

AKTYWNOŚĆ RESPIRACYJNA I DEHYDROGENAZOWA
ORAZ LICZEBNOŚĆ MIKROORGANIZMÓW PROTEOLITYCZNYCH
W GLEBIE ZANIECZYSZCZONEJ SIARKĄ I WZBOGACONEJ OSADEM
ŚCIEKÓW KOMUNALNYCH

Stefania Jezierska-Tys

Katedra Mikrobiologii Rolniczej, Akademia Rolnicza, ul. Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin

Streszczenie. Badania przeprowadzono w doświadczeniu modelowym na glebie płowej wytworzonej z piasku gliniastego mocnego. Celem pracy było zbadanie wpływu dawki $500 \text{ kg SO}_2 \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{r}^{-1}$ na liczebność bakterii i grzybów proteolitycznych, aktywność respiracyjną i dehydrogenazową w glebie płowej wzbogaconej osadem ścieków komunalnych ($20 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{r}^{-1}$). Przeprowadzone badania wykazały, że zastosowane zasilanie z równoczesnym wzbogaceniem gleby osadem ściekowym oraz samym osadem wpływało stymulująco na liczebność bakterii proteolitycznych. Na liczebność grzybów proteolitycznych istotny hamujący wpływ miała tylko dawka kwaśnego opadu. Aktywność respiracyjna gleby płowej nie wykazywała różnic między badanymi obiektami doświadczalnymi. Aktywność dehydrogenazowa badanych kombinacji glebowych istotnie różniła się od gleby kontrolnej.

Słowa kluczowe: kwaśny opad, osad ściekowy, bakterie proteolityczne, grzyby proteolityczne, aktywność respiracyjna, dehydrogenaza

WSTĘP

Największe zainteresowanie wśród specjalistów zajmujących się ochroną środowiska naturalnego wzbudza dynamika antropogenicznych przyczyn oraz skutków zakwaszenia gleb w Polsce [5,16]. Jednym z głównych czynników antropogenicznych wpływających na zakwaszenie środowiska glebowego jest emisja związków siarki. Pomimo znacznej redukcji dwutlenku siarki w ostatnich latach, ten czynnik pozostaje nadal największym źródłem jonów wodorowych w glebie [3,4,7].

Zakwaszenie gleb powoduje szereg zmian w ich właściwościach chemicznych i fizykochemicznych, a te mają zasadniczy wpływ na żyjące w nich grupy mikroorganizmów oraz na ich aktywność biochemiczną [8,11,12].

Przeprowadzone badania przez wielu autorów wskazują na pozytywne oddziaływanie osadów ściekowych na środowisko glebowe ze względu na zawartość cennych składników pokarmowych dla roślin oraz znaczne ilości substancji

organicznej poprawiającej właściwości fizykochemiczne gleby [2,9]. Użyźnianie gleby osadem ściekowym wpływa również na liczebność mikroorganizmów i aktywność enzymatyczną gleb [1,6,13]. Wydawało się zatem celowe zbadanie wpływu zanieczyszczenia siarką w ilości $166,7 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ gleby, co odpowiada naturalnej imisji $500 \text{ kg SO}_2\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{r}^{-1}$, na liczebność mikroorganizmów proteolitycznych, aktywność dehydrogenazową oraz intensywność wydzielania CO_2 w glebie płowej wzbogaconej osadem ścieków komunalnych.

MATERIAŁ I METODY

Badania zostały przeprowadzone w doświadczeniu modelowym na glebie płowej wytworzonej z piasku gliniastego mocnego. Podstawowe właściwości tej gleby:

- skład granulometryczny – 1,0-0,1mm 65% , – 0,1-0,02 mm 19%, <0,02 mm 16%;
- pH_{KCl} 4,75 ;
- C organiczny $9,3 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$;
- N ogólny $0,36 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$;
- Glin ruchomy, $1,92 \text{ mmol (Al}^{3+})\cdot\text{kg}^{-1}$;
- S ogólna $0,14 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$.

Próbki glebowe pobrane z głębokości 0-20 cm, doprowadzone do stanu powietrznie suchego dokładnie mieszano i przesiewano przez sito o średnicy oczek 2 mm. Glebę stopniowo nawilżano wnosząc dawkę „kwaśnego opadu”, w ilości $500 \text{ kg SO}_2\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{r}^{-1}$ z taką objętością wody (rozcieńczony kwas siarkowy), aby wilgotność jej po zakończeniu deszczowania kształtowała się na poziomie 60% całkowitej pojemności wodnej. Materiał glebowy inkubowano w naczyniach szklanych o pojemności 1000 cm^3 , w temperaturze $20\pm 2^\circ\text{C}$, utrzymując stałą jego wilgotność. Każdą serię doświadczalną założono w trzech powtórzeniach.

Schemat doświadczenia był następujący:

1. gleba kontrolna (G1)
2. gleba + $500 \text{ kg SO}_2\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{r}^{-1}$ (G2)
3. gleba + osad ścieków komunalnych ($20 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{r}^{-1}$) (G3)
4. gleba + osad ścieków komunalnych ($20 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{r}^{-1}$) + $500 \text{ kg SO}_2\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{r}^{-1}$ (G4)

Zastosowany osad ścieków komunalnych zawierał: $424 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ substancji organicznej; $3,4 \text{ g P}\cdot\text{kg}^{-1}$; $1,4 \text{ g K}\cdot\text{kg}^{-1}$ oraz $21,4 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ azotu ogółem; $21,2 \text{ mg B}\cdot\text{kg}^{-1}$; $279,6 \text{ mg Mn}\cdot\text{kg}^{-1}$; $245,0 \text{ mg Cu}\cdot\text{kg}^{-1}$; $1770 \text{ mg Zn}\cdot\text{kg}^{-1}$.

Okresowe analizy obejmowały oznaczenia:

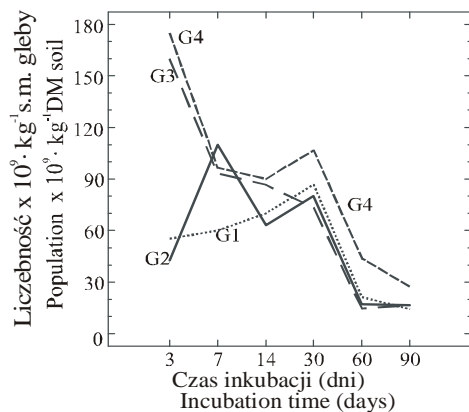
- liczebność bakterii proteolitycznych [14],
- liczebność grzybów proteolitycznych na pożywce z dodatkiem żelatyny [10],
- aktywność dehydrogenaz metodą Thalmanna [17],
- wydzielanie CO_2 metodą Rühlinga i Tylera [15],
- pH_{KCl} potencjometrycznie.

Oznaczenia liczebności bakterii i grzybów oraz wydzielania CO₂ przeprowadzono po 3, 7, 14, 30, 60 i 90 dniach inkubacji gleby. Ze względów metodycznych aktywność dehydrogenaz oznaczono po 3, 15, 30, 60 i 90 dniach inkubacji.

Otrzymane wyniki badań opracowano statystycznie stosując metodę analizy wariancji z zastosowaniem przedziałów ufności Tukey'a. Zależności między badanymi cechami oceniano metodą interakcji.

WYNIKI I DYSKUSJA

Okresową liczebność bakterii proteolitycznych w badanych obiektach glebowych przedstawia rysunek 1. Wzbogacenie gleby płowej osadem ściekowym spowodowało wzrost badanych bakterii w początkowym okresie trwania doświadczenia. Gleba zaszczepiona i wzbogacona osadem charakteryzowała się największą liczebnością

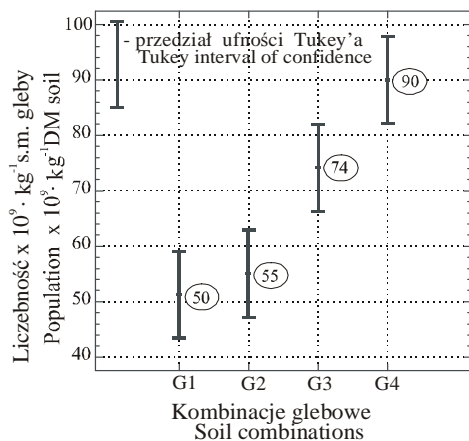


Rys. 1. Liczebność bakterii proteolitycznych w poszczególnych obiektach glebowych

G1 – gleba kontrolna,
G2 – gleba + 500 kg SO₂ · ha⁻¹ · r⁻¹
G3 – gleba + osad ścieków komunalnych 20 t · ha⁻¹ · r⁻¹
G4 – gleba + osad ścieków komunalnych 20 t · ha⁻¹ · r⁻¹ + 500 kg SO₂ · ha⁻¹ · r⁻¹

Fig. 1. Population of proteolytical bacteria in soil objects

G1 – soil (control),
G2 – soil + 500 kg SO₂ ha⁻¹ year⁻¹,
G3 – soil + sewage sludge 20 t ha⁻¹ year⁻¹,
G4 – soil + sewage sludge 20 t ha⁻¹ year⁻¹ + 500 kg SO₂ ha⁻¹ year⁻¹

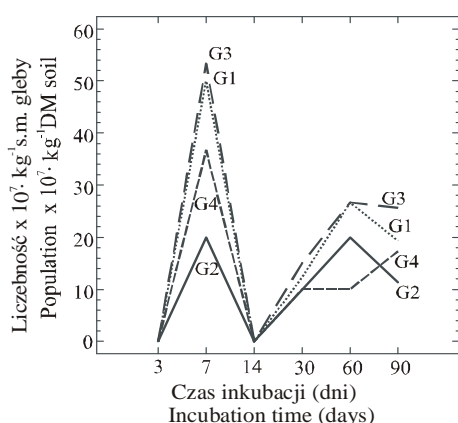


Rys. 2. Średnie liczebności bakterii proteolitycznych w poszczególnych obiektach glebowych (oznaczenia jak na rys.1)

Fig. 2. Mean number of proteolytical bacteria in lessive soil objects (symbols as on fig. 1)

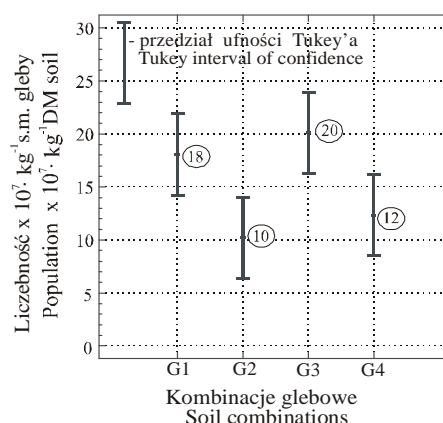
bakterii proteolitycznych przez cały okres inkubacji. Średnia liczebność badanych bakterii w obu wyżej wymienionych obiektach tj. G3 i G4, była najwyższa i istotnie różniła się od tej liczebności w glebie kontrolnej i zasianej co ilustruje rysunek 2.

Liczebność grzybów proteolitycznych badanych kombinacji glebowych podczas inkubacji ilustruje rysunek 3. Najniższą liczebnością grzybów w poszczególnych okresach analiz (z wyjątkiem 60 dnia) stwierdzono w glebie z zastosowaną dawką kwaśnego opadu (G2). Zasiarczenie gleby wpłynęło istotnie na zmniejszenie badanej liczebności w porównaniu z glebą kontrolną (rys. 4). Jak wiadomo grzyby preferują odczyn kwaśny środowiska. Pomimo obniżenia odczynu w tym obiekcie liczebność grzybów była jednak istotnie niższa niż w glebie kontrolnej co zwraca uwagę ponieważ w tym obiekcie obserwowano spadek odczynu, a więc nie tylko odczyn miał decydujący wpływ na liczebność grzybów proteolitycznych. W przeciwieństwie do reakcji bakterii wzbogacenie gleby powyżej zastosowaną dawką osadu ściekowego nie miało istotnego wpływu na liczebność grzybów proteolitycznych (rys. 2 i 4), pomimo, że w tym obiekcie wystąpił największy spadek odczynu.



Rys. 3. Liczebność grzybów proteolitycznych w poszczególnych obiektach glebowych (oznaczenia jak na rys.1)

Fig. 3. Population of proteolytical fungi soil objects (symbols as on fig. 1)

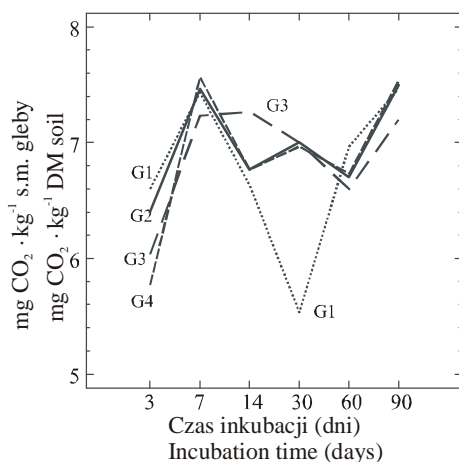


Rys. 4. Średnie liczebności grzybów proteolitycznych w poszczególnych obiektach glebowych (oznaczenia jak na rys.1)

Fig. 4. Mean population of proteolytical fungi in lessive soil objects (symbols as on fig. 1)

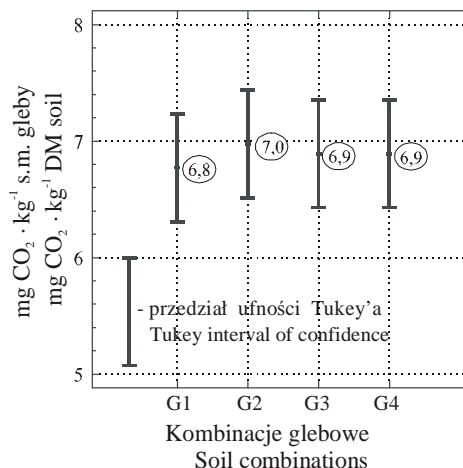
Aktywność oddechową badanych obiektów glebowych mierzona ilością wydzielonego CO₂ ilustrują rysunki 5 i 6. Uwagę zwraca znaczny spadek badanej aktywności w glebie kontrolnej (G1) w 30 dniu inkubacji. Prawdopodobnie było to spowodowane wyczerpaniem się łatwo przyswajalnych substratów energetycznych. Jednakże to krótkotrwałe obniżenie aktywności respiracyjnej nie miało istotnego

wpływu i okresowe wahania aktywności oddechowej były podobne i na zbliżonym poziomie we wszystkich obiektach glebowych. A w związku z tym przeprowadzona analiza wariancji z zastosowaniem przedziałów ufności Tukey'a nie wykazała istotnych różnic w badanej aktywności między obiektami glebowymi (rys. 6).



Rys. 5. Aktywność oddechowa w czasie inkubacji w poszczególnych obiektach glebowych (oznaczenia jak na rys.1)

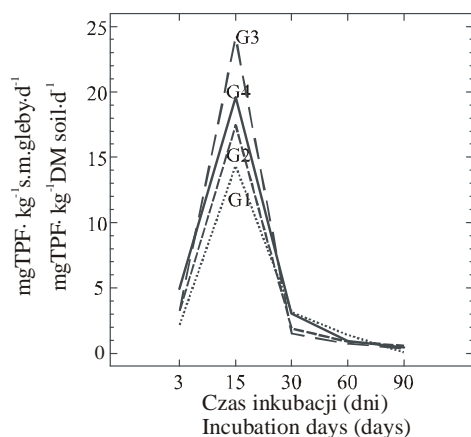
Fig. 5. Respiration activity during incubation of lessive soil objects (symbols as on fig. 1)



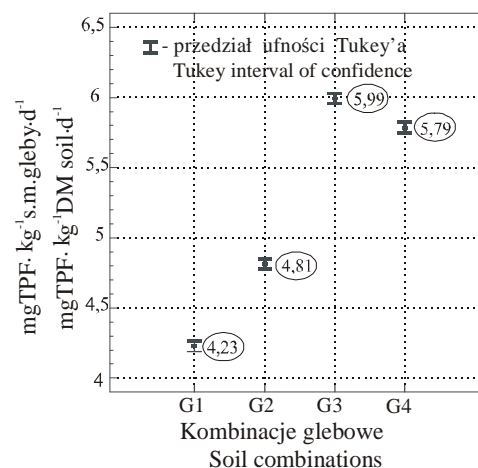
Rys. 6. Średnie aktywności oddechowe badanych obiektach glebowych (oznaczenia jak na rys.1)

Fig. 6. Mean respiration activity in lessive soil objects (symbols as on fig. 1)

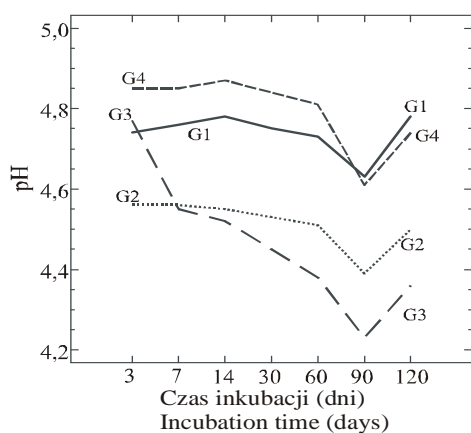
Wpływ zastosowanej dawki kwaśnego opadu oraz osadu ściekowego na aktywność dehydrogenazową ilustrują rysunki 7 i 8. Wzrost badanej aktywności zaobserwowano we wszystkich obiektach glebowych w początkowym okresie inkubacji tj. do 15 dnia. Podczas dalszej inkubacji nastąpił gwałtowny spadek aktywności dehydrogenazowej w badanych obiektach glebowych. Można przypuszczać, że dostępne substraty oddechowe zostały wykorzystane w procesach oddychania mikroorganizmów. Wzbogacenie gleby osadem ściekowym spowodowało, że średnia aktywność dehydrogenazowa w tym obiekcie była najwyższa (rys. 8) i istotnie różniła się od wartości uzyskanej w glebie kontrolnej i zasiarczonej. Dodatni wpływ osadu ściekowego na badaną aktywność obserwowali również inni autorzy [1,6,13]. Nieco niższą średnią aktywnością dehydrogenaz, w porównaniu z obiektem (G3), stwierdzono w glebie wzbogaconej osadem z równoczesnym zasiarczeniem.



Rys. 7. Aktywność dehydrogenaz w poszczególnych obiektach glebowych (oznaczenia jak na rys.1)
Fig. 7. Dehydrogenase activity soil objects (symbols as on fig. 1)



Rys. 8. Średnie aktywności dehydrogenaz badanych obiektów glebowych (oznaczenia jak na rys.1)
Fig. 8. Mean dehydrogenase activity in lessive soil objects (symbols as on fig. 1)



Rys. 9. pH gleby w poszczególnych obiektach doświadczenia (oznaczenia jak na rys. 1)
Fig. 9. Reaction of soil (pH) of particular soil objects (symbols as on fig.1)

wartości pH w badanych obiektach były obserwowane do 90 dnia trwania doświadczenia. Dodatkowy pomiar odczynu gleby po 120 dniach inkubacji wykazał tendencje wzrostowe we wszystkich seriach doświadczalnych.

Wpływ zastosowanego zanieczyszczenia siarką oraz osadu ściekowego na zmianę odczynu gleby płowej w badanych obiektach przedstawia rysunek 9. Zastosowane zanieczyszczenie (G2) spowodowało wyraźny spadek pH gleby poniżej wartości zanotowanych w obiekcie kontrolnym (G1). Również osad ścieków komunalnych (G3) spowodował spadek wartości pH gleby (od 7 dnia inkubacji) nawet poniżej wartości otrzymanych w obiekcie G2. Uwagę zwraca odczyn gleby zanieczyszczonej siarką i wzbogaconej osadem ściekowym (G4), w którym od 3 do 90 dnia inkubacji zanotowano wartości pH wyższe niż w kontroli. Tendencje w spadku wartości pH w badanych obiektach były obserwowane do 90 dnia trwania doświadczenia. Dodatkowy pomiar odczynu gleby po 120 dniach inkubacji wykazał tendencje wzrostowe we wszystkich seriach doświadczalnych.

WNIOSKI

1. Na liczebność bakterii proteolitycznych istotny stymulujący wpływ miała zastosowana dawka osadu ściekowego ($20 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{r}^{-1}$).
2. Zastosowane zanieczyszczenie siarką wpłynęło ograniczająco na liczebność grzybów w glebie płowej.
3. Aktywność oddechowa gleby mierzona ilością wydzielonego CO_2 nie wykazywała różnic między badanymi obiektami doświadczalnymi.
4. Aktywność dehydrogenazowa gleby okazała się czułym wskaźnikiem reagującym na zastosowane zasilanie i „nawożenie” organiczne w postaci osadu ścieków komunalnych.
5. Zastosowana dawka siarki oraz osadu ściekowego wpłynęła na obniżenie odczynu badanej gleby. Jednoczesne wprowadzenie siarki do gleby w ilości 500 kg SO_2 i osadu spowodowało wzrost odczynu.

PIŚMIENNICTWO

1. **Baran S., Furczak J., Gostkowska K.:** Aktywność enzymatyczna gleby lekkiej użyźnionej odpadami organicznymi. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln., 437, 69-77, 1996.
2. **Baran S., Turski R.:** Wybrane zagadnienia z utylizacji i unieszkodliwiania odpadów. Wyd. AR Lublin, 1995.
3. **Dechnik I., Gliński J., Kaczor A., Kern H.:** Rozpoznanie wpływu kwaśnych deszczy na glebę i roślinę. Probl. Agrofizyki, 60, 1990.
4. **Filipek T.:** Natural and anthropogenic causes and effects of soil acidification. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln., 413, 1-7, 1994.
5. **Filipek T.:** Dynamika antropogenicznych przyczyn oraz skutków zakwaszenia gleb w Polsce. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln., 456, 7-12, 1998.
6. **Gostkowska K., Woytowicz B., Szember A., Furczak J., Jezierska-Tys S., Jaśkiewicz W.:** Wpływ różnych środków użyźniających na aktywność mikrobiologiczną gleby piaszczystej. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln., 370, 75-84, 1989.
7. GUS: Stan i ochrona środowiska 1999. Warszawa, 1999.
8. **Kobus J.:** Biologiczne procesy a kształtowanie żyzności gleby. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln., 421a, 209-219, 1995.
9. **Mackowiak C.:** Nawozowa użyteczność osadów ściekowych w świetle badań IUNG. Materiały Terenowej Konferencji Naukowo-Technicznej „Przyrodnicze użytkowanie osadów ściekowych” Puławy – Lublin – Jeziórko, 35-39, 1996.
10. **Martin J.P.:** Use of acid rose bengal and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. Soil. Sci., 69, 1950.
11. **Myśków W., Stachyra A., Zięba S., Masiak D.:** Aktywność biologiczna gleby jako wskaźnik jej żyzności i urodzajności. Roczn. Glebozn., XLVII, 1/2, 89-99, 1996.
12. **Myśków W.:** Próby wykorzystania wskaźników aktywności mikrobiologicznej do oceny żyzności gleby. Post. Mikrobiol., 20, 3/4, 173-192, 1981.
13. **Wielgosz E., Gostkowska K., Świca M.:** Wpływ niektórych odpadów organicznych na nityfikację w glebie brunatnej użytkowanej sadowniczo. Annales UMCS, vol. LII, 33, sec. E, 299-310, 1997.

14. **Rodina A.:** Mikrobiologiczne metody badania wód. PWRiL, Warszawa, 1968.
15. **Rühling A., Tyler G.:** Heavy metal pollutions and decomposition of needle litter. *Oikos* 24, 402-415, 1973.
16. **Siuta J.:** Stan i prognoza użytkowania oraz ochrona gruntów w Polsce. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, 418, 13-23, 1995.
17. **Thalmann A.:** Zur Methodik der Bestimmung der dehydrogenaseaktivität im boden mittels triphenyltetrazoliumchlorid (TTC). *Landwirtsch. Forsch.*, 21, 249-258, 1968.

RESPIRATION ACTIVITY AND DEHYDROGENASE ACTIVITY
AND NUMBER OF PROTEOLYTICAL MICROORGANISMS
OF SOIL CONTAMINATIONS BY SULPHUR AND
AMENDED WITH SEWAGE SLUDGE

Stefania Jezierska-Tys

Department of Agricultural Microbiology, University of Agriculture, ul. Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin

Abstract: Studies were carried out in a model experiment on lessive soil developed from heavy loamy sand. The aim of studies was to investigate the effect of 500 kg SO₂ ha⁻¹ year⁻¹ on number of proteolytical bacteria and fungi as well as respiratory and dehydrogenase activities in lessive soil amended with sewage sludge (20 t ha⁻¹ year⁻¹). Studies revealed that sulphating applied along with the soil amendment using sewage sludge stimulated the proteolytic bacteria number. Only acidic rainfall dose had significant inhibitive impact on the number of proteolytical fungi. Respiratory activity of lessive soil did not show differences between objects studied. Dehydrogenase activity of analysis soil combinations was significantly differed from soil-control.

Keywords: acid rain, municipal sewage sludge, proteolytic bacteria, proteolytic fungi, respiration activity, dehydrogenase