

## Ólom és réz tartalmú nehézfémű talaj mikroorganizmusokra gyakorolt hatása laboratóriumi körülmények között

Kovács Zsuzsa – Jakab Anita – Tállai Magdolna – Kátai János

Debreceni Egyetem Agrár- és Gazdálkodástudományok Centruma, Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar,  
Agrokémiai és Talajtani Intézet, Debrecen  
kovacszsuzsa@agr.unideb.hu

### ÖSSZEFOGLALÁS

*Mészlepedékes csernozjom talajokban élő baktériumok és mikroszkopikus gombák populációdinamikáját vizsgáltuk ólom és réz sóoldat kezelés hatására.*

*A kísérlet beállítására a DE AGTC MÉK Agrokémiai és Talajtani Intézetének talajbiológiai laboratóriumában került sor 2012-ben. Az alkalmazott tömény törzsoldatok összetételének meghatározásához az MSZ 08-1721/1-86 szabvány legkisebb toxikus koncentráció értékeinek negyvenszeresét vettük alapul, a köztes koncentrációkat a törzsoldatok hígításával állítottuk elő a szabvány értékeinek megfelelő hígítási fokig. Az adatok statisztikai értékelését egy tényezős varianciaanalízissel végeztük a szórás, illetve a szignifikáns differencia meghatározásával kiegészítve. A különböző kezeléseknél a talaj – mikroorganizmusokra gyakorolt hatását vizsgálva megállapítottuk, hogy mindkét nehézfémű negatívan befolyásolta a talajban élő baktériumok és mikroszkopikus gombák populációdinamikáját. A réz – mint potenciálisan toxikus mikro-tápelem – kevésbé bizonyult negatív hatásúnak, mint a toxikus ólom. Eredményeink alapján indokolt az alkalmazott kezelési szintek pontosítása további tolerancia vizsgálatok végzése, és a tolerancia küszöb megállapítása céljából.*

**Kulcsszavak:** nehézfém, ólom, réz, talaj, mikroorganizmusok

### SUMMARY

*The population dynamics of calcareous chernozem soils polluted with different concentrations of lead and copper heavy metal saline solutions was examined.*

*The experiment was carried out in the soil biological laboratory of the Institute of Agricultural Chemistry and Soil Science at DE AGTC MÉK in 2012. For the determination of the concentration of the undiluted stock solutions we multiplied the smallest toxic concentration values of the MSZ 08-1721/1-86 Hungarian standard by forty. The intermediary concentrations of the treatments were produced with adequate dilution of the stock solutions until a dilution level equal to the values of the standard. The statistical evaluation of the data was performed with ANOVA (Analysis of Variance) including the determination of the standard deviation and significant difference. Investigating the effects of the different treatments on the soil microbes we established that both heavy metal saline solutions had a negative effect on the population dynamics of bacteria and microscopic fungi living in the soils. The negative effect of copper – as a potential toxic micro nutrient – turned out to be less strong than the negative effect of the toxic lead. According to our results the correction of the treatment levels is recommended in order to further tolerance examinations and the determination of the tolerance levels.*

**Keywords:** heavy metal, lead, copper, soil, microorganisms

### BEVEZETÉS

A talaj alapvető, részlegesen megújuló természeti erőforrásunk, ezért jövőbeni degradációjának megakadályozására, termőképességének megőrzésére, illetve fokozására, a káros környezeti hatásokkal szembeni pufferoló képességének megőrzésére, fokozására megkülönböztetett figyelmet kell fordítanunk (Várallyay, 1994).

A nehézfémek alkalmazása a fejlett országok ipari gyártástechnológiájában igen széleskörű: néhány közülük (pl. Zn, Cu) létfontosságú a növények és az állatok életfolyamataiban, a mezőgazdasági termőképesség fenntartásában, illetve fokozásában, az ember eszenciális mikroelem igényének biztosításában. A '90-es években azonban számos nehézfém került jelentős környezeti szennyező forrásként az érdeklődés középpontjába (Adriano, 1986; Alloway, 1990).

A termőtalaj különböző fémekkel történő szennyezése a kémiai környezetterhelés egyik formája, mely napjainkban szerencsére csökkenő tendenciát mutat, ám a korábban talajba került fémszennyezők hatása akár még évtizedek múltán is érződhet.

A talaj egy olyan puffer rendszer, amely bizonyos határig képes a szennyeződések hatását ellensúlyozni: amikor nagy mennyiségű toxikus anyag kerül a talajba, az adszorpció és csapadékképződési reakciók kerülnek túlsúlyba. A pH érték csökkenése esetén (talajsavanyodás) viszont a fémionok mobilis formáinak mennyisége és koncentrációja a talajoldatban szignifikánsan megnő (Filep, 1998).

A talajlakó élőlények közül talán a mikroszervezetek a legfontosabbak, hiszen a talajba kerülő növényi és állati maradványok lebontásában, a tápelemek körforgalmában és a talajszerkezet kialakításában egyaránt részt vesznek. Tevékenységük nélkül lehetetlenné válna a növénytermesztés. Kérdés, hogy a talajszennyező toxikus és potenciálisan toxikus elemek mennyiben károsíthatják a talajéletet, csökkenthetik a talaj biológiai aktivitását (Kádár, 1995).

Egyre több bizonyíték támasztja alá, hogy a talaj mikroorganizmusai sokkal érzékenyebbek a nehézfémek okozta stressz hatásokkal szemben, mint a talajfauna és az ugyanazon talajon termesztett kultúrnövények (Giller et al., 1998).

Kizilkaya et al., (2004) utalást tesz arra, hogy a nehézfémek hosszú távú hatással lehetnek a talajok mikrobiológiai jellemzőire, a különböző mikrobiológiai paraméterek pedig a talajok hosszú távú nehézfém szennyezettségének indikátorai lehetnek.

Sandaa et al. (1999) megállapította, hogy már az Európai Unió által kijelölt határértékeknél alacsonyabb koncentrációjú nehézfém szennyezettség is hosszú távú negatív hatást gyakorol a talajban élő baktériumok diverzitására és a baktérium közösségek összetételére.

A szakirodalmi adatok alapján a nehézfém szennyezés talaj mikroorganizmusokra gyakorolt hatásának vizsgálata indokolt.

## ANYAG ÉS MÓDSZER

A kísérlet beállítására a Debreceni Egyetem Agrár- és Gazdálkodástudományok Centruma MÉK Agro-kémiai és Talajtani Intézetének talajbiológiai laboratóriumában került sor 2012-ben. A kísérletben alkalmazott talaj típusa mészlepedékes csernozjom (Látókép, a mintavétel időpontja: 2012. április 26.), a vizsgálatokhoz felhasznált műtrágyakezelésben nem részesült kontroll (1), illetve műtrágyakezelésben (N<sub>240</sub>P<sub>180</sub>K<sub>180</sub>) részesült (2) talajok legfontosabb tulajdonságait az 1. táblázat szemlélteti.

Vizsgálataink során az összes baktériumszám és összes mikroszkopikus gombaszám meghatározását végeztük el lemezöntéses módszerrel (Szegi, 1979) különböző koncentrációjú nehézfémoldatokkal mér-

gezett pepton–glükóz agar, illetve húsleves agar táptalajokon, négy ismétlésben.

A kezelésekből alkalmazott nehézfémoldatok elkészítéséhez az MSZ 08-1721/1-86 szabvány ólomra és rézre vonatkozó legkisebb toxikus koncentráció értékeit (ólom esetén 470 mg/dm<sup>3</sup> Pb<sup>2+</sup>, réz esetén 2,0 mg/dm<sup>3</sup> Cu<sup>2+</sup>) vettük alapul. A tömény törzsoldatokhoz szükséges sómennyiséget (ólom esetén 300,5096 g/dm<sup>3</sup>, réz esetén 3,1455 g/dm<sup>3</sup>) a szabvány határértékeinek negyvenszeresét alkalmazva, a felhasznált sók (ólom esetén ólom – nitrát: Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, réz esetén réz–szulfát –5-hidrát: CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O) moláris tömegének figyelembe vételével számítottuk ki. A köztes koncentrációkat a rendelkezésre álló mérőlombikok térfogatához igazodva steril desztillált vízzel történő megfelelő mértékű hígítással állítottuk elő, a szabvány legkisebb toxikus koncentráció értékének megfelelő hígítási fokig. Ez alapján a 2. táblázatban bemutatott teszt jellegű kezelési szinteket állapítottuk meg.

## A kísérlet beállítása

Mindkét mintából 2,5 g talajt steril fülke alatt 247,5 cm<sup>3</sup> steril csapvizet tartalmazó üvegebe mértük (10<sup>2</sup> hígítás), majd harminc percen keresztül ráztattuk. A ráztatás után steril fülke alatt a szuszpenzióból 10 cm<sup>3</sup>-t kipipettáztunk, majd 90 cm<sup>3</sup> steril csapvízhez adtuk. Az így kapott 10<sup>3</sup> hígítás 10 cm<sup>3</sup>-ét szintén 90 cm<sup>3</sup> steril csapvízhez adtuk, és így folytattuk a hígítási sor elkészítését 10<sup>6</sup> hígítási fokig. A gombák leoltásához a 10<sup>3</sup>, a baktériumok leoltásához a 10<sup>5</sup> hígítást használtuk.

1. táblázat

A kísérletben alkalmazott talajok legfontosabb tulajdonságai

Paraméter(1)	1. talaj(2)	2. talaj N <sub>240</sub> P <sub>180</sub> K <sub>180</sub> (3)
Nedvességtartalom (%) (4)	16,27	10,67
Arany-féle kötöttség (K <sub>A</sub> ) (5)	38	38
Leiszapolható rész (%) (L <sub>i</sub> ) (6)	49,04	50,12
Fizikai talajféleség (7)	vályog (8)	vályog (8)
Kémhatás (pH dH <sub>2</sub> O) (9)	6,80	5,70
Kémhatás (pH KCl) (10)	5,98	5,09
Humusz (%) (Hu%) (11)	2,66	3,18
K <sub>2</sub> O (mg/kg)	230	385
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (mg/kg)	36	254
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/kg)	17,14	77,65

Table 1: The most important characteristics of the soils applied in the experiment  
Parameter(1), Soil 1(2), Soil 2 N<sub>240</sub>P<sub>180</sub>K<sub>180</sub>(3), Moisture content (%) (4), Plasticity index according to Arany(5), Silt and clay content (%) (6), Physical soil type(7), Loam(8), Acidity (H<sub>2</sub>O)(9), Acidity (KCl)(10), Humus (%) (11)

2. táblázat

A nehézfémoldatok összetétele és a kezelések jelölése

Kezelés(1)	A törzsoldat hígításának mértéke(2)	Ólom koncentráció (g/dm <sup>3</sup> ) (3)	Réz koncentráció (g/dm <sup>3</sup> ) (4)
1 (kontroll)(5)	-	-	-
2 (a legkisebb toxikus koncentráció)(6)	40x	7,5127	0,0786
3	8x	37,5637	0,3931
4	4x	75,1274	0,7863
5	2x	150,2548	1,5727
6 (törzsoldat)(7)	-	300,5096	3,1455

Table 2: Compound of the heavy metal saline solutions and the nomination of the treatments  
Treatment(1), The dilution rate of the stock solution(2), Lead concentration (g dm<sup>-3</sup>) (3), Copper concentration (g dm<sup>-3</sup>) (4), Control(5), Smallest toxic concentration(6), Stock solution(7)

A hígított szuszpenziókból steril petri-csészék közepére 1 cm<sup>3</sup>-t pipettáztunk, majd 9 cm<sup>3</sup> táptalajt és 1 cm<sup>3</sup> különböző koncentrációjú (a kezeléseknek megfelelő) nehézfém oldatot tartalmazó tápközeggel elegyítettük. A lemezek megszilárdulása után 25 °C-os termosztátba helyezve a petri-csészéket baktériumok esetén kettő, gombák esetén három napig tartó inkubációt követően megszámláltuk a kifejlődött telepeket.

**Statisztikai értékelés**

A mérési eredmények statisztikai értékelését Microsoft Excel varianciaanalízis függvényelemző bővítmény segítségével végeztük (Aydinalp et al., 2010), a szórás, illetve a szignifikáns differencia értékek meghatározásával.

**EREDMÉNYEK**

**Ólom hatása a talajban élő baktériumok és mikroszkopikus gombák mennyiségére**

A talajban élő baktériumok mennyiségének ólom okozta stressz hatásra bekövetkező változásait az 1. és 2. ábra szemlélteti.

1. ábra: Az összes baktériumszám változása (ólom) – 1. talaj

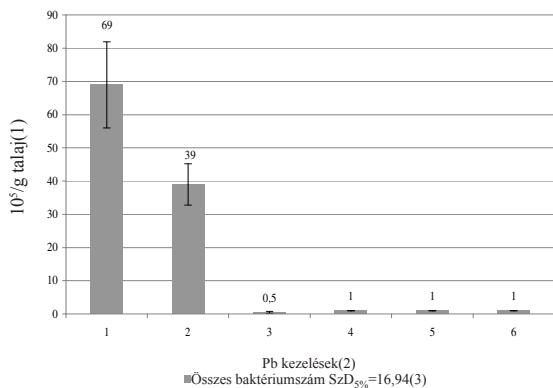


Figure 1: Change in the total number of bacteria (lead) – soil 1. 10<sup>5</sup> g<sup>-1</sup> soil(1), Pb treatments(2), Total number of bacteria LSD<sub>5%</sub>(3)

2. ábra: Az összes baktériumszám változása (ólom) – 2. talaj

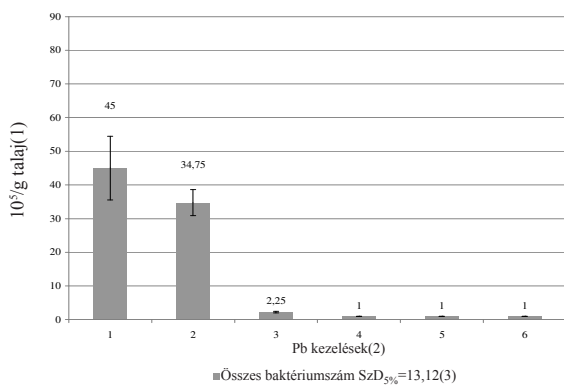


Figure 2: Change in the total number of bacteria (lead) – soil 2. 10<sup>5</sup> g<sup>-1</sup> soil(1), Pb treatments(2), Total number of bacteria LSD<sub>5%</sub>(3)

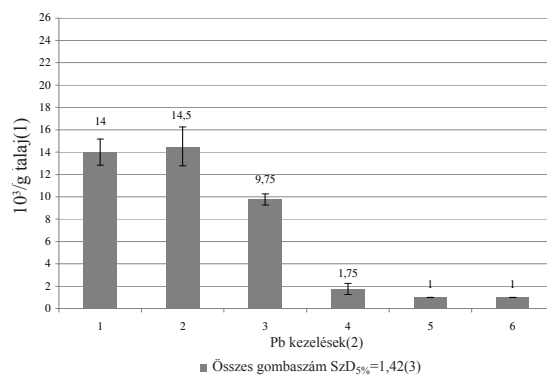
A növekvő koncentrációjú ólomkezelések összeségében mindkét talaj esetében a baktériumszám 0,1%-os szinten szignifikáns csökkenését eredményezték.

A kontrollhoz viszonyítva már a legkisebb koncentrációjú, egyszeres dózisu kettes kezelés is a baktériumok mennyiségének szignifikáns csökkenéséhez vezetett mindkét talajban. A toxicitási határérték ötszörösének megfelelő dózisu hármas kezelés mind a kontroll, mind a 2-es kezeléshez képest is további szignifikáns csökkenést okozott. A négyes, ötös, hatos kezelési szintek a kontrollhoz viszonyítva szintén statisztikailag igazolható csökkenést eredményeztek, közöttük különbségről azonban már nem beszélhetünk a kifejlődött baktérium telepek egyöntetűen alacsony száma miatt.

A baktériumokhoz hasonlóan az ólom kezelések a mikroszkopikus gombák populáció dinamikájára is statisztikailag igazolható negatív hatást gyakoroltak (3. és 4. ábra).

3. ábra: Az összes gombaszám változása (ólom) – 1. talaj

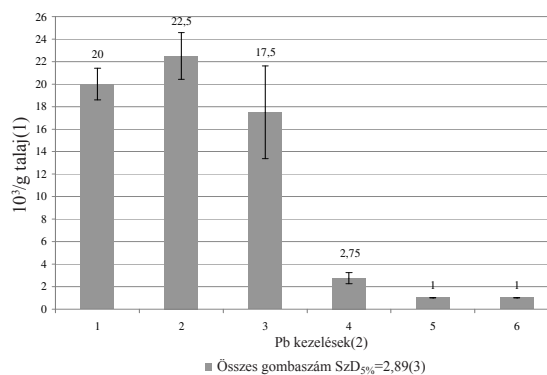
Figure 3: Change in the total number of fungi (lead) – soil 1.



10<sup>3</sup> g<sup>-1</sup> soil(1), Pb treatments(2), Total number of fungi LSD<sub>5%</sub>(3)

4. ábra: Az összes gombaszám változása (ólom) – 2. talaj

Figure 4: Change in the total number of fungi (lead) – soil 2.



10<sup>3</sup> g<sup>-1</sup> soil(1), Pb treatments(2), Total number of fungi LSD<sub>5%</sub>(3)

A mikroszkopikus gombák mennyisége mindkét talajban 0,1%-os szinten szignifikáns csökkenést mutatott. A kontrollhoz képest a kettes, legkisebb toxikus koncentrációnak megfelelő kezelés hatása még egyik esetben sem bizonyult szignifikánsnak, azonban a hármas kezelés nehézfém koncentrációja már mindkét talaj esetén a gombák mennyiségének statisztikailag igazolható csökkenését eredményezte. A négyes, ötös, hatos kezelések hatása között érdemi különbséget nem tapasztaltunk, a kifejlődött telepek száma egyöntetűen alacsony volt.

### Réz hatása a talajban élő baktériumok és mikroszkopikus gombák mennyiségére

A növekvő réz dózisek az ólommal ellentétben mind az egyes, mind a kettős talajnál csak a hatos, a legkisebb toxikus koncentráció negyvenszeresének megfelelő töménységű kezelés esetén okozták a baktériumszám 5%-os szinten szignifikáns csökkenését. A kettős-ötös kezelések a kontrollhoz képest statisztikailag igazolható eltérést nem eredményeztek, összességében azonban egyértelműen csökkenő tendencia volt megfigyelhető a baktériumok populációdinamikáját tekintve (5. és 6. ábra).

5. ábra: Az összes baktériumszám változása (réz) – 1. talaj

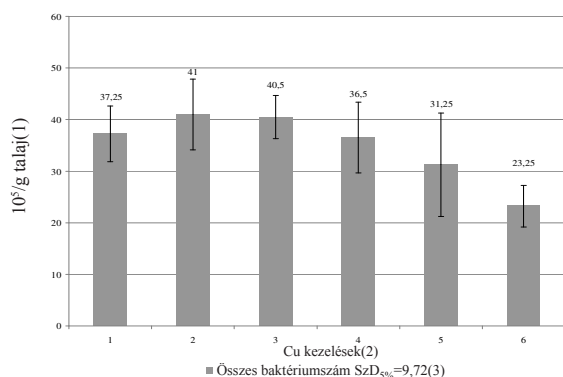


Figure 5: Change in the total number of bacteria (copper) – soil 1. 10<sup>5</sup> g<sup>-1</sup> soil(1), Cu treatments(2), Total number of bacteria LSD<sub>5%</sub>(3)

6. ábra: Az összes baktériumszám változása (réz) – 2. talaj

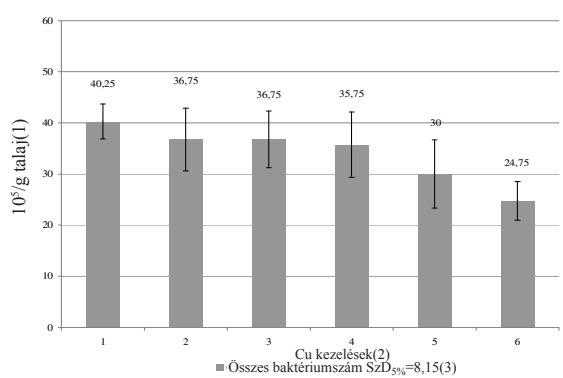


Figure 6: Change in the total number of bacteria (copper) – soil 2. 10<sup>5</sup> g<sup>-1</sup> soil(1), Cu treatments(2), Total number of bacteria LSD<sub>5%</sub>(3)

Különbőség bizonyult az alkalmazott kezelések összes mikroszkopikus gombaszám alakulására gyakorolt hatása között az egyes és kettős talajoknál (7. és 8. ábra). Az egyes talaj összes mikroszkopikus gombaszámát az ötös kezelés csökkentette szignifikáns mértékben a kontrollhoz képest, míg a kettős talaj esetén már a kettősszámú, a legkisebb toxikus koncentrációnak megfelelő dózisú réz kezelés is a mikroszkopikus gombaszám 0,1%-os szinten szignifikáns csökkenését eredményezte. A kezelések hatását egymáshoz viszonyítva egyik esetben sem tapasztaltunk szignifikáns eltérést.

7. ábra: Az összes gombaszám változása (réz) – 1. talaj

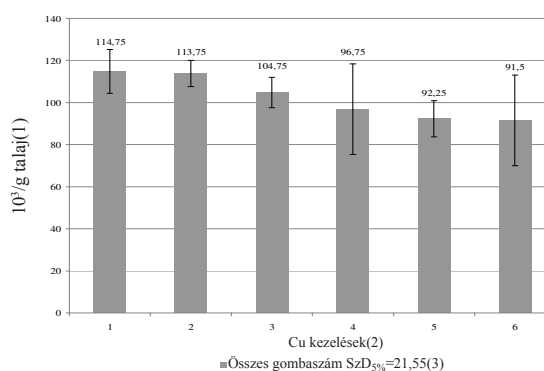


Figure 7: Change in the total number of fungi (copper) – soil 1. 10<sup>3</sup> g<sup>-1</sup> soil(1), Cu treatments(2), Total number of bacteria LSD<sub>5%</sub>(3)

8. ábra: Az összes gombaszám változása (réz) – 2. talaj

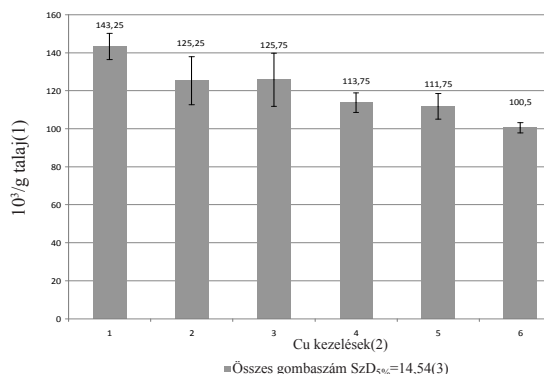


Figure 8: Change in the total number of fungi (copper) – soil 2. 10<sup>3</sup> g<sup>-1</sup> soil(1), Cu treatments(2), Total number of bacteria LSD<sub>5%</sub>(3)

### KÖVETKEZTETÉSEK

Vizsgálataink eredményeit összegezve az alábbi következtetésekre jutottunk:

- Mindkét nehézfém növekvő mennyisége negatívan befolyásolta a talajban élő baktériumok és mikroszkopikus gombák mennyiségét, összességében mind az ólom, mind a réz negatív populáció-dinamikai változást eredményezett.
- Ugyanazon ólom dózisek toxikusabbnak bizonyultak a réz megfelelő dózisainál, a mikroorganizmusok a rézzel szemben nagyobb toleranciát mutattak.
- Az ólom ugyanazon kezelési szintjeire a baktériumok a gombáknál érzékenyebben reagáltak.
- A nehézfém kezelések hatása között a trágyázatlan egyes, illetve a műtrágyakezelésben részesült kettős talaj esetén szignifikáns eltérést nem tapasztaltunk, azonban a műtrágyázott talajban élő mikroszkopikus gombák nehézfém stresszel szemben mutatott toleranciája magasabbnak bizonyult.

A bemutatott eredmények alapján ólom esetén javasolható kisebb koncentrációk beiktatása a szignifikáns hatás zónában a toxicitási határértékek pontosabb meghatározása érdekében. Réz esetén az oldatok koncentrációjának óvatos növelése mellett bekövetkező változások vizsgálata lenne célszerű. Az egyöntetű negatív

hatást figyelembe véve elmondható, hogy bizonyos koncentrációban mind a toxikus, mind a potenciálisan toxikus nehézfémek károsíthatják a talaj mikroorganiz-

musainak életműködését, amely a talaj biodiverzitás, illetve a talajtermékenység csökkenéséhez vezethet, ezért a további kutatásuk indokolt.

#### IRODALOM

- Adriano, D. C. (1986): Trace elements in the terrestrial environment. Springer-Verlag. New York – Berlin – Heidelberg – Tokyo. 533.
- Alloway, B. J. (ed.) (1990): Heavy metals in soils. Blackie and Son Ltd. Glasgow – London. 339.
- Aydinalp, C.–Füleky, Gy.–Tolner, L. (2010): The comparison study of some selected heavy metals in the irrigated and non-irrigated agricultural soils. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 16: 754–768.
- Filep, Gy. (1998): Soil Pollution. Agricultural University of Debrecen. REXPO Ltd. Debrecen. 23.
- Giller, K. E.–Witter, E.–McGrath, S. P. (1998): Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils: A review. *Soil Biology, Biochemistry*. 30. 10–11: 1389–1414.
- Kádár I. (1995): A talaj – növény – állat – ember tápláléklánc szennyeződése kémiai elemekkel. *Környezet- és Természetvédelmi Kutatások*. Budapest. Regicon Kft. Nyomdaüzeme. Kompolt. 211–212.
- Kizilkaya, R.–Askin, T.–Bayrakli, B.–Saglam, M. (2004): Microbiological characteristics of soils contaminated with heavy metals. *European Journal of Soil Biology*. 40: 95–102.
- Sandaa, R. A.–Torsvik, V.–Enger, O.–Daae, F. L.–Castberg, T.–Hahn, D. (1999): Analysis of bacterial communities in heavy metal contaminated soils at different levels of resolution. *FEMS Microbiology Ecology*. 30: 237–251.
- Szegi J. (1979): Talajmikrobiológiai vizsgálati módszerek. Mezőgazdasági Könyvkiadó. Budapest. 49–50.
- Várallyay, Gy. (1994): Soil database for sustainable land use: Hungarian case study. [In: Greenland, D. J.–Szabolcs, I. (eds.) *Soil resilience and sustainable land use.*] CAB Intern. London. 469–495.

