

Różnorodność i aktywność metaboliczna mikroorganizmów w ryzosferze rzepaku rosnącego w glebie skażonej uranem

Małgorzata Majewska¹, Kamila Sitarz¹, Artur Nowak¹, Agnieszka Gładysz-Płaska²

¹ Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Środowiskowej, Instytut Nauk Biologicznych UMCS, ² Katedra Chemii Nieorganicznej, Instytut Nauk Chemicznych UMCS
malgorzata.majewska@mail.umcs.pl

WPROWADZENIE

Uran występuje w środowisku w postaci trzech izotopów spośród których najpowszechniejszy jest ²³⁸U. Stanowi on 99,28% uranu ogólnego i charakteryzuje się niską promieniotwórczością. Skażenie gleby uranem prowadzi do modyfikacji struktury zespołu mikroorganizmów glebowych oraz wpływa na ich żywotność i aktywność metaboliczną. Mikroorganizmy glebowe w różnym stopniu tolerują ten metal. Te, które cechują się wysoką wrażliwością na zanieczyszczenie zastępowane są przez inne mikroorganizmy, zdolne przetrwać w skażonym środowisku. Mikroorganizmy glebowe, jako bardzo ważny element gleby są zdolne immobilizować uran, a dzięki temu zmniejszać jego stężenie w roztworze glebowym oraz pobieranie przez rośliny.

Celem pracy było określenie wpływu uranu na liczebność, aktywność i różnorodność mikroorganizmów glebowych (mikroorganizmów ryzosferowych i zasiedlających glebę wolną od korzeni)

MATERIAŁY I METODY

Rzepak (*Brassica napus* L.) był uprawiany 72 dni w glebie niezanieczyszczonej (Tab. 1) i zanieczyszczonej octanem uranu (0,04% U). W tych samych warunkach inkubowano gleby bez roślin (skażone i czyste) jako kontrole wolne od korzeni. Określono ogólną liczebność bakterii i grzybów (metoda płytkowa), różnorodność (H'), aktywność (AWCD), liczbę (CMD) i rodzaj substratów metabolizowanych przez mikroorganizmy zasiedlające ryzosferę rzepaku i gleby kontrolne (analiza Ecoplate®Biolog).

Tabela 1. Charakterystyka gleby (głina pylasta)

*N og [%]	0,10 ± 0,01	
C org [%]	1,30 ± 0,05	
pH H ₂ O	6,57 ± 0,04	
*Kationy wymienne [mg kg ⁻¹]	Na ⁺	102
	K ⁺	204
	Mg ²⁺	188
	Ca ²⁺	3500
*Fracje granulometryczne [%]	Piach (2,00-0,05 mm)	25,93
	Pył (0,05-0,002 mm)	67,95
	Ił koloidalny (<0,002 mm)	6,12

* Analizy wykonane w Okręgowej Stacji Chemiczno-Rolniczej w Lublinie

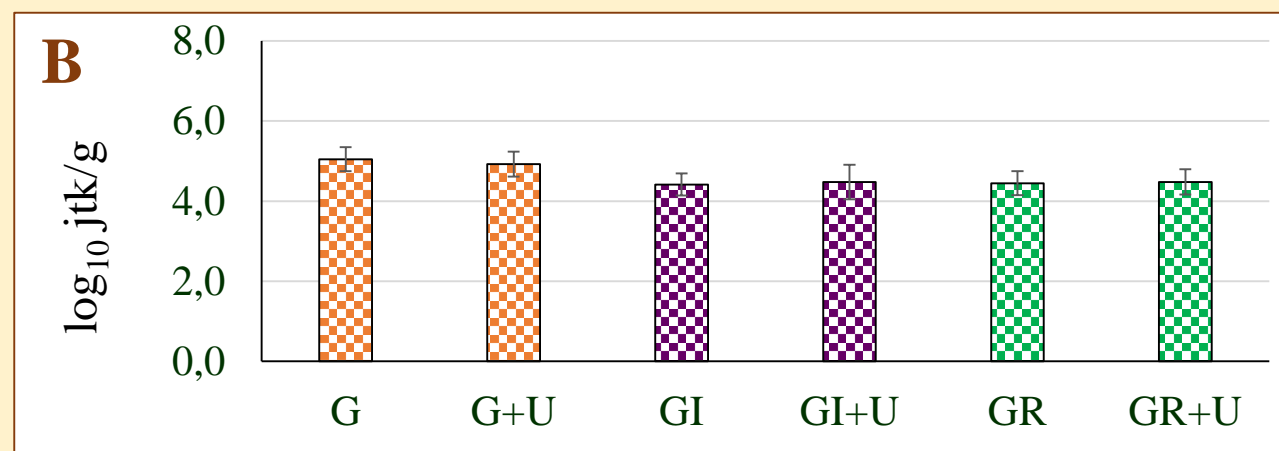
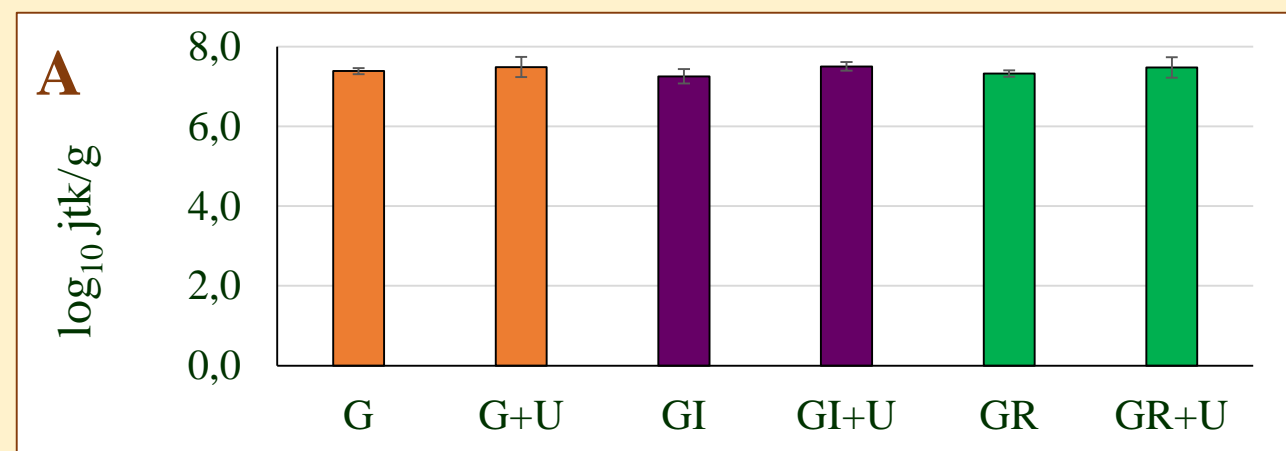
$$AWCD = \frac{\sum(OD_{próby} - OD_{kontroli})}{31}$$

$$H' = - \sum p_i \cdot \ln p_i$$

$$CMD = \text{liczba dołków z } OD > 0,05$$

$$p_i = \frac{OD_{próby} - OD_{kontroli}}{\sum OD}$$

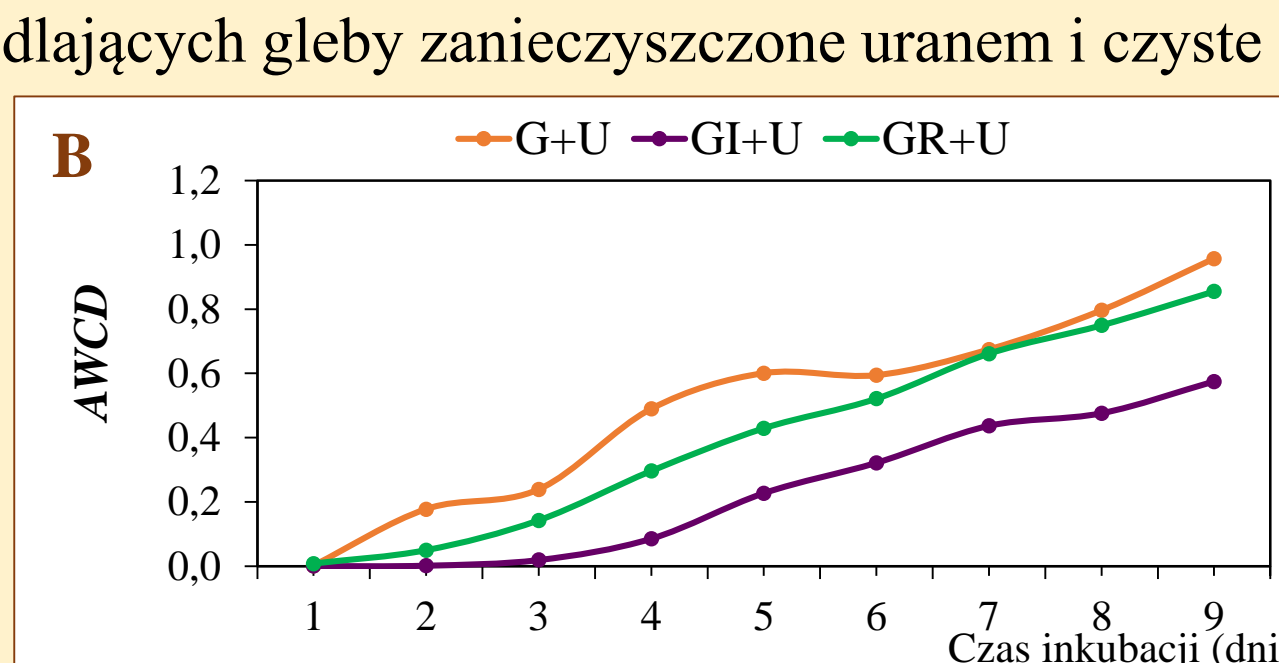
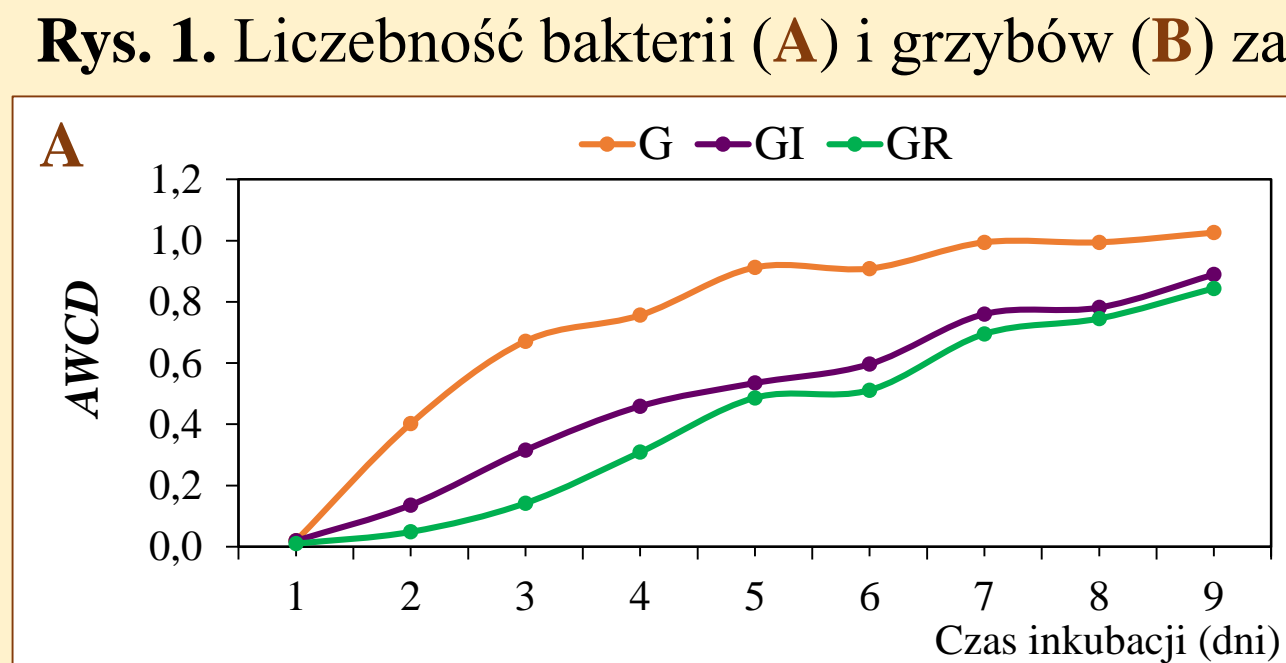
WYNIKI



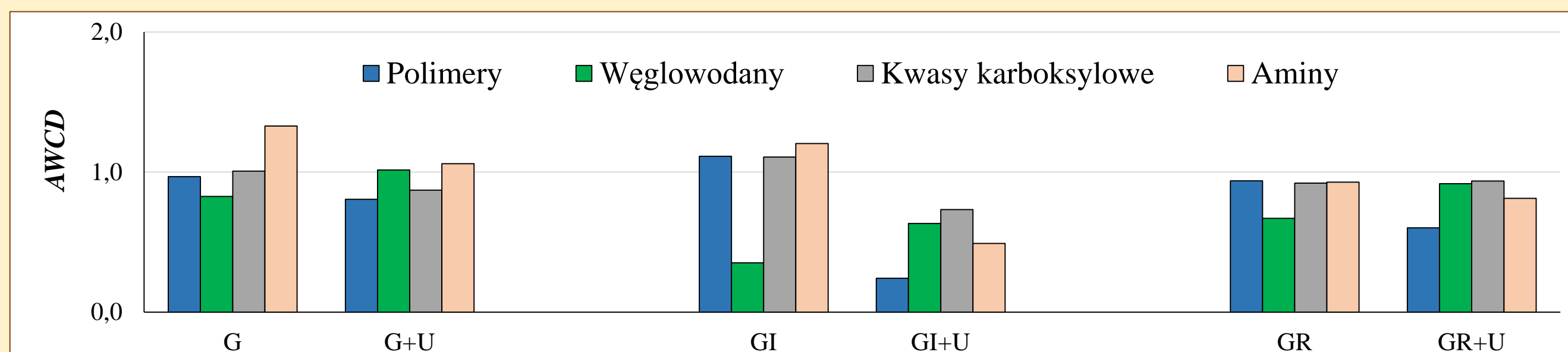
G → gleba niezanieczyszczona U przed rozpoczęciem inkubacji
G+U → gleba zanieczyszczona U (0,04%) przed rozpoczęciem inkubacji

GI → gleba niezanieczyszczona U po inkubacji
GI+U → gleba zanieczyszczona U (0,04%) po inkubacji

GR → gleba niezanieczyszczona U po uprawie rzepaku
GR+U → gleba zanieczyszczona U (0,04%) po uprawie rzepaku



Rys. 2. Średnia aktywność (AWCD) zespołu mikroorganizmów w glebie niezanieczyszczonej (A) i zanieczyszczonej uranem (B) w trakcie 9 dniowej inkubacji płytek Ecoplate®Biolog (28°C)

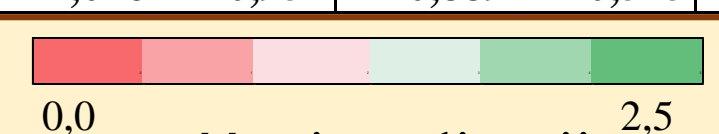


Rys. 3. Degradacja polimerów, węglowodanów, kwasów karboksylowych i aminokwasów przez mikroorganizmy zasiedlające gleby czyste i zanieczyszczone uranem

Tab. 1. Różnorodność (H') i liczba metabolizowanych substratów (CMD) przez zespół mikroorganizmów w glebie niezanieczyszczonej i zanieczyszczonej uranem po 9 dniach inkubacji Ecoplate®Biolog (28°C)

Współczynnik	G	G+U	GI	GI+U	GR	GR+U
CMD	23 ± 1	24 ± 1	23 ± 1	18 ± 2	24 ± 1	24 ± 2
H'	2,96 ± 0,06	3,04 ± 0,07	2,83 ± 0,05	2,58 ± 0,16	2,87 ± 0,02	2,95 ± 0,07

Substraty Ecoplate®Biolog	G	G+U	GI	GI+U	GR	GR+U
Tween 40	1,794	1,995	1,900	0,356	1,657	1,412
Tween 80	1,969	1,225	2,259	0,558	1,522	0,927
a-cyklodekstran	0,000	0,000	0,000	0,030	0,369	0,037
glikogen	0,107	0,000	0,290	0,022	0,202	0,030
D-cellobioza	1,410	1,097	0,416	1,141	1,637	1,316
a-D-laktoza	0,000	1,143	0,000	1,230	0,249	0,919
b-metyl-D-glukozyd	0,478	0,859	0,905	0,515	0,867	1,080
D-ksyloza	0,126	0,662	0,312	0,384	0,188	0,465
i-erytrytol	0,000	0,574	0,191	0,777	0,363	0,535
D-mannitol	2,396	2,010	1,484	0,987	1,251	2,045
N-acetylo-D-glukozamine	2,201	1,395	0,193	0,711	0,940	1,257
kwas D-glukozaminowy	1,278	1,980	0,000	0,033	0,998	0,636
glukoza-1-fosforan	0,321	0,331	0,000	0,519	0,000	0,925
fosforan D,L-glicerolu	0,044	0,094	0,022	0,035	0,201	0,000
ester kwasu pirogronowego	1,392	2,057	1,669	1,616	1,464	1,192
kwas D-galaktonowy g-laktonu	0,912	0,504	1,040	0,141	0,360	0,847
kwas D-galakturnowy	1,180	1,800	0,891	1,122	0,279	0,606
kwas 2-hydroksy benzoesowy	0,000	0,000	0,040	0,000	0,000	0,000
kwas 4-hydroksy benzoesowy	1,614	0,797	1,358	0,099	0,804	1,566
kwas g-hydroksymasłowy	2,384	0,086	1,829	1,236	1,727	1,460
kwas itakonowy	0,500	0,474	0,553	0,039	0,937	1,357
kwas a-ketomasłowy	0,168	0,720	0,512	0,069	1,079	0,208
kwas D-jabłkowy	0,913	1,394	2,074	2,273	1,638	1,186
L-arginina	2,477	1,729	0,921	0,516	0,056	0,500
L-asparagina	1,982	1,553	2,306	1,035	1,586	2,211
L-fenylalanina	0,903	0,449	0,754	1,749	0,697	0,231
L-seryna	1,355	1,576	0,890	0,031	2,090	0,531
L-treonina	0,939	1,079	0,620	0,048	0,909	0,298
kwas glicylo-L-glutaminowy	1,142	0,927	1,264	0,500	1,289	1,546
fenyloetylamina	1,193	0,747	2,212	0,000	0,329	1,160
putrescyna	0,643	0,419	0,669	0,048	0,470	0,025
Średnia aktywność	1,026	0,957	0,889	0,575	0,844	0,855



Rys. 4. Intensywność mineralizacji poszczególnych substratów stosowanych w testach Ecoplate®Biolog

PODSUMOWANIE

Liczebność bakterii w glebie czystej i zanieczyszczonej U wynosiła $2,5 \times 10^7$ jtk/g, a grzybów $2,7 \times 10^4$ jtk/g niezależnie od obecności roślin (Rys. 1). Uran istotnie obniżył liczbę metabolizowanych substratów (18), aktywność (0,57) i różnorodność (2,58) mikroorganizmów w glebie wolnej od korzeni, natomiast nie miał wpływu na mikroorganizmy ryzosferowe (Rys. 2, 4, Tab. 1). Mikroorganizmy ryzosferowe (niezależnie od skażenia) i zasiedlające niezanieczyszczone glebę wolną korzeni metabolizowały podobną liczbę substratów (23-24) oraz cechowały się zbliżoną aktywnością (0,84-0,88) i różnorodnością (2,87-2,95). Mikroorganizmy zasiedlające glebę czystą (wolną od korzeni oraz ryzosferową) z podobną intensywnością metabolizowały kwasy karboksylowe, aminokwasy i Tween, a znacznie słabiej cukry. Mikroorganizmy gleb skażonych, niezależnie od obecności roślin, intensywniej metabolizowały cukry niż mikroorganizmy gleb czystych (Rys. 3).

BIBLIOGRAFIA

- Chen et al. *J. Hazard. Mater.* 413 (2021) 125319.
- Akash et al. *Environ. Pollut.* 302 (2022) 119068.
- Lv et al. *Sci. Total Environ.* 827 (2022) 154216
- Tang et al. *Minerals* 11 (2021) 967.
- Alef and Nannipieri, *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*, Academic Press, London, 1995.