

TERESA NIKLEWSKA-LARSKA

PRÓBA OBNIŻENIA TOKSYCZNEGO DZIAŁANIA OŁOWIU W GLEBIE PRZEZ WPROWADZENIE DO NIEJ *BACILLUS MEGATERIUM* LUB *STREPTOMYCES VARIABILIS*

Katedra Mikrobiologii Rolnej ART w Olsztynie

WSTĘP

Makro- i mikroelementy wpływają w sposób istotny na drobnoustroje gleby, a w konsekwencji na plonowanie roślin. Działanie to jest zależne od rodzaju i koncentracji danego pierwiastka, fizyko-chemicznych właściwości gleby, a także od gatunku rośliny. Obecność takich pierwiastków, jak: ołów, kadm, rtęć, miedź stwierdza się w środowisku przyrodniczym dość powszechnie, znajduje się je też w biomase drobnoustrojów. Przypuszcza się, że w ostatnich latach naszego wieku roczna ilość kadmu w niektórych rejonach wzrośnie o ok. 30%, a ołowiu o ponad 36% i będzie to wyraźnym zagrożeniem dla środowiska życia człowieka [Przybylski 1989]. Naruszona równowaga ekologiczna stanowi zagrożenie dla uprawianych roślin, dostarczających często skażonych i mało wartościowych produktów.

Ołów jest w glebie stosunkowo mało toksyczny, ale jego nadmiar w roślinie obniża intensywność fotosyntezy, zakłóca przemiany tłuszczowe i hamuje procesy biochemiczne [Lityński, Jurkowska 1982].

Celem pracy było określenie wpływu wprowadzonych do gleby mikroorganizmów (*Bacillus megaterium* i *Streptomyces variabilis*) na złagodzenie toksycznego działania ołowiu. Zwrócono też uwagę na plonowanie roślin, aktywność enzymatyczną i na liczebność grup drobnoustrojów w glebie skażonej ołowiem.

METODYKA BADAŃ

Doświadczenia prowadzono w hali wegetacyjnej w wazonach plastikowych zawierających po 2,5 kg gleby brunatnej właściwej o pH 7,0 (oznaczone w KCl i H₂O), którą wymieszano z chlorkiem ołowiu w dawkach w przeliczeniu na Pb: 0, 50, 500 i 1000 mg/kg gleby. Zastosowano następujące nawożenie: 0,4 g P(KH₂PO₄), 0,65 g K (KCl), 0,12 g Mg (MgSO₄ · 7H₂O) na 1 wazon. Do wazonów wprowadzono po 20 ml wodnego zmywu 48-godzinnej hodowli *Bacillus megaterium* (10⁵ komórek/g s.m. gleby) i *Streptomyces variabilis* (1,6 · 10⁵ komórek/g s.m. gleby). Drobnoustroje te, pochodzące z własnej kolekcji Katedry i charakteryzujące się dużą aktywnością, namnażano na skosach agarowych: bakterie na pożywce bulionowej z glukozą, a promieniowce na pożywce Küstera i Williamsa. Rośliną doświadczalną był bobik odmiany Nadwiślański, wysiewany do wazonów po 10 nasion podkiełkowanych przez 72 h. Po wschodach pozostawiono po 7 roślin w wazonie. W czasie wegetacji utrzymywano stałą wilgotność gleby na poziomie 60% maksymalnej pojemności wodnej. Każda kombinacja doświadczenia była prowadzona w czterech powtórzeniach.

W 14 dniu wegetacji i przy jej końcu (w okresie pełnego kwitnienia) wykonano analizy mikrobiologiczne; po zbiorze roślin przeprowadzono oznaczenia chemiczne gleby i bobiku, równocześnie też dokonano pomiarów biometrycznych roślin. Analizy mikrobiologiczne obejmowały oznaczenia: liczebności bakterii na pożywce według Buntzy i Roviry, promieniowców na pożywce Küstera i Williamsa z antybiotykami (nystatyna i actidion), grzybów na pożywce Martina, azotobaktera metodą Fenglerowej, amonifikatorów i drobnoustrojów rozkładających błonnik metodą Winogradskiego oraz mikroorganizmów proteolitycznych według Frazier.

W analizach chemicznych określano zawartość Pb w roślinie metodą absorpcji atomowej i ilość N ogólnego metodą Kjeldahla.

Aktywność enzymów w glebie oznaczano: dehydrogenaz – metodą Lenharda w modyfikacji Casidy i in. [1964], ureazy – metodą Gorina i Chin Chang [1966].

WYNIKI BADAŃ

Plonowanie bobiku. Wzrastające dawki ołowiu w wazonach kontrolnych wpływały negatywnie na plonowanie bobiku, co wyrażało się spadkiem suchej masy części nadziemnych i korzeni. Dodane do gleby drobnoustroje działały pozytywnie na roślinę tylko w próbach z 50 mg Pb na 1 kg gleby, tam sucha masa roślin była wyższa. Takiego działania nie stwierdzono w glebach z dawką Pb 500 i 1000 mg/kg gleby, a przy najwyższej dawce Pb 1000 mg/kg gleby plonowanie bobiku było najniższe (tab. 1).

TABELA 1. Wpływ ołowiu na plonowanie oraz zawartość N i Pb w roślinie (bobiku)
 TABLE 1. Effect of lead on the yield and content of N and Pb in the plant (horse-bean)

Drobnoustroje wprowadzone do gleby Microorganisms into the soil	Dawka Pb [mg/kg gleby] Lead dose [mg/kg of soil]	Sucha masa – Dry mass*			Zawartość ołowiu Content of lead [mg/kg]		Zawartość azotu Content of nitrogen [% s.m. – of d.m.]	
		[g/wazon – g/pot]	a	b	c	a	b	a
Kontrola Control	0	13,21	5,10	0,29	2,69	28,34	2,13	1,83
	50	11,80	4,21	0,21	5,00	57,67	2,68	1,99
	500	8,10	3,92	0,11	10,40	267,90	1,43	1,70
	1000	7,42	3,62	0,26	20,71	353,80	1,70	2,10
<i>Bacillus megaterium</i>	0	8,91	3,00	0,12	4,47	41,12	1,70	2,24
	50	13,30	5,00	0,17	4,55	72,20	2,24	1,86
	500	8,62	4,10	0,34	10,80	311,40	2,40	1,97
	1000	7,42	2,42	0,17	18,48	346,00	2,20	2,13
<i>Streptomyces variabilis</i>	0	9,40	4,71	0,34	3,12	52,50	2,62	1,76
	50	10,57	3,30	0,22	3,40	71,20	2,46	2,27
	500	9,00	3,30	0,15	11,13	168,90	2,35	2,39
	1000	6,62	3,00	0,25	23,54	169,40	2,21	2,16
NIR – LSD		1,70	1,34					

*a – Części nadziemne – green tops, b – korzenie – roots, c – brodawki – nodules.

TABELA 2. Liczebność drobnoustrojów w 1 g s.m. gleby
 TABLE 2. Numbers of microorganisms in 1 g of soil dry mass

Drobnoustroje wprowadzone do g leby Microorganisms introduced into the soil	Dawka Pb Lead dose [mg/kg]	Bakterie Bacteria /10 ⁶ /		Promieniowce Actinomycetes /10 ⁶ /		Amonifikatory Ammonifiers /10 ⁶ /		Grzyby Fungi /10 ³ /		<i>Azotobacter</i>		Drobnoustroje Microorganisms			
												proteolit. proteolytic /10 ³ /		cellulolit. cellulolytic /10 ³ /	
		A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Kontrola Control	0	226,0	34,5	144,0	19,2	124,0	14,2	28,9	6,1	2,9	6,1	50,5	3,3	9,9	15,6
	50	52,0	38,9	49,0	15,3	32,5	26,8	12,6	4,8	4,0	4,4	8,4	4,7	8,9	2,2
	500	82,0	7,4	46,4	2,3	60,7	10,8	6,8	5,0	8,2	20,7	28,8	12,8	1,8	2,9
	1000	53,1	5,2	22,1	17,3	33,4	24,3	7,8	4,5	4,5	12,2	9,0	8,1	1,0	3,8
<i>Bacillus megaterium</i>	0	44,0	18,7	34,3	6,1	44,3	6,1	5,5	5,2	11,4	6,9	36,6	5,5	13,9	27,5
	50	22,5	9,5	13,3	4,4	22,2	8,8	9,7	2,1	1,8	1,4	4,4	11,0	9,5	10,6
	500	62,1	10,0	16,7	5,1	44,7	11,8	8,9	4,2	8,2	3,7	8,5	9,3	6,7	9,2
	1000	53,3	16,0	18,7	7,8	43,5	14,5	8,0	3,1	5,6	1,9	18,9	8,9	10,8	4,7
<i>Streptomyces variabilis</i>	0	104,0	1,4	26,6	4,4	81,0	13,4	4,9	2,2	18,1	0,6	12,8	5,0	13,1	1,0
	50	42,2	25,4	16,2	14,3	40,4	22,9	4,9	5,4	9,8	2,8	8,6	4,3	1,8	19,3
	500	31,1	18,9	22,9	7,7	45,4	27,3	6,4	5,0	10,8	6,7	7,8	9,5	13,1	26,6
	1000	68,5	19,5	26,5	3,8	51,2	29,4	7,6	7,0	20,6	2,3	3,7	11,5	1,0	35,9
NIR – LSD		17,36	13,35	8,95	4,16	18,34	6,72	18,78	20,29	5,45	4,14	5,52	3,45	4,06	25,38

A – 14 dni po założeniu doświadczenia – two weeks after setting the experiment, B – po zbiorze roślin – after the harvest of horse-bean.

Wyższe ilości Pb w glebie nie powodowały zmian w zawartości azotu w częściach nadziemnych i w korzeniu, ilość tego pierwiastka w każdym wariancie doświadczenia utrzymywała się na podobnym poziomie (tab. 1).

Ze wzrostem dawek ołowiu zwiększała się jego ilość w częściach nadziemnych i bardzo wyraźnie w korzeniach bobiku (tab. 1). Zgodne to jest z danymi Kloke'a [1979], który w badaniach polowych, stosując bardzo duże dawki $PbCl_2$, stwierdził znaczny wzrost ilości ołowiu w roślinach. Podobnie Baran i Faber [1976] znaleźli duże ilości tego pierwiastka w korzeniach i częściach nadziemnych.

Kształtowanie się liczebności drobnoustrojów. Wpływ różnych pierwiastków na liczebność drobnoustrojów przedstawiono już w wielu pracach wykazując ich zróżnicowane działanie na mikroflorę glebową [Beck 1981; Maliszewska i in. 1985]. Niektóre działały hamująco [Balicka, Teichert 1986], inne stymulująco [Fayez, Shahin 1987], co zależało od stosowanych dawek, rodzaju danego związku chemicznego [Balicka, Teichert 1986], gatunku rośliny i rodzaju gleby. Stwierdzono też korelację między liczebnością niektórych grup drobnoustrojów i aktywnością enzymatyczną a zawartością metali ciężkich w glebie [Fayez, Shahin 1987].

W przeprowadzonych badaniach własnych liczebność większości drobnoustrojów oznaczana w 50 dniu wegetacji w fazie kwitnienia roślin była znacznie niższa niż na początku doświadczenia. Wyjątek stanowiły drobnoustroje rozkładające błonnik i proteolityczne, których liczba wzrosła, a także azotobakter, którego było więcej tylko w glebach bez dodanych drobnoustrojów. Toksyczność ołowiu nie wpłynęła na liczebność tych mikroorganizmów (tab. 2).

Drobnoustroje wprowadzone do gleby z dodatkiem ołowiu wpłynęły pozytywnie tylko na liczebność drobnoustrojów rozkładających błonnik i bakterie proteolityczne (tab. 2).

Balicka i Teichert [1986] podają, że wprowadzone do gleby bakterie z rodzaju *Pseudomonas* łągodziły ujemny wpływ pyłu emitowanego z hut na wskaźniki mikrobiologiczne gleb. Również szczep z rodzaju *Mycobacterium* wprowadzony do skażonej gleby niwelował jej toksyczność poprzez zmianę właściwości środowiska glebowego [Balicka, Węgrzyn, Teichert 1988].

Nadmiar toksycznych pierwiastków w glebie obniża jej aktywność enzymatyczną. W poprzednich badaniach stwierdzono, że dodatek cynku w ilości 1000 mg/kg gleby powodował zmniejszenie aktywności fosfatazy kwaśnej i zasadowej [Kucharski, Niklewska 1992], a Wilke [1987] odnotował obniżenie aktywności dehydrogenaz i fosfataz przy wieloletnim nawożeniu gleby cynkiem.

W niniejszych badaniach dodatek ołowiu hamował też aktywność enzymów dehydrogenazy i ureazy; wraz ze wzrostem dawek ołowiu ich aktywność malała. Wprowadzony *Str. variabilis* wzmacniał działanie obu enzymów, a przy dawce Pb w ilości 50 mg/kg gleby podniósł ich wartość do stwierdzonej w próbach kontrolnych (tab. 3). Tak samo zachował się ten promieniowiec w poprzednich własnych badaniach, wykazując w wazonach z dodatkiem 10 i 100 mg cynku działanie

TABELA 3. Aktywność enzymów glebowych
TABLE 3. The activity of soil enzymes

Drobnoustroje wprowadzone do gleby Microorganisms introduced into the soil	Dawka Pb Lead dose [mg/kg]	Dehydrogenazy Dehydrogenases [mm ³ H ₂ /g of soil d.m.]	Ureaza [µg zhydrolizowanego mocznika/ g s.m. gleby/h] Urease [µg hydrolized urea per 1 g of soil d.m. per 1 h]
Kontrola Control	0	4,12	21,76
	50	4,04	16,20
	500	2,98	11,57
	1000	1,99	15,65
<i>Bacillus megaterium</i>	0	3,45	20,83
	50	3,91	17,13
	500	3,11	18,43
	1000	1,86	13,80
<i>Streptomyces variabilis</i>	0	3,24	20,83
	50	4,78	20,28
	500	2,98	13,80
	1000	1,78	17,50

stymulujące aktywność dehydrogenaz glebowych [Kucharski, Niklewska 1992]. Wpływ *Bac. megaterium* na aktywność badanych enzymów był słabszy.

Przeprowadzone badania pozwalają przypuszczać, że niektóre mikroorganizmy glebowe mogą łagodzić stan zagrożenia środowiska glebowego niwelując toksyczność różnych pierwiastków, których jest coraz więcej w otaczającym nas środowisku. Uzyskane wyniki sugerują celowość prowadzenia dalszych badań w tym właśnie kierunku.

LITERATURA

- BALICKA N., TEICHERT E., 1986: Wpływ pyłu emitowanego przez hutę żelazo – chromu na niektóre wskaźniki mikrobiologiczne gleb. *Rocz. Glebozn.* **37**, 1, 153.
- BALICKA N., WĘGRZYN T., TEICHERT E., 1988: Przykład obniżenia toksyczności pyłu zawierającego metale ciężkie przez bakterie glebowe. *Rocz. Glebozn.* **39**, 1, 41.
- BARAN S., FABER A., 1976: Wpływ zanieczyszczeń pyłowych emitowanych przez huty cynku na zawartość ołowiu i cynku w glebie i roślinach. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* **179**, 605.
- BECK Th., 1981: Untersuchungen über die toxische Wirkung der in Siedlungsabfällen häufigen Schwermetalle auf die Bodenmikroflora. *Z. Pflanzenernähr. und Bodenk.* **144**, 6, 613.
- CASIDA L.E., KLEIN J.D., SANTORO T., 1964: Soil dehydrogenases activity. *Soil Sci.* **98**, 371.
- FAYEZ M., SHAHIN R.R., 1987: *Z. Pflanzenernähr. und Bodenk.* **150**, 4, 220.
- GORIN G., CHIN CHANG C., 1966: A new method of assay the specific enzymic activity. IV. Urease. *Analyt. Biochem.* **17**, 49.

- KLOKE A., 1979: Content of arsenic, cadmium, chlorine, fluorine, lead, mercury and nickel in plant grown on contaminated soil. Ref. Symp. on the Effects of Air-borne Pollution on Vegetation. Warszawa.
- KUCHARSKI J., NIKLEWSKA T., 1992: Wpływ cynku na plonowanie bobiku i aktywność mikrobiologiczną gleby. *Pol. J. Soil Sci.* **25**, 1, 71.
- LITYŃSKI T., JURKOWSKA H., 1982: Żyzność gleby i odżywianie się roślin. PWN, Warszawa.
- MALISZEWSKA W. i in., 1985: The influence of various heavy metal compounds on the development and activity of soil microorganisms. *Environ. Poll. Ser. A* **37**, 3, 195.
- PRZYBYLSKI T., 1989: Metale ciężkie w ekosystemie – zagrożenie i ochrona. *Aura* **11**, 17.
- WILKE B.M., 1987: *Landwirtsch. Forsch.* **40**, 4, 336.

T. Niklewska-Larska

AN ATTEMPT TO REDUCE THE TOXICITY OF LEAD IN SOIL BY APPLICATION OF *BACILLUS MEGATERIUM* OR *STREPTOMYCES VARIABILIS*

Department of Agricultural Microbiology, Agricultural-Technical University of Olsztyn

SUMMARY

It was found in pot experiments that large content of lead in soil exerts a negative influence on the number of soil microorganisms, enzyme activity and yield of horse bean accumulating lead in roots and stems. The toxic effect of small doses of lead can be mitigated to a certain degree by application of *Bacillus megaterium* or *Streptomyces variabilis* to the soil.

Praca złożona w redakcji w lipcu 1994 r.

Dr Teresa Niklewska-Larska
Katedra Mikrobiologii Rolnej, Akademia Rolniczo-Techniczna
10-724 Olsztyn Kortowo, bl. 40

