

MULLAOSAKESTE ADSORBEERIVAST TOIMEST BAKTERITELE

P. RAHNO,
bioloogiakandidaat

Vaatamata sellele, et adsorptsiooniküsimusi on uuritud juba üle 70 aasta, eriti intensiivselt viimase 30 aasta jooksul, ei ole uurijad selle nähtuse põhjustes veel jõudnud ühtsele, katsetega küllaldaselt põhjendatud seisukohale. Nii peetakse adsorptsiooni põhjuseks 1) puhtmehaanilisi tegureid, nagu märgumist, kleepumist, settimisel tekkivat langussurvet vedelikkudes jm. [4, 6, 9], 2) elektrilisi ja keemilisi tegureid [10, 23], 3) pindpinevust [1, 2].

Viimasel ajal kaldub ikka enam uurijaid arvamusele, et ükski esitatud põhjustest eraldi pole piisav adsorptsiooni tekitamiseks, vaid et selle erakordselt keeruka nähtuse kutsub esile kõigi nimetatud tegurite kompleks.

Eriti põhjalikult on bakterite adsorptsiooni mullaosakeste külge uuritud Nõukogude Liidus [14, 18, 27]. Siin pöörati esmakordselt tähelepanu adsorptsiooni ulatusele ja osatähtsusele mullas.

N. N. Hudjakov [27] ja tema kaastöötajad tõestasid, et mullas olevad bakterid on peamiselt mullaosakeste külge adsorbeerunud ning võivad leotamisel vette üle minna (s. e. adsorbeerunud olekust vabaneda e. desorbeeruda) vaid erandlikel juhtudel -- nimelt siis, kui muld bakterite eriti intensiivse paljunemise korral nendest küllastub või siis, kui mulla agregaatne osa dispergeerub. Adsorbeeritud baktereid pole võimalik eraldada ka mikroskoobi all, sest koos mullaosakestega, mille külge nad on adsorbeerunud, moodustavad nad ühtse läbipaistmatu massi. Adsorbeeritud bakterite aktiivsus ja elulisus vähenevad, kestva adsorptsiooni puhul võib esineda nende väljasuremist, kusjuures ka surnud bakterirakud jäävad kuni lagunemiseni adsorbeerunud olekusse.

Hilisemad arvukad uurimistööd on Hudjakovi seisukohti põhiliselt kinnitanud.

Pärast Hudjakovi ja tema kolleegide tööde ilmunist asus valdav osa teadlasi seisukohale, et adsorptsioon on mulla mikroorganismide elutegevuses ja mullaviljakuse kujunemises suure tähtsusega. Hudjakov väljendas arvamust, et huumuse kogunemine mullas on adsorptsiooniprotsessi tulemus. M. D. Bogopolski [13] seletas orgaanilise aine kogunemist turbas mikroorganismide adsorptsiooniga. S. A. Samtsevitš [26] ja M. V. Fjodorov [28] märgivad, et bakteriväetiste kasutamise efektiivsus võib oleneda adsorptsiooni astmest mullas. Paljud autorid [14, 16, 17] juhivad tähelepanu sellele, et mulla mikroorganismide kvantitatiivsele analüüsile (lahendusmeetodi abil) avaldab adsorptsioon takistavat ja segavat mõju.

Olenevalt muldade ja bakterite liigilistest omadustest adsorbeerub viimaseid 10—98%. Väga tugevasti adsorbeeruvad grampositiivsed kepikesed ja mikrokokid, enamik ammonifitseerijaid ja *Azotobacter*. Kõige nõrgemini uuritud bakteritest adsorbeerub *Bact. coli*. Kergemini ja tugevamini adsorbeeruvad iseseisva liikumisvõimeta bakterid. Sama tugevasti kui bakterid adsorbeeruvad ka aktinomütsete spoorid. Ka seente eosed adsorbeeruvad.

Suur tähtsus adsorptsioonis on ka mulla omadustel, alates mehhaanilisest koostisest ja lõpetades elektriliste nähtustega. Jämedamad mullaosakesed (liiv) adsorbeerivad suhteliselt nõrgemini kui peened (ibe) [14]. Mida suurem on kolloidsete ja vees lahustuvate ainete sisaldus mullas, seda tugevamini ta adsorbeerib [19]. D. M. Novogrudski [21, 22] andmetel on adsorptsioon eriti tugev mustmuldades, järgnevalt savis. Adsorptsioon oleneb ka mulla reaktsioonist. Eriti tugevasti adsorbeerivad happelise ja leelise reaktsiooniga mullad, nõrgemini neutraalsed ja lubjatud mullad [7, 21, 26]. On andmeid, et adsorptsiooniaste muutub vastavalt mulla niiskusesisalduse ja temperatuuri muutustele.

Ka adsorptsiooni mõju kohta mikroorganismide elutegevusele esineb lahkarmumusi. Paljud uurijad [14, 18, 27] on seisukohal, et adsorbeeritud bakterite aktiivsus ja elulisus vähenevad. Viimasel ajal kalduetakse üha enam arvamusele, et adsorptsioon ise ei kahjusta bakterite elutegevust, kuid ta võib esile kutsuda kahjulikke kõrvalnähtusi, eriti bakterite ainevahetusproduktide kuhjumise tõttu adsorbendi pinnale [17].

Näeme, et vaatamata senistele arvukatele mullamikrobioloogilistele uurimustele on adsorptsiooninähtuste juures jäänud väga palju selgusetuks ning diskuteeritavaks. On eri arvamusi nii adsorptsiooni põhjuste, tingimuste ja tegurite kui ka tulemuste suhtes. Nähtavasti peavad adsorptsiooninähtuste uurimisel esinema mingid erakordsed raskused, mis takistavad seniseid uurimistulemusi olemast eriti viljakad.

Raskused adsorptsiooninähtuste uurimisel on tõepoolest suured, sest siin on tegemist hoopis erilise kompleksiga, milles ühelt poolt esineb mineraalne, teiselt poolt mikroskoopiline elav organism, kusjuures seos nende vahel on väga tugev. Et uurida seda seost, tema põhjust, iseloomu, teda mõjutavaid tegureid ja teisi temaga ühenduses olevaid küsimusi, peaksime kõigepealt olema võimelised teda oma tahtmise ja vajaduste kohaselt esile kutsuma ja kõrvaldama, s. o. sundima mikroorganismi adsorbeeruma ja desorbeeruma. Sellest ülesandest on mikrobioloogid seniajani suutnud lahendada vaid esimese osa. Mis puutub teise osasse, siis pole senini korda läinud mikroorganismi mullaosakeste küljest täielikult desorbeerida. Seos väga väikese mineraalaineosakese ja elava organismi vahel on osutunud sedavõrd tugevaks, et seda pole suudetud katkestada, kahjustamata elavat organismi.

Mikroorganismide desorptsiooni on uurinud paljud väljapaistvad teadlased [5, 8, 12, 14, 16, 17, 25]. Selleks on püütud kasutada lahtipesemist, loksutamist, hõõrumist, mõjutamist keemiliste reaktiividega, elektrivoolu, ionisatsiooni ja kiiritamist. Kõigi nende võtete rakendamise on andnud vaid osalisi tulemusi.

Alustades oma katseid 1955. aastal püüdsime välja selgitada adsorptsiooni ulatust Eesti NSV muldades ja otsida võimalusi nende desorbeerimiseks.*

E. V. Dianova ja A. A. Vorošilova [14] märgivad, et bakterite desorbeerimiseks mullast omab tähtsust nende lahtipesemiseks kasutatud vee hulk. Kui näiteks kasutada 5 g mullast bakterite lahtipesemiseks 9 ml vett, jääb adsorbeerituks 80—90% baktereid. Kui aga sama mullakoguse kohta võtta 500 ml vett, jääb lahti pesemata ainult 55% baktereid. Kuid juba Hudjakov [27] märkis, et lahtipesemist ei saa kasutada desorbeerimisvõtena, sesi vees ümberjuuvad mullaosakesed võivad lahtipeetud bakterid kiiresti uuesti adsorbeerida. Lahtipesemine oleks mõeldav vaid filtril, millest vesi pidevalt läbi voolab. Baktereid kaasa uhtudes, kuna mullaosakesed jääksid filtrile. Sellise võimaluse kontrollimiseks korraldasime järgmise katse.

Pooleliitrisele põhjata klaaspurgile seoti põhja asemele alla keskmise tihedusega siidriidest filter. Sellele asetati 25 g mulda, milles oli *Azoto-*

* Autor avaldab südamlikku tänu Läti NSV TA Mikrobioloogia Instituudi direktorile akadeemik A. Kirhensteinile ning instituudi teaduslikele töötajatele, samuti Üleliidulise Põllumajandusliku Mikrobioloogia Instituudi ja Üleliidulise Taimekaitse Instituudi direktioonile ja teaduslikele töötajatele ning Eesti Maaviljeluse ja Maaparanduse Teadusliku Uurimise Instituudi mikrobioloogia osakonna töötajatele, samuti kõigile teistele isikutele ja asutustele, kes katsete korraldamisele kaasa aitasid.

bacter. Klaasnõu filtri ja mullaga paigutati loksutusaparaadile ning juhiti sellesse kraanist vooliku abil tavalist Tallinna veevärgi vett, milles, nagu korduvad analüüsid näitasid, *Azotobacter* puudus. Veejoa tugevust reguleeriti selliselt, et filtri peale jäi pidevalt ühtlane veekiht. Selleks kulus keskmiselt 40 liitrit vett tunnis. Loksutusaparaat tegi minutis 165 võnget. Loksutamise algul uhuti peenemad mullaosakesed kohe läbi filtri, ülejäänud säilisid filtril vahetpidamatu tugeva loksutamise ja vee läbivoolu korral mõnest tunnist kuni mitmekümne tunnini, olenevalt mulla mehhaanilisest koostisest. Enamasti uhuti esimeste tundide kestel filtrist läbi mulla peenemad mullaosakesed, samuti kõik kolloidsed ja orgaanilised mullaühendid, mis loksutamisel hõõrdumise tõttu pidevalt peenemaks muutusid. Filtrile jäänud mullast võeti teatud ajavahemikkude järel proove ning külvati väikeste tükikestena Ashby' agarile.

Esimeses katses, mis tehti TA Eksperimentaalbioloogia Instituudi aian-dist võetud mullaga, näitasid väljakülvatud mullatükikesed nii kümneminutilise kui ka ühe-, kahe- ja kolmetunnilise loksutamise järel sajabrotsendiliselt *Azotobacter*'i kasvu. Alles viietunnilise loksutamise ja läbiuhtumise järel leidis *Azotobacter*'it vaid 80%-is väljakülvatud mullatükikestes. Selle aja kestel oli loksutusaparaat teinud ca 50 000 võnget, kuna filtrile asetatud näputäiest mullast oli läbi uhtunud ca 200 liitrit vett. Viie tunni pärast oli filtrile jäänud vaid mõni gramm jämedamaid liivateri. Läbi filtri uhtunud mullaosakesed püüti kinni, sadestati ja külvati samuti toiteagarile. Ka nendes esines *Azotobacter*'i kasv sajabrotsendiliselt.

Lahtipesemiskatset korrati erinevate muldadega ja erinevais tingimustes. Kahjuks ei õnnestunud katsed peenestruktuuriliste muldadega, sest need läbisid kasutatava filtri juba mõneminutilise loksutamise ning uhtumise järel. Ei läinud samuti korda kasutada tihedamat filtrit, sest seda läbis ka vesi väga pikkamisi, mistõttu teda sai filtrile juhtida vaid tilgaviisi. Vastavalt sellele kadus lahtipesemise efekt täielikult. Võib olla, et filtrimine läbi tiheda filtri annaks tulemusi tugevama surve ja vaakuumseadeldise kasutamisel.

Edasisel eksperimenteerimisel jämedamastruktuuriliste (liivaste) muldadega sõltusid katsetulemused mulla omadustest ning talle lisandatud ühendeist. Maardust toodud kõrge fosforisisaldusega mullas (üle 1000 mg P_2O_5 100 g mulla kohta) kadus *Azotobacter* juba kahe ja poole tunnilise loksutamise järel täielikult, mis kahtlematult tõendab selle mulla nõrgemat adsorptsioonivõimet, võrreldes eelmises katses uuritud mullaga. Et välja selgitada lisandite mõju adsorptsioonile, asetati loksutusaparaadile mulda kahe filtriga. Neist ühel loksutati katsematerjali eelmisel viisil, teisele filtrile aga suunati pealevoolavasse kraanivette vastava lisaseadeldise abil lisandeid. Võrreldes näit. ühte ja sama kamar-gleimulda, lisati teisele filtrile loksutuse kestel nelja tunni jooksul 0,5 liitrit küllastunud $CaHPO_4$ -lahust. Selgus, et tavalise kraaniveega loksutades sai *Azotobacter* nelja tunni kestel täielikult välja uhtunud, kuna teises proovis, kuhu lisandati $CaHPO_4$ -lahust, leidis *Azotobacter*'it pärast kuuetunnist loksutamist veel 40%-is, pärast 14-tunnist loksutamist 20%-is ja pärast 27 ja poole tunnist loksutamist 10%-is väljakülvatud mullatükikestes. Katse tõendab $CaHPO_4$ soodustavat mõju adsorptsioonisse.

Katsed lisandada uhteveele adsorptsiooni pidurdavaid aineid andsid aga võrdlemisi tagasihoidlikke tulemusi. 0,1%-lise $CaSO_4$ -lahuse ja 2%-lise $NaCl$ -lahuse lisandamine ei andnud tulemusi: adsorbeerunud *Azotobacter*'i hulk jäi kolmetunnilise lahtipesemise järel ligikaudu endiseks. Küllastunud $NaNO_3$ - ja KNO_3 -lahused ning 2%-line NH_4NO_3 -lahus mõjutasid *Azotobacter*'i lahtipesemist 2—3-tunnilise loksutamise ja uhtumise järel. 0,4%-lise seebipulbrilahuse lisandamisel polnud ühetunnisel

loksutamisel tulemusi, 3—5-tunnilise loksutamise järel langes aga adsorbeerunud *Azotobacter*'i sisaldus, võrreldes kontrollvariandiga, tunduvalt: 100%-lise sisalduse asemel esines teda 10—30%. Need katsed näitavad, et kuigi mõned keemilised ühendid, muuseas nn. detergentid (pindpinevust vähendavad ained), nõrgendavad adsorptsiooni, püsib see siiski isegi võrdlemisi pikaaegse mõjutamise puhul küllalt tugevana.

Katsed tõendasid, et mullamikrobioloogias tavaliselt bakterite lahtipesemiseks kasutatav võte (katseklaasis 5—10-minutilise käes loksutamisega) võib desorbeerida vaid väikese osa mullabaktereid — sellise, mis juba algusest peale polnud väga tugevasti adsorbeerunud. Tugevasti adsorbeerunud bakterite lahtipesemiseks on aga vaja mitmetunnilist tugevat loksutamist ja kümnete, vahel isegi sadade liitrite vee läbivoolu.

Kemikaalidega, eriti detergentidega, nagu seep, sapipulber ja isoamüülalkohol, korraldati rida katseid, rakendades tavalist loksutamistehnikat (10 minutit loksutusaparaadil). Paremaid tulemusi andis 0,3%-lise seebipulbrilahuse kasutamine, millega mõnes katses saadi lahtipeetud baktereid mitmekordselt, võrreldes kontrollvariandiga (lisanditeta). Tulemused olid aga võrdlemisi ebakindlad, olenedes väiksematestki muudatustest katsetingimustes (mulla keemilises koostises, niiskuses jm.). Optimaalseteks osutusid järgmised detergentide kontsentratsioonid: seebipulber 0,3%, sapipulber 0,3%, isoamüülalkohol 0,2%. Sellised kontsentratsioonid vähendasid vee pindpinevust 18° C puhul 67 d/cm² ja nimelt: seebipulber — 31,2 d/cm², sapipulber — 37,8 d/cm², 0,01%-line saponiin — 38 d/cm², 0,2%-line isoamüülalkohol ainult 60,8 d/cm². Detergentide madalama kontsentratsiooni puhul on nende desorbeeriv mõju väga väike, kontsentratsiooni edasisel suurendamisel langeb aga bakterite arv järsult, mida nähtavasti põhjustab detergentide letaalne mõju mikroorganismidele. Katsed detergentide kahjuliku mõju pidurdamiseks inhibiitorite (0,2%-line letsitiin) lisandamisega Dubos' [15] soovitusel ei andnud ka oodatud tulemusi.

Veel vähem tulemusi andis teiste kemikaalide lisandamine. Teatavasti soovitas F. G. Germanov [16] bakterite desorbeerimiseks 1%-list NaCl-lahust. Meie katsetes ei andnud NaCl eri kontsentratsioonides mingit nime-tamisväärset desorbeerivat efekti.

Viimasel ajal on eriti prantsuse mikrobioloogid (Dommergues, vt. [20]) soovitanud dispergeeriva ja desorbeeriva vahendina kasutada naatriumpürofosfaati. Meie katsetes põhjustas see kemikaal tavalise loksutamise puhul vesilahuses 1:1000 kuni poolteisekordse bakterite arvu suurenemise. Peab märkima, et lõpliku hinnangu andmiseks naatriumpürofosfaadile on meil temaga siiski veel liiga vähe katseid tehtud.

Desorbeerivat efekti ei saadud ka ionisatsioonikatsetes, kus uuritavale mullale pihustati 10—15 minuti vältel vett ja NaCl-lahust läbi kõrgepinge-transformaatori mõjupiirkonna ja läbi ultraviolettlambi kiirtevihi.

Dianova ja Vorošilova [14] andmeil väheneb mulla adsorbeerimisvõime röntgenikiirtega mõjutatud mullas. Selle küsimuse omapoolseks uurimiseks korraldasime 1958. a. märtsis katsete seeria. Meie katsed, kuigi tulemused polnud eriti silmapaistvad, kinnitasid Dianova ja Vorošilova resultate. Peale vieminutilist kiirgamist 200 r-ga suurenes denitriifitseerijate ja aeroobsete tselluloosilagundajate bakterite arv ligi kümnekordseks. Bakterite üldarv (ammonifitseerijad) tõusis 10 r-ga ja 50 r-ga kiirgamisel poolteisekordseks, samuti *Azotobacter*'i arv 50 r puhul. 800 r-ga röntgeniseerimine pidurdas arengu kõigis bakterigruppides.

1956. a. lõpul avanes meil võimalus teha orienteeriv katse Läti NSV TA Mikrobioloogia Instituudis selle instituudi teadusliku töötaja I. Skaardi konstrueeritud ultraheliseadeldisega, mille võimsus oli 20 V/cm² ja helisa-

gedus 380 kHz. Nimetatud seadeldisega mõjutati ühest Riia aiandist võetud mulda 1 ja 10 minuti vältel ning külvati seejärel Ashby' agarile. Mullas leidis väga vähe *Azotobacter*'it (ainult kontrollvariandis tekkis 4 kolooniat), kuid toiteagaril kasvas hulk oligonitrofiilseid baktereid. Viimaste kolooniaid loendati kontrollvariandil 77 (100%), ühe minuti vältel ultraheliga mõjutatud variandil 156 (203%) ja 10 minuti vältel mõjutatud variandil 212 (275%).

Mikrobioloogias kasutatakse ultraheli teatavasti juba ammu suspensioonide või muude ainete steriliseerimiseks, seega — bakterite hävitamiseks. Meie katses aga kasvas bakterite arv 10 minuti vältel ultraheliga mõjutatud keskkonnas ligikaudu kolmekordseks. Võis oletada, et lühiaegne ultraheliga mõjutamine põhjustab desorptsiooni. Selle hüpoteesi kontrollimiseks korraldasime Läti NSV TA Mikrobioloogia Instituudis uue katsete seeria, mis koosnes kuuest erinevate muldade võrdlusanalüüsist. Igas katses oli kontrollvariant ja 4—5 ultraheliga erinevalt (1—15 minutit) mõjutatud varianti. Analüüsid tehti bakterite üldarvu, *Azotobacter*'i ja oligonitrofiilsete bakterite kohta. Tulemused on esitatud tabelis.

Kontrollvarianti loksutati käsitsi 5 minutit.

Tabelis esitatud andmete kohaselt kasvas bakterite arv kõige enam Läti NSV TA Mikrobioloogia Instituudi katseaiast võetud, liivaga segatud turbamullas: ultraheliga 3-minutilise mõjutamise järel oli see rohkem kui 12-kordne, võrreldes kontrollvariandiga. Ligikaudu samasugune tulemus saadi variandis nr. 6, kus maksimaalne tõus ilmnis alles pärast 15-minutilist ultraheliga mõjutamist, kuigi samas mullas esines ligi 9-kordne bakterite tõus juba pooleminutilise mõjutamise järel.

Ligilähedasi tulemusi andsid ka *Bac. mycoides*, *Azotobacter* ja oligonitrofiilsed bakterid. Katsed, kus peale ultraheli kasutati veel detergendi (seebilahuse) mõju, tulemusi ei andnud: bakterite arv nendes variantides langes, võrreldes esimestega. Katsevariantidest võetud preparaate mikroskopeerimine ei näidanud erinevust kontrollvariandist ja ultraheliga mõjutatud variantidest pärinevate bakterite välimuses. Enamik baktereid kõigis variantides esines üksikute rakkudena, diploorme ja ketikesi leidis ka ultraheliga mõjutatud variantides.

Teistkordselt püüdsime ultraheli mõju kontrollida 1957. aasta lõpul, seekord Leningradis Üleliidulise Põllumajandusliku Mikrobioloogia Instituudis. Katsete tegemiseks kasutasime Üleliidulise Taimekaitse Instituudi ultraheliseadeldist (453 kHz), samuti teisi Leningradi asutuste madala helisagedusega (10—40 kHz) seadeldisi. Meie seekordsetes katsetes ilmnis mõjutatavate mullasuspensioonide kuumenemist, mida Riias kordagi ei esinenud. Püüdsime suspensioone kaitsta erilise, lumega täidetava jahutusseadeldise abil, kuid see võis ultraheli mehhaanilist mõju pidurdada. Igal juhul olid katsete tulemused seekord märksa tagasihoidlikumad: mõnes katses vähenes bakterite arv juba 5-minutilise mõjutamise järel. Üsikutes katsetes siiski tõusis bakterite üldarv pärast 8-minutilist ultraheliga mõjutamist kuni 3,7-kordseks, võrreldes kontrollvariandiga. Pisut suurem oli ultraheli efekt denitritifitseerijatel bakteritel: ühel juhul 8-minutilise mõjutamise järel kasvas nende arv 20-kordseks. Madala sagedusega ultraheli ei avaldanud bakterite arvule märgatavat mõju.

Kirjeldatud katsete tegemise ajal polnud meil veel andmeid ei H. D. Slade'i ja W. C. Slamp'i [11] katsetest, kes streptokokkide kultuure ultraheliga mõjutades said nende kolooniate arvu suurenemise söötmetel, mida nad seletasid streptokokkide ketikeste lõhkumisega üksikuteks rakkudeks, ega ka I. L. Stevensoni [12] katsetest, kes sai ligikaudu samasuguseid tulemusi kui meie ja seletas neid samuti bakterite desorptsiooniga.

Võrdlusanalüüside tulemused aeroobsete bakterite (ammonifitseerijate) üldarvu kohta*

Katsevariantid	Nr. 1 ENSV TA EBI alandi muld (Tallinn)		Nr. 2 Jelgava ümbruse savimuld		Nr. 3 Läti NSV TA MI katseala muld		Nr. 4 Läti NSV TA MI katsealalt võetud turbamuld		Nr. 5 Riitast alandist võetud liivane muld		Nr. 6 Läti NSV TA MI kollektsiooni savimuld	
	Bakterite arv											
	tuhandetes	%-des	tuhandetes	%-des	tuhandetes	%-des	tuhandetes	%-des	tuhandetes	%-des	tuhandetes	%-des
Kontroll	1100	100	650	100	450	100	300	100	23 000	100	40	100
Ultraheli												
0,5 min.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	355	887
" 1 "	—	—	—	—	—	—	1850	617	—	—	—	—
" 2 "	—	—	750	115	—	—	—	—	—	—	—	—
" 2,5 "	—	—	—	—	—	—	—	—	135 000	587	—	—
" 3 "	4850	442	—	—	5600	1244	1350	450	150 000	652	150	375
" 4 "	—	—	1000	154	2100	467	—	—	—	—	—	—
" 5 "	—	—	—	—	—	—	1400	467	—	—	200	500
" 6 "	—	—	1150	177	—	—	—	—	—	—	—	—
" 8 "	2250	205	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 10 "	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	225	563
" 12 "	—	—	650	100	—	—	—	—	—	—	—	—
" 15 "	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	465	1163
Ultraheli												
1 min.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+ 0,3%-line seebilahus	—	—	—	—	—	—	800	267	—	—	—	—
Ultraheli												
3 min.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+ 0,3%-line seebilahus	1350	123	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Ultraheli												
8 min.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
+ 0,3%-line seebilahus	2050	186	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

* Katsed on tehtud 1957. a. kevadel Läti NSV TA Mikrobioloogia Instituudis ultraheliseadeldisega.

Katsete lihtsustamiseks püüdsime leida teisi võimalusi bakterite «lahtiraputamiseks» mullaosakestest. Nii näiteks katsetasime mulla-proovide peenekshõõrumisega ahhaatuhmris, mille puhul märkisime bakterite arvu kuni poolteisekordset suurenemist. Lõpuks konstrueerisime mulla-suspensioonide mehhaaniliseks segamiseks väikese elektrimootori jõul töötava propellersega. Selleks asetati 5 cm pikkune metallist propeller vertikaaltelje otsa. Propeller pandi tiirlema vastavasse pesasse kinnitatud ja pealt kummist mütsikesega kaetud klaasis, millesse asetati uuritav mulla-suspensioon. Propelleri tiirusid võis reguleerida kolmest kuni kuue tuhan-

deni minutis. Sobivaimaks segamisajaks selle seadeldise puhul osutus 3—5 minutit ca 5000 tiiru juures minutis. Propellersegajaga tehti ligi sada mikrobioloogilist gruppanalüüsi, mille tulemused olid väga erinevad.

Enamasti tõusis bakterite arv propellersegajaga tehtud analüüsides tunduvalt, ületades mõningatel juhtudel ultraheli abil saadud tulemusi. Mõnes grupis (*Azotobacter*) kasvas bakterite arv kuni seitsmekümnekordseks, kümnekordseid tõuse esines korduvalt. Kuid oli ka vastupidiseid tulemusi — kuni kümnekordseid bakterite arvu langusi. Sellest võib järeldada, et propellersegaja mõju mullasuspensioonides eksisteerivatele bakteritele on kahe sugune: ühelt poolt mõjutab see bakterite desorbeerumist mullaosakeste küljest, samuti ka bakterite kogumite lõhkumist üksikuteks bakterirakkudeks, teiselt poolt põhjustab see ühe osa bakterite hävingut. Üldiselt võib märkida, et kuivades muldades, kus adsorptsioon on tugevam, bakterite arv enamikus katsetes tõusis, kuna niisketes muldades jäid katsed sagedamini tulemusteta või esines bakterite arvu langust.

*

Tuleb konstateerida, et kõik võtted, millega püütakse baktereid mullaosakeste küljest n.-ö. «vägivaldselt» lahti pesta, olgu nendeks siis tugevasti mõjuvad mehhaanilised vahendid, nagu uhmris hõõrumine, ultraheliga mõjutamine või eriti intensiivne segamine ja pihustamine, mõjuvad küll desorbeerivalt, kuid kahjustavad ühtlasi bakterite elutegevust kuni isegi nende surmamiseni. Sama võib öelda ka tugevasti mõjuvate kemikaalide ja nõrgemini mõjuvate kemikaalide kõrgete kontsentratsioonide kohta.

Bakterite desorbeerimine mullaosakeste küljest on senini alles lahendamata probleem. Kõigi kasutatud võtete abil suudame desorbeerida parimal juhul umbkaudu ühe kümnendiku adsorbeerunud bakterite kogusest. Kuid meie lahtipesemiskatsed lubavad kinnitada, et baktereid on siiski võimalik desorbeerida nende elutegevust kahjustamata. Selles suunas tuleb katseid jätkata. Kui õnnestub leida filtreerimisviis, mille abil saab lahtipeetud baktereid eraldada mullaosakestest, võib küsimust pidada põhiliselt lahendatuks. Desorbeerimisküsimuse lahendamine aga võimaldaks kahtlematult lahendada kõiki bakterite adsorptsiooniga seoses olevaid küsimusi ning aitaks oluliselt kaasa mullamikrobioloogia edasiarengule.

KIRJANDUS

1. Bechold, Probleme der Bakterienadsorption, Kolloid. Z., Bd. 23, 1918.
2. Eisenberg, P., Ueber spezifische Adsorption von Bakterien. Centr. Bact., I Abt., Bd. 18, 1918.
3. Frei, W., Erisman, H., Beiträge zur Theorie der Bakterienfiltration. Centr. Bact., I Abt., Bd. 88, H. 1, 1922.
4. Krüger, B., Physikalische Einwirkung von Sinkstoffen auf die im Wasser befindenden Mikroorganismen. Z. Hyg., Bd. 7, H. 1, 1889.
5. Lavergne, D., Types pedologiques et activité microbiologique des soils. Ann. Inst. nat. rech. agron. № 4, 1955.
6. Michaelis, Z., Kona, P., Untersuchungen über Adsorption. Biochem. Z., Bd. 1—15, 196, 1909.
7. Peele, C., Adsorption of Bacteria by Soils. Cornell Univ. Agric. Exp. Sta. Memoir, 197, 1936.
8. Pochon, J., Technique de preparation des suspensions-dilutions de terre. Ann. Inst. Pasteur, 89, № 4, 1955.
9. Rahn, O., Die Bakterientätigkeit im Boden als Funktion von Korngröße und Wassergehalt. Centr. Bact., II Abt., Bd. 35, 1912.
10. Salus, G., Die Bakterienadsorption durch Bolus. Biochem. Z., Bd. 84, H. 5—6, 378, 1917.

11. Slade, H. D., Stamp, W. C., Sonic Oscillation as an Aid in the Counting of Group a Streptococci by the Pourplate Method. *J. Bacteriol.*, 71, No. 5, 624, 1956.
12. Stevenson, I. L., The Effect of Sonic Vibration on the Bacterial Plate Count of Soil. *Plant and Soil*, 10, 1—8, 1958.
13. Богопольский М. Д., Адсорбция бактерий низинным торфом. *Торфяное дело*, № 1, 36, 1933.
14. Дианова Е. В., Ворошилова А. А., Поглощение бактерий почвой. *Научно-агр. ж.*, № 9, 520—542, 1925.
15. Дюбо Рене Ж., Бактериальная клетка. М., 1948.
16. Германов Ф. Г., Труды Носовской с/х опытной станции. 1926.
17. Звягинцев Д. Г., Адсорбция микроорганизмов почвенными частицами. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биол. наук. М., 1959.
18. Карпинская Н. С., К вопросу о поглощении бактерий в почве. *Научно-агр. ж.*, № 9, 587—610, 1926.
19. Красильникова-Крайнова А. И., Адсорбция клубеньковых бактерий. *Уч. зап. Горьковского гос. унив.*, вып. XXV (сер. биол.), 95—100, 1954.
20. Мишустин Е. Н., Симпозиум по микробиологическим методам изучения почв в Бельгии. *Микробиология*, т. XXVII, вып. 1, 137—140, 1958.
21. Новогрудский Д. М., Исследования по способности почв поглощать бактерии. *Микробиология*, т. V, вып. 5, 1936.
22. Новогрудский Д. М., Исследования по способности почв поглощать бактерии. *Микробиология*, т. VI, вып. 5, 1937.
23. Путилина Н. Т., Влияние рН на адсорбцию . . . *Микробиол. ж.*, т. XII, вып. 4, 82—94, 1950.
24. Разумовская З. Г., Клубеньковые бактерии в почве. *Тр. ВИСХМ*, т. V, 108—117, 1933.
25. Рубенчик Л. И., Ронзин М. Б., Белинский Ф. М., Адсорбция бактерий в солевых водах. *Микробиология*, т. III, вып. 1, 1934.
26. Самцевич С. А., Известкование почв и адсорбция бактерий. *Хим. соц. земледелия*, № 12, 37—43, 1939.
27. Худяков Н. Н., Адсорбция бактерий почвой и влияние ее на микробиологические процессы в почве. *Почвоведение*, № 2, 1926.
28. Федоров М. В., Биологическая фиксация азота атмосферы. *Сельхозгиз*, М., 1952, 145.

*Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Eksperimentaabioloogia Instituut*

Saabus toimetusse
27. I 1961

ОБ АДСОРБЦИИ БАКТЕРИЙ ПОЧВЕННЫМИ ЧАСТИЦАМИ

П. Рахно,

кандидат биологических наук

Резюме

Проведенные в 1955—1960 гг. опыты показали, что бактерии различных почв Эстонской ССР чрезвычайно прочно адсорбированы почвенными частицами. После промывания в течение нескольких часов небольшого количества почвы, помещенной на фильтре в качалку, часть исследуемых бактерий все же осталась адсорбированной. Исследование ряда других приемов десорбции — обработки детергентами (мыльным, желчным порошками, сапонином, изоамиловым спиртом) и другими химическими веществами (NaCl, CaSO₄, NaNO₃, NH₄NO₃, пиррофосфатом натрия), воздействия ионизацией и рентгенизацией и т. д. — показало, что все эти приемы дают лишь частичный и относительный эффект. Сравнительно лучшие результаты получены от кратковременного озвучивания почвенной суспензии ультразвуком (повышение количества бактерий в 10—12 раз). Близкие результаты дало применение специального смесителя.

По-видимому, все подобные насильственные приемы — озвучивание ультразвуком, усиленное механическое перемешивание, растирание в ступе и т. д. — оказывают двойное действие: кроме десорбции и разобщения скоплений и цепочек бактерий на отдельные клетки, они вызывают разрушение и гибель части бактерий. Можно считать, что полная десорбция может быть достигнута при использовании метода вымывания, если удастся найти способ фильтрования, который позволил бы отделять смывые бактерии от почвенных частиц.

*Институт экспериментальной биологии
Академии наук Эстонской ССР*

Поступила в редакцию
27. I 1961

ON THE ADSORPTION OF BACTERIA BY SOIL PARTICLES

P. Rahno

Summary

The experiments carried out from 1955 to 1960 show that the bacteria in the different soils of the Estonian S.S.R. have been extremely firmly adsorbed by soil particles. After having washed a small quantity of soil placed upon a filter in the swing-apparatus, the part of the bacteria under research remained nevertheless adsorbed. The investigations of a number of other methods of adsorption have shown that all of them yield a relative effect only. Comparatively better results have been received from transitory sonic oscillation of soil suspension (the quantity of bacteria rising in this case 10—12 times). Similar results have been obtained applying a special mixer.

Apparently all these forced methods have a double effect: alongside with a desorption and a separation of accumulations and chains of bacteria, they cause a destruction of some part of the bacteria. It may be supposed that a complete desorption might be reached by washing methods if we could succeed in finding some means of filtration which would separate the washed-out bacteria from soil particles.

*Academy of Sciences of the Estonian S.S.R.,
Institute of Experimental Biology*

Received
Jan. 27th, 1961