Wpływ humianu sodu na efektywność mikroelementów czynnych w procesie symbiotycznego wiązania N_2 przez siewki *Trifolium pratense* L.

Influence of sodium humate on effectiveness of microelements in the process of symbiotic fixation N_2 by *Trifolium pratense* L. seedlings

EWA TATKOWSKA

Najwcześniejsze doniesienia o wpływie związków próchnicznych na wiązanie cząsteczkowego azotu dotyczyły organizmów wolno żyjących wiążących N_2 (Krzemieniewski 1908; Krzemieniewska 1910; Kaserer 1910). Dodatni wpływ próchnicy na wiązanie wolnego azotu przez azotobactera, szereg autorów: Bortels (1930), Krzemieniewski i Kovats (1936), Kostecka (1950), przypisywało jej składnikom mineralnym. Badania Hiltnera (1913) Allisona i Hoovera (1934), Brodowskiej (1939) oraz obserwacje Tomaszewskiego i Wójcikówny (wg Brodowskiej, 1939) dostarczyły dowodów, że próchnica może w pewnych warunkach wywierać stymulujący wpływ zarówno na wzrost kultur *Rhizobium* hodowanych in vitro, jak też na same rośliny motylkowate. Autorzy cytowanych prac nie rozstrzygnęli jednak istoty mechanizmu efektu fizjologicznego, jaki wywierały związki próchniczne. Danych wyjaśniających działanie związków próchnicznych w układzie symbiotycznie wiążącym N_2 można by się doszukiwać w innych badaniach dotyczących wpływu próchnicy na rośliny: albo związki próchniczne wnikając do rośliny działają bezpośrednio na metabolizm rośliny-gospodarza (Flaig 1967; Flaig i Saalbach 1956; Christiewa 1953; Christiewa i wsp. 1966), albo, jak wykazały badania Olsena (wg Schroppa 1951), de Kocka (1955), Djakonowej (1962), Badury (1965), Guńskiego (1965), Czerwińskiego (1967), działają pośrednio poprzez tworzenie kompleksów z kationami.

W świetle tych prac wyłania się zagadnienie, czy efekt fizjologiczny humianu w symbiozie roślin motylkowatych z bakteriami brodawkowymi związany jest ze zwiększaniem efektywności mikroelementów czynnych w procesie symbiotycznego wiązania N_2 . W układzie symbiotycznie wiążącym N_2 , a zapewne i w samym mechanizmie wiążącym azot drobi-

nowy, ogromną rolę odgrywają takie mikroelementy jak: Co, Cu, Fe, Mo, Mn (Nowotny-Mieczyska i współaut. 1965).

Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu humianu sodowego na efektywność Co, Cu, Mo, Fe, Mn, w procesie symbiotycznego wiązania N_2 przez siewki *Trifolium pratense*.

MATERIAŁ I METODY

Doświadczenia wegetacyjne przeprowadzono w nieklimatyzowanej szklarni w latach 1965—1967 metodą kultur wodnych na siewkach *Trifolium pratense* L.

W doświadczeniach wegetacyjnych używano bezazotowej pożywki Hiltnera (1913) w modyfikacji Brodowskiej (1939) o następującym składzie (w g/l): KCl — 0,250, $Ca(H_2PO_4)_2 \cdot H_2O$ — 0,390, $CaSO_4 \cdot 5H_2O$ — 0,250, $MgSO_4 \cdot H_2O$ — 0,394, $Fe_2(SO_4)_3 \cdot nH_2O$ — 0,08. Tę podstawową pożywkę uzupełniano mikroelementami wg przepisu Hewitta (1952) o składzie (w mg/l): B — 0,37 (H_3BO_3), Mn — 0,55 ($MnSO_4$), Cu — 0,064 ($CuSO_4$), Zn — 0,065 ($ZnSO_4$), Co — 0,005 ($CoSO_4$), Mo — 0,05 ($H_2MoO_4 \cdot 2H_2O$), wykluczając w poszczególnych kombinacjach doświadczeń odpowiedni mikroelement. Składniki podstawowej pożywki Hiltnera oczyszczano od zanieczyszczeń mikroelementami wg metody podanej przez Hewitta (1952). Mikroelementy oczyszczano przez 3-krotną krystalizację.

W doświadczeniach używano wody redestylowanej z bidestylatorki szklanej. Czystość wody oraz oczyszczonych mikroelementów sprawdzano testem ditizonowym (Hewitt 1952). Wszystkie kultury zaopatrywano w 1 mg N/l pożywki (NH_4NO_3) dla przetrwania głodu azotowego. Zawartość azotu w nasieniu koniczyny wynosiła 0,250 mg. pH pożywki ustalano na 7,2 (Virtanen i wsp. 1963). Siewki koniczyny szczepiono 24-godz. zawiesiną *Rhizobium trifolii*, szczepem X.

Humian sodowy otrzymano z kompostu stereotypowym sposobem opisanym w pracy Gumińskiego i wsp. (1965). Syntetyczny humusopodobny związek otrzymano ze skarmelizowanej glukozy wg metody podanej przez Hewitta (1952). Roztwory humianów dodawano w ilości odpowiadającej 100 mg s.m./l pożywki. Warunki doświadczeń różnicowano pod względem mikroelementu (w jednym doświadczeniu badano wpływ 1-go z mikroelementów: Cu, Co, Mo, Fe, Mn), dodatku lub braku humianu. Doświadczenia prowadzono wg następującego schematu: 1. Pożywka — humian — badany mikroelement, 2. Pożywka — humian + badany mikroelement, 3. Pożywka + humian — badany mikroelement, 4. Pożywka + humian + badany mikroelement. Na kombinację (obiekt) składało się 6 równoczesnych powtórzeń (jedno powtórzenie: 4 rośliny w słoju o poj. 900 ml). Równolegle dla kontroli czystości doświadczeń stosowano również kombinacje z roślinami nie szczepionymi.

Gdy większość roślin zakwitła (7—9 tygodni), doświadczenie likwidowano.

Efekt działania humianu i mikroelementów mierzono: przyrostem suchej masy, plonem azotu oraz zawartością mikroelementu, którego wpływ na brodawkowanie i wiązanie N_2 badano w danym doświadczeniu.

1. Azot ogólny w częściach nadziemnych, korzeniach, brodawkach oznaczano mikrometodą Kjeldahla (Białoźjerski, Proskuriakow 1954).

2. Miedź w humianie naturalnym i materiale roślinnym oznaczono kolorymetrycznie — ditizonem wg metody Łapkina-Makarowa podanej przez Maksimowa (1954).

3. Zawartość kobaltu w humianie naturalnym oraz materiale roślinnym oznaczono metodą analizy spektralnej.

4. Oznaczenie molibdenu w naturalnym humianie i materiale roślinnym przeprowadzono metodą Johnsona i Arkleja (1954).

5. Zawartość manganu w humianie naturalnym oznaczono metodą Beli Horwatha (Maksimow 1954).

6. Oznaczenie żelaza w humianie naturalnym oraz materiale roślinnym przeprowadzono kolorymetrycznie z 2,2-dwupirydylem wg metody zmodyfikowanej przez Czerwińskiego (1967). Obliczenia statystyczne wykonano testem Studenta (Perkal 1963).

PRZEBIEG I WYNIKI DOŚWIADCZEŃ

Wpływ naturalnego humianu oraz miedzi na brodawkowanie i symbiotyczne wiązanie N_2 przez siewki koniczyny

Doświadczenie 1. Okres wegetacji: 2.IV—23.VI.1965 r. Miedź dodawano w ilości 0,064 mg Cu/l pożywki, a w kombinacji (+ humian + Cu) dodano 0,058 mg Cu/l pożywki — po uwzględnieniu zawartości Cu w humianie natural. = 0,00591 mg Cu w 100 mg s.m. humianu.

Wyniki doświadczenia zebrane w tabeli 1 ukazują, że zarówno naturalny humian sodu, jak też i sama miedź stymulują brodawkowanie i wiązanie N_2 , co znajduje odbicie w znacznym wzroście plonu azotu oraz suchej masy siewek koniczyny. Najwyższą zawartość azotu, a także najwyższą suchą masę stwierdzono u roślin wyrosłych na pożywce z dodatkiem humianu + Cu. Także brodawki korzeniowe roślin tej kombinacji posiadały największą suchą masę oraz najwyższą zawartość azotu — co wskazuje na ich wysoką efektywność wiązania N_2 . Stwierdzono, że zarówno humian, jak też miedź nie poprawiały wzrostu roślin nie szczepionych (dlatego wyniki podano bez uwzględnienia poszczególnych kombinacji). W świetle otrzymanych wyników nasuwa się pytanie, jaka jest przyczyna tej stosunkowo silnej stymulacji brodawkowania oraz wiązania

Tabela 1 — Table 1

Wpływ naturalnego humianu oraz miedzi na przyrost suchej masy (w g na słoju) i plon azotu (mg N/s.m. 4 roślin z 1 słoja) siewek koniczyzny czerwonej

Influence of humate and Cu on the yields of dry matter (g of dry m. per pot) and nitrogen content in red clover plants (mg N of dry m. 4 plant-per pot)

Wartości średnie 6 powtórzeń. Mean value of 6 replicates

Doświadczenie 1 — Experiment 1

Kombinacja Treatment	— Miedź (— Copper)						+ Miedź (+ Copper)						Rośliny nie szczepione Uninoculated plants					
	cz. nad- ziemne top			korzenie roots			brodawki nodules			cz. nad- ziemne top			korzenie roots			brodawki nodules		
	s.m. dry m g	N mg	s.m. dry m. g	N mg	s.m. dry m. g	N mg	s.m. dry m. g	N mg	s.m. dry m. g	N mg	s.m. dry m. g	N mg	s.m. dry m. g	N mg	s.m. dry m. g	N mg		
— human	1,635	60,21	0,429	18,31	0,072	3,83	1,713	65,53	0,497	22,21	0,082	4,62	0,28	6,85				
— humate																		
+ human	1,785	67,68	0,669	29,87	0,103	5,78	1,890	73,55	0,732	33,05	0,120	7,48						
+ humate																		

Obliczenia statystyczne s. m.
Statistical analysis dry m.

Przy poziomie ufności 0,95 $t = 2,23$; wartości $t \geq 2,23$ są udowodnione statystycznie
at $P = 0,05$ L.S.D. = 2,23

Kombinacja Treatment	Symbol	Wartości t: Values t:		Cz. nadziemne:		Korzenie: Roots:		Brodawki: Nodules:	
		Top:							
— humian — Cu	1			2,68	1,05	2,02			
— humian + Cu	2	$t_{1,2}$		3,10	4,45	4,16			
+ humian — Cu	3	$t_{1,3}$		2,67	7,81	2,27			
+ humian + Cu	4	$t_{2,3}$ $t_{3,4}$		2,60	1,20	7,62			

N₂ przez „sam” humian. Wyniki prac Burka i wsp. (1932), Bassalika i Neugebauer (1931, 1933), Krzemieniewskiego i Kovatsa (1936), Bortelsa (1939), Kosteckiej (1950), dały podstawy do przyjęcia możliwości, że humian może być dawcą miedzi. Dla sprawdzenia tej hipotezy założono doświadczenie następane.

Doświadczenie 2 prowadzono w okresie 5.VIII—25.IX.1965 r., w kombinacjach jak z humianem naturalnym, zastępując naturalny humian — związkiem humusopodobnym „syntetycznym humianem”, a więc nie zawierającym Cu. Dane liczbowe zestawiono w tabeli 3.

Syntetyczny humian, a także miedź wpływały korzystnie na brodawkowanie oraz wiązanie N₂ przez siewki koniczyny.

Podobnie jak w doświadczeniu z naturalnym humianem, rośliny kombinacji „+ humian + Cu” charakteryzował najwyższy plon azotu oraz najwyższa sucha masa. W warunkach gdy roślin nie szczepiono, uzupełnianie pożywki humianem syntetycznym lub też Cu nie miało wpływu na wzrost roślin.

Wobec stwierdzenia, że oba humiany: syntetyczny i naturalny wykazywały analogiczne działanie, należy wnioskować, że ich efekt fizjologiczny nie może polegać jedynie na dostarczaniu miedzi.

W doświadczeniu 3 (okres wegetacji kultur 23.IV—2.VII.1965) badano wpływ naturalnego humianu-Na oraz kobaltu na brodawkowanie i symbiotyczne wiązanie N₂ przez koniczynę. Kobalt dodawano w ilości 0,005 mg Co/l pożywki, a w kombinacji: + humian + Co, dodawano 0,00470 mg Co/l.

Wyniki doświadczenia zebrano w tabeli 4.

Kobalt oraz naturalny humian wpłynęły dodatnio na brodawkowanie i wiązanie N₂ — czego wynikiem był podwyższony plon azotu oraz suchej masy roślin traktowanych humianem lub kobaltem. Najobfitszą nodulację, najwyższą energię wiązania N₂ wykazywały jednakże rośliny wyrosłe przy obecności humianu i kobaltu w pożywce. Kobalt i humian nie wywierały efektu na wzrost roślin nie szczepionych.

W doświadczeniu 4 badano wpływ humianu sodu w powiązaniu z kobaltem. Czas doświadczenia 16.VI—26.VII.1965. Wyniki liczbowe doświadczenia ujęte w tabeli 6 wskazują, że humian syntetyczny, podobnie jak naturalny, wywiera wyraźny wpływ na brodawkowanie i wiązanie N₂ przez siewki koniczyny. Znajduje to odzwierciedlenie w ich wysokim plonie azotu i znacznejwyższej suchej masy w stosunku do roślin kontrolnych. W przeprowadzonym doświadczeniu najbardziej korzystny wpływ na wiązanie N₂ wywarło „nawożenie” humianem w powiązaniu z kobaltem. Rośliny tej kombinacji posiadały najwyższą energię wiązania N₂. Zanotowany fizjologiczny efekt humianu syntetycznego wyklucza możliwość działania humianu jedynie jako źródło kobaltu. Na podstawie otrzymanych wyników nie stwierdzono, aby kobalt był nie-

Tabela 2 — Table 2

Zawartość miedzi w μg w suchej masie koniczyny czerwonej
Copper content of red clover (μg in dry m.)

Doświadczenie 1 — Experiment 1

Części rośliny Part plant	Kombinacja — Treatment					
	— humian nat. — miedź — nat. humate — copper		— humian nat. — miedź — nat. humate — copper		+ humian nat. + miedź + nat. humate + copper	
	$\mu\text{g}/1 \text{ g s. m.}$ $\mu\text{g}/\text{g dry m.}$		$\mu\text{g}/1 \text{ g s. m.}$ $\mu\text{g}/\text{g dry m.}$		$\mu\text{g}/1 \text{ g s. m.}$ $\mu\text{g}/\text{g dry m.}$	
	μg na stół μg per pot	μg na stół μg per pot	μg na stół μg per pot	μg na stół μg per pot	μg na stół μg per pot	μg na stół μg per pot
Części nadziemne Top	0,66		21,13	1,61	2,87	22,13
Korzenie Roots	ślady traces	—	15,32	0,90	0,62	16,21
Brodawki Nodules	0,90	0,05	27,11	0,19	0,94	27,91

Doświadczenie 2 — Experiment 2

Części rośliny Part plant	Kombinacja — Treatment					
	— humian synt. — miedź — synt. humate — copper		— humian synt. — miedź — synt. humate — copper		+ humian synt. + miedź + synt. humate + copper	
	$\mu\text{g}/1 \text{ g s. m.}$ $\mu\text{g}/\text{g dry m.}$		$\mu\text{g}/1 \text{ g s. m.}$ $\mu\text{g}/\text{g dry m.}$		$\mu\text{g}/1 \text{ g s. m.}$ $\mu\text{g}/\text{g dry m.}$	
	μg na stół μg per pot	μg na stół μg per pot	μg na stół μg per pot	μg na stół μg per pot	μg na stół μg per pot	μg na stół μg per pot
Części nadziemne Top	0,48		19,13	0,57	21,07	39,46
Korzenie Roots	ślady traces	—	16,39	ślady traces	16,83	9,81
Brodawki Nodules	1,11	0,06	21,84	1,68	22,41	2,77

Tabela 3 — Table 3

Wpływ syntetycznego humianu oraz miedzi na przyrost suchej masy (w g na słój) i plon azotu (mg N/s.m. 4 roślin z 1 słoja) siewek koniczyzny czerwonej

Influence of synthetic humate and Cu on the yields of dry matter (g of dry m. per pot)

Wartości średnie 6 powtórzeń. Mean value of 6 replicates

Doświadczenie 2 — Experiment 2

Kombinacja Treatment	— Miedź (— Copper)				+ Miedź (+ Copper)				Rośliny nie szczipione Uninoculated plants	
	cz. nad- ziemne top		korzenie roots		brodawki nodules		cz. nad- ziemne top		korzenie roots	
	s.m. dry m. g	N mg	s.m. dry m. g	N mg	s.m. dry m. g	N mg	s.m. dry m. g	N mg	s.m. dry m. g	N mg
— humian	1,443	50,76	0,392	16,95	0,057	2,91	1,512	54,85	0,398	17,61
— humate										
+ humian	1,592	57,16	0,510	22,27	0,084	4,54	1,873	72,85	0,583	26,30
+ humate										
									0,249	8,53
									4,16	7,06

Obliczenia statystyczne s. m.
Statistical analysis dry m.

Przy poziomie ufności 0,95 $t = 2,23$; wartości $t \geq 2,23$ są udowodnione statystycznie
at $P = 0,05$ L.S.D. = 2,23

Kombinacja Treatment	Symbol	Wartości t: Values t:	Cz. nadziemne: Top:	Korzenie: Roots:	Brodawki: Nodules:
— humian — Cu	1	$t_{1,2}$	3,74	0,02	3,45
— humian + Cu	2	$t_{1,3}$	2,41	4,06	5,37
+ humian — Cu	3	$t_{2,4}$	3,43	6,80	4,63
+ humian + Cu	4	$t_{3,4}$	3,06	3,61	3,47

Tabela 4 — Table 4

Wpływ naturalnego humianu oraz kobaltu na przyrost suchej masy (w g na słój) i plon azotu (mg N/s.m. 4 roślin z 1 słoja) siewek koniczyny czerwonej

Influence of humate and Co on the yields of dry matter (g of dry m. per pot) and nitrogen content in red clover plants (mg N of dry m. 4 plants per pot)

Wartości średnie 6 powtórzeń. Mean value of 6 replicates

Doświadczenie 3 — Experiment 3

Kombinacja Treatment	— Kobalt (— Cobalt)						+ Kobalt (+ Cobalt)						Rośliny nie szczepione Uninoculated plants					
	cz. nad- ziemne top			korzenie roots			brodawki nodules			cz. nad- ziemne top			korzenie roots			brodawki nodules		
	s. m. dry m. g		N mg	s. m. dry m. g		N mg	s. m. dry m. g		N mg	s. m. dry m. g		N mg	s. m. dry m. g		N mg	s. m. dry m. g		N mg
— humian	0,969	40,03	0,306	9,51	0,209	12,70	1,147	51,38	0,326	10,79	0,240	18,96						
— humate	1,057	48,13	0,405	13,75	0,250	20,31	1,272	59,93	0,455	15,55	0,276	22,82					0,311	6,89
+ humian																		
+ humate																		

Obliczenia statystyczne s. m. Statistical analysis dry m. Przy poziomie ufności 0,95 $t = 2,23$; wartości $t \geq 2,23$ są udowodnione statystycznie at $P = 0,05$ L.S.D. = 2,23

Kombinacja Treatment	Symbol	Wartości t: Values t:	Cz. nadziemne: Top:	Korzenie: Roots:	Brodawki: Nodules:
— humian — Co	1	$t_{1,2}$	4,82	6,15	2,23
— humian + Co	2	$t_{1,3}$	2,48	3,34	3,00
+ humian — Co	3	$t_{2,4}$	3,35	6,06	6,02
+ humian + Co	4	$t_{3,4}$	6,16	3,11	5,77

Tabela 5 — Table 5

Zawartość kobaltu w μg w suchej masie koniczyny czerwonej
Cobalt content of clover plant (μg of dry m.)
Doświadczenie 3 — Experiment 3

Kombinacja Treatment	Część nadziemna rośliny Top of plant		
	$\mu\text{g/lg s. m.}$ $\mu\text{g per lg of dry m.}$	$\mu\text{g na słój}$ $\mu\text{g per pot}$	$\mu\text{g/l roślinę}$ $\mu\text{g per plant}$
— humian nat. — Co	ślady (traces)	ślady (traces)	—
— humian nat. + Co	1,13	2,22	0,55
+ humian nat. — Co	ślady (traces)	ślady (traces)	—
+ humian nat. + Co	1,21	2,54	0,63

Doświadczenie 4 — Experiment 4

Kombinacja Treatment	Część nadziemna rośliny Top of plant		
	$\mu\text{g/lg s. m.}$ $\mu\text{g per lg of dry m.}$	$\mu\text{g na słój}$ $\mu\text{g per pot}$	$\mu\text{g/l roślinę}$ $\mu\text{g per plant}$
— humian synt. — Co	ślady (traces)	ślady (traces)	—
— humian synt. + Co	1,02	1,16	0,30
+ humian synt. — Co	ślady (traces)	ślady (traces)	—
+ humian synt. + Co	1,11	1,41	0,35

zbędny bezpośrednio do brodawkowania roślin, lecz że w znacznym stopniu stymulował brodawkowanie i wiązanie N_2 .

W doświadczeniu 5 (13.V—8.VII.1965) śledzono efekt działania naturalnego humianu oraz molibdenu.

Molibden dodawano w ilości 0,05 mg Mo/l pożywki. Zawartość molibdenu w naturalnym humianie wynosiła 0,00256 mg/100 mg s.m., dlatego w kombinacji: + humian + Mo dodawano odpowiednio 0,047 mg Mo/l pożywki.

Największy przyrost suchej masy i najwyższy plon azotu, jak wykazują wyniki zestawione w tabeli 7, posiadały rośliny wyrosłe na pożywce z dodatkiem Mo. Nieco niższy plon azotu oraz przyrost suchej masy zanotowano u roślin wyrosłych na pożywce: + humian + Mo i „samym” humianie.

Nie wykryto dodatniej współzależności działania naturalnego humianu i molibdenu. Obecność tak humianu, jak i molibdenu w pożywce nie miała wpływu na wzrost roślin nie szczepionych.

Doświadczenie 6. Porównawcze doświadczenie do wyżej opisanego przeprowadzono z syntetycznym humianem. Czas doświadczenia (21.IV—29.VI.1966). Wyniki doświadczenia ujęto w tabeli 9. Okazało się, że molibden oraz syntetyczny humian przyspieszył brodawkowanie roś-

Tabela 6 — Table 6

Wpływ syntetycznego humianu oraz kobaltu na przyrost suchej masy (w g na słój) i płon azotu (mg N/s.m. 4 roślin z 1 słoja) siewek koniczyzny czerwonej

Influence of synthetic humate and Co on the yields of dry matter (g of dry m. per pot) and nitrogen content in red clover plants (mg N of dry m. 4 plants per pot)

Wartości średnie 6 powtórzeń. Mean value of 6 replicates

Doświadczenie 4 — Experiment 4

Kombinacja Treatment	— Kobalt (— Cobalt)						+ Kobalt (+ Cobalt)						Rośliny nie szczepione Uninoculated plants	
	cz. nad- ziemne top		korzenie roots		brodawki nodules		cz. nad- ziemna top		korzenie roots		brodawki nodules		s. m. dry m. g	N mg
	s. m. dry m. g	N mg	s. m. dry m. g	N mg	s. m. dry m. g	N mg	s. m. dry m. g	N mg	s. m. dry m. g	N mg				
— humian	1,671	62,22	0,938	27,31	0,161	8,82	1,868	84,20	0,990	30,83	0,205	14,60	0,362	9,45
— humate														
+ humian	1,786	72,40	1,136	37,12	0,230	18,08	2,106	97,21	1,352	46,17	0,242	19,61		
+ humate														

Obliczenia statystyczne s. m.
Statistical analysis dry m.

Kombinacja Treatment	Symbol	Wartości t: Values t:	Cz. nadziemne: Top:	Korzenie: Roots:	Brodawki: Nodules:
— humian — Co	1		4,25	3,75	1,95
— humian + Co	2	$t_{1,2}$	2,31	4,95	2,99
+ humian — Co	3	$t_{1,3}$	7,48	8,00	2,51
+ humian + Co	4	$t_{2,4}$ $t_{3,4}$	6,05	3,53	1,31

Przy poziomie ufności 0,95 $t = 2,23$; wartości $t \geq 2,23$ są udowodnione statystycznie
at $P = 0,05$ L.S.D. = 2,23

Tabela 7 — Table 7

Wpływ naturalnego humianu oraz molibdenu na przyrost suchej masy (w g na słoju) i plon azotu (mg N/s.m. 4 roślin z 1 słoja) siewek konicznyny czerwonej

Influence of humate and Mo on the yields of dry matter (g of dry m. per pot) and nitrogen content in red clover plants (mg N of dry m. 4 plants per pot)

Wartości średnie 6 powtórzeń. Mean value of 6 replicates

Doświadczenie 5 — Experiment 5

Kombinacja Treatment	— Molibden (— Molybdenum)				+ Molibden (+ Molybdenum)				Rośliny nie szczepione Uninoculated plants	
	cz. nadziemne top		korzenie roots		brodawki nodules		cz. nadziemne top		korzenie roots	
	s.m. dry m. g	N mg	s.m. dry m. g	N mg	s.m. dry m. g	N mg	s.m. dry m. g	N mg	s.m. dry m. g	N mg
— humian	0,914	24,31	0,369	13,61	0,149	4,54	1,721	53,92	0,398	21,23
— humate										
+ humian	1,103	29,80	0,431	20,51	0,226	12,47	1,274	36,02	0,444	21,89
+ humate										
									0,219	13,28
									0,233	15,33
										2,49

Obliczenia statystyczne s. m.
Statistical analysis dry m.

Przy poziomie ufności 0,95 $t = 2,23$; wartości $t \geq 2,23$ są udowodnione statystycznie
at $P = 0,05$ L.S.D. = 2,23

Kombinacja Treatment	Symbol	Wartości t: Values t:	Cz. nadziemne: Top:	Korzenie: Roots:	Brodawki: Nodules:
— humian — Mo	1		12,4	1,20	1,58
— humian — Mo	2	$t_{1,2}$	2,76	4,25	2,59
+ humian — Mo	3	$t_{1,3}$	2,08	2,00	3,35
+ humian + Mo	4	$t_{2,4}$	2,26	0,52	0,35

Tabela 8 — Table 8

Zawartość molibdenu (w μg) w suchej masie koniczyny czerwonej
Molybdenum content of red clover (μg in dry m.)
Doświadczenie 5 — Experiment 5

Części rośliny Part plant	Kombinacja — Treatment					
	— humian nat. — molybden — nat. humate — molybdenum		— humian nat. + molybden — nat. humate + molybdenum		+ humian nat. — molybden + nat. humate — molybdenum	
	$\mu\text{g/g}$ s. m. $\mu\text{g/g}$ dry m.	μg na stół μg per pot	$\mu\text{g/g}$ s. m. $\mu\text{g/g}$ dry m.	μg na stół μg per pot	$\mu\text{g/g}$ s. m. $\mu\text{g/g}$ dry m.	μg na stół μg per pot
Części nadziemne Top	1,78	1,62	23,19	39,90	4,22	4,65
Korzenie Roots	1,61	0,60	17,06	6,78	2,75	1,18
Brodawki Nodules	3,30	0,49	31,70	6,21	19,67	4,44
					21,08	26,85
					13,12	5,82
					26,43	8,15

Doświadczenie 6 — Experiment 6

Części rośliny Part plant	Kombinacja — Treatment					
	— humian synt. — molybden — synt. humate — molybdenum		— humian synt. + molybden — synt. humate + molybdenum		+ humian synt. — molybden + synt. humate — molybdenum	
	$\mu\text{g/g}$ s. m. $\mu\text{g/g}$ dry m.	μg na stół μg per pot	$\mu\text{g/g}$ s. m. $\mu\text{g/g}$ dry m.	μg na stół μg per pot	$\mu\text{g/g}$ s. m. $\mu\text{g/g}$ dry m.	μg na stół μg per pot
Części nadziemne Top	1,25	0,85	15,68	34,03	1,23	1,50
Korzenie Roots	0,68	0,17	14,82	5,73	0,97	0,41
Brodawki Nodules	2,13	0,34	54,18	6,35	1,68	0,36
					15,60	21,82
					14,21	1,55
					32,49	7,21

Tabela 9 — Table 9

Wpływ syntetycznego humianu oraz molibdenu na przyrost suchej masy (w g na słój) i plon azotu (mg N/s.m. 4 roślin z 1 słoja) siewek koniczyny czerwonej
 Influence of synthetic humate and Mo on the yields of dry matter (g of dry m. per pot) and nitrogen content in red clover plants (mg N of dry m. 4 plants per pot)

Wartości średnie 6 powtórzeń. Mean value of 6 replicates

Doświadczenie 6 — Experiment 6

Kombinacja Treatment	— Molibden (— Molybdenum)						+ Molibden (+ Molybdenum)						Rośliny nie szczepione Uninoculated plants	
	cz. nadziemne top		korzenie roots		brodawki nodules		cz. nadziemne top		korzenie roots		brodawki nodules		s.m. dry m. g	N mg
	s.m. dry m. g	N mg	s.m. dry m. g	N mg	s.m. dry m. g	N mg	s.m. dry m. g	N mg	s.m. dry m. g	N mg	s.m. dry m. g	N mg		
	0,686	18,28	0,260	9,60	0,160	4,87	2,171	69,29	0,387	22,19	0,186	12,60	0,182	3,80
— humian — humate + humian + humate	1,226	33,23	0,432	20,56	0,218	10,82	1,399	39,56	0,461	31,80	0,222	15,27		

Obliczenia statystyczne s. m.

Statistical analysis dry m.

Kombinacja Treatment	Symbol	Wartości t: Values t:	Cz. nadziemne: Top:	Korzenie: Roots:	Brodawki: Nodules:
— humian — Mo	1		14,37	7,23	2,04
— humian — Mo	2	$t_{1,2}$	6,97	7,25	7,07
— humian — Mo	3	$t_{1,3}$	2,02	5,91	2,14
— humian — Mo	4	$t_{2,4}$	2,28	2,80	0,62

Przy poziomie ufności 0,95 $t = 2,23$; wartości $t \geq 2,23$ są udowodnione statystycznie at $P = 0,05$ L.S.D. = 2,23

lin, ale samo tworzenie się brodawek nie było uwarunkowane obecnością molibdenu w pożywce. Dane przedstawione w tabeli 9 wskazują, że molibden zwiększył aktywność wiązania N_2 przez brodawki, co z kolei wpłynęło na podwyższenie zawartości azotu i suchej masy roślin. Syntetyczny humian, podobnie jak naturalny, wpłynął dodatnio na brodawkowanie roślin, czego wynikiem jest zwiększona sucha masa brodawek, co więcej, wpłynął korzystnie także na efektywność wiązania N_2 przez brodawki. Rzeczą godną zastanowienia jest fakt, pewnej obniżki plonu azotu oraz suchej masy roślin traktowanych humianem syntetycznym + Mo, w stosunku do plonu azotu suchej masy roślin karmionych „samym” molibdem. Wyniki wskazują na brak współzależności działania syntetycznego humianu i molibdenu.

Doświadczenie 7. W dalszej kolejności przebadano wpływ naturalnego humianu-Na, w powiązaniu z żelazem (doświadczenie 7 — 3.VII—4.IX.1966) na brodawkowanie i wiązanie N_2 . Żelazo dodawano w ilości 12,02 mg Fe^{+3}/l pożywki, a w kombinacji + humian + Fe dodano 11,995 mg Fe/l pożywki uwzględniając Fe zawarte w humianie (0,025 mg w 100 mg s.m. humianu).

Dane liczbowe doświadczenia zebrano w tabeli 10. Zanotowano, że obecność żelaza lub naturalnego humianu warunkuje tworzenie się brodawek, a więc także możliwość wiązania N_2 . Stwierdzono, że naturalny humian sodu wpłynął korzystnie na brodawkowanie i efektywność wiązania N_2 przez siewki koniczyny. W jeszcze większym stopniu aniżeli „sam” humian stymulowało proces wiązania N_2 — żelazo. Najwyższą jednakże aktywność wiązania N_2 , a także najobfitszy plon azotu, najwyższy przyrost suchej masy stwierdzono u roślin kombinacji: + humian + żelazo. W kombinacjach z roślinami nie szczepionymi nie zanotowano żadnych różnic w przyroście suchej masy i plonie azotu w wyniku karmienia ich humianem naturalnym lub żelazem.

Doświadczenie 8, w którym badano wpływ syntetycznego humianu oraz żelaza, przeprowadzono w okresie 12.VII—30.VIII.1966 r.

Wyniki liczbowe doświadczenia zebrano w tabeli 12. W przeprowadzonym doświadczeniu najniższy plon azotu wykazywały rośliny pozbawione żelaza, zarówno przy obecności syntetycznego humianu, jak też i przy jego braku w pożywce. Co więcej rośliny wyrosłe przy braku żelaza w pożywce nie brodawkowały. Rośliny żywione żelazem wykazywały znaczny wzrost plonu azotu oraz wysoki przyrost suchej masy w stosunku do roślin kontrolnych. Najwyższą energię wiązania azotu cząsteczkowego posiadały jednakże rośliny żywione żelazem + humian. Syntetyczny humian wzmógł brodawkowanie, wiązanie N_2 , gdy w pożywce było obecne żelazo.

Rośliny nie zakażone oraz rośliny pozbawione żelaza nie wykazywały różnic we wzroście i do końca doświadczenia charakteryzował je ostry

Tabela 10 — Table 10

Wpływ naturalnego humianu oraz żelaza na przyrost suchej masy (w g na słój) i plon azotu (mg N/s.m. 4 roślin z 1 sloja) siewek koniżyny czerwonej

Influence of humate and Fe in the yields of dry matter (g of dry m. per pot) and nitrogen content in red clover plants (mg N of dry m. 4 plant per pot)

Wartości średnie 6 powtórzeń. Mean value of 6 replicates

Doświadczenie 7 — Experiment 7

Kombinacja Treatment	— Żelazo (— Iron)						+ Żelazo (+ Iron)						Rośliny nie szczepione Uninoculated plants	
	cz. nad- ziemne top		korzenie roots		brodawki nodules		cz. nad- ziemna top		korzenie roots		brodawki nodules		s. m. dry m. g	N mg
	s. m. dry m. g	N mg	s. m. dry m. g	N mg	s. m. dry m. g	N mg	s. m. dry m. g	N mg	s. m. dry m. g	N mg				
— humian	0,089	1,51	0,108	1,97	—	—	3,233	80,21	1,189	34,64	0,232	18,63	0,19	3,25
— humate	2,716	71,64	1,289	35,37	0,105	7,99	3,423	123,36	1,316	41,70	0,287	23,57		
+ humian														
+ humate														

Obliczenia statystyczne s. m.

Statistical analysis dry m.

Przy poziomie ufności 0,95 $t = 2,23$; wartości $t \geq 2,23$ są udowodnione statystycznie
at $P = 0,05$ L.S.D. = 2,23

Kombinacja Treatment	Symbol	Wartości t: Values t:	Cz. nadziemne: Top:	Korzenie: Roots:	Brodawki: Nodules:
— humian — Fe	1	$t_{1,2}$	14,35	10,98	—
— humian + Fe	2	$t_{1,3}$	11,85	11,80	—
+ humian — Fe	3	$t_{2,4}$	3,52	1,25	6,76
+ humian + Fe	4	$t_{3,4}$	5,13	2,47	29,39

Tabela 11 — Table 11

Zawartość żelaza w mg w suchej masie koniczyny czerwonej
 Iron content of red clover (mg in dry m.)
 Doświadczenie 7 — Experiment 7

Kombinacja Treatment	Część nadziemna rośliny Top of plant		
	mg/1g s. m. mg per 1 g of dry m.	mg na słój mg per pot	mg/1 roślinę mg per plant
— humian nat. — Fe	0,071	0,0064	0,0016
— nat. humate — Fe			
— humian nat. + Fe	0,116	0,3650	0,0912
— nat. humate + Fe			
+ humian nat. — Fe	0,104	0,1340	0,0360
+ nat. humate — Fe			
+ humian nat. + Fe	0,130	0,4790	0,1197
+ nat. humate + Fe			

Doświadczenie 8 — Experiment 8

Kombinacja Treatment	Część nadziemna rośliny Top of plant		
	mg/1g s. m. mg per 1 g of dry m.	mg na słój mg per pot	mg/1 roślinę mg per plant
— humian synt. — Fe	0,076	0,0009	0,0022
— synt. humate — Fe			
— humian synt. — Fe	0,119	0,343	0,0875
— synt. humate — Fe			
+ humian synt. — Fe	0,079	0,009	0,0022
+ synt. humate — Fe			
+ humian synt. + Fe	0,138	0,421	0,1052
+ synt. humate + Fe			

głód azotowy. Wydawałoby się, że wobec braku efektu fizjologicznego humianu syntetycznego w warunkach braku żelaza w pożywce, dodatni efekt „samego” naturalnego humianu zanotowany w doświadczeniu 7, należałoby tłumaczyć dostarczeniem przez tenże humian żelaza. Ponadto wobec stwierdzenia pewnej współzależności działania humianu i żelaza, postanowiono to zagadnienie zbadać głębiej.

W doświadczeniu 9 (22.III—26.V.1967 r.) badano wpływ syntetycznego humianu oraz różnych poziomów żelaza (12,02 mg, 1,202 mg, 0,1202 mg na 1 l pożywki) na brodawkowanie, symbiotyczne wiązanie N₂ przez siewki koniczyny. Dane liczbowe doświadczenia ujęto w tabeli 13.

Okazało się, że humian w kulturach z najwyższą dawką żelaza spowodował najobfitszą nodulację korzeni, a także najenergiczniejsze wiązanie

Tabela 12 — Table 12

Wpływ syntetycznego humianu oraz żelaza na przyrost suchej masy (w g na słój) i plon azotu (mg N/s.m. 4 roślin z 1 słoja) siewek koniczyzny czerwonej

Influence of synthetic humate and Fe on the yields of dry matter (g of dry m. per pot) and nitrogen content in red clover plants (mg N of dry m. 4 plants per pot)

Wartości średnie 6 powtórzeń. Mean value of 6 replicates

Doświadczenie 8 — Experiment 8

Kombinacja Treatment	— Żelazo (— Iron)				+ Żelazo (+ Iron)				Rośliny nie szczepione Uninoculated plants					
	cz. nadziemne top		korzenie roots		brodawki nodules		cz. nadziemne top		korzenie roots		brodawki nodules			
	s. m. drym. g	N mg	s. m. drym. g	N mg	s. m. drym. g	N mg	s. m. drym. g	N mg	s. m. drym. g	N mg	s. m. drym. g	N mg		
— humian	0,120	2,04	0,061	1,32	—	—	2,883	82,48	1,276	39,31	0,245	18,32	0,173	2,97
— humate														
+ humian	0,122	2,09	0,066	1,44	—	—	3,052	102,79	1,390	58,60	0,293	23,53		
+ humate														

Obliczenia statystyczne s. m.

Statistical analysis dry m.

Kombinacja Treatment	Symbol	Wartości t: Values t:	Cz. nadziemne: Top:	Korzenie: Roots:	Brodawki: Nodules:
— humian — Fe	1	$t_{1,2}$	61,55	4,68	—
— humian + Fe	2	$t_{1,3}$	0,22	0,38	—
+ humian — Fe	3	$t_{2,4}$	2,23	1,29	3,95
+ humian + Fe	4	$t_{3,4}$	46,91	5,58	—

Przy poziomie ufności 0,95 $t = 2,23$; wartości $t \geq 2,23$ są udowodnione statystycznie
at $P = 0,05$ L.S.D. = 2,23

Tabela 14 — Table 14

Wpływ naturalnego, syntetycznego humianu oraz manganu na przyrost suchej masy (w g na sioł) i plon azotu (mg N/s.m. 4 roślin z 1 sioła) siewek koniczyny czerwonej
 Influence of synthetic, natural humate and Mn on the yields of dry matter (g of dry m. per pot) and nitrogen content in red clover plants (mg N of dry m. 4 plants per pot)

Wartości średnie 6 powtórzeń. Mean value of 6 replicates

Doświadczenie 10 — Experiment 10

Kombinacja Treatment	— Mangan (— Manganese)				+ Mangan (+ Manganese)				Rośliny nie szczepione Uninoculated plants	
	cz. nadziemne top		korzenie i brodawki roots and nodules		cz. nadziemne top		korzenie i brodawki roots and nodules		s. m. dry m. g	N mg
	s. m. dry m. g	N mg	s. m. dry m. g	N mg	s. m. dry m. g	N mg	s. m. dry m. g	N mg		
— humian nat.	0,928	25,35	0,433	18,99	1,526	48,54	0,567	33,87		
— humate nat.										
+ humian synt.	1,257	39,62	0,753	40,04	1,946	66,51	0,885	54,76	0,179	3,87
+ humate synth.										
+ humian synt.	1,226	37,11	0,681	30,74	1,659	55,89	0,813	48,12		
+ humate synth.										

Obliczenia statystyczne s. m.
 Statistical analysis dry m.

Przy poziomie ufności 0,95 $t = 2,23$; wartości $t \geq 2,23$ są udowodnione statystycznie
 at $P = 0,05$ L.S.D. = 2,23

Kombinacja: Treatment:	Symbol	Wartości t: Values t:	Cz. nadziemne: Top:	Korzenie i brodawki: Roots and nodules:
— humian — Mn	1	$t_{1,2}$	15,44	6,33
— humian + Mn	2	$t_{1,3}$	9,39	11,56
+ humian nat. — Mn	3	$t_{1,4}$	6,24	18,91
+ humian synt. — Mn	4	$t_{3,5}$	18,19	8,80
+ humian nat. + Mn	5	$t_{4,6}$	8,51	2,90
+ humian synt. + Mn	6			

N₂. W warunkach przeprowadzonego doświadczenia — modelowy humian zwiększył efekt działania żelaza: minimalna ilość żelaza (0,120 mg), która okazała się wprawdzie wystarczająca do „zabrodawkowania” koniczyny, po dodaniu humianu stała się jakby bardziej aktywna, czego wynikiem była zwiększona sucha masa brodawek i znacznie energiczniejsze wiązanie N₂, stosunkowo wysoki przyrost suchej masy roślin.

W doświadczeniu 10 (29.IV—27.VI.1967 r.) śledzono wpływ naturalnego, syntetycznego humianu oraz manganu. Mangan dodawano w ilości 0,55 mg Mn⁺²/l pożywki, a w kombinacji + humian naturalny + mangan 0,544 mg Mn, po wprowadzeniu poprawki na zawartość Mn w humianie naturalnym (0,0062 mg Mn w 100 mg s.m.). Z danych doświadczenia przedstawionych w tabeli 14 łatwo odczytać, że dodatek humianu zarówno naturalnego, jak i syntetycznego wpłynął korzystnie na wiązanie N₂, o czym świadczy podwyższony plon azotu, zwiększona sucha masa roślin.

Najwyższą energię wiązania N₂, najwyższy przyrost suchej masy posiadały jednakże rośliny zaopatrywane równocześnie i w humian, i w mangan. W doświadczeniu tym stwierdzono, że humian syntetyczny i naturalny, a także mangan pozostawały bez efektu, gdy rośliny nie brodawkowały i korzystały wyłącznie z głodowej dawki azotu.

DYSKUSJA WYNIKÓW

Przedstawione wyniki doświadczeń w całej rozciągłości potwierdzają dotychczasowy pogląd szeregu badaczy o niezbędności Fe, Cu, Co, Mo, Mn w procesie symbiotycznego wiązania N₂. Szczególne światło na badane w niniejszej pracy zagadnienie rzucają wyniki doświadczeń z żelazem. Doświadczenia nad wpływem humianu i żelaza wykazały bowiem, że obecność żelaza w pożywce warunkuje brodawkowanie roślin (tab. 10, 12). Rośliny pozbawione żelaza nie brodawkowały, a już dodatek naturalnego humianu zawierającego minimalne ilości żelaza, spowodował brodawkowanie roślin. Analizując wyniki doświadczeń nad wpływem humianu w powiązaniu z żelazem, zanotowano, że przy braku żelaza w pożywce (tab. 12) związek humusopodobny — „modelowy” humian — nie wywołał żadnego dodatniego efektu na plon azotu i przyrost suchej masy; co więcej, syntetyczny humian nie spowodował brodawkowania roślin. W doświadczeniu z syntetycznym humianem i trzema poziomami żelaza (tab. 13) wykazano, że niewielka ilość Fe nie wystarczająca dla pełnej biologicznej aktywności wiązania N₂ przez układ: koniczyna — *Rhizobium*, przy obecności humianu w pożywce okazała się znacznie efektywniejsza. Wobec uzyskanych danych wydaje się, że istota fizjologicznej aktywności humianu w procesie symbiotycznego wiązania N₂ przez siewki koniczyny polega na pośrednim działaniu humianu i wiąże się z udostępnieniem roślinom kationów metalicznych, w szczególności żelaza — pier-

wiastka o kluczowym znaczeniu w układzie symbiotycznie wiążącym N_2 . Należy podkreślić, że w warunkach przeprowadzonego doświadczenia humian wywierał korzystny wpływ nie tylko w warunkach niedostatku żelaza, lecz nawet przy jego dużej zawartości w pożywce.

W warunkach przeprowadzonego doświadczenia pH pożywki sprzyjało wytrąceniu się żelaza — humian zaś zapobiegał temu zjawisku, ułatwiając roślinom pobieranie tego mikroskładnika. Za tego rodzaju tłumaczeniem fizjologicznego efektu humianu przemawiają wyniki prac Gumińskiego, Gumińskiej i Sulej (1965) i Czerwińskiego (1967), które wykazały, że humian zabezpiecza rośliny w kulturach wodnych przed niedostatkiem żelaza. Podobnie prace Olsena wg Schroppa (1951), de Kocka (1955), Djakonowej (1962), Aso i Sakai (1963) podkreślają stymulujący efekt kwasu humusowego w procesie zaopatrywania roślin w żelazo. Z przeprowadzonych doświadczeń nad wpływem humianu wynika więc, że humian wywiera korzystne działanie na proces symbiotycznego wiązania N_2 przez siewki koniczyny. Stymulującego efektu humianu nie należy tłumaczyć wyłącznie tym, że humian zawiera mikroelementy (niezbędne w procesie wiązania N_2), jak sugerowałyby prace Krzemieniewskiego i Kovatsa (1936), Kovatsa (1938), Bortelsa (1939), Kosteckiej (1950), gdyż w przeprowadzonych doświadczeniach humusopodobny związek wywierał analogiczne działanie jak naturalny. Na tego rodzaju analogię aktywności fizjologicznej naturalnego i modelowego humianu wskazują prace Gumińskich (1953), Badury (1964, 1965). Wobec stwierdzenia, że humian pozostawał bez efektu przy braku żelaza w pożywce wydaje się, że zanotowany, stymulujący wpływ — „samego” humianu w procesie symbiotycznego wiązania N_2 polega przede wszystkim na zwiększeniu efektywności żelaza i udostępnieniu go roślinom.

Dane analiz chemicznych zawartości Cu, Co, Fe w suchej masie roślin (tab. 2, 5, 11) wskazują, że przy obecności humianu w pożywce, rośliny wykazywały podwyższoną zawartość tych mikroelementów w porównaniu z roślinami traktowanymi „samym” mikroelementem.

Otrzymane wyniki upoważniają ponadto do przypuszczenia, że humian podwyższa także efektywność Cu, Co, Mn (tabl. 1, 3, 4, 6, 14). Zwiększenie efektywności kationów metalicznych może być wynikiem tworzenia się kompleksów metal-humian, ułatwiających roślinie pobieranie tych kationów.

Wyniki prac szeregu badaczy wskazują na wysoką zdolność kompleksowania kationów przez związki huminowe. Tego rodzaju działanie związków huminowych w stosunku do kationów wiąże się z obecnością różnorodnych funkcjonalnych grup w kwasach huminowych. Broadbent (1957), Gliński i Turski (1965), Delas (1966), Schnitzer i Skinner (1966) wykazali zdolność kompleksowania miedzi przez związki humusowe. Agalów (1966) stwierdził, że kwasy humusowe,

fulwokwasy, w szerokim zakresie pH tworzą kompleksowe połączenia z kobaltem. Wielu autorów: Ponomariewa (1947, cyt. wg Drozdowej 1960), Drozdowa (1960), Broadbent i Ott (1957), Wasu, Mukherjee, Mukherjee (1964) wykazało zdolność kompleksowania przez humian różnorodnych kationów metalicznych Fe^{+3} , Fe^{+2} , Mn^{+2} , Ni^{+2} .

Przeprowadzone wyniki doświadczeń własnych wskazują jednakże, że stymulujący efekt humianu w powiązaniu z badanym w konkretnym doświadczeniu mikroelementem (z wyjątkiem molibdenu), polega nie tylko na zwiększaniu efektywności tego mikroelementu, ale chyba przede wszystkim na udostępnianiu roślinom żelaza. Świadczy o tym efektywność modelowego humianu przy braku innych niż żelazo mikroelementów w pożywce.

Z przeprowadzonych doświadczeń (tab. 7, 8, 9) wynika, że humian nie zwiększył efektywności molibdenu: u roślin kombinacji + humian + Mo nie stwierdzono istotnych różnic przyrostu suchej masy w stosunku do roślin traktowanych jedynie Mo, przeciwnie zanotowano pewną tendencję do obniżki plonu azotu, suchej masy, a nawet zawartości molibdenu przy obecności humianu w pożywce. Działanie humianu w tym wypadku jest niejasne i nie można jednoznacznie bez dalszych badań wyjaśnić, na czym ono polega. Można by przypuszczać, że podawany roślinom w postaci anionu molibden (pozostałe, badane mikroelementy były kationami) — nie tworzy kompleksów z humianem lub też, że utworzone kompleksy są fizjologicznie nieaktywne. Stymulację wywołaną przez humian w kombinacji: — Mo, należałoby przy tym tłumaczyć — wpływem przez inny mikroelement.

We wszystkich kombinacjach z nie szczepionymi siewkami nie zanotowano, by dodatek badanego mikroelementu wywierał jakikolwiek wpływ na wzrost roślin. Przyczyną tego zjawiska był fakt, że czynnikiem ograniczającym wzrost nie szczepionych roślin jest azot. Również dodatek humianu nie wywierał efektu na wzrost nie szczepionych roślin, z czego można wnioskować, że widocznie humian nie może być wykorzystywany przez siewki koniczyny jako źródło azotu. Wynik ten potwierdza całkowicie wnioski wysunięte przez licznych autorów na podstawie ich prac (Krzemieniewski 1909; Rienitzer 1900; Nikityński 1902, cyt. wg Badury 1965; Krzemieniewska i Badura 1954).

Panu Profesorowi Stefanowi Gumińskiemu składam serdeczne podziękowanie za wskazanie tematu oraz cenne rady natury praktycznej i teoretycznej w czasie wykonywania pracy.

*Katedra Fizjologii Roślin
Uniwersytetu Wrocławskiego
Kanonía 6/8*

(Wpłynęło dn. 30.1.1969 r.)

SUMMARY

The paper deals with the influence of sodium humate on the effectiveness of microelements (Cu, Co, Mn, Mo, Fe) in the process of nitrogen fixation by seedlings of *Trifolium pratense* L. in water cultures. It was found that sodium humate accelerates nodulation of seedlings and to a considerable degree stimulates the process of symbiotic nitrogen fixation.

The physiological effect of sodium humate in connection with Cu, Co, Mn, Fe in this process depends on an indirect activity of the humate, which consist in intensification of the effectiveness of metallic cations, particularly of Fe. The enhancement of effectiveness of metallic cations is probably a result of formation of complexes of these metals with the humate. This would make easier the uptake of Cu, Co, Mn, and above all of Fe, in the system: leguminous plant-rhizobium, which symbiotically fixes nitrogen. Under the conditions of the experiments the author found that Na-humate did not make Mo available for plants (applied in the form of $H_2MoO_4 \cdot H_2O$). Sodium humate is no source of nitrogen has no effect on uninoculated plants. The Cu, Co, Mo and Mn cations do not stimulate the nodulation of plants, but increase to a considerable degree the nitrogen fixation activity in the root nodules of clover. In experiments with Fe the author established the element is indispensable in the process of nodulation of clover.

LITERATURA

- Agalov A. U., 1966. Issledovanije kompleksoobrazovaniya s organiczieskimi sojedinenijami poczvy. *Agrochimija* 9: 88—94.
- Allison E. F., Hoover S. R., 1934, An accessory factor for legume nodule bacteria. Source and activity [Wg:] *Richter Zent. f. Bact.* II. 91. 1934/45, 422.
- Aso Sueo, Sakai Isao, 1963, Studies on the physiological effect of humic acid. *Soil Sci. a. Plant Nutr.* 9, 3: 85—91.
- Badura L., 1964, Porównanie wpływu humianu sodowego naturalnego, syntetycznego oraz otrzymanego z barwników wydzielanych przez grzyby pleśniowe na wzrost pomidorów i oddychanie drożdży, *Acta Agrobot.* 16: 67—75.
- Badura L., 1965. O mechanizmie „stymulacyjnego” wpływu humianu sodu na proces fermentacji alkoholowej i rozmnażanie drożdży, *Acta Soc. Bot. Pol.* 34. 2: 287—328.
- Bassalik K., J Neugebauer, 1931, Bios, auksymony, witaminy i koloidy w świetle badań nad wiązaniem azotu przez *Azotobacter chroococcum* Beij. *Acta Soc. Bot. Pol.* 18: 213—251.
- Bassalik K. i J. Neugebauer, 1933, Über die „Stimulation” von *Azotobacter* durch Eisen, *Acta Soc. Bot. Pol.* 10: 481—493.
- Bortels H., 1930, Molybdenum as a Catalyst in the Biological Fixation of Nitrogen, *Arch. Microbiol.* 1: 33—42.
- Bortels H., 1937, The effect of molybdenum and vanadium on *Leguminosae*, *Arch. Microbiol.* 8: 13—26.
- Bortels H., 1939, The effect of Agar as well as iron, molybdenum manganese and traces of other elements in nitrogen free cultura medie on *Azotobacter*, *Zentr. Bakteriell. Parasit. Abt. II.* 100: 375—393.
- Broadbent F. E., 1957, Soil organic matter-metal complexes. Cation exchange chromatography of copper and calcium complexes, *Soil Sci.* 84: 127—131.
- Broadbent F. R., J. B. Ott, 1957, Soil organic matter-metal complexes factors effecting retention of various cations, *Soil Sci.* 3: 419—427.

- Burk D., Horner C. K., 1932, The specific catalytic role of molybdenum and vanadium in nitrogen fixation and amide utilization by *Azotobacter*, Trans. Intern. Congr. Soil Sci. Oxford. 1: 152—155.
- Brodowska H., 1939, Wpływ próchnicy rozpuszczalnej na infekcję grochu przez bakterie brodawkowe, Acta Soc. Bot. Pol. 16. 1: 1—28.
- Christieva L. A., 1953, Ob učastii guminovych kislot i drugih organičeskich vieščestv v pitanii vyššich rastenii. Počvovedenie. 10: 46—56.
- Christieva L. A., A. D. Starostin, A. Gorovała, L. Ulitina, 1966, To the action theory of the physiologically active substances, Symp. on Plants stimulat, Abstracts, Sofia, Bulgaria, 43—35.
- Czerwiński W., 1967, Znaczenie humianu sodowego w kulturach wodnych pod kątem widzenia czynnika minimum, Acta Soc. Bot. Pol. 36: 549—554.
- Delas J., 1966, Compt. Rend. de l'Acad. d. Sci. 26: 2688—2691.
- De Kock P. C., 1955, Influence of humic acid on plant growth, Science 121: 473—474.
- Djakonova K. W., 1962, Żelezogumusov'ye kompleks'y i ich rol v pitanii rastenii, Počvovedenie, 7: 19—22.
- Drozdova T. W., M. P. Jemieljanova, 1960, Vnutrikompleksnyie soedinenija medi s gumov'ymi kislotami. Dokl. Akad. Nauk SSSR 131—3.
- Flaig W., 1967, Überlegungen zum Auffiden Stofweekselativer Substanzen im Torf. Torfinstitut, Rostock. 4 Torflokologium DDR-VR Polon 59.
- Flaig W., F. Saalbach, 1956, Zur Kenntnis der Huminsäuren XII Mit. Untersuchungen über den Einfluss von Tymohydrochinon als Modellschubstanz von Vorstufen bzw. Abbauprodukten von Huminsäuren auf die Atmung von Getreide, Pflanzenernährhrg. Dung. Bodenk. 72, 111, 1: 1—7.
- Gliński S. i R. Turski, 1965, Roczn. Glebozn. 15: 311—314.
- Gumiński S., Z. Gumińska, 1953, Chemiczne podstawy podobnego działania fizjologicznego próchnicy oraz wyciągów wodnych z liści niektórych gatunków roślin, Acta Soc. Bot. Pol. 22: 771—785.
- Gumiński S., Z. Gumińska, J. Sulej, 1965, Effect of humate, agar-agar and EDTA on the development of tomato seedlings in aerated water cultures. Jour. Exptl. Bot. 16: 151—162.
- Hewitt E. J., 1952, Sand and Water Culture Methods used in the study of Plant Nutrition, Comm. Bur. of Hort. Tech. 22 East Malling.
- Hiltner L., 1913, Untersuchungen über die Ernährungsverhältnisse unserer Kulturpflanzen, Land. Jahrb. f. Bayern. wg Vogel. Zentr. f. Bact. II 1915, 43: 512.
- Johnson S. M., T. H. Arkley, 1954, Determination of Molybdenum in plant tissue, Ann. Chem. 26: 572—574.
- Kaserer H., 1910, Zur Kenntnis des Mineralstoffbedarfs von *Azotobacter* Ber. d. Bot. Ges. 28: 208—212.
- Kostecka-Mądalska O., 1950, Wpływ wyciągów z gleby na rozwój *Azotobacteria chroococcum* Beij, Acta Soc. Bot. Pol. 20: 169—200.
- Kovats J., 1938, Wpływ żelaza i molibdenu na wiązanie azotu przez *Azotobacteria* w obecności próchnianów i ich popiołów, Bull. Ac. Sci. Cracovie. 91—112.
- Krzemienievska H., 1910, Die Einfluss der Mineralbestandteile der Nahrungslösung auf Entwicklung des Azotobaktters, Bull. Ac. Sci. Cracovie Cl. Math. et Nat.: 376—413.
- Krzemienievska H. i L. Badura, 1954, Z badań nad mikroflorą lasu bukowego, Acta Soc. Bot. Pol. 23: 545—578.
- Krzemienievski S., 1908, Studia nad Azotobakterem, Roczniki Nauk Rol. i Leś. 4: 1—116.

- Krzemieniewski S., 1909, Untersuchungen über *Azotobacter chroococcum* Centrbl. Bakt. Abt. II, 23: 161—173.
- Krzemieniewski S. i J. Kovats, 1936, Wpływ żelaza i molibdenu na wiązanie azotu przez *Azotobacter chroococcum* Beij., Spraw. z czynności PAU XLI: 324.
- Maksimow A., 1954, Mikroelementy i ich znaczenie w życiu organizmów, PWRiL, Warszawa.
- Nowotny-Mieczyska A., M. Ruszkowska, Z. Koter, W. Warchołowa, 1965, Fizjologia Mineralnego Żywienia Roślin, PWRiL, Warszawa.
- Perkal J., Matematyka dla przyrodników i rolników, PWN, Warszawa.
- Schnitzer M., S. I. M. Skinner, 1966, Stability constants of Cu^{++} , Fe^{++} , Zn^{++} fulvic acid complexes, Soil Sci. 102: 361—365.
- Schropp W., 1951, Die Methodik der Wasserkultur Hoherer Pflanzen, 313 pp. Radebeul. Neuman Verl.
- Wasu A. N. D., C. Mukherjee, S. K. Mukherjee, 1964, Interaction between humic acid fraction of Soil and trace element cations, J. Ind. Soc. Soil Sci. 12: 311—318.
- Virtanen A. I. i J. K. Miettinen, 1963, W „Plant Physiology” F. C. Stewarda, Acad. Press. New York and London.