

MARIAN GÓRSKI

 , OLGIERD NOWOSIELSKI, JADWIGA LEKSTON

DALSZE STUDIA NAD OZNACZANIEM MAGNEZU ZA POMOCĄ *ASPERGILLUS NIGER*

Zakład Chemii Rolniczej SGGW Warszawa

Nasze dalsze studia nad oznaczaniem magnezu za pomocą *Aspergillus niger* podzielone zostały na dwie części. Pierwsza przedstawia kontynuację badań nad przydatnością *A. niger* do oznaczania magnezu w roztworach i roślinie [5, 6]. Część druga przedstawia dalsze badania nad oznaczaniem magnezu dostępnego w glebie.

CZĘŚĆ I

OZNACZANIE MAGNEZU W ROZTWORACH I ROŚLINIE

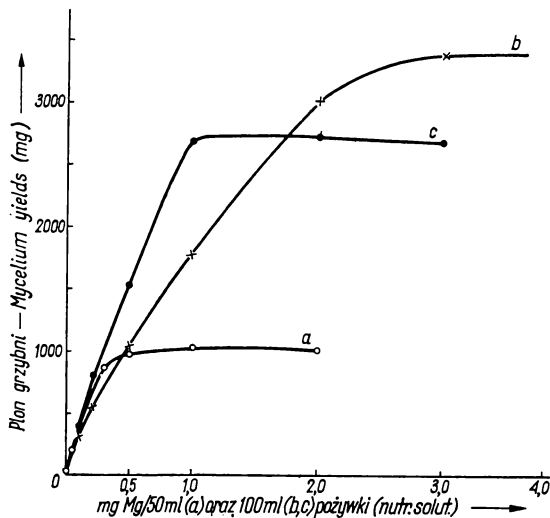
OZNACZENIE MAGNEZU W ROZTWORACH

Zakres i dokładność metody. W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że zakres metody zależy od stężenia składników w pożywce¹ i od ilości pożywki (rys. 1). Stosując 100 ml pożywki o po-

¹ Pożywka do oznaczania Mg musi zawierać wszystkie potrzebne dla grzyba pierwiastki prócz magnezu, a więc również i siarkę. Może ona mieć skład taki, jaki podałem w poprzedniej pracy (Roczn. Glebozn. t. 8, 1959, s. 117), tzn. zawiera w 1 litrze wody destylowanej: 50 g cukru, 20 g taniny, 5 g KNO₃, 2,5 g K₂HPO₄ oraz 1 g Na₂SO₄ plus mikropożywka.

Opisując tę metodę we wcześniejszej pracy (ale ogłoszonej później w Roczn. Glebozn., t. 9, 1960, s. 89—102) pominąłem w pożywce przez przeoczenie sól siarkową. Przez przeoczenie też pominąłem ją w wydrukowanym referacie (Zeszyty Probl. Postępów Nauk Roln., nr 34, s. 203). Za zwrócenie na to uwagi jestem bardzo zobowiązany prof. drowi T. Lityńskiemu i drowi A. Domniczowi. Jednocześnie chciałbym wyjaśnić, że we wszystkich dotychczasowych pracach własnych oraz wykonanych wraz z M. Górskim, J. Lekston i J. Siutą, ogłoszonych w Roczn. Glebozn. lub Roczn. Nauk Roln., a również i w tej pracy stosowaliśmy zawsze do oznaczania magnezu pożywkę zawierającą 1 g Na₂SO₄ w 1 litrze. Dowodem tego są m.in. wysokie plony grzybni (często przeszło 1 g s.m. z 50 ml pożywki) wzorców z dawkowaniem MgCl₂ oraz wysokie plony grzybni w przypadku większych stężeń magnezu w badanym materiale.

dwójnym stężeniu składników można oznaczyć przeszło 2 mg magnezu, a więc ilość 4 razy większą niż w warunkach uprzednio opisanych [6], tzn. przy 50 ml pożywki o normalnym stężeniu. W podanych warunkach błąd metody wynosi średnio 3—4% (tabl. 1 a i 1 b). Mniejszą dokładność (7—8,8%) przy małym stężeniu magnezu można przypisać niedokładności dozowania magnezu.



Rys. 1. Zakres metody oznaczania Mg w zależności od stężenia pożywki:

a — 1-krotne stężenie, b — 2-krotne stężenie, c — 2-krotne stężenie tylko cukru (100 g na liter)

Range of method for Mg determination as dependent on nutrient solution concentration

a — 1× concentr., b — 2× concentr., c — only sugar 2× concentrated (100 g/l)

Zwiększenie zakresu metody może mieć znaczenie w przypadku oznaczenia dostępnego magnezu wprost w nawozach lub glebie albo w przypadkach, gdy zachodzi potrzeba zwiększenia odważki badanego materiału.

Porównanie z metodą kolorymetryczną. W roztworach nawozów i spielonych roślin stwierdzono metodą *A. niger* podobne zawartości magnezu, co metodą kolorymetryczną [5]; różnice między wynikami obu metod wyniosły średnio $\pm 6\%$, można więc uważać, że pozostają w granicach błędów metod (tabl. 2). Również metodą *A. niger* odnajduje się dodane uprzednio do roztworów znane ilości magnezu z podobną dokładnością, co metodą kolorymetryczną (tabl. 3).

Wpływ wapnowania na wyniki oznaczeń magnezu. Ostatnio Domniewicz [1] doniósł o dodatnim wpływie wapnia przy pew-

nych stężeniach magnezu w pożywce na wzrost grzybni. Ponieważ tego rodzaju działanie wapnia może przeszkadzać w oznaczaniu magnezu, zbadano wpływ wzrastających dawek wapnia przy różnym stężeniu magnezu w pożywce na wzrost grzybni w warunkach uproszczonej metody [6]. Dawkowano tylko te sole wapnia, w których nie stwierdzono zanieczyszczeń magnezem ($\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).

T a b l i c a 1

Dokładność oznaczeń magnezu przy różnym zakresie metody
The accuracy of magnesium determination at different range of method

a/ Pożywka o pojedynczym stężeniu składników
Nutrient solution with single concentration of nutrients

Stężenie Mg w pożywce Mg concentration in nutrient solution mg/50 ml	Plon s.m. grzybni - mycelium yields d.m. mg											
	powtórzenia - replications										\bar{X}	średnie odchylenie average deviation
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0,05	155	161	165	166	168	180	190	194	198	-	175	± 13 (7%)
0,3	480	507	508	512	517	527	531	531	536	546	520	± 14,7 (2,8%)

b/ Pożywka o podwójnym stężeniu składników
Nutrient solution with double concentration of nutrients

Stężenie Mg w pożywce Mg concentration in nutrient solution mg/100 ml	Plon s.m. grzybni - mycelium yields d.m. mg							
	powtórzenia - replications						\bar{X}	średnie odchylenie average deviation
	1	2	3	4	5	6		
0,025	116	119	120	122	126	130	122	± 4 - 3,2%
0,05	168	181	182	184	207	228	191	± 17 - 8,8%
0,075	304	334	337	-	-	-	325	± 14 - 4,3%
1,0	1800	1828	1860	1860	1921	1956	1870	± 45 - 2,4%
2,0	2973	3058	3066	3082	3173	3326	3113	± 90 - 2,8%

Stężenia wapnia dochodzące do 2 mg Ca/50 ml pożywki nie wywarły żadnego wpływu na wzrost grzybni przy którymkolwiek z badanych stężeń magnezu (rys. 2). Dużo większe stężenia wapnia (20—50 mg Ca w 50 ml pożywki) zwiększyły nieznacznie, bo tylko o około 7% plon grzybni,

T a b l i c a 2

Biologiczne i kolorymetryczne oznaczanie magnezu w roztworach spalonych roślin
i w innych materiałach
Biological and colorimetric determination of magnesium content in the solutions
of burnt plants and others materials

Analizowany materiał Analysed material	Zawartość Mg - Mg content mg/100 g		
	met. A.niger A.niger method a	met. koloryme- tryczna tittan yellow method b	różnica difference (a - b) % (a = 100)
Ognicha - Charlock	365	400	+ 8
Jęczmień - ziarno - Barley - grain	255	250	- 2
Pszenica - pędy - Wheat - stems	135	147	+ 8
Pszenica - pędy - Wheat - stems	165	160	- 3
Pszenica - korzeń - Wheat - roots	222	218	- 2
Owies - słoma - Oat - straw	135	125	- 8
Sól potasowa 40% - Potassium salt 40%	1000	1175	+ 14
Sól potasowa 40% - Potassium salt 40%	475	497	+ 4
Serpentynit surowy - Serpentinot not treated	165	150	- 10
Serpentynit surowy - Serpentinot not treated	475	450	- 5
Średnio - Average			± 6

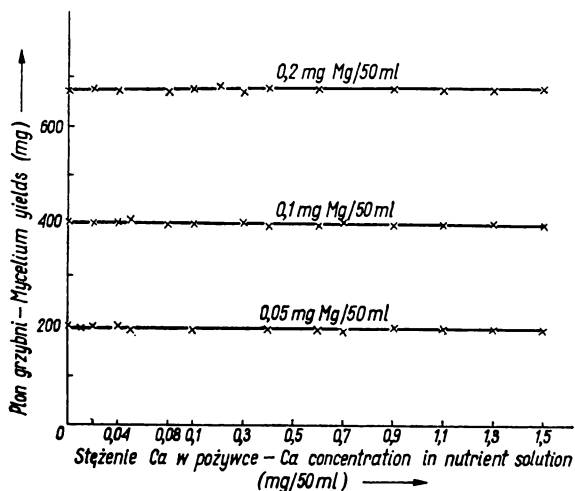
T a b l i c a 3

Odnajdywanie magnezu w różnych roztworach metodą A.niger i metodą kolorymetryczną
The magnesium recovery in different solutions by A.niger and colorimetric
method-tittan yellow

Roztwór wodny Water solution	Ilość odnalezionego Mg Mg recovery %	
	met. A.niger	met. kolorym. colorimetr.meth.
Popiołu ognichy - Of charlock ash	106	110
Popiołu pszenicy - Of wheat ash	118	105
Popiołu pszenicy - Of wheat ash	102	85
Popiołu liści owsa - Of oat leaves ash	107	100
Popiołu ziarna jęczm. - Of barley grain ash	100	105
Soli potasowej - Potassium fertilizer salt	102	100
Kainitu - Of kainit	95	95
Kainitu - Of kainit	97	90

jedynie przy stężeniu magnezu 0,1 mg/50 ml pożywki, odpowiadającemu średniemu plonowi grzybni (tabl. 4, rys. 3)

Na podstawie uzyskanych wyników wydaje się, że przy stosunku Ca/Mg występującym zwykle w roślinie wapń nie może w ogóle wpływać



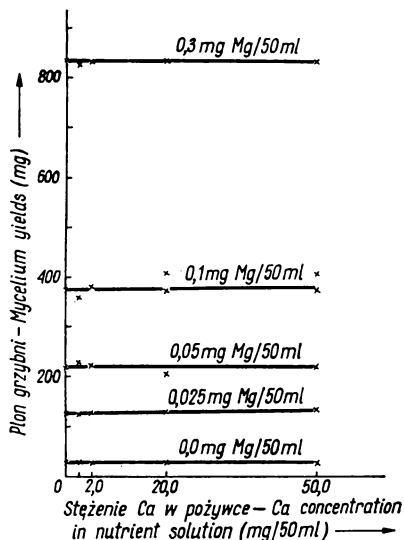
Rys. 2. Wpływ wzrastających stężeń Ca przy różnych stężeniach Mg w pożywce na plony grzybni *A. niger*
Influence of increasing Ca concentrations at different Mg concentrations in nutrient solution on the *A. niger* yields

na wyniki oznaczeń magnezu. Przy stosunku Ca/Mg w badanym materiale jak 10 : 1 lub większym wapń może co najwyżej nieznacznie zwiększyć wyniki oznaczeń magnezu i to tylko przy pewnych stężeniach magnezu w pożywce.

T a b l i c a 4

Wpływ różnych stężeń wapnia przy różnym stężeniu magnezu w pożywce na plony grzybni *A. niger*
The influence of different calcium concentrations at different magnesium concentrations in nutrient solution on the mycelium yields of *A. niger*

Stężenie Mg w pożywce Mg concentration in nutrient solution mg/50 ml.	Stężenie Ca w pożywce - Ca concentr. in nutr. sol. mg/50 ml			
	0	2	20	50
	plon s.m. grzybni - mycelium yields mg			
0	24, 24, 31	25, 26, 32	21, 23, 26	21, 24, 24
0,025	115, 123, 135	121, 125, 131	125, 133, 136	134, 135, 149
0,05	199, 221, 229	228, 228, 233	193, 197, 207	212, 214, 221
0,1	365, 376, 382	365, 370, 384	414, 414, 418	407, 412, 413
0,3	885, 894, 936	843, 852, 871	840, 860, 896	760, 765, 778



Rys. 3. Wpływ dużych stężeń Ca przy różnych stężeniach Mg w pożywce na plony grzybni *A. niger*
Influence of increasing Ca concentrations at different Mg concentrations in nutrient solution on the *A. niger* yields

OZNACZENIE MAGNEZU WPROST W ROŚLINIE

Ustalenie okresu wzrostu grzybni. Badając w poprzednich pracach możliwość oznaczania magnezu i innych pierwiastków wprost w substancji roślinnej obserwowano stymulujący wpływ jej na wzrost

Tablica 5

Wpływ czasu wzrostu grzybni na wyniki oznaczeń zawartości magnezu wprost w materiale roślinnym
The influence of growth period of fungus on the results of magnesium content determination right in plant material

Roślina - Plant 20 mg/50 ml pożywki nutr. solution	Rodzaj materiału roślinnego Kind of plant material	Zawartość Mg w roślinie Mg content in plant mg/100 g		
		czas wzrostu grzybni w dobach growth period of mycelium in days		
		2,5	3,0	4,0
Kukurydza - ziarno Maize - grain	nie spopiel. - not ashed	111,6	120,0	-
	spopiel. - ashed	120,0	128,0	-
Pasola - liście Bean - leaves	nie spopiel. - not ashed	156,6	166,6	
	spopiel. - ashed	150,0	150,0	
Marchew - liście Carrot - leaves	nie spopiel. - not ashed	186,6	211,6	
	spopiel. - ashed	188,3	191,6	
Koniczyna - łodygi Red clover - stems	nie spopiel. - not ashed	250,0	210,0	210,0
	spopiel. - ashed	207,0	210,0	210,0
Łubin - łodygi Lupin - stems	nie spopiel. - not ashed	342,0	266,0	265,0
	spopiel. - ashed	222,0		230,0

grzybni w początkowym okresie [2, 8]. W tej pracy usiłowano ustalić termin, kiedy wpływ ten staje się nieistotny, aby ustalić właściwy termin sprzętu grzybni. W tym celu hodowano grzybnie na pożywce z odważkami spoielonymi i nie spoielonymi dokonując sprzętu równoległych grzybni w odstępach czasu (tabl. 5 i 6). W takich samych odstępach czasu sprzątnięto grzybnie wzorca.

W wyniku stymulującego działania substancji roślinnej na wzrost grzybni w pierwszym i jeszcze drugim dniu wprost w odważkach roślinnych stwierdzono więcej magnezu niż w odważkach spoielonych. W trzecim dniu różnice te się zacierały. Wydaje się więc, że za właściwy okres wzrostu grzybni przy oznaczaniu magnezu wprost w substancji roślinnej można by przyjąć 3—3,5 doby.

T a b l i c a 6

Wpływ różnego traktowania materiału roślinnego na wyniki oznaczeń zawartości magnezu metodą *A. niger*

The influence of different treatment of plant material on the results of determining magnesium content by *A. niger* method

Roślina Plant	Czas wzrostu grzybni Growth period of mycelium doby days	Plon grzybni - Mycelium yields mg		
		materiał roślinny - plant material		
		spoielony przed zalaniem pożywką ashed before adding to nutrient solution	nie spoielony, wprost zalany pożywką not ashed, directly added to nutr. solution	trzymany 2 godz. w 105°C przed zalaniem pożywką kept 2 hours in 105°C before adding to nutr. solution
Cykoria - liście Endive - leaves	1	67	103	126
	2	359	387	324
	3	568	578	600
Kapusta chińska Cabbage chin.	1	49	125	151
	2	359	443	475
	3	667	684	704
Selery - liście Celery - leaves	1	288	313	271
	2	844	886	738
	3	985	1060	1007
Papryka - pędy Pepper - stems	1	276	353	240
	2	862	894	620
	3	1072	1147	915
Jarmuż - liście Borecole - leaves	1	378	507	322
	2	794	923	848
	3	1025	1141	1008

Wpływ różnego traktowania zmielonej rośliny na wynik oznaczeń magnezu wprost w odważce. Przyuszczano, że stymulujące działanie substancji roślinnej na wzrost grzybni w początkowym okresie może być spowodowane obecnością w nie spopieleną substancji enzymów lub substancji wzrostowych. Próbowano usunąć działanie tych substancji przez ogrzewanie odważki roślin przed zalaniem jej pożywką (tabl. 6 i 7). Wynik był pozytywny tylko w przypadku części roślin, zatem przyczyna lepszego wzrostu grzybni w początkowym okresie na pożywce z odważką nie spopieleną pozostaje

T a b l i c a 7

Wpływ różnego traktowania zmielonej rośliny (liście kapusty) na oznaczenia zawartości magnezu metodą A.niger przy 3 dobach wzrostu
The influence of different treatment of ground plant (leaves of cabbage) on the results of magnesium determination by A.niger method (3 days of growth)

Plon s.m. grzybni w mg - Mycelium yields d.m. in mg					
zmielony materiał roślinny - ground plant material					
spopieleny ashed	nie spopieleny wprost żalany pożywką not ashed, added directly to nutr.s.	zwęglony carbonized	ogrzewany przez 1 godzinę w temp. heated during 1 hour in temp.:		
			200°C	400°C	400°C w stanie zwilżonym as wet
665 - 703	682 - 686 699 - 722	600 - 600 612 - 616	638 - 677 681 - 690	659 - 667 671 - 689	699 - 709 716 - 736
\bar{X} 684	697	607	671	671	714

T a b l i c a 8

Możliwość oznaczania zawartości magnezu metodą A. niger wprost w zielonych skrawkach rośliny
The possibility of use A. niger method for determining magnesium content right in shreds of green plant

Roślina - Plant	Odważka mg śwież. skrawków na 50 ml pożywki Aliquot of green shreds per 50 ml of nutr. solution mg	Skrawki świeżej rośliny Shreds of fresh green plant	Skrawki wysuszone i zmielone Shreds dried and ground
Kapusta - liście - Cabbage - leaves	220	209	223
Słonecznik - liść - Sunflower - leaf	148	223	228
Groch - pędy - Pea - stems	177	437	431
Pomidor - liście - Tomato plant - leaves	107	503	516

nie wyjaśniona. W trzeciej dobie nie stwierdzono istotnych różnic we wzroście grzybni w zależności od traktowania odważek. Jedynie na pożywce z odważką zwęgloną plon był dużo mniejszy niż przy odważce spopielionej; przypuszczalnie w wyniku zwęglenia część magnezu stała się niedostępna dla grzyba.

Możliwość oznaczania magnezu wprost w skrawkach roślin. Jednakowe skrawki liści i łodyg w jednym wariacie zalewano wprost pożywką, w drugim — przed zalaniem suszono i rozcierano. Niemal jednakowe plony grzybni (średnia z 3 powtórzeń — tabl. 8) obu wariantów wskazują na możliwość oznaczania magnezu wprost w skrawkach roślin.

CZĘŚĆ II

OZNACZANIE MAGNEZU DOSTĘPNEGO W GLEBIE

W badaniach tych uwzględniono nie wyjaśnione dostatecznie w poprzednich pracach [4, 5] zagadnienia metodyczne.

Dokładność oznaczeń magnezu dostępnego w glebie. Dokładność tę oceniono na podstawie oznaczeń magnezu dostępnego w 3 powtórzeniach w 66 różnych glebach (tabl. 9). Błąd oznaczeń wyniósł średnio od 5 do 15% (najczęściej 7%). Największy jest w przypadku gleb najuboższych w magnez dostępnym.

Powtarzalność wyników w czasie. Aby sprawdzić, w jakim stopniu wyniki są powtarzalne, oznaczono magnez dostępny dwukrotnie w tych samych próbkach w 3-miesięcznym odstępie czasu, stosując w obu terminach nową pożywkę i oddzielne wzorce (tabl. 10 — średnia z 2 powtórzeń). Różnice między wynikami z obu terminów wyniosły średnio 18% (po uwzględnieniu błędu pojedynczego oznaczenia — 10%).

Wielkość odważki gleby. W większości zbadanych gleb stwierdzono w przeliczeniu na jednakową ilość gleby podobne zawartości magnezu dostępnego niezależnie od wielkości odważki w granicach 0,5—3 g/50 ml pożywki, na przykład:

Odważka gleby	Zawartość Mg	Mg dost. w przeliczeniu
g/50	w odważce	na 100 g gleby
ml	mg	mg
0,5	0,020	4,0
1,0	0,037	3,7
2,0	0,080	4,0
3,0	0,120	4,0

Mimo to ze względu na porównywalność wyników powinno się stosować jednakową odważkę: 1—2 g na 50 ml pożywki. Niewielka zmiana

T a b l i c a 9

Dokładność oznaczeń magnezu dostępnego w glebie metodą A. niger
 The accuracy of magnesium available determinations in soil by A. niger method

Gleby Soils	Zawartość Mg dost. w glebie Mg avail. content in soil mg/100 g		Gleby Soils	Zawartość Mg dost. w glebie Mg avail. content in soil mg/100 g	
	średnia z 3 oznaczeń równol. average of 3 determinations paralel	średnie odchylenie average deviation %		średnia z 3 oznaczeń równol. average of 3 determinations paralel	średnie odchylenie average deviation %
1	0,2 ± 0,0	0	37	5,4 ± 0,6	11
2	0,4 ± 0,03	10	38	5,6 ± 0,26	5
3	0,5 ± 0,1	20	39	5,9 ± 0,23	4
4	0,5 ± 0,13	26	40	6,7 ± 1,5	22
5	0,6 ± 0,1	17	41	7,1 ± 0,1	1
6	0,7 ± 0,23	33	42	7,1 ± 0,6	8
7	0,7 ± 0,0	0	43	7,3 ± 0,23	3
8	0,8 ± 0,15	17	44	8,5 ± 0,7	8
9	0,8 ± 0,0	0	45	8,7 ± 1,0	12
	średnio	14	46	9,1 ± 0,03	0
			47	9,5 ± 0,0	0
10	1,1 ± 0,03	3		średnio	7
11	1,2 ± 0,0	0			
12	1,2 ± 0,1	8	48	10,1 ± 0,06	1
13	1,4 ± 0,25	16	49	12,8 ± 0,6	5
14	1,4 ± 0,1	7	50	13,3 ± 0,85	7
15	1,7 ± 0,0	0	51	13,5 ± 0,8	6
16	1,7 ± 0,03	2	52	14,2 ± 0,5	4
17	1,7 ± 0,25	14	53	16,0 ± 1,5	9
18	1,8 ± 0,3	17	54	16,5 ± 1,0	6
19	1,8 ± 0,0	0	55	17,4 ± 0,6	4
20	2,0 ± 0,5	25	56	18,0 ± 2,0	11
21	2,0 ± 0,0	0	57	19,0 ± 0,1	1
22	2,0 ± 0,2	10	58	19,2 ± 0,6	4
	średnio	8	59	19,7 ± 0,9	5
			60	21,2 ± 1,6	4
23	2,5 ± 0,0	0	61	23,7 ± 1,3	6
24	2,7 ± 0,4	14	62	24,8 ± 1,3	5
25	2,8 ± 0,1	4	63	24,9 ± 1,5	6
26	2,9 ± 0,26	9	64	25,5 ± 0,1	0
27	3,0 ± 0,16	5	65	27,3 ± 1,8	7
28	3,3 ± 0,3	10	66	48,0 ± 3,0	6
29	3,5 ± 0,03	1		średnio	5
30	3,6 ± 0,4	11			
31	3,7 ± 0,4	11			
32	3,7 ± 0,3	8			
33	3,9 ± 0,23	6			
34	4,4 ± 0,1	2			
35	4,5 ± 0,05	1			
36	4,8 ± 0,16	3			
	średnio	7			

odważki wydaje się jednak dopuszczalna, a nawet konieczna w przypadku gleb wyjątkowo zasobnych lub ubogich w magnez dostępny.

T a b l i c a 10

Powtarzalność (w czasie) wyników oznaczania Mg dost. w glebie metodą A. niger

The replicability of results of available Mg determinations in soil by A. niger method - in time

Gleby Soils	Zawartość Mg dost. oznaczona The content of avail. Mg as determined		
	a w 1 terminie in 1st term	b 3 mies.później 3 months later	(a - b) %
	mg Mg/100 g		
1	0,6	0,5	17
2	0,8	0,8	0
3	1,1	0,9	18
4	1,7	1,5	11
5	2,0	2,4	20
6	2,7	2,3	15
7	2,5	3,4	36
8	3,5	2,9	17
9	3,9	4,7	20
10	5,5	4,6	16
11	9,1	10,3	12
12	10,1	13,1	30
srednio - average			18

Wpływ czasu wzrostu na wyniki oznaczeń. Wyniki oznaczeń magnezu dostępnego, jeśli wzrost trwa od 60 do 78 godzin, są zbliżone, mimo że grzybnie wzorca są większe przy dłuższym okresie wzrostu (tabl. 11 — średnie z 3 powtórzeń). Aby wyniki były porównywalne, czas wzrostu powinien być jednakowy (2,5—3,0 doby), wydaje się jednak, że niewielkie przedłużenie go lub skrócenie jest dopuszczalne.

Wpływ stężenia soli w pożywce na wyniki oznaczeń. Pod wpływem dodania do pożywki Na_2SO_4 w ilości 2,5—10,0 g na litr stwierdzono w zbadanych glebach większe zawartości magnezu dostępnego (tabl. 12). Ponieważ dodana sól w takich stężeniach niemalże nie wpłynęła na plony grzybni wzorca (rys. 4), przypuszczalnie więc musiała ona zwiększyć dostępność magnezu glebowego. Nie wiadomo, czy inne sole działają podobnie. Wydaje się jednak, że wpływ składu pożywki (zwłaszcza stężenia soli) na wyniki oznaczeń magnezu dostępnego powinien być dokładniej zbadany.

T a b l i c a 11

Wpływ czasu wzrostu grzybni na wyniki oznaczeń magnezu dostępnego w glebie
 The influence of period of mycelium growth on the results of determinations the available magnesium content in soils

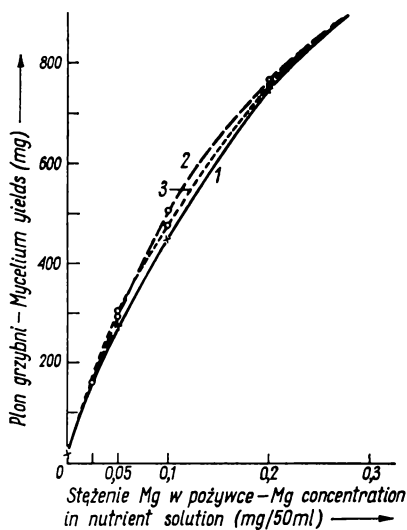
Gleby Soils	Zawartość Mg dostępnego w glebie Mg available content in soil		
	mg/100 g		
	czas wzrostu w godz. growth period in hours		
	60	70	78
1	1,3	1,4	-
2	1,6	1,8	-
3	1,8	2,0	-
4	1,9	1,8	1,8
5	4,7	4,4	3,5
6	6,2	6,1	6,4
7	9,8	9,7	-
8	13,1	13,5	11,5
9	16,0	15,0	16,2
wzorce: - standards:			
stężenie Mg w pożywce Mg concentr. in nutr.sol. mg/50 ml	plon grzybni mycelium yields mg		
0	18	20	30
0,025	126	175	180
0,05	265	290	325
0,1	413	493	560
0,5	1068	1055	1040

T a b l i c a 12

Wpływ stężenia soli w pożywce (Na_2SO_4) na stwierdzone ilości magnezu dostępnego w glebie metodą A. niger
 The influence of salt concentrations (Na_2SO_4) in nutrient solution on the amount of available magnesium found in soil by A. niger method

Gleba - Soil	Zawartość Mg dostępnego w glebie Mg available content in soil mg/100 g			
	stężenie Na_2SO_4 w pożywce Na_2SO_4 concentration in nutrient solution g/l			
	0,0	2,5	5,0	10,0
1 Czarna ziemia ciężka - Black earth heavy	1,8	3,3	3,2	1,9
2 Gleba brunatna ciężka - Brown earth heavy	3,3	7,2	7,7	4,3
3 Piasek glin. mocny zbiel.- Loam sand podsolic	3,4	5,2	5,0	4,3
4 Gleba brunatna lekka - Brown earth light	3,5	-	8,0	5,5
5 Biolica lekka - Podsol light	5,7	15,0	15,8	-
6 Gleba brunatna średnia - Brown earth medium	7,8	20,0	19,0	-

Wpływ grzyba na ilość magnezu wyekstrahowaną z gleby. Autorzy zgodnie z literaturą [3, 4] przypuszczali, że sam grzyb dzięki wytwarzaniu kwasów podczas wzrostu ma duży, a nawet decydujący wpływ na ekstrakcję składników z gleby. Aby sprawdzić słuszność tego przypuszczenia porównywano ilości magnezu wyekstrahowane z gleb przez pożywkę wraz z grzybnią z ilościami wyekstrahowanymi w identycznych warunkach przez samą pożywkę.



Rys. 4. Wzorce do oznaczania Mg
1 — sama pożywka, 2 — pożywka zawierająca 5 g Na_2SO_4 w 1 litrze, 3 — pożywka zawierająca 10 g Na_2SO_4 w 1 litrze
The standard curves for Mg determination

1 — nutrient solution alone, 2 — nutrient solution containing 5 g Na_2SO_4 per l, 3 — nutrient solution containing 10 g Na_2SO_4 per l

W tym celu oznaczono magnez dostępny w dwóch wariantach. W jednym postępowano normalnie, tzn. zalewano gleby pożywką, szczepiono, po czym wstawiano na 3 doby do temperatury 35°C (by poznać ilości magnezu wyekstrahowane przez pożywkę wraz z grzybnią). W drugim wariantcie zalewano glebę pożywką i bez zaszczepienia wstawiano na 3 doby do temperatury 35°C , po czym zlewano z nad gleby pożywkę i dopiero wówczas szczepiono ją oznaczając magnez dostępny w samej pożywce w sposób identyczny jak w wariantcie pierwszym, przy wspólnym wzorcu. W drugim wariantcie oznaczano zatem magnez wyekstrahowany przez samą pożywkę.

W obu przypadkach stwierdzono w zbadanych glebach podobne zawartości magnezu (tabl. 13 — średnie z 2 powtórzeń). Można więc sądzić, że sam grzyb nie ma istotnego wpływu na ekstrakcję magnezu z gleby. Decydujący wpływ ma pożywka (kwas taninowy i sole). Wpływ grzyba może być przypuszczalnie większy w przypadku pożywek bez kwasu.

T a b l i c a 13

Wpływ grzyba na ilość Mg wyekstrahowanego z gleby
 The influence of fungus on the amount of magnesium extracted from soil

Gleby Soils	Ilość Mg wyekstrahowana z gleby w ciągu 3 dni: Amount of Mg extracted from soil during 3 days:			
	przez pożywkę wraz z grzybnia by nutrient solution together with mycelium		przez samą pożywkę by alone nutrient solution	
	plon grzybni mycelium yields mg	Mg wyekstr. extracted mg/100 g	plon grzybni mycelium yields mg	Mg wyekstr. extracted mg/100 g
1	72 - 76	0,5	71 - 78	0,5
2	74 - 75	0,5	65 - 70	0,4
3	81 - 89	0,7	82 - 86	0,7
4	93 - 95	1,2	101 - 105	1,3
5	97 - 99	1,2	103 - 112	1,3
6	108 - 109	1,3	95 - 105	1,2
7	105 - 118	1,5	116 - 116	1,5
8	117 - 121	1,5	108 - 120	1,4
9	143 - 146	2,2	149 - 154	2,3
10	137 - 150	2,2	148 - 150	2,3
11	150 - 162	2,3	264 - 288	5,0
12	157 - 165	2,3	156 - 165	2,3
13	166 - 173	2,3	190 - 195	2,9
14	171 - 172	2,5	174 - 178	2,5
15	185 - 189	3,0	190 - 204	3,1
16	193 - 210	3,2	220 - 235	3,7
17	195 - 215	3,2	198 - 227	3,3
18	189 - 216	3,2	177 - 181	2,8
19	198 - 205	3,3	207 - 211	3,5
20	209 - 231	3,6	202 - 218	3,3
21	217 - 222	3,7	176 - 199	3,0
22	265 - 270	4,9	253 - 263	4,7
23	275 - 277	5,0	261 - 278	4,9
24	305 - 320	6,1	294 - 295	5,7
25	383 - 396	8,2	376 - 401	8,2
26	453 - 473	10,5	473 - 524	11,6
27	694 - 698	18,2	680 - 705	18,2
28	835 - 835	23,0	765 - 773	21,2
29	841 - 850	24,0	793 - 795	22,5

T a b l i c a 14

Magnez dost. dla A. niger a magnez wymienny oznaczony metodami: fosforanową,
kolorymetryczną i A. niger
Magnesium available to A. niger and magnesium exchangeable as determined by methods:
phosphate (by precipitation), colorimetric (titan yellow) and A. niger

Gleba - Soil	pH (H ₂ O)	Mg wymienny - (ln NH ₄ Cl) - Mg exchang.			Met. A.niger wprost w od- wazce gleby A. niger met. right in soil
		met. fosforanowa, klas. precipitate method	met. kolory- metryczna titan yellow meth.	met. A. niger A. niger method	
		a	b	c	
mg Mg/100 g					
1 Gleba brun. piaskowa Brown earth sandy	5,6	0,7	0,8	0,5	0,7
2 Gleba biel. lekka Podsol light	5,9	6,3	4,3	6,2	7,0
3 Gleba brun. piaskowa Brown earth sandy	7,5	6,4	4,6	6,6	10,4
4 Piasek glin. m. zbiel. Loam sand podsolic	6,1	7,5	5,7	6,9	6,5
5 Rędzina trzeciorzęd. Rendzina soil tert.	7,8	12,2	12,7	-	17,4
6 Gleba brun. lekka Brown earth light	6,3	12,2	12,7	10,4	9,8
7 Gleba brun. średnia Brown earth medium	6,6	12,5	12,1	10,3	-
8 Czarna ziemia śred. Black earth med.	7,2	13,2	12,0	12,5	14,2
9 Gleba brun.średnia Brown earth medium	6,4	14,8	12,1	16,6	-
10 Gleba lessowa zbiel. Loess soil podsolic	5,4	16,4	12,1	13,8	15,9
11 Rędzina rzekoma Rendzina soil of gaize	6,3	17,7	15,0	16,7	-
12 Czarna ziemia śred. Black earth medium	7,9	20,3	19,1	21,7	17,5
13 Czarna ziemia śred. Black earth medium	8,1	20,7	18,1	25,1	24,0
14 Czarnoziem głęboki Tchernozem deep	6,4	22,9	20,9	28,2	24,7
15 Less brunatny Loess soil, brown	6,9	23,7	21,0	23,2	24,7
16 Mada brunatna cięż. Fluvial soil heavy	7,2	36,6	35,6	35,2	35,0
17 Mada niska Fluvial soil, low	6,6	38,4	35,6	41,6	47,0
18 Marsz, mada morska Coastal soil	7,1	38,4	36,3	39,7	46,5

Współcz. korelacji dla a x c = 0,99
Correlation coef. for a x d = 0,99
b x c = 0,99
b x d = 0,98
c x d = 0,96

Magnez dostępny oznaczony metodą *A. niger* a magnez wymienny oznaczony chemicznie i metodą *A. niger*. W różnych glebach oznaczono magnez dostępny metodą *A. niger* wprost w odważkach oraz dla porównania oznaczono magnez wymienny metodami chemicznymi i metodą *A. niger* (w tym samym wyciągu).

T a b l i c a 15

Magnez dost. dla *A. niger* a magnez rozpuszczalny w 0,025 n roztworze CaCl_2 oznaczony kolorymetrycznie i metodą *Aspergillus niger* - mg/100 g gleby
Magnesium available to *A. niger* and magnesium soluble in 0,025 n solution of CaCl_2 as determined by colorimetric (titan yellow method) and *A. niger* method - mg/100 g of soil

Gleba - Soil	pH (H_2O)	Mg rozp. w 0,025n CaCl_2 Mg soluble in 0,025n CaCl_2		Mg dostępny oznaczony metodą <i>A. niger</i> Mg avail. as det- erm. by <i>A. niger</i> met.
		met. kolorym. titan yellow met.	met. <i>A. niger</i> <i>A. niger</i> met.	
		a	b	
1 Gleba brun. piaszkowa Brown earth sandy	5,6	0,8	0,8	0,7
2 Gleba brun. piaszkowa Brown earth sandy	5,7	0,8	1,1	0,9
3 Gleba bielnicowa piaszkowa Podsol sandy	5,5	0,8	0,8	0,4
4 Gleba brunatna piaszkowa Brown earth sandy	4,9	1,3	1,0	0,8
5 Rędzina kredowa Rendzina soil cretaceous	8,3	2,5	3,4	12,9
6 Piaszek glin. zbiel. Loam sand podsolic	6,1	2,9	3,2	6,5
7 Gleba brun. średnia Brown earth medium	6,3	3,3	4,1	7,1
8 Rędzina trzeciorzędowa Rendzina soil tertier	7,8	4,0	4,5	17,4
9 Rędzina kredowa ciężka Rendzina soil tert.heavy	7,3	5,0	5,3	-
10 Gleba brun. lekka Brown earth light	6,3	7,5	8,1	9,7
11 Czarnoziem głęboki Tchernozem deep	6,4	13,6	13,9	24,7
12 Gleba lessowa brunatna Brown soil formed of loess	6,0	13,8	14,8	-
13 Mada niska Fluvial soil	6,6	23,0	30,4	47,0

Współcz. korelacji dla
Correlation coef. for

$a \times b = 0,98$

$a \times c = 0,94$

Wyciąg do oznaczania magnezu wymiennego sporządzono wg His-sin-ka (In NH_4Cl [9]). Chemicznie oznaczono w nim magnez klasyczną metodą wagową, podaną w części I, po uprzednim rozłożeniu chlorku amonu i usunięciu Fe, Al, Mn i Ca oraz kolorymetryczną metodą z żółcieniem tytanową po uprzednim rozłożeniu chlorku amonu i usunięciu z przesączu Fe, Al i Mn [9]. Metodą *A. niger* oznaczano magnez wprost w przesączu stosując 5—10 ml/50 ml pożywki oraz uwzględniając dodatek roztworu chlorku amonu do pożywek wzorca.

W wyciągach z różnych gleb metodą *A. niger* stwierdzono podobne zawartości magnezu, co metodami chemicznymi (tabl. 14). Współczynniki korelacji wynosiły 0,99. Także zawartości magnezu dostępnego oznaczonego metodą *A. niger* wprost w odważkach gleb są w niemal wszystkich zbadanych glebach podobne do zawartości magnezu wymiennego oznaczonego trzema porównywanymi metodami ($r = 0,96—0,98$ i $0,99$).

Podobnie więc jak w poprzednich pracach własnych [6, 7] i innych autorów [4] ustalono ścisłą zależność między zawartościami magnezu dostępnego oznaczonego biologicznie a zawartościami magnezu wymiennego. Stwierdzono także przydatność metody *A. niger* do oznaczania magnezu wprost w wyciągach.

Metoda *A. niger* a metoda Schachtschabela. W podobny sposób porównano także metodę *A. niger* z metodą Schachtschabela [10]. Również w wyciągu wg Schachtschabela metodami kolorymetryczną i *A. niger* stwierdzono podobne zawartości magnezu (tabl. 15). Współczynnik korelacji wyniósł 0,98. Zawartości te są w części gleb zbliżone do zawartości magnezu dostępnego oznaczonego metodą *A. niger* wprost w odważkach, w części zaś gleb są dużo mniejsze, zwłaszcza w przypadku rędzin (współczynnik korelacji $r = 0,94$). Podobną zależność między wynikami metod *A. niger* i Schachtschabela stwierdzili m. in. Boratyński² i Boguszewski² oraz Gundhold i Schiller [3].

LITERATURA

- [1] Domniewicz A.: Wpływ magnezu na gospodarke fosforową roślin. Cz. I. Rola magnezu w organizmie roślinnym. Metody oznaczania magnezu w materiałach biologicznych. Zeszyty Naukowe WSR Kraków, 1959, 101—136.
- [2] Górski M., Nowosielski O., Lekston J.: Przydatność uproszczonej metody *Aspergillus niger* do oznaczania zawartości magnezu w roślinie bez uprzedniego jej spalania i usuwania innych pierwiastków. Roczn. Glebozn., t. 10, 1961, s. 3—15.

² Kontakty osobiste.

- [3] Gundhold P., Schiller H.: Zur Methodik der Bestimmung des pflanzenaufnehmbaren Magnesium in Böden. Zeitsch. f. Pfl. Düng. Bodenk., 76, 1957, s. 19—26.
- [4] Jensen H. L., Henriksen A.: Microbiological and chemical determination of magnesium in soil. Acta Agricult. Scand. 5, 1955, 98—112.
- [5] Lekston J.: Przydatność *A. niger* do ilościowego oznaczania magnezu w glebie i roślinie. Praca magisterska. Zakład Chemii Rolniczej SGGW, Warszawa 1959.
- [6] Nowosielski O.: Oznaczanie magnezu za pomocą uproszczonej metody *A. niger*. Roczn. Glebozn. t. 9, 1960, s. 90—102.
- [7] Nowosielski O., Siuta J.: Magnez dostępny dla *A. niger* a magnez wymienny. Roczn. Glebozn., t. 9, 1960, s. 29—36.
- [8] Nowosielski O., Skłodowski P.: Przydatność uproszczonej metody *A. niger* do oznaczania zawartości potasu w roślinie bez uprzedniego jej spalania — wprost w odważce. Roczn. Glebozn. (w druku).
- [9] Piper C. S.: Oznaczanie bardziej pospolitych składników nieorganicznych w roślinach. Analiza gleby i roślin. Warszawa 1957, s. 314—323, tłum. z angielskiego.
- [10] Schachtschabel P.: Die Bestimmung des pflanzenaufnehmbaren Magnesium in Böden. Methodenbuch, B. I, 195—197, Berlin 1955.

М. ГУРСКИ, О. НОВОСЕЛЬСКИ, Я. ЛЬЕКСТОН

ДАЛЬНЕЙШИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ МАГНИЯ ПОСРЕДСТВОМ *ASPERGILLUS NIGER*

Кафедра Агрохимии Варшавской Сельско-хозяйственной Академии

Резюме

Ч. I. Определение магния в растворах и растениях.

Продолжали исследования [2, 6] по определению магния посредством *Aspergillus niger*.

Предел метода [6] зависит от количества применяемой питательной смеси и от концентрации реактивов; при 100 мл смеси двойной концентрации предел увеличивается с 0,5 до сверх 2 мг Mg (рис. 1). Метод характеризуется одинаковой точностью по всему пределу; погрешность в среднем равна 3% (табл. 1а, и 1в).

В растворах озоленных растений, или других растворах, концентрации магния обозначенные с помощью *A. niger* схожи с определениями по колориметрическому методу с титановым желтым (табл. 2), также с одинаковой точностью находят добавление предыдущие известные количества магния (табл. 3).

Кальций в концентрации до 2 мг/50 мл смеси вообще не влияет на рост мицелия (рис. 2), при более высоких концентрациях; 20—50 мг в 50 мл смеси повысил незначительно (на 7%) вес мицелия единственно при концентрации магния в смеси 1 мг/50 мл (табл. 4, рис. 3). По вероятности, это влияние кальция не имеет значения при определении магния в растительном веществе.

Если определяют магний непосредственно в навесках растений, в первых днях развития *A. niger* наблюдается стимулирующее влияние органического вещества (табл. 5 и 6) В некоторых растениях этого влияния не удалось устрани-

нить путем обогрева навесок (105—400°C) перед добавлением питательной смеси (табл. 6). На 3-й день роста, и в дальнейших, констатировали одинаковое содержание магния в навесках независимо от предшествующей температуры их обогрева (исключая обугление), в виду чего был принят 3—3,5 суточный период роста мицелия как наиболее соответственное время определения магния непосредственно в растении.

По методу *A. niger* можно определить магний в отрезках листьев без предварительного их высушивания и измельчения (табл. 8).

Ч. II. Определение доступного магния в почве.

Краткое изложение результатов дальнейшего исследования по определению магния в почве посредством *A. niger* сводится к следующему:

Погрешность определений: 5 до 14%, чаще всего 7% и самая высокая в наиболее бедных почвах (табл. 9).

Результаты определения доступного магния в тех-же образцах почв полученные в 3-месячном промежутке времени расходились на $\pm 18\%$ (табл. 10).

Величина навески почвы в пределах 0,5 до 3,0 г на 50 мл питательной смеси не влияла на результат определения. Не имеет также большего значения время роста гриба в интервале 60 до 78 часов (табл. 11).

Добавление Na_2SO_4 к смеси значительно повышало результаты определений доступного магния в почве (табл. 12) но только незначительно влияло на урожай мицелия (рис. 4). По всей вероятности под влиянием увеличения концентрации солей в смеси повышается доступность почвенного магния.

Решающее влияние на экстракцию магния из почвы имеет состав смеси, но мицелий не влияет на экстракцию магния из почвы (табл. 13) если в смеси находится таннин.

В почвенных вытяжках с $1\text{н NH}_4\text{Cl}$ (по Гиссинку) и с $0,025 \text{ CaCl}_2$ (по Шахштейн) — [10] установлено методами: с *A. niger*, по классическому весовому ($\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$) и по колориметрическому (с титановым желтым — [9, 19]) почти одинаковое содержание магния (табл. 14 и 15).

В различных почвах обнаружено сходное содержание доступного магния (определенного по методу *A. niger* непосредственно в почве) и обменного магния ($r = 0,96 - 0,99$, табл. 14).

Точность результатов определений доступного магния по методам *A. niger* и Шахштейна оказались ниже ($r = 0,94$; табл. 15).

M. GÓRSKI, O. NOWOSIELSKI, J. LEKSTON

FURTHER STUDIES ON MAGNESIUM DETERMINATION BY MEANS OF *ASPERGILLUS NIGER*

Chair of Soil Science, Warsaw Agricultural University

Summary

Part I. Determination of magnesium in solutions and plants.

Previous studies [2, 9] on determination of magnesium with *Aspergillus niger* were continued.

The range of the method [6] depends on the amount of culture medium used and element concentration in it; with 100 ml nutrient medium and double con-

centration of the elements the range increases from 0.5 to over 2 mg/Mg (fig. 1). Similar accuracy prevails over the entire range, mean error being 3% (tabs. 1a, 1b).

In ashed-plant and other solutions magnesium determination with *A. niger* method gives results similar to the colorimetric method with tittan yellow (tab. 2); also the known amounts of magnesium previously added to the solution are defined with similar accuracy (tab. 3).

Calcium has no effect at all on mycelium growth at nutrient medium contraction of 2 mg/50 ml, (fig. 2), while at higher concentrations of 20—50 mg/50 ml it caused a small (7%) increase in crops, but only at medium magnesium concentration in the culture medium, namely 0.1 mg/50 ml (tab. 4, fig. 3). It is believed that in determination of magnesium in plant material the influence of calcium is immaterial.

In determining magnesium directly in a plant sample one observes the latter's stimulating effect on mycelium growth during the first days of growth (tabs. 5, 6). In the case parts of plant, this effect could not be prevented by heating the samples (150—400°C) prior to pouring on them the nutrient solution (tab. 6). On the 3-d day of growth and subsequent days one finds similar magnesium content in differently treated samples (except carbonized ones), so that the period of 3 to 3.5 growth days was taken as proper for magnesium determination directly in the plant.

With the *A. niger* method one may determine magnesium directly in leave cuts without previous drying and grinding (tab. 8).

Part II. Determination of available magnesium in soil.

The results of further research on determination of available soil magnesium with *A. niger* may be summarized as follows.

The error in determination amounts to 5—14%, in most cases to 7%, and is greatest in very poor soils (tab. 9).

The values of available magnesium determined in the same samples with an interval of 3-months differed by $\pm 18\%$ (tab. 10).

Within a range of 0.5 to 3 g/50 ml culture medium, sample size has no significant influence on test results.

Similarly, the time of mycelium growth has no major effect within the range of 60—70 hours (tab. 11).

Addition to the nutrient medium of sodium sulphate NaSO_4 raised considerably the values obtained in determination of available soil magnesium, while its effect on mycelium crops in the standart was insignificant. It is probable that the availability of soil magnesium may increase under the influence of rising salt concentration in the medium.

The composition of the culture medium has decisive influence on magnesium extraction from soil while the mycelium itself has no such effect, (tab. 13), at least not if the medium contains tannic acid.

In soil solutions with 1n NH_4Cl (after Hissinek) or with 0.25 n CaCl_2 (after Schachtschabel — [10] nearly identical magnesium contents were stated with *A. niger* method, the classic weight method ($\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$ — [9] and the colorimetric (Tittan yellow) method [9, 10] (tabs. 14, 15).

In various soils were found similar contents of available magnesium (determined directly in the soil with *A. niger* method) and exchangeable magnesium ($r = 0.96 - 0.99$) — tab. 14. Less good agreement was stated in determination of available magnesium between the results obtained with the *A. niger* and those of the Schachtschabel method.