

Univerzita Komenského v Bratislave
Prírodovedecká fakulta
Katedra pedológie, Katedra ekosoziológie

VYUŽITIE VLÁKNITÝCH MIKROSKOPICKÝCH HÚB V ENVIRONMENTÁLNYCH BIOTECHNOLÓGIÁCH A BIOREMEDIÁCIÁCH

**Ľubica Janovová, Alexandra Šimonovičová,
Marianna Molnárová, Agáta Fargašová**

zameranie výskumu

- schopnosť akumulácie vybraných ťažkých kovov **Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn** modifikovanými kmeňmi druhu *Aspergillus niger*
- porovnanie sledovaných kmeňov z hľadiska ich akumulačnej schopnosti v závislosti od **prostredia**, resp. miesta ich výskytu alebo substrátu, z ktorého boli izolované, od typu **modelového roztoku** a od akumulovaného **ťažkého kovu**
- na semenáčikoch horčice bielej (*Sinapis alba* L.) sledovať vplyv modifikovaných kmeňov v súvislosti s tvorbou fotosyntetických pigmentov (chlorofylu a, chlorofylu b a karotenoidov) a rastové charakteristiky

MATERIÁL A METÓDY

Mikroskopické huby:

druh *Aspergillus niger* (2 kmene):

An 1 fluvizem modálna Gabčíkovo

An 3 riečny sediment Pezinok

– Kolársky vrch

MATERIÁL A METÓDY

Príprava biomasy mycélia :

- kultivácia kmeňov na šikmom SAB agare (14 dní pri 25 °C) – 5 ml suspenzie konídií pridaných do 45 ml roztoku SAB média
- filtrácia vytvoreného mycélia
- premývanie v deionizovanej vode
- prenos do 50 ml modelového roztoku
- akumulácia 24 h pri 25 °C
- filtrácia, premytie v deionizovanej vode
- sušenie v termostate pri teplote do 40 °C

MATERIÁL A METÓDY

Modelové roztoky :

- banská voda + zmes prvkov
- zmes prvkov Cd, Cr(VI), Cu, Ni, Pb, Zn
- jednotlivé prvky samostatne

Stanovenie úbytku prvkov z roztoku akumuláciou
metódou AAS
v spolupráci s Katedrou analytickej chémie

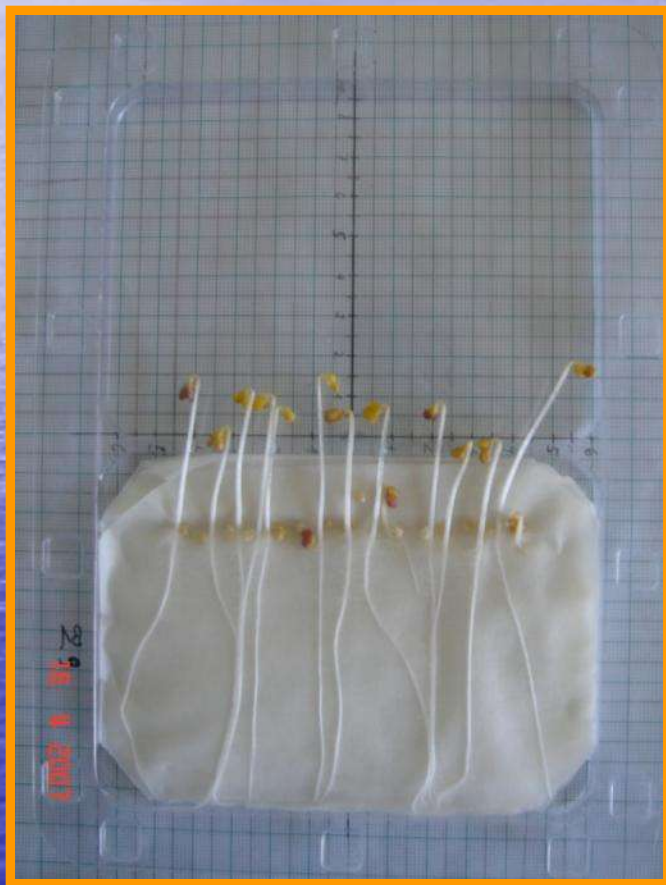
Mycéliá mikroskopických húb v modelových roztokoch



MATERIÁL A METÓDY

- 15 semien horčice bielej (*Sinapis alba* L., odroda Severka) + 24 ml testovanej vzorky
- kontrolná skupina (vodovodná voda), 3 paralelné merania
- rast na papierovej vate a filtračnom papieri 72 hod pri 25 ± 1 °C v tme
- po 3 dňoch odmeraná dĺžka koreňov a výhonkov (STN 83 8303)
- po ďalších 4 dňoch v podmienkach tma/svetlo – stanovené fotosyntetické pigmenty (chlorofyl a, chlorofyl b a karotenoidy) v zelených častiach semenáčikov

Kultivácia *Sinapis alba* L. v kontajneroch (3. a 7. deň)



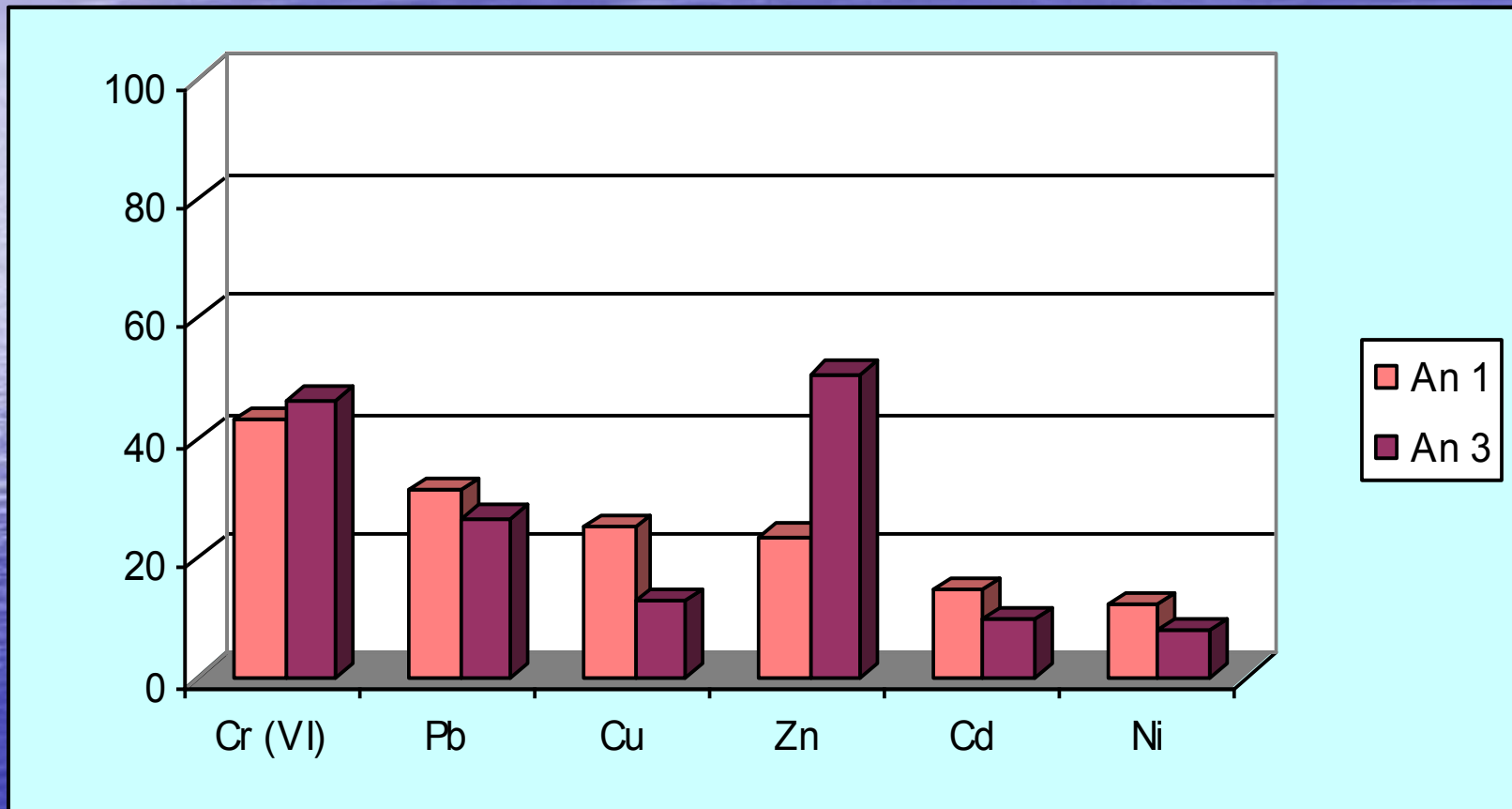
MATERIÁL A METÓDY

- pigmenty sa extrahovali 95 % (v/v) etanolom (30 mg čerstvých listov semenáčikov v 3 ml etanolu)
- merané pri 665, 649 a 470 nm
- obsah pigmentov v $\mu\text{g}/\text{mg}$ sušiny rastlinného extraktu
- výpočet inhibície (%) pre jednotlivé vzorky – štatistické vyhodnotenie Studentovým t-testom

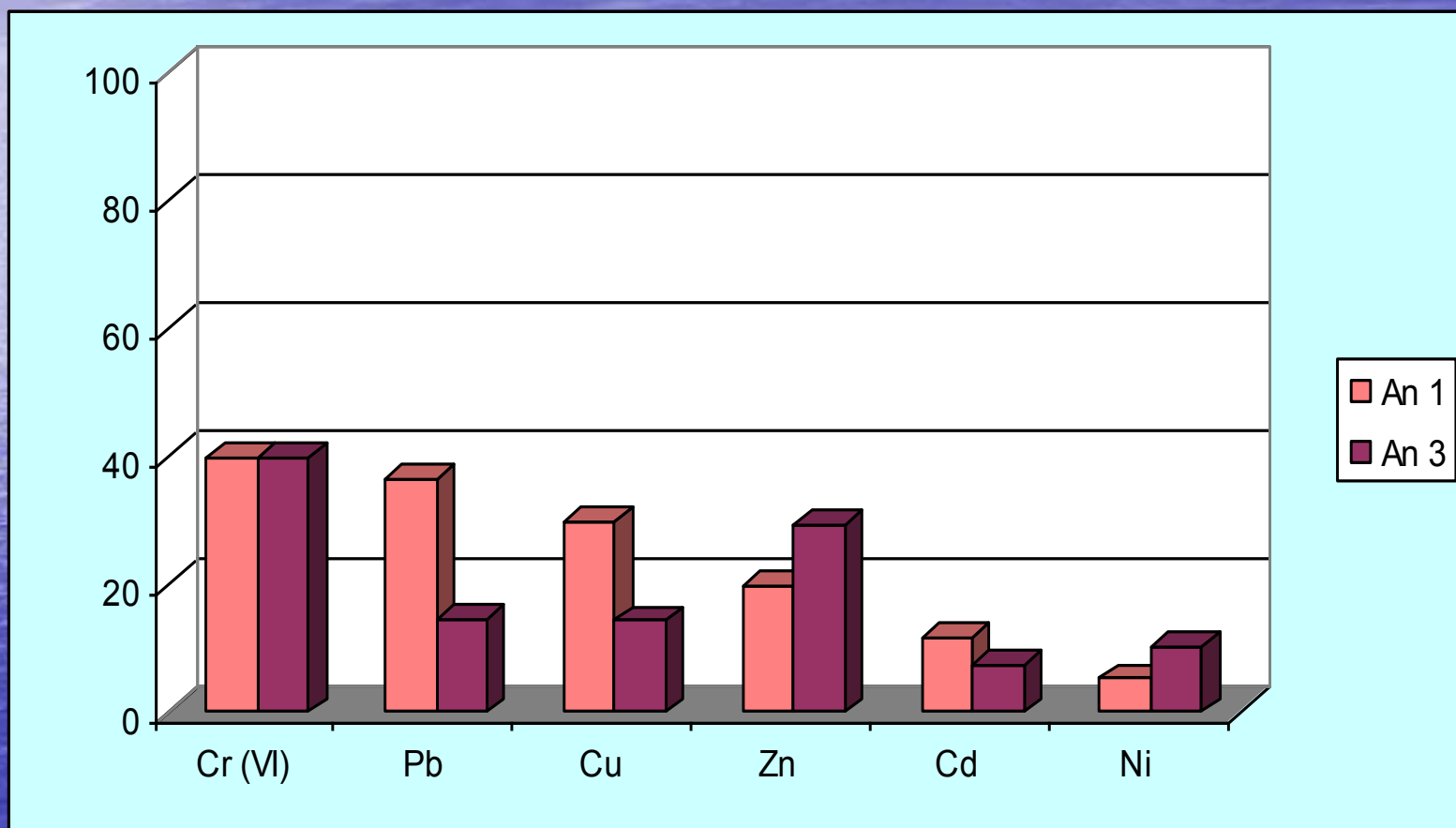
The background of the slide is an aerial photograph of a vast, deep blue ocean. The water's surface is textured with small, rhythmic waves. In the upper portion of the image, the sky is a lighter blue, filled with soft, wispy white clouds. The overall atmosphere is serene and expansive.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

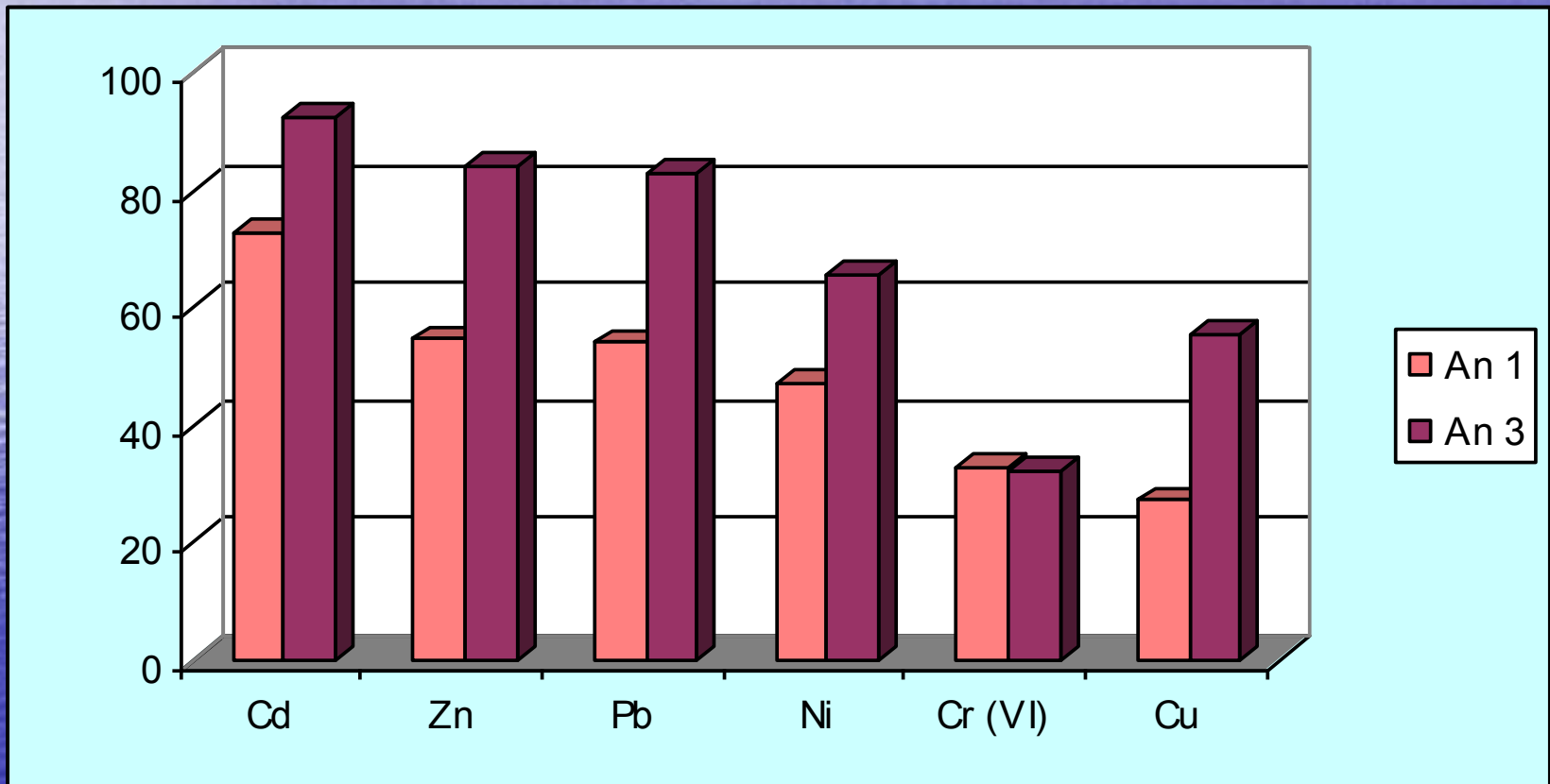
Akumulácia prvkov z experimentálneho roztoku banská voda + zmes prvkov v %



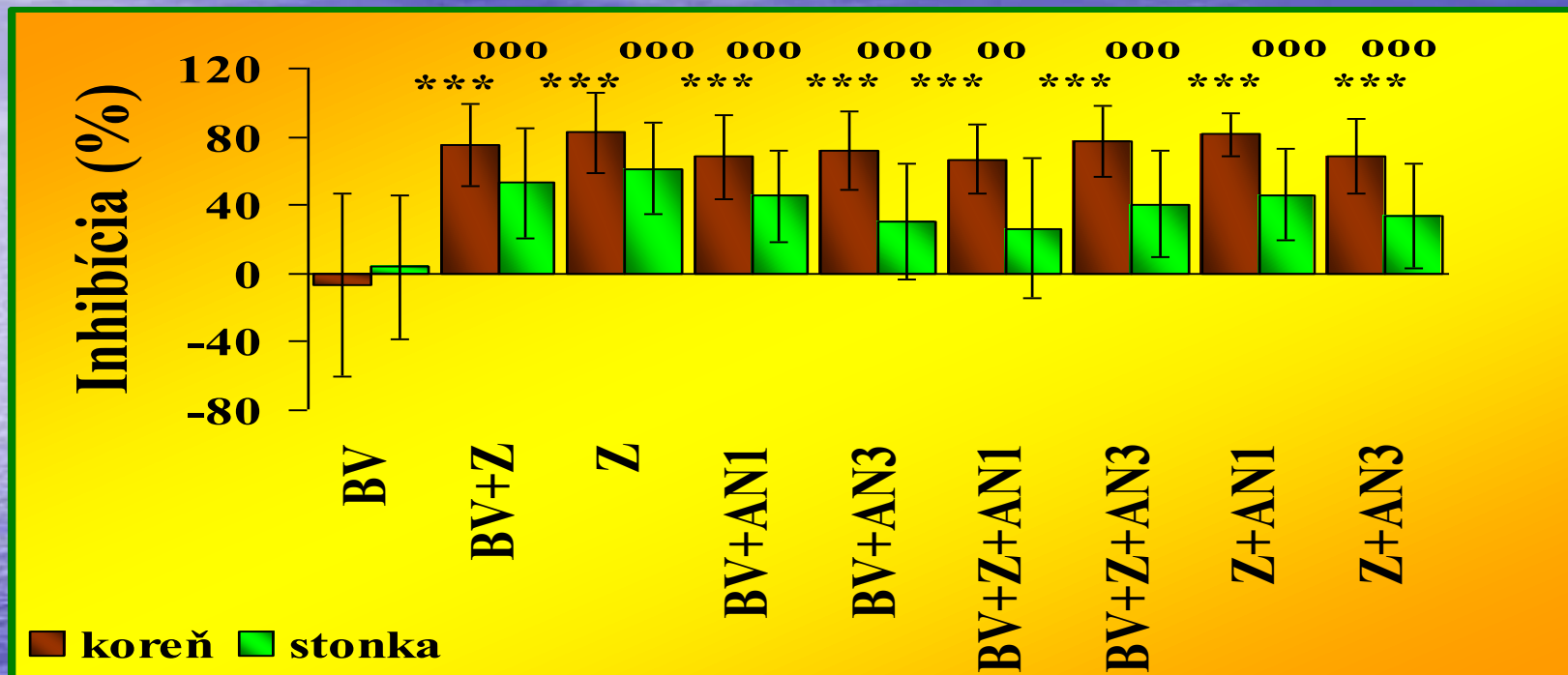
Akumulácia prvkov zo zmesného roztoku v %



Akumulácia jednotlivých prvkov samostatne v %

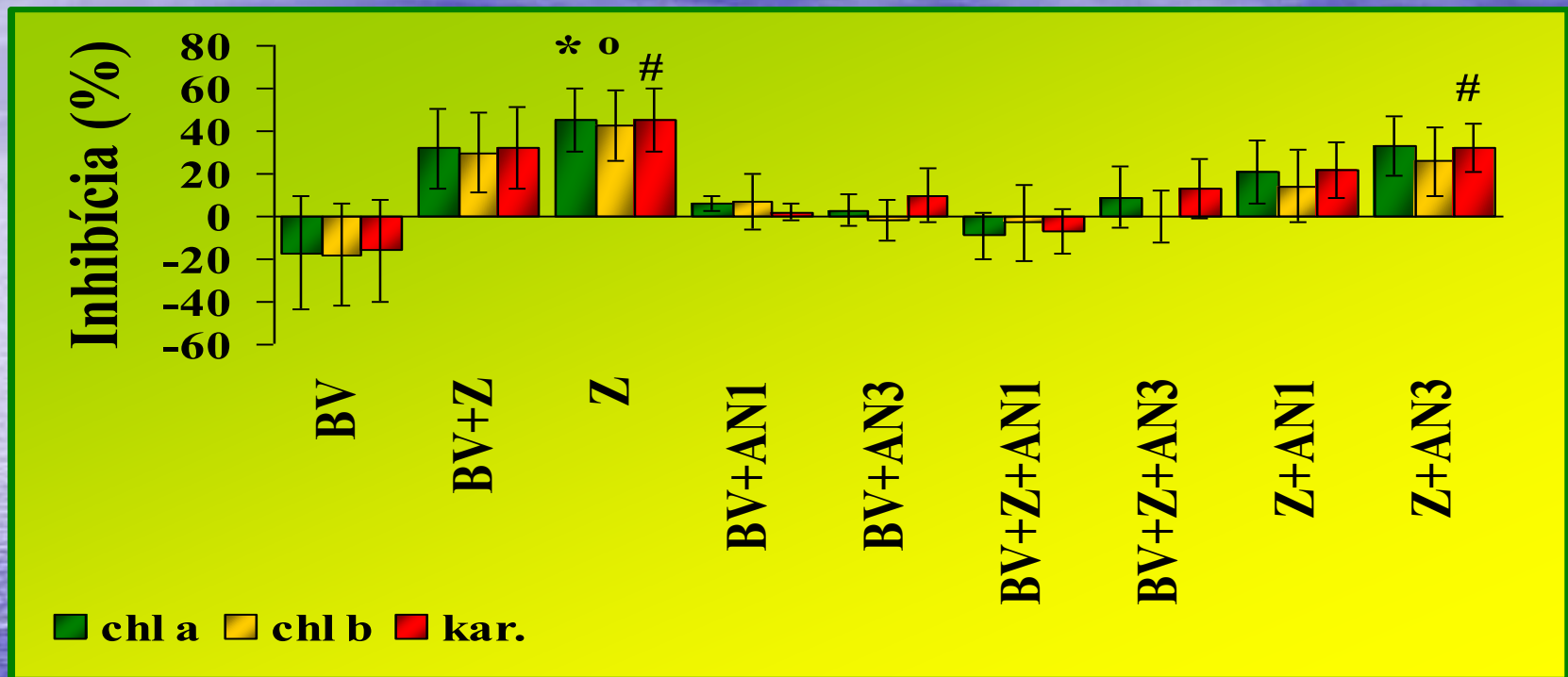


Inhibícia rastu koreňa a stonky semenáčikov *Sinapis alba* L.



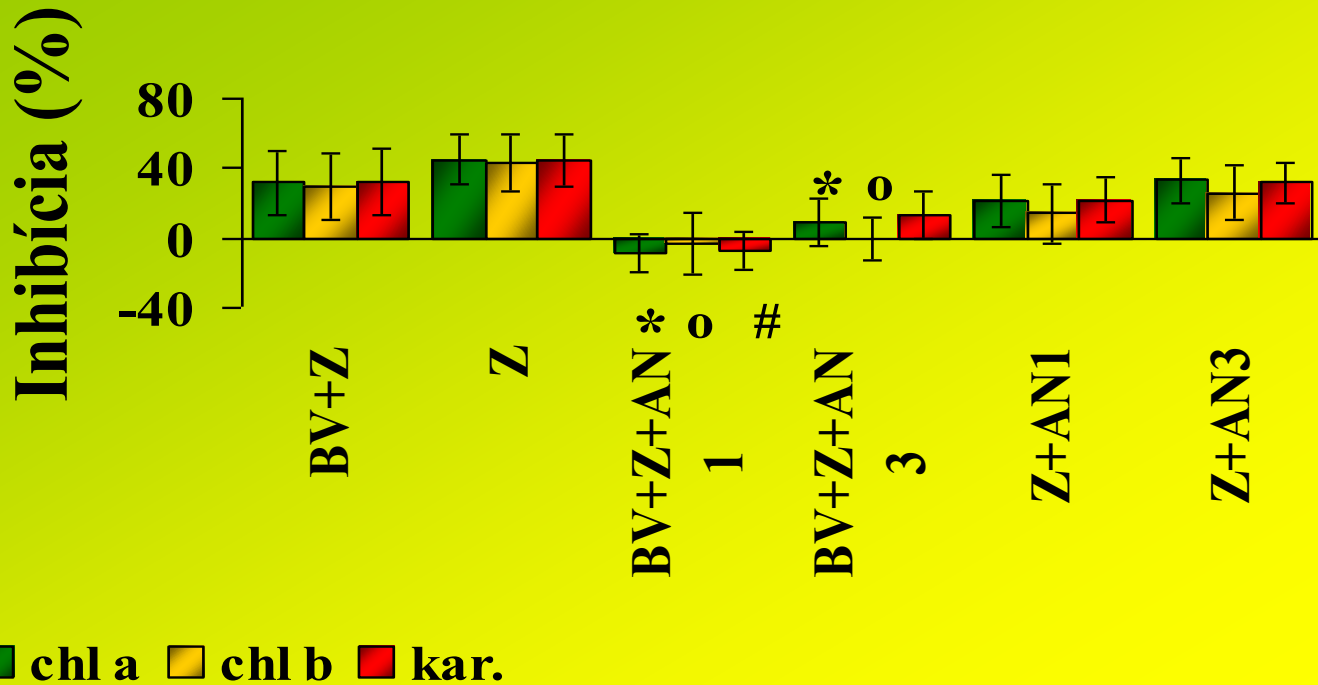
BV – banská voda, Z – zmesný roztok, AN1 – kmeň *An* 1, AN3 – kmeň *An* 3. V grafe sú uvedené aritmetické priemery spolu so štandardnou odchýlkou SD. Údaje sú vyhodnotené nepárovým obojstranným Studentovým *t*-testom, kde *** $p < 0,001$; ** $p < 0,01$. Hviezdičky (*) sú vzťahnuté na kontrolu – koreň, krúžky (o) na kontrolu – stonku.

Inhibícia produkcie fotosyntetických pigmentov semenáčikov *Sinapis alba* L.



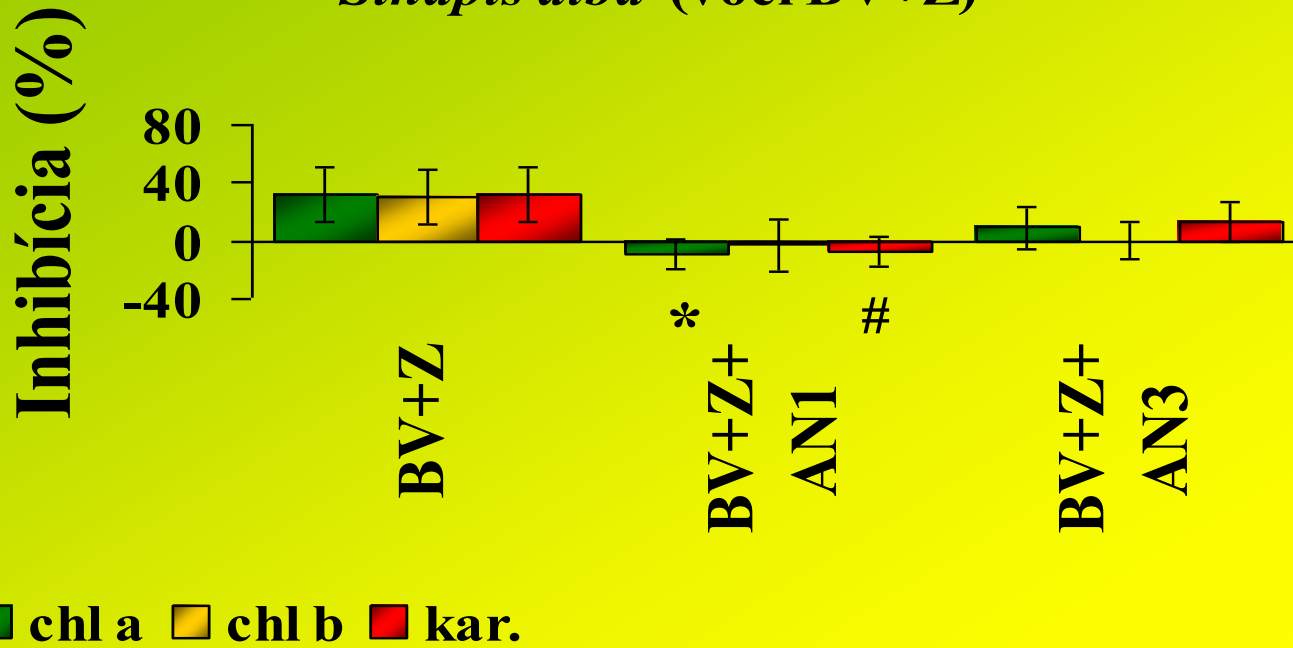
BV – banská voda, Z – zmesný roztok, AN1 – kmeň *An* 1, AN3 – kmeň *An* 3, chl a – chlorofyl a, chl b – chlorofyl b, kar. – karotenoidy. V grafe sú uvedené aritmetické priemery spolu so štandardnou odchýlkou SD. Údaje sú vyhodnotené nepárovým obojstranným Studentovým *t*-testom, kde * $p < 0,05$. Hviezdičky (*) sú vziahnuté na kontrolu – chlorofyl a, krúžky (o) na kontrolu – chlorofyl b, mriežky (#) na kontrolu - karotenoidy.

Inhibícia produkcie fotosyntetických pigmentov *Sinapis alba* (voči Z)



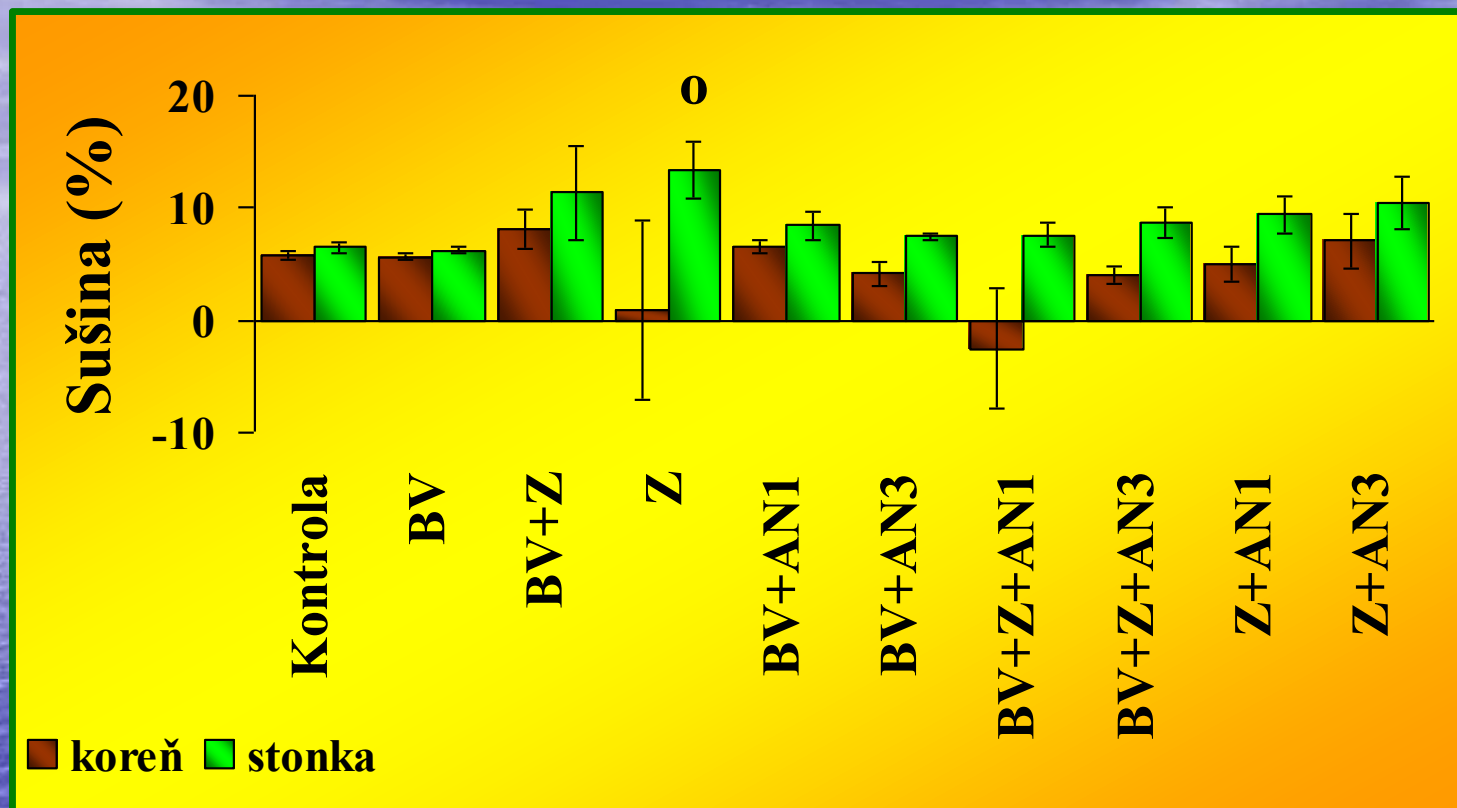
BV – banská voda, Z – zmesný roztok, AN1 – kmeň *An* 1, AN3 – kmeň *An* 3, chl a – chlorofyl a, chl b – chlorofyl b, kar. – karotenoidy. V grafe sú uvedené aritmetické priemery spolu so štandardnou odchýlkou SD. Udaje sú vyhodnotené nepárovým obojstranným Studentovým *t*-testom, kde * $p < 0,05$. Hviezdičky (*) sú vzťahnuté na kontrolu – chlorofyl a, krúžky (o) na kontrolu – chlorofyl b, mriežky (#) na kontrolu - karotenoidy.

Inhibícia produkcie fotosyntetických pigmentov *Sinapis alba* (voči BV+Z)



BV – banská voda, Z – zmesný roztok, AN1 – kmeň *An* 1, AN3 – kmeň *An* 3, chl a – chlorofyl a, chl b – chlorofyl b, kar. – karotenoidy. V grafe sú uvedené aritmetické priemery spolu so štandardnou odchýlkou SD. Udaje sú vyhodnotené nepárovým obojstranným Studentovým *t*-testom, kde * $p < 0,05$. Hviezdičky (*) sú vzťahnuté na kontrolu – chlorofyl a, kružky (o) na kontrolu – chlorofyl b, mriežky (#) na kontrolu – karotenoidy.

Sušina koreňa a stonky semenáčikov *Sinapis alba* L.



BV – banská voda, Z – zmesný roztok, AN1 – kmeň *An* 1, AN3 – kmeň *An* 3. V grafe sú uvedené aritmetické priemery spolu so štandardnou odchýlkou SD. Údaje sú vyhodnotené nepárovým obojstranným Studentovým *t*-testom, kde \circ $p < 0,05$. Krúžky (\circ) sú vzťahnuté na kontrolu – stonku.

ZÁVER

- Najvyššiu akumuláciu ťažkých kovov mikroskopickými hubami zo zmesných roztokov sme zistili u Cr(VI) a Pb a najnižšiu u Cd a Ni.
- Ak sa kovy nachádzali v roztoku samostatne, najvyššiu akumuláciu sme zaznamenali u Cd prípade obidvoch kmeňov, najnižšiu v prípade kmeňa *An* 1 pre Cu a pri kmeni *An* 3 pre Cr(VI).
- Ak sa v roztoku nachádzal len jeden kov, mycélium testovaných kmeňov akumulovalo oveľa väčšie množstvo príslušného kovu, pričom bol kmeň *An* 3 vždy účinnejší.

- V obidvoch zmesných roztokoch sa z hľadiska akumulácie viac uplatnil *An 1* a v samostatných roztokoch kmeň *An 3*.
- Keďže roztoky v prírodnom/prirodzenom prostredí zvyčajne obsahujú zmes viacerých prvkov, na akumuláciu skúmaných ťažkých kovov sa javí vhodnejšia aplikácia kmeňa *An 1*.
- Výnimku tvorí Zn, ktorý účinnejšie akumuloval kmeň *An 3* v obidvoch typoch zmesných roztokov.

**Naše zistenia naznačujú
možnosť ovplyvnenia výskytu iónov ťažkých
kovov v pôde *elimináciou ich množstva vo
vodnom prostredí.***

**Výsledky súvisia s možnosťou aplikácie mycélií
druhu *A. niger* v odpadovom hospodárstve**

***v oblasti biotechnológií úpravy a
remediácie vôd* s presahom do rekultivácie a
ochrany pôdy až k ochrane ľudského
zdravia cez bezpečnejší potravinový
reťazec.**

pod'akovanie:

**Projekt bol realizovaný za finančnej podpory
Vedeckej grantovej agentúry MŠ SR (VEGA)
grantami č. 1/0159/08 a 1/4361/07.**

Ďakujem za pozornosť ☺