

WPŁYW METALI CIĘŻKICH - Cd, Cu, Pb
I Zn - NA PROCES DENITRYFIKACJI W GLEBIE

Wiesław Barabas

Katedra Mikrobiologii AR im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

Celem badań było poznanie wpływu różnych azotanowych form Cd, Cu, Pb i Zn na mikroorganizmy glebowe oraz na przebieg procesu denitryfikacji w wyjałowionej glebie, szczepionej czystymi kulturami bakterii denitryfikacyjnych i w glebie z naturalną mikroflorą. Na przemiany azotu wpływają różne czynniki ekologiczne oraz obce substancje chemiczne (tzw. ksenobiotyki), dostające się do gleby. Skażenie gleb przez metale ciężkie może wpływać niekorzystnie na transformację azotu glebowego. Zawartość metali ciężkich w ekosystemach lądowych stale wzrasta w wyniku nawożenia gleb superfosfatem, stosowania ścieków w nawadnianiu i nawożeniu gleb, a także w wyniku górniczych i hutniczych zanieczyszczeń oraz poprzez spaliny motoryzacyjne. Z uwagi na możliwość toksycznego wpływu na rośliny wyższe i procesy biologiczne zachodzące w glebie, obecność w niej metali ciężkich jest szczególnie niebezpieczna.

Skąpe informacje [5, 8, 11, 13, 16] nie wyjaśniają wprawdzie fizjologicznego działania metali ciężkich na drobnoustroje, ale wyniki wielu badań wykazały, że wszystkie formy życia włączając w to i mikroorganizmy są wrażliwe na obecność metali ciężkich. Metale ciężkie w środowisku glebowym powodują zmniejszenie aktywności enzymatycznej gleby [14] oraz zmniejszają poziom większości reakcji biochemicznych zachodzących w glebie.

Babich i Stotzky [2-4] wykazali, że promieniowce są bardziej odporne na Cd niż bakterie właściwe i że gramujemne bakterie są bardziej tolerancyjne na obecność Cd niż bakterie gramodatnie. Także sporulacja grzybów była bardziej wrażliwa na Cd niż wzrost grzybní. Równocześnie wykazano, że minerały ilaste, jak montmory-

lonit, chroniły grzyby przed fungistatycznym działaniem kadmu, podczas gdy np. kaolinit nie posiadał tej właściwości. Również Wilson [15] badając metale ciężkie stwierdził, że cynk jako $ZnSO_4$ w koncentracji $1000 \mu g/g$ gleby totalnie hamował proces nitryfikacji we wszystkich badanych glebach. Natomiast Fouilly [9] wykazał, że w glebie rozwój bakterii nie był hamowany przez dodatek ołowiu w koncentracji $10\ 000 \mu g/g$ gleby, ponieważ ołów był adsorbowany przez ilasto-huminowy kompleks glebowy i stawał się niedostępny dla mikroorganizmów. Z kolei Rühling i Tyler [12] stwierdzili, że w kwaśnych glebach leśnych poziom ogólnego rozkładu był hamowany przez średnie dawki jonów metali ciężkich. Udowodniono również wysoką korelację negatywną między koncentracją metali ciężkich a poziomem wydzielania CO_2 oraz aktywnością dehydrogenazy.

W wyniku procesu denitryfikacji w środowisku glebowym azotany ulegają redukcji do azotynów i gazowych form azotu. Bollag i wsp. [6, 7] wykazali, że denitryfikacja w glebie była hamowana przez takie pestycydy, jak: captan, maneb, nabam i 2,4-D oraz różne metale ciężkie. Także Henninger i Bollag [10] wykazali, że inhibitor nitryfikacji (N-serv) nie miał hamującego wpływu na proces denitryfikacji w glebie, ale hamował denitryfikację badaną w warunkach laboratoryjnych w płynnych podłożach.

MATERIAŁ I METODYKA

Do badań mikrobiologicznych użyto 3 szczepów bakterii z rodzaju *Pseudomonas*: *Pseudomonas* sp., *P. aeruginosa* i *P. denitrificans*. We wszystkich badaniach stosowano 125 cm^3 butelki (Pyrex), które zatykano gumowymi korkami posiadającymi septum, które służyło do poboru próbek gazu celem wykonania analiz. Do badań użyto gleby o $pH = 6,75$ zawierającej $65 \mu g\ NO_3\text{-N/g}$ gleby oraz 1,8% materii organicznej, 8,5% piasku, 63,4% gliny, 28,1% iłu. Powietrze suchą glebę przesiewano przez sito o 2 mm oczkach i wsypywano do każdej butelki po 20 g. Glebę którą szczepiono czystymi kulturami bakterii sterylizowano w autoklawie 3 razy po 45 minut w odstępach 24 godz. Przed trzecią sterylizacją do butelek dodawano po 4 cm^3 wody destylowanej zawierającej odpowiednią ilość azotanów i metali ciężkich ($Cd/NO_3/2 \cdot 4H_2O$; $Cu/NO_3/2 \cdot 3H_2O$; $Pb/NO_3/2$; $Zn/NO_3/2 \cdot 6H_2O$). Tak wysterylizowaną glebę szczepiono zawiesiną 3 cm^3 czystej kultury bakterii. Ogólna ilość azotanów w próbkach

wynosiła 200 $\mu\text{g/g}$ gleby. Do naturalnej, tj. nie sterylizowanej gleby dodawano po 7 cm^3 wody destylowanej zawierającej odpowiednią ilość azotanów i metali ciężkich.

W celu przygotowania warunków beztlenowych w każdy korek butelki przez septum wbijano igłę i przepuszczano hel przez 1 min. Następnie butelki szczelnie zamykano i pozostawiano niewielkie dodatnie ciśnienie, zabezpieczające przed wniknięciem powietrza atmosferycznego do przygotowanych próbek. Próbkę gazu w ilości 500 μl pobierano z każdej butelki i analizowano w chromatografii gazowej (Varian-Aerograph, model 1820) używając 2 równoległych kolumn (o średnicy 2 mm) o temperaturze 50°C. Kolumna Porapak Q (600 mm, 50-80 mesh) rozdzielała CO_2 i N_2O , a kolumna Molecular Sieve 5A (450 mm, 45-60 mesh) rozdzielała N_2 i O_2 . Jako gazu nośnego używano He o przepływie 40 cm^3/min . Zastosowano dwa równoległe detektory (Thermal conductivity detector) o stałej temperaturze roboczej 200°C. Powierzchnia pików była obliczana automatycznie za pomocą Varian-Aerograph Integrator, model 477, a ilość gazu obliczano z krzywych standardowych dla poszczególnych gazów.

Zawartość azotanów, azotynów i pH oznaczano w glebowym ekstrakcie, który przygotowano przez dodanie 40 ml wody do 20 g gleby i wytrząsanie na wytrząsarce „Wrist-Action” przez 30 min. Glebę od fazy wodnej oddzielano przez 10 minutowe wirowanie (10 000·g). Ubytek azotanów w wyniku denitryfikacji mierzono przy użyciu Nitrate Electrode (Orion Research, Inc. Cambridge. Mass). Azotyny oznaczano kolorymetrycznie [1] używając kwasu α -naphtyloamino-sulfanilowego i spektrofotometru Bausch i Lomb - Spectronic 20.

WYNIKI BADAŃ I DYSKUSJA

Wpływ Cd, Cu, Pb i Zn na proces denitryfikacji w wyjąłowanej glebie szczepionej bakteriami Pseudomonas

Badane bakterie denitryfikacyjne *P. aeruginosa* i *P. denitrificans* redukowały azotany do azotu gazowego, natomiast cechą charakterystyczną bakterii *Pseudomonas* sp. była redukcja azotanów do N_2O jako ostatecznego końcowego produktu denitryfikacji.

Kiedy wyjałowiona gleba była zaszczipiona 3 szczepami bakterii z rodzaju *Pseudomonas* i inkubowana w warunkach beztlenowych, obserwowano zahamowanie procesu denitryfikacji we wszystkich kombinacjach, w których dodano badane metale ciężkie. W próbie kontrolnej gleby - bez metali ciężkich - praktycznie cała ilość azotanów zredukowana była do N_2O (*Pseudomonas* sp.) lub N_2 (*P. aeruginosa* i *P. denitrificans*) w ciągu 4 dni. Proces denitryfikacji mierzony ubytkiem ilości dodanych azotanów oraz akumulacją azotynów, wydzielaniem podtlenku azotu (N_2O) był hamowany przez dodatek metali ciężkich (Cd, Cu, Pb i Zn) w kombinacjach, gdzie zastosowano koncentrację powyżej $10 \mu\text{g/g}$ gleby.

Z badanych metali ciężkich miedź okazała się najsilniejszym inhibitorem procesu denitryfikacji przeprowadzanego przez szczep *Pseudomonas* sp., kadm i cynk natomiast odznaczały się mniejszą toksycznością w stosunku do *Pseudomonas* sp.; nie stwierdzono toksycznego wpływu ołowiu na *Pseudomonas* sp. w koncentracji do $1000 \mu\text{g/g}$ gleby (tab. 1). Jeśli wyjałowiona gleba była szczepiona bakteriami *P. aeruginosa* i *P. denitrificans* obserwowano natomiast hamujący wpływ metali ciężkich (Cd, Cu, Pb i Zn) na proces denitryfikacji (tab. 2 i 3). Zwiększające się dawki miedzi, kadmu i cynku powodowały akumulację dużych ilości azotynów. Zaobserwowano, że dodatek $100 \mu\text{g/g}$ gleby kadmu powodował tworzenie się $41 \mu\text{g NO}'_2\text{-N/g}$ gleby, a $250 \mu\text{g}$ kadmu powodowało akumulację aż $52 \mu\text{g NO}'_2\text{-N/g}$ gleby. Dopiero dawka ołowiu w ilości $1000 \mu\text{g/g}$ gleby powodowała zahamowanie procesu denitryfikacji, co uwidoczniło się w akumulacji $17 \mu\text{g NO}'_2\text{-N/g}$ gleby. Wszystkie dawki wybranych metali ciężkich powodowały tworzenie się N_2O przez *P. aeruginosa*.

Podobne wyniki jak dla *Pseudomonas aeruginosa* uzyskano także dla *P. denitrificans*. Również i w tym wypadku kadm i miedź okazały się najbardziej toksyczne z badanych metali ciężkich. Dawka $250 \mu\text{g Cd/g}$ gleby powodowała akumulację $51 \mu\text{g}$ azotynów na g gleby. Najmniej toksyczny był ołów, który dopiero w dawce 500 i $1000 \mu\text{g/g}$ gleby powodował zaburzenie w procesie denitryfikacji, co uwidoczniło się w akumulacji $18 \mu\text{g}$ azotynów na g gleby.

Z badanych bakterii szczep *P. denitrificans* był najbardziej odporny na badane „koncentracje” metali ciężkich. Metalem, który okazał się najbardziej toksyczny dla *P. denitrificans* był Cd, który spowodował zahamowanie procesu denitryfikacji, co objawiło się w akumulacji znacznych ilości azotynów. Za pomocą badań w chromatografii gazowej stwierdzono również, że wraz ze wzrostem

T a b e l a 1

Wpływ Cd, Cu, Pb i Zn na proces denitryfikacji
w wyjałowionej glebie szczepionej *Pseudomonas* sp.

Zawartość metalów (w $\mu\text{g/g}$ gleby)	Azot (w $\mu\text{g/g}$ gleby)				Azot ogółem	CO_2 (w $\mu\text{g/g}$)	pH	
	NO_3	NO_2	N_2O	N_2				
Gleba nie szczepiona (kontrola)	192,0	0	0	0	192,0	6,6	6,7	
Gleba szczepiona (kontrola)	28,6	0,2	158,5	0	187,3	172,4	8,1	
Cd	10	68,3	0,1	118,7	0	187,1	139,7	8,0
	50	96,5	0,1	90,3	0	186,9	105,9	7,9
	100	98,5	0,1	88,5	0	187,1	104,9	7,8
	250	121,0	0,1	65,4	0	186,5	85,9	7,7
	500	150,0	0,1	34,9	0	185,0	60,7	7,4
	1000	242,0	0,8	19,4	0	262,2	46,4	7,1
Zn	10	59,6	0,2	135,4	0	192,5	103,1	7,6
	50	75,4	0,2	117,4	0	192,1	94,3	7,6
	100	126,0	0,2	64,8	0	191,0	89,4	7,5
	250	128,0	0,3	62,9	0	191,2	80,2	7,4
	500	166,4	0,4	61,8	0	228,6	68,4	7,4
	1000	324,6	0,5	9,1	0	334,2	35,1	6,9
Cu	10	116,6	0,2	77,4	0	194,2	113,8	7,7
	25	136,6	0,2	55,9	0	192,7	83,5	7,5
	50	153,0	0,2	31,9	0	185,1	67,3	7,4
	100	171,3	0,3	20,1	0	191,7	60,4	7,2
	250	187,3	0,4	10,1	0	197,8	35,7	7,1
	500	276,0	0,8	0	0	276,8	27,1	6,9
Pb	10	32,5	0	164,3	0	196,8	176,5	8,3
	50	46,0	0	159,5	0	205,5	168,3	8,2
	100	49,0	0	143,6	0	192,6	167,9	8,2
	250	51,3	0	140,4	0	191,7	154,6	8,1
	500	52,0	0	139,7	0	191,7	156,1	8,1
	1000	60,0	0	135,7	0	195,7	161,9	8,1

a - początkowa zawartość $\text{NO}_3\text{-N} = 315 \mu\text{g/g}$ gleby, b - $280 \mu\text{g/g}$ gleby, c - $495 \mu\text{g/g}$ gleby, d - $285 \mu\text{g/g}$ gleby.

T a b e l a 2

Wpływ Cd, Cu, Pb i Zn na proces denitryfikacji
w wyjaławionej glebie szczepionej *Pseudomonas aeruginosa*

Zawartość metal (w $\mu\text{g/g}$ gleby)	Azot (w $\mu\text{g/g}$ gleby)				Azot ogółem	CO ₂ (w $\mu\text{g/g}$)	pH	
	NO ₃	NO ₂	N ₂ O	N ₂				
Gleba nie szczepiona (kontrola)	192,0	0	0	0	192,0	6,6	6,7	
Gleba szczepiona (kontrola)	11,4	0,4	4,8	179,9	196,5	209,3	8,1	
Cd	10	24,1	3,2	12,1	152,4	191,8	195,3	7,9
	50	27,5	13,4	18,5	129,7	189,1	186,1	7,7
	100	29,8	24,2	26,1	113,9	194,6	155,5	7,6
	250	45,2	52,1	24,3	80,2	201,8	150,3	7,4
	500	83,4	51,6	23,4	42,9	201,3	142,8	7,2
	1000	154,0	42,1	10,0	36,4	242,4	115,6	6,9
Zn	10	14,8	1,9	8,5	167,4	192,6	204,7	8,0
	50	17,6	8,5	10,7	154,1	190,9	185,8	7,9
	100	23,8	14,7	11,6	138,7	188,8	174,9	7,7
	250	48,1	15,2	11,9	116,3	191,5	170,1	7,5
	500	109,7	19,5	13,3	109,4	251,9	154,9	7,4
	1000	216,8	40,8	28,9	87,5	347,0	152,7	7,3
Cu	10	14,3	1,1	25,9	155,2	196,5	169,3	7,9
	25	31,4	21,6	11,8	128,5	193,3	162,4	7,9
	50	58,7	25,4	10,5	100,7	195,3	147,4	7,8
	100	71,4	41,6	3,8	80,4	197,2	142,1	7,7
	250	80,5	37,7	0	79,7	197,9	107,4	7,6
	500	186,5	0,6	0	72,8	259,9	100,7	7,4
Pb	10	7,1	0	26,0	166,4	199,5	202,4	8,3
	50	7,7	0	17,2	170,7	195,6	202,3	8,3
	100	12,0	0,2	19,1	146,5	177,8	200,2	8,3
	250	12,3	0,3	26,5	143,1	182,2	204,2	8,3
	500	12,8	1,6	31,8	139,8	186,1	192,1	8,3
	1000	18,1	17,0	16,2	142,1	193,4	188,5	8,1

Oznaczenia jak do tabeli 1.

T a b e l a 3

Wpływ Cd, Cu, Pb i Zn na proces denitryfikacji
w wyjałowionej glebie szczepionej *Pseudomonas denitrificans*

Zawartość metal (w $\mu\text{g/g}$ gleby)	Azot (w $\mu\text{g/g}$ gleby)				Azot ogółem	CO_2 (w $\mu\text{g/g}$)	pH
	NO_3	NO_2	N_2O	N_2			
Gleba nie szczepiona (kontrola)	192,0	0	0	0	192,0	6,6	6,7
Gleba szczepiona (kontrola)	5,2	0,3	0	186,7	192,2	228,6	8,2
Cd	10	9,9	2,9	0	160,5	197,4	8,1
	50	12,5	35,0	0	137,3	170,3	7,9
	100	20,6	40,0	0	127,4	168,2	7,9
	250	46,7	51,0	0	93,6	138,1	7,6
	500	104,7	18,6	0	82,3	95,4	7,6
	1000	222,7	4,2	0	65,9	67,2	7,3
Zn	10	9,4	0,2	3,4	170,3	209,3	8,1
	50	14,4	0,2	6,7	159,2	205,9	7,9
	100	33,3	0,5	0	156,9	200,9	7,8
	250	47,4	0,7	0	135,3	184,4	7,6
	500	109,3	3,7	3,9	130,7	167,3	7,5
	1000	270,0	18,5	4,8	52,9	129,5	7,3
Cu	10	22,3	0,3	0	175,2	227,3	7,9
	25	25,6	0,7	0	175,7	224,3	7,8
	50	28,5	0,7	0	175,4	221,5	7,7
	100	29,0	1,2	0	175,6	222,7	7,7
	250	32,6	10,8	9,2	162,7	220,0	7,6
	500	168,0	32,3	0	129,6	161,5	7,3
Pb	10	5,3	0	19,2	153,5	191,7	8,5
	50	6,1	0	19,8	148,5	187,9	8,4
	100	8,2	0,2	18,5	150,3	174,6	8,4
	250	5,4	1,9	13,8	153,5	169,1	8,4
	500	7,6	16,5	38,4	141,1	169,3	8,4
	1000	13,7	18,0	36,7	136,1	193,7	8,4

Oznaczenia jak do tabeli 1.

koncentracji badanych metali ciężkich w glebie zmniejszała się ilość powstającego CO_2 u wszystkich badanych szczepów bakterii z rodzaju *Pseudomonas* (tab. 1, 2 i 3).

Wpływ Cd, Cu, Pb i Zn na proces denitryfikacji w glebie z naturalną mikroflorą

Gdy gleba z naturalną mikroflorą, tzn. nie sterylizowana i nie szczepiona bakteriami denitryfikacyjnymi z dodatkiem różnych koncentracji metali ciężkich była inkubowana przez okres 3 tygodni w warunkach beztlenowych, stwierdzono zahamowanie procesu denitryfikacji w próbkach z dodatkiem badanych metali ciężkich. Co 7 dni mierzono aktywność procesu denitryfikacji i wykazano, że zwiększające się dawki wybranych metali ciężkich powodowały zahamowanie redukcji azotanów poprzez nagromadzenie azotynów i powstawanie N_2O . Z badanych metali ciężkich najmniejszy toksyczny wpływ na bakterie czynne w procesie denitryfikacji w naturalnej glebie wywierał ołów (tab. 5). Silniejsze toksyczne działanie miały pozostałe badane metale, tzn. cynk, kadm i miedź, co przedstawiono w tabelach 4 i 5.

W glebie kontrolnej oraz w próbkach z dodatkiem wzrastających dawek ołowiu nie stwierdzono akumulacji azotynów, natomiast kadm i cynk powodowały okresową ich akumulację i zanikanie w ciągu dalszej inkubacji. W glebie z dodatkiem $500 \mu\text{g Cd/g}$ gleby stwierdzono nagromadzenie szczególnie dużych ilości azotynów i stan taki utrzymywał się przez cały okres doświadczenia (3 tyg.).

Podobnie zaobserwowano, że ilość tworzącego się N_2O zmniejszała się w ciągu okresu badań w glebie kontrolnej i w glebie z niewielkimi dawkami metali ciężkich. W próbkach ze wzrastającymi dawkami metali ciężkich (Cd, Cu, Pb i Zn) zaobserwowano nagromadzenie się N_2O , którego ilość w cotygodniowych pomiarach wzrastała. Również i w tych badaniach stwierdzono, że wraz ze wzrostem hamującego działania metali ciężkich na proces denitryfikacji w glebie z naturalną mikroflorą zmniejszała się ilość wydzielanego CO_2 .

Akumulacja azotynów podczas procesu denitryfikacji wskazywałyaby na to, że wiele czynników ekologicznych oraz różne pestycydy [6], inhibitory nitryfikacji [10] i metale ciężkie [7] są inhibitorami tego procesu. W naturalnych warunkach azotyny występują bardzo rzadko w środowisku glebowym. Praktycznie podczas

T a b e l a 4

Wpływ Cd i Cu na proces denitryfikacji
w glebie z naturalną mikroflorą

Zawartość metalów (w $\mu\text{g/g}$ gleby)	Azot (w $\mu\text{g/g}$ gleby)				Azot ogółem	CO_2 (w $\mu\text{g/g}$)	pH
	NO_3	NO_2	N_2O	N_2			
Po 7 dniach							
0	75,3	0,3	15,5	94,5	185,6	145,4	7,4
10	78,0	0,3	23,4	86,8	188,5	138,8	7,3
100	80,3	12,5	60,9	68,6	222,3	128,8	7,1
500	88,0	36,9	33,1	39,2	197,2	89,5	6,8
Po 14 dniach							
0	39,6	0,3	0	165,0	204,9	207,9	7,4
10	48,0	0,5	5,3	138,0	191,8	202,3	7,3
100	59,0	0,5	59,6	82,7	201,8	167,3	7,1
500	66,0	35,0	56,1	42,0	199,1	131,9	6,9
Po 21 dniach							
0	2,0	0,3	0	192,7	195,0	228,8	7,5
10	15,6	0,5	3,2	156,8	176,1	214,2	7,5
100	25,2	0,4	24,8	123,5	173,9	191,4	7,3
500	40,5	33,5	79,3	46,4	199,7	159,7	7,0
Po 7 dniach							
0	70,0	0,2	16,7	98,5	185,4	160,9	7,4
10	70,3	0,2	16,8	97,6	184,9	160,3	7,1
100	78,5	0,2	23,8	90,1	192,6	141,1	6,9
250	87,5	7,8	50,4	54,7	200,4	123,0	6,7
Po 14 dniach							
0	32,6	0,1	0	162,4	195,1	209,8	7,4
10	32,5	0,2	0	162,6	195,3	204,4	7,3
100	48,0	0,2	0	138,5	186,7	200,8	7,0
250	61,8	0,2	36,8	101,2	200,0	179,6	6,9
Po 21 dniach							
0	2,7	0,2	0	199,6	202,5	232,3	7,5
10	2,1	0,2	0	190,4	192,7	230,5	7,4
100	20,1	0,2	0	165,6	185,9	210,8	7,2
250	58,7	0,2	30,4	113,4	202,7	196,3	7,0

T a b e l a 5

Wpływ Pb i Zn na proces denitryfikacji
w glebie z naturalną mikroflorą

Zawartość metal (w $\mu\text{g/g}$ gleby)	Azot (w $\mu\text{g/g}$ gleby)				Azot ogółem	CO_2 (w $\mu\text{g/g}$)	pH
	NO_3	NO_2	N_2O	N_2			
Po 7 dniach							
0	72,0	0,2	17,3	108,8	198,3	164,1	7,2
100	77,3	0,2	20,3	99,1	196,9	158,9	7,0
500	80,1	0,4	35,1	82,4	198,0	151,4	6,9
1000	85,3	0,4	47,7	68,5	201,9	146,9	6,9
Po 14 dniach							
0	38,6	0,2	0	175,1	213,9	226,7	7,4
Pb 100	39,0	0,2	0	168,3	207,5	211,1	7,3
500	48,3	0,3	10,1	135,2	193,8	196,9	7,0
1000	70,0	0,2	26,3	97,8	194,3	192,0	7,0
Po 21 dniach							
0	4,4	0,2	0	204,5	209,0	244,5	7,5
100,0	3,7	0,2	0	201,5	205,4	240,9	7,4
500,0	8,1	0,2	0	206,4	214,7	237,4	7,3
1000,0	26,6	0,2	10,3	171,9	209,0	227,8	7,2
Po 7 dniach							
0	76,5	0	12,1	106,4	195,0	147,7	7,3
50	84,7	0	18,0	89,6	192,3	141,9	7,3
250	a 91,5	7,3	52,8	57,4	209,0	113,7	7,2
500	a 94,0	28,8	41,7	50,5	215,0	101,9	7,0
Po 14 dniach							
0	47,3	0	0	147,8	195,1	178,4	7,5
Zn 50	56,0	0	0	135,3	191,3	170,5	7,3
250	a 74,6	0,3	53,6	78,4	206,9	161,1	7,1
500	a 75,0	11,7	68,0	30,2	184,9	135,9	6,8
Po 21 dniach							
0	16,4	0	0	181,1	197,5	207,1	7,6
50	30,3	0	0	173,6	203,9	199,5	7,4
250	a 45,0	0	29,7	123,5	198,2	187,3	7,2
500	a 45,3	0,1	80,1	80,5	206,0	140,6	6,7

a - Zastosowano Zn jako ZnCl_2 .

badania procesu denitryfikacji azotyny nigdy nie były wykrywane w glebie. Obserwacje te mogłyby wskazywać na fakt, że „system enzymów” redukujących azotyny jest bardziej wrażliwy na metale ciężkie czy też inne ksenobiotyki, niż system enzymów redukujących azotany. Jest to szczególnie ważne z ekologicznego punktu widzenia, bowiem obserwowano stałe lub okresowe gromadzenie się azotynów (silnie toksycznych dla mikroflory glebowej) pod wpływem metali ciężkich.

Uzyskane wyniki z badań w wyjałowionej glebie szczepionej bakteriami denitryfikacyjnymi z rodzaju *Pseudomonas* oraz w glebie z naturalną mikroflorą wykazują, że badane metale ciężkie zmniejszają aktywność mikroorganizmów czynnych w procesie denitryfikacji. Zmniejszenie aktywności mikrobiologicznej gleb, mierzonej ilością wydzielającego się CO_2 , pod wpływem metali ciężkich w warunkach beztlenowych świadczy o naruszonej równowadze środowiska przyrodniczego.

WNIOSKI

1. Wszystkie wybrane metale ciężkie (Cd, Cu, Pb i Zn) okazały się silnymi inhibitorami procesu denitryfikacji badanego w środowisku glebowym w warunkach laboratoryjnych, co stwierdzono na podstawie znacznej akumulacji azotynów.

2. Z badanych bakterii denitryfikacyjnych *Pseudomonas denitrificans* okazały się najbardziej odporne na toksyczne działanie wybranych metali ciężkich.

3. Spośród wybranych metali ciężkich kadm okazał się najbardziej toksyczny w stosunku do wszystkich badanych bakterii denitryfikacyjnych oraz przebiegu procesu denitryfikacji w glebie z naturalną mikroflorą.

LITERATURA

1. American Public Health Association, Standard methods for the examination of water and wastewater. 13th ed. APHA, 1971. New York
2. Babich H., Stotzky G.: Appl. Environ. Microbiol., 33, 681-695, 1977.
3. Babich H., Stotzky G.: Appl. Environ. Microbiol., 33, 696-705, 1977.

4. Babich H., Stotzky G.: Adv. Appl. Microbiol., Academic Press 23, 55-117, 1978.
5. Badura L., Galimska-Stypa R., Mrozowska J.: Acta Biol., 4, 7-24, 1977.
6. Bollag J.M., Henninger N.M.: J. Environ. Qual., 5, 15-18, 1976.
7. Bollag J.M., Barabasz W.: J. Environ. Qual., 8, 196-201, 1979.
8. Doyle J.J., Marshal R.T., Pfander W.H.: Appl. Microbiol., 29, 562-564, 1975.
9. Fouilly B.: C.R. Soc. Biol., 170, 389-394, Paris 1976.
10. Henninger N.M., Bollag J.M.: Can. J. Microbiol., 22, 668-672, 1976.
11. Jernelöv A., Martin A.L.: Ann. Rev. Microbiol., 29, 61-77, 1975.
12. Rühling A., Tyler G.: Oikos, 24, 402-416, 1973.
13. Sadler J., Turdinger P.A.: Mineral. Deposita, 2, 158-168, 1967.
14. Tyler G.: Plant and Soil, 41, 303-311, 1974.
15. Wilson D.O.: Soil Biol. Biochem., 9, 227-280, 1977.
16. Zwarun A.A.: J. Environ. Qual., 2, 353-355, 1973.

В. Барабаш

ВЛИЯНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ - Cd, Cu, Pb и Zn - НА
ПРОЦЕССЫ ДЕНИТРИФИКАЦИИ В ПОЧВЕ

Р е з ю м е

Соответствующие опыты проведенные при использовании жидкой питательной среды Гильтайя на природной и стерильной почве. Установлено, что в природной почве повышающиеся дозы тяжелых металлов, начиная уже с 100 $\mu\text{g/g}$ почвы, задерживали процесс денитрификации, при одновременном накапливании высоких количеств нитритов и закиси азота. В стерильной почве степень задержания процесса денитрификации зависел от элемента и его количества, а также от вида денитрификационных бактерий.

W. Barabasz

INFLUENCE OF HEAVY METALS - Cd, Cu, Pb AND Zn -
ON DENITRIFICATION PROCESSES IN SOIL

S u m m a r y

The respective experiments were carried out at use of a liquid nutrient medium after giltay on natural and sterile soil. It has been found that in initial soil increasing doses of heavy metals inhibited as early as at the dose of 100 $\mu\text{g/g}$ of soil the

denitrification process, what was accompanied by the accumulation of high amounts of nitrites and of nitrogen anoxide. In the sterile soil the denitrification process inhibition depended on the element and its amount and on the kind of denitrifying bacteria.