

Б. Т. КАТАРЬЯН

СТАТИСТИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА ДАННЫХ КОЛИЧЕСТВА МИКРООРГАНИЗМОВ В ПОЧВЕ

Микроорганизмы обладают высоким темпом размножения, что, естественно, создает определенные затруднения при оценке экспериментальных данных относительно количества их в изучаемом субстрате.

В настоящей работе приводятся результаты статистической обработки данных по количеству микроорганизмов в почве для определения величины выборочной ошибки средних арифметических.

При статистической обработке результатов по количеству почвенной микрофлоры экспериментатору приходится иметь дело со следующими ошибками исследования: ошибкой самого метода исследования, ошибкой наблюдения или техники исследования, ошибкой выборки.

В настоящее время нет такого метода в арсенале почвенных микробиологов, который позволил бы определить истинный количественный состав микроорганизмов в почве. Существующие методы дают относительное представление о плотности микробного населения и его качественном составе [2, 6, 10, 11].

При изучении почвенной микрофлоры в лабораторной практике применяются два принципиально различных метода количественного подсчета микроорганизмов: учет выросших колоний микроорганизмов на твердых и жидких питательных средах, на которые засеивается определенный объем разведенной почвенной суспензии; микроскопический подсчет микробных клеток.

Чаще пользуются методом посева на питательные среды. Шире используется метод посева на твердые агаризованные среды. Ценность этого метода состоит в более высокой достоверности по сравнению с посевом почвенной суспензии на жидкие среды [6, 8, 14, 16, 17].

Следует отметить, что при изучении количественного состава микроорганизмов в почве необходимо подбирать более универсальные питательные среды. В качестве таких сред могут служить агаризованная вода, крахмал-аммиачная среда, агаризованные почвенные вытяжки и экстракты [6, 10, 11, 12]. На этих средах развивается большее число микроорганизмов, чем на средах богатых, содержащих высокие концентрации питательных веществ. Ниже приводятся данные сравнительного изучения развития основных групп микроорганизмов на различных питательных средах, полученные из одного и того же почвенного образца.

Таблица 1

Развитие почвенных микроорганизмов на различных питательных средах

Питательные среды	Количество микроорганизмов, в тыс. на 1г абс. сухой почвы				
	бактерии	актиномицеты	грибы	дрожжи	общее количество
МПА	33,3	0,9	19,8	1,8	55,8
Сусло-агар	15,8	0,0	0,9	2,7	18,5
Крахмал-аммиачный агар . . .	280,9	41,4	18,0	12,6	353,8
Почвенная вытяжка на агаре	142,2	2,7	13,5	0,0	158,4

Среди проверенных питательных сред наиболее оптимальной для развития различных групп микроорганизмов оказалась крахмал-аммиачная среда. По-видимому, для изучения общего количества микроорганизмов в почве следует пользоваться такими средами, как крахмал-аммиачный агар и агаризованная почвенная вытяжка, как средами, близкими по составу минеральных и органических веществ к составу веществ исследуемых почвенных образцов.

В условиях естественного обитания клетки почвенных микроорганизмов размножаются в среднем не менее двух раз в месяц. Микрофлора ризосферы культивируемых растений регенерирует за вегетационный период 14—18 раз в южной полосе и 6—10 раз—в средней [10]. Принимая во внимание эти данные, следует анализировать почвенные образцы на исследуемом участке не реже двух раз в месяц. В наших исследованиях по изучению влияния сидератов на развитие почвенных микроорганизмов [9] была отмечена тенденция к увеличению всех групп микроорганизмов в варианте с зеленым удобрением (табл. 2).

Таблица 2

Количество бактерий в зоне запахивания сидератов

Даты анализов	Средние данные количества бактерий, в сотни тыс. на 1 г абс. сухой почвы					
	на делянках без сидератов— X_1		на делянках с сидератами— X_2		d ($X_2 - X_1$)	НСР 0,95
	число	т ⁰ /о	число	т ⁰ /о		
4 июня	0,5	3,7	0,8	7,1	0,3	1,8
26 июня	1,0	6,4	1,5	13,2	0,5	5,7
8 июля	0,7	11,3	1,6	10,0	0,9	5,0
22 июля	0,8	3,5	1,6	1,7	0,8	1,1
5 августа	1,3	1,2	1,3	6,1	0,0	2,9
19 августа	1,2	6,3	1,5	5,2	0,3	3,0
2 сентября	0,6	6,1	1,4	6,5	0,8	2,9
16 сентября	1,2	4,8	1,8	3,1	0,6	2,2
30 сентября	1,4	4,1	1,6	7,4	0,2	3,7
14 октября	1,5	8,7	2,2	3,6	0,7	4,1

Полученные данные были подвергнуты статистической обработке. Согласно требованиям, предъявляемым к полевым опытам с удобрения-

ми, относительный показатель точности опыта по всем срокам анализов в среднем оказался удовлетворительным— $m\% = 5,6$ по контрольным делянкам и 5, 4—по опытным. Однако величина разности в численности микроорганизмов между вариантами (d) с зеленым удобрением (X_2) и без удобрения (X_1) оказалась несущественной. В исследованиях Штейнбрэннера с соавт. и Козлова с соавт. [7] показано, что достоверными различиями в численности микрофлоры между исследуемыми вариантами являются различия более чем в 1,5 раза.

В наших исследованиях (табл. 2) величина разницы в численности микроорганизмов между опытными вариантами в некоторых случаях была более двух раз, хотя по каждому сроку анализа достоверной разницы между двумя вариантами установить не удалось.

Обработка полученных данных в целом по всем срокам анализов разностным парным методом показала высокий критерий существенности величины разности численности микроорганизмов между делянками с зеленым удобрением и без удобрения. Величина средней разности численности микроорганизмов по всем срокам анализов (\bar{d}) равна 0,84. Величина ошибки средней разности (m_d) равна 0,0003.

Известно, что микроорганизмы в почве распространены не диффузно, а очагами. Поэтому необходимо анализировать большое число почвенных образцов. Статистические методы позволяют определять в каждом конкретном случае необходимую повторность или необходимое для анализа число почвенных образцов.

Для характеристики плотности микрофлоры на исследуемом участке площадью в 1 га Карсильников [10] рекомендует выбрать 3—5 делянок площадью 100 м² и с каждой из них брать по 3—5 образцов. Каждый образец составляется из трех смешанных проб и анализируется отдельно. Посев почвенной суспензии с одного почвенного образца рекомендуется проводить на 3—5 повторных чашках Петри с питательной средой, при этом следует использовать также разведение почвенной суспензии, при котором на поверхности агаризованной среды развиваются не менее 50—200 колоний бактерий, 30—50 колоний актиномицетов и грибов [6, 8, 10, 15].

Для определения числа повторностей исследуемых почвенных образцов на участке, числа повторностей чашек с агаризованной средой на один почвенный образец необходимо иметь данные коэффициента вариации—показатель пестроты или выравниваемости варьирующего признака (V). Изменчивость вариационного ряда принято считать незначительной, если V не превышает 10%, средней—от 10 до 20%, значительной—более 20% [5]. По данным Моссея с сотр. [16], высеив на одну чашку дает коэффициент вариации численности выросших колоний микроорганизмов в пределах 30% при посевах на оптимальные среды, и в пределах 70%—на элективные среды. В исследованиях Таркова с сотр. [13] показано, что при одновременном посеве почвенной суспензии более чем на пять чашек пределы ошибок сохраняются примерно на одном уровне, но при условии, что на одной чашке развиваются не менее 60—100 колоний микро-

организмов. Витгефт [3], используя на один почвенный образец пять чашек со средой МПА, получил коэффициент вариации между чашками по числу выросших колоний микроорганизмов, равный 10—30%, в среднем—21,8%. В наших исследованиях [9] при предварительном обследовании участка на плотность основных групп микроорганизмов коэффициент вариации между выросшими колониями на чашках с агаризованной почвенной вытяжкой из одного почвенного образца был равен 4,8—15,6%, в среднем—9,7%. Между пятью почвенными образцами одной делянки V был равен 10,6% (табл. 3).

Таблица 3

Коэффициент вариации численности микроорганизмов между чашками и исследуемыми почвенными образцами

№№ почвенных образцов	№№ чашек Петри	Количество выросших колоний на одной чашке Петри	V между чашками Петри на один почвенный образец, %	Среднее количество выросших колоний из пяти чашек Петри на один почвенный образец	V между почвенными образцами одной делянки, %
1	1	318	4,8	326	
	2	339			
	3	303			
	4	341			
	5	329			
2	1	373	15,6	344	
	2	376			
	3	394			
	4	320			
	5	259			
3	1	331	8,6	355	10,6
	2	357			
	3	321			
	4	367			
	5	297			
4	1	332	8,3	392	
	2	367			
	3	382			
	4	394			
	5	429			
5	1	267	11,3	307	
	2	285			
	3	355			
	4	306			
	5	324			

Таким образом, имея предварительные данные вариации численности микроорганизмов между почвенными образцами исследуемого участка, можно рассчитать необходимое число образцов на каждую делянку площадью в 100 м².

Ниже приводятся данные необходимого числа почвенных образцов на одну делянку при заданных уровнях вероятности—P, различных величинах точности опыта—m% и коэффициенте вариации—V, равном 10%. Расчеты проводились по формулам, приведенным в руководстве Доспехова [5].

Т а б л и ц а 4
Расчетные данные необходимого числа почвенных образцов.
Площадь исследуемого участка—100 м², V = 10%

m‰	P=0,68 t=1	P=0,95 t=2	P=0,99 t=3
1	100	400	900
2	25	100	225
3	11	44	100
4	6	25	56
5	4	16	36
6	3	11	25
7	2	8	17
8	1	6	14

Для большинства биологических исследований показатель достоверной вероятности принимается равным 0,95. Для исследований, дающих особо ответственные выводы по вопросам действия удобрений и ядохимикатов, уровень достоверной вероятности повышается до 0,99 [5].

По данным, приведенным в руководстве Доспехова [5], для полевых опытов показатели точности опыта или величины ошибок выборочной средних арифметических принято считать отличными m‰ = 1—2, 3% — хорошими, 3—5% — вполне удовлетворительными, 5—8% — удовлетворительными.

По результатам наших исследований, величина ошибки выборки средних арифметических численности микроорганизмов допустима в пределах 8%.

Таким образом, при статистической обработке результатов количественного состава почвенных микроорганизмов следует учитывать следующие показатели: P—уровень достоверной вероятности, m‰—величину ошибки выборки, V—коэффициент вариации численности микроорганизмов, N—повторность исследуемых почвенных образцов и d—величину разности микроорганизмов в исследуемых вариантах.

Ориентировочная величина указанных показателей, из расчета на делянку 100 м², следующая: P—при 0,95; m‰—не более 8; V—не более 10%; N—не менее 6; d—должна быть существенной.

Институт микробиологии
АН АрмССР

Поступило 15.VI 1970 г.

Բ. Ք. ԿԱՏԱՐՅԱՆ

ՀՈՂՈՒՄ ՄԻԿՐՈՐԳԱՆԻԶՄՆԵՐԻ ՔԱՆԱԿԱԿԱՆ ՏՎՅԱԼՆԵՐԻ
ՎԻՃԱԿԱԴՐԱԿԱՆ ՀԱՇՎԱՌՈՒՄԸ

Ա մ փ ո փ ո ռ մ

Գրական տվյալների և մեր էքսպերիմենտալ ուսումնասիրությունների համաձայն, հողում միկրոօրգանիզմների քանակական հաշվարկման արդյունքները մատեմատիկական մշակման ենթարկելիս անհրաժեշտ է հաշվի առնել

հետևյալ մեծությունները՝ վտառահական հավանականությունից մակարդակը— p փորձարկվող մարզի հողի նմուշներում փորձի տարրեր թասերում միկրոօրգանիզմների թվի վարիացիայի գործակիցը— V , մարզերից վերցրած հողերի նմուշները և սննդամիջավայրով թասերի կրկնողությունը— N , միկրոօրգանիզմների քանակի միջին թվաքանականի սխալը— $m\%$, միկրոօրգանիզմների քանակի տարբերությունը փորձի տարրեր վարիանտներում— d :

100 մ² մակերես ունեցող մեկ մարզի հաշվառման համար առաջարկվում են հետևյալ մոտավոր մեծությունների նշված ցուցանիշները՝ V —ոչ ավելի 10% -ից, N —ոչ պակաս 6-ից, $m\%$ —8-ի սահմաններում, p —մոտավորապես 0,95, d —պետք է ավելանա ստուգիչ տարրերակից մեկ կարգով:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Ашмарин И. П., Воробьев А. А. Статистические методы в микробиологии. М., 1962.
2. Виноградский С. Н. Микробиология почвы (проблемы и методы). М., 1952.
3. Витгефт А. Е. Микробиология, в. 6, 1961.
4. Витгефт А. Е. Микробиология, в. 2, 1963.
5. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. М., 1965.
6. Звягинцев Д. Г. В кн.: Методы изучения почвенных микроорганизмов и их метаболитов. М., 1966.
7. Зубец Т. П. Автореферат кандидатской диссертации. Таллин, 1970.
8. Калина Г. П., Сомов В. М. В кн.: Санитарная микробиология. М., 1969.
9. Катарьян Б. Т. В кн.: Сборник тезисов докладов ко II Всесоюзной научной конференции молодых ученых-виноградарей и виноделов. М., 1970.
10. Красильников Н. А. Микроорганизмы почвы и высшие растения. М., 1958.
11. Красильников Н. А. В кн.: Методы изучения почвенных микроорганизмов и их метаболитов. М., 1966.
12. Пивоваров Г. Е. В кн.: Тезисы докладов к конференции по вопросам учета численности и биомассы почвенных микроорганизмов. Л., 1969.
13. Тарков М. И., Бранд М. Г., Вакераш Н. А., Старкова К. И., Тердимак Р. О., Чернявская Р. М. В кн.: Вопросы физиологии размножения микроорганизмов и их идентификации, Кишинев, 1968.
14. Buttiaux K., Mossel D. J. Appl. Bact., 24: 1961.
15. Geldreich E., Clark H., Huff C., Best L. J. Am. Water Workd. Ass., 57, 1961.
16. Mossel D.; de Bruin A., v. Diepen H., Vendrick C., Leutewelle G. J. Appl. Bact., 19; 1956.
17. Mossel D. Chem. a. Biol. Hazards of Food. Iowa, USA, 157, 1962.