Wpływ „ciał wzrostowych“ z koleoptil i korzonków *Zea Mays* L na rozwój i wiązanie elementarnego azotu, przez różne szczepy *Azotobacter chroococcum* Beij.

(Einfluss von Koleoptilen-u. Radiculae - Wuchsstoffen von *Zea Mays* auf die Stickstoffbindung verschiedener Stämme von *Azotobacter chroococcum* Beij.)

Napisała

PELAGJA FLANCÓWNA

Celem niniejszej pracy było: zbadanie wpływu różnego rodzaju wyciągów kukurydzy (*Zea Mays*), na zdolność wiązania elementarnego azotu przez różne szczepy *azotobaktera*.

Różnicę w poglądach na zdolność wiązania azotu przez *azotobaktera*, które zarysowały się już w początkowych badaniach, nie wyrównały się i do tej pory.

Ogólnie przyjął się pogląd, że sam *azotobakter* w czystych hodowlach wiąże azot w bardzo minimalnych ilościach, w obecności zaś pewnych nieznanych bliżej substancji, t. zw. *stymulatorów*, zdolność ta bardzo silnie się wzmacnia.

Takimi stymulatorami według M. W. B e i j e r i n c k a (1902) miały być jakieś inne mikroorganizmy, głównie *Radio-bacter*, *Aerobacter*, *Granulobacter*. Bakterje te znajdując się w sąsiedztwie *azotobaktera*, mają wytwarzać pewne związki azotu, które są niezbędne dla rozwoju i wiązania azotu przez *azotobaktera*.

M. K e d i n g (1906) i J. S t o k l a s a (1908) w swych badaniach dochodzą również do wniosku, że brak bakterij towarzyszących jest przyczyną tak minimalnych zysków azotu w czystych kulturach *azotobaktera*; badania P e t s c h e n k i (1930) potwierdzają powyższe przypuszczenie. F. K o t k ó w n a (1931)

wykazała, że obecność t. zw. „towarzyszy“, bakterij występujących stale w kulturach *azotobaktera*, wzmacnia bardzo silnie wiązanie azotu atmosferycznego. Autorka badała różne bakterje i stwierdziła, że niektóre należące do typu *Coli i Radicicola*, przyczyniały się do zwiększenia wiązania azotu. Inne, jak bakterje z grupy *Aërogenes i Mesentericus* nie wpływały na proces ten wcale.

K. B a s s a l i k (1931) w jednej ze swoich ostatnich prac nad *azotobakterem*, wysnuwa wniosek, że bakterje towarzyszące *azotobakterowi*, dostarczają mu jakiegoś nieznanego w swej naturze chemicznej związku, który tak wyraźnie potęguje zdolność wiązania azotu.

Ciało to K. B a s s a l i k nazywa za W i l d i e r e m „biosem“.

L i p m a n i T e a k l e (1925) stwierdzili, że *azotobakter* w połączeniu z pewnemi glonami nprz. *Chlorellą*, również wykazuje znaczne zwyczajki azotu. Potwierdza to swemi doświadczeniami M. S c h r ö d e r (1930). Przypuszcza ona, że zachodzi tu pewnego rodzaju symbioza. *Azotobakter* korzysta ze źródeł węgla wytwarzanego przez *Chlorellę*, a ta ostatnia z azotu związanego przez *azotobaktera*. Substancje te przechodzą do środowiska, w którym żyją obydwaj organizmy, drogą dyfuzji. — A zatem nie wchodziłyby tu w grę stymulatory.

Inni badacze za czynniki (stymulatory) stymulujące rozwój i wiązanie azotu przez *azotobaktera* uważają pewne składniki ziemi.

Tak nprz. S. K r z e m i e n i e w s k i (1909) stwierdza przy dodaniu próchnianów do pożywki B e i j e r i n c k' a znaczną zwyżkę w procesie asymilacji azotu.

Kwestja wyjaśnienia na czem polega dodatnie działanie próchnicy jest sporna.

H. F i s c h e r (1905) i B. H e i n z e (1910) przypuszczają, że próchnica stanowi odpowiednie źródło węgla dla *azotobaktera*.

S. K r z e m i e n i e w s k i (1909) wykazuje że próchnica nie jest, ani źródłem węgla, ani azotu dla *azotobaktera*, ale że działanie jej jest raczej k a t a l i t y c z n e.

Teorję K r z e m i e n i e w s k i e g o dalej rozwijają Th. R e m y i G. R ö s i n g (1911) dowodząc, że katalityczne działanie próchnicy polega na obecności w niej żelaza. H. Kaserer (1911) krytykuje teorję R e m y i R ö s i n g a:

stwierdził on działanie żelaza tylko w obecności krzemionki i gliny koloidalnej, natomiast według niego próchnica zawiera inne jeszcze składniki, które wpływają dodatnio na proces asymilacji azotu.

N. S ö h n g e n (1913) przypisuje katalityczne działanie próchnicy zawartym w niej koloidom, (obok koloidalnego próchnianu, także fosforany i krzemiany glinu i żelaza). Duża powierzchnia koloidalnych substancji pochłania znaczne ilości tlenu i azotu, niezbędnych dla życia i działania *azotobaktera*.

E. K a y s e r i H. D e l a v a l (1924) otrzymali dość znaczne zyski azotu, o ile dodawali do zwykłej pożywki B e i j e r i n c k a rudy zawierające uran i rad.

T r u f f a u t G. i N. B e z s o n o f f (1926) stwierdzają, że na wiązanie azotu przez *azotobaktera* znaczny wpływ wywiera dodatek glinu metalicznego.

R i p p e l (1929) przypuszcza, że odzyskiwana zdolność wiązania azotu, przy przeprowadzaniu *azotobaktera* przez pasażę ziemne (*Erdpassage*), polega na działaniu żelaza i glinu.

W ostatnich czasach badano wpływ wolframu i molibdenu.

B o r t e l s H. (1930) przypuszcza, że sprzyjające działanie molibdenu jest biokatalityczne.

Nad tą sprawą pracowała również M. S c h r ö d e r (1932) i znalazła, że tak molióden jak i wolfram, dodawane do pożywek na wodzie destylowanej, zwiększały tylko potrójnie ilość związanego azotu, dodane zaś do pożywek na wodzie wodociągowej, aż dziesięciokrotnie. Przypuszcza ona, że w wodzie wodociągowej istnieją jakieś substancje, które w połączeniu z wyżej wymienionymi metalami powodują tak znaczne zyski azotu.

Należy jednak zaznaczyć, że M. S c h r ö d e r przy określaniu azotu posługiwała się metodą m i k r o k j e l d a h l a, a ta przy tego rodzaju badaniach nie jest bardzo dokładna, przede wszystkim dlatego, że niecała pożywka była analizowana, a tylko jej część, nadto związane z tą metodą przelewanie płynu do kolb destylacyjnych nie jest wskazane, wobec wielkiej lepkości śluzu wytwarzanego przez *azotobaktera*. Wreszcie autorka biorąc kilka prób po 10 cm³, określała ilość azotu i następnie przeliczała na całkowitą ilość płynu stanowiącego pożywkę *azotobaktera*. Takie postępowanie może powodować dość duże niedokładności, ponieważ błędny wynik jakiegoś doświadczenia zostaje pomnożony kilkakrotnie.

Badania K. B a s s a l i k a i J. N e u g e b a u e r

(1931) bodajże najbardziej wyczerpująco wyświetlają tę kwestję. Można śmiało powiedzieć, że wyniki badań tych autorów uzgadniają poniekąd sprzeczne poglądy na kwestję wiązania azotu przez *azotobaktera*.

Autorzy starali się wyświecić stymulujące działanie ekstraktów: z gleby, z bakterji towarzyszących *azotobakterowi*, drożdży i kiełkujących zbóż na wiązanie azotu przez *azotobaktera*.

Badane przez nich ekstrakty, działały przez czynniki trojakiiego rodzaju:

1) Przez ciała wrażliwe na temperaturę (temp. 144° C niszczy ich działanie). Autorzy zaliczają je do kategorii ciał zwanych „biosem“, „auximonami“ lub „witaminami“.

2) Przez ciała mineralne, nielotne, dzięki którym ekstrakty gotowane zachowują swą aktywność. Jednym z czynników mineralnych według K. B a s s a l i k a i J. N e u g e b a u e r ma być molibden. Zgadzałoby się to poczęści z wynikami badań B o r t e l s ' a. I wreszcie

3) Przez ciała lotne (destylaty ekstraktów również zachowywały aktywność). Natury tego ciała nie określono.

W ostatnich dwóch dziesiątkach lat, wielu uczonych zwróciło uwagę na zjawisko stymulacji wzrostu u roślin wyższych.

Ogólnie przyjętą się pogląd, że wzrost roślin jest wywoływany przez pewną, nieznaną bliżej substancję t. zw. substancję wzrostową („Wuchsstoff“). Głównymi organami wytwarzającymi substancję wzrostową, są stożki wzrostu, z których dopiero owa materia przenika do wszystkich rosnących części rośliny.

Przenikanie to odbywa się na drodze dyfuzji (A. P a a l 1914), bo o ile między stożek wzrostu, a resztą koleoptili wstawić płytkę z miki, to nie zaobserwujemy żadnego wzrostu, skutkiem tego, że poprzez mikę substancja wzrostowa nie może się przedostać.

O ile zaś między stożkiem wzrostu, a resztą koleoptili umieścimy płytkę żelatynową lub agarową, to nastąpi normalny wzrost — w tym wypadku materia wzrostowa przedyfundowała przez agar.

Pierwszym, który bliżej zbadał materję wzrostową był F. W. W e n t (1929). Przez ustawienie na bloku agarowym obciętych stożków koleoptil owsa, otrzymywał on jakąś substancję, która ze stożków wzrostu przeniknęła do agaru.

Że była to rzeczywiście substancja wzrostowa, przekonywał się łatwo, wycinając z bloku małe kostki i kładąc je na koleoptile,

z których stożek został usunięty. Okazało się, że koleoptile takie rosły zupełnie normalnie t. zn. tak, jakgdyby nie uległy dekapitacji.

Widocznie substancja wzrostowa znajdująca się w nałożonych kostkach agarowych przedysfundowała znów do koleoptil powodując ich szybszy wzrost.

Ciekawem jest, że materia wzrostowa działa nie tylko na rośliny tego samego gatunku, czy nawet rodzaju, ale na rośliny należące do różnych rodzajów. Tak naprz. P. Stark (1921) i N. Choldny (1928) stwierdzili przyspieszenie wzrostu dekapitowanych koleoptil owsa, o ile zostały na nie nasadzone stożki wzrostu korzeni *Zea Mays*.

Stwierdzono także (Nielsen 1930), że ekstrakty pewnych grzybków, np. *Rhizopus suinus* i *Absida ramosa* powodują również przyspieszenie wzrostu dekapitowanych koleoptil owsa.

Badania B. Němeca wykazały, że wydzieliny niektórych bakterii wpływają na wzrost roślin stymulująco. Stwierdził, że symbiotyczne bakterie *Ardisii* produkują substancję stymulującą wzrost łodyg, ale nie mającą wpływu na wzrost korzeni.

Odwrotne stosunki panują u *Cichorium Intybus*. Na korzeniach tej rośliny żyje pewna bakterja, *Bacterium rhizogenes*, która hamuje wzrost pączków, natomiast przyspiesza wzrost korzenia.

Nasuwa się więc przypuszczenie, czy czasem wydzieliny omawianych bakterii, ekstrakty gleb, filtry drożdży, ekstrakty grzybków jak również materje wzrostowe u roślin, nie zawierają jakiejś pokrewnej, a może identycznej substancji, która w tak wyraźny sposób wpływa na wzrost.

W dalszym ciągu pracy zobaczymy, że substancjami stymulującymi rozwój i zdolność wiązania azotu przez *azotobaktera* w moich doświadczeniach, są pewne związki mineralne występujące tak w koleoptilach, jak i korzonkach *Zea Mays*.

BADANIA WŁASNE.

1. *Metodyka badań.*

Metodyka badań była we wszystkich przeprowadzanych doświadczeniach jednakowa. Stosowano pożywkę o następującym składzie:

na 100 cm³ wody destylowanej zwykłej — 1,8 gr. mannitu; 0,05 gr. K₂HPO₄; 0,03 gr. MgSO₄; 0,02 gr. NaCl; 0,1 gr. CaCO₃; 0,001 gr. FeCl₃.

Kolby użyte do doświadczeń były Pyrex, o pojemności 700 cm³ dla 100 cm³ pożywki. Zamykałam kolby dużemi, luźnemi korkami z waty wełnianej.

Kolby wraz z pożywką sterylizowano trzykrotnie po 30 minut w temp. 100°.

Szczepiono każdą kolbę 1 cm³ zawiesiny trzydniowej czystej kultury *azotobaktera*.

Czas trwania hodowli wynosił we wszystkich przeprowadzonych przezemnie doświadczeniach 14 dni. Temperatura wahała się od 24° — 28°. W tabelkach podaję zawsze temp.. Azot określano metodą Kjeldahla. Przed spaleniem kontrolowano zawartość kolb mikroskopowo, aby przekonać się, czy nie jest zakażona innemi bakterjami. Do każdego doświadczeniastawiano potrójną ilość kolb i w obliczeniach brano przeciętną z trzech wartości.

2. S z c z e p y *azotobaktera*.

Używane do doświadczeń szczepy *azotobaktera*, izolowano z ziemi pochodzącej z różnych stron kraju: jak Warszawy, Łodzi, Katowic, Lublina i t. d.; była to przeważnie ziemia ogrodowa lub z pola.

3. P r z y g o t o w a n i e w y c i ą g ó w z k u k u r y d z y.

Po odcięciu u wykiełkowanej kukurydzy oddzielnie korzonków i koleoptil, tak jedne jak i drugie rozcierałam dokładnie w moździerzu krzemionkowym, dolewając nieco destylowanej wody. Roztartą masę wlewałam do świecy Chamberlanda uprzednio wysterylizowanej i robiąc od czasu do czasu próżnię, otrzymywałam ekstrakt.

Ogólną ilość ekstraktu podzieliłam na pięć równych części.

Jedną część po odparowaniu spopielałam, drugą i trzecią predestylowałam otrzymując równe ilości destylatu i pozostałości po destylacji. Z czwartej otrzymałam suchą substancję. Piątą tylko przesączona przez świecę, stanowiła pierwotny ekstrakt. Popiół i suchą substancję rozpuszczałam następnie w wodzie destylowanej, przyczem sucha substancja rozpuszczała się całkowicie, popiół zaś tworzył lekką zawiesinę. Przy dodaniu jednak 3—4 kropli HCl rozpuszczał się całkowicie również i popiół.

Dodatek kwasu nie miał żadnego wpływu na ogólną reakcję pożywki, ponieważ obecność CaCO₃ utrzymywała reakcję przy mniej więcej stałym Ph = 8 — 8, 10.

Wyciągi tak koleoptil jak i korzonków były dodawane do pożywek przed sterylizacją i razem sterylizowane.

4. D o s w i a d c z e n i a i w y n i k i.

Pierwszą część doświadczenia wykonałam z ekstraktem koleoptil w dwóch koncentracjach: 1 cm³ i 8 cm³ (co odpowiada 0,012 gr. i 0,096 gr. popiołu).

Wegetacja trwała 14 dni w temperaturze od 22° — 25°. Po tym czasie, każdą kolbę zalewano stężonym kwasem siarkowym (puriss. 1.84) w ilości 15 cm³ na każdą kolbę.

Azotobakter szczepiony na pożywkach z różnymi rodzajami ekstraktów, wykazał wzrost różny, jak to widać z załączonej poniżej tabeli 1.

TABELA I.

14 dni (Tage)
t = 22° — 25°

Ekstrakty koleoptil *Zea Mays*.

Ekstrakt		Sucha subs. ekstraktu (Extrakt-trocken-subst.)		Destylat ekstraktu (Extrakt Destillat)		Pozostałość po destylac. (Destillationsrückstand)		Popiół z ekstraktu (Ekstrakt-asche)	
1cm ³	8 cm ³	1 cm ³	8cm ³	1 cm ³	8 cm ³	1 cm ³	8 cm ³	1 cm ³	8 cm ³
+	++	++	++	+	++	+	++	+++	+++

Oznaczenia:

+ Wzrost słaby, lekko marszczące się naloty.

++ Wzrost silniejszy, śluzowate naloty wchodzące na ścianki kolb. Ogólne zmętnienie.

+++ Wzrost dość silny, grubszy, marszczący się kożuszek.

Zyski azotu, jakie otrzymałam w tym doświadczeniu, przedstawia tabela II.

W doświadczeniu tem zauważyłam, że niezawsze dobry wzrost *azotobaktera* idzie w parze z dużą ilością związanego przez niego azotu.

Często w kolbach, gdzie występowały silnie śluzowate grube kożuszki, ilość azotu okazała się niższą, niż w przypadku, kiedy te kożuszki były mniej śluzowate, słabiej rozwinięte.

TABELA II.

Ekstrakty koleoptil *Zea Mays*.

14 dni (Tage)

 $t = 22^{\circ} - 25^{\circ}$

Przybytek N — (Gewinn) mg.

Ekstrakt			Sucha subst. ekstraktu (Extrakt-trocken-subst.)		Destylat ekstraktu (Extrakt-destillat)		Pozostałość po destylac. (Destillationsrück-stand)		Popiół z ekstraktu (Ekstrakt-asche)	
0 cm ³	1 cm ³	8 cm ³	1 cm ³	8 cm ³	1 cm ³	8 cm ³	1 cm ³	8 cm ³	1 cm ³	8 cm ³
1,92	3,96	6,33	7,06	6,76	1,89	2,51	3,23	3,86	12,06	9,75
$\pm 0,12$	$\pm 0,10$	$\pm 0,22$	$\pm 0,15$	$\pm 0,13$	$\pm 0,06$	$\pm 0,09$	$\pm 0,11$	$\pm 0,09$	$\pm 0,01$	$\pm 0,06$

Drugą część doświadczenia wykonałam z ekstraktem korzonków *Zea Mays*. Postępowanie było zupełnie takie samo jak poprzednio. Wegetacja trwała w tych samych warunkach (temp $23^{\circ} - 25^{\circ}$) również 14 dni.

Obserwacje makroskopowe kolb przedstawia poniższa tabela III.

TABELA III.

14 dni (Tage)

 $t = 24^{\circ}$ Ekstrakty korzonków *Zea Mays*.

Ekstrakt		Sucha subst. ekstraktu (Extrakt-trocken-substanz)		Destylat ekstraktu (Extrakt-destillat)		Pozostałość po destyl. (Destillationsrück-stand)		Popiół z ekstr. (Extrakt-asche)	
1 cm ³	8 cm ³	1 cm ³	8 cm ³	1 cm ³	8 cm ³	1 cm ³	8 cm ³	1 cm ³	8 cm ³
+	++	++	++	++	++	+	+	+++	+++

Oznaczenia takie same, jak przy poprzedniej tabelce.

Zyski azotu jakie otrzymałam w tym doświadczeniu, przedstawia tabela IV.

Po stwierdzeniu, że popiół z ekstraktu tak korzonków, jak i koleoptil najlepiej wpływa na wiązanie azotu przez *azotobaktera*, używałam do następnych doświadczeń tylko samego popiołu.

Chodziło teraz o stwierdzenie, czy popiół z ekstraktu koleoptil i korzonków wpływa na różne szczepy *azotobaktera* jednakowo

TABELA IV.

14 dni (Tage)
t = 23° — 25°

Ekstrakty korzonków } *Zea Mays.*
Radiculae — Extrakte }

Ekstrakt		Sucha subst. ekstraktu (Ekstrakt-trocken-substanz)		Destylat ekstraktu (Ekstrakt-Destillat)		Pozostałość po destylac. (Destillationstück-stand)		Popiół z ekstraktu (Ekstrakt-asche)	
Przybytek N — (gewinn) mg.									
1 cm ³	8 cm ³	1 cm ³	8 cm ³	1 cm ³	8 cm ³	1 cm ³	8 cm ³	1 cm ²	8 cm ³
2,54	4,05	1,63	3,14	1,14	1,78	1,33	2,64	7,33	6,25
±0,16	±0,33	±0,09	±0,13	±0,04	±0,03	±0,21	±0,17	±0,13	0,29

i jaka koncentracja popiołu jest najkorzystniejszą dla maksymalnego wiązania azotu.

Do doświadczeń użyłam dziesięć szczepów *azotobaktera*, oraz stosowałam trojakiego rodzaju koncentracje popiołu.

Mianowicie 1, 4 i 8 cm³ — co dopowiada 0,012 gr; 0,048 gr; 0,096 popiołu. Starano się również zachować te same warunki, jakie były w poprzednich doświadczeniach.

Obserwacje makroskopowe kolb po dwu tygodniowym okresie wegetacji przedstawia następująca tabela V.

TABELA V.

14 dni (Tage)
t = 25°

popiół koleoptil
(Koleoptilen-Asche)

Koncentracja popiołu koleopt.			
Szczepy azotobaktera	1 cm ³	4 cm ³	8 cm ³
	+++	++	+
II	+++	+++	++
III	++	++	++
IV	+++	+++	+
V	++	++	+
VI	+++	++	++
VII	+++	+++	++
VIII	++	++	+
IX	+++	++	++
X	+++	+++	+

Oznaczenia:

(+) wzrost naogół dobry, śluzowaty kożuszek wchodzący na ścianki kolb.

(++) Wzrost również dobry, kożuszki nieco bardziej zwarte.

(+++) Wzrost nie różni się wiele od poprzednich, silniejsze tylko ogólne zmętnienie.

Zyski azotu otrzymane w tym doświadczeniu przedstawia tabela VI.

TABELA VI.

14 dni (Tage) Popiół z ekstraktu koleoptil *Zea Mays*.
t = 25° Przybytek N — (Gewinn) mg.

Szczepy (Stamm) azotobaktera	Popiół z ekstr. koleoptil Extraktasche v. Koleoptilen		
	1 cm ³	4 cm ³	8 cm ³
I	9,26±0,03	8,56±0,02	7,79±0,02
II	9,64±0,04	8,77±0,03	8,48±0,02
III	9,12±0,15	6,74±0,09	6,38±0,03
IV	9,74±0,02	9,10±0,01	8,89±0,04
V	11,15±0,10	6,33±0,06	5,44±0,02
VI	8,81±0,03	8,24±0,03	7,71±0,01
VII	8,85±0,03	7,82±0,03	6,20±0,04
VIII	10,14±0,01	7,40±0,09	6,99±0,01
IX	9,03±0,03	7,93±0,01	7,21±0,01
X	10,16±0,04	8,18±0,07	7,70±0,03

W ostatnim doświadczeniu, które miało na celu zbadanie wpływu różnych (1, 4, 8 cm³) *) koncentracji popiołu korzonków *Zea Mays* na rozwój i wiązanie azotu przez *azotobaktera*, postępowałam tak samo, jak w doświadczeniach poprzednich.

*) 1 cm³ zawierał 0,012 gr popiołu z ekstraktu korzonków *Zea Mays*

Obserwację makroskopową kolb przedstawia tabela VII.

TABELA VII.

14 dni (Tage) Popiół korzonków *Zea Mays*.

$t = 25^{\circ}$

Szczepy (Stamm) azotobaktera	Koncentr. popiołu korzonk. Asche a. Radiculae-Extrakt.		
	1 cm ³	4 cm ³	8 cm ³
I	+++	+	++
II	+++	+	++
III	+++	++	+++
IV	++	++	+
V	+++	+	++
IV	++	++	+
IIIV	++	+	++
IIIV	+++	+++	+++
IX	++	++	+
X	+++	+	++

Zyski azotu otrzymane w tym doświadczeniu, przedstawia następująca tabela VIII.

TABELA VIII.

14 dni (Tage) Popiół korzonków } *Zea Mays*.
 $t = 25^{\circ}$ (Radiculae - Asche }

Szczepy azotobaktera	Popiół z ekstraktu korzonków		
	1 cm ³	4 cm ³	8 cm ³
	Przybytek mg N — (Gewinn)		
I	8,08 ± 0,01	7,97 ± 0,11	7,36 ± 0,10
II	8,16 ± 0,01	7,71 ± 0,02	7,00 ± 0,05
III	8,13 ± 0,00	6,96 ± 0,03	6,81 ± 0,24
IV	8,64 ± 0,04	6,77 ± 0,03	6,49 ± 0,02
V	9,26 ± 0,10	6,74 ± 0,03	6,38 ± 0,01
VI	8,14 ± 0,08	7,98 ± 0,03	7,37 ± 0,06
VII	7,71 ± 0,04	7,13 ± 0,04	6,87 ± 0,09
VIII	8,21 ± 0,06	7,56 ± 0,14	6,97 ± 0,13
IX	8,02 ± 0,12	7,47 ± 0,07	6,95 ± 0,08
X	8,57 ± 0,11	8,15 ± 0,05	6,87 ± 0,07

5. O m ó w i e n i e w y n i k ó w.

Z przeprowadzonych przezemnie badań wynika, że substancja wyekstrahowana tak z koleoptil jak i korzonków *Zea Mays* wpływa dodatnio na rozwój i zdolność wiązania elementarnego azotu przez *azotobaktera*.

Z różnych rodzajów ekstraktów użytych do doświadczeń, to znaczy: z suchej substancji, popiołu, destylatu, pozostałości po destylacji i ekstraktu tylko przesączonego, największe zyski azotu wystąpiły w przypadku dodawania popiołu.

Prawdopodobnie więc substancją stymulującą zdolność wiązania azotu przez *azotobaktera* w moich doświadczeniach jest jakiś związek nieorganiczny, który bardzo możliwe, że i w przypadku wspomnianej przezemnie na początku pracy, materji wzrostowej (Wuchsstoff) również występuje, powodując przyspieszenie wzrostu roślin wyższych.

W dalszym ciągu moich doświadczeń wynika, że substancja ekstrahowana z koleoptil, wpływa nieco silniej na wiązanie azotu przez *azotobaktera*, niż ekstrakt korzonków.

Zgadzałyby się to poczęści z wynikami doświadczeń niektórych badaczy C h o ł o d n y (1929) N i e l s N i e l s e n (1930), którzy stwierdzili, że *substancja wzrostowa* wytwarzana przez koleoptile, stymuluje wzrost tychże silniej, niż substancja wytwarzana w korzeniach.

Jednak kiedy *Niels Nielsen* przypuszcza, że jest to jedna i ta sama substancja, której działanie jest różne na różne części rośliny, — C h o ł o d n y dochodzi do wniosku, że substancja ta nie jest czemś jednorodnem, ale że obok właściwej substancji potęgującej wzrost, znajdują się jeszcze inne jakieś ciała hamujące wzrost korzeni, nie mające zaś żadnego wpływu na koleoptile.

Już poprzednio zaznaczałam, że w doświadczeniach stosowałam koncentracje 1, 4 i 8 cm³ popiołu. Okazało się, że przy dodaniu 1 cm³ popiołu, występuje maksymalne wiązanie azotu przez *azotobaktera*. Wyższe koncentracje popiołu, choć nieznacznie, jednak zmniejszają zyski azotu.

Tutaj również zachodzi pewnego rodzaju zgodność z wynikami badań F. W. W e n t a (1927), N i e l s e n a (1924), S t a r k a (1921) w odniesieniu do roślin wyższych.

W e n t stwierdził, że działanie specyficznych materji wzrostowych jest zależne od koncentracji. Koncentracja zbyt duża, jak również zbyt mała hamuje wzrost.

S t a r k w swych badaniach dochodzi do wniosku, że zbyt rozcieńczony sok wyciśnięty z koleoptil owsa wpływał na wzrost hamująco, bardziej zaś skoncentrowany przyspieszał wzrost.

Ostatnie moje dwa doświadczenia miały na celu sprawdzenie: czy koncentracje 1, 4, 8 cm³ popiołu wpływają na kultury *azotobaktera*, pochodzące z różnych miejscowości, jednakowo, czy też działanie ich jest różne.

Jak widać z tablic VI i VIII z a w s z e koncentracja 1 cm³ popiołu wpływa najkorzystniej na zdolność wiązania azotu wszystkich kultur *azotobaktera*, koncentracje 4 i 8 cm³ słabiej.

Występują również często dość znaczne różnice w zdolności wiązania wolnego azotu przez poszczególne szczepy.

Tak naprz. szczep, który oznaczyłam numerem V, w obu wypadkach t. zn. tak pod wpływem popiołu koleoptil, jak i korzonków, wykazał zawsze maksymalną ilość związanego azotu.

A więc fakt, że różni badacze jak E. F r e u d e n r e i c h (1903), F. L ö h n i s (1905) J. S t o k l a s a (1906), H. F i s c h e r (1908), A. K r a i n s k y (1908), H. K a s e r e r (1910) w swych doświadczeniach nad *azotobakterem* otrzymywali tak różne zyski azotu, należy tłumaczyć m. i. również i różnością pochodzenia *azotobakterów*, użytych do doświadczeń.

6. W n i o s k i.

1. Różne rodzaje ekstraktów tak z koleoptil jak i z korzonków *Zea Mays*, wpływają dodatnio na wiązanie azotu przez *azotobaktera*.

2. Największe zyski azotu otrzymałam w przypadku stosowania popiołu z ekstraktu koleoptil i korzonków *Zea Mays*.

3. Koncentracja 1 cm³ co odpowiada 0,012 gr popiołu, jest najkorzystniejszą dla maksymalnego wiązania azotu przez *azotobaktera*.

4. Popiół z ekstraktu koleoptil silniej wpływa niż popiół z ekstraktu korzonków.

* 5. Szczepy *azotobaktera* pochodzące z różnych miejscowości wiążą różne ilości azotu.

Pracę niniejszą wykonałam w Zakładzie Fizjologii Roślin Uniwersytetu Warszawskiego. Kierownikowi Zakładu Panu Prof. Dr. K a z i m i e r z o w i B a s s a l i k o w i składam serdeczne podziękowanie za cenne wskazówki, rady i wszelką pomoc udzielaną mi podczas pracy.

Z Zakładu Fizjologii Roślin U. W.

L I T E R A T U R A.

1. BASSALIK K. i J. NEUGEBAUER. Wpływ różnych czynników na działanie *Azotobacter chroococcum*. Sprawozd. Tow. Nauk. Warsz. Wyd. IV R XXIII p. 108, 1930.
2. BASSALIK K. Bios, vitamines et auximones au jour des recherches sur l'*Azotobacter*. III. Congr. Bot. Slaves à Varsovie 1931.
3. BASSALIK K. i J. NEUGEBAUER. Bios, auksymony, witaminy i kolloidy w świetle badań nad wiązaniem azotu przez *Azotobacter chroococcum* Beij. Acta Societatis Botanicorum Poloniae. Vol. VIII, 1931. p. 213.
4. BEIJERINCK M. W. u. A. van DELDEN. Ueber die Assimilation des freien Stickstoffs durch Bakterien — Ctbl. f. Bakt. II. Abt. IX p. 3. 1902.
5. BORTELS H. Molybdän als Katalysator bei der biologischen Stickstoffbindung — Arch. f. Mikrobiol. Vol. I, p. 333, 1930.
6. CHOŁODNY N. Einige Bemerkungen zum Problem der Tropismen — Planta B. 7. p. 461 1929.
7. FISCHER H. Beitrag zur Kenntnis der Lebensbedingungen — Jahrb. B. 26, p. 375 1905.
8. FISCHER H. Das Problem der Stickstoffbindung bei niederen Pflanzen — Ber. d. dtsh. bot. Ges. B. 35 p. 423 1917.
9. FREUDENREICH E. Ueber Stickstoffbindende Bakterien — Centr. f. Bakt. II Abt. B. 15 p. 235 1906.
10. HEINZE B. Humusbildung im Ackerboden Centr. f. Bakt. II Abt. B. 30. p. 349. 1911.
11. KASERER H. Zur Kenntnis des Mineralstoffbedarfs von *Azotobakter* — Ber. d. dent. Bot. Gesell. B. 28. p. 208. 1910.
12. KAYSER E. i H. DELAVAL. Influence des sels d'uranium sur les fixateurs d'azote. — Compt. rend. l'Acad. Sc. Paris B. 179. p. 110. 1924.
13. KEDING M. Weitere Untersuchungen über Stickstoffbindende Bakt. — Wiss. Meeresunters. N. F. 9. 1907 — 1910.
14. KOTEK F. Wpływ symbionta na zdolność wiązania azotu przez *Azotobakter Chroococcum* — Acta Soc. Bot. Pol. vol. VIII. 1931.
15. KRAINSKY A. *Azotob. chrooc.* und seine Wirkung im Boden. Centr. f. Bakt. II Abt. B. 20 p. 735 1908.
16. KRZEMIENIEWSKI S. Studja nad *Azotobacterem*. Roczniki N. Rol. N. 4. str. 127. 1909.
17. LIPMAN C. B. i J. W. TEAKLE. Symbiosis between *Chlorella* sp. and *Azotob. chrooc.* and nitrogen fixation. Journ. of. Gen. Physiol. vol. 7. 1925.
18. LÖHNIS F. i T. WESTERMANN. Beiträge zur Kenntnis der Stickstoffbakterien — Centr. f. Bakt. Abt. II B. 14 p. 582. 1905.
19. NEMEC B. Wpływ bakterji na wzrost roślin. III Zjazd Botaników Słowiańskich w Warszawie 1931.
20. NIELS NIELSEN. Untersuchungen über einen neuen Wachstumsregulierenden Stoff Rhizopin — Jahrb. f. wiss. Bott. B. 73. p. 125. 1930.
21. PAAL A. Ueber phototropische Reizleitungen. Berichte d. dtsh. bot. Ges. B. 32, p. 499, 1914.

22. PETSCHENKO. Centr. f. Bakt. Abt. II B. 80 p. 161.
23. REMY Th. i RÖSING G. Ueber die biologische Reizwirkung natürlicher Humusstoffe. Centr. f. Bakt. Abt. II B. 30 p. 349. 1911.
24. RIPPEL A. Variabilität bei Bakterien Med. Klinik. Nr. 20. 1929.
25. SCHRÖDER M. Die Assimilation des Luftstickstoffs durch einige Bakterien. Centr. f. Bakt. Abt. II. B. 75 p. 177. 1932.
26. SÖHNGEN H. Einfluss von Kolloiden auf mikrobiologische Prozesse. Centr. f. Bakt. Abt. II. B. 38 p. 621. 1913.
27. STOKLASA J. Beitrag zur Kenntnis der chemischen Vorgänge bei der Assimilation des element. Stickstoff durch Azotob. und Radiob. — Centr. f. Bakt. Abt. II. 1908.
28. STOKLASA J. Ber. d. dtsh. bot. Ges. B. 24. p. 22. 1906
29. TRUFFAUT G. i N. BEZSSONOFF. Influence de l'aluminium métallique sur l'activité des Bactéries fixatrices d'azote. Compt. rend. l'Acad. sc. Paris. 182. p. 663. 1926.
30. WENT F. W. Wuchsstoff und Wachstum. — Recueil des travaux botaniques néerlandais vol. 25. p. 1. 1929.

ZUSAMMENFASSUNG.

Es wurde die Wirkung von Koleoptilen- und Radiculaeextrakten von *Zea Mays* auf die Stickstoffbindung durch *Azotobacter chroococcum* untersucht; die Ergebnisse lassen sich dahin kurz zusammenfassen:

1. Es wirkten sowohl die wässerigen gekochten Extrakte, als ihre Trockensubstanz, etwa in gleicher Weise;

2. Die Destillate der wässerigen Extrakte wirkten am schwächsten, stärker der Destillationsrückstand, wobei die Summe beider eine grössere Wirkung aufwies wie gekochter wässriger Extrakt allein.

3. Am stärksten wirkte die *A s c h e* der wässerigen Extrakte, wobei, umgekehrt wie bei den Extrakten, eine Steigerung ihrer Menge die Stickstoffbindung erniedrigte.

4. Es wurden 10 aus verschiedenen Gegenden Polens stammende *Azotobacter*stämme untersucht, die wohl gleichsinnig auf die ihnen gebotenen Extrakte mit ihrer Stickstoffbindung reagierten, aber nicht in gleichem Ausmass.

5. Es ist darum bei der Beurteilung der Auswirkung irgend eines Wachstumsfaktors bei *Azotobacter* auf die physiologische Ungleichheit seiner Stämme Rücksicht zu nehmen.