



interdyscyplinarne
studia doktoranckie
matematyczno-
przyrodnicze



Projekt „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno – przyrodniczych” realizowany w ramach poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

Mechanizmy mikrobiologiczne wspomaganej fitoremediacji metali ciężkich

Mgr Michał Złoch

Promotorzy:

dr hab. Katarzyna Hryniewicz, prof. UMK

Zakład Mikrobiologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska

dr hab. Tomasz Kowalkowski, prof. UMK

Katedra Chemii Środowiska i Bioanalitiky, Wydział Chemii



KAPITAŁ LUDZKI
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI

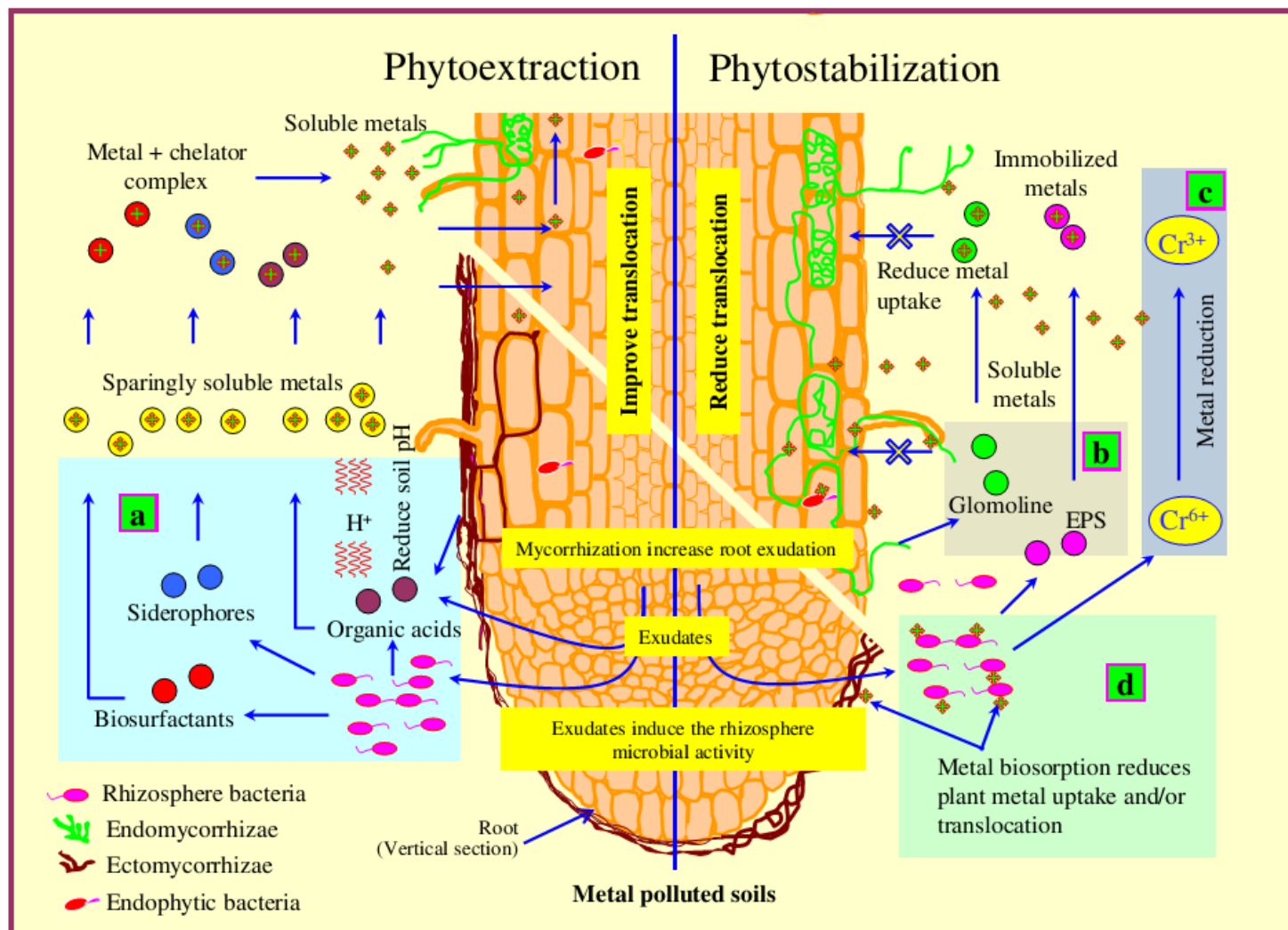


UNIA EUROPEJSKA
EUROPEJSKI
FUNDUSZ SPOŁECZNY



Projekt współfinansowany przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego

Rola mikroorganizmów w fitoremediacji metali ciężkich



Rajkumar i in., 2012: Perspectives of plant-associated microbes in heavy metal phytoremediation. Biotechnology Advances 30:1562–1574

Cel badań

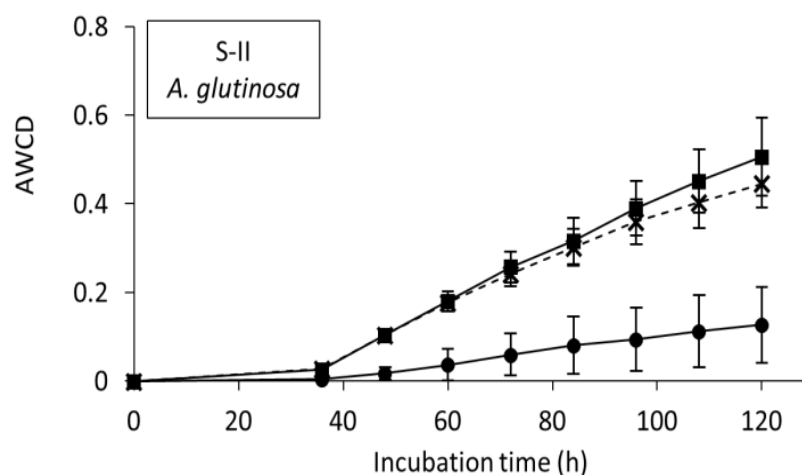
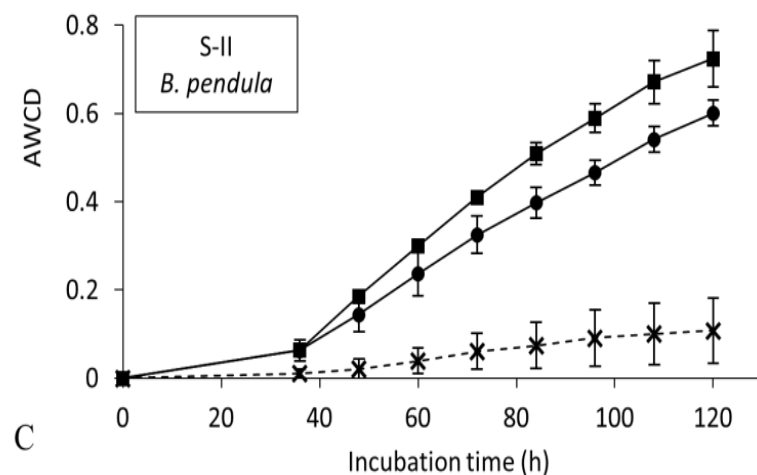
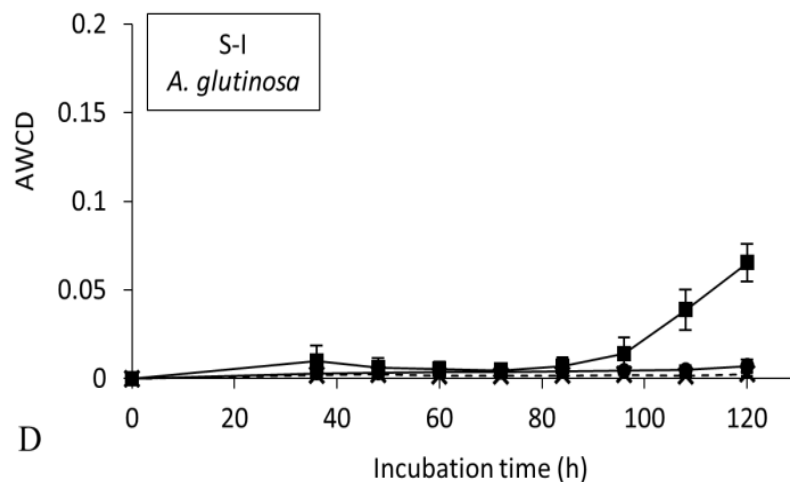
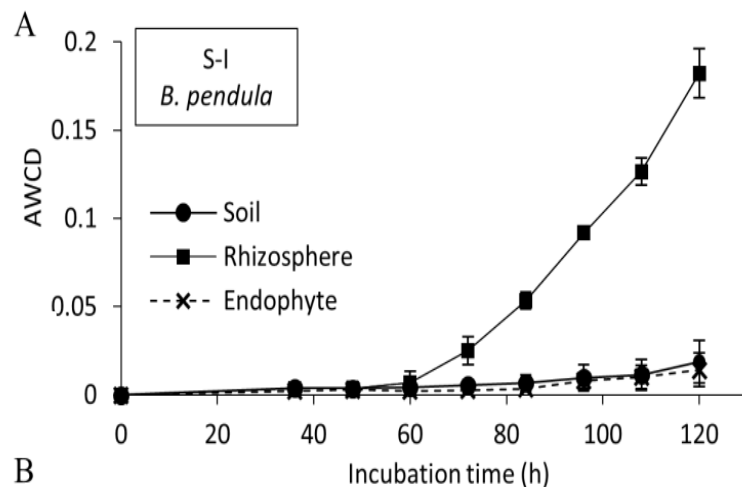
Celem projektu jest zbadanie wybranych mechanizmów mających wpływ na wydajność procesu mikrobiologicznie wspomaganej fitoremediacji metali ciężkich w oparciu o wyselekcjonowane szczepy mikroorganizmów.

Plan doświadczeń

- 1. Charakterystyka populacji mikroorganizmów ryzosferowych i endofitycznych na terenach metalonośnych oraz izolacja i identyfikacja bakterii.**
- 2. Selekcja szczepów w oparciu o wybrane aktywności metaboliczne, np. synteza sideroforów w obecności Cd^{2+} .**
- 3. Analiza wydajności mikrobiologicznie wspomaganej fitoremediacji w oparciu o wyselekcjonowane szczepy: doświadczenie *in vitro* (a) i doświadczenie donicowe (b).**
- 4. Badania nad mechanizmami biorącymi udział w mikrobiologicznej akumulacji Cd^{2+} : selekcja mikroorganizmów (a), wpływ na wydajność fitoremediacji (b).**

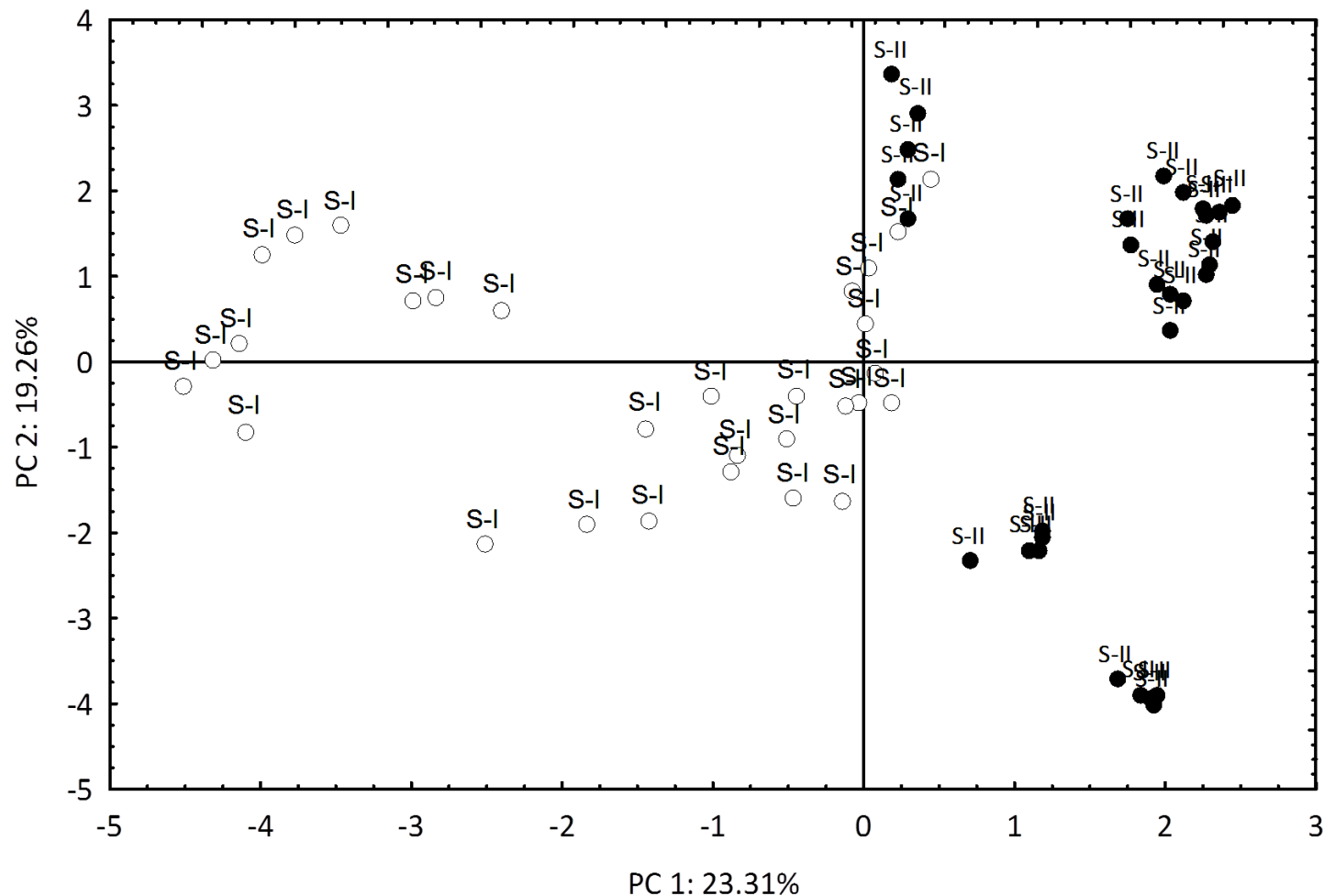
1. Charakterystyka populacji mikroorganizmów ryzosferowych i endofitycznych na terenach metalonośnych oraz izolacja i identyfikacja bakterii.

Całkowita aktywność metaboliczna



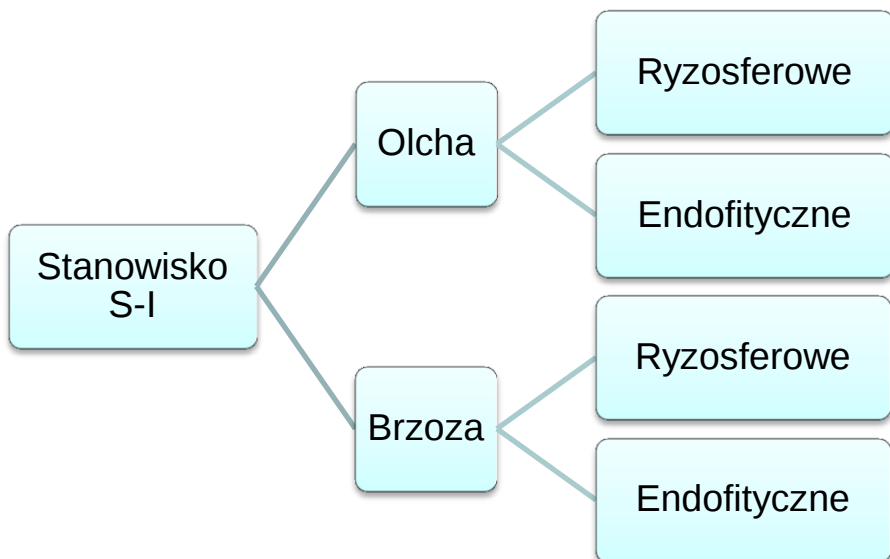
1. Charakterystyka populacji mikroorganizmów ryzosferowych i endofitycznych na terenach metalonośnych oraz izolacja i identyfikacja bakterii.

Różnicowanie populacji mikroorganizmów w zależności od stanowiska izolacji (PCA)

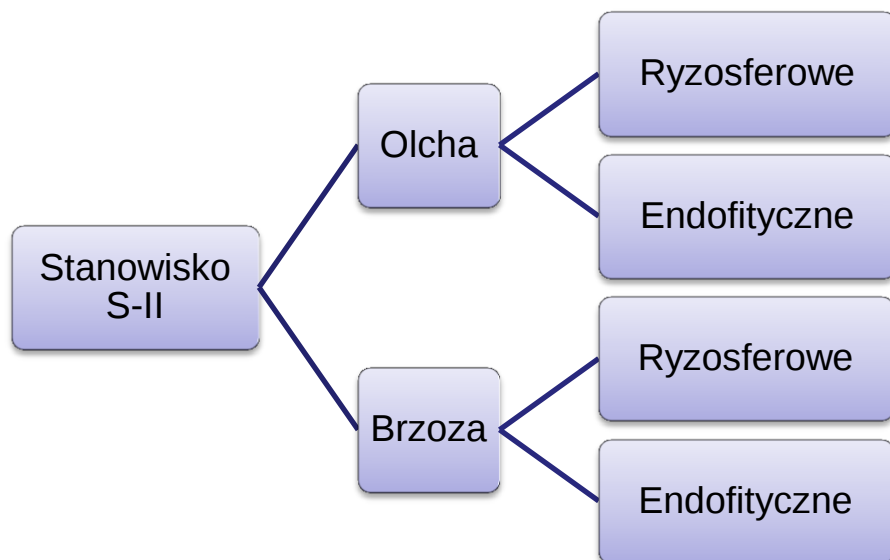


1. Charakterystyka populacji mikroorganizmów ryzosferowych i endofitycznych na terenach metalonośnych oraz izolacja i identyfikacja bakterii.

Izolacja i identyfikacja bakterii ryzosferowych i endofitycznych



Phylum	Stanowisko S-I	Stanowisko S-II
Actinobacteria	23	27
Proteobacteria	17	8
Bacteroidetes	2	5
Firmicutes	6	3



Stanowisko S-I = 48

Stanowisko S-II = 43

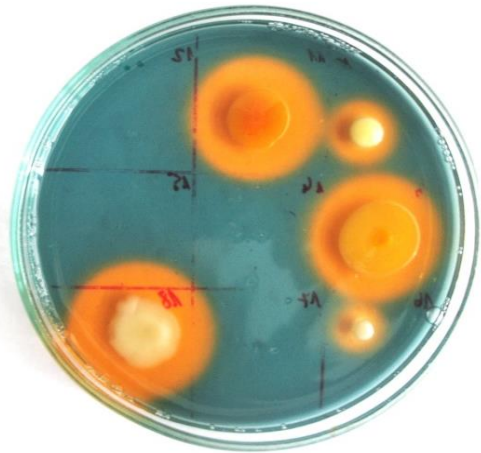
Ryzosferowe = 57

Endofityczne = 34

Całkowita liczba zidentyfikowanych
szczepów = 91

Liczba zidentyfikowanych rodzajów = 17

2. Selekcja szczepów w oparciu o wybrane aktywności metaboliczne, np. synteza sideroforów w obecności Cd^{2+} .



$$W_{\text{act}} = S_h^2 / (S_c \times t)$$

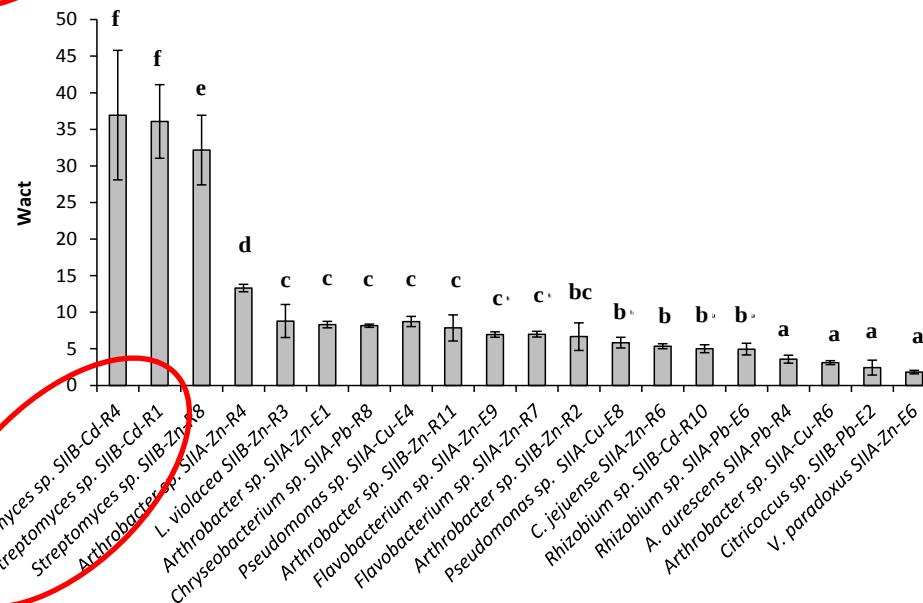
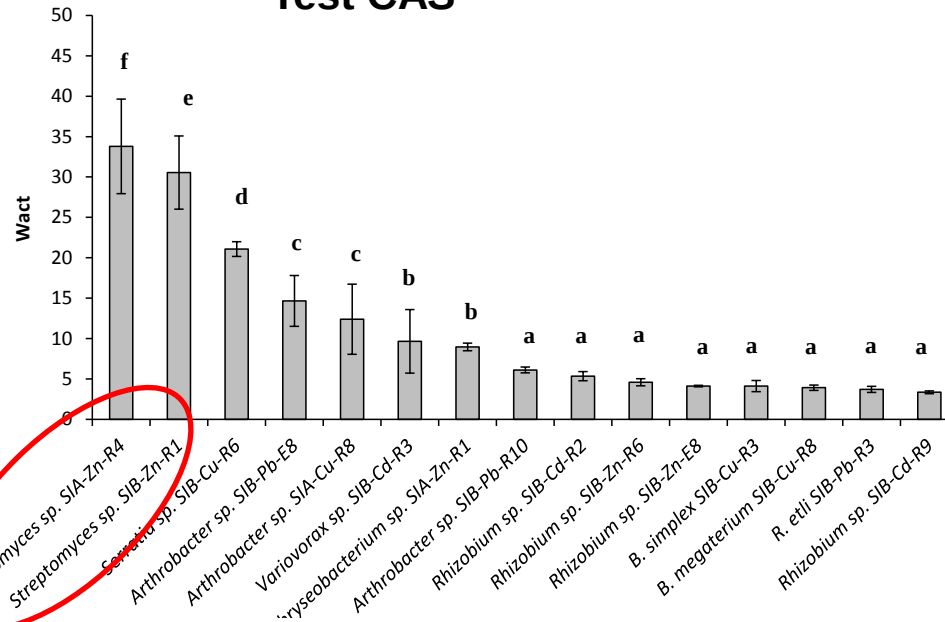
S_h – $\varnothing$ przejaśnienia

S_c – $\varnothing$ kolonii

t – czas inkubacji

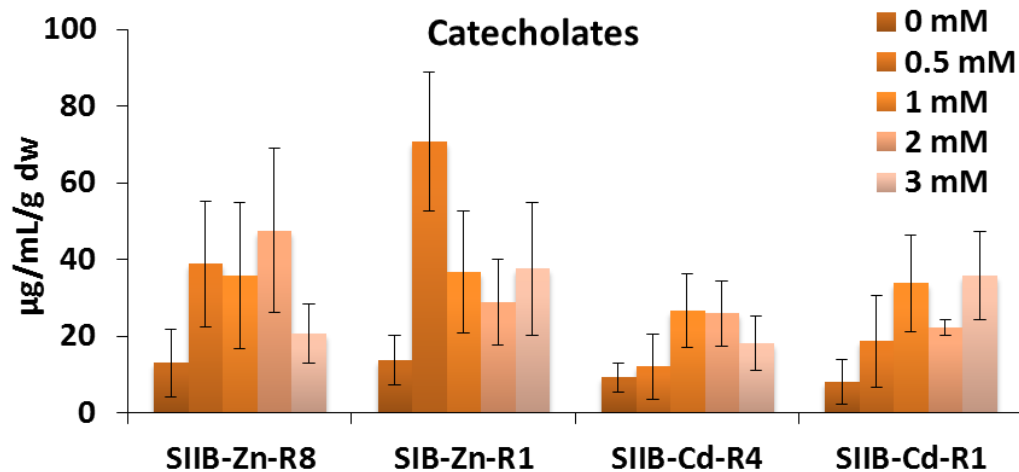
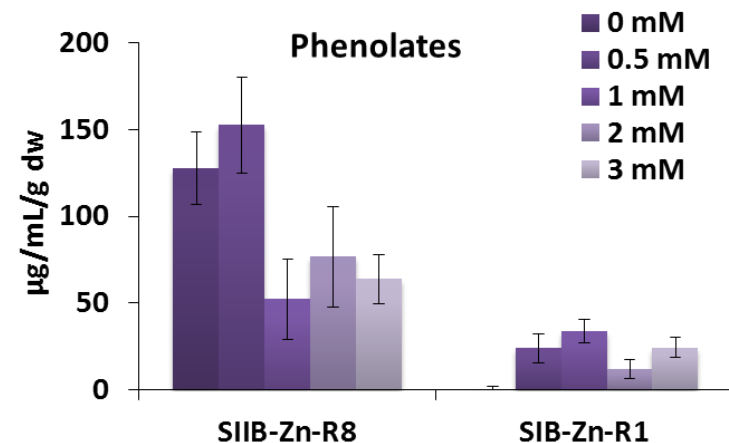
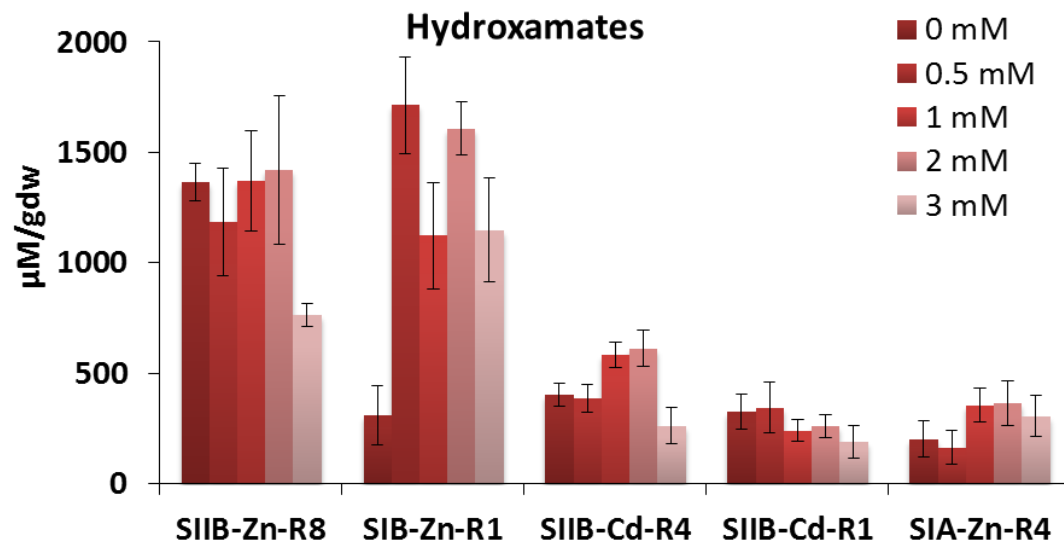
Hryniewicz i in. 2010: Density, metabolic activity, and identity of cultivable rhizosphere bacteria on *Salix viminalis* in disturbed arable and landfill soils. *J. of Plant Nutr. and Soil Sci.* 173(5) 747–756.

Test CAS



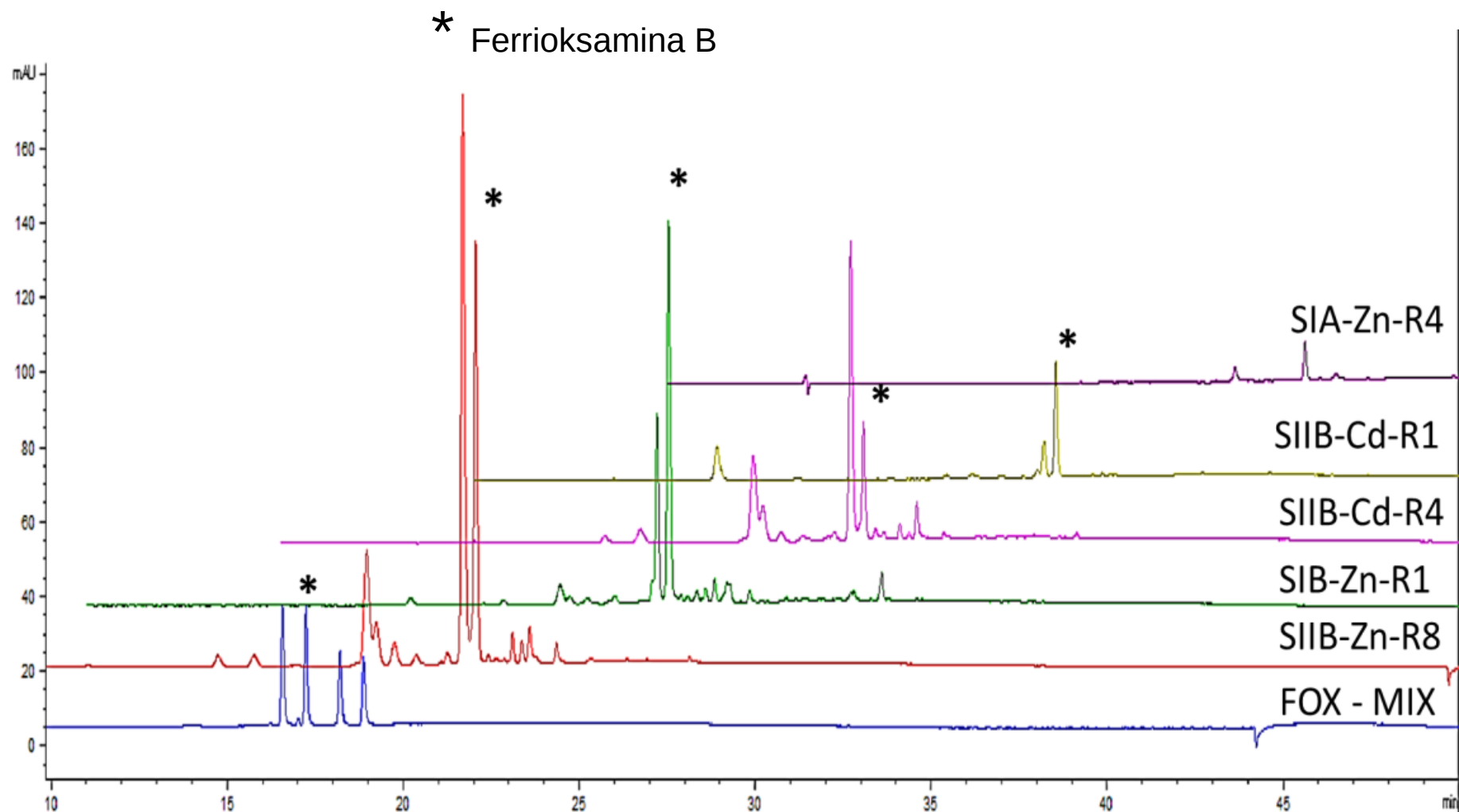
2. Selekcja szczepów w oparciu o wybrane aktywności metaboliczne, np. synteza sideroforów w obecności Cd^{2+} .

Testy chemiczne



2. Selekcja szczepów w oparciu o wybrane aktywności metaboliczne, np. synteza sideroforów w obecności Cd^{2+} .

Analiza HPLC



3. Analiza wydajności mikrobiologicznie wspomaganej fitoremediacji w oparciu o wyselekcjonowane szczepy.

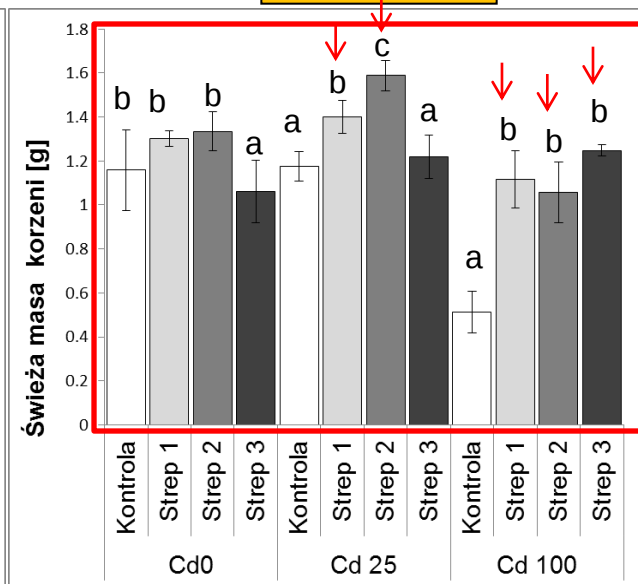
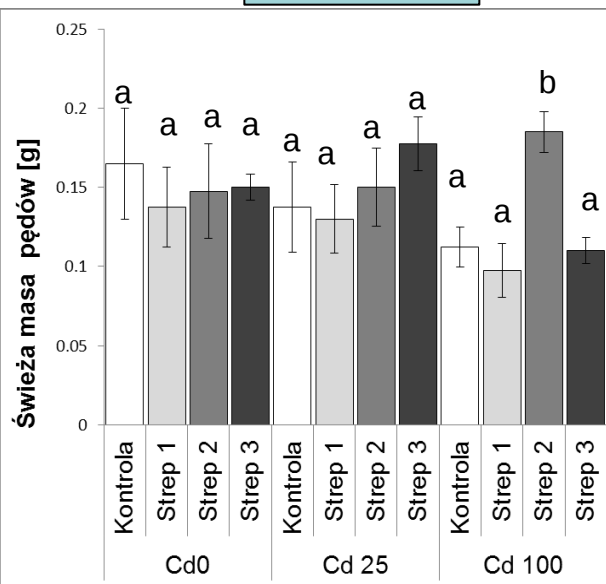
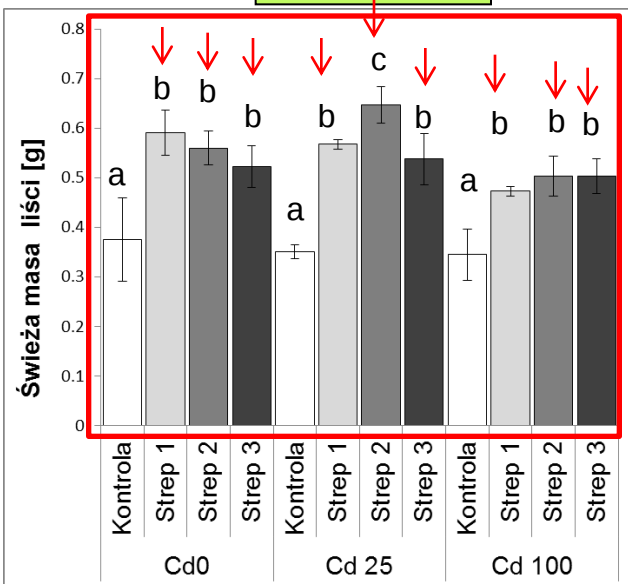
a) Doświadczenie *in vitro*

Przyrost biomasy

Liście

Pędy

Korzenie



3. Analiza wydajności mikrobiologicznie wspomaganej fitoremediacji w oparciu o wyselekcjonowane szczepy.

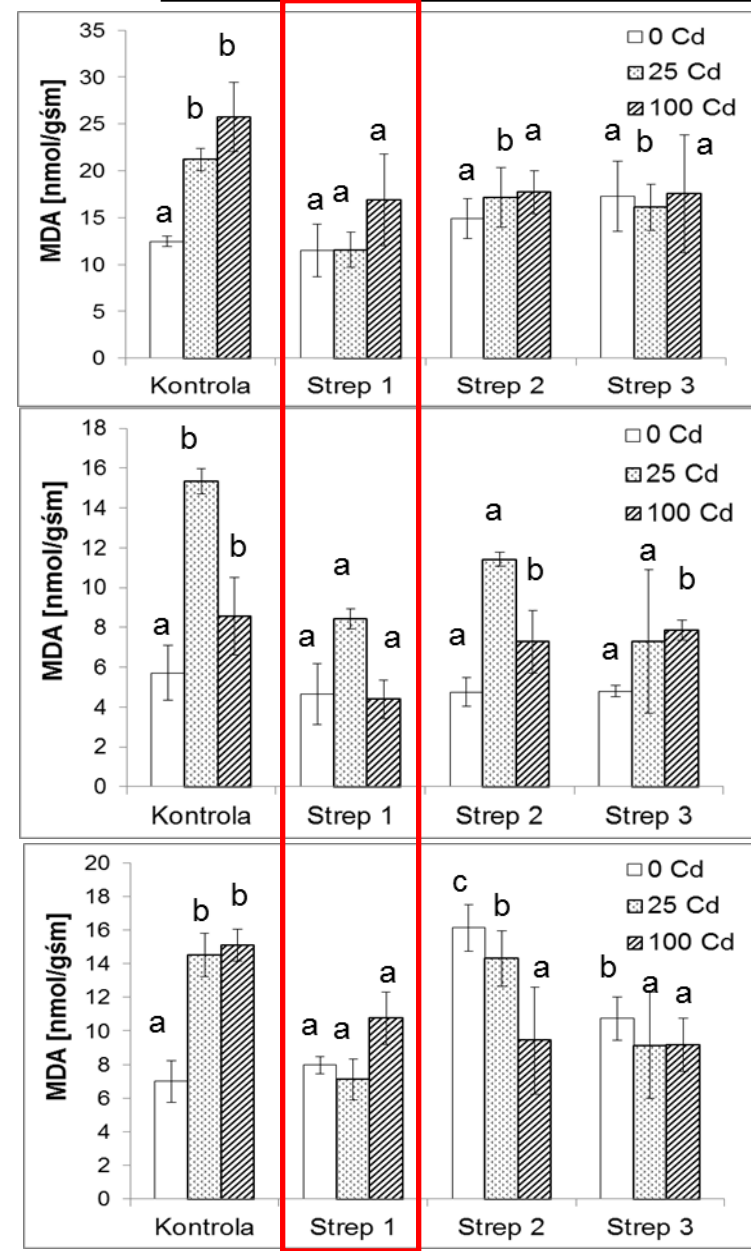
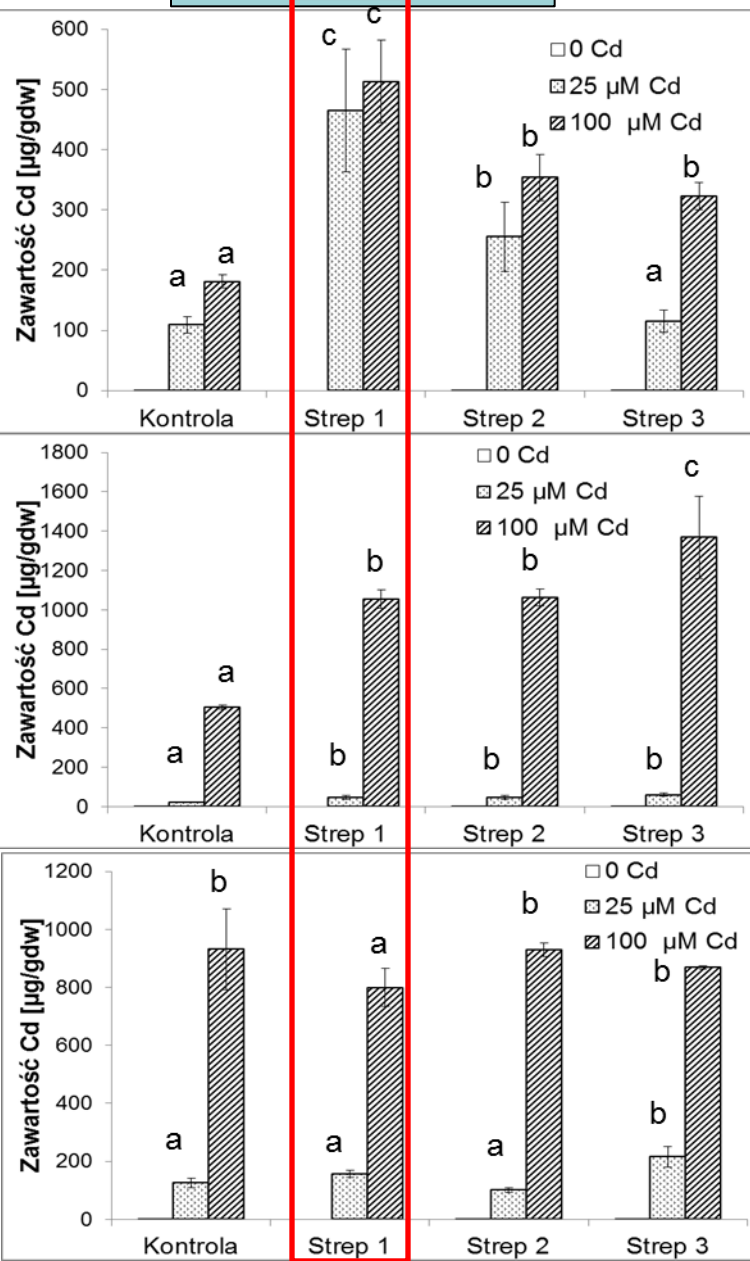
Akumulacja Cd

Peroksydacja lipidów

Liście

Pędy

Korzenie



3. Analiza wydajności mikrobiologicznie wspomaganej fitoremediacji w oparciu o wyselekcjonowane szczepy.

b) Doświadczenie donicowe (w trakcie realizacji)

Materiał badawczy

Wierzba długokończysta *S. dasyclados*

4 gleby o różnym poziomie skażenia metalami ciężkimi

Mikroorganizmy

Wyselekcjonowane bakterie: *Streptomyces* sp. SIIB-Zn-R8, SIIB-Cd-R4 i SIA-Zn-R4

Zaplanowane analizy

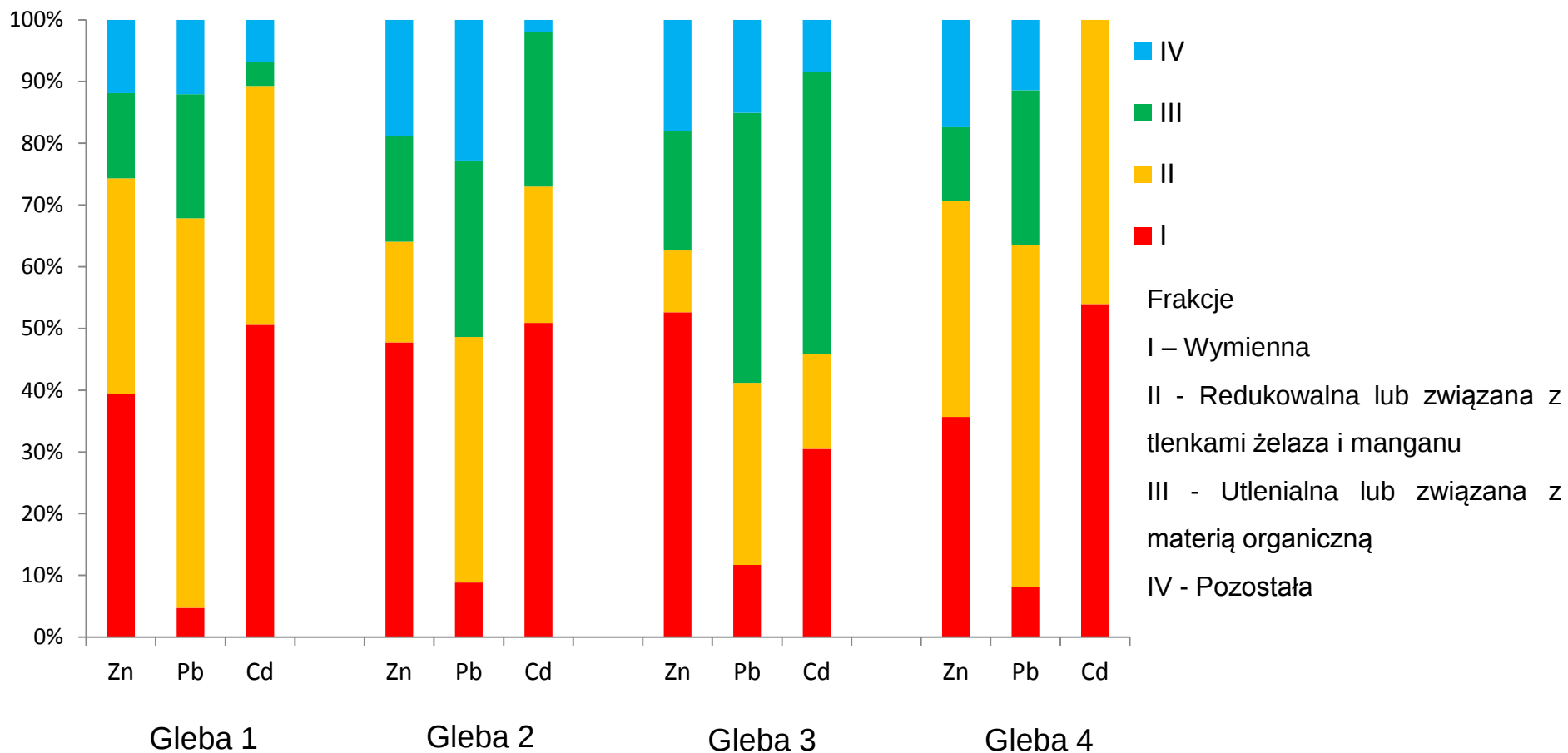
- Liczebność bakterii i grzybów
- Testy EcoPlates™
- Poziom stresu oksydacyjnego
- Parametry ekologiczne wzrostu roślin
- Poziom akumulacji metali ciężkich w biomase roślinnej
- Specjacja metali ciężkich w glebach



3. Analiza wydajności mikrobiologicznie wspomaganiej fitoremediacji w oparciu o wyselekcjonowane szczepy.

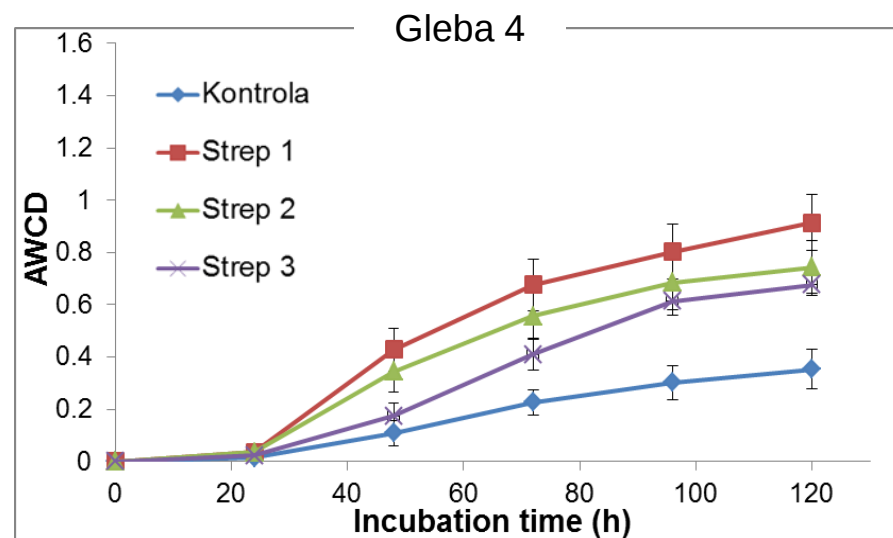
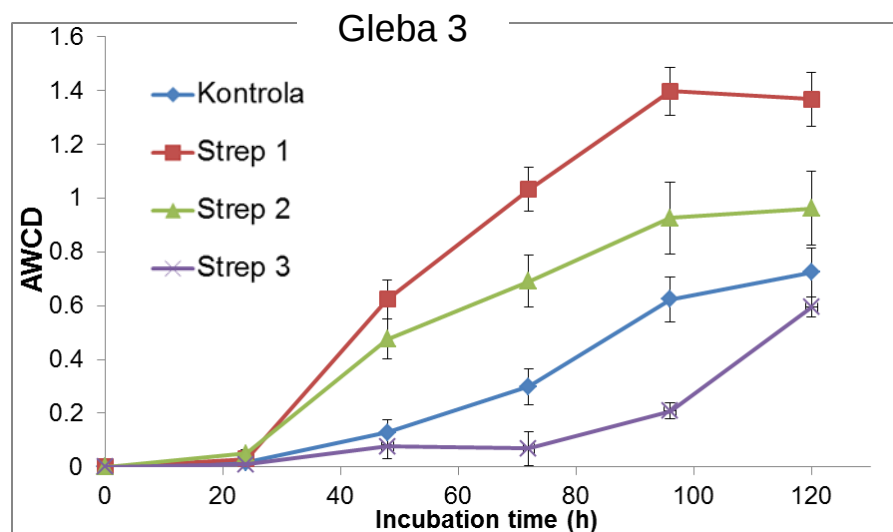
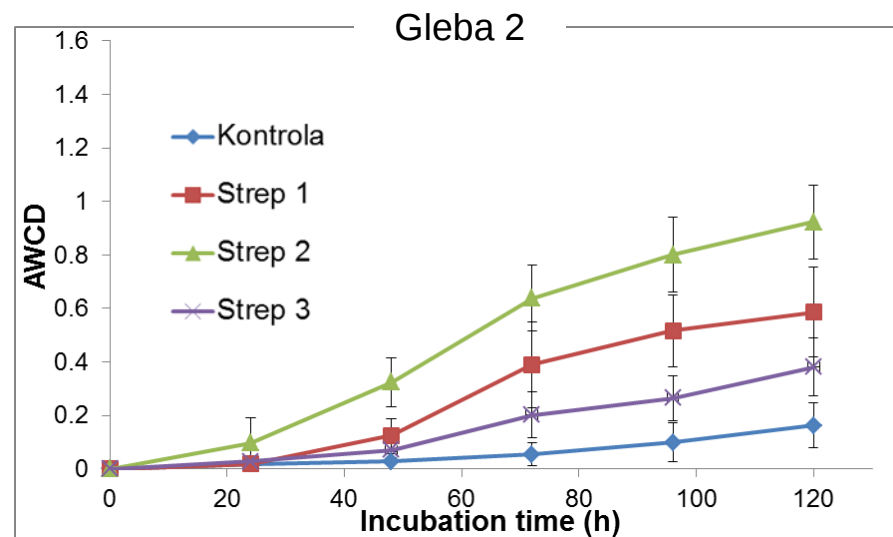
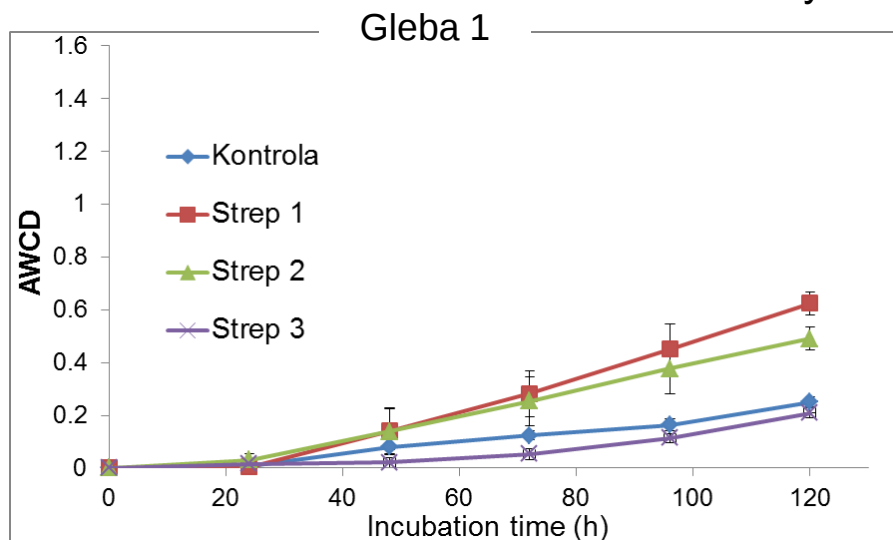
Oznaczone parametry glebowe: pH, C (%), N(%), C/N, H(%), stężenie Zn, Pb, Cd, uziarnienie, specjacja Zn, Pb, Cd

Specjacja metali ciężkich



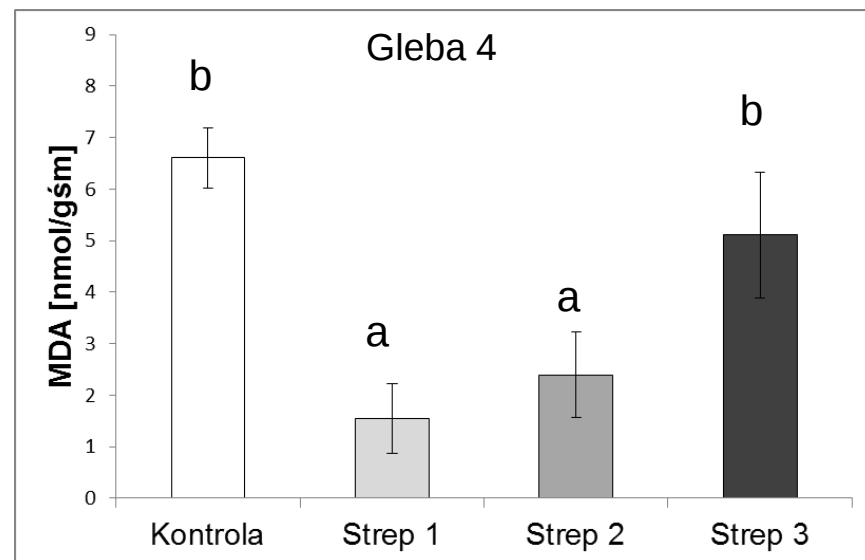
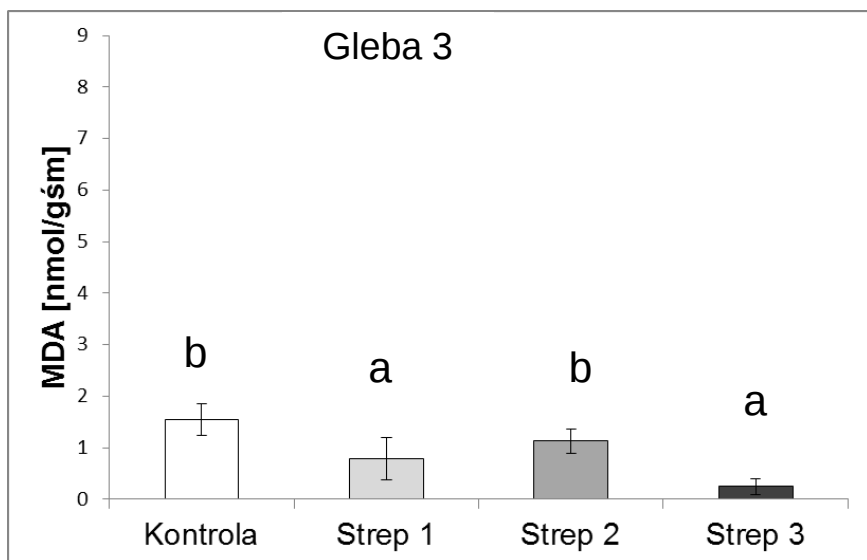
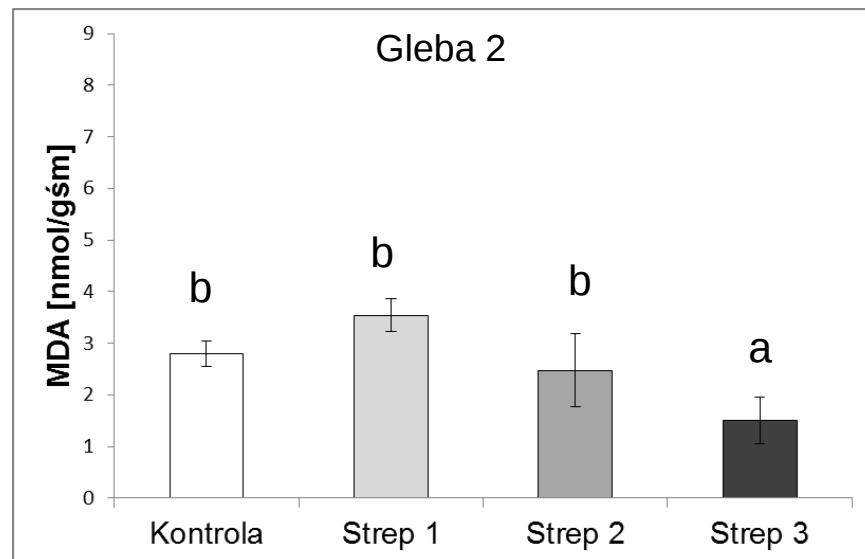
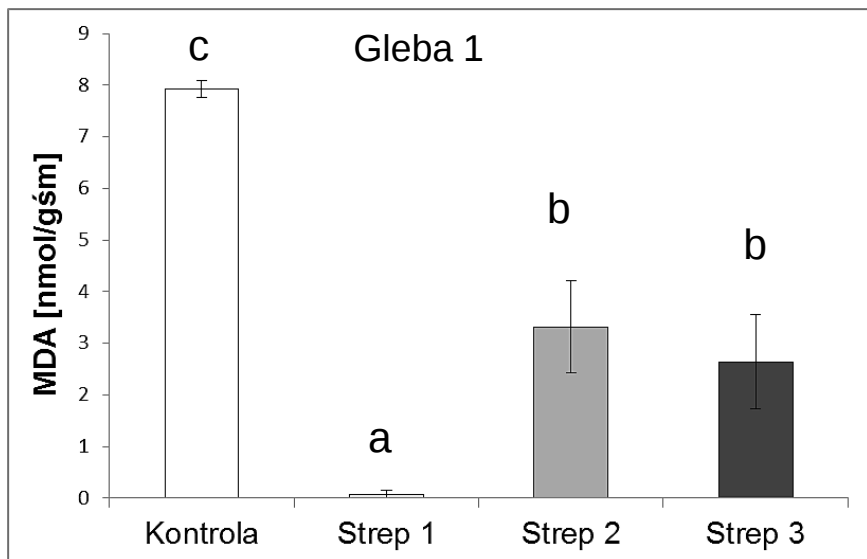
3. Analiza wydajności mikrobiologicznie wspomaganej fitoremediacji w oparciu o wyselekcjonowane szczepy.

Aktywność metaboliczna



3. Analiza wydajności mikrobiologicznie wspomaganej fitoremediacji w oparciu o wyselekcjonowane szczepy.

Peroksydacja lipidów



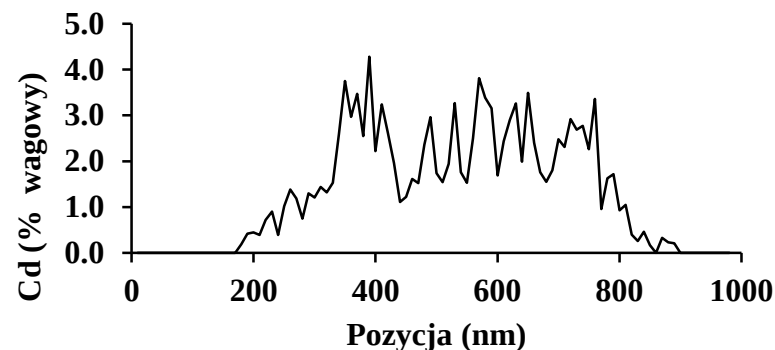
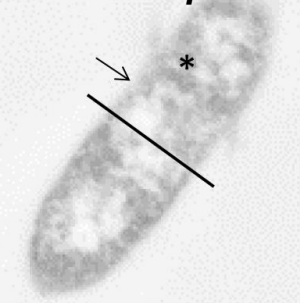
4. Badania nad mechanizmami biorącymi udział w mikrobiologicznej akumulacji Cd²⁺.

a) Selekcja mikroorganizmów

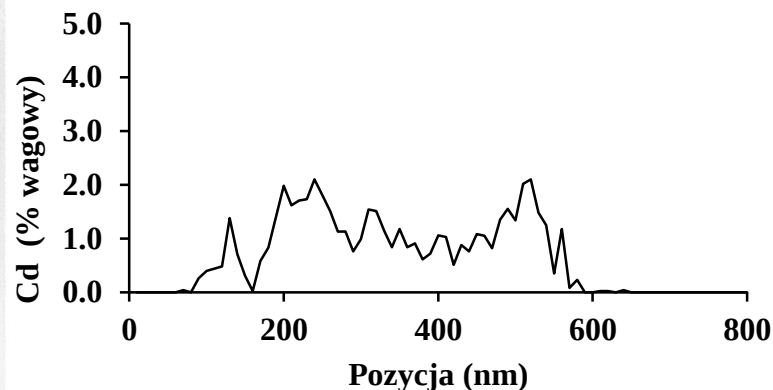
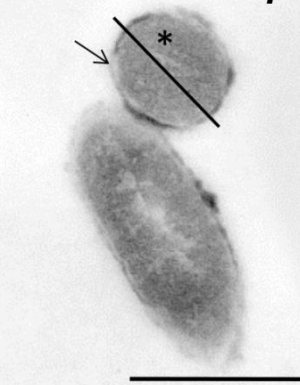
Analiza AAS

	masa	max efektywność
<i>Massilia</i> sp. III-116-18	22	100
<i>Pseudomonas</i> sp. IV-111-14	28	61
<i>L. rhizovicius</i> ML3-1	17	55
<i>P. fulva</i>	29	44
<i>Bacillus</i> sp. ML1-2	14	38
<i>B. cereus</i> B4	14	33
<i>S. entomophila</i> I-111-21	24	32
<i>B. cereus</i> B3	9	22
<i>Variovorax</i> sp. ML3-12	30	9
<i>Flavobacterium</i> sp. I-111-11	11	9
<i>P. fluorescens</i> LIC 1	25	8
<i>Luteibacter</i> sp. II-116-7	11	6
<i>B. cereus</i> B1	11	6
<i>Bacteroidetes</i> sp. I-116-1	16	5
<i>B. cereus</i> B2	2	2

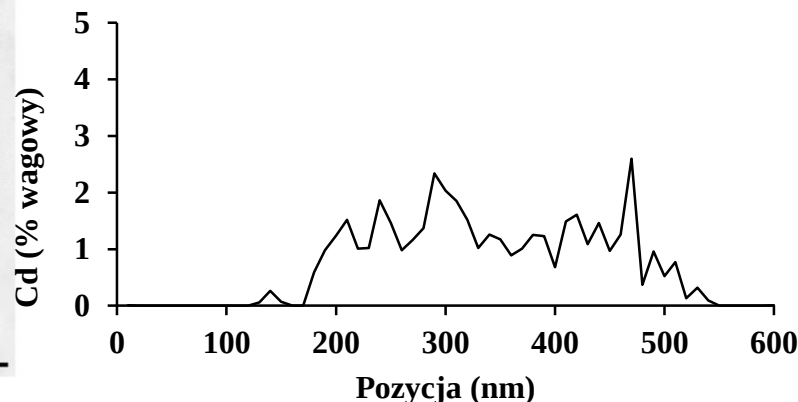
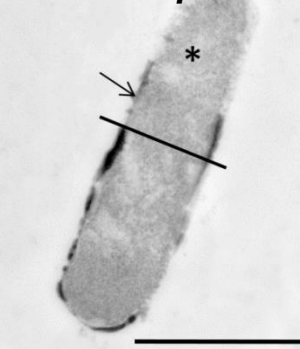
Massilia sp.



Pseudomonas sp.



Bacillus sp.



b) Wpływ wyselekcjonowanych szczepów na proces fitoremediacji Cd²⁺

Wariant	Liście			Pędy			Korzenie	
	Q	BCF	Ti	Q	BCF	Ti	Q	BCF
Kontrola	38.33 (1.39)	5.72 (0.49)	9.55 (1.79)	3.86 (2.33)	1.78 (0.57)	2.99 (1.01)	253.86 (55.09)	61.16 (8.29)
<i>Massilia</i> sp. III-116-18	62.86 ↑ (6.82)	5.64 (0.80)	9.89 (1.26)	0.89 (0.17) ↓	0.31 ↓ (0.07)	0.54 ↓ (0.12)	317.62 ↑ (15.30)	57.04 (4.31)
<i>Pseudomonas</i> sp. IV-111-14	48.68 ↑ (3.07)	5.02 ↓ (0.56)	7.23 ↓ (1.14)	8.14 ↑ (2.28)	3.11 ↑ (1.06)	4.43 (1.46)	309.14 ↑ (47.57)	70.64 ↑ (10.61)

Podsumowanie

1. Parametry fizykochemiczne gleb (m.in. stężenie metali ciężkich), jak również gatunek drzewa i strefa izolacji w istotny sposób wpływały na aktywność metaboliczną, profil fizjologiczny oraz skład rodzajowy populacji mikroorganizmów w glebach metalonośnych.
2. Szczepy należące do rodzaju *Streptomyces* były najwydajniejsze w procesie syntezy sideroforów.
3. Obecność Cd^{2+} w podłożu istotnie stymulowała syntezę sideroforów, np. ferrioksaminy B, co sugeruje znaczący udział sideroforów w tolerancji *Streptomyces* sp na Cd^{2+} .
4. Inokulacja wierzby wiciowej wyselekcjonowanymi szczepami w istotny sposób zwiększała wydajność fitoekstrakcji Cd^{2+} - wzrost współczynników wydajności fitoremediacji.
5. Bakterie o wysokim stopniu biokoncentracji Cd^{2+} obniżały stężenie badanego metalu w częściach nadziemnych roślin – podwyższenie wydajności fitostabilizacji.



interdyscyplinarne
studia doktoranckie
matematyczno-
przyrodnicze



Projekt „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UMK w Toruniu w dziedzinach matematyczno – przyrodniczych” realizowany w ramach poddziałania 4.1.1 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

Dziękuję za uwagę



KAPITAŁ LUDZKI
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI



UNIA EUROPEJSKA
EUROPEJSKI
FUNDUSZ SPOŁECZNY



Projekt współfinansowany przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego