

HAVAINTOJA ERÄIDEN
VILJELEMÄTTÖMIEN MAATYYPPIEN
MIKROBISTON KOOSTUMUKSESTA

HELGE GYLLENBERG, PAULI HANIOJA

JÄ

UNTO VARTIOVAARA

*OBSERVATIONS ON THE COMPOSITION OF
THE MICROBIAL POPULATION IN SOME
VIRGIN SOILS*

SUMMARY

HELSINKI 1954

Sisällysluettelo

| | Sivu |
|--|------|
| Johdanto | 5 |
| Aineisto | 7 |
| Näytteiden mikrobisto | 9 |
| Sienet | 9 |
| Bakteerit | 11 |
| Autoktoniset bakteerit | 12 |
| Typeä sitovat bakteerit | 16 |
| Nitrifikaatiota ja denitrifikaatiota aiheuttavat bakteerit | 16 |
| Rikkibakteerit | 17 |
| Selluloosaa hajottavat bakteerit | 18 |
| Sädesienet | 19 |
| Alkueläimet | 21 |
| Tulosten tarkastelu | 22 |
| Yhteenveto | 24 |
| Kirjallisuusluettelo | 27 |
| Summary | 29 |

Johdanto

Maamme pinta-alasta muodostavat luonnontilaiset, viljelemättömät maat (metsät, luonnonniityt sekä suot) varsin huomattavan osan. Näiden maiden mikrobiologiaan on kuitenkin kiinnitetty suhteellisen vähän huomiota. Tosin metsämaiden ja eräiden suotyyppien mikrobiologiaa on tutkittu myös Suomen olosuhteita silmälläpitäen (esim. S v i n h u f v u d, 1937; I s o t a l o, 1953; H u i k a r i, 1953), mutta näiden tutkimuksien perusteella ei vielä saada yleiskuvaa ko. maiden pieneliöstöstä. S v i n h u f v u d i n tutkimus on tehty laajaksi ja monipuoliseksi, mutta se on suoritustavaltaan siinä määrin epäselvä, että siihen lienee suhtauduttava melkoisin varauksin. Sitäpaitsi soista tehdyt havainnot eivät suinkaan ole yleisesti sovellettavissa muihin luonnontilaisiin maihin. Päinvastoin muuntyyppiset sellaiset maat, etenkin metsämaat, ovat pääasiassa kovia maita, joissa siten on hyvät edellytykset aerobisille hajoitusprosesseille. Soissa vallitsevien, voimakkaasti anaerobisten olosuhteden vuoksi aerobiset mikrobiryhmät tuskin voivat mainittavasti toimia niissä.

Metsämaiden mikrobiologiaan kohdistettujen tutkimusten vähälukuisuuteen on tietenkin osaltaan vaikuttanut se, että eräät viljelysmaiden mikrobiologiasta tunnetut ja siten seikkaperäisesti tutkitut ilmiöt (esim. typensidonta, nitrifikaatio, rikin kierto, selluloosan hajoitus jne.) tava-taan myös metsämaissa. Kuitenkin on tunnettua, että maan muokkaus, ojitus, lannoitus ja kasvipeite ovat tekijöitä, jotka jokainen osaltaan vaikuttavat maan mikrobiston laadulliseen koostumukseen ja eri mikrobi-ryhmien ja fysiologisten tyyppien runsaussuhteisiin.

Metsämaiden mikrobiologiaa tarkasteltaessa kiinnittyy huomio nimen-omaan kasvipeitteen ja maan mikrobiston väliseen mahdolliseen vuoro-suhteeseen. Seuraavassa selostettavan tutkimuksen tarkoituksena oli orientoivasti selvittää m e t s ä m a i d e n mikrobiston koostumusta pitäen erityisesti silmällä esiintyykö m e t s ä t y y p i n, s.o. kasvipeit-teen, ja maan mikrobiston kvalitatiivisen koostumuksen välillä vuoro-suhdetta. Tässä mielessä valittiin tutkimuksen kohteiksi eräitä toisistaan selvästi poikkeavia metsätyyppisiä (kts. taulukko 1). Kaikki maanäytteet

hankittiin suppealta alueelta Uudeltamaalta (Metsäntutkimuslaitoksen Ruotsinkylän metsät Tuusulassa).¹ Siitä saattavat johtua mm. eri metsätyyppien maaperää edustavien näytteiden happamuusasteen pienet erot (vrt. taulukko 2). Ko. metsät olivat hakkuukypsyyttä lähestyviä, sulkeutuneita, karjankäymättömiä talousmetsiä, joten ne olivat tyyppinä sangen selviä. Toisaalta ne eivät kuitenkaan edustaneet täysin luonnontilaisia metsiä.

Tutkimuskohteeksi otettiin edellämainittujen metsätyyppien lisäksi vertailumielessä myös *tulvaniitty*, jota voidaan pitää varsin yleisenä luonnontilaisena maatyypinä Suomessa. Tulvaniittyä edustavat maanäytteet saatiin Vantaalta Helsingin pitäjässä.

Tutkimus on suoritettu v. 1953 Valtion luonnontieteellisen toimikunnan myöntämän apurahan turvin.

Tutkimukseen liittyvissä laboratoriotöissä ovat avustaneet ylioppilaat Gunnel Carlberg ja Maija Hiilimies. Tutkimus on suoritettu Helsingin Yliopiston mikrobiologisella laitoksella.

¹ Tekijät esittävät kiitoksensa prof. R. Sarvaalle ja metsänh. O. Huikarille heidän ystävällisestä avustaan näytteenottokehtien valinnassa.

Aineisto

Tutkimuksen kohteina olivat seuraavia metsätyyppejä edustavat maat: 1) *Oxalis-Myrtillus-koivikko* (seuraavassa käytetään lyhennysmerkintää OMT-koivu), 2) *Oxalis-Myrtillus-kuusikko* (OMT-kuusi), 3) *Vaccinium-männikkö* (VT), 4) *ojitettu isovarpuinen räme* (Oj. räme) ja 5) *tulvaniitty* (T-niitty). Tämän tyyppivalikoiman katsottiin niukkuudesta huolimatta tarjoavan mahdollisuuksia monipuolistenkin vertailujen tekoon. OMT:n metsät ovat Etelä-Suomessa hyvin yleisiä, runsastuottoisia kangasmetsiä ja VT:n männikkö koko maassa yleisin kuiva kangasmetsätyyppi. Ojitettu isovarpuinen räme on VT:iin verrattavissa oleva muuntuma, joka samalla edustaa erään maamme yleisimpiin kuuluvan suotyypin ensimmäistä kulttuurivaihetta.

Maanäytteet otettiin mainituista maista välittömästi laboratoriossa tutkittaviksi kesäkuussa, elokuussa, lokakuussa ja marraskuussa 1953, maista OMT-kuusi ja VT myös tammikuussa 1954. Näytteiden otto suoritettiin leikkaamalla lapiolla n. 30 × 30 × 30 sm:n suuruisia kuutioita. Näytteiden pintaosista poistettiin kasvit juuristoiheen, minkä jälkeen multakerros sekoitettiin huolellisesti ja mullasta otettiin eri kokeisiin mahdollisimman edustavat näytteet.

Kasvipeitekuvaukset näytteenottoaikoista esitetään taulukossa 1.

Taulukko 1. Eri näytteenottoaikojen kasvipeitteet.

Table 1. The vegetation at the sampling sites.

| Näytteenottoaikka Place of sampling | Kasvipeite ¹ Vegetation ¹ |
|--|---|
| OMT-koivu | <i>Sphagnum wulfii</i> 1, <i>Pleurozium schreberi</i> 1, <i>Dicranum</i> sp. 1, <i>Equisetum silvaticum</i> 1, <i>Dryopteris</i> sp. 1-, <i>Deschampsia caespitosa</i> 3, <i>Deschampsia flexuosa</i> 2, <i>Anemone nemorosa</i> 2, <i>Oxalis acetosella</i> 2, <i>Melampyrum silvaticum</i> 2, <i>Trientalis europaea</i> 2. |

¹ Hult-Sernander-asteikko / Hult-Sernander-scale:
5+ = runsaus / abundance 75–100 %, 5 = 50–75 %, 4 = 25–50 %, 3 = 12.5–25 %, 2 = 6.25–12.5 %, 1 = < 6.25 %, 1- = muutamia yksilöitä / individual appearances.

| | |
|-----------|--|
| OMT-kuusi | <i>Hylocomium prolijerum</i> 3, <i>Pleurozium schreberi</i> 2, <i>Dicranum</i> sp. 3, <i>Carex digitata</i> 2, <i>Luzula pilosa</i> 1, <i>Majanthemum bifolium</i> 3, <i>Melampyrum pratense</i> 3, <i>Oxalis acetosella</i> 3, <i>Trientalis europaea</i> 1, <i>Vaccinium myrtillus</i> 2. |
| VT | <i>Cladonia silvatica</i> 2, <i>Cladonia alpestre</i> 2, <i>Pleurozium schreberi</i> 4, <i>Dicranum</i> sp. 2, <i>Vaccinium vitis-idaea</i> 4, <i>Vaccinium myrtillus</i> 2. |
| Oj. räme | <i>Sphagnum recurvum</i> 4, <i>Polytrichum strictum</i> 2, <i>Vaccinium uliginosum</i> 5, <i>Vaccinium vitis-idaea</i> 3, <i>Vaccinium myrtillus</i> 1-, <i>Empetrum nigrum</i> 2. |
| T-niitty | <i>Carex acuta</i> 2, <i>Deschampsia caespitosa</i> 4, <i>Ranunculus repens</i> 3, <i>Filipendula ulmaria</i> 3, <i>Potentilla anserina</i> 2, <i>Galium palustre</i> 2, <i>Lythrum salicaria</i> 2, <i>Comarum palustre</i> 1, <i>Mentha arvensis</i> 1—, <i>Iris pseudacorus</i> 1—, <i>Salix phylicifolia</i> 1—. |

Tutkittujen maanäytteen pH:t eri näytteenottoeräillä on esitetty taulukossa 2.

Taulukko 2. Maanäytteen pH-arvot.

Table 2. The pH values of the soil samples.

| Maanäyte Soil sample | VI/53 | VIII/53 | X/53 | IX/53 | I/54 |
|-------------------------|-------|---------|------|-------|------|
| OMT-koivu | 4.8 | 4.7 | 5.4 | 5.4 | — |
| OMT-kuusi | 4.8 | 4.7 | 5.3 | 4.7 | 4.7 |
| VT | 4.2 | 4.2 | 5.0 | 4.7 | 4.3 |
| Oj. räme | — | 4.1 | 4.8 | 4.5 | — |
| T-niitty | — | 5.2 | 6.1 | 6.0 | — |

Kuten edellä todettiin, poikkeavat eri metsätyyppien maaperän pH-arvot toisistaan varsin vähän ja ovat jonkin verran alhaisempia kuin mitä vastaavilla metsätyypeillä yleensä tavataan (vrt. Aaltonen, 1940). Tämä seikka, joka tietenkin on otettava huomioon tutkimuksen tuloksia arvioitaessa, johtunee siitä, että kaikki näytteenottoaikat sijaitsevat hyvin suppealla alueella, joten peruskallio koko alueella ilmeisesti on ollut samanlaista.

Maaperän pH:n vaihtelut eri näytteenottoaikoilla tutkimusjakson aikana johtuivat ilmeisesti siitä, että pH:n nousu syksyllä on yhteydessä mikrobitoimintaan, joka leudon sään ansiosta (1953) saattoi jatkua kauan. Tähän seikkaan palataan edempänä.

Tutkittavista maanäytteenäytteistä ei suoritettu mitään varsinaisia kemiallisia analyysejä, lukuunottamatta allamainittuja kvalitatiivisia kokeita. Kemiallisista tutkimuksista luopuminen johtui siitä, että tämän työn yhteydessä,

jonka tarkoituksena oli lähinnä kvalitatiivisesti valaista ko. maatyypien mikrobiston luonnetta, ei katsottu vielä tarpeelliseksi syventyä esiintyvien mikrobiryhmien ja eri lajien toimintaan ja sen kaikkiin edellytyksiin ko. maissa. Kvalitatiivisesti määritettiin kuitenkin nitraatin, nitriitin ja ammonium-ionin esiintyminen tutkituissa maanäytteenäytteissä. Tämä suoritettiin kolorimetrisesti (nitraatti difenylamiinilla, nitriitti sulfaniilihapolla ja alfa-naftylamiinilla sekä ammonium-ioni Nesslerin reagenssilla). Näytteiden OMT-koivu, VT ja T-niitty todettiin jokaisella näytteenottokerralla sisältävän selvästi osoitettavia määriä nitraattia, jota sensijaan ei voitu osoittaa näytteissä OMT-kuusi ja Oj. räme. Nitriittiä ja NH_4 -ionia ei todettu ainoassakaan tutkituista näytteistä.

Näytteen mikrobisto

Tutkimus kohdistettiin seuraaviin mikrobiryhmiin: sienet, bakteerit ja alkueläimet. Tutkimuksessa käytettyjä menetelmiä selostetaan erikseen kutakin mainituista mikrobiryhmistä lähemmin käsiteltäessä. Maamikrobiologisen tutkimuksen yleisiä periaatteita ei liene tässä yhteydessä tarpeellista kosketella, koska arvovaltaisia selostavia artikkeleita on äskettäin julkaistu (esim. Smith, 1948, Lohd, 1952). Sama koskee niitä yksittäiskohtia, jotka eivät nimenomaan sivua nyt selostettavaa tutkimusta.

Sienet

Tutkittujen maanäytteenäytteen sieniflooraan kohdistuneita kokeita selostettaessa on syytä aluksi todeta, että tutkimus tältä kohdalta rajoittuu maaperän mikroskooppisiin sieniin. Tosin on myönnettävä, että havaintojen teko makroskooppisten sienten esiintymisestä olisi saattanut antaa hyvinkin mielenkiintoisia tuloksia, mutta tähän luonteeltaan selvästi botaaniseen osatutkimukseen ei varsinaisen mikrobiologisen tutkimuksen yhteydessä ollut edellytyksiä.

Tässä yhteydessä ei ole syytä yksittäiskohtaisemmin puuttua kirjallisuuteen, joka käsittelee maaperän mikroskooppista sieniflooraa ja eri ympäristötekijöiden, kuten esim. vetyionikonsentraation ja lämpötilan, vaikutusta maaperän sienten elintoimintoihin. Seikkaperäisiä kirjallisuuskatsauksia on esitetty eri tekijöiden toimesta (esim. Waksman, 1931, Vartiavaara, 1935). Todettakoon vain, että tutkimuskohteiden

alhainen pH jossakin määrässä on omiaan rajoittamaan homeflooran lajirunsausta, mutta että se sinänsä ei ole homeiden kasvua ja toimintaa estävä. Päinvastoin alhainen pH suosii homeita muiden mikrobiryhmien kustannuksella.

Homeiden eristämässä käytettiin kahta eri menetelmää. Ensinnäkin suoritettiin eristäminen maljoista tavallisella laimennusmenetelmällä. Ravintoalustoina käytettiin tällöin Hagem-agaria ja maa-uute-agaria (Timonin, 1940 a). Tämän lisäksi sovellettiin myös n.s. Chestersin putkitekniikkaa (Chesters, 1948, 1949), joka perustuu siihen, että maahan kairalla tehtyyn reikään sijoitetaan sopivaa jähmeää ravintoalustaa sisältävä putki, jossa on neljä aukkoa eri korkeuksilla. Homeiden kasvettua aukkokohdissa agariin poistetaan putket ja laboratorioissa kairataan agarista pystysuorassa suunnassa pötty, joka katkaistaan neljään osaan, yksi kutakin putken aukkoa kohti. Nämä agar-kappaleet siirretään vastaavaa ravintoalustaa sisältävään petrimaljaan. Näin voidaan eristää kunkin Chestersin putken aukon maassa vallanneet homeet. Metodista soveltuvaan hyvin ko. ajankohtana maassa vallitsevien, aktiivisesti kasvavien sienten eristämiseksi. Ravintoalustoina käytettiin kaura-, mallasuute- ja maa-uute-agaria (Chesters, 1948, 1949).

Viimeksimainittua tekniikkaa hyväksikäyttäen eristettiin kaikista tutkimuskohteista kesäkuussa, elokuussa ja lokakuussa läheisesti toisiaan muistuttavia *Mucor*-kantoja. Muita hometyyppejä ei Chestersin putkissa tavattu. Ratkaistavaksi jää, missä määrin eri sienityyppien kasvunopeus vaikuttaa niiden esiintymiseen ko. putkissa, esim. siten, että nopeakasvuiset sienet (esim. *Mucor*) syrjäyttävät muut. Todettakoon kuitenkin, että ko. *Mucor*it olivat vallitsevia myös lokakuussa, jolloin niiden kehittyminen Chestersin putkiin oli moninkertaisesti hidastunut verrattuna kesäkuussa ja elokuussa suoritettuihin kokeisiin (alhainen lämpötila).

Myöskin tavallista maljalaimennustapaa noudattaen todettiin samojen *Mucor*-lajien runsas esiintyminen. Tämän lisäksi maljoissa tavattiin etupäässä eri *Penicillium*-lajeja sekä muutamissa tapauksissa *Dematiaceae*-heimoon kuuluvia lajeja.

Tutkittavissa maanäytteissä esiintyviin homeisiin kohdistuivat myös ne kokeet, joissa tutkittiin ko. maanäytteillä siirrostettaessa aiheutuvaa selluloosan hajoitusta aerobisissa olosuhteissa ja melko alhaisessa pH:ssa. Ravintoalusta oli modifikaatio Vartiovaaran, 1935, käyttämästä; selluloosana käytettiin selluloosavanua (= Zellstoff) ja ravintoalustan pH oli 4.8—5.0. Näissäkin kokeissa todettiin kaikissa eri maanäytteistä siirrostetuissa koepulloissa em. *Mucor*ien kasvua. Samoin esiintyi jokseenkin

säännöllisesti *Penicillium*-lajeja, mutta harvemmin *Dematiaceae*-heimon homeita. Viimeksimainitut olivat kuitenkin aktiivisimmat selluloosan hajoittajat; *Mucor*- ja *Penicillium*-lajien kohdalta ei selluloosan hajoitusta varmuudella todettu. Edellämainittujen lisäksi eristettiin selluloosa-agarilla eri maanäytteistä jokseenkin säännöllisesti sukuun *Ascobolus* kuuluva kotelosieni, jonka kyky hajoittaa selluloosaa on kuitenkin epävarma. Mielenkiintoista tämän sienien kohdalta on, että se, nimenomaan selluloosan muodostaessa yksinomaisen hiilen lähteen ravintoalustassa, näyttää erityisesti viihtyvän toistaiseksi identifioimattoman limabakteerin (*Myxobacteriales*-lahkoon kuuluva bakteeri, vrt. siv. 18) seurassa. Tämä bakteeri tavattiin säännöllisesti ko. sienien seuralaisena selluloosa-agarilla. Aktiivisiksi selluloosan hajottajiksi todettiin kaksi tutkituissa maanäytteissä myös verraten yleistä *Moniliaceae*-heimon homeita (todennäköisesti sukuihin *Monosporium* ja *Spicaria* kuuluvia lajeja). Näistä toinen (*Spicaria*) hajoitti erittäin voimakkaasti selluloosaa, molempien ollessa tehokkaita homeaineksen hajoittajia. Homeaineksen hajoittajaksi todettiin myös muutamassa tapauksessa eristetty *Fusarium*-laji.

Edellä esitettyjen tulosten valossa on pääteltävissä, että tutkituissa maanäytteissä esiintynyt homefloora oli jokseenkin niukkalajinen. Korostettakoon kuitenkin, että tämän tyyppinen tutkimus ei anna oikeata kuvaa sienten runsaudesta ja merkityksestä luonnossa. Sensijaan kävi ilmi, että erilaisten morfologisten ja fysiologisten tyyppien runsaimmin esiintyvät edustajat olivat samoja kaikkien tutkittujen metsätyyppien maaperässä. Myöskään ei metsämaiden ja tulvaniityn välillä ollut todettavissa eroja tässä suhteessa.

Bakteerit

Maaperän bakteerifloora ryhmitetään eri bakteerien esiintymisen ja fysiologisen aktiivisuuden perusteella kahdeksi ryhmäksi: *autoktoniset* (eli *indigeeniset*) ja *tsymogeeniset* bakteerit (Wingradsky, 1925).¹

¹ Conn (1948) määrittelee käsitteet autoktoniset bakteerit ja tsymogeeniset bakteerit seuraavasti: »The autochthonous types are those that maintain fairly high and quite constant numbers, without showing appreciable increases or decreases according to presence or absence of special nutrients»; »The zymogenous types are those which take part in the rapid fermentative processes, therefore increasing in large numbers whenever furnished with the special nutrients to which they are adapted, and then, after the process is complete, subsiding to minimal numbers until another occasion for active growth occurs.»

Ensinmainittuun ryhmään kuuluviksi luetaan maassa säännöllisesti esiintyvät lajit, joiden lukumäärät myöskin on todettu suhteellisen konstanteiksi. Autoktonisten bakteerien ryhmän toiminnot ja merkitys ovat kokonaisuudessaan jääneet epäselviksi. Tämä näyttää johtuvan siitä, että nämä bakteerit luonnollisesta poikkeavassa ympäristössä laboratoriossa viljeltäessä eivät osoita mainittavaa fysiologista aktiivisuutta (Lochhead, 1940). Taylorin ja Lochheadin (1938) mukaan autoktonisten bakteerien lukumäärä ei myöskään näytä olevan minkäänlaisessa korrelaatiossa viljelysmaan viljavuuteen. Toisaalta näyttää siltä (Lochhead, 1940; West ja Lochhead, 1940), että autoktonisen bakteeriflooran aktiiviset elintoiminnot tapahtuvat kasvien ritsosfäärissä. Ritsosfäärissä on näiden bakteerien lukumäärä moninkertainen verrattuna niiden lukumäärään ritsosfäärin ulkopuolella samassa maassa (Timonin, 1940 b). Samoin näyttää autoktonisen bakteeriflooran laadullinen koostumus olevan ritsosfäärissä toisenlainen (Lochhead, 1940). Ritsosfääristä eristetyt bakteerit osoittavat suurempaa fysiologista aktiivisuutta, niiden ravintovaatimukset ovat kompleksiset (tiamiini, biotiini ja aminotyyppi ovat monesti välttämättömiä) ja osoittavat näiden bakteerien olevan läheisessä vuorosuhteessa kasveihin.

Tsymogeenisten bakteerien ryhmään luettujen organismien lukumäärät osoittavat suuria vaihteluja ja niiden esiintyminen on sidottu tiettyihin olosuhteisiin. Nämä bakteerit ovat siten tiettyjen ilmiöiden aiheuttajia, nimenomaan organogeenisen aineksen hajoittajia. Tästä johtuen niiden viljeleminen usein edellyttää erikoisalustojen käyttöä, ja tsymogeenisiä bakteereja sisältyykin vain satunnaisesti niihin lukuihin, joita tavallisesti esitetään kuvaamaan bakteerien kokonaismäärää maassa.

Autoktoniset bakteerit

Autoktonisten bakteerien eristämiseen käytettiin maaute-liivateagar, jonka kokoonpano oli seuraava: Liivatetta 2 g, KH_2PO_4 0.5 g, maa-utetta 10 %, agaria 15 g 1 000 ml:ssa johtovettä; pH 6.5. Eräissä tapauksissa suoritettiin rinnakkaiskokeita samalla alustalla, joka lisäksi sisälsi 2 g glukoosia. Tällä alustalla kasvavien bakteerien kokonaislukumäärä ei osoittanut suuria vaihteluja verrattaessa keskenään samasta näytteenottokohdasta eri näytteenottokerroilla saatuja lukumääriä (taulukko 3). Sensijaan bakteerien lukumäärä oli alhaisempi maissa VT ja Oj. räme kuin maissa OMT-koivu, OMT-kuusi ja T-niitty. Samoin näyttää siltä, että bakteerien lukumäärä on lokakuussa ollut jonkinverran suurempi kuin

Taulukko 3. Autoktonisten bakteerien lukumäärä eri maanäytteissä elokuussa ja lokakuussa suoritetuissa määrittelyissä.

Table 3. The numbers of autochthonous bacteria in the soil samples taken in August and October.

| Näytteenotto- kerta Time of samp- ling | Pesäkkeitä / g maata Colonies / g of soil | | | | |
|---|--|-----------|---------|-----------|------------|
| | OMT-koivu | OMT-kuusi | VT | Oj. räme | T-niitty |
| VIII | 1 000 000 | 2 600 000 | 270 000 | 400 000 | 3 900 000 |
| X | 6 000 000 | 3 000 000 | 800 000 | 1 000 000 | 10 000 000 |

elokuussa. Suurin bakteerien lukumäärän kohoaminen tavattiin koivikossa (OMT-koivu; 6-kertainen). Nimenomaan tämä seikka saattaa olla yhteydessä edellä selostettuun ja taulukossa 2 kuvattuun maaperän pH:n nousuun syksyllä. Kuten taulukosta 2 ilmeni, tämä pH:n nousu oli huomattavin juuri OMT-koivikon maaperässä.

Taulukossa 3 esitetyt bakteerien lukumäärät perustuvat maljoissa laimennusmenetelmällä saatuihin tuloksiin. Vertailumielessä suoritettiin bakteerien lukumäärän laskeminen myös mikroskooppisesti Jonesin ja Mollisonin (1950) menetelmällä. Saadut tulokset olivat n. 10—20 kertaa suurempia kuin yllä esitetyt. Tämä etenkin Lochheadin (1952) suosittama menetelmä ei mielestämme kuitenkaan osoittautunut täysin tyydyttäväksi, joten sen käytöstä luovuttiin tutkimuksen myöhemmässä vaiheessa.

Elokuussa suoritettujen kokeiden yhteydessä ryhmitettiin maljoihin kasvaneet bakteerit edelleen viiteen alaryhmään. Tällöin meneteltiin seuraavasti. Kutakin maanäytettä edustavista, sopivista maljoista, joissa pesäkeluku oli 30—50, suoritettiin kaikista pesäkkeistä eristäminen vinopinnoille. Näin saaduista viljelmistä tutkittiin ko. bakteerin pesäkkeiden ja solujen morfologia ja tehtyjen havaintojen perusteella jaettiin eristetyt bakteerit kolmeen ryhmään: A) Gram-negatiiviset, B) Gram-positiiviset sekä C) sädesienet. Ryhmässä A todettiin huomattava määrä pigmenttiä muodostavia bakteereja, minkä vuoksi tämä ryhmä jaettiin edelleen alaryhmiin A 1., pigmentittömät ja A 2., pigmenttiä muodostavat. Vastavasti myös ryhmä B jaettiin edelleen kahteen alaryhmään, mutta käyttäen tällöin itiöiden esiintymistä ryhmittelyperusteena. Pigmenttiä muodostavia kantoja ei Gram-positiivisten bakteerien ryhmässä tavattu. Eräiden tyyppillisten kantojen kohdalta jokaisesta alaryhmästä jatkettiin tutkimusta ko. kantojen lähes täyteen identifioimiseen saakka. Näin saatiin seuraava

Taulukko 4. Autoktonisen bakteeriflooran jakautuminen alaryhmiin.

Table 4. Subgroups of autochthonous bacteria (A 1: Gram-negative, non-chromogenic; A 2: Gram-negative, chromogenic; B 1: Gram-positive spore-formers; B 2: Gram-positive non-spore-formers, C: Actinomycetes)

| Maanäyte Sample | Bakteeriryhmä Subgroup | | | | | | | | | | |
|--------------------|---------------------------|----|-------|----|-----|-----|----|-------|----|-----|---|
| | A 1 | | A 2 | | A * | B 1 | | B 2 | | B * | C |
| | N** | % | N | % | | N | % | % | N | | |
| OMT-koivu | 860 | 86 | 30 | 3 | 89 | 100 | 10 | — | 0 | 10 | 1 |
| OMT-kuusi | 1 250 | 44 | 440 | 17 | 61 | 530 | 22 | 415 | 16 | 38 | 1 |
| VT | 6 | 2 | 148 | 57 | 59 | 30 | 11 | 70 | 26 | 37 | 4 |
| Oj. räme | — | 0 | 96 | 24 | 24 | 270 | 68 | 24 | 6 | 74 | 2 |
| T-niitty | 1 090 | 28 | 1 280 | 33 | 61 | 390 | 10 | 1 010 | 26 | 36 | 3 |

autoktonisten bakteerien alaryhmittely ja samalla käsitys siitä, mitä systemaattisia ryhmiä kukin alaryhmä edusti:

Alaryhmä A 1: Gram-negatiiviset, pigmenttömät (*Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Bacterium*)

Alaryhmä A 2: Gram-negatiiviset, pigmenttiä muodostavat (*Flavobacterium*)

Alaryhmä B 1: Gram-positiiviset, itiölliset (*Bacillus*)

Alaryhmä B 2: Gram-positiiviset, itiöttömät (*Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Bacterium*)

Alaryhmä C: Sädesienet (*Streptomyces*)

Valittuun ryhmittelyperusteeseen päädyttiin lähinnä siitä syystä, että uudemmassa kirjallisuudessa esitettyjen tietojen perusteella, kuten jäljempänä tullaan toteamaan, oli syytä kiinnittää huomiota nimenomaan Gram-positiivisten ja Gram-negatiivisten bakteerien kokonaislukumäärien keskinäiseen suhteeseen. Molempien mainittujen pääryhmien edelleen jakamisella ei ollut muuta tarkoitusta kuin suuremman selvyyden saavuttaminen todettujen bakteerien kuvauksessa. Mainittuihin viiteen ryhmään kuuluvien bakteerien lukumäärät eri maanäytteissä esitetään taulukossa 4.

* Merkinnät A ja B edustavat Gram-negatiivisten ja vastaavasti Gram-positiivisten bakteerien kokonaisuukuuksia. The figures under A and B represent the total numbers of gram-negative and, respectively, gram-positive bacteria.

** Sarakkeissa N ilmaistaan absoluuttinen pesäkeluku tuhansina / g maata. In the columns N the absolute numbers of bacteria / g of soil are given in thousands of colonies obtained by the plating method.

Taulukossa 4 esitetyt luvut osoittavat eräitä eroja eri maanäytteiden välillä (pitkälle meneviä päätelmiä ei kuitenkaan voida tehdä, koska aineisto ei ollut riittävän laaja taatakseen tilastollisen luotettavuuden). Ensinnäkin voidaan todeta maanäytteen OMT-koivu poikkeavan selvästi muista. Tässä maassa oli Gram-negatiivisten bakteerien suhteellinen lukumäärä huomattavan suuri ja Gram-positiivisten vastaavasti varsin pieni. Myöskin todetaan pigmenttiä muodostavien Gram-negatiivisten bakteerien ryhmä (A 2) sekä suhteellisesti että absoluuttisesti varsin pieneksi. Jokseenkin päinvastainen oli tilanne siinä näytteessä, joka edusti maata Oj. räme. Tässä maassa oli Gram-positiivisia bakteereja suhteellisesti enemmän kuin missään muissa tutkituista maista (74 %) ja Gram-negatiivisia bakteereja edustivat yksinomaan pigmenttiä muodostavat lajit. Muissa metsämaissa bakteerien kokonaislukumäärä oli OMT:n kuusikon maassa n. 10-kertainen verrattuna bakteerien lukumäärään VT:n maassa, mutta bakteerien suhteellinen jakautuminen eri alaryhmiin oli miltei täsmälleen sama molemmissa tapauksissa. Poikkeuksen muodostivat kuitenkin Gram-negatiiviset, pigmenttiä muodostavat bakteerit, jotka olivat suhteellisesti paljon lukuisampia VT:maassa. Tulvaniititystä voitiin todeta, että bakteerien suhteellinen jakautuminen eri alaryhmiin oli jokseenkin samanlainen kuin maanäytteissä OMT-kuusi ja VT. Bakteerien kokonaisuukuuksien määrä oli kuitenkin tulvaniitityn maanäytteessä suurin kaikista tutkituista näytteistä.

Tutkimuskohteiksi valitut näytteenottoaikat voidaan, kun kasvien kasvupaikkavaatimukset otetaan huomioon, järjestää seuraavaan »paremmuusjärjestykseen»: OMT-koivu, OMT-kuusi, VT ja Oj.räme. Taulukossa 4 esitettyjen tulosten perusteella voidaan todeta, että Gram-negatiivisten bakteerien suhteellinen osuus bakteerien kokonaisuukuuksista alenee siirryttäessä kasveille edullisemmasta kasvuympäristöstä karumpaan. Samalla lisääntyy pigmenttiä muodostavien lajien suhteellinen lukumäärä Gram-negatiivisten bakteerilajien kokonaisuukuuksista. Tämä on mielenkiintoinen piirre, nimenomaan verrattaessa sitä L o c h h e a d in (1940) sekä W e s t i n ja L o c h h e a d in (1940) viljelysmaiden ritsosfääritutkimusten tuloksiin. Näissä tutkimuksissa ilmeni ensinnäkin, että Gram-negatiivisten bakteerien lukumäärä kasvaa ja niiden toiminnat edistyvät ritsosfäärissä Gram-positiivisten bakteerien kustannuksella. Edelleen, että kasvien eräitä bakteeriryhmiä edistävä (Gram-negatiiviset) ja toisia ehkäisevä (Gram-positiiviset) vaikutus voi ulottua myös ritsosfäärin ulkopuolelle esim. sellaisissa tapauksissa, jolloin ritsosfäärin ulkopuolisessa maassa esiintyy runsaasti hajoitettavaa kasviainesta. Tällaisen »ritsosfääriefektin» voi

kuvitella esiintyneen juuri OMT:n koivikon maassa, jossa hajoituskelpoisen kasviaineksen (lehtipuiden karikkeet) määrä on runsain. Sitäpaitsi ei suoritettamissamme kokeissa mitenkään pyritty erottamaan ritsosfääriä ja sen ulkopuolista maata, joten sekin seikka, että koivikossa kasvipeite oli tihein ja siten myös suurempi osa maasta edusti ritsosfääriä kuin vastaavasti muissa näytteenottoaikoissa, on voinut vaikuttaa tulokseen.

Sädesienten suhteen ei todettu mainittavia eroja eri maanäytteiden välillä. Sädesienten esiintymistä tutkituissa maissa käsitellään lähemmin jäljempänä.

Typpeä sitovat bakteerit

Tutkittavien maanäytteiden happamuus antoi aiheutta olettaa, että typpeä sitovat bakteerit, mikäli niitä tavattaisiin, olisivat *Clostridium pasteurianum*-tyyppiä, eivätkä atsotobakteereja. Molempien mainittujen bakteerityyppien rikastamiseen pyrittiin kuitenkin kaikista maanäytteistä. *Cl. pasteurianumia* varten käytettiin Winogradskyn (1902) alustaa ja atsotobakteereja varten Jensenin (1951) käyttämää alustaa. Winogradskyn alustassa todettiin kaikissa tapauksissa kasvua ja käymistä, ja *Cl. pasteurianum* esiintyminen rikasteissa oli mikroskooppisesti todettavissa. Sensijaan atsotobakteereja ei todettu ainoassakaan tapauksessa. Typpeä sitovien bakteerien esiintymisessä ei siten eri näytteiden välillä ollut todettavissa mitään eroja. Todettakoon lopuksi, että tässä tutkimuksessa rajoitettiin vapaina eläviin typpeä sitoviin bakteereihin. Symbioottisia tyypibakteereja, joiden merkitys metsämaissa saattaa olla suurikin, tunnetaan esiintyvän ainakin leppien juurinystyröissä.

Nitrifikaatiota ja denitrifikaatiota aiheuttavat bakteerit

Nitrifikaatiota aiheuttavien bakteerien esiintymistä tutkittiin kaikista maanäytteistä kahtena eri ajankohtana (elokuu ja lokakuu). Tähän tarkoitukseen sovellettiin Meiklejohnin (1950) menetelmää. Tulokset olivat kuitenkin kaikkien metsämaiden osalta negatiivisia; sensijaan todettiin tulvaniitystä otetuissa näytteissä varsin aktiivista nitrifikaatiota. Kun nitrifikaatiobakteerit yleensä viihtyvät parhaiten neutraalissa tai lievästi alkalisessa ympäristössä, voidaan edellyttää tutkittujen metsämaiden korkean vetyionikonsentraation ratkaisevasti vaikuttaneen näiden bakteerien puuttumiseen.

Denitrifikaation osoittamiseen käytettiin Giltayn liuosta, jossa

seurattiin nitraatin pelkistystä nitriitiksi. Nitriitin muodostumista todettiin kaikissa tapauksissa. Tulvaniityn maalla siirrostetuissa putkissa esiintyi myös kaasunmuodostusta. Ko. kaasua ei analysoitu.

Rikkibakteerit

Myöskin eräiden rikkibakteerien esiintymistä maanäytteissä tutkittiin kvalitatiivisesti. Kokeet kohdistuivat rikkiä hapettaviin bakteereihin (*Thiobacillus thiooxidans*), joiden osoittamiseen käytettiin Beijerinckin (1904) menetelmää; tiosulfaattia hapettavia bakteereja (*Thiobacillus thioparus*; Waksman, 1922) sekä sulfaattia pelkistäviä bakteereja (*Desulfovibrio*; Butlin, 1949) tutkittiin myös. Näiden kokeiden tulokset on esitetty taulukossa 5.

Taulukko 5. Eräiden rikkibakteerien esiintyminen eri maanäytteissä.

Table 5. The occurrence of certain sulphur bacteria in the soil samples.

| Maanäyte Soil sample | Rikin hapetusta osoitettavissa Oxidation of sulphur | Tiosulfaatin hapetusta osoitettavissa Oxidation of thio- sulphate | Sulfaatin pelkistystä osoitettavissa Reduction of sulphate |
|-------------------------|--|--|---|
| OMT-koivu | — | + | + |
| OMT-kuusi | — | + | + |
| VT | — | + | + |
| Oj. räme | — | + | + |
| T-niitty | + | + | + |

Taulukko 5 osoittaa, että mainittavia eroja ei havaittu eri maanäytteiden kesken. Kaikista maanäytteistä saadut tulokset olivat yhtäpitäviä: rikin hapetusta ei todettu, mutta sensijaan kyllä tiosulfaatin hapetusta ja sulfaatin pelkistystä. Tulvaniityn kohdalla oli ainoa poikkeus metsämaanäytteistä se, että rikin hapetusta voitiin osoittaa. Nämä tulokset ovat sikäli yllättäviä, että rikkiä hapettava *Th. thiooxidans* on hapanta reaktiota suosiva, joten sen olisi odottanut esiintyvän pikemminkin happamissa metsämaanäytteissä kuin vähemmän happamassa tulvaniityssä. Mainittakoon kuitenkin, että eräissä erillisissä kokeissa, jotka kohdistuivat myös muihin kuin varsinaisiin tutkimuskohteisiin, soistuvasta OMT:n kuusikosta peräisin olevan maan todettiin aiheuttavan varsin nopeaa rikin hapetusta. Siten ilmeisesti muutkin tekijät kuin vetyionikonsentraatio ratkaisevasti vaikuttavat *Th. thiooxidansin* esiintymiseen maassa, lähinnä esim. kosteus ja hapetus-pelkistysaste. Tiosulfaatin hapetuksesta

on myös todettava, että sitä yleisesti aiheuttava organismi *Th. thioparus* puolestaan suosii neutraalia reaktiota. Siten sen esiintyminen niinkin happamassa ympäristössä kuin näissä metsämaanäynteissä tuntuu epätodennäköiseltä. Tässä yhteydessä on jäänyt selvittämättä oliko kokeissa todettu tiosulfaatin hapetus *Th. thioparusin* vai muiden rikkibakteerien aiheuttama.

Selluloosaa hajottavat bakteerit

Selluloosabakteerien rikastamisessa pyrittiin erottamaan seuraavat bakteeriryhmät: a) aerobiset selluloosabakteerit; b) anaerobiset selluloosabakteerit; sekä c) termofiiliset anaerobiset selluloosabakteerit. Noudatetut menetelmät olivat modifikaatioita kirjallisuudessa selostetuista menetelmistä (Waksman ja Carey, 1926; Fåhræus, 1947; Hungate, 1950; Gyllenberg, 1952).

Aerobisista selluloosabakteereista tehtiin se havainto, että kaikissa tutkituissa maanäynteissä tätä bakteeriryhmää edustivat etupäässä *Myxobacteriales*-lahkoon kuuluvat organismit (limabakteerit). Kuten edellä sienten yhteydessä mainittiin, todettiin eräiden toistaiseksi identifioimattomien limabakteerien esiintyvän etenkin *Ascobolus*-sienen seuralaisorganismeina. Limabakteerien esiintymistä koskeva havainto on sikäli mielenkiintoinen, että niiden esiintymisestä Suomessa, sen enempää viljelys- kuin luonnontilaisissa maissa, ei ole käytettävissä aikaisempia tietoja. Viime vuosina on limabakteereihin kiinnitetty muualla jonkinverran huomiota ja tiedetään, että myksokokit (*Myxococcaceae*) ovat esim. Englannissa ja Skandinavian maissa varsin yleisiä viljelysmaiden mikrofloorassa (Singh, 1947). Neuvostoliitossa on pääasiassa tutkittu *Polyangiaceae*-heimoon kuuluvia lajeja, joista nimenomaan eräät *Polyangium*-lajit on todettu tehokkiksi selluloosan hajottajiksi (Imsennecki ja Solnzeva, 1936; Mishustin, 1938).

Aerobisista bakteereista selluloosanhajoituskyylyltään ilmeisesti tehokkaimmat lajit (*Cytophaga*) ovat ympäristöönsä nähden vaativia, eivätkä siedä alhaista pH:ta. Sama koskee muita tarkemmin tunnettuja aerobisia selluloosanhajottajia (esim. *Cellvibrio* ja *Cellulomonas*). Siten näyttää todennäköiseltä, että bakteerien aiheuttama aerobinen selluloosan hajoitus happamissa maissa on happamuutta sietävien, varsinaisten limabakteerien¹

¹ Myös suku *Cytophaga* luetaan systemaattisessa mielessä limabakteerien lahkoon, vaikka tämän suvun bakteerit eräissä suhteissa poikkeavat muista limabakteereista, joista tässä käytettiin nimitystä »varsinaiset» limabakteerit.

varassa. Näistä useat onkin todettu varsin mukautuviksi ja ne viihtyvät laajalla pH-alueella; sen lisäksi on ilmeistä, että monilla lajeilla on monipuolinen orgaanisen aineksen hajoituskäky. Sitä vastoin niiden muut ravintovaatimukset näyttävät eräissä tapauksissa olevan kompleksiset. Tiedot ovat tässä suhteessa kuitenkin vielä hyvin vaillinaisia.

Limabakteerien esiintyminen metsämaissa on siten siinäkin mielessä kiintoisaa, että niillä saattaa olla huomattavan suuri merkitys organogeenisen aineksen, ehkä nimenomaan sieniaineksen, hajottajina niissä suhteellisen karuissa olosuhteissa, joita metsämaat tarjoavat maan pieneliöstölle.

Kaikista maanäynteistä voitiin rikastaa anaerobisia selluloosan hajottajia, joiden aktiivisuus kuitenkin oli varsin vähäistä ja toiminta hidasta. Hajoitusta aikaansaavien bakteerien tutkimus oli rajoitettava mikroskooppiseen tarkasteluun, koska jatkettu rikastaminen johti ko. bakteerien kasvun suksessiiviseen heikkenemiseen. Mikroskooppinen tarkastus osoitti nämä bakteerit lähinnä *Clostridium omelianskiita* muistuttaviksi.

Termofiilisiä selluloosan hajottajia voitiin osoittaa ainoastaan tulvaniitty-äynteissä. Tässäkin tapauksessa näyttää siltä, että metsämaiden alhainen pH on ollut syynä tämän bakteeriryhmän puuttumiseen.

Sädesienet

Autoktoniseen bakteeriflooraan kohdistuneiden tutkimusten yhteydessä (vrt. edellä siv. 14) laskettiin erikseen sädesienet, joiden suhteellisesta esiintymisrunsaudesta bakteereihin verrattuna on edellä (taulukko 4) esitetty tietoja. Sädesienten lasketut lukumäärät eri maanäynteissä muutamilla näytteenottoerillä esitetään taulukossa 6. Sädesienten lukumäärän laskemiseen ja niiden eristämiseen käytettiin enimmäkseen Czapekin agarina.

Taulukosta 6 on sanottava, että käsitteellä »sädesienten lukumäärä» ei ole samaa merkitystä, eikä sitä esittäville luvuille samaa eksaktisuutta kuin bakteerien lukumäärillä. Sädesienten lukumäärään lähinnä ilmaisee sädesienten muodostamien itiöiden määrän tutkimuksessa näytteessä, eikä anna kuvaa sädesienirihmastosta. Kuitenkin sädesienillä kuten varsinaisilla sienilläkin organismin aineenvaihdunta ja siten myös biokemiallinen toiminta tapahtuu rihmastossa, eikä muodostuneiden itiöiden lukumäärä suinkaan aina ole eikä voi olla missään tarkassa suhteessa organismin toiminnan yleiseen vilkkauteen. Koska ei kuitenkaan ole käytettä-

Taulukko 6. Sädesienten lukumäärät eri maanäytteissä muutamilla näytteenotto-kerroilla. Pesäkkeitä / g maata.

Table 6. The numbers of actinomycetes in the soil samples. Colonies / g of soil.

| Näytteenotto- kerta Time of sampling | OMT-koivu | OMT-kuusi | VT | Oj. räme | T-niitty |
|--|-----------|-----------|--------|----------|----------|
| VI | 7 000 | — | 6 000 | — | — |
| VIII | 8 000 | 20 000 | 10 000 | 8 000 | 125 000 |
| X | 23 000 | 18 000 | 11 000 | 10 000 | 230 000 |

vissä mitään menetelmää sädesieni- tai sienirihmaston runsauden määrittämiseksi, on käsityksen saamiseksi näiden organismien runsaudesta maassa tyydyttävä varovaisiin päätelmiin niiden lukujen perusteella, joita voidaan saada itiöiden runsaudesta. Taulukko osoittaa, että vähemmän hapan tulvaniitty on suotuisa ympäristö sädesienille. Tästä maatyypistä saadut luvut ovat n. 10-kertaisia verrattuna metsämaihin. Viimeksimainituissa maatyypeissä on jonkin verran yllättävää, että sädesieniä tavattiin niin happamassa ympäristössä säännöllisesti.

Eristettyjen sädesienikantojen identifiointi osoitti, että tutkittujen maiden sädesieniflooran muodostivat yksinomaan *Streptomyces*-sukuun kuuluvat lajit; esim. *Micromonospora*-lajeja ei tavattu. Ko. streptomykeetit olivat kaikki valkeita, vain harvat lajit muodostivat heikosti ruskehtavaa pigmenttiä; voimakkaita pigmenttejä muodostavia lajeja ei esiintynyt. Ne eivät osoittaneet mainittavaa biokemiallista aktiivisuutta ja niiden kasvu normaalialustoillakin oli hidasta.

Sädesieniä on totuttu pitämään tyypillisinä neutraalissa ympäristössä viihtyvinä organismeina, joita vety-ionikonsentraation kohoaminen nopeasti ja voimakkaasti ehkäisee. Siten ansaitsee huomiota se havainto, että sädesieniä esiintyy happamissa metsämaissa. Suoritettu tutkimus ei oikeuta päätelmien tekoon tämän mikrobiryhmän mahdollisista toiminnoista ja merkityksestä näissä ympäristöissä. Tähänastiset kokeet ovat osoittaneet ainoastaan sen, että eristämistämme kannoista kaikki 19, joita lähemmin tutkittiin, kasvoivat sekä pH 7:ssä että pH 6:ssa. pH 5:ssä pystyi kasvamaan vain vajaa toinen puoli eli 9 kantaa (47 %). Loput 10 kantaa (53 %) eivät puhdasviljelminä pystyneet kasvamaan pH 5:ssä. Tämä voidaan tulkita siten, että ainakin erällä happamista maista eristetyillä sädesienillä on myös edellytyksiä toimintaan tässä ympäristössä.

Alkueläimet

Alkueläimiin kohdistettu tutkimus suoritettiin mikroskooppisesti. Menetelmä oli modifikaatio Volzin (1934) selostamasta. Sitä soveltaen määritettiin alkueläinten lukumäärä eri maanäytteistä ja samoin pyrittiin selvittämään, mitkä alkueläintyyppit esiintyivät yleisimpinä eri maanäytteissä.

Suurempien alkueläinten lukumäärissä ei todettu suuriakaan eroja eri maanäytteiden välillä. Jos sensijaan otetaan huomioon myös pienet siimaeliöt, joiden lukumäärä oli n. 10-kertainen kookkaampien lajien lukumäärään verrattuna, todetaan huomattaviakin eroja. Mainitut siimaeliöt puuttuivat nimittäin kokonaan maiden VT ja Oj.räme näytteistä. Pienten siimaeliöiden lukumäärät olivat suurimmat maata OMT-koivu edustavissa näytteissä ja jonkin verran pienempiä näytteissä OMT-kuusi ja T-niitty.

Eri näytteenotto-kerroilla samasta tutkimuskohteesta saatuja tuloksia keskenään verrattaessa todetaan alkueläinten lukumäärän nousseen jonkin verran alkukesästä loppukesään ja laskeneen sen jälkeen varsin nopeasti. Syys-lokakuun vaihteessa todettiin maassa pääasiallisesti vain eri alkueläintyyppien kestonuotoja.

Tutkimuksessa havaittujen alkueläinryhmien edustajien esiintyminen eri maanäytteissä käy ilmi taulukosta 7.

Mielenkiintoisin tavatuista alkueläimistä on pieni flagellaatti, *Chromulina*, jonka erityisen runsasta esiintymistä todettiin kahdessa metsämaakohteessa ja tulvaniityssä. Ko. alkueläimen esiintymisestä maassa ei kirjallisuudessa liene esitetty tietoja. Toinen siimaeliö, *Bodo*, tavattiin ainoastaan kerran tutkimuskohdetta OMT-kuusi edustavassa näytteessä. Ripsieläimistä *Colpidium* esiintyi säännöllisesti ja sitä tavattiin kaikissa maanäytteissä.

Taulukosta voi tehdä sen havainnon, että maanäytteissä OMT-koivu ja OMT-kuusi tavattiin monipuolisin alkueläinfauna. Samoissa tutkimuskohteissa esiintyivät myös kvantitatiivisesti suurimmat alkueläinmäärät.

Kuten tunnettua maaperän alkueläinten pääasiallisimman ravinnon muodostavat bakteerit. Siten on alkueläinten esiintymisestä saatuja tuloksia pohdittaessa suoritettava vertailu bakteerien esiintymisestä osoittaviin lukuihin, lähinnä niihin, jotka koskevat maaperän vakinaista autoktonista flooraa. Alkueläinten runsasta esiintymistä on yleisesti pidetty bakteerien lukumäärää rajoittavana tekijänä. Toisaalta on kuitenkin ilmeistä, että mainittujen mikrobiryhmien runsautta ilmaisevat luvut eivät ole kääntäen verrannollisia, vaan että alkueläinten lukumäärän nousu edellyttää

Taulukko 7. Eräiden alkueläinryhmien esiintyminen maanäytteissä.

Table 7. The occurrence of certain groups of protozoa in the soil samples.

| | OMT-koivu | OMT-kuusi | VT | Oj. räme | T-niitty |
|-------------------------|-----------|-----------|----|----------|----------|
| <i>Chromulina</i> | + | + | - | - | + |
| <i>Bodo</i> | - | + | - | - | - |
| <i>Amoebina</i> | + | + | - | + | + |
| <i>Testacea</i> | + | - | + | - | - |
| <i>Colpidium</i> | + | + | + | + | + |
| <i>Paramecium</i> | + | + | - | + | - |

myös bakteerien lukumäärän kasvamista. Kuitenkin eräiden ympäristötekijöiden selektiivinen vaikutus alkueläimiin saattaa ilmeisesti johtaa huomattavaan bakteerimäärien nousuun.

Tutkimuksen tulokset osoittavat, että alkueläinten esiintyminen oli runsainta juuri niissä näytteissä, joissa bakteerimäärät olivat suurimmat ja bakteerien toiminta ilmeisesti intensiivisintä (OMT-koivu, OMT-kuusi ja T-niitty). Toisaalta taasen bakteerien lukumäärissä todettiin kaikissa maanäytteissä jonkin verran nousua elokuusta lokakuuhun, kun sen sijaan alkueläinten lukumäärä samalla osoitti nopeaa laskua, mikä todennäköisesti johtui lämpötilasuhteista (yöpakkaset).

Tulosten tarkastelu

Suoritetun, luonteeltaan varsin alustavan tutkimuksen tarkoituksena oli (a) valaista muutamien edustavien luonnontilaisten maiden mikrobiston laadullista koostumusta yleensä ja (b) selvittää missä määrin maaperän mikrobiston koostumuksen eroja esiintyy eri metsätyypeissä. Lähinnä ensiksi mainittua tarkoitusta varten suoritettiin vertailun vuoksi vastaava tutkimus myös tulvaniitystä otetuista maanäytteistä. Tämän vertailukohteen valinta ei ehkä ollut täysin onnistunut. Tosin kysymyksessä oli luonnontilainen maatyyppejä, mutta sen happamuus poikkesi olennaisesti metsämaiden happamuudesta, ja sitä paitsi oli ko. tulvaniityn maa fyysikaaliselta rakenteeltaan myös ratkaisevasti erilainen.

Verrattaessa metsämaiden kodalta saatuja tuloksia vastaaviin tuloksiin tulvaniitystä todetaan erot kuitenkin suorastaan yllättävän pieniksi. Ne erot, jotka olivat osoitettavissa, koskivat kaikissa tapauksissa jonkin metsämaista puuttuvan mikrobiryhmän esiintymistä tulvaniitissä ja

olivat tulkittavissa tulvaniityn bakteereille yleensä edullisemmasta pH:sta johtuviksi.

Yleishuomiona metsämaiden maaperän mikrobistosta on sanottava, että sienifloora oli sangen yksipuolista. On mahdollista, että noudatetut tutkimusmenetelmät ovat valikoivasti johtaneet tähän tulokseen. On kuitenkin korostettava, että tämä tulos ei mitenkään merkitse sitä, että mikrooskooppeiden sienten toiminta olisi metsämaissa vähäistä ja merkityksetöntä. Bakterifloora osoittautui suhteellisen monipuoliseksi, kun ottaa huomioon nimenomaan tutkittujen maiden alhaisen pH:n. Bakteriflooran kohdalla mielenkiintoisimmat havainnot olivat epäilemättä limabakteerien esiintyminen ja »acidotoleranttien» sädesienten yllättävä runsaus.

Kun sitten tarkastelee eri metsätyyppejä koskevia tuloksia, on ensimmäiseksi todettava, että havaittujen erojen täytyy lähinnä johtua kasvi- ja kasvi-erilaisuudesta. Tässä yhteydessä ei ole syytä käydä tarkastelemaan, mitkä seikat vaikuttavat metsien kasvipeitteen määräytymiseen ja kasvipeitteessä tapahtuviin muutoksiin. Todettakoon vain, että mikrobiston mahdollisuuksia näiden ilmiöiden säätelyyn on äärimmäisen vaikeata arvioida ja vielä vaikeampaa kokeellisesti osoittaa, miten se luonnossa tapahtuu. Perustellusti voidaan olettaa metsämaiden mikrobiston koostumuksen sekä sen toimintojen laadun ja intensiteetin määräytyvän pääasiassa seurauksena ilmiöiden maassa vallitsevien olosuhteiden sekä säätekijöiden ja kasvipeitteen vaikutuksista.

Edellä esitetystä on käynyt ilmi, että eri metsämaiden välillä todetut erot rajoittuivat kahteen ilmiöön: (a) maaperän autoktonisen bakteriflooran koostumukseen ja runsauteen sekä (b) alkueläinten lukumäärään ja osittain myös alkueläinfaunan koostumukseen. Edellä on osoitettu, että näiden molempien ilmiöiden kesken on ilmeisesti vuorovaikutusta, ja että autoktoninen bakterifloora, alkueläinten pääravintona, vaikuttaa bakteerien ja alkueläinten välisen tasapainon kehittymiseen.

Autoktonista bakteriflooraa on käsitelty edellä. Tällöin todettiin eräiden aikaisempien tutkijoiden havaintojen osoittavan, että Gram-negatiivisten bakteerien suhteellinen lukumäärä ilmaisee autoktonisen bakteriflooran toiminnan vilkkautta. Tosin ei ole tietoja siitä, onko näiden ilmiöiden keskinen suhde niin säännönläinen, että Gram-negatiivisten bakteerien suhteellista lukumäärää sellaisenaan voitaisiin käyttää autoktonisen bakteriflooran aktiivisuuden numerolliseen ilmaisuun. Autoktonisen bakteriflooran toiminnan ja aktiivisuuden laatua ja luonnetta ei täysin voida selittää, mutta on ilmeistä, että nämä bakteerit pääasiassa käyttävät hyväkseen kasvien juurten erittämiä tai hajoituksen alaisista kasvukudoksista vapau-

tuvia ravinteita. Missä määrin näiden bakteerien toiminta puolestaan sisältäisi joitakin »vastapalveluksia» kasveille, lienee täysin tuntematonta. Näyttää näin ollen siltä — ja selostettavassa tutkimuksessa todetut tulokset viittaavat myös siihen — että runsas kasvipeite ja runsas määrä hajotuskelpoista kariketta aiheuttavat maassa Gram-negatiivisvaltaisen, aktiivisen bakteeriston kehittymisen. Vastaisissa tutkimuksissa jää osoitettavaksi, johtavatko Gram-negatiivisten bakteerien toiminnat, minkä laatuksia ne lienevätkin, maan kasvukunnon parantumiseen, ja siten vuorostaan kasvipeitteen monipuolisuuden ja tiheyden lisääntymiseen.

Kuten edellä on korostettu, suoritettu tutkimus oli luonteeltaan orientoiva. Siinä pyrittiin muutamista edustavista näytteistä hahmottelemaan kuvaa metsämaiden mikrobistosta ja mikäli mahdollista löytämään metsämaiden mikrobiologiaan kuuluvia yksittäiskohtaisemman tutkimisen arvoisia kysymyksiä. Tällaisia yleismikrobiologisessa mielessä huomionarvoisia tutkimuskohteita näyttävät olevan limabakteerit, niiden ekologia ja organogeeniseen aineeseen kohdistama hajotustoiminta. Myöskin happamien metsämaiden sädesienten fysiologia ansaitsee huomiota osakseen. Sovelletun maamikrobiologian kannalta näyttäisi nimenomaan radikaalisten toimenpiteiden johdosta muuttuvan metsän maaperän mikrobisto tutkimisen arvoiselta. Kysymykseen saattaisi tällöin tulla esim. hakkuun ja kulutuksen vaikutusten tai pelloksi raivattavan viljelyskelpoisen maan mikrobistossa tapahtuvien muutosten seuraaminen. Myös soistumisilmiö kokonaisuudessaan sekä soiden kuivatuksen vaikutukset kaipaavat mikrobiologista selvitystä.

Yhteenveto

Suoritettu tutkimus kohdistui luonnontilaisten maiden mikrobiston koostumukseen. Luonnontilaisia maita edustivat tutkimuksessa seuraavat metsätyypit: Oxalis-Myrtillus-koivikko, Oxalis-Myrtillus-kuusikko, Vaccinium-männikkö, sekä ojitettu isovarpuinen räme. Metsätyyppien lisäksi tutkittiin tulvaniittyä. Tutkimuksen tuloksista voidaan yhteenvetona esittää seuraavaa:

1. Noudatetut tutkimusmenetelmät antoivat yksipuolisen kuvan tutkimuskohteiden mikroskooppisesta sienifloorasta. Nopeakasvuiset lajit, etupäässä *Mucor*- ja *Penicillium*-lajit, muodostivat pääosan eri menetelmillä eristetyistä homekannoista. Kasviainesta suhteellisen tehok-

kaasti hajottavia mikroskooppisia sieniä edustivat eri *Dematiaceae*-heimon homeet, *Fusarium*-, *Monosporium*- ja *Spicaria*-sukuihin kuuluvat lajit sekä eräs *Ascobolus*-sukuun kuuluva kotelosieni. On kuitenkin korostettava sitä, että suoritettu tutkimus ei anna oikeata kuvaa hidaskasvuisten ja laboratorioissa vaikeasti viljeltävien sienten runsaudesta ja merkityksestä luonnontilaisissa maissa.

2. Autoktonisten bakteerien lukumäärät eri maanäytteissä vaihtelivat rajoissa (lukumäärät perustuvat suksessiivisen laimentamisen jälkeen maljoihin kasvaneiden pesäkkeiden lukumääriin): 270 000—10 000 000 pesäkettä grammasta ilmakeivää maata. Autoktonisten bakteerien lukumäärät olivat suurimmat maissa OMT-koivu, OMT-kuusi ja Tulvaniitty, sen sijaan huomattavasti pienemmät maissa VT ja Oj-räme. Autoktonisten bakteerien lukumäärissä todettiin vähäistä nousua syksyllä (elokuusta lokakuuhun).

3. Maassa OMT-koivu muodostivat Gram-negatiiviset bakteerit n. 90 % autoktonisten bakteerien kokonaismäärästä. Kasveille vähemmän edullisen kasvuympäristön tarjoavissa metsätyypeissä OMT-kuusi ja VT oli Gram-negatiivisten bakteerien osuus autoktonisten bakteerien kokonaismäärästä n. 60 %, ja epäedullisimmassa ympäristössä (Oj-räme) vain n. 25 %. Siten näyttää siltä, että Gram-negatiivisten bakteerien suhteellinen ja mahdollisesti myös niiden absoluuttinen lukumäärä on riippuvainen joidenkin kasvien juurista erittyvien ravinteiden (vitamiinit ja aminohapot) erittymisen vilkkaudesta.

4. Tyyppeä sitovia bakteereja tavattiin kaikissa maissa. Nämä olivat kaikissa tapauksissa *Clostridium pasteurianum*-tyyppiä. Atsotobakteereja ei tavattu. Nitrifikaatiota todettiin vain tulvaniityssä. Denitrifikaatiota saatiin aikaan kaikilla tutkituilla maanäytteillä. Rikin hapetusta todettiin ainoastaan tulvaniitystä, mutta tiosulfaatin hapetusta ja sulfaatin pelkistystä sen sijaan kaikista tutkituista maista otetuilla näytteillä siirrotetuissa kokeissa.

5. Tutkituissa maissa todetut selluloosaa hajottavat aerobiset bakteerit olivat ns. limabakteereja (*Myxobacterales*). Muita tyyppejä ei havaittu. Kaikista näytteistä voitiin myös rikastaa anaerobisia selluloosan hajottajia (*Clostridium ome-lianskii*), mutta anaerobinen selluloosan hajotus oli vähäistä ja hidasta. Termofiilisiä anaerobisia selluloosan hajottajia esiintyi ainoastaan tulvaniityssä.

6. Kaikissa tutkituissa maissa todettiin sädesieniä. Kaikki eris-

tetyt kannat kuuluivat *Streptomyces*-sukuun. Noin puolet eristetyistä kannoista kykenivät puhdasviljelminä kasvamaan pH 5:ssä.

7. Alkueläinten lukumäärä oli suurin maissa OMT-koivu, OMT-kuusi ja tulvaniitty. Maissa OMT-koivu ja OMT-kuusi oli alkueläinfauna monipuolisin. Alkueläinten lukumäärät tutkituissa maissa kasvoivat kesän kuluessa (huippuluvut todettiin elokuussa), mutta laskivat sitten jyrkästi syyskuun loppuun mennessä.

Kirjallisuusluettelo

- Aaltonen, V. T. 1940. Metsämaa, 615 ss, Porvoo.
- Beijerinck, M. V. 1904. Centr. Bakt. II Abt., 11, 593—599. Ref. Fred ja Waksman, 1928, Laboratory Manual of General Microbiology, 1st Ed., 145 pp, New York.
- Breed, R. S., Murray, E. G. D. ja Hitchens, A. P. 1948. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 6th Ed., 1529 pp, London.
- Butlin, K. R., Adams, M. E. ja Thomas, M. 1949. The Isolation and Cultivation of Sulphate-Reducing Bacteria, J. Gen. Microbiol., 3, 46—59.
- Chesters, C. G. C. 1948. Trans. Brit. Mycol. Soc., 30, 100—117. Ref. Lochhead, 1952, Ann. Rev. Microbiol., 6, 185—206.
- Chesters, C. G. C. 1949. Trans. Brit. Mycol. Soc., 32, 197—216. Ref. Lochhead, 1952, Ann. Rev. Microbiol., 6, 195—206.
- Conn, H. J. 1948. The Most Abundant Groups of Bacteria in Soil, Bact. Rev., 12, 257—273.
- Fred, E. B. ja Waksman, S. A. 1928. Laboratory Manual of General Microbiology, 1st Ed., 145 pp, New York.
- Fähræus, G. 1947. Studies in the Cellulose decomposition by Cytophaga, Symb. Bot. Ups. IX: 2.
- Gyllenberg, H. 1952. Studies of associative populations in the breakdown of cellulose, Acta Agricult. Scand., II, 183—196.
- Huikari, O. 1953. Tutkimuksia ojituksen ja tuhkalannoituksen vaikutuksesta eräiden soiden pieneliöstöön, Metsäntutkimuslaitoksen julk., 42,2, 1—18.
- Hungate, R. E. 1950. The anaerobic mesophilic cellulolytic bacteria, Bact. Rev., 14, 1—49.
- Imsenecki, A. A. ja Solntseva, L. I. 1936. On aerobic cellulose-decomposing bacteria, (English summary), Akademiya Nauk, Leningrad, Izvestiya, 1115.
- Isotalo, A. 1951. Studies on the ecology and physiology of cellulose-decomposing bacteria in raised bogs, Acta Agr. Fenn., 74, 106 pp, Helsinki.
- Jensen, H. L. 1951. Notes on the biology of Azotobacter, Proc. Soc. Appl. Bacteriol., 14, 89—94.
- Jones, P. C. T. ja Morrison, J. E. 1948. A technique for the quantitative estimation of soil micro-organisms, J. Gen. Microbiol., 2, 54—69.
- Lochhead, A. G. 1940. Qualitative studies of soil micro-organisms, III. Influence of plant growth on the character of the bacterial flora, Can. J. Res., C, 18, 42—53.
- Lochhead, A. G. 1952. Soil microbiology, Ann. Rev. Microbiol., 6, 185—206.
- Meiklejohn, J. 1950. The isolation of Nitrosomonas europaea in pure culture, J. Gen. Microbiol., 4, 185—191.

- Mishustin, E. N. 1938. Mikrobiologija, 7, 427., Ref. Breed et al., 1948, Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 6th Ed., 1529 pp, London.
- Singh, B. N. 1947. Myxobacteria in soils and composts; their distribution, number and lytic action on bacteria, J. Gen. Microbiol., 1, 1—10.
- Smith, N. R. 1948. Microbiology of soil, Ann. Rev. Microbiol., 2, 453—484.
- Svinhufvud, V. E. 1937. Untersuchungen über die bodenmikrobiologischen Unterschieden der Cajander'schen Waldtypen, Acta Forest. Fenn., 44, 1—67.
- Taylor, C. B. R. ja Lochhead, A. G. 1938. Qualitative studies of microorganisms in soil, II. A survey of the bacterial flora of soils differing in fertility. Can. J. Res., C, 16, 162—173.
- Timonin, M. I. 1940. The interaction of higher plants and soil micro-organisms, I. Microbial population of rhizosphere of seedlings of certain cultivated plants. Can. J. Res., C, 18, 307—317.
- Vartiovaara, U. 1935. Maaperän sienten aineenvaihduntaa koskevia tutkimuksia, Acta Agr. Fenn., 32, 112 ss, Helsinki.
- Volz, P. 1934. Untersuchung über die Mikroschichtung der Fauna von Waldböden, Zool. Jahrb., 66, 153—210.
- Waksman, S. A. 1922. J. Bact., 7, 605—608. Ref. Fred ja Waksman, 1928, Laboratory Manual of General Microbiology, 1st Ed., 145 pp, New York.
- Waksman, S. A. 1931. Principles of Soil Microbiology, 2nd Ed., 894 pp, London.
- Waksman, S. A. ja Carey, C. 1926. The use of silica gel plate for demonstrating the occurrence and abundance of cellulose-decomposing bacteria, J. Bact., 12, 87—95.
- West, P. M. ja Lochhead, A. G. 1940. Qualitative studies of soil micro-organisms, IV. The rhizosphere in the relation to the nutritive requirements of soil bacteria, Can. J. Res., C, 18, 129—135.
- Winogradsky, S. 1902. Centr. Bakt., II Abt., 9, 49. Ref. Fred ja Waksman, 1928, Laboratory Manual of General Microbiology, 1st Ed., 145 pp, New York.
- Winogradsky, S. 1925. Etudes sur la microbiologie du sol, I. Sur la méthode. Ann. Inst. Pasteur, 39, 299—354.

Observations on the Composition of the Microbial Population in Some Virgin Soils

SUMMARY

The purpose of the present investigation was to obtain a preliminary picture of the composition of the microbial population in some representative virgin soils in Finland. Four different forest types were selected for investigation, viz. *Oxalis-Myrtillus*-type growing birch (abbr. »OMT-koivu»), *Oxalis-Myrtillus*-type growing spruce (»OMT-kuusi»), *Vaccinium*-type growing pine (»VT»), and drained pinebog (»Oj. räme»). The VT-pine-type is the most common forest type in Finland, and the OMT types are very common in Southern Finland. Drained pinebog is a variant which can be compared with the VT forest type; it represents the first stage of cultivation of a very common bog type in Finland. In addition to the forest soils, the microbial population of a flood meadow (meadow inundated each spring by inland waters; »T-niitty») was investigated. This soil represents a non-forest virgin soil type also common in Finland.

Soil samples were taken in June, August, October, November, and from two soils (»OMT-kuusi» and »VT»), in January also. The plants and roots were removed from the samples and the soil was carefully stirred before using it in the experiments. Descriptions of the vegetation at the places where the soil samples were taken are given in Table 1, and the pH-values of the samples in Table 2. The main results of the investigation are presented below.

The Fungi

The methods of investigation employed revealed a somewhat one-sided picture of the fungous flora in the soils under study. Rapidly-growing types, especially different species of *Mucor* and *Penicillium*, were mainly isolated. In addition, different species were found, which showed some activity in the decomposition of plant material. These molds belonged to the genera *Fusarium*, *Monosporium*, and *Spicaria*. An ascomycete of the genus *Ascobolus* was also found frequently in all soil samples. It must be noted, however, that these data give no accurate picture of the occurrence of slowly-growing molds in virgin soils.

The Bacteria

1. The numbers of autochthonous bacteria in the different samples varied between 270 000 and 10 000 000 per gram of airdry soil (the determinations were carried out by

the dilution and plating method). The numbers were highest in the soils of *Oxalis-Myrtillus*-type forests, and of the flood meadow, and considerably lower in the soils of *Vaccinium*-type and the pinebog. The numbers of autochthonous bacteria showed some increase during the autumn (from August to October; Table 3.).

2. In »OMT-koivu» soil the gram-negative bacteria formed the main part of the autochthonous flora (about 90 per cent). In the »OMT-kuusi» and »VT» soils some 60 per cent only of the autochthonous bacteria were gram-negative, and in the pinebog soil only 25 per cent. Since the numbers of gram-negative bacteria are higher in soils showing a more abundant vegetation, it seems probable that the relative numbers of gram-negative bacteria, and possibly their absolute numbers also, depend on the availability of certain nutrients (vitamins; amino acids) which may be secreted by the plant roots (Table 4.).

3. Nitrogen-fixing bacteria were found in all soils. These were of the *Clostridium pasteurianum* type. *Azotobacter* was found in no case. Nitrification was found to proceed in the flood meadow only, but denitrifying bacteria were present in all soils. Oxidation of sulphur was caused by the flood meadow only, oxidation of thiosulphate, and, under anaerobic conditions, reduction of sulphate were caused by samples of all soils (Table 5.).

4. The aerobic cellulose-decomposing bacteria found in the samples belonged to the slime bacteria (*Myxobacteriales*). Other types of aerobic cellulose bacteria were not found. A very slow anaerobic decomposition of cellulose, probably caused by *Clostridium omelianskii* or similar bacteria, could be observed in all samples. Anaerobic cellulose-decomposing thermophilic bacteria were found in the flood meadow only.

5. Actinomycetes were found in all soils. All the strains isolated belonged to the genus *Streptomyces*. About 50 per cent of these strains were capable of growth at pH 5 when tested at pure cultures (for the actinomycetes see also Table 6.).

The Protozoa

The numbers of protozoa (estimated microscopically) were highest in the soils of *Oxalis-Myrtillus*-type forests and the flood meadow. A greater number of different types were represented in the OMT than in the other soils (see also Table 7). The numbers of protozoa in the soils investigated tended to increase during the summer, but decreased rapidly later, and at the end of September mainly encysted forms were found.

Discussion

A comparison of the results for the forest soils with those of the flood meadow reveals no greater differences. Some groups of micro-organisms seem to be absent from the forest soils although they were found in the flood meadow. This was apparently due to the more favourable pH of the latter.

As mentioned above, the data obtained on the composition of the fungous flora in the soils investigated remained rather scanty. In spite of the acidity of the forest soils, however, many different groups of bacteria were represented in the samples. The relative abundance of actinomycetes deserves especial note. The occurrence of myxobacteria

is also interesting since no earlier data are available concerning these organisms in Finnish soils.

The soils of the different forest types showed differences (a) as to the kinds and numbers of autochthonous bacteria, and (b) as to the appearance of protozoa. Some interdependence between these two groups of micro-organisms seems likely. Primarily, the composition, and probably also the numbers, of the autochthonous bacterial flora depend on the kind and abundance of the vegetation. With increasing numbers of bacteria the numbers of protozoa increase as well. Protozoa, however, are readily affected by unfavourable environmental conditions (e.g. night frosts), and a rapid fall in the numbers of protozoa may permit a further increase in the numbers of bacteria.