

EDYTA BOROS, MAŁGORZATA BAĆMAGA, JADWIGA WYSZKOWSKA, JAN KUCHARSKI

Katedra Mikrobiologii
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

WPLYW ZANIECZYSZCZENIA GLEBY NIKLEM NA LICZEBNOŚĆ DROBNOUSTROJÓW GLEBOWYCH

Streszczenie. W doświadczeniu wazonowym określono wpływ zanieczyszczenia gleby niklem na jej właściwości mikrobiologiczne. Próbki glebowe zanieczyszczono niklem w postaci $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ i $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, w następujących dawkach: 100, 200, 300 i 400 mg Ni^{2+} na 1 kg. Badania przeprowadzono na dwóch gatunkach gleb: piasku gliniastym oraz glinie lekkiej, użytkowanych w systemie obsianym i nieobsianym. W 14., 28., 42. i 56. dniu trwania doświadczenia oznaczono liczebność drobnoustrojów glebowych: bakterii oligotroficznych, *Azotobacter*, promieniowców i grzybów. W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, iż zanieczyszczenie gleby niklem spowodowało zmniejszenie liczebności bakterii z rodzaju *Azotobacter* oraz zwiększenie liczebności pozostałych grup drobnoustrojów: bakterii oligotroficznych, promieniowców i grzybów. Chlorek niklu powodował większe zakłócenia niż siarczan niklu w liczebności badanych grup drobnoustrojów. Większą liczebność bakterii oligotroficznych, *Azotobacter*, promieniowców i grzybów zaobserwowano w glinie lekkiej oraz w glebie obsianej niż w piasku gliniastym i glebie nieobsianej.

Słowa kluczowe: zanieczyszczenie, gleba, nikiel, liczebność drobnoustrojów

Wstęp

Drobnoustroje glebowe decydują o zachodzących w glebie procesach biologicznych, warunkujących homeostazę w tym środowisku. Wywierają również wpływ na żyzność i produktywność biologiczną gleb (SCHMIDT i IN. 2005). Odgrywają istotną rolę w funkcjonowaniu środowiska, również przez regulację procesów transformacji i mineralizacji naturalnych komponentów oraz ksenobiotyków (SCHLOTTER i IN. 2003).

Do prawidłowego rozwoju drobnoustrojów w środowisku niezbędne jest zapewnienie im odpowiedniego źródła energii, węgla, składników pokarmowych oraz czynników wzrostowych (ZMYSŁOWSKA 2000). Rozwój ten może być zaburzony przez metale ciężkie, powodujące zachwianie równowagi biologicznej gleby, a w konsekwencji jej degradację (HUANG i SHINDO 2000, KUCHARSKI i WYSZKOWSKA 2000).

Zanieczyszczenie gleby metalami ciężkimi powoduje spowolnienie procesów biologicznych w wyniku zmiany liczebności i różnorodności gatunkowej makro- i mikroorganizmów glebowych (KUCHARSKI i WYSZKOWSKA 2004, WYSZKOWSKA i IN. 2006), ponieważ tracą one możliwość korzystania z różnych substratów, a w efekcie prowadzi to do osłabienia obiegu niektórych biogenów (BARABASZ i IN. 2002).

Literatura z zakresu oddziaływania metali ciężkich na drobnoustroje, chociaż bogata (RENELLA i IN. 2003, 2004, KUCHARSKI i WYSZKOWSKA 2004, VASUNDHARA i IN. 2004, SCHMIDT i IN. 2005, PEREZ-DE-MORA i IN. 2006, BOROS i IN. 2007), to jednak nie jest jednoznaczna, dlatego przeprowadzono badania, których celem było określenie wpływu zanieczyszczenia gleby niklem na liczebność drobnoustrojów glebowych.

Material i metody

Doświadczenia przeprowadzono w hali wegetacyjnej UW-M w Olsztynie w plastikowych wazonach, w których umieszczono po 3 kg piasku gliniastego lub gliny lekkiej. Przed rozpoczęciem badań określono skład granulometryczny gleby metodą areometryczną (CARTER 1993). Również oznaczono podstawowe właściwości fizykochemiczne gleby: pH – potencjometrycznie w wodnym roztworze KCl o stężeniu $1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$, kwasowość hydrolityczną (Hh) i sumę wymiennych kationów zasadowych (S) według metody Kappena (CARTER 1993), zawartość węgla organicznego (C_{org}) – metodą Tiurina (NELSON i SOMMERS 1996). Materiał glebowy pobrano z warstwy orno-próchnicznej. Bliższą charakterystykę tych gleb podano w tabeli 1. Badania z glebą obsianą przeprowadzono w sześciu powtórzeniach, a z glebą nieobsianą – w trzech powtórzeniach. Czynniki zmiennymi były:

- dawka niklu (Ni^{2+}): 0, 100, 200, 300 oraz $400 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ gleby,
- rodzaj związku niklu: $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ i $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$,
- gatunek gleby: piasek gliniasty i glina lekka,
- sposób użytkowania gleby: gleba obsiana i gleba nieobsiana,
- termin analiz mikrobiologicznych: 14., 28., 42. i 56. dzień.

Podczas wegetacji roślin utrzymywano stałą wilgotność gleby na poziomie 60% kapilarnej pojemności wodnej. Rośliną doświadczalną był jęczmień jary odmiany ‘Rabel’

Tabela 1. Niektóre właściwości fizykochemiczne gleb użytych w doświadczeniu
Table 1. Some physicochemical properties of the soil in the experiments

Gatunek gleby	Skład granulometryczny (%)			pH_{KCl}	Hh	S	C_{org} ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)
	frakcja 2,0-0,05 mm	frakcja < 0,05-0,002 mm	frakcja < 0,002 mm		mmol(+)- kg^{-1}		
pg	76	10	14	6,90	11,25	89,30	7,50
gl	52	32	16	7,00	8,77	159,00	11,15

pg – piasek gliniasty, gl – glina lekka.

Hh – kwasowość hydrolityczna, S – suma wymiennych kationów zasadowych, C_{org} – węgiel organiczny.

(12 roślin w wazonie) zbierany w fazie wyrzucania wiech. We wszystkich obiektach zastosowano stałe nawożenie makro- i mikroskładnikami, które wynosiło w przeliczeniu na czysty składnik ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ gleby): N – 100 [$\text{CO}(\text{NH})_2$]₂, P – 44 (KH_2PO_4), K – 83 ($\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{KCl}$), Mg – 20 ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), Cu – 5 ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), Zn – 5 (ZnCl_2), Mn – 5 ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), Mo – 5 ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), B – 0,33 (H_3BO_4).

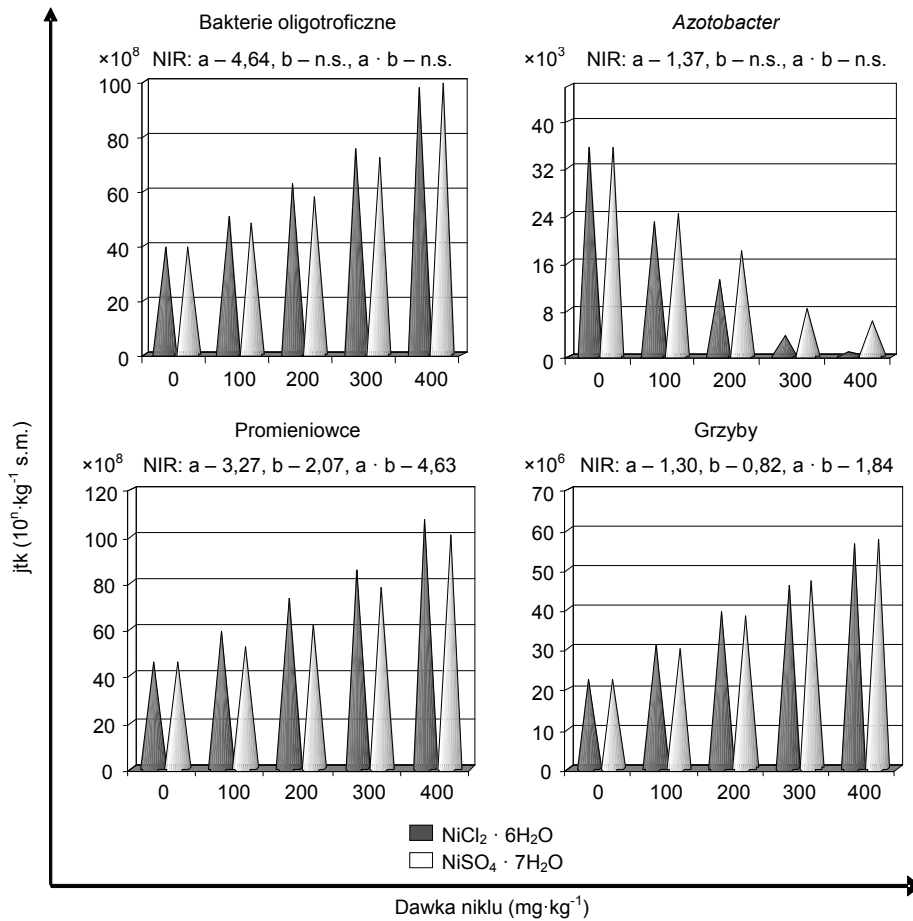
W odpowiednich terminach (14., 28., 42. i 56. dzień) określono liczebność w próbkach glebowych następujących grup drobnoustrojów: bakterii oligotroficznych – według OHTY i HATTORIEGO (1983), bakterii z rodzaju *Azotobacter* – metodą FENGLEROWEJ (1965), promieniowców – na pożywce Küstera i Williamsa z dodatkiem nystatyny i aktidionu (PARKINSON i IN. 1971) i grzybów – na pożywce MARTINA (1950).

Uzyskane wyniki opracowano statystycznie, posługując się wielokrotnym testem rozstępu Duncana, wykorzystując pięcioczynnikową analizę wariancji. Obliczono również równania regresji i współczynniki determinacji. Analizę statystyczną wykonano pakietem Statistica (STATISTICA... 2009).

Wyniki

Zanieczyszczenie gleby niklem wpłynęło istotnie na zachwianie równowagi mikrobiologicznej. Zmiana liczebności drobnoustrojów była determinowana nie tylko poziomem zanieczyszczenia, lecz także rodzajem związku niklu, przy czym większe zakłócenia powodowała dawka niklu niż forma związku, w którym on występował (rys. 1). Nie wszystkie grupy drobnoustrojów reagowały w sposób podobny na zwiększoną zawartość niklu w glebie. Bakterie oligotroficzne ogółem, promieniowce i grzyby rozwijały się tym lepiej, im większą zastosowano dawkę niklu. Przyrost liczebności był dodatnio skorelowany z dawką niklu. Największe zanieczyszczenia (300 i 400 mg Ni^{2+} w 1 kg) powodowały ponad dwukrotny przyrost liczby promieniowców i grzybów. Zupełnie odmiennie nikiel oddziaływał na bakterie z rodzaju *Azotobacter*. Liczebność tych bakterii była największa w glebie niezanieczyszczonej i w miarę zwiększania dawki niklu sukcesywnie się zmniejszała aż do całkowitego zaniku w obiekcie z 400 mg Ni^{2+} w 1 kg w postaci chlorek niklu. Wrażliwość drobnoustrojów na formę związku niklu (siarczan niklu, chlorek niklu) była zdecydowanie mniejsza niż na jego dawkę. Siarczan niklu powodował nieco mniejsze zmiany liczebności bakterii oligotroficznych, *Azotobacter* i promieniowców niż chlorek, natomiast na grzyby obydwie związki oddziaływały podobnie.

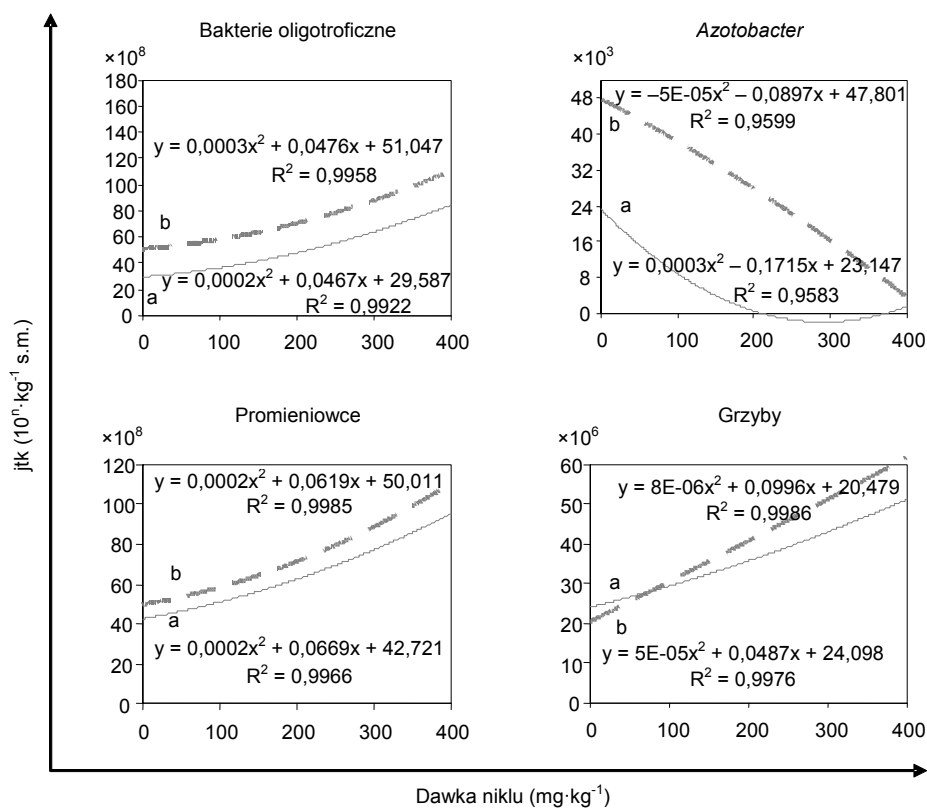
Ważnym elementem modyfikującym oddziaływanie metali ciężkich na drobnoustroje może być skład granulometryczny gleby. W glinie lekkiej bakterie oligotroficzne ogółem i *Azotobacter* występowały w większych liczebnościach niż w piasku gliniastym (rys. 2). Największe różnice między tymi gatunkami gleb dotyczyły liczebności bakterii oligotroficznych ogółem i *Azotobacter*. W glinie lekkiej zanieczyszczonej największą dawką niklu (400 mg Ni^{2+} na 1 kg) liczebność bakterii oligotroficznych ogółem była 1,3-krotnie większa niż w piasku gliniastym, a *Azotobacter* – aż 21,5-krotnie. Również promieniowce i grzyby występowały liczniej w glinie lekkiej niż w piasku gliniastym. Zjawisko takie stwierdzono zarówno w glebie niezanieczyszczonej, jak i zanieczyszczonej niklem. Różnice w ich liczebności między gatunkami gleb nie były jednak tak duże jak w przypadku bakterii. Współczynniki determinacji (R^2) dla wszystkich równań regresji opisujących zależności między liczebnością mikroorganizmów



Rys. 1. Liczebność drobnoustrojów w glebie w zależności od dawki niklu i rodzaju związku niklu; NIR dla: a – dawki niklu, b – rodzaju związku niklu; n.s. – nieistotnie statystycznie
 Fig. 1. The counts of soil-dwelling microbes in soil as dependent on nickel dose and nickel compound; LSD for: a – nickel dose, b – nickel compound; n.s. – non-significant

w poszczególnych gatunkach gleb a stopniem zanieczyszczenia niklem miały bardzo duże wartości i wynosiły w glinie lekkiej od 0,9599 dla *Azotobacter* do 0,9985 dla promieniowców, a w piasku gliniastym – od 0,9583 dla *Azotobacter* do 0,9966 dla promieniowców.

Ważnym elementem oceny działania każdego zanieczyszczenia jest określenie czasu, w którym wywiera ono trwałe zmiany w populacji drobnoustrojów glebowych. Oddziaływanie niklu występującego w nadmiarze w glebie, niezależnie od gatunku gleby, było silne przez cały okres trwania doświadczenia (rys. 3), przy czym w przypadku bakterii oligotroficznych, promieniowców i grzybów było to działanie stymulujące, a w przypadku *Azotobacter* – hamujące. Zależności powyższe były istotnie statystycznie, o czym świadczą duże wartości współczynników determinacji i krzywe regresji opisywanych zmiennych.



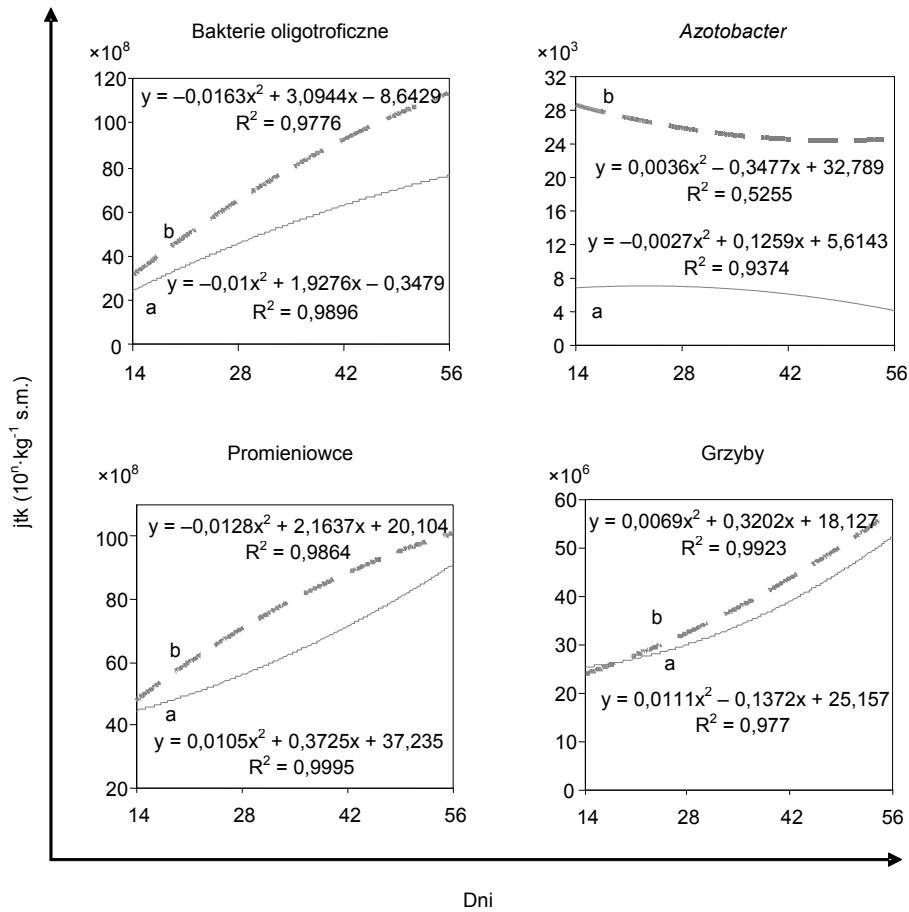
Rys. 2. Liczebność drobnoustrojów w glebach zanieczyszczonych niklem; a – piasek gliniasty, b – glina lekka

Fig. 2. The count of soil-dwelling microbes in nickel-contaminated soils; a – loamy sand, b – light loam

Liczebność wszystkich badanych drobnoustrojów była większa w glebie obsianej jęczmieniem jarym niż w glebie nieobsianej (rys. 4). Największe dysproporcje między glebą obsianą i nieobsianą wystąpiły w liczebności bakterii oligotroficznych ogółem oraz promieniowców i grzybów, a znacznie mniejsze notowano w liczebności bakterii z rodzaju *Azotobacter*.

Dyskusja

Z przeprowadzonych badań wynika jednoznacznie, że zanieczyszczenie gleby niklem narusza jej aktywność biologiczną. Wprawdzie bakterie oligotroficzne, promieniowce i grzyby występowały w większych liczebnościach w glebach zanieczyszczonych niklem, ale *Azotobacter* – w mniejszych. SCHMIDT i IN. (2005) podkreślają, iż bakterie są jednymi z najbardziej wrażliwych mikroorganizmów na silne zanieczyszczenie gleby

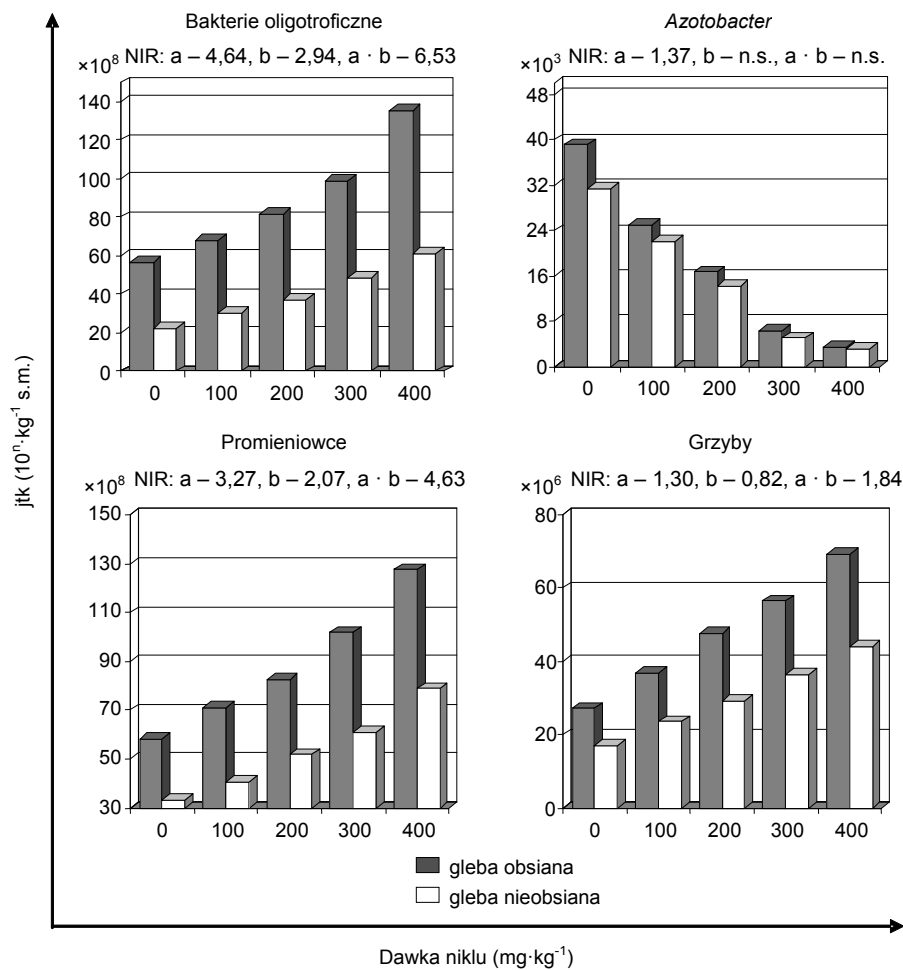


Rys. 3. Liczebność drobnoustrojów w glebie w zależności od jej gatunku oraz terminu badań; a – piasek gliniasty, b – glina lekka

Fig. 3. The counts of soil-dwelling microbes in soil as dependent on soil type and date of analysis; a – loamy sand, b – light loam

metalami ciężkimi, szczególnie gatunek *Azotobacter chroococcum* jest uznawany za wskaźnik stopnia zanieczyszczenia gleby tymi metalami (ATHAR i AHMAD 2002). Badania innych autorów (LATAŁA i GRATA 2002, KUCHARSKI i WYSZKOWSKA 2004) również wskazują na negatywne oddziaływanie metali ciężkich, w tym także niklu, na drobnoustroje (VASUNDHARA i IN. 2004). Z kolei MAGYAROSY i IN. (2002) dowodzą, że pierwiastek ten może stymulować namnażanie się *Aspergillus niger*.

ZABOROWSKA i IN. (2006) wykazali, iż ważną rolę w stymulującym lub hamującym działaniu metali ciężkich na drobnoustroje odgrywa pH gleb. Gleby o odczynie obojętnym charakteryzują się, w porównaniu z glebami kwaśnymi, korzystniejszymi parametrami biologicznymi oraz fizykochemicznymi, i tym samym stwarzają lepsze warunki rozwoju mikroorganizmów. Być może to zadecydowało o stymulującym wpływie niklu



Rys. 4. Liczebność drobnoustrojów w glebie w zależności od dawki niklu i sposobu użytkowania gleby; NIR dla: a – dawki niklu, b – sposobu użytkowania gleby; n.s. – nieistotnie statystycznie

Fig. 4. The counts of soil-dwelling microbes in soil as dependent on nickel dose and soil use; LSD for: a – nickel dose, b – soil use; n.s. – non-significant

na większość drobnoustrojów, gdyż badania wykonano na glebach o odczynie obojętnym. W środowisku glebowym część niklu, szczególnie w glebach obojętnych, ulega sorpcji biologicznej, chemicznej i fizykochemicznej, co osłabia jego oddziaływanie na drobnoustroje.

Negatywne działanie niklu na *Azotobacter* notowano zarówno w piasku gliniastym, jak i w glinie lekkiej, przy czym w pierwszej glebie było ono silniejsze. Z reguły w glebach zasobniejszych we frakcję iltu większa jest liczebność mikroorganizmów (FLOREA i BUSSELBERG 2006), co wynika głównie z obfitości substratów pokarmowych i energetycznych.

Na zmianę liczebności drobnoustrojów nikiel wywierał działanie długotrwałe, co jest związane ze stosunkowo trwałą akumulacją metali ciężkich w glebie (KIZILKAYA i IN. 2004). Zależności powyższe utrzymywały się zarówno w glebie obsianej jęczmieniem jarym, jak i w glebie nieobsianej.

Wnioski

1. Zanieczyszczenie gleby nikiem w dawkach od 100 do 400 mg Ni²⁺ na 1 kg zwiększało liczebność bakterii oligotroficznych, promieniowców i grzybów, natomiast zmniejszało liczebność bakterii z rodzaju *Azotobacter*.
2. Chlorek niklu powodował większe zakłócenia w liczebności badanych grup drobnoustrojów niż siarczan niklu.
3. Liczebność badanych drobnoustrojów była większa w glinie lekkiej niż w piasku gliniastym oraz w glebie obsianej jęczmieniem jarym niż w glebie nieobsianej.

Literatura

- ATHAR R., AHMAD M., 2002. Heavy metal toxicity: effect on plant growth and metal uptake by wheat and on free living *Azotobacter*. *Water Air Soil Pollut.* 138: 165-180.
- BARABASZ W., ALBIŃSKA D., JAŚKOWSKA M., LIPIEC J., 2002. Biological effects of mineral nitrogen fertilization on soil microorganisms. *Pol. J. Environ. Stud.* 11, 3: 193-198.
- BOROS E., WYSZKOWSKA J., KUCHARSKI J., 2007. Wpływ niklu na wzrost drobnoustrojów na podłożach stałych. *J. Elementol.* 12, 3: 167-180.
- CARTER M.R., 1993. *Soil sampling and methods of analysis*. Lewis, London.
- FENGLEROWA W., 1965. Simple method for counting *Azotobacter* in soil samples. *Acta Microbiol. Pol.* 14, 2: 203-206.
- FLOREA A.M., BUSSELBERG D., 2006. Occurrence, use and potential toxic effects of metals and metal compounds. *BioMetals* 19: 419-429.
- HUANG Q., SHINDO H., 2000. Effect of copper on the activity and kinetics of free and immobilized acid phosphatase. *Soil Biol. Biochem.* 32: 1885-1892.
- KIZILKAYA R., ASKIN T., BAYRAKLI B., SAGLAM M., 2004. Microbiological characteristics of soils contaminated with heavy metals. *Eur. J. Soil Biol.* 40: 95-102.
- KUCHARSKI J., WYSZKOWSKA J., 2000. Microbiological properties of soil contaminated with chromium. *Nat. Sci.* 7: 7-16.
- KUCHARSKI J., WYSZKOWSKA J., 2004. Inter-relationship between number of microorganisms or spring barley yield and degree of soil contamination with copper. *Plant Soil Environ.* 50, 6: 243-249.
- LATAŁA A., GRATA K., 2002. Kształtowanie się mikroflory gleby w zależności od odczynu i pory roku. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.* 482: 329-335.
- MAGYAROSY A., LAIDLAW R.D., KILAAS R., ECHER C., CLARK D.S., KEASLING J.D., 2002. Nickel accumulation and oxalate precipitation by *Aspergillus niger*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 59: 382-388.
- MARTIN J.P., 1950. Use of acid, rose bengal and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. *Soil Sci.* 69: 215-232.
- NELSON D.W., SOMMERS L.E., 1996. Total carbon, organic carbon, and organic matter. *W: Methods of soil analysis: chemical methods*. Red. D.L. Sparks. American Society of Agronomy, Madison, WI: 1201-1229.

- OHTA H., HATTORI T., 1983. Oligotrophic bacteria on organic debris and plant roots in paddy field. *Soil Biol. Biochem.* 1: 1-8.
- PARKINSON D., GRAY F.R.G., WILLIAMS S.T., 1971. Methods for studying the ecology of soil microorganism. *IBP Handb.* 19.
- PEREZ-DE-MORA A., BURGOS P., MADEJON E., CABRERA F., JAECKEL P., SCHLOTTER M., 2006. Microbial community structure and functions in a soil contaminated by heavy metals: effect of plant growth and different amendmends. *Soil Biol. Biochem.* 38: 327-341.
- RENELLA G., MENCH M., VAN DER LELIE D., PIETRAMELLARA G., ASCHER J., CECCHERINI M.T., LANDI L., NANNIPIERI P., 2004. Hydrolase activity, microbial biomass, and community structure in long-term Cd-contaminated soils. *Soil Biol. Biochem.* 36: 443-451.
- RENELLA G., ORTIGOZA A.L.R., LANDI L., NANNIPIERI P., 2003. Additive effects of copper and zinc on cadmium toxicity on phosphatases activities and ATP content of soil as estimated by the ecological dose (ED₅₀). *Soil Biol. Biochem.* 35: 1203-1210.
- SCHLOTTER M., DILLY O., MUNCH J.C., 2003. Indicators for evaluating soil quality. *Agr. Ecosyst. Environ.* 98: 255-262.
- SCHMIDT A., HAFERBURG G., SENERIZ M., MERTEN D., BUCHEL G., KOTHE E., 2005. Heavy metal resistance mechanism in actinobacteria for survival in AMD contaminated soils. *Chem. Erde Geochem.* 65, Suppl. 1: 131-144.
- STATISTICA (data analysis software system), version 9.0. 2009. StatSoft Inc., Tulsa, OK. [<http://www.statsoft.com>].
- VASUNDHARA G., JAYASHREE G., MURALEEDHARA-KURUP G., 2004. Sequestration of nickel and copper by *Azotobacter chroococcum*. *SB1. Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 72: 1122-1127.
- WYSZKOWSKA J., BOROS E., KUCHARSKI J., 2006. Effect of nickel on the proliferation of nitrogen-fixing bacteria. *Pol. J. Nat. Sci.* 21, 2: 595-603.
- ZABOROWSKA M., WYSZKOWSKA J., KUCHARSKI J., 2006. Microbial activity in zinc contaminated soil of different pH. *Pol. J. Environ. Stud.* 15, 2a: 569-574.
- ZMYSŁOWSKA I., 2000. Mikroorganizmy a środowisko naturalne człowieka. W: *Mikrobiologia na przełomie wieków*. Red. A. Siwik. UW-M, Olsztyn: 45-47.

THE EFFECT OF SOIL CONTAMINATION WITH NICKEL ON THE COUNTS OF SOIL-DWELLING MICROBES

Summary. The effect of nickel contamination on the microbial properties of soil was studied in a pot experiment. Soil samples were contaminated with nickel in the form of NiCl₂ · 6H₂O and NiSO₄ · 7H₂O at the following doses: 100, 200, 300 and 400 mg Ni²⁺ per 1 kg. Two types of soil, loamy sand and light loam, cropped and uncropped, were used in the study. The counts of soil-dwelling microbes: oligotrophic bacteria, *Azotobacter*, *Actinomycetes* and fungi were determined on day 14, 28, 42 and 56 of the experiment. It was found that soil contamination with nickel caused a decrease in the population size of bacteria of the genus *Azotobacter*, while it stimulated the growth of the remaining microbial groups, including oligotrophic bacteria, *Actinomycetes* and fungi. Nickel chloride exerted a more significant effect on the abundance of the studied microbial groups than nickel sulfate. Higher counts of oligotrophic bacteria, *Azotobacter*, *Actinomycetes* and fungi were observed in light loam and in cropped soil, compared with loamy sand and uncropped soil.

Key words: contamination, soil, nickel, microbial counts

Adres do korespondencji – Corresponding address:

Edyta Boros, Katedra Mikrobiologii, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, pl. Łódzki 3, 10-727 Olsztyn, Poland, e-mail: edyta.boros@uwm.edu.pl

Zaakceptowano do druku – Accepted for print:

18.10.2010

Do cytowania – For citation:

*Boros E., Baćmaga M., Wyszowska J., Kucharski J., 2010. Wpływ zanieczyszczenia gleby niklem na liczebność drobnoustrojów glebowych. *Nauka Przyr. Technol.* 4, 6, #71.*