

**Tehnički fakultet Bor – Univerziteta u Beogradu
Zavod za zaštitu zdravlja "TIMOK" Zaječar
Centar za poljoprivredna i tehnološka istraživanja-Zaječar
Društvo mladih istraživača Bor**

**ZBORNİK RADOVA
*PROCEEDINGS***

EcoIst'05

**EKOLOŠKA ISTINA
*ECOLOGICAL TRUTH***

**Urednik / Editor
Zoran S. Marković**

**Borsko Jezero
01. – 04. 06. 2005**

Tehnički fakultet Bor - Univerziteta u Beogradu
Zavod za zaštitu zdravlja "TIMOK" Zaječar
Centar za poljoprivredna i tehnološka istraživanja-Zaječar
Društvo mladih istraživača Bor



ZBORNIK RADOVA
PROCEEDINGS

EcoIst '05

EKOLOŠKA ISTINA
ECOLOGICAL TRUTH

Urednik / Editor
Zoran S. Marković

Hotel JEZERO- Borsko Jezero, Bor
01. – 04. 06. 2005.
Srbija i Crna Gora

IZDAVAČ/PUBLISHER
TEHNIČKI FAKULTET U BORU-UNIVERZITETA U BEOGRADU
TECHNICAL FACULTY BOR- UNIVERSITY OF BELGRADE

ZA IZDAVAČA / FOR THE PUBLISHER
DEKAN / DEAN : Prof. Dr ZVONIMIR D. STANKOVIĆ

GLAVNI I ODGOVORNI UREDNIK / EDITOR-IN-CHIEF
Prof. Dr ZORAN S. MARKOVIĆ

CIP – Katalogizacija u publikaciji
Narodna biblioteka Srbije

502/504(082)
613(082)

**НАУЧНО-стручни скуп о природним вредностима
и заштити животне средине (13 ; 2005 ; Бор)**

Ekološka istina, Eco Ist' 05 : zbornik
Radova / [XIII naučno-stručni skup o
prirodnim vrednostima i zaštiti životne
sredine] [i] [XVIII dani preventivne medicine
Timočke krajine], 01.-04. 06. 2005, Borsko
Jezero = Ecological Truth : proceedings /
[13th Scientific and professional Conference
on Natural Resources and Environmental
Protection] [and] [18th Days of Preventive
Medicine of the Timok region] ; urednik,
editor Zoran S. Marković. - Bor : Tehnički
fakultet Univerziteta u Beogradu, 2005
(Bor : Grafomed). - 744 str. : ilustr. ;
25 cm

Na vrhu nasl. Str. : Zavod za zaštitu
zdravlja "TIMOK", Zaječar [i] Centar za
poljoprivredna i tehnološka istraživanja,
Zaječar [i] Društvo mladih istraživača, Bor.
- Radovi na srp. i engl. jeziku. - Tiraž
350. - Napomene uz tekst. - Bibliografija
uz svaki rad. - Registar.

ISBN 86-80987-31-X
1. Дани превентивне медицине Тимочке
крајине (18 ; 2005 ; Бор)
а) Животна средина - Заштита - Зборници б)
Здравље - Заштита - Зборници
COBISS. SR-ID 122339596

Bor, maja 2005.

MIKROBIOLOŠKA AKTIVNOST - INDIKATOR UTICAJA NIKLA NA BIOGENOST ZEMLJIŠTA

MICROBIAL ACTIVITY-INDICATOR OF EFFECT NICKEL ON BIOLOGICAL ACTIVITY OF SOIL

Nada Milošević¹, Gorica Cvijanović², Drago Cvijanović³, Branislava Tintor¹

¹Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad,

²Institut za kukuruz Zemun polje-Beograd,

³Institut za ekonomiku poljoprivrede, Beograd

E-mail: nadam@ifvcns.ns.ac.yu

IZVOD: Nikal u količini 2,0 mg Ni kg⁻¹ zemljišta uticao je značajno na smanjenje ukupnog broja mikroorganizama, brojnost amonifikatora, gljiva i aktinomiceta u zemljištu pod svim ispitivanim biljnim vrstama. Međutim, nikal je uticao je pozitivno na brojnost Azotobacter-a, sem u zemljištu pod šećernom repom. Prisustvo nikla uticalo je na smanjenje DHA u zemljištu pod pšenicom, šećernom repom i sojom, ali u zemljištu pod kukuruzom i suncokretom aktivnost ovog enzima je povećana.

Ključne reči: mikroorganizmi, nikal, zemljište, dehidrogenaza

ABSTRACT: Our study showed that the Ni concentration of 2,0 mg Ni kg⁻¹ soil significantly reduced the total number of microorganisms and the numbers of ammonifiers, actinomycetes and fungi. The number of Azotobacter was increased in the presence of Ni. The Ni concentration of 2,0 mg Ni kg⁻¹ soil was decreased dehydrogenase activity in soil under the wheat, the sugarbeet and soyabean. DHA was increased in the presence of Ni in soil under the corn and the sunflower.

Key words: microorganisms, nickel, soil, dehydrogenase

UVOD

Prisutnost sve veće kontaminacije zemljišta sa teškim metalima iziskuje multidisciplinarna istraživanja, s obzirom da akumulacija ovih elemenata može značajno da poremeti ekološku ravnotežu u prirodi. Zastupljenost mikroorganizama, njihov međusobni odnos i dinamika enzima je pokazuje biološku aktivnost (biogenosti) zemljišta. Naime, biogenost je jedan od značajnih pokazatelja potencijalne i efektivne plodnosti obzirom na značajnu ulogu mikroba u celokupnom metabolizmu zemljišta (Milošević et al., 1997).

Uticaj teških metala na aktivnost mikroorganizama zavisi od elementa, njegove koncentracije, vrste mikroba i fizičko-hemijskih svojstava zemljišta (Koch and Wilke, 1992; Milošević et al. 1997a). Antropogeno zagađenje zemljišta i akumulacija ovog elementa uz moguću kombinaciju sa drugim teškim metalima utiče na značajan poremećaj mikrobiološke ravnoteže zemljišta, što se posredno reflektuje na biljke i životinje. Ovaj element upotrebljava se u legurama, u proizvodnji baterija, za prevlačenje električnih materijala itd. (Kastori, 1997), te se često nalazi kao otpad u blizini poljoprivrednog zemljišta.

Cilj istraživanja je da se prati uticaj Ni²⁺ na mikrobiološku aktivnost zemljišta pod osnovnim ratarskim kulturama s obzirom da su mikroorganizmi značajna spona u sistemu zemljište-biljka.

MATERIJAL I METODE

Ogled sa pšenicom, kukuruzom, suncokretom, šećernom repom i sojom postavljen je u polu-kontrolisanim uslovima staklare. Biljke su gajene u Mitcherlich sudovima. Agrohemijske karakteristike zemljišta (černo zem) su: pH u H₂O - 8.1, CaCO₃ - 2.09 %, humus- 2,5 %, ukupan N - 0.2 %, a P₂O₅ - 9.8 mg 100g i K₂O - 35.5 mg 100g.

U staklari je održavana temperatura 25 °C i 16 časovni fotoperiod. Zemljište je tretirano sa rastvorom Ni (NiCl₂) u količini 2,0 mg Ni kg⁻¹ zemljišta 21-og dana. Uzorci za mikrobiološke analize uzeti su 14 dana posle tretiranja sa rastvorom nikla.

Opšta biološka aktivnost zemljišta (biogenost) praćena je na osnovu zastupljenosti mikroorganizama (ukupan broj mikroorganizama, Azotobacter, amonifikatori, aktinomycete i gljive) i aktivnosti oksido-redukcionog enzima dehidrogenaze. Metodom razređenja određena je zastupljenost ukupnog broja mikroorganizama na agarizovanom zemljištom ekstraktu, i amonifikatotra na MPA (Pochon and Tardieux, 1962). Na bezazotnoj podlozi praćen je broj Azotobacter-a metodom "fertilnih kapi" (Andreson, 1958). Brojnost aktinomycete praćena je na sintetičkoj podlozi, a gljive na Čapex-Dox podlozi. Dehidrogenazna aktivnost (DHA) određena je po modifikovanoj metodi Thalmann (1968), koja se bazira na merenju ekstinkcije trifenil formazana (TPF), koji je nastao redukcijom 2,3,5-trifeniltetrazoliumhlorida (TTC).

REZULTATI I DISKUSIJA

Rast i razviće biljaka zavisi od efektivne plodnosti zemljišta. Zastupljenost mikroorganizama, njihov međusobni odnos i dinamika enzima je odraz biološke aktivnosti i svih ekotoksikoloških promena u zemljištu (Milošević et al., 1997). Oni u celokopnoj metaboličkoj aktivnosti zemljišta zauzimaju od 60 - 90 % (Lee, 1994).

Pojedini teški metali su potrebni za metabolizam mikroorganizama, kao sastavni deo proteina ((Fe, Cu, Co), ili kao katalizatori enzimatskih reakcija (Zn, Mn, Ni). Nikal u zavisnosti od koncentracije može delovati inhibitory ili stimulatory na broj i enzimatsku aktivnost mikroorganizama (Govedarica i sar. 1997; Milošević et al., 1997a; 2002).

Prisustvo veće koncentracije nikla (2,0 mg Ni kg⁻¹ zemljišta) utiče značajno na mikrobiološka svojstva zemljištu pod svim ispitivanim kulturama (tab. 1).

Tab.1. Uticaj Ni²⁺ na mikrobiološka svojstva zemljišta (%)

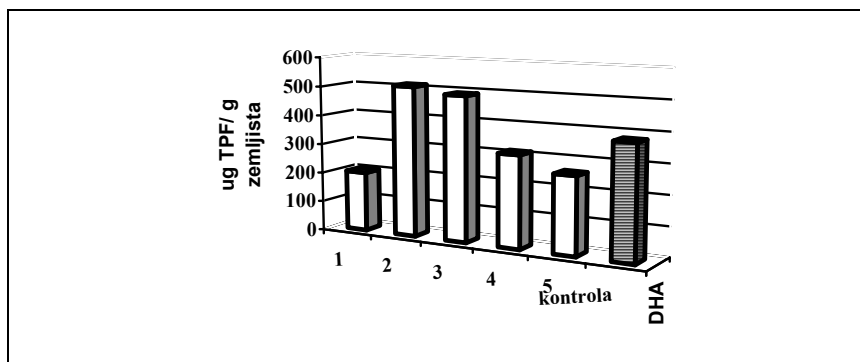
Tab. 1. *Effect of Ni²⁺ on the microbial properties of soil (%)*

Mikroorganizmi Microorganisms	Kontrola Control	B i l j k a - P l a n t				
		Pšenica Wheat	Kukuruz Corn	Suncokret Sunflower	Šećerna repa Sugarbeet	Soja Soybean
Ukupan broj Total number	100	77,0	85,6	79,5	79,1	80,0
Azotobacter	100	104,1	133,0	102,0	86,2	148,0
Amonifikatori Ammonifiers	100	97,5	97,7	92,4%	98,0	89,7
Actinomycetes	100	69,5	81,8	72,5	61,3	88,6
Gljive- Fungi	100	57,5	60,5	65,9	63,7	77,9

Rezultati (Tab. 1) pokazuju da nikal u količini 2,0 mg Ni kg⁻¹ zemljišta utiče na smanjenje zastupljenosti ukupnog broja mikroorganizama (15-23%), amonifikatora (2-15%), aktinomiceta (12-39%), a gljiva od 23-43% u zavisnosti od biljne vrste. Uglavnom nikal je uticao pozitivno na zastupljenost azotobaktera najviše pod sojom, zatim pšenicom, kukuruzom i suncokretom. Međutim, u zemljištu pod šećernom repom utvrđen je inhibitorni efekat nikla na azotobakter.

U istraživanjima Milošević et al. (2002) brojnost Azotobacter-a i slobodnih aerobnih azotofiksatora povećana je u prisustvu Ni, naročito u varijanti sa najmanjom količinom (0,02 mg Ni kg⁻¹). Naime, Azotobacter sadrži plazmide koji kontrolišu rezistentnost na teške metale (Den Gooren De Jong, 1971). Do sada je utvrđeno da postoje tri načina vezivanje teških metala od strane mikroorganizama: bioadsorpcijom, bioakumulacijom i vezivanje teških metala uz pomoć produkata metabolizma. Po Ehrlich (1997) u prirodi postoji interakcija metal/mikrobi koja se manifestuje preko imobilizacije i mobilizacije metala. Imobilizacija se dešava prolaskom metala kroz ćeliske barijere i akumulacijom ili dospevanjem kroz eksta – ćelijske naslage. Uticaj nikla na aktivnost mikroorganizama zavisi od koncentracije, vrste mikroorganizama i fizičko-hemijskih svojstava zemljišta (Govedarica et al., 1997; Milošević et al., 2002). Đukić i sar. (1994) ističu u svojim istraživanjima da je ukupna brojnost mikroorganizama i amonifikatora smanjena usled prisustva olova, arsena i nikla u u aluvijumu i smonici, ali da se taj nepovoljni efekat smanjuje tokom vegetacije pšenice.

Nivo enzimske aktivnosti je dobar indikator biološke aktivnosti zemljišta. Veće koncentracije teških metala utiču nepovoljno na fiziološke procese mikroorganizama i izazivaju smanjenu aktivnost enzima (Nordgren et al., 1986). U istraživanjima mnogi autori ističu nepovoljan uticaj teških metala na aktivnost dehidrogenaze (Reddy and Faza, 1989; Koch and Wilka, 1992; Govedarica i sar., 1997). Po Milošević i sar. (1996) olovo i kadmijum su smanjili dehidrogenaznu aktivnost, ali Mo i Ni nisu uticali na aktivnost ovog enzima.



Slika 1. Uticaj nikla na dehidrogenaznu aktivnost

Graf.1. Effect of Ni on dehydrogenase activity

1. Pšenica-Wheat; 2. Kukuruz-Corn; 3. Suncokret-Sunflower; 4. Šeć. Repa-Sugarbeet; 5. Soja-Soybean

Uticaj nikla na dehidrogenaznu aktivnost zemljišta je neujednačena (Sl.1.). DHA je najveća u zemljištu pod kukuruzom i suncokretom u odnosu na kontrolnu varijantu. Nikal u ispitivanoj koncentraciji uticao je na smanjenje nivoa oksidoredukcionih procesa u zemljištu pod ostalim ispitivanim kulturama u odnosu na kontrolu.

Reakcije biljaka na prisustvo teških metala zavise od biljnih vrsta, pa čak se razlikuje i kod genotipova iste vrste (Kastori, 1997). Pojedine biljke akumuliraju teške metale i kada je sadržaj ovih elemenata veoma nizak u zemljištu. Postoje biljne vrste koje usvajaju i transportuju ove elemente u nadzemne delove, te mogu biti bioindikator prisutnih koncentracija teških metala u zemljištu. Treća grupa biljaka nakuplja teške metale u malim količinama, nezavisno od koncentracije u zemljištu.

ZAKLJUČAK

Istraživanja pokazuju da je tretiranje zemljišta sa rastvorom Ni (NiCl₂) u količini 2,0 mg Ni kg⁻¹ zemljišta uglavnom inhibitorno uticalo na većinu mikrobioloških parametara.

Nikal je uticao pozitivno na zastupljenost azotobaktera: najviše pod sojom, zatim pšenicom, kukuruzom i suncokretom, sem u zemljištu pod šećernom repom.

Uticaj nikla na dehidrogenaznu aktivnost zemljišta je neujednačena. DHA je najveća u zemljištu pod kukuruzom i suncokretom, ali pod ostalim biljnim vrstama aktivnost ovog enzima je smanjena u odnosu na kontrolnu varijantu.

LITERATURA

1. Andreson G. R.: Ecology of Azotobacter in soil of the palouse region I. Occurrence. *Soil Sci.*, 86,57-65, 1958.
2. Den Gooren De Jong, L. E.: Tolerance of Azotobacter for metallic and non-metallic ions. *Antonie van Leeuwenhoek J. Microbiol. Serol.* 37, 119-124, 1971.
3. Đukić D., Mandić L., Marković G., Ivanović B.: Uticaj navodnjavanja zagađenom vodom na ukupan broj mikroorganizama i broj amilolitičkih mikroorganizama u aluvijumu i smonici pod pšenicom. *Zb. Radova sa savetovanja Navodnjavanje i odvodnjavanje u Srbiji*, 99-101. Svrlajnac, 1994.
4. Ehrlich, H. L.: Microbes and metals, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 48, 687-692, 1997.
5. Govedarica, M., Milošević, N., Jarak, M.: Teški metali i mikroorganizmi zemljišta, U *Teški metali u životnoj sredini*, (Kastori R., ed), Naučni institut za ratarst i povrtar., 153–194, N. Sad, 1997.
6. Kastori R.: Teški metali u životnoj sredini, Naučni institut za ratars. i povrt., N. Sad, 1997.
7. Koch C. and Wilke B.M.: Combination effect of heavy methals and linear akylbenzenesulfonate on soil microbial activity. 15 th World Congress of Soil Science, Comission III, Vol. 4b, 56-57, Acapulco, Mexico, 1992
8. Lee, K.E.: The functional significance of biodiversity in soils. 15th World Congress of Soil Science, Vol.4a, 168-182. Acapulco, Mexico, 1992.
9. Milošević, N., Govedarica, M., Jarak, M.: Mikrobi zemljišta: značaj i mogućnosti, u *Uredjenje, korišćenje i očuvanje zemljišta* (Dragović, S.ur.), JDPZ, 389-398, N. Sad, 1997.
10. Milošević N., Govedarica M., Jarak M., Petrović N.: The effect of heavy metals on total soil microbiological activity in lettuce. *Acta Horticulture*, No 462, Vol. 1, 133-137, 1997a.
11. Milošević N., Govedarica M., Kastori R. and Petrovoć N.: Effect of nickel on wheat plants, soil microorganisms and enzymes. *Biologia*, XLVII, 1, 177-181, Cluj, 2002.
12. Nordgrenet A., Kauri T., Beath E., Soderstrom B.: Soil microbial activity, mycelial lenhs and physiological groups of bacteria in a heavy metals polluted area. *Environ. Pollut. Ser. A*, 41, 89-100, 1986.
13. Reddy G.B. and Faza A.: Dehydrogenase activity in sludge amended soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 21, 320-327, 1989.
14. Thalmann, A.: Zur Methodik des Bestimmung der Dehydrogenaseaktivitat in Boden mittles Triphenyltetrazolium-chlorid (TTC). *Londw.Forsch.*, 21, 249-258, 1968.