

WPLYW METALI CIĘŻKICH NA BIOMASĘ GRZYBNI NIEKTÓRYCH GRZYBÓW GLEBOWYCH

Wiera Michalciewicz, Tomasz Wieczorek, Kamila Kosobucka

Katedra Mikrobiologii i Biotechnologii Środowiska, Akademia Rolnicza w Szczecinie

Wstęp

Pomimo znacznej poprawy, jakiej uległ w ostatnim dziesięcioleciu stan środowiska naturalnego w Polsce, nagromadzone w glebie metale ciężkie nadal stwarzają duże niebezpieczeństwo dla organizmów żywych. Krążą one w biocenozie i są bardzo trudne do wyeliminowania z łańcucha pokarmowego. Grzyby glebowe należą do tych mikroorganizmów, które od wielu lat są wykorzystywane do badań nad wpływem metali ciężkich na wzrost i rozwój żywych komórek. Biomasa grzybów charakteryzuje się dobrymi właściwościami biosorpcyjnymi i dzięki temu może akumulować w niej znaczne ilości tych pierwiastków [MULLEN i in. 1992; PŁAZA i in. 1996; SŁABA, DEUGOŃSKI 2003].

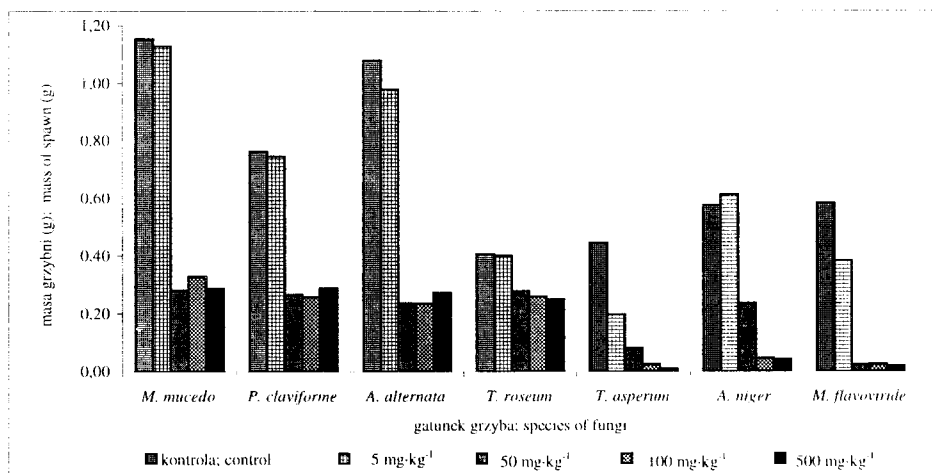
Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu związków chromu, ołowiu i miedzi na wzrost biomasy grzybni wybranych grzybów glebowych.

Material i metody

Badania prowadzone były w warunkach laboratoryjnych z wykorzystaniem następujących grzybów glebowych: *Mucor mucedo*, *Penicillium claviforme*, *Alternaria alternata*, *Trichothecium roseum*, *Trichocladium asperum*, *Aspergillus niger*, *Metarhizium flavoviride*. Grzyby te po 3 tygodniowej hodowli na podłożu PDA (Potarto Dextrose Agar firmy Disco) stanowiły wyjściowy materiał do zasadniczych badań. Przygotowano płynne podłoże Czapek-Doxa [FASSATIOVA 1983], do którego dodano sole: ($K_2Cr_2O_7$, $Pb(NO_3)_2$, $CuSO_4$) w stężeniach: 5, 50, 100, 500 $mg \cdot kg^{-1}$ pożywki. Kontrolę stanowiło podłoże bez dodatku soli metalu. Hodowlę prowadzono w kolbach Erlenmayera (250 cm^3) z płynnym podłożem Czapek-Doxa oraz odpowiednim stężeniem soli metalu, przez 14 dni w temperaturze pokojowej. Po tym czasie płyn pohodowlany sączono przez sączki filtracyjne, grzybnie suszono w temperaturze $105^\circ C$ do stałej masy, a następnie ważono. Doświadczenie wykonano w 3 powtórzeniach.

Wyniki i dyskusja

Uzyskane wyniki przedstawiono w tab. 1 i na rys. 1–3. Dodatek do podłoża $K_2Cr_2O_7$ spowodował zmniejszenie masy grzybni u wszystkich badanych gatunków grzybów glebowych (rys. 1). Największe obniżenie masy zanotowano pod wpływem związków chromu wnoszonego do pożywek w stężeniach najwyższych, od 50 do 500 $mg \cdot kg^{-1}$. Wielkość grzybni kształtowała się na poziomie 2 do 20% masy grzybni oznaczonej na podłożu bez dodatku związku chromu. U gatunków *Trichothecium asperum*, *Aspergillus niger* oraz *Metarhizium flavoviride*, najwyższa dawka soli chromu (500 $mg \cdot kg^{-1}$) spowodowała największe zahamowanie wzrostu grzybni. Wniesiony do podłoża $Pb(NO_3)_2$ wpłynął stymulująco na rozwój, a tym samym, na wagę grzybni szczepów: *Penicillium claviforme*, *Alternaria alternata*, *Trichothecium roseum* oraz *Aspergillus niger* (rys. 2). Ich masa wynosiła od 5 do 50% powyżej masy grzybni hodowanej na podłożu bez dodatku ołowiu. U pozostałych badanych szczepów grzybów zanotowano zmniejszenie biomasy grzybni wynoszące od 10 do 40% masy grzybni kontrolnej.



Rys. 1. Wpływ soli chromu na biomasa grzybni grzybów glebowych
Fig. 1. Influence of chromium salt on the biomass of spawn of soil fungi

Dodatek do podłoża $CuSO_4$, w stężeniach najniższych obniżył od 10 do 20% masę grzybni (rys. 3). Dawki wyższe soli miedzi, zwłaszcza 500 $mg \cdot kg^{-1}$, spowodowały u wszystkich szczepów grzybów istotne zmniejszenie masy grzybni wynoszące od 30 do 90% masy grzybni kontrolnej.

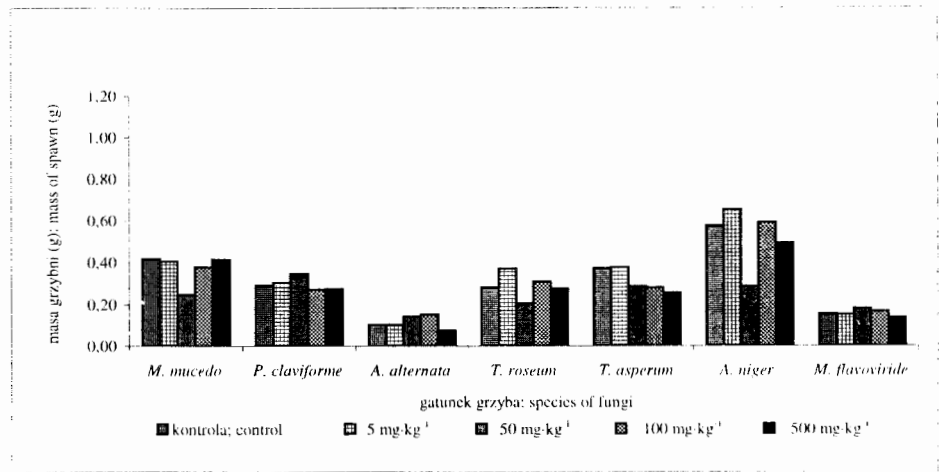
W glebie nieustannie dochodzi do gromadzenia się czynników antropogennych, między innymi metali ciężkich, które mogą wpływać na występowanie i rozwój drobnoustrojów glebowych. W przyrodzie, ze względu na rozwijający się przemysł metalurgiczny, systematycznie wzrasta stężenie chromu. Prowadzone badania wskazują na niewątpliwie negatywny wpływ związków chromu zarówno chromu(III), jak i chromu(VI), na wzrost i rozwój grzybów glebowych [PACHA, GA-

Tabela 1; Table 1

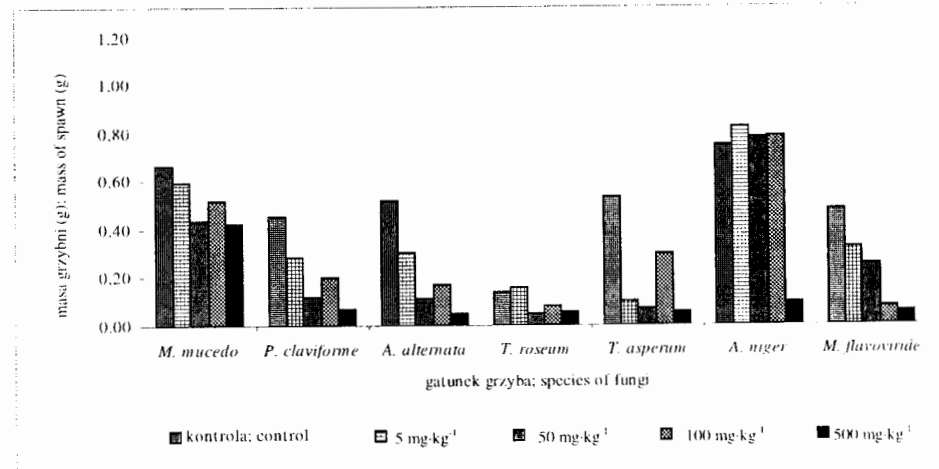
Analiza wariancji wyników
Variance analysis of the results

Czynnik Factor	Suma kwadratu Sum of square	Stopnie swobody Degrees of freedom	Średnia suma kwadratów Mean sum of squares	Suma kwadratów w błędzie Sum of the error squares	Stopnie swobody błędzie Freedom degrees of error	Srednia suma kwadratów błędzie Mean sum of the error squares	Wartość F F value	Wartość p p value
<i>M. Mucedo</i>								
1	0,524	2	0,262				45,907	0,0000*
2	1,433	4	0,358				62,775	0,0000*
3	1,3178	8	0,165				28,863	0,0000*
4				0,171	30	0,006		
<i>P. claviporne</i>								
1	0,448	2	0,224				62,554	0,0000*
2	0,645	4	0,161				45,023	0,0000*
3	0,486	8	0,061				16,953	0,0000*
4				0,107	30	0,004		
<i>A. alternata</i>								
1	1,596	2	0,789				119,567	0,0000*
2	1,404	4	0,351				52,571	0,0000*
3	1,229	8	0,154				23,025	0,0000*
4				0,200	30	0,007		
<i>T. roseum</i>								
1	0,436	2	0,218				28,928	0,0000*
2	0,112	4	0,028				3,719	0,0142*
3	0,031	8	0,004				0,517	0,8341
4				0,226	30	0,008		
<i>T. asperum</i>								
1	0,202	2	0,101				7,900	0,0017*
2	0,638	4	0,159				12,503	0,0000*
3	0,281	8	0,035				2,754	0,0208*
4				0,383	30	0,013		
<i>A. niger</i>								
1	0,904	2	0,452				39,296	0,0000*
2	1,308	4	0,327				28,422	0,0000*
3	1,021	8	0,127				11,087	0,0000*
4				0,345	30	0,012		
<i>M. flavoviride</i>								
1	0,051	2	0,025				16,200	0,0000*
2	0,732	4	0,183				116,756	0,0000*
3	0,472	8	0,059				37,661	0,0000*
4				0,047	30	0,002		

Czynnik: Factor: 1 – sole metalu; metal salts, 2 – dawka soli metalu; dose of metal salts, 3 – sole metalu* dawka soli metalu; metal salts *dose of metal salts, 4 – błąd; error, * = istotność na poziomie 0,05; significance level 0.05



Rys. 2. Wpływ soli ołowiu na biomasę grzybní grzybów glebowych
 Fig. 2. Influence of lead salt on the biomass of spawn of soil fungi



Rys. 3. Wpływ soli miedzi na biomasę grzybní grzybów glebowych
 Fig. 3. Influence of copper salt on the biomass of spawn of soil fungi

LIMSKA-STYPA 1988; PACHA, KALABIS 1988]. W naszej pracy badane stężenia soli chromu w pożywce spowodowały istotne zmniejszenie przyrostu biomasy grzybní. Według ACKINA i DEANA [1978] akumulacja ołowiu w komórkach mikroorganizmów zależy od rodzaju zastosowanego związku. Najwyższe stężenie zaobserwowano przy wprowadzeniu ołowiu w postaci octanu, najniższą zaś przy zastosowaniu czterofenylolołowiu. Poziom nagromadzenia ołowiu wynosił 19% suchej masy komórek grzybów. Tak silne nagromadzenie ołowiu łączono z pasywnym wiązaniem. Z badań przedstawionych w niniejszej pracy wynika, że ołów w przy-

padku większości badanych grzybów nie wywierał istotnego wpływu na wzrost biomasy, nawet przy bardzo dużych stężeniach. Badania EHRLICH [1978] dowodzą, że miedź w środowisku obojętnym zastosowana w niskich koncentracjach ($0,04 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$) wykazuje bardzo silne właściwości toksyczne. Wyniki własnych badań wykazały, że miedź spowodowała istotne zmniejszenie masy. Najbardziej toksycznie związek miedzi wpłynął na szczep *Trichothecium roseum*. W niektórych środkach ochrony roślin znajduje się dużo metali ciężkich [ROSS 1975; BAATH 1989]. Grzybnia, która jest obficie wytwarzana, ma znaczne zdolności akumulujące. Szczególnie dotyczy to związków toksycznych, w tym metali ciężkich. Akumulacja związków toksycznych jest proporcjonalna do ich wzrostu na podłożu. Mechanizmy tego procesu oraz przebieg nie są do końca jeszcze wyjaśnione. Niektóre gatunki grzybów akumulują metale ciężkie w ścianie komórkowej, umożliwia to lub wręcz przeciwnie ogranicza ich wnikanie do protoplasmu. Trucizny te, nieschelatowane, wnikają do wnętrza komórki powodując śmierć organizmu [BORATYŃSKI i in. 1984]. Zdolność grzybów do przeżywania w obecności toksycznych pierwiastków śladowych wynika z wielu ich biochemicznych i strukturalnych właściwości, włączając w to także fizjologiczną i genetyczną adaptację. Pomimo, że metale ciężkie obniżają aktywność enzymatyczną wielu drobnoustrojów i zmniejszają poziom większości reakcji biochemicznych zachodzących w różnych środowiskach, to jednak grzyby wykazują dużą odporność na obecność metali ciężkich w podłożu [BABICH i in. 1977].

Wnioski

1. Toksyczność metali ciężkich w stosunku do badanych gatunków grzybów glebowych uzależniona była istotnie od rodzaju związku metalu, jego stężenia oraz od gatunku grzyba.
2. W miarę wzrostu stężenia związków metali ciężkich następowało zmniejszenie biomasy grzybni. Dawka najwyższa ($500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) soli miedzi i chromu spowodowała największe zmniejszenie masy grzybni.
3. Najmniej toksyczny w stosunku do badanych gatunków grzybów glebowych okazał się azotan ołowiu.

Literatura

- ACKIN R., DEAN A. 1978. *Lead accumulation by microorganisms*. Microbial Letters; Oxford: 323 ss.
- BAATH E. 1989. *Effects of heavy metals in soil on microbial processes and populations (a review)*. Water, Air and Soil Pollutions 47: 335–379.
- BABICH B., STÓTZKI G. 1977. *Sensitivity of various bacteria including actinomyces and fungi to cadmium and the influence of pH on sensitivity*. Appl. Environm. Microbiol. 33/3: 681–695.
- BORATYŃSKI J., PŁASKOWSKA E., ZABAWKI J. 1984. *Wpływ zróżnicowanych dawek cynku, miedzi, kadmu i niklu na wzrost niektórych mikrogrzybów glebowych*. Arch. Ochr. Środ. 1–2: 123–133.

- EHRlich H.L. 1978. *How microbes cope with metals in their environment. Mikrobial life in extreme environments.* Londyn: 288 ss.
- FASSATIOVA O. 1983. *Grzyby mikroskopowe w mikrobiologii technicznej.* Wydawn. Nauk.-Techn., Warszawa: 256 ss.
- MULLEN M.D., WOLF D.C., BEVERIDGE T.J., BAILEY G.W. 1992. *Sorption of heavy metals by the soil fungi Aspergillus niger and Mucor rouxi.* Soil Biol. Biochem. 24: 129–135.
- PACHA J., GALIMSKA-STYPA R. 1988. *Właściwości mutagenne wybranych związków trój- i sześciowartościowego chromu.* Acta Biol. Sil. 9(26): 30–37.
- PACHA J., KALABIS B. 1988. *Wpływ wybranych związków trój- i sześciowartościowego chromu na Micromycetes gleby.* Acta Biol. Sil. 9(26): 38–45.
- PLAZA G., ŁUKASIK W., UFLIG K. 1996. *Sorptin of cadmium by filamentous soil fungi.* Acta Microbiol. Pol. 45(2): 193–201.
- ROSS I.S. 1975. *Some effects of heavy metals of fungal cells.* Trans. Br. Mycol. Soc. 64(2): 175–193.
- SŁABA M., DLUGOŃSKI J. 2003. *Wiązanie metali ciężkich przez grzyby mikroskopowe.* Biotechnologia 4(63): 101–109.

Słowa kluczowe: metale ciężkie, biomasa grzybów

Streszczenie

W warunkach laboratoryjnych badano wpływ soli chromu, ołowiu i miedzi na wagę grzybni wybranych grzybów glebowych: *Mucor mucedo*, *Penicillium claviforme*, *Alternaria alternata*, *Trichothecium roseum*, *Trichocladium asperum*, *Aspergillus niger*, *Metarrhizium flavoviride*. Wyniki badań wskazują, że grzyby glebowe wykazywały się zróżnicowaną reakcją na wprowadzone do podłoża sole metali ciężkich. Działanie ich zależało od gatunku grzyba, rodzaju metalu i jego stężenia. Spośród badanych soli metali ciężkich najmniej toksyczny w stosunku do masy grzybni okazał się $Pb(NO_3)_2$ wnoszony nawet w dużych stężeniach. Największe spadki masy grzybni zaobserwowano pod wpływem związku chromu i miedzi.

THE INFLUENCE OF HEAVY METALS ON THE BIOMASS OF SOME SOIL FUNGI

Wiera Michalcewicz, Tomasz Wiczcerek, Kamila Kosobucka
Department of Microbiology and Biotechnology of Environments,
Agricultural University, Szczecin

Key words: heavy metals, biomass of fungi

Summary

Effect of chrome, lead and copper on the weight of spawn of some soil fungi: *Mucor mucedo*, *Penicillium claviforme*, *Alternaria alternata*, *Trichothecium*

roseum, *Trichocladium asperum*, *Aspergillus niger*, *Metarrhizium flavoviride* were investigated under the laboratory condition. The results of investigations show that soil fungi produced diverse reaction to the salts of heavy metals introduced to the substratum. Out of the investigated salts of heavy metals the least toxic in relation to the spawn size was $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ introduced even in high concentrations. The biggest decrease of the spawn weight were observed under the influence of chromium and copper compounds.

Dr hab. Wiera **Michalcewicz**

Katedra Mikrobiologii i Biotechnologii Środowiska

Akademia Rolnicza

ul. Słowackiego 17

71-434 SZCZECIN

e-mail: wmichalcewicz@agro.ar.szczecin.pl