

Oddziaływanie ołowiu i cynku na wzrost niektórych grzybów mikoryzowych w kulturach *in vitro*

R. PACHLEWSKI, E. CHRUŚCIAK

Zakład Gleboznawstwa i Nawożenia, Instytut Badawczy Leśnictwa, Warszawa-Sękocin

Pachlewski R., Chruściak E.: (Department of Soil Science and Fertilization, Institute of Forestry Studies — Sękocin 05-550 Raszyn, Poland). *Effect of lead and zinc on the growth of some mycorrhizal fungi in vitro*. Acta Mycol. XXII(1): 73–80, 1986.

Growth reaction of five mycorrhizal fungi and pathogenic one in the presence of different Pb and Zn concentration was tested. It was confirmed that mycorrhizal strains were more sensitive to lead than zinc. On the contrary the pathogenic fungus was more sensitive to zinc.

WSTĘP

Akumulacja metali ciężkich w ściółce i glebach leśnych prowadzi do obniżenia aktywności biologicznej w tych siedliskach (Andersen i in. 1978, Jordan i in. 1975), a w konsekwencji m.in. do wolniejszego rozkładu substancji organicznej. Badania Inmana i Parkera (1978) wykazały, że im bardziej wzrastało stężenie metali ciężkich w rejonach dużych miast, w pobliżu hut, tym drastycznie mniejsze były ubytki masy ściółki.

Doświadczenia wielu badaczy ujawniły znaczną różnorodność reakcji drobno-ustrojów na metale ciężkie (Babich, Stotzky 1977). I tak generalnie biorąc najmniej wrażliwe okazały się grzyby, następnie promieniowce, a najbardziej wrażliwe bakterie Gram-dodatnie.

Wśród grzybów wydzielono trzy grupy (test na kadm):

I. zdolnych do wzrostu w obecności 10 $\mu\text{g/ml}$ Cd, lecz nie zdolne do rozwoju przy 100 $\mu\text{g/ml}$.

II. zdolnych do wzrostu przy stężeniach powyżej 100 $\mu\text{g/ml}$, lecz hamowane przez dawkę około 1000 $\mu\text{g/ml}$.

III. rosnących przy stężeniach przekraczających 1000 $\mu\text{g/ml}$ Cd. Do nich należą np. *Trichoderma viride* i *Rhizopus nigricans*.

Według określenia Badury (1983) „przy takiej rozpiętości wrażliwości, metale ciężkie mogą zmieniać zespoły drobnoustrojów, często doprowadzając do zespołów monopopulacyjnych. Redukcja liczby gatunków w ekosystemie może być miarą stopnia zniszczenia układu”.

Z naszego punktu widzenia interesującą wydaje się reakcja grzybów mikoryzowych na metale ciężkie — można bowiem zakładać, iż wysokie stężenia tych pierwiastków wpłyną na aktywność biologiczną. Należy liczyć się z selektywnym oddziaływaniem metali na populację grzybów symbiotycznych, a w efekcie na zmianę układów mikoryzowych w warunkach gleb skażonych.

W tym celu podjęto wstępne doświadczenia nad działaniem cynku i ołowiu na 5 wybranych gatunków mikoryzowych.

MATERIAŁ I METODY

Obserwacjami objęto 4 gatunki grzybów ektomikoryzowych — *Amanita muscaria* (L.: Fr.) Hooker (nr kolekcji własnej 1/182), *Cenococcum graniforme* (nr 3543), *Pisolithus tinctorius* (nr 5335) i *Suillus bovinus* (L.: Fr.) Kummer (nr 1941) oraz 1 szczep ektendomikoryzowy oznaczony symbolem Mrg XII. Dodatkowo testowi poddano szczep patogeniczny (*Fomes*) *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref.

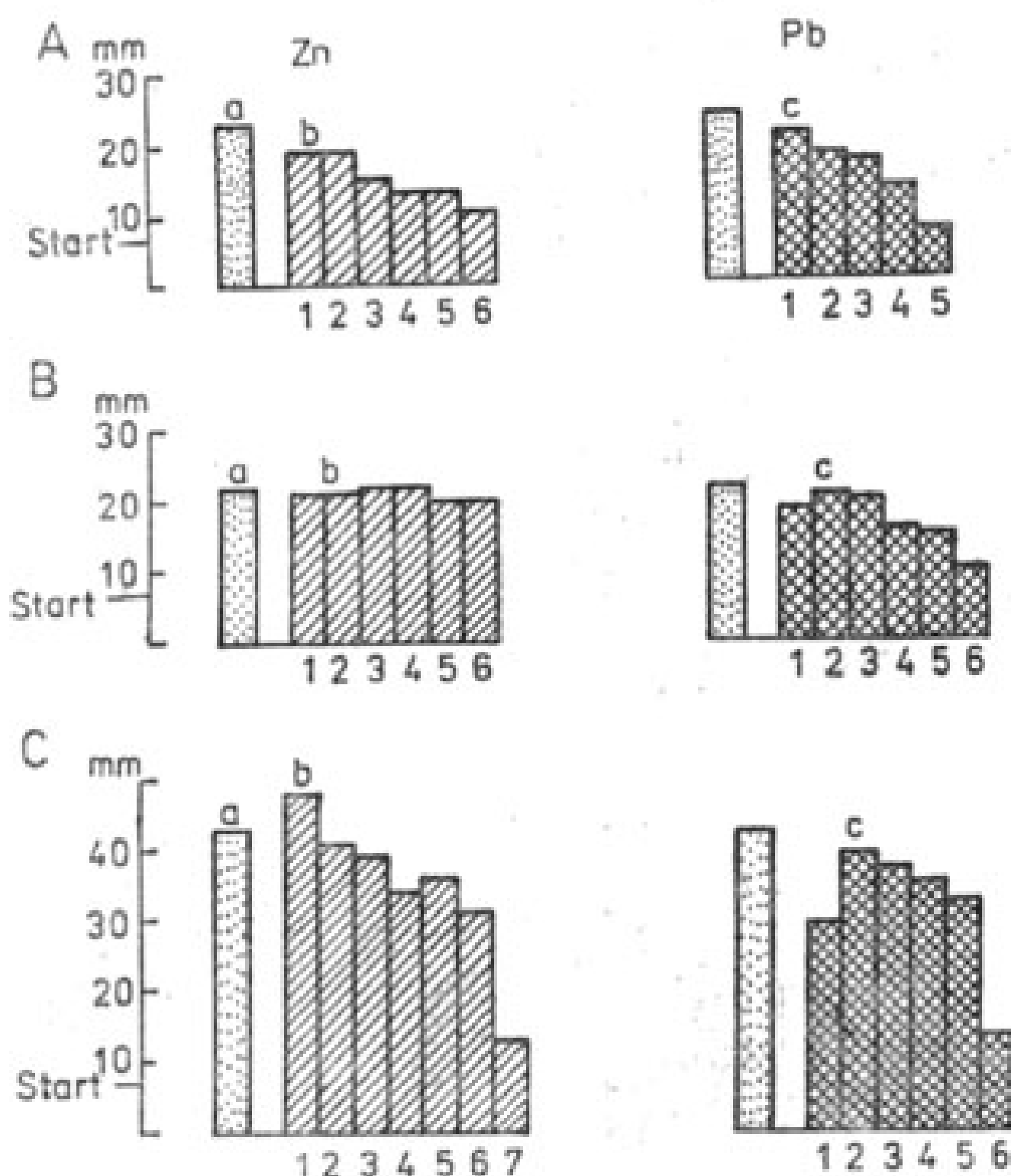
Kultury grzybów prowadzono na podłożu podstawowym Pp (Pachlewski, Pachlewska 1974), do którego dodawano odpowiednie dawki Zn i Pb. Źródłem cynku był siarczan cynku, ołowiu — octan ołowiu. Cynk dodawano do pożywki w ilościach: 5, 10, 25, 50, 100, 200 i 500 ppm, ołów w stężeniu: 2, 10, 50, 100, 200 i 500 ppm. Podłoża przed zabiegiem sterylizacji doprowadzano do pH około 5,0-5,5. Pożywki rozlewano do płytek Petriego, po czym inokulowano centralnie krążkami grzybni o średnicy 7 mm, wyciętymi z hodowli 14-21-dniowych odpowiednich grzybów. Inkubacja przebiegała dwa tygodnie w temperaturze 25°C. Oceniano intensywność wzrostu szczepów na podłożach z dodatkiem Pb i Zn w porównaniu z kontrolą, którą stanowiła pożywka Pp.

WYNIKI

Reakcja wzrostowa testowanych grzybów na zastosowane stężenia cynku i ołowiu okazała się zróżnicowana. (Ryc. 1, 2 Pl. I-II). Rezultaty obserwacji przedstawiamy poniżej dla każdego gatunku, na diagramach oraz opisowo.

Amanita muscaria: szczep wrażliwszy na obecność w podłożu ołowiu niż cynku. W miarę wzrostu stężenia ołowiu notowano odpowiednio większe ograniczenie wzrostu grzybni. Całkowite zahamowanie wzrostu stwierdzono przy dawce 200 ppm. Cynk podobnie — wraz ze wzrostem dawki — przyczyniał się do zmniejszonej aktywności rozwoju grzybni. Dawka 200 ppm Zn w znacznym stopniu hamowała wzrost.

Cenococcum graniforme: okazał się także gatunkiem wrażliwszym na działanie Pb, szczególnie w dawce 500 ppm, niż na działanie Zn. Cynk właściwie, w użytych dawkach, nie ograniczał istotnie wzrostu grzyba.



Ryc. 1. Średnica grzybni
Diameter of mycelium

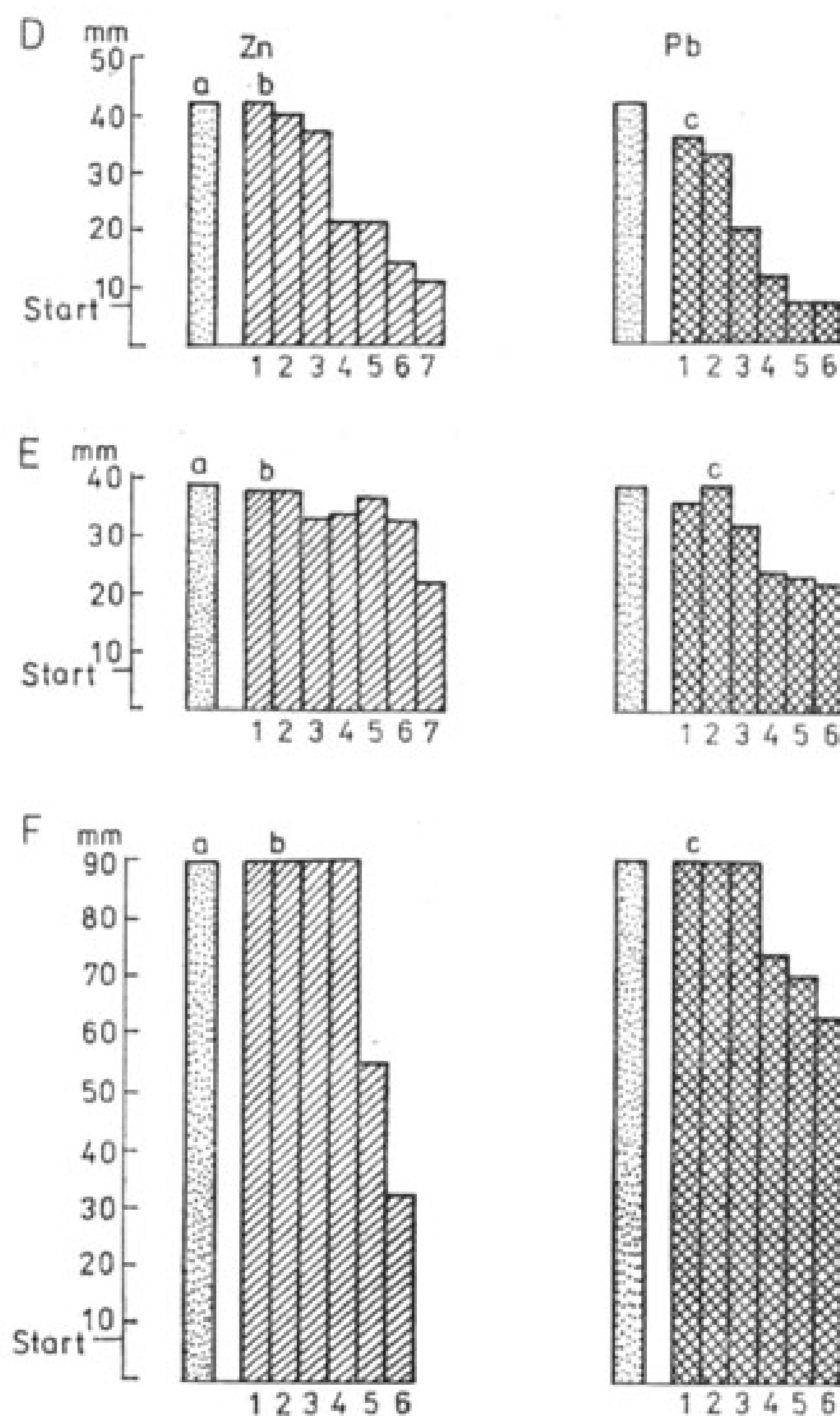
A — *Amanita muscaria* 1/182; B — *Cenococcum graniforme* — 3543, C — *MrgX*
podłoże (substrate): a — Pp, b — Pp+Zn, c — Pp+Pb; Zn: 1 — 5 ppm, 2 — 10 ppm, 3 — 25 ppm, 4 — 50 ppm, 5 — 100 ppm, 6 — 200 ppm, 7 — 500 ppm; Pb: 1 — 2 ppm, 2 — 10 ppm, 3 — 50 ppm, 4 — 100 ppm, 5 — 200 ppm, 6 — 500 ppm

MrgX II: drastyczne zaburzenie wzrostu tego ektendomikoryzowego grzyba powodowały głównie dawki 500 ppm Pb i Zn; niższe stężenia tylko w niewielkim stopniu redukowały rozwój grzybni.

Pisolithus tinctorius: gatunek wrażliwszy na działanie ołowiu niż cynku. Dość znaczne ograniczenie wzrostu stwierdzono już począwszy od koncentracji 50 ppm Pb, a zupełny brak wzrostu przy 200 i 500 ppm. Wrażliwość na cynk dość znaczna w dawkach 50 i 100 ppm, stopniowo wzrastała przy 200, a maksymalnie przy 500 ppm.

Suillus bovinus: pewne zmiany we wzroście odnotowano na podłożach zawierających od 100-500 ppm Pb, przy czym były to ograniczenia tego samego rzędu we wszystkich trzech stężeniach. Analogiczną dla cynku reakcją wzrostową zaobserwowano dopiero przy dawce 500 ppm.

Fomes annosus: groźny dla drzew patogen wykazał progresywne ograniczenie wzrostu w dawkach Pb od 100-500 ppm; reakcja była tym wyraźniejsza im wyższa dawka metalu. Cynk hamował wzrost w dawkach 100 i 200 ppm. Dodatkowo stwier-



Ryc. 2. Średnica grzybni
Diameter of mycelium

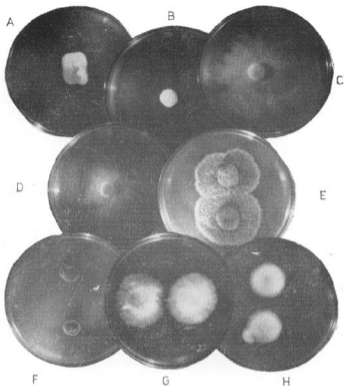
D — *Pisolithus tinctorius* — 5335; E — *Suillus bovinus* — 1941; F — *Fomes annosus* (podłoże — substrate, vide Fig. 1)

dzono przy tych dwóch stężeniach zmiany w obrazie mikroskopowym, a mianowicie wyraźne zmniejszenie ilości wytwarzanych konidioforów i ich modyfikację morfologiczną przy stężeniu 200 ppm.

WNIOSKI

1. Wrażliwość badanych grzybów mikoryzowych na cynk i ołów, w kulturze *in vitro* jest gatunkowo zróżnicowana: na ogół ołów w większym stopniu hamował wzrost niż cynk.

2. Szczep patogeniczny (*Fomes*) *Heterobasidion annosum*, w przeciwieństwie do grzybów mikoryzowych, wykazał większą wrażliwość na wysokie stężenia cynku niż ołowiu.



Tablica I — Plate I

Wzrost grzybów w kulturze
Growth of fungi in culture

A-B. Amanita muscaria

A — wzrost na podłożu kontrolnym Pp, *B* — wzrost na podłożu Pp z dodatkiem 50 ppm Pb
A — growth on the control medium Pp, *B* — growth on the medium Pp with addition of 50 ppm Pb

C-D. MrgX

C — wzrost na podłożu Pp z dodatkiem 5 ppm Zn, *D* — wzrost na podłożu Pp z dodatkiem 100 ppm Zn
C — growth on the medium Pp with 5 ppm Zn, *D* — growth on the medium Pp with 100 ppm Zn

E-F. Pisolithus tinctorius

E — wzrost na podłożu kontrolnym Pp, *F* — wzrost na podłożu Pp z dodatkiem 100 ppm Pb
E — growth on the control medium Pp, *F* — growth on the medium Pp with 100 ppm Pb

G-H. Saillus bovinus

— wzrost na podłożu Pp z dodatkiem 10 ppm Pb, *H* — wzrost na podłożu Pp z dodatkiem 100 ppm Pb
G — growth on the medium Pp with 10 ppm Pb, *H* — growth on the medium Pp with 100 ppm Pb

LITERATURA

- Andersen A., Howmand M. F., Johnsen J. B., 1978, Atmospheric heavy metal deposition in the Copenhagen area. *Environm. Pollut.* 7: 133-151.
- Babich H., Stotzky G., 1977, Sensivity of various bacteria including Actinomycetes and fungi to cadmium and the influence of pH on sensivity. *Appl. Environm. Microbiol.* 33: 681-695.
- Badura L., 1983, Rozważania nad stopniem zanieczyszczenia gleb emisjami przemysłowymi i wynikającymi stąd implikacjami ekologicznymi. Katowice, Uniwersytet Śląski.
- Inman J. C., Parker G. R., 1978, Decomposition and heavy metal dynamics of forest litter in northwestern Indiana. *Environm. Pollut.* 17: 39-51.
- Jordan M. J., Lechevalier M. P., 1975, Effects of zinc smelter emissions on forest soil microflora. *Canad. J. Microbiol.* 21: 1855-1865.
- Pachlewski R., Pachlewska J., 1974, Studies on symbiotic properties of mycorrhizal fungi of pine (*Pinus silvestris* L.) with the aid of the method of mycorrhizal synthesis in pure cultures on agar. Warsaw, For Res. Inst.