

NITRYFIKACJA W GLEBIE ZANIECZYSZCZONEJ MIEDZIĄ

Jadwiga Wyszowska, Jan Kucharski, Mirosław Kucharski

Katedra Mikrobiologii, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Wstęp

Miedź to metal ciężki o gęstości $8,92 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$. Występuje na 4 stopniach utlenienia [CIBA i in. 1996]. Zawartość miedzi w skorupie ziemskiej jest niewielka. Średnio w 1 kg skorupy znajduje się 55 mg Cu [CORTON i in. 2002], natomiast w 1 kg gleby od 1 do 140 mg Cu [KABATA-PENDIAS, PENDIAS 1999].

Miedź najczęściej występuje w przyrodzie w postaci siarczków, chlorków, arsenków, wodorotlenków i węglanów. Najpopularniejszym minerałem miedzi jest chalkopiryt (CuFeS_2). W glebie pierwiastek ten jest silnie wiązany przez koloidy organiczne i mineralne [KABATA-PENDIAS, PENDIAS 1999]. W glebach niezanieczyszczonych pełni bardzo pożyteczną funkcję metaboliczną. Miedź jest pierwiastkiem niezbędnym do życia wszystkich organizmów. Katalizuje wiele procesów enzymatycznych.

Na terenie Polski występują lokalnie gleby silnie zanieczyszczone metalami ciężkimi, w których zawartość miedzi może wynosić do kilkuset [GWOREK i in. 2006], a nawet kilku tysięcy mg $\text{Cu}\cdot\text{kg}^{-1}$ s.m. gleby [KARCZEWSKA, BOGDA 2006]. W glebach, w których znajduje się z różnych przyczyn zbyt dużo miedzi, może dochodzić do zachwiania właściwości chemicznych i biologicznych [NOWAK i in. 1999; KUNITO i in. 1999, 2001; KUCHARSKI i in. 2000; WYSZKOWSKA, KUCHARSKI 2003; NIKOVSKAYA i in. 2004; WYSZKOWSKA i in. 2005]. Szczególnie na takie zmiany wrażliwe są bakterie nityfikacyjne [SAUVE i in. 1999; WYSZKOWSKA 2002], a sam pomiar potencjalnej nityfikacji próbuje się, z różnym skutkiem, wykorzystywać do oceny zanieczyszczenia gleb metalami [SAUVE i in. 1999; CHRISTENSEN i in. 2001]. Z tych względów przeprowadzono badania, których celem było określenie wpływu nadmiernych ilości miedzi na przebieg procesu nityfikacji w glebie.

Materiał i metody

Badania wykonano w warunkach laboratoryjnych. W doświadczeniu wykorzystano próbki pobrane z gleby brunatnej właściwej wytworzonej z gliny lekkiej o pH w KCl – 7,0 i C org. 7,7 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$.

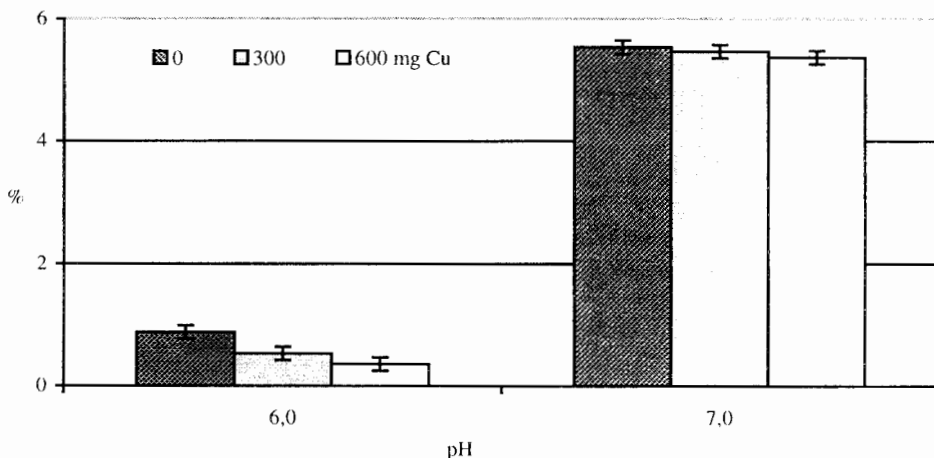
Czynniki zmiennymi były:

- 1) pH_{KCl} gleby 7,0 i 6,0;
- 2) dawka $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ w mg $\text{Cu}\cdot\text{kg}^{-1}$ gleby: 0, 300 i 600;
- 3) dawka $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ w mg $\text{N}\cdot\text{kg}^{-1}$ gleby: 0 i 250;
- 4) czas inkubacji gleby w dniach: 0, 20, 40 i 60.

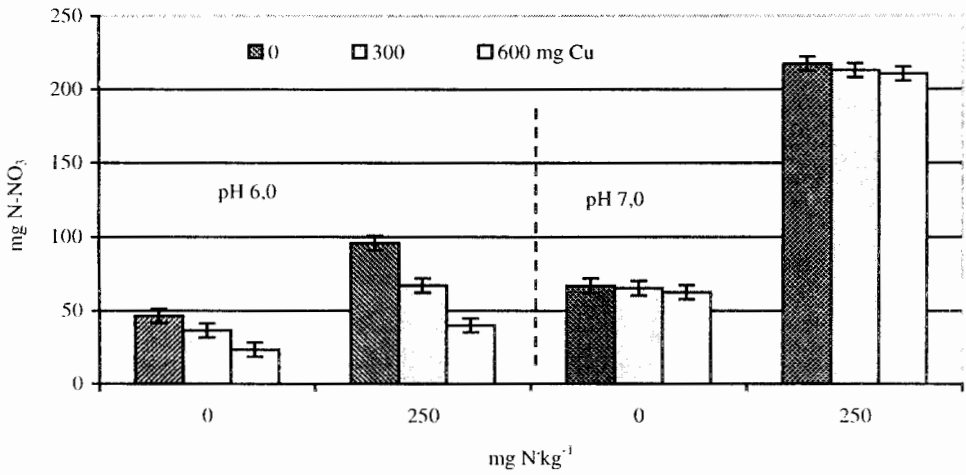
Badania wykonano w 6 powtórzeniach umieszczając w zlewkach o pojemności 100 cm³ po 50 g s.m. gleby. Przed założeniem doświadczenia część próbek gleby zakwaszono wodnym roztworem HCl doprowadzając pH do wartości 6,0. Próbkę glebowe zanieczyszczono miedzią (czynnik 2) oraz wprowadzono azot w postaci (NH₄)₂SO₄ (czynnik 3). Następnie dokładnie wymieszano i doprowadzono wilgotność do poziomu 60% kapilarnej pojemności wodnej. W takim stanie uwilgotnienia próbki przechowywano w cieplarni w temperaturze 25°C (czynnik 4). W glebie w dniu zakładania doświadczenia oraz w określonych terminach (czynnik 4) oznaczono zawartość N-NH₄ i N-NO₃ oraz pH. Dla każdego terminu była przygotowana oddzielna partia zlewek z glebą. Na podstawie uzyskanych wyników wyliczono ilość znitryfikowanego azotu. Dodatkowo wykonano oznaczenie aktywności nityfikacyjnej gleby metodą KANDELERA [1996]. Ekstrakcję azotu mineralnego przeprowadzono za pomocą wodnego roztworu 1% K₂SO₄ (stosunek gleby do ekstraktora wynosił 1 : 5). Zawartość N-NO₃ i N-NH₄ oznaczono kolorymetrycznie. Do pomiaru ilości azotu azotanowego używano kwasu fenolodisulfonowego, a do oznaczenia azotu amonowego – odczynnika Nesslera. Dokładny opis analizy gleby zamieszczono w pracy WYSZKOWSKIEJ [2002]. Uzyskane wyniki weryfikowano statystycznie wielokrotnym testem rozstępu Duncana, wykorzystując wieloczynnikową analizę wariancji czteroczynnikowej. Obliczenia wykonano pakietem Statistica [STATSOFT, Inc. 2004].

Wyniki i dyskusja

Przeprowadzone badania dowodzą, że aktywność nityfikacyjna gleby w większym stopniu zależała od jej odczynu niż od stopnia zanieczyszczenia miedzią (rys. 1). W glebie o pH 6,0 wahała się ona od 0,36% do 0,88%·d⁻¹, natomiast w glebie o pH 7,0 od 5,36% do 5,53%·d⁻¹. Istotne, niekorzystne zmiany wywołała miedź tylko w glebie o niższym pH. Jest to logiczne, gdyż w glebach kwaśnych słabiej rozwijają się bakterie nityfikacyjne niż w glebach o odczynie



Rys. 1. Aktywność nityfikacyjna gleby wyrażona w % znitryfikowanego N·d⁻¹
 Fig. 1. Nitrification activity of soil as percentage of nitrified N·d⁻¹

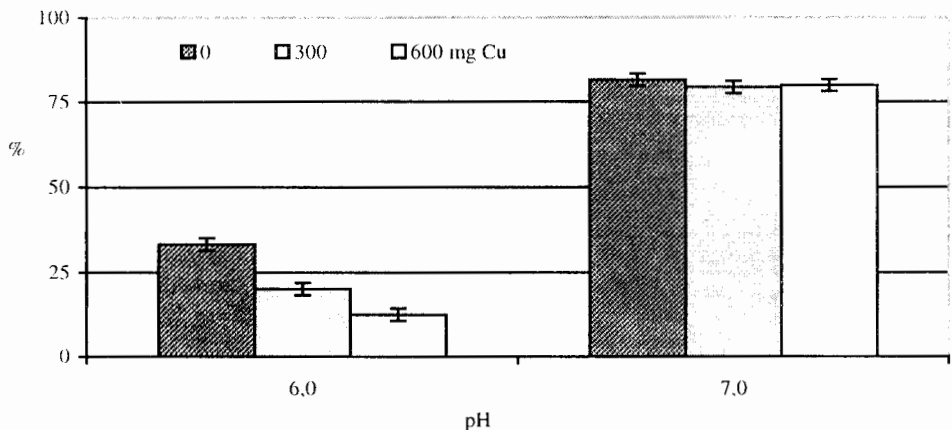


Rys. 2. Zawartość N-NO₃ w glebie w zależności od zanieczyszczenia miedzią, dawki N i pH (mg N-NO₃·kg⁻¹ s.m. gleby)

Fig. 2. The content of N-NO₃ in the soil depending on copper contamination and nitrogen dose and pH (mg N-NO₃·kg⁻¹ DM of soil)

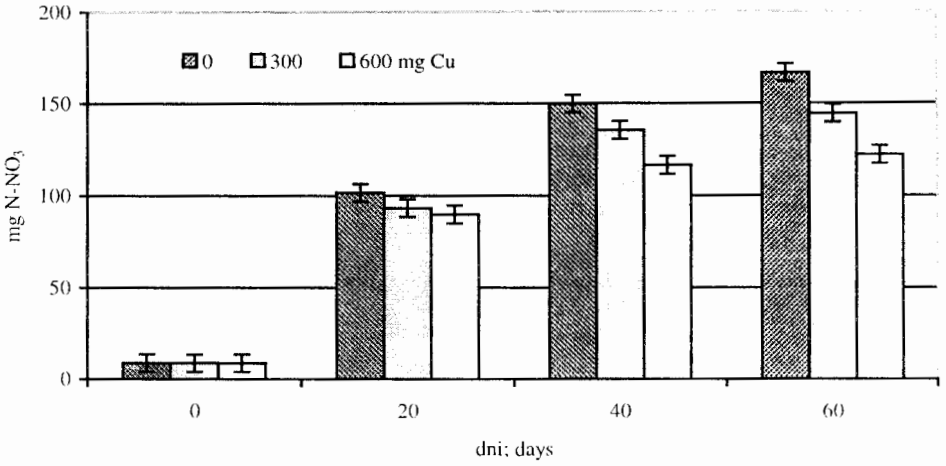
obojętnym [SAUVE i in. 1999; CHRISTENSEN i in. 2001], a dodatkowe niekorzystne zmiany, np. zanieczyszczenie metalami ciężkimi, pogłębiają dyskomfort życia bakterii [WYSZKOWSKA 2002]. To przekłada się na ilość znitryfikowanego azotu (rys. 2), która była znacznie wyższa w glebie o odczynie obojętnym niż lekko kwaśnym.

Istotne zmniejszenia zawartości N-NO₃, pod wpływem działania miedzi, wystąpiło tylko w glebie o pH 6,0. W sumie po 60 dniach w glebie o pH 7,0 uległo nityfikacji od 79% do 82% N-NH₄, natomiast w glebie o pH 6,0 – od 12% do 33% (rys. 3). Ta niższa wartość dotyczy gleby, do której dodano 600 mg Cu·kg⁻¹, a wyższa – gleby kontrolnej niezanieczyszczonej miedzią.



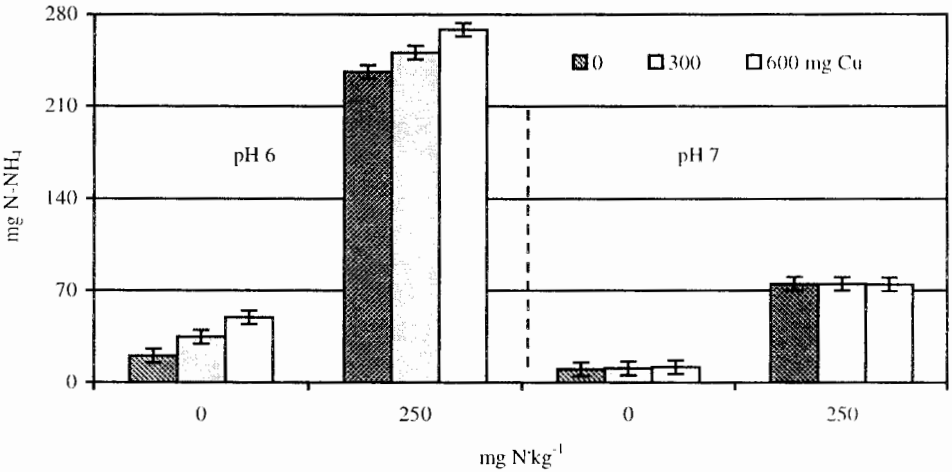
Rys. 3. Ilość znitryfikowanego azotu w 60 dniu doświadczenia (%)

Fig. 3. The amount of nitrificated nitrogen on the 60 day of the experiment (%)



Rys. 4. Zawartość N-NO₃ w glebie w zależności od dawki miedzi, czasu inkubacji i pH (mg N-NO₃·kg⁻¹ s.m. gleby)

Fig. 4. The content of N-NO₃ in the soil depending on the dose of copper and incubation time and pH (mg N-NO₃·kg⁻¹ DM of soil)



Rys. 5. Zawartość N-NH₄ w glebie w zależności od zanieczyszczenia miedzi, dawki N i pH (mg N-NH₄·kg⁻¹ s.m. gleby)

Fig. 5. The content of N-NH₄ in the soil depending on copper contamination and nitrogen dose and pH (mg N-NH₄·kg⁻¹ DM of soil)

Abstrahując od pH, średnie wyniki wskazują, że proces nityfikacji przebiegał przez 60 dni (rys. 4). Największe ilości azotu azotanowego stwierdzono w glebie niezanieczyszczonej analizowanej w 60-tym dniu, a im więcej w glebie znajdowało się miedzi, tym mniej było azotu azotanowego. Odwrotnie kształtowała się zawartość azotu amonowego. Jego ilość była większa w glebach zanieczyszczonych

nych (rys. 5). Należy pamiętać jednak, że na przeciętne wyniki miały wpływ rezultaty uzyskane w glebie lekko kwaśnej, gdyż w glebie o odczynie obojętnym takiej zależności nie stwierdzono.

Otrzymane wyniki badań dowodzą, że proces nityfikacji może być zakłócany przez zanieczyszczenie miedzią w ilości od 300 do 600 mg Cu·kg⁻¹. Przebieg tego procesu może być deformowany głównie wtedy, gdy w glebie panują także inne niesprzyjające nityfikatorom warunki, na przykład zakwaszenie gleby.

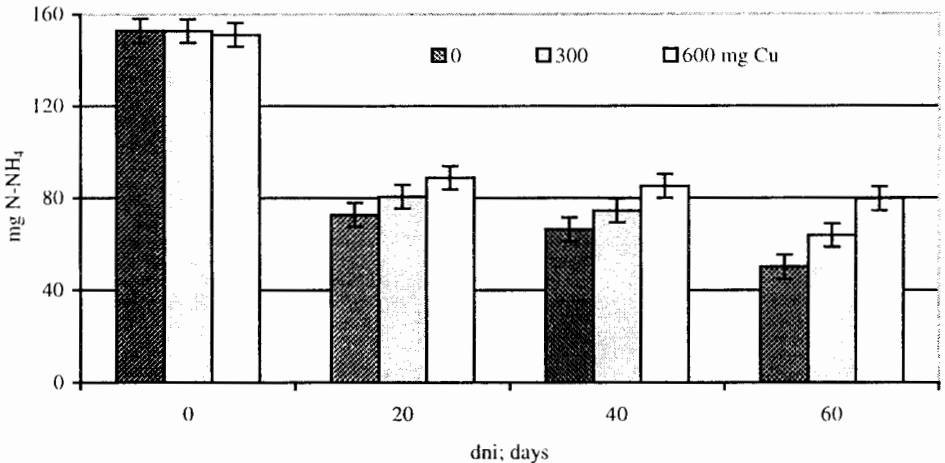


Fig. 6. Zawartość N-NH₄ w glebie w zależności od dawki miedzi i czasu inkubacji (mg N-NH₄·kg⁻¹ s.m. gleby)

Fig. 6. The content of N-NH₄ in the soil depending on the dose of copper and incubation time (mg N-NH₄·kg⁻¹ DM of soil)

Niekorzystny wpływ metali ciężkich na przebieg procesu nityfikacji stwierdzili także inni autorzy [SAUVE i in. 1999; WYSZKOWSKA 2002]. Według SAUVE i in. [1999] proces nityfikacji determinowany jest zarówno przez pH, zawartość substancji organicznej, jak i ilość metali ciężkich w glebie. Mechanizm oddziaływania pH i substancji organicznej na nityfikację w glebach zanieczyszczonych miedzią nie jest prosty do wyjaśnienia, gdyż obydwa parametry wpływają zarówno bezpośrednio na ten proces, jak i pośrednio poprzez zmianę specjacji tych metali [KUNITO i in. 1999].

Wnioski

1. Proces nityfikacji w większym stopniu zależał od pH gleby niż od jej zanieczyszczenia miedzią. Miedź w dawkach 300 i 600 mg·kg⁻¹ bardzo istotnie zakłóciła proces nityfikacji w glebie o pH 6,0 i prawie nie zmieniła go w glebie o pH 7,0. Aktywność nityfikacyjna gleby o pH 6,0 wynosiła 0,88% N·d⁻¹, a o pH 7,0 – 5,53% N·d⁻¹. Najwyższe zanieczyszczenie (600 mg Cu·kg⁻¹) obniżyło jej wartość odpowiednio do 0,36% i 5,36% N·d⁻¹.

2. Pomiar nitryfikacji nie jest zbyt dobrym bioindykatorem zanieczyszczenia gleby miedzią, gdyż przebieg tego procesu warunkowany jest kompleksem czynników środowiskowych, które mogą znosić lub wzmacniać oddziaływanie na nitryfikację.

Literatura

- CHRISTENSEN S., DEGÓRSKA A., PRIEME A. 2001. *Combined assessment of methane oxidation and nitrification: an indicator of air-born soil pollution*. Biol. Fert. Soils. 34: 325–333.
- CIBA J., TROJANOWSKA J., ZOŁOTAJKIN M. 1996. *Mała encyklopedia pierwiastków*. WNT, Warszawa: 197 ss.
- COTTON F.A., WILKINSON G., GAUS P.L. 2002. *Chemia nieorganiczna*. Wydawn. Nauk. PWN, Warszawa: 823 ss.
- GWOREK B., MOCEK A., KONDIŹLSKI I. 2006. *Speciation of copper in industrially polluted soils – a comparison of two sequential extraction methods*. Polish J. Environ. Stud. 15(2a): 295–303.
- KABATA-PENDIAS A., PENDIAS H. 1999. *Biogeochemia pierwiastków śladowych*. Wydawn. Nauk. PWN, Warszawa: 398 ss.
- KANDELER E. 1996. *Nitrification during long-term incubation*, w: *Methodes in soil biology*. Schinner F., Ohlinger R., Kandeler E., Margesin R. (red): 149–151.
- KARCZEWSKA A., BOGDA A. 2006. *Heavy metals in soils of former mining areas in the Sudety Mountains – their forms and solubility*. Polish J. Environ. Stud. 15(2a): 104–110.
- KUCHARSKI J., HŁASKO A., WYSZKOWSKA J., JASTRZĘBSKA E. 2000. *Reakcja drobnoustrojów i bobiku na zanieczyszczenie gleby miedzią*. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. 472: 449–455.
- KUNITO T., SAEKI K., GOTO S., HAYASHI H., OYAIZU H., MATSUMOTO S. 2001. *Copper and zinc fractions affecting microorganisms in long-term sludge-amended soils*. Bioresource Technology 79: 135–146.
- KUNITO T., SAEKI K., OYAIZU H., MATSUMOTO S. 1999. *Influence of copper forms on the toxicity to microorganisms in soils*. Ecotoxicol. Environ. Saf. 44: 174–181.
- NIKOVSKAYA G.N., UL-BERG Z.R., BORISOVA E. N. 2004. *Sorption-desorption of copper and strontium ions by the soil. The influence of microorganisms on the state of metals*. Colloid Journal. 66: 451–455.
- NOWAK J., NIEDŹWIECKI E., DZIEL M. 1999. *Wpływ metali ciężkich na zmiany aktywności enzymatycznej gleby*. Roczn. Glebozn. 40: 61–68.
- SAUVE S., DUMESTRE A., MCBRIDE M., GILLET J.W., BERTHELIN J., HENDERSHOT W. 1999. *Nitrification potential in field-collected soils contaminated with Pb or Cu*. Appl. Soil Ecol. 12: 29–39.
- WYSZKOWSKA J. 2002. *Biologiczne właściwości gleby zanieczyszczonej chromem sześciowartościowym*. Rozprawy i Monografie. Wydawn. UWM, Olsztyn: 134 ss.
- WYSZKOWSKA J., KUCHARSKI J. 2003. *Liczebność drobnoustrojów w glebie zanieczyszczonej metalami ciężkimi*. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. 492: 427–433.
- WYSZKOWSKA J., KUCHARSKI J., LAJSZNER W. 2005. *Enzymatic activities in different soils contaminated with copper*. Polish J. Environ. Stud. 14: 659–664.

Słowa kluczowe: nityfikacja, miedź, gleba, zanieczyszczenie miedzią

Streszczenie

W doświadczeniu laboratoryjnym badano przebieg procesu nityfikacji w glebie zanieczyszczonej miedzią. Testowano następujące zmienne:

- 1) pH gleby: 7,0 i 6,0;
- 2) dawkę Cu w $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ gleby: 0, 300 i 600;
- 3) dawkę N w $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ gleby: 0 i 250;
- 4) czas inkubacji gleby w dniach: 0, 20, 40 i 60.

W wyniku badań stwierdzono, że proces nityfikacji był bardziej hamowany przez obniżone pH gleby niż zanieczyszczenie miedzią. Efektywność nityfikacyjna w glebie o pH 6,0, niezanieczyszczonej miedzią, wynosiła $0,88\% \text{ N}\cdot\text{d}^{-1}$, a w glebie o pH 7,0 – $5,53\% \text{ N}\cdot\text{d}^{-1}$. Efektywność tego procesu w glebie o pH 6,0, zawierającej $600 \text{ mg Cu}\cdot\text{kg}^{-1}$, wynosiła $0,36\% \text{ N}\cdot\text{d}^{-1}$, a w glebie o pH 7,0 – $5,36\% \text{ N}\cdot\text{d}^{-1}$.

NITRIFICATION IN SOIL CONTAMINATED WITH COPPER

Jadwiga Wyszowska, Jan Kucharski, Mirosław Kucharski

Department of Microbiology, University of Warmia and Mazury, Olsztyn

Key words: nitrification, copper, soil, copper contamination

Summary

In the laboratory experiment nitrification process in the oil contaminated with copper was investigated. The following variable factors were examined:

- 1) soil pH: 7.0 and 6.0;
- 2) Cu dose in $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ of soil: 0, 300 and 600;
- 3) N dose in $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$: 0 and 250;
- 4) time of soil incubation in days: 0, 20, 40 and 60.

It was found that the nitrification process was more inhibited by a lower soil pH than copper pollution. Nitrification effectives in the soil without copper contamination at pH 6.0 was $0.88\% \text{ N}\cdot\text{d}^{-1}$ and in the soil at pH 7.0 – $5.53\% \text{ N}\cdot\text{d}^{-1}$. The efficiency of that process in the soil with $600 \text{ mg Cu}\cdot\text{kg}^{-1}$ at pH 6.0 was $0.36\% \text{ N}\cdot\text{d}^{-1}$ and at pH 7.0 – $5.36\% \text{ N}\cdot\text{d}^{-1}$.

Prof. dr hab. Jadwiga **Wyszowska**
Katedra Mikrobiologii
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski
Pl. Łódzki 3
10-727 OLSZTYN
e-mail: jadwiga.wyszowska@uwm.edu.pl