

**PRZESTRZENNE ROZMIESZCZENIE
I SEZONOWE ZMIANY LICZEBNOŚCI
BAKTERII WIĄŻĄCYCH AZOT ATMOSFERYCZNY
(WOLNOŻYJĄCYCH) I OLIGONITROFILNYCH
W WODZIE GLEBOWO-GRUNTOWEJ
ZLEWNI JEZIORA EUTROFICZNEGO**

Stanisław NIEWOLAK

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Katedra Mikrobiologii Środowiskowej

Słowa kluczowe: bakterie oligonitrofilne, bakterie wiążące azot, wody glebowo-gruntowe, zlewnia rolnicza

Streszczenie

Badano liczebność bakterii wiążących azot atmosferyczny w warunkach tlenowych (*Azotobacter* sp. i in.) i beztlenowych (*Clostridium pasteurianum*) oraz bakterii oligonitrofilnych w wodzie glebowo-gruntowej zlewni eutroficznego jeziora Bartąg w rejonie Olsztyna. Badania przeprowadzono w latach 1974–1980 w wodzie pobieranej ze studzienek odwierconych w zagłębieniach terenu i na wierzchoinach. Studzienki były rozmieszczone na różnie użytkowanych glebach (orne, łąkowe), z różnym poziomem wód glebowo-gruntowych.

W wodzie tych studzienek przeważały bakterie tlenowe i oligonitrofilne. Liczba bakterii wiążących azot atmosferyczny w warunkach beztlenowych była co najmniej 10-krotnie mniejsza. Bakterie wiążące azot atmosferyczny w warunkach tlenowych i bakterie oligonitrofilne występowały z reguły w większych ilościach w wodzie glebowo-gruntowej pobieranej ze studzienek na wierzchoinach, a bakterie wiążące azot atmosferyczny w warunkach beztlenowych – w wodzie ze studzienek w zagłębieniach terenu. Więcej tych drobnoustrojów występowało nierzadko po opadach deszczu o charakterze burzowym. Wyniki obliczeń statystycznych wykazały wysoce istotną ($p < 0,01$) dodatnią współzależność jedynie między liczbą bakterii wiążących azot atmosferyczny w warunkach tlenowych i bakterii oligonitrofilnych w wodzie glebowo-gruntowej zlewni jeziora Bartąg a ich liczeb-

Adres do korespondencji: prof. dr hab. S. Niewolak, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Katedra Mikrobiologii Środowiskowej, ul. Prawocheńskiego 1, 10–957 Olsztyn-Kortowo; tel. +48 (89) 523-37-52

nością w wodzie pelagialu tego zbiornika. W przypadku bakterii oligonitrofilnych współzależność taką stwierdzono również w wodzie cieku powierzchniowego drenującego tę zlewnię.

WSTĘP

Wolnożyjące bakterie wiążące azot atmosferyczny są szeroko rozprzestrzenione we wszystkich typach gleb. W drugiej połowie ubiegłego wieku wraz z pojawieniem się nowych technik pomiarowych stwierdzono zdolność do wiązania tego gazu (poza bakteriami z rodzajów *Azotobacter* i *Clostridium*) u wielu bakterii hetero- i fototroficznych (tlenowych, beztlenowych, mikroaerofilnych i beztlenowych), a także promieniowców [KNOWLES, 1982; POSTGATE, 1984]. Zależnie od typu gleb, pory roku, uprawy i nawożenia ich liczba może się zmieniać w zakresie kilku rzędów wielkości [ACEA, CARBALLAS, 1988; NIEWOLAK, KOC, 1995; NIEWOLAK i in., 2001]. Część z nich (wraz z innymi bakteriami) może przenikać do wód glebowo-gruntowych w wyniku opadów deszczu, zraszania upraw roślinnych i innych. Z badań przeprowadzonych w Polsce [NIEWOLAK, 2003; 2006; NIEWOLAK, TUCHOLSKI, 2001] wynika, że wody glebowo-gruntowe mogą zawierać również wiele innych bakterii czynnych w obiegu azotu, typowych dla środowiska glebowego. Według danych z literatury bakterie wiążące azot atmosferyczny z rodzaju *Azotobacter* występują liczniej w glebach na podłożu wapiennym o odczynie zasadowym [KNOWLES, 1980]. Duża zawartość gliny w glebach na takim podłożu stwarza możliwość wystąpienia mikrosiedlisk beztlenowych, sprzyjających rozwojowi *Clostridium pasteurianum* [ACEA, CARBALLAS, 1990]. Ponieważ wiele właściwości fizyczno-chemicznych i biologicznych gleb zmienia się w czasie i wraz z głębokością, nie jest jasne, który z czynników środowiskowych (np. typ gleby, zawartość substancji organicznej) warunkuje wymywanie tych bakterii z gleby do wód gruntowych [ALEXANDER, 1961].

Na temat liczebności bakterii wiążących azot atmosferyczny i oligonitrofilnych w wodach glebowo-gruntowych brak danych w dostępnej literaturze. Znaczenie tych bakterii w przyrodzie było inspiracją do przeprowadzenia odpowiednich badań na terenie zlewni rolniczej jednego z jezior zlokalizowanych w okolicach Olsztyna.

Celem niniejszej pracy było zbadanie przestrzennego rozmieszczenia i sezonowych zmian liczebności bakterii wiążących azot atmosferyczny (wolnożyjących) w warunkach tlenowych i beztlenowych oraz bakterii oligonitrofilnych w wodzie glebowo-gruntowej, a także ich związku z liczebnością odpowiednich bakterii w wodzie pelagialu jeziora Bartąg i cieku powierzchniowego dopływającego do tego zbiornika. Badania przeprowadzono w 6 kolejnych cyklach rocznych w ramach tematu dotyczącego wpływu zlewni na jezioro.

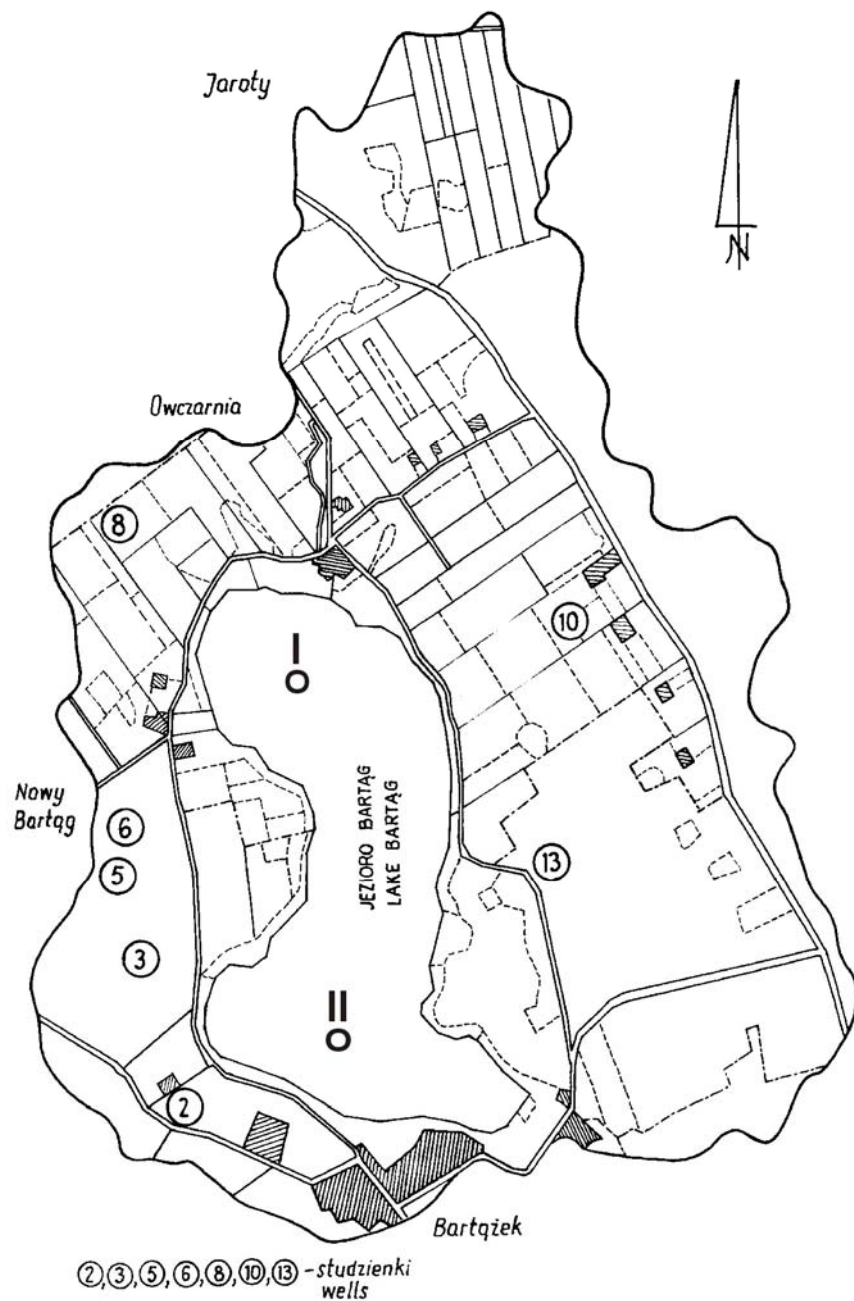
ZLEWNIA JEZIORA BARTAĞ

Zlewnia jeziora Bartąg (rys. 1) o powierzchni 400,3 ha, w kształcie nieregularnej misy (2,4 km długości i 1,9 km szerokości) o stromych zboczach i sporej ilości zagłębień bezodpływowych jest zagospodarowana rolniczo. Głównymi użytkownikami terenu zlewni są rolnicy indywidualni, Zakład Doświadczalny Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Bartążku oraz Państwowe Gospodarstwo Leśne w Rumakach. Głównymi uprawami są: rzepak, zboża, rośliny okopowe i pastewne. Dominują gleby brunatne (80% powierzchni zlewni), 15% stanowią gleby płowe (na wierzchowinach), 1% – czarne ziemie (w zagłębieniach), 0,3% – gleby deluwialne i murszowe. Pod względem składu granulometrycznego przeważają gleby zwięzłe wykształcone z ilów oraz glin ciężkich. We wschodniej i południowo-wschodniej części zlewni większe połacie gleb lżejszych występują na zwięzłym podłożu. Gleby ukształtowane z piasków luźnych i gleb gliniastych w obrębie użytków rolnych zajmują niewielką powierzchnię. Gleby lekkie znajdują się pod lasem we wschodniej części zlewni. W części południowej i zachodniej zlewni przeważają gleby klasy IIIa–IVa, gleby słabsze znajdują się w części północno-wschodniej. Grunty rolników indywidualnych były w większości nawożone obornikiem, grunty zakładu doświadczalnego solami mineralnymi (NPK). Wody zlewni są odprowadzane do jeziora Bartąg siecią drenarską od strony wschodniej oraz spływają bezpośrednio z pól i przesączają się przez grunt od strony zachodniej. Wiosną 1974 r. na terenie zlewni wykonano wiercenia, założono 15 studzienek z rur PCV średnicy 10,6 cm. Głębokość wierceń wynosiła od 2,3 do 4,6 m i sięgała ok. 1,5 m poniżej zwierciadła wody glebowo-gruntowej.

METODY BADAŃ

Do badań mikrobiologicznych wytypowano studzienki 5. i 10. na wierzchowinach oraz studzienki 2., 3., 6., 8. i 13. w zagłębieniach terenu (rys. 1). Studzienki 8. i 10. znajdowały się na gruntach rolników indywidualnych, studzienki 2., 3., 5., 6. i 13. – na gruntach zakładu doświadczalnego. Profile geologiczne studzienek przedstawiono w pracy NIEWOLAKA i TUCHOLSKIEGO [2001]. Średni poziom wód glebowo-gruntowych w tych studzienkach wynosił od 61–75 cm zimą do 157–168 cm od sierpnia do października. Był najniższy w studzienkach 2. i 13. (odpowiednio 0–88 i 8–78 cm), a najwyższy w studzienkach 5., 6. i 10. (odpowiednio 71–252, 83–184 i 140–197 cm). W studzienkach 3. i 8. wynosił on 26–93 i 10–92 cm. Średnia temperatura wód glebowo-gruntowych wahała się od 1,7 do 16,5°C; pH od 5,4–5,9 w studziencie 10. do 7,3–7,9 w studziencie 5. oraz od 6,4 do 7,7 w pozostałych studzienkach [KALIŃSKA, 1984].

Na 1–2 dni przed pobieraniem próbek wody do badań ze studzienek usuwano wodę, aby uniknąć przypadkowych zanieczyszczeń dostających się w okresie mię-



Rys. 1. Szkic sytuacyjny zlewni jeziora Bartąg; 2-13 – stanowiska poboru próbek w zlewni (studzienki); I, II – stanowiska na jeziorze

Fig. 1. A sketch of Lake Bartąg catchment basin; 2-13 – sampling sites in the catchment basin (wells); I, II – sites in lake

dzy kolejnymi pobraniami. Próbki wody do badań pobierano z reguły raz w miesiącu w okresie od maja 1974 r. do stycznia 1980 r. do jałowych butelek z doszlifowanym korkiem o pojemności 300 cm³ i w podręcznych lodówkach przewożono do laboratorium. Wodę rozcieńczano w jałowym roztworze fizjologicznym NaCl w stosunku (1:10)–(1:1 000) i przenoszono po 1 cm³ do jałowych płytek Petriego z pożywką Fiodorowa (zestaloną agarom) dla bakterii wiążących azot atmosferyczny w warunkach tlenowych (*Azotobacter sp.* i in.) i do próbek z pożywką Winogradskiego dla bakterii wiążących azot atmosferyczny w warunkach beztlenowych (*Clostridium pasteurianum*), zgodnie z zaleceniami RODINEJ [1968]. Oznaczenia te wykonywano w trzech równoległych powtórzeniach w tej samej próbce wody. Próbki inkubowano w temperaturze 25°C przez 7 dni bez dostępu światła, po czym odczytywano wyniki. W przypadku bakterii wiążących azot atmosferyczny z rodzaju *Azotobacter sp.* i in. liczono tylko kolonie typowe dla tych bakterii; pozostałe drobne kolonie bakterii oligonitrofilnych liczono oddzielnie. Obecność bakterii wiążących azot atmosferyczny w warunkach beztlenowych określano na podstawie zmętnienia pożywki, obecności gazu w próbkach Durhama umieszczonych dnem do góry w próbkach z pożywką wybiórczą Winogradskiego oraz charakterystycznego zapachu kwasu masłowego. Najbardziej prawdopodobną liczbę tych bakterii odczytywano z tablic McCrady'ego [MEYNELL, MEYNELL, 1970]. Ogółem przebadano w ten sposób 390 próbek wody glebowo-gruntowej.

Jednocześnie badano liczebność bakterii wiążących azot atmosferyczny w warunkach tlenowych i beztlenowych oraz bakterii oligonitrofilnych w wodzie pelagialu jeziora Bartąg na stanowiskach usytuowanych w najgłębszych miejscach i w wodzie ciekłu dopływającego do tego zbiornika [NIEWOLAK, FILIPKOWSKA, KORZENIEWSKA, 2005b] oraz prowadzono obserwacje meteorologiczne (temperatura powietrza w dniu poboru prób, siła wiatru 1 i 2 dni przed pobieraniem próbek, suma opadów atmosferycznych z 2 i 7 dni przed ich pobieraniem [NIEWOLAK, TUCHOLSKI, 2001]). Wyniki badań mikrobiologicznych poddano ocenie statystycznej, określając wartości współczynników korelacji:

- między sumą opadów atmosferycznych a liczbą odpowiednich bakterii wiążących azot atmosferyczny i oligonitrofilnych w wodzie glebowo-gruntowej zlewni jeziora Bartąg;
- między liczbą tych bakterii w wodzie glebowo-gruntowej a ich zawartością w wodzie jeziora Bartąg i w wodzie ciekłu dopływającego do tego zbiornika.

WYNIKI BADAŃ

Liczba bakterii wiążących azot atmosferyczny w warunkach tlenowych (*Azotobacter sp.* i in.) w wodzie glebowo-gruntowej zlewni jeziora Bartąg różniła się w zakresie kilku rzędów wielkości, zależnie od studzienek i okresu badawczego.

Z reguły więcej ich stwierdzano w wodzie ze studzienek 5. (w latach 1974, 1976, 1978 i 1979) i 10. (w 1976 r.), odwierconych na wierzchowinach, oraz 6. (w 1977 r.), odwierconej w zagłębieniu terenu. W wodzie ze studzienek 2., 3., 8. i 13. (odwierconych w zagłębieniach terenu) ich średnia liczba była z reguły 5–10-krotnie mniejsza niż w poprzednio wymienionych (tab. 1). W okresie badawczym z reguły więcej ich stwierdzano w 1974 r. (w 1. roku po wykonaniu odwiertów), w latach 1975–1980 ich liczba się zmniejszała. Z reguły więcej ich stwierdzano latem (w lipcu 1974 r., w sierpniu 1975 r. oraz w lipcu 1977 r.) i/lub jesienią (w październiku 1976 r. oraz we wrześniu w latach 1977–1979). Zimą (w okresie od grudnia do marca 1974–1980) ich liczba najczęściej nie przekraczała kilkuset $\text{jtk}\cdot\text{cm}^{-3}$ albo nie stwierdzano ich w badanej objętości wody (rys. 2).

Liczba bakterii wiążących azot atmosferyczny w warunkach beztlenowych (*Clostridium pasteurianum*) osiągała większe wartości tylko w latach 1974 i 1976. W latach: 1975, 1977 i 1980 ich liczba była 10-krotnie, zaś w latach 1978 i 1979 najczęściej 100-krotnie mniejsza. Często nie stwierdzano ich w badanej objętości wody. W 1974 r. więcej ich stwierdzano w wodzie ze studzienek 2., 3., 6., 8. i 13., odwierconych w zagłębieniach terenu, a w latach 1975–1978 w wodzie pobieranej ze studzienki 10., odwierconej na wierzchowinie. W 1979 r. stwierdzano je sporadycznie w wodzie ze wszystkich studzienek, w ilościach nieprzekraczających kilkudziesięciu $\text{NPL}\cdot\text{cm}^{-3}$ (tab. 2). Z reguły więcej ich stwierdzano wiosną – w kwietniu 1977 r. (w wodzie ze studzienki 2.), w maju 1974 r. (st. 3.) i 1978 r. (st. 3. i 5.) oraz w czerwcu 1975 r. (st. 2., 5., 8., 10. i 13.) i 1976 r. (st. 3. i 13.), latem – w lipcu 1978 r. (st. 3. i 6.), w sierpniu 1974 r. (st. 2., 10. i 13.) i 1976 r. (st. 10.), rzadziej jesienią – we wrześniu 1974 r. (st. 3.) i 1979 r. (st. 13.), natomiast zimą – tylko w lutym 1977 r. (st. 3., 5., 6. i 10.) i w marcu 1978 r. (st. 6. i 10.) (rys. 3).

Liczba bakterii oligonitrofilnych w wodzie glebowo-gruntowej zlewni jeziora Bartąg była z reguły większa niż bakterii wiążących azot atmosferyczny w warunkach tlenowych. Wyjątek stanowiły próbki wody pobierane ze studzienek 2., 3., 5., 6. i 8. w 1974 r. oraz ze studzienki 13. w 1977 r. W wodzie tych studzienek liczba bakterii oligonitrofilnych była wyraźnie mniejsza lub zbliżona do liczby bakterii wiążących azot atmosferyczny w warunkach tlenowych. W latach 1974, 1975 i 1978 najwięcej tych bakterii stwierdzano w próbkach wody ze studzienki 10., w 1979 r. – w próbkach wody ze studzienki 5. W 1977 r. średnia liczba bakterii oligonitrofilnych w wodzie badanych studzienek wynosiła 2 900–12 500 $\text{jtk}\cdot\text{cm}^{-3}$ (tab. 3). W poszczególnych latach maksymalną liczebność bakterii oligonitrofilnych notowano w różnych miesiącach, najczęściej wiosenno-letnich, rzadziej jesiennych (np. w październiku 1977 r. w wodzie ze studzienek 5.–13.; we wrześniu 1978 r. w wodzie ze studzienek 3., 5. i 8.; we wrześniu 1979 r. w wodzie ze studzienek 3., 5., 10. i 13.) i zimowych (np. lutym 1979 r. w wodzie ze studzienki 6.; w marcu 1977 r. w wodzie ze studzienek 5., 6., 8. i 10.; w marcu 1978 r. w wodzie ze studzienki 5. i w marcu 1979 r. w wodzie ze studzienek 5.–10.) (rys. 4).

Tabela 1. Liczebność bakterii wiążących azot atmosferyczny w warunkach tlenowych (*Azotobacter sp.* i in.) w wodzie glebowo-gruntowej zlewni jeziora Bartąg (jtk·cm⁻³) w latach 1974–1980

Table 1. The number of aerobic nitrogen-fixing bacteria (*Azotobacter sp.* and others) in tile drainage water of the Bartąg Lake catchment basin (CFU·cm⁻³) in 1974–1980

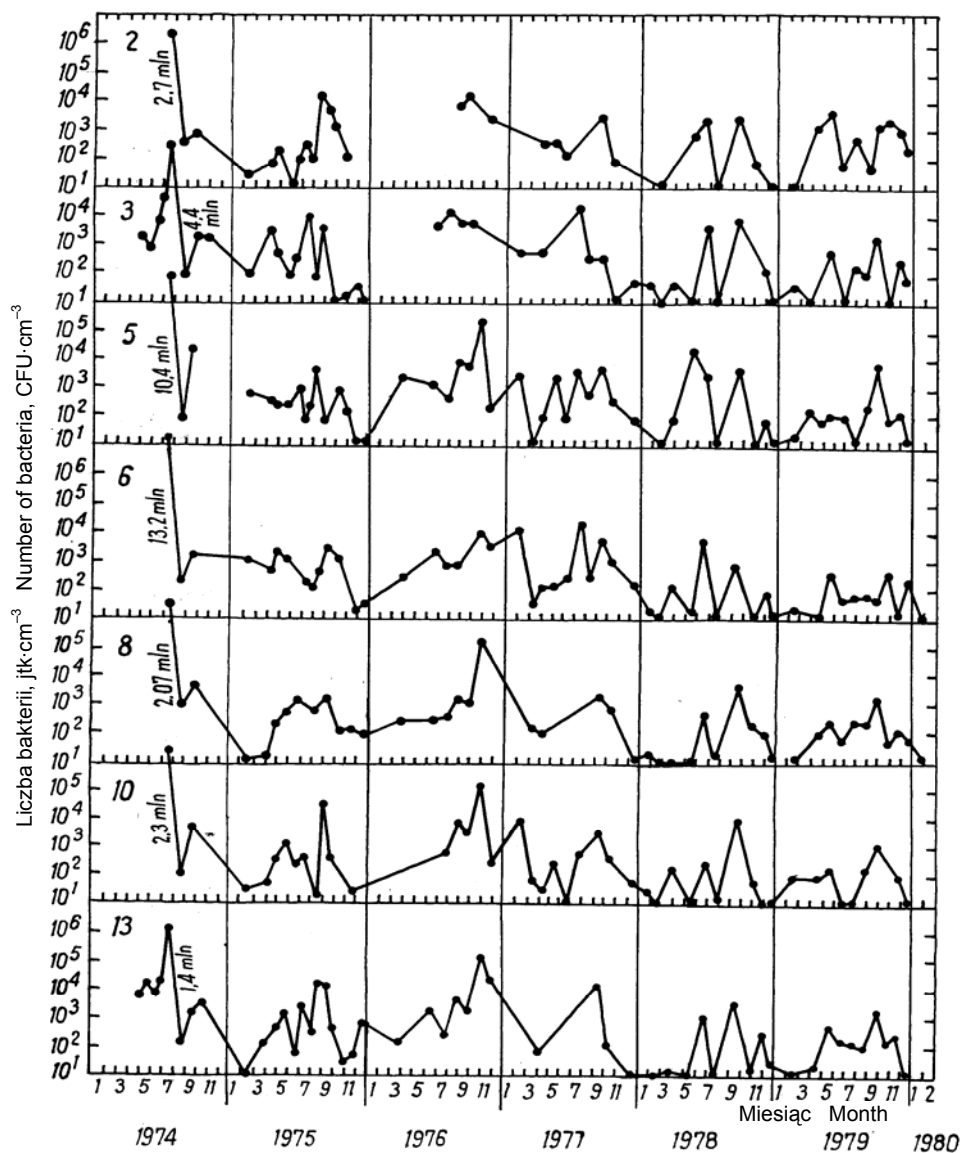
Studzienka Well	Liczebność w latach Numbers in years							1974–1980
	1974	1975	1976	1977	1978	1979	1980 ¹⁾	
2	<u>900 000</u>	<u>2 260</u>	<u>830</u>	<u>745</u>	<u>965</u>	<u>55</u>	–	–
	400–2 700 000	9–19 250	2 600–16 000	30–3 500	5–3 750	0–205	1	0–2 700 000
3	<u>565 400</u>	<u>1 775</u>	<u>5 270</u>	<u>2 440</u>	<u>1 640</u>	<u>290</u>	–	–
	100–4 400 000	10–12 600	3 000–12 000	0–18 500	5–7 350	0–2 100	1	0–4 400 000
5	<u>3 476 000</u>	<u>515</u>	<u>37 415</u>	<u>1 750</u>	<u>3 670</u>	<u>865</u>	–	–
	100–10 400 000	10–2 600	130–278 000	10–5 700	6–20 400	0–8 500	1	0–10 400 000
6	<u>4 406 000</u>	<u>840</u>	<u>4 520</u>	<u>4 000</u>	<u>495</u>	<u>90</u>	–	–
	210–13 200 000	15–3 000	210–13 000	10–18 800	0–3 000	0–320	0	0–13 200 000
8	<u>962 000</u>	<u>580</u>	<u>29 160</u>	<u>460</u>	<u>750</u>	<u>240</u>	–	–
	800–2 070 000	15–2 000	270–170 000	5–1 500	0–5 200	0–1 700	5	0–2 070 000
10	<u>768 000</u>	<u>3 850</u>	<u>28 900</u>	<u>1 645</u>	<u>1 290</u>	<u>225</u>	–	–
	100–2 300 000	10–40 000	120–180 000	8–10 000	3–9 700	3–1 500	3	3–2 300 000
13	<u>180 000</u>	<u>1 975</u>	<u>26 200</u>	<u>3 030</u>	<u>610</u>	<u>300</u>	–	–
	100–1 400 000	10–11 000	150–156 000	60–12 000	10–3 600	10–1 700	6	6–1 400 000

Objaśnienia: nad kreską podano wartości średnie, pod – zakres.

¹⁾ Wartości tylko ze stycznia 1980 r.

Explanations: over line – mean values, under line – range.

¹⁾ Data only for January 1980.



Rys. 2. Sezonowe zmiany liczebności bakterii wiążących azot atmosferyczny w warunkach tlenowych (*Azotobacter sp.* i in.) w wodzie glebowo-gruntowej zlewni jeziora Bartąg w latach 1974–1980; 2–13 – stanowiska poboru próbek (studzienki), jak na rysunku 1.

Fig. 2. Seasonal changes in the numbers of aerobic nitrogen-fixing bacteria (*Azotobacter sp.* and others) in tile drainage water of the Lake Bartąg catchment basin in 1974–1980; 2–13 – sampling sites (wells) as in Fig. 1.

Tabela 2. Liczebność bakterii wiążących azot atmosferyczny w warunkach beztlenowych (*Clostridium pasteurianum*) w wodzie glebowo-gruntowej zlewni jeziora Bartąg (NPL·cm⁻³) w latach 1974–1980

Table 2. The number of anaerobic nitrogen-fixing bacteria (*Clostridium pasteurianum*) in tile drainage water of the Bartąg Lake catchment basin (MPN·cm⁻³) in 1974–1980

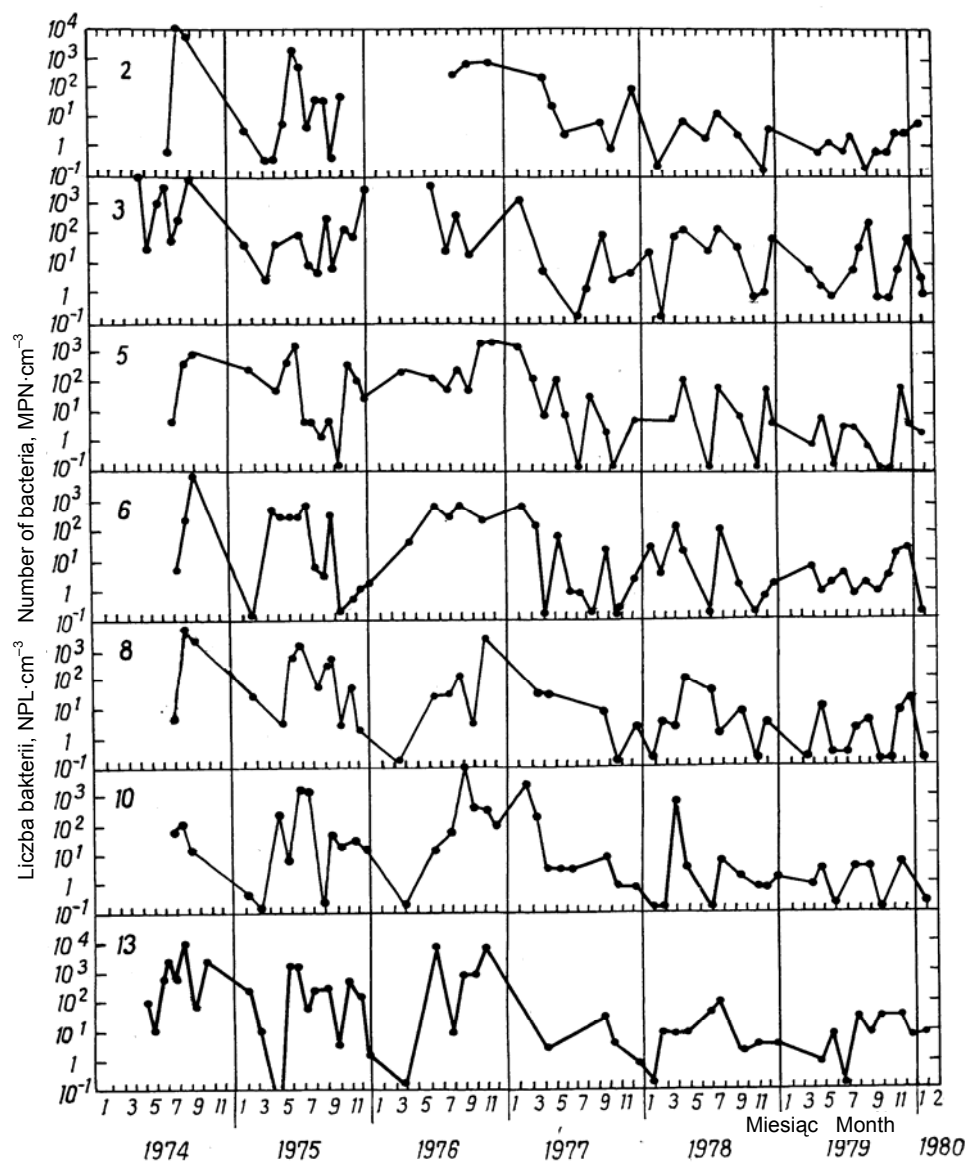
Studzienka Well	Liczebność w latach Number in years							1974–1980
	1974	1975	1976	1977	1978	1979	1980 ¹⁾	
2	<u>4 600</u> 0,6–9 500	<u>180</u> 0,3–1 400	<u>450</u> 250–600	<u>65</u> 0,6–250	<u>4</u> 0–13	<u>0,9</u> 0–3	<u>–</u> 7	<u>–</u> 0–9 500
3	<u>4 280</u> 25–9 500	<u>135</u> 2,5–700	<u>1 910</u> 20–7 000	<u>300</u> 0–2 000	<u>43</u> 0,6–130	<u>33</u> 0,6–250	<u>–</u> 1	<u>–</u> 0–9 500
5	<u>400</u> 45–950	<u>220</u> 0–1 400	<u>810</u> 50–2 500	<u>155</u> 0–1 300	<u>35</u> 0–130	<u>8</u> 0–70	<u>–</u> 2	<u>–</u> 0–2 500
6	<u>3 250</u> 4,5–9 500	<u>190</u> 0–650	<u>350</u> 25–700	<u>80</u> 0–600	<u>25</u> 0–110	<u>5</u> 0–25	<u>–</u> 0	<u>–</u> 0–9 500
8	<u>360</u> 75–7 500	<u>240</u> 1,5–1 400	<u>445</u> 0–2 500	<u>10</u> 0–25	<u>10</u> 0–70	<u>2</u> 0–13	<u>–</u> 0	<u>–</u> 0–7 500
10	<u>50</u> 9,5–95	<u>290</u> 0–1 400	<u>1 950</u> 0–13 000	<u>330</u> 0,6–2 500	<u>70</u> 0–700	<u>1,5</u> 0–25	<u>–</u> 0,3	<u>–</u> 0–13 000
13	<u>1 940</u> 0,3–9 500	<u>340</u> 0–1 400	<u>2 385</u> 0–7 000	<u>8</u> 2–25	<u>12</u> 1,2–70	<u>12,5</u> 0–25	<u>–</u> 9	<u>–</u> 0–9 500

Objaśnienia, jak pod tabelą 1.

¹⁾ Jak pod tabelą 1.

Explanations as in Tab. 1.

¹⁾ As in Tab. 1.



Rys. 3. Sezonowe zmiany liczebności beztlenowych bakterii wiążących azot atmosferyczny (*Clostridium pasteurianum*) w wodzie glebowo-gruntowej zlewni jeziora Bartąg w latach 1974–1980; 2–13 – jak na rysunku 1.

Fig. 3. Seasonal changes in the numbers of anaerobic nitrogen-fixing bacteria (*Clostridium pasteurianum*) in tile drainage water of the Lake Bartąg catchment basin in 1974–1980; 2–13 – as in Fig. 1

Tabela 3. Liczebność bakterii oligonitrofilnych w wodzie glebowo-gruntowej zlewni jeziora Bartąg ($\text{jtk}\cdot\text{cm}^{-3}$) w latach 1974–1980

Table 3. The number of oligonitrophilic in tile drainage water of the Bartąg Lake catchment basin ($\text{CFU}\cdot\text{cm}^{-3}$) in 1974–1980

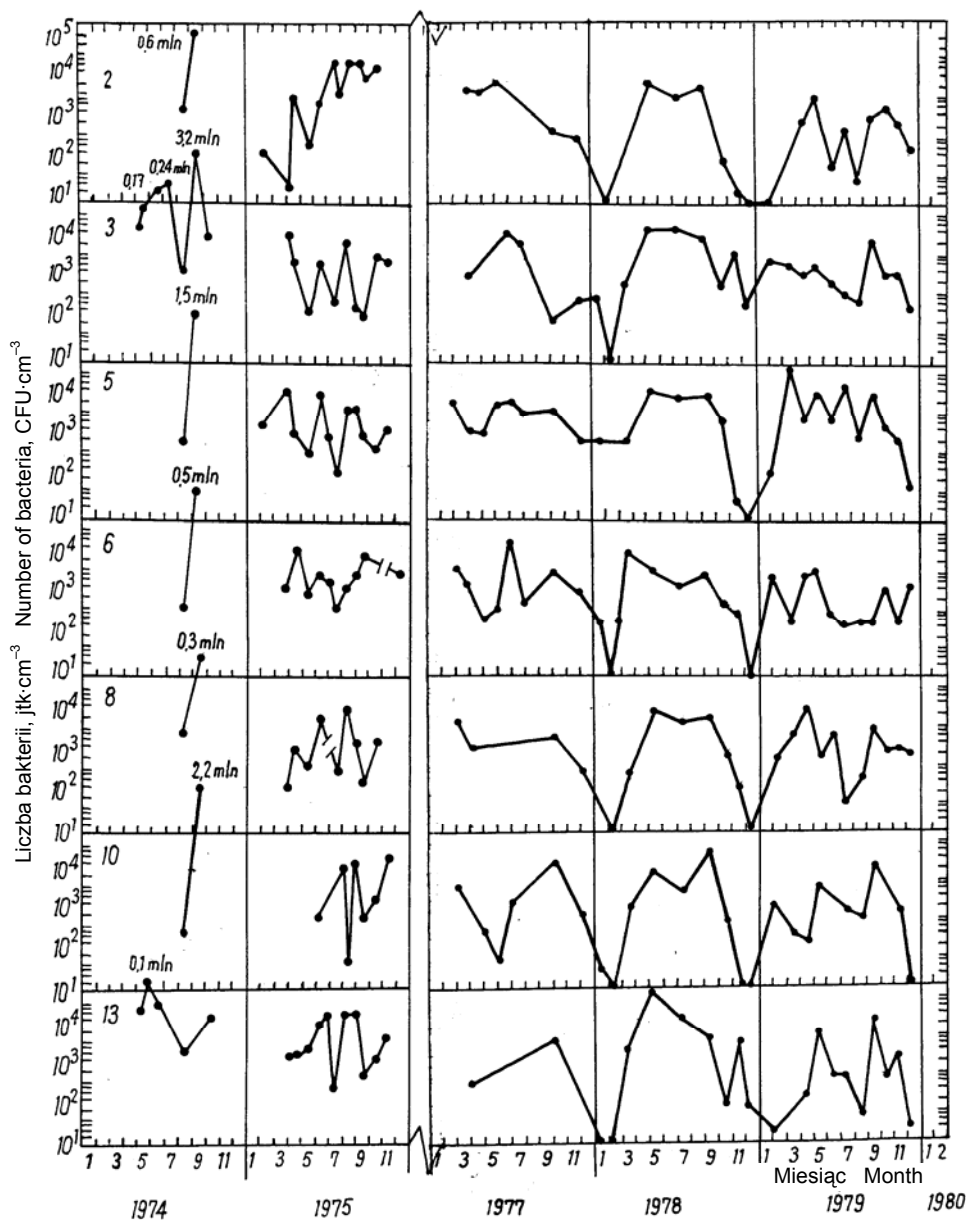
Studzienka Well	Liczebność w latach Number in years						
	1974	1975	1976	1977	1978	1979	1974–1980
2	<u>321 000</u>	<u>5 260</u>	–	<u>5 200</u>	<u>3 400</u>	<u>1 200</u>	–
	2 200–640 000	20–20 000	–	450–10 000	0–11 000	0–4 600	0–640 000
3	<u>534 000</u>	<u>4 100</u>	–	<u>5 800</u>	<u>7 300</u>	<u>2 400</u>	–
	1 300–3 200 000	165–14 000	–	100–18 200	0–24 400	325–11 400	0–3 200 000
5	<u>760 000</u>	<u>5 800</u>	–	<u>4 900</u>	<u>6 800</u>	<u>12 300</u>	–
	1 000–1 520 000	210–21 600	–	970–10 000	365–20 400	76–70 400	70–1 520 000
6	<u>260 000</u>	<u>3 600</u>	–	<u>4 700</u>	<u>3 100</u>	<u>1 850</u>	–
	600–520 000	730–16 400	–	250–23 800	0–15 600	220–6 000	0–520 000
8	<u>162 000</u>	<u>4 000</u>	–	<u>3 100</u>	<u>2 900</u>	<u>1 500</u>	–
	3 900–320 000	140–18 000	–	1 700–7 900	0–11 600	55–4 500	0–320 000
10	<u>1 120 000</u>	<u>24 200</u>	–	<u>3 400</u>	<u>8 500</u>	<u>1 800</u>	–
	900–2 240 000	40–162 500	–	30–14 200	0–29 600	10–11 300	0–2 240 000
13	<u>620 000</u>	<u>8 100</u>	–	<u>2 500</u>	<u>12 500</u>	<u>2 200</u>	–
	2 200–3 520 000	385–26 000	–	360–4 700	0–82 500	18–12 900	0–3 520 000

Objaśnienia, jak pod tabelą 1.

¹⁾ Jak pod tabelą 1.

Explanations as in Tab. 1.

¹⁾ As in Tab. 1.



Rys. 4. Sezonowe zmiany liczebności bakterii oligonitrofilnych w wodzie glebowo-gruntowej zlewni jeziora Bartąg w latach 1974–1980; 2–13 – jak na rysunku 1.

Fig. 4. Seasonal changes in the numbers of oligonitrophilic bacteria in tile drainage water of the Lake Bartąg catchment basin in 1974–1980; 2–13 – as in Fig. 1.

Wyniki obliczeń statystycznych świadczą o wysoce istotnej ($p < 0,01$) dodatniej współzależności między liczbą bakterii wiążących azot atmosferyczny w warunkach tlenowych w wodzie glebowo-gruntowej zlewni jeziora Bartąg pobieranej ze wszystkich studzienek a ich liczebnością w wodzie pelagialu tego zbiornika oraz między liczbą bakterii oligonitrofilnych w wodzie glebowo-gruntowej zlewni jeziora Bartąg pobieranej ze studzienek 2., 6., 8., 10. i 13. a liczbą tych bakterii w wodzie pelagialu jeziora Bartąg i w wodzie cieką powierzchniowego dopływającego do tego zbiornika (tab. 4). W innych przypadkach współzależność między liczbą bakterii wiążących azot atmosferyczny w warunkach tlenowych i bakterii oligonitrofilnych w tych biotopach była nieistotna. Nie stwierdzono również wysoce istotnej współzależności między liczbą bakterii wiążących azot atmosferyczny w warunkach beztlenowych w wodzie glebowo-gruntowej zlewni jeziora Bartąg a ich liczebnością w wodzie pelagialu tego zbiornika i w wodzie cieką powierzchniowego do niego dopływającego. Również współzależność między liczbą badanych grup fizjologicznych bakterii a sumą opadów deszczu z 2 i 7 dni przed pobieraniem próbek wody glebowo-gruntowej w zlewni była statystycznie nieistotna. W związku z powyższym nie zamieszczono wyników obliczeń odpowiednich współczynników korelacji.

Tabela 4. Wartości współczynników korelacji r między liczbą bakterii wiążących azot atmosferyczny w warunkach tlenowych (a) i bakterii oligonitrofilnych (b) w wodzie glebowo-gruntowej zlewni jeziora Bartąg a ich liczbą w wodzie pelagialu tego zbiornika i w wodzie cieką powierzchniowego drenującego jego zlewnię

Table 4. Correlation coefficients r between the number of aerobic nitrogen-fixing bacteria (a) and oligonitrophilic bacteria (b) in tile drainage water of the Bartąg Lake catchment basin and in the water of the Bartąg Lake and water of stream inflowing to the lake

Studzienka Well	Współczynnik korelacji Correlation coefficient			
	jezioro lake		ciek stream	
	a $n = 55$	b $n = 43$	a $n = 55$	b $n = 43$
2	0,6821–0,9970 ¹⁾	0,6517–0,7033 ¹⁾	n.i.	0,8989
3	0,6836–0,9961	n.i.	n.i.	0,4218
5	0,6823–0,9966	n.i.	n.i.	0,5025
6	0,6824–0,9970	0,4692–0,5336	n.i.	0,7960
8	0,6817–0,9936	0,9972–0,9994	n.i.	0,9303
10	0,6813–0,9938	0,9722–0,9903	n.i.	0,9715
13	0,6812–0,9908	0,6252–0,6820	n.i.	0,8942

Objaśnienia: n.i. – korelacja nieistotna ($p < 0,01$); 2–13 – studzienki; n – liczebność próbek.

¹⁾ Zakres wartości w wodzie pobieranej z głębokości 0,3 i 6,0 m oraz z nad dna na stanowiskach I i II jeziora Bartąg.

Explanation: n.i. – insignificant correlation (at $p < 0.01$); 2–13 wells; n – number of samples.

¹⁾ Range of values for water taken from a depth 0.3 and 6.0 m and from near the bottom of the Bartąg Lake at sites I and II.

DYSKUSJA WYNIKÓW

Typowe bakterie wiążące azot atmosferyczny w warunkach tlenowych (*Azotobacter sp.* i in.) i beztlenowych (*Clostridium pasteurianum*) w wodzie glebowo-gruntowej zlewni jeziora Bartąg były najczęściej 100-krotnie liczniejsze niż w wodzie pelagialu tego zbiornika [NIEWOLAK, FILIPKOWSKA, KORZENIEWSKA, 2005b]. Maksymalne ich liczebności stwierdzone okresowo w 1974 r. były skojarzone z maksymalnymi liczebnościami innych grup fizjologicznych bakterii cyklu azotowego [NIEWOLAK, 2003, 2006; NIEWOLAK, TUCHOLSKI, 2001] i bakterii wskaźnikowych stanu sanitarnego [NIEWOLAK, FILIPKOWSKA, KORZENIEWSKA, 2005a] w odpowiednich próbkach wód glebowo-gruntowych, w wodzie pelagialu jeziora Bartąg i w wodzie ciekłu powierzchniowego drenującego tę zlewnię [NIEWOLAK, FILIPKOWSKA, KORZENIEWSKA, 2005b]. Prawdopodobnie było ono związane z wymywaniem bakterii z gleb po opadach deszczu o charakterze burzowym, jak np. w lipcu 1974 r. (suma opadów deszczu z 2 i 7 dni przed pobieraniem próbek wody glebowo-gruntowej wynosiła odpowiednio 16 i 34 mm). Wpływ opadów deszczu na wymywanie bakterii z gleby do wód gruntowych jest znany również z innych prac, dotyczących sanitarno-bakteriologicznych aspektów zanieczyszczenia [EVANS, OWENS, 1973; PATNI i in., 1984; NIEWOLAK, SOLARSKI, 1987; SHARMA, MC INERNEY, KNAPP, 1993; STODDARD, COINE, CROVE, 1998]. Zmniejszenie liczebności tych drobnoustrojów w następnych latach mogło mieć związek z „zalaniami” się produkcji zwierzęcej i roślinnej spowodowanym trudnościami na rynku nawozów mineralnych, a tym samym zmniejszeniem się zużycia na grunty orne i użytki zielone.

W rozmieszczeniu bakterii wiążących azot atmosferyczny w warunkach tlenowych i beztlenowych oraz bakterii oligonitrofilnych znaczenie mają dostępność źródeł węgla i energii [ROVIRA, 1965], zasadowy odczyn gleby, uwilgotnienie i pora roku [ALEXANDER, 1961; KNOWLES, 1980]. Różnice w liczebności badanych bakterii cyklu azotowego w wodzie glebowo-gruntowej zlewni jeziora Bartąg pobieranej z poszczególnych studzienek mogły mieć związek z ich usytuowaniem w terenie, różnicami właściwości gleb (stopień agregacji jej cząstek, wielkość makroporów, zdolność do adsorpcji i desorpcji bakterii podczas opadów) oraz zmiennością powierzchniową i pionową utworów geologicznych zlewni [KORYBUT-DASZKIEWICZ, 1974; NIEWOLAK, TUCHOLSKI, 2001]. Czynnikiem modyfikującym ich liczebność mogły być: poziom wód glebowo-gruntowych (zmienny w ciągu roku hydrologicznego), nawożenie organiczne (większe na glebach użytkowanych przez rolników indywidualnych) i mineralne (większe na glebach użytkowanych przez zakład doświadczalny) [KALIŃSKA, 1984], sposób użytkowania gruntów (orne, kośno-pastwiskowe), rodzaj upraw (zboża, okopowe, rzepak) zmieniający się w kolejnych latach, a ponadto różnice w składzie chemicznym i stopniu mineralizacji wód glebowo-gruntowych czy też pH. Na przykład, wśród dwóch studzienek odwierconych na wierzchowinach więcej bakterii wiążących azot atmosferyczny

ryczny w warunkach tlenowych stwierdzano w wodzie ze studzienki 5. (pH 7,3–7,9, sucha pozostałość 437–657 mg·dm⁻³, przewodnictwo elektrolityczne 662–718 μS·cm⁻¹), mniej w wodzie ze studzienki 10. (pH 5,4–5,9, sucha pozostałość 178–323 mg·dm⁻³, przewodnictwo elektrolityczne 277–301 μS·cm⁻¹). Poziom wody glebowo-gruntowej w tych studzienkach wynosił odpowiednio 78–252 cm i 140–197 cm. Woda z tych studzienek zawierała mniej więcej jednakową ilość N-NH₄ (0,15 i 0,21 mg·dm⁻³) i N (III) (0,003 i 0,001 mg·dm⁻³) oraz jednakowo dużą ilość N (V) (4,90 i 5,31 mg·dm⁻³) i N_{og} (6,11 i 6,05 mg·dm⁻³) [KALIŃSKA, 1984]. Występowały natomiast różnice zawartości fosforu mineralnego (odpowiednio 0,395 i 0,167 mg·dm⁻³) i fosforu ogólnego (odpowiednio 0,550 i 0,340 mg·dm⁻³) [ONISZCZUK, 1985]. W wodzie ze studzienek odwierconych w zagłębieniach terenu, np. 2. i 13., gdzie poziom wód glebowo-gruntowych wynosił odpowiednio 5–88 i 8–78 cm, nadmierne uwilgotnienie powinno sprzyjać warunkom beztlenowym, odpowiadającym bakteriom wiążącym azot atmosferyczny z rodzaju *Clostridium* (*Clostridium pasteurianum*). W 1974 r. liczba tych bakterii była tutaj 10–100-krotnie większa niż w wodzie ze studzienek 5. i 10., odwierconych na wierzchowinach. W latach 1975–1979 różnice te nie były tak jednoznaczne.

Sezonowe zmiany liczebności badanych grup fizjologicznych bakterii wiążących azot atmosferyczny i bakterii oligonitrofilnych w wodzie glebowo-gruntowej zlewni jeziora Bartąg były związane z wiosennymi roztopami, opadami deszczu latem i jesienią oraz z większą ilością substancji organicznej dostającą się do gleby z resztkami pożywnymi.

Porównanie krzywych liczebności badanych bakterii wiążących azot atmosferyczny i oligonitrofilnych w wodzie glebowo-gruntowej zlewni jeziora Bartąg z krzywymi liczebności odpowiednich bakterii w wodzie pelagialu tego zbiornika i w wodzie ciekłu powierzchniowego drenującego tę zlewnię [NIEWOLAK, FILIPKOWSKA, KORZENIEWSKA, 2005b], jak też wysoce istotna współzależność między liczbą odpowiednich bakterii w tych biotopach sugeruje wyraźny wpływ zlewni rolniczej tego obszaru na jezioro.

WNIOSKI

1. Bakterie wiążące azot atmosferyczny w warunkach tlenowych (*Azotobacter* sp. i in.) występowały z reguły liczniej (5–10-krotnie) w wodzie glebowo-gruntowej zlewni jeziora Bartąg pobieranej ze studzienki 5., odwierconej na wierzchowinie, niekiedy również w wodzie ze studzienki 6., usytuowanej w zagłębieniu terenu. Bakterie wiążące azot atmosferyczny w warunkach beztlenowych (*Clostridium pasteurianum*) były liczniejsze w wodzie ze studzienek odwierconych w zagłębieniach terenu, a bakterie oligonitrofilne w wodzie ze studzienek 5. i 10. (na wierzchowinach).

2. Bakterie wiążące azot atmosferyczny w warunkach tlenowych i bakterie oligonitrofilne występowały w badanych próbkach wody glebowo-gruntowej z reguły liczniej latem i jesienią, a bakterie wiążące azot atmosferyczny w warunkach bez-tlenowych – wiosną i/lub latem, rzadziej jesienią i wyjątkowo zimą. Sezonowe zmiany ich liczebności były spowodowane m. in. opadami deszczu, ciągłymi lub burzowymi, po których nierzadko notowano maksymalne wartości.

3. Stwierdzono wysoce istotną dodatnią współzależność ($p < 0,01$) między liczbą bakterii wiążących azot atmosferyczny w warunkach tlenowych i oligonitrofilnych w wodzie glebowo-gruntowej zlewni jeziora Bartąg i w wodzie pelagialu tego zbiornika, a w przypadku azotobaktera – również w wodzie ciekłu drenującego tę zlewnię. Brak było takich zależności między sumą opadów atmosferycznych z 2 i 7 dni przed pobieraniem próbek wody do badań a liczebnością tych drobnoustrojów, jak też między liczbą bakterii wiążących azot atmosferyczny w warunkach beztlenowych.

Praca wykonana w ramach zlecenia Instytutu Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa w Puławach.

LITERATURA

- ACEA M.J., CARBALLAS T., 1988. The influence of cattle slurry on soil microbial population and nitrogen cycle microorganisms. *Biol. Wastes* 23 s. 229–241.
- ACEA M.J., CARBALLAS T., 1990. Principal components analysis of the soil microbial population of humic zone of Galicia (Spain). *Soil Biol. Biochem.* 22 s. 749–759.
- ALEXANDER M. J., 1961. *Introduction to soil microbiology*. New York: John Wiley Sons Inc. ss. 472.
- EVANS M.R., OWENS J.D., 1973. Soil bacteria in land-drainage water. *Water Res.* 7 s. 1295–1300.
- KALIŃSKA M., 1984. Dynamika zawartości form azotu w wodach glebowo-gruntowych zlewni jeziora Bartąg. Olsztyn: UWM maszyn. ss. 36.
- KNOWLES R., 1980. Nitrogen fixation in natural plant communities and soil. W: *Methods for evaluating biological nitrogen fixation*. Pr. zbior. Red. F.S. Begerson. New York: John Wiley Sons Inc. s. 557–582.
- KNOWLES R., 1982. Free-living dinitrogen fixing bacteria. W: *Methods of soil analysis*. P. 2. Chemical and microbiological properties. Pr. zbior. Red. A.L. Page, W.I. Miller. Madison, WI: Am. Soc. Agron. s. 1091–1098.
- KORYBUT-DASZKIEWICZ S., 1974. Wahania stanu zwierciadła i dynamika form azotu i fosforu w wodach gruntowych zlewni jeziora Bartąg. Olsztyn: UWM maszyn. ss. 29.
- MEYNELL G. G., MEYNELL E., 1970. *Theory and practice in experimental bacteriology*. Wyd. 2. Cambridge: Univ. Press. ss. 347.
- NIEWOLAK S., 2003. Sezonowe zmiany liczebności chemoautotroficznych bakterii nityfikacyjnych w wodach glebowo-gruntowych zlewni jeziora eutroficznego. *Rocz. Gleb.* 54 s. 125–136.
- NIEWOLAK S., 2006. Bakterie redukujące azotany do azotynów i denitryfikacyjne w wodzie glebowo-gruntowej zlewni jeziora eutroficznego. *Woda Środ. Obsz. Wiej.* t. 6 z. 2 (18) s. 255–269.
- NIEWOLAK S., FILIPKOWSKA Z., KORZENIEWSKA E., 2005a. Bacteriological assays of the soil and ground waters, from the catchments of a eutrophic lake. *Acta Univ. Nicolai Copernici Limnol. Papers* 25 s. 123–136.

- NIEWOLAK S., FILIPKOWSKA Z., KORZENIEWSKA E., 2005b. Presence of nitrogen cycle bacteria in water of a eutrophic lake (Lake Bartag) planned to supply the Olsztyn municipal waterworks. *Acta Univ. Nicolai Copernici. Limnol. Papers* 25 s. 85–103.
- NIEWOLAK S., KOC J., 1995. Microbiological studies on soils fertilized with pig slurry. *Pol. J. Env. St.* 4 s. 41–47.
- NIEWOLAK S., SOLARSKI H., 1987. Fecal coliform discharge from Lake Bęskie watershed. *Ekol. Pol.* 35 s. 639–654.
- NIEWOLAK S., TUCHOLSKI S., 2001. Bakterie mineralizujące organiczne związki azotu w wodzie glebowo-gruntowej zlewni jeziora eutroficznego. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* z. 478 s. 275–286.
- NIEWOLAK S., TUCHOLSKI S., PIECHOTA M., PRZEDZIAK M., 2001. Drobnoustroje czynne w obiegu azotu w glebach łąkowych nawadnianych odpływami z mechaniczno-biologicznej oczyszczalni ścieków. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* z. 475 s. 33–48.
- ONISZCZUK I., 1985. Dynamika zawartości form fosforu w wodach glebowo-gruntowych zlewni jeziora Bartag. Olsztyn: UWM maszyn. ss. 42.
- PATNI N. K., TOXOPEUS R., TENNANT A. D., HORE F. R., 1984. Bacterial quality of tile drainage water from manured and fertilized cropland. *Water Res.* 18 s. 127–132.
- POSTGATE J. R., 1984. The sulphate-reducing bacteria. Wyd. 2. Cambridge: Univ. Press ss. 151.
- RODINA A. G., 1968. Mikrobiologiczne metody badania wód. Warszawa: PWRiL ss. 468.
- ROVIRA A., D., 1965. Interactions between plant roots and soil microorganisms. *Ann. Rev. Microbiol.* 19 s. 241–266.
- SHARMA P. K., MCINERNEY M. J., KNAPP R. M., 1993. In situ growth and activity and modes of penetration of *Escherichia coli* in unconsolidated porous materials. *Appl. Env. Microbiol.* 59 s. 3686–3694.
- STODDARD C. S., COYNE M. S., CROVE J. H., 1998. Fecal bacteria survival and infiltration through a shallow agricultural soil: timing and tillage effects. *J. Env. Qual.* 27 s. 1516–1523.

Stanisław NIEWOLAK

SPATIAL DISTRIBUTION AND SEASONAL CHANGES OF THE NUMBER OF NITROGEN-FIXING (FREE LIVING) AND OLIGONITROPHILIC BACTERIA IN TILE DRAINAGE WATER OF EUTROPIC LAKE CATCHMENT BASIN

Key words: agricultural catchment, nitrogen-fixing bacteria, oligonitrophilic bacteria, tile drainage waters

S u m m a r y

The number of aerobic nitrogen-fixing bacteria (*Azotobacter sp.* and others) and anaerobic nitrogen-fixing bacteria (*Clostridium pasteurianum*) and oligonitrophilic bacteria in tile drainage water of a eutrophic Lake Bartag catchment basin situated near Olsztyn was examined. The studies were carried out in 6 consecutive annual cycles (in 1974–1980) on water collected from piezometric wells situated in a land depression and on a hilltop. Besides, wells were differentiated by their localization in arable soils, meadow soils and by the level of tile drainage depth. Aerobic bacteria (*Azotobacter sp.* and others) and oligonitrophilic bacteria predominated in tile drainage water of an agricultural catchment of Bartag Lake. The number of anaerobic nitrogen-fixing bacteria (*Clostridium pasteurianum*) was at least 10 times lower. Aerobic nitrogen-fixing bacteria and oligonitrophilic bacteria were more

numerous in tile drainage water collected from wells on hilltops, whereas anaerobic nitrogen-fixing bacteria were generally more numerous in waters from land depressions. More such microorganisms were sometimes found after rainstorms. Statistical calculations showed significant ($p < 0.01$) positive correlation only between the number of aerobic nitrogen-fixing bacteria (*Azotobacter sp.* and others) and oligonitrophilic bacteria in tile drainage water of Bartąg Lake catchment basin and their numbers in pelagic water of this reservoir. In the case of oligonitrophilic bacteria the relationship was also significant for water of a stream flowing to the lake.

Recenzenci:

prof. dr hab. Stefan Russel

dr inż. Bożena Szejniuk

Praca wpłynęła do Redakcji 25.10.2006 r.