotną rolę w rozkładzie aminokwasów odgrywa wilgotność adsorbenta. Zauważono spadek szybkości rozkładu aminokwasu przy niskim stopniu wilgotności adsorbenta.

Wskazano na pośrednie oddziaływanie minerałów na rozkład mocznika poprzez wpływ na aktywność specyficznych enzymów oraz na bezpośredni wpływ bentonitu na wzrost szybkości rozkładu kwasu moczowego przez *Pseudomonas* sp. (1,19). Minerał ten inhi-

bował rozkład adeniny przez mieszaną populację mikroorganizmów.

Zdaniem niektórych autorów (cyt. za 1) minerały ilaste sorbu-
jąc kwasy nukleinowe i ich sole osłaniają je przed enzymatycz-
nym rozkładem. Jednakże doświadczenia przeprowadzone przez
Greavesa i Wilsona (cyt. za 1) wykazały, że sorpcja kwasów nu-
kleinowych przez montmorylonit nie zapobiega ich rozkładowi.

Niektóre minerały ilaste (montmorylonit) wprowadzone do śro-
dowiska zawierającego nitryfikatory stymulowały proces nitryfi-
kacji, natomiast kaolinit oddziałował inhibująco. Wpływ musko-
witu uzależniony był od wysycającego go kationu.

Zwrócono uwagę na różnicę optimum pH sorbowanych komórek mi-
kroorganizmów w porównaniu z wolnymi komórkami, rozproszonymi
w roztworze. Komórki sorbowane wykazywały optimum pH o około 0,6
wyższe niż komórki wolne. Podobne zjawisko obserwowali Hattori
i Furusaka oraz Hattoriowie (8,9).

Istnieją przypuszczenia co do pośredniego oddziaływania sor-
bentów mineralnych na proces denitryfikacji przez zmiany warun-
ków fizycznych i fizykochemicznych w glebie, wpływających na
jej stosunki powietrzne. Należy tu uwzględnić zawartość wody,
gęstość gleby, wartość pH i warunki oksydacyjno-redukcyjne.

Zwrócono uwagę na oddziaływanie minerałów ilastych na jeszcze
jeden istotny proces cyklu azotowego - wiązanie azotu cząstecz-
kowego. W przypadku mikroorganizmów wiążących azot niesymbio-
tycznie w warunkach beztlenowych zaznacza się pośredni wpływ
minerałów ilastych poprzez modyfikowanie szybkości fermentacji
węglowodanów - procesu dostarczającego źródła energii omawianym
mikroorganizmom. Stwierdzono, że koloidalne cząstki montmorylo-
nitu zwiększają ilość N_2 wiazanego przez *Azotobacter* poprzez
rozszerzanie ogólnej aktywnej powierzchni kultury. Te same

cząstki wprowadzone do zamkniętej hodowli piaszczystej, zaszczonej *Rhizobium*, stymulują brodawkowanie rośliny motylkowej i wiązanie azotu.

Procesy cyklu azotowego pozostają w ścisłym związku z przemianami substancji węglowych, czego dowodem jest wbudowywanie do aminokwasów węgla pochodzenia celulozowego, hemicelulozowego i glukozy. Proces ten, jak stwierdził Sorensen (cyt. za 1), jest stymulowany przez montmorylonit. Minerale ilaste typu montmorylonitu obniżają szybkość rozkładu węglowodanów, przez co przyczyniały się do gromadzenia węgla w glebie. Bentonit stymulował rozwój mikroorganizmów odpowiedzialnych za mineralizację węgla podczas rozkładu lucerny. Istnieją podzielone zdania na temat wpływu minerałów ilastych na rozkład skrobi. Wg Kobusa (14), w kompleksie z montmorylonitem, skrobia rozkładana jest nieco wolniej aniżeli w środowisku nie zawierającym tego minerału. Natomiast Söhngen (cyt. za 1) wskazał na stymulację rozkładu skrobi przez *Bacillus* w obecności adsorbentów. Również Nováková (cyt. za 1) stwierdziła podobne oddziaływanie bentonitu na mineralizację skrobi, wzrost liczebności i aktywności oddychania mieszanych mikroorganizmów wprowadzonych do kultur piaszkowych. Efektów tych nie dawał jednakże kaolinit.

Należy zwrócić uwagę na rolę sorpcji produktów rozkładu ligniny roślinnej, tłuszczów, wosków na minerałach ilastych. Niektóre z tych produktów są trudniej dostępne dla mikroorganizmów. Stwierdzono, że dodanie montmorillonitu do gleby podnosi rozkład aldehydu syringowego, waniliny, benzaldehydu i innych substancji. W czarnoziemie, który adsorbuje dużą ilość fenoli, (Kleinhempel i Hieke, cyt. za 1) zauważyli wyższą szybkość ich degradacji aniżeli w glebie piaszczystej z małą zawartością cząstek iłu.

Zaobserwowano, że również w powstawaniu próchnicy ważną rolę odgrywają minerały ilaste jako regulatory ilości i dostępności substratu procesu humifikacji, aktywności mikroflory odpowiedzialnej za jego przebieg, a także jako czynniki modyfikujące warunki fizykochemiczne środowiska. Te ostatnie funkcje minerałów ilastych mają szczególne znaczenie w glebach tropikalnych. Minerały ilaste pełnią tam rolę katalizatorów procesu kondensacji produktów beztlenowego rozkładu resztek roślinnych sorbowanych przez sorbenty mineralne na substancjach typu humusowego, które są ponownie wiązane przez minerały ilaste i tą drogą stabilizowane w glebie (Turner, Singh, Wissler i inni, cyt. za 1).

PODSUMOWANIE

Dotychczasowe prace mające na celu poznanie zjawiska sorpcji drobnoustrojów w glebie przyczyniły się do wyjaśnienia niektórych jego prawidłowości, uwarunkowań, mechanizmów, ukazały w pewnym stopniu jego rolę w kształtowaniu życia gleby, wskazywały na możliwość wykorzystania go również w praktyce rolniczej.

Badania prowadzono w oparciu o różne metody: obliczeń, mikroskopii świetlnej, fluorescencyjnej, elektronowej, techniką elektroforezy oraz analizy rozmiarów cząstek (19).

Ostatnio coraz częściej pojawiają się prace udoskonalające dotychczas stosowane techniki. W mikroskopii fluorescencyjnej obserwuje się tendencję m.in. do korzystniejszego oświetlania preparatu (co pozwala na dokładniejsze poznanie obiektu). Wykorzystywano więc niebieskie światło, pobudzające przy zabarwieniu gleby oranżem akrydynowym, a także światło odbite, pozwalające na zbadanie rozkładu mikroorganizmów na powierzchni nie-

wielkich monolitów glebowych i agregatów, a więc w glebie o nie-naruszonej bądź tylko nieznacznie naruszonej strukturze (34).

Przeniesienie do badań biologicznych techniki używanej w chemii fizycznej do oceny sił przylegania cząstek mineralnych i organicznych dało możliwość określania wielkości sił adsorpcji niektórych mikroorganizmów do powierzchni sorbentów (38). Stosowanie mechanicznej i chemicznej dyspersji próbek sprzyja dokładniejszemu ustaleniu liczb zaadsorbowanych komórek drobnoustrojów w glebie. Najlepsze wyniki dyspersji uzyskano stosując homogenizację gleby ultradźwiękami (13). Zabieg ten ma szczególne znaczenie w analizach mikroflory gleb próchnicznych.

Przedstawiona przez Harrisa (3) metoda przygotowywania błonek z powierzchni gruzełków gleby pozwala na obserwowanie naturalnej postaci i układu przynajmniej niektórych organizmów w glebie. W oparciu o nią autor podjął próbę oznaczenia ilości i aktywności populacji drobnoustrojów związanych z powierzchnią gruzełków różnych gleb.

Marshall (20) natomiast zwraca uwagę na rolę mikroskopu skaningowego w badaniach zależności pomiędzy mikroorganizmami a fazą stałą gleby. Odpowiednio dobrane trójwymiarowe mikrografy dają dokładniejszy obraz mikrośrodowiska, pozwalają na ustalenie jego składu i organizacji oraz orientacji drobnoustrojów z uwzględnieniem składników fazy stałej.

Niewątpliwie zaadsorbowane mikroorganizmy z jednej strony odgrywają rolę w przekształcaniach minerałów, powstawaniu agregatów glebowych i wielu innych procesach przyczyniających się do modyfikacji stanu fizykochemicznego mikrośrodowiska. Z drugiej strony stan zasorbowania drobnoustrojów wpływa na ich metabolizm, a więc przyswajanie substancji odżywczych, wydzielanie

egzoenzymów, wydalenie produktów przemiany materii. Istnieje więc potrzeba kontynuowania badań omawianego zjawiska, zmierzających do oceny wpływu różnych powierzchni granicznych na drobnoustroje oraz oddziaływania drobnoustrojów na właściwości tychże powierzchni.

PIŚMIENNICTWO

1. Filip Z.: Clay minerals as a factor influencing the biochemical activity of soil microorganisms. *Folia Microbiol.* 1973, 18, 56-74.
2. Filip Z.: Wechselbeziehungen zwischen Mikroorganismen und Tonmineralen und ihre Auswirkung auf die Bodendynamik. *Habilitationsschrift*, Giessen 1975.
3. Harris P.J.: Microorganisms in surface films from soil crumbs, *Soil Biol. Biochem.* 1972, 4, 105-106.
4. Hattori T.: Adhesion between cells of *E. coli* and clay particles, *J.Gen.Appl.Microbiol.* 1970, 16, 351-359.
5. Hattori R.: Growth of *Escherichia coli* on the surface of an anion-exchange resin in continuous flow system, *J.Gen.Appl. Microbiol.* 1972, 18, 319-330.
6. Hattori T.: Microbial life in the soil, chapter: „The micro-environment of microbes in the soil: colloidal level”. Marcel Dekker, INC. New York 1973, 209-261.
7. Hattori T., Hattori R.: The physical environment in soil microbiology: an attempt to extend principles of microbiology to soil microorganisms. *CRC Critical Reviews in Microbiology* 1976, May 423-461.

8. Hattori T., Furusaka Ch.: Chemical activities of *Azotobacter* agile adsorbed on a resin. *J.Bioch.* 1961, 50, 312-315.
9. Hattori R., Hattori T.: Effect of a liquid-solid interface on the life of microorganisms, *Ecological Review* 1963, 16, 63-70.
10. Hattori R., Hattori P., Furusaka Ch.: Growth of bacteria on the surface anion-exchange resin, I. Experiment with batch culture, *J.Gen.Appl.Microbiol.* 1972, 18, 271-283.
11. Hattori R., Hattori T., Furusaka Ch.: Growth of bacteria on the surface anion-exchange resin. II. Electron microscopic observation of adsorbed cells growing on resin surface by carbon replica method, *J.Gen.Appl.Microbiol.* 1972, 18, 285-293.
12. Kagawa H.: Adsorption of bacteria by soil, *Soil Sci. Plant Nutr.* 1971, 17, 150-153.
13. Kaszubiak H., Kaczmarkowa W.: Ocena współcześnie stosowanych metod oznaczania liczebności, biomasy i produktywności drobnoustrojów w glebie. PTG, Komisja III, 18, Warszawa 1976.
14. Kobus J.: Rola montmorylonitu w przemianach związków organicznych, *Pamiętnik Puławski* 1970, 39, 189-237.
15. Lahav N.: Adsorption of sodium bentonite particles on *Bacillus subtilis*, *Plant and Soil* 1962, 17, 191-208.
16. Marshall K.C.: Orientation of clay particles sorbed on bacteria possessing different ionogenic surfaces, *Biochim.Biophys. Acta* 1969, 193, 472-474.
17. Marshall K.C.: Studies by microelectrophoretic and microscopic techniques of the sorption of illite and montmorillonite to *Rhizobia*, *J.Gen.Microbiol.* 1969, 56, 301-306.
18. Marshall K.C.: Methods of study and ecological significance of rhizobium - clay interactions. *Methods of study in soil*

ecology, Proceedings of the Paris Symposium UNESCO 1970, 107-110.

19. Marshall K.C.: Sorptive interactions between soil particles and microorganisms. Soil Biochemistry volume 2 (A.D. McLaren, J.J. Skujins) Marcel Dekker Inc. New York 1971, 409-445.
20. Marshall K.C.: Clay mineralogy in relation to survival of soil bacteria. Annual Review of Phytopathology 1975, 13, 357-373.
21. Marshall K.C., Stout R., Mitchell R.: Mechanism of the initial events in the sorption of marine bacteria to surfaces. J. Gen. Microbiol. 1971, 68, 337-348.
22. Müller G., Hickish B.: On the adsorption behaviour of bacteria in the soil. Proceedings of the symposium on soil microbiology. Akademia Kiado, Budapest 1972, 263-269.
23. Piercowska A.P., Zwiagincew D.G.: Adsorpcija bakterij na stiekle modifciovannych powierzchnostiach stiekla i poli-miernych plienkach. Naucz. dokł. wysz. szkoły. Biol. n. 1971, 3, 100-105.
24. Raper M., Marshall: Modification of the interaction between Escherichia coli and bacteriophage in saline sediment. Microb. Ecol. 1974, 1, 1-13.
25. Ruddick S.M., Williams S.T.: Studies on ecology Actinomyces in soil. V. Some factors influencing the dispersal and adsorption of spores in soil. Soil. Biol. Biochem. 1972, 4, 93-103.
26. Santoro T., Stotzky G.: Sorption between microorganisms and clay minerals as determined by the electrical sensing zone particle analyzer. Can. J. Microbiol. 1968, 14, 299-307.
27. Stotzky G.: Influence of clay minerals on microorganisms.
II. Effect of various clay species, homoionic clays and other

- particles on bacteria. Can. J. Microbiol. 1966, 12, 831-848.
28. Stotzky G.: Influence of clay minerals on microorganisms. III. Effect of particle size, cation exchange capacity and surface area on bacteria. Can. J. Microbiol. 1966, 12, 1235-1246.
29. Stotzky G., Bystricky V.: Electron microscopic observation of surface interactions between clay minerals microorganisms. Bact. Proc. 1969, 4, 14.
30. Stotzky G., Rem L.T.: Influence of clay minerals on microorganisms. I. Montmorillonite and kaolinite on bacteria, Can. J. Microbiol. 1966, 12, 547-563.
31. Stotzky G., Rem L.T.: Influence of clay minerals on microorganisms. IV. Montmorillonite and kaolinite on fungi. Can. J. Microbiol. 1967, 13, 1535-1550.
32. Wada H., Ishii H.: Observation of growing microorganisms at microhabitat of soil. Soil Sci. Plant. Nutr. 1974, 20, 328-329.
33. Yamagishi H., Hattori T., Furusaka Ch.: Interaction between bacterial cells and calcium phosphate gel particles, Soil Sci. Plant Nutr. 1969, 15, 124-129.
34. Zwiagincew D.G.: Izuczenije mikroflory rizosfiery s pomoszczju fluorescencyjnej mikroskopii w otażennom swietle. Mikrobiologija 1962, 31, 111-115.
35. Zwiagincew D.G.: Niekotoryje zakomjernosti adsorpcji mikroorganizmow na jonoobmiennych smolach. Mikrobiologija 1962, 31, 339-343.
36. Zwiagincew D.G.: K woprosu ob adsorpcji mikroorganizmow poczwienymi czasticami. Poczwowiedienije 1962, 2, 19-25.
37. Zwiagincew D.G.: Wzaimodiejstwije mikroorganizmow s twiordymi powierchnostiami. Izdatielstwo Moskovskowo Uniwiersi-tieta, Moskwa 1973.

38. Zwiagincew D.G., Guziew W.S.: Koncentrowanie i rozdzielanie bakterij na anionitach. Mikrobiologija 1971, 40, 139-143.
39. Zwiagincew D.G., Piercowska A.F., Jachnin E.D., Awierbach E.I.: Opredielenie wieliczyny adhezji kletok mikroorganizmow k twiordym powierzchniam. Mikrobiologija 1971, 40, 1024-1028.

Spis treści

	str.
WSTĘP	5
RODZAJE WSPÓŁDZIAŁANIA POMIĘDZY CZĄSTKAMI GLEBY I DROBNOUSTROJAMI	9
Adsorpcja drobnoustrojów na powierzchni cząstek gleby	10
Powstawanie agregatów	12
Adsorpcja drobnych cząstek gleby na po- wierzchni komórek mikroorganizmów . . .	13
CZYNNIKI WPŁYWAJĄCE NA ZJAWISKO SORPCJI DROBNO- USTROJÓW NA CZĄSTKACH GLEBY	18
MECHANIZMY SORPCJI DROBNOUSTROJÓW	26
EFEKTY SORPCJI DROBNOUSTROJÓW	32
PODSUMOWANIE	49
PISMIENNICTWO	51

Dotychczas ukazały się następujące numery

PROBLEMÓW AGROFIZYKI

1. Jan Gliński, Witold Stępniewski - Zastosowanie chromatografii gazowej w badaniach gleboznawczych.
2. Piotr Kowalik - Podstawy teoretyczne pomiarów potencjału wody glebowej.
3. Jan Gliński, Jerzy Duliban - Potencjał oksydoredukcyjny w glebach.
4. Małgorzata Dąbek-Szreniawska - Mikrobiologiczne aspekty tworzenia się agregatów glebowych.
5. Bogusław Szot - Rozwój badań właściwości fizycznych materiałów rolniczych.
6. Ignacy Dechnik, Janusz Stawiński - Powierzchnia właściwa w badaniach fizykochemicznych i fizycznych właściwości gleb.
7. Adam Pukos, Ryszard Walczak - Podstawy teoretyczne badania właściwości mechanicznych gleb.
8. Bogusław Szot, Grażyna Kolemba - Metody oceny wylegania zbóż.
9. Janusz Haman, Bogusław Szot, Wanda Woźniak - Zagadnienie wymiany ciepła i masy w materiałach roślinnych.
10. Materiały seminarium poświęconego fizyce wody glebowej. Praca zbiorowa.
11. Henryk Czachor, Ryszard Walczak - Zamknięte źródła radioizotopowe w badaniach fizycznych właściwości gleb.
12. Zastosowanie analizy spektralnej w badaniach rolniczych. Praca zbiorowa.
13. Krystyna Konstankiewicz, Adam Pukos, Ryszard Walczak - Domenowa teoria histerezy dla termodynamicznych procesów w glebie.
14. Jerzy Szczypa, Zofia Sokołowska - Zastosowanie radioizotopów do badania fizykochemicznych właściwości gleb.
15. Janusz Haman, Adam Pukos - Aktualne zagadnienia mechaniki gleb.
16. Jan Gliński, Zofia Stępniewska - Zastosowanie elektrod selektywnych w badaniach gleboznawczych.
17. Ignacy Dechnik, Jerzy Lipiec - Zwięzłość gleby jako czynnik środowiska rozwoju roślin.

18. Ignacy Dechnik, Stanisław Tarkiewicz - Zmiany właściwości agrofizycznych gleb pod wpływem działania narzędzi aktywnych.
19. Ryszard Walczak, Barbara Witkowska - Metody badania i sposoby opisywania agregacji gleby.
20. Władysław Byszewski, Janusz Pala - Niektóre aspekty związku między poziomem mechanizacji produkcji roślinnej a właściwościami fizycznymi roślin.
21. Ignacy Dechnik, Ryszard Dębicki - Czynniki zaskorupiania gleb oraz metody przeciwdziałania temu zjawisku.
22. Helena Lisowa, Janusz Haman, Tadeusz Lis - Właściwości cieplne ciał kapilarno porowatych i metody ich pomiaru.
23. Ignacy Dechnik, Ryszard Dębicki - Wykorzystywanie syntetycznych środków do ulepszania gleb.
24. Ludomir Pavel, Stanisław Uziak - Metody badania składu i właściwości mineralnych wysokodispersyjnych składników gleb.

Problemy Agrofizyki można nabyć w księgarni OR PAN

Pałac Kultury i Nauki, 00-901 Warszawa