VI MIĘDZYNARODOWA KONFERENCJA NAUKOWA
PRZYCZYNY I SKUTKI DEGRADACJI ŚRODOWISKA GLEBOWEGO

IUNG Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa Państwowy Instytut Badawczy

RZESZÓW – KRASICZYN 11 – 13 września 2018 r.

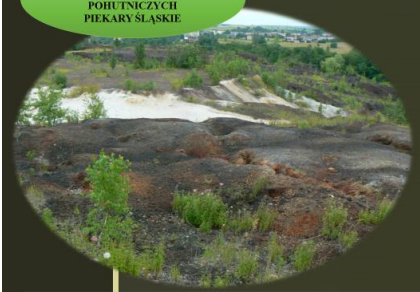
BIORÓŻNORODNOŚĆ I AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA WIERZCHNIEJ WARSTWY SKŁADOWISKA ODPADÓW POHUTNICZYCH JAKO WSKAŹNIKI TRWAŁOŚCI REKULTYWACJI

Siebielec Sylwia[1], Siebielec Grzegorz[2], Grzęda Emilia[1]

[1]Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, Czartoryskich 8, 24-100 Puławy; ssiebielec@iung.pulawy.pl
[2]Zakład Gleboznawstwa Erozji i Ochrony Gruntów, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, Czartoryskich 8, 24-100 Puławy; gs@iung.pulawy.pl

Solidago gigantea

OBIEKT BADAŃ
SKŁADOWISKO ODPADÓW POHUTNICZYCH
PIEKARY ŚLĄSKIE



Zanieczyszczenie gleb metalami może powodować toksyczność dla roślin i mikroorganizmów glebowych ograniczając zdolność gleby do pełnienia funkcji produkcyjnych i środowiskowych. Składowiska odpadów pohutniczych (żużli i odpadów poflotacyjnych) i gleby o ekstremalnie wysokich zawartościach cynku, ołowiu, kadmu i arsenu stanowią poważny środowiskowy problem w obszarach o dużym zagęszczeniu przemysłu hutniczego, czego przykładem jest obszar Górnego Śląska. Jak dotąd nie są wystarczająco poznane wpływ zabiegów rekultywacyjnych na mikroorganizmy oraz rola mikroorganizmów w zasiedlaniu składowisk odpadów pohutniczych przez rośliny.

CEL PRACY

CHARAKTERYSTYKA SKŁADOWISKA OBSZARÓW POHUTNICZYCH POD WZGLĘDEM MIKROBIOLOGICZNO – CHEMICZNYM W ODNIESIENIU DO WPŁYWU ZASTOSOWANYCH DODATKÓW DOGLEBOWYCH (OSADU ŚCIEKOWEGO I WAPNA ODPADOWEGO)

MATERIAŁ I METODY

- Określono wpływ zróżnicowanego nawożenia wierzchniej warstwy hałdy na liczebność wybranych grup drobnoustrojów oraz aktywność enzymatyczną podłoża skorelowaną z parametrami fizykochemicznymi.
- Badanie aktywności dehydrogenaz wykonano według Casida i in. (1964) metodą kolorymetryczną, z zastosowaniem jako substratu 3-procentowego TTC (chlorku trójfenylotetrazolu), po 24-godzinnej inkubacji w temperaturze 37°C, przy długości fal 485 nm. Aktywność fosfatazy zasadowej i kwaśnej wykonano metodą kolorymetryczną z zastosowaniem PNP (p-nitrofenylofosforan sodu), po 1-godzinnej inkubacji w temperaturze 37°C, przy długości fali 410nm (Tabatabai i Bremner, 1969).
- Ogólną liczebność bakterii właściwych i promieniowców (Wallace i Lochhead, 1950), ogólną liczebność bakterii z rodzaju Azotobacter (Fenglerowa, 1965), ogólną liczebność bakterii amonifikacyjnych (Rodina, 1968) oraz ogólną liczebność grzybów (Martin, 1950) określono metodą wysiewu rozcieńczeń glebowych.
- Ponadto przeprowadzono genetyczną identyfikację bakterii z rodzaju *Azotobacter*, uznanej jako modelowy organizm w badaniach nad biochemizmem procesu wiązania azotu atmosferycznego. Badania molekularne obejmowały izolacje DNA z płynnych hodowli, określenie przynależności gatunkowej izolatów z zastosowaniem metody sekwencjonowania16S rDNA oraz genotypowanie szczepów metodą PCR MP w celu określenia powiązań genetycznych.
- Wykonano analizę botaniczną składowiska odpadów pohutniczych oraz obliczono wskaźnik różnorodności biologicznej dla zrekultywowanego obszaru.

✓ Próbki podłoża pobrano w roku 2016 z głębokości 0-20 cm w 3 powtórzeniach spod roślinności w wieloletnim doświadczeniu polowym (rekultywacja w 1997 r.) na składowisku w Piekarach Śląskich.

✓ Obszary składowiska potraktowane zostały różnymi dawkami osadu ściekowego i wapna odpadowego.

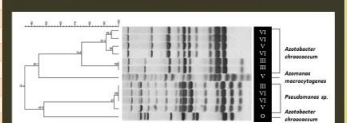
Numeracja obiektu poddanego rekultywacji	Kombinacja	
	Osad ściekowy	Wapno odpadowe
0	Brak	Brak
I	150 t/ha	0
II	300 t/ha	0
III	150 t/ha	100 t/ha
IV	300 t/ha	100 t/ha
V	150 t/ha	1000 t/ha
VI	300 t/ha	1000 t/ha

WYNIKI

($p < 0.05$, n = 3), Tukey's Test

	Particle size (%)				pH in H_2O		$CaCO_3$ (%)		OM (%)	
	2-0.1 mm		< 0.02 mm							
	mean	STD	mean	STD	mean	STD	mean	STD	mean	STD
0	77.6^{a}	8.1	8.8^{d}	3.3	8.1^{ab}	0.17	14.8^{bc}	1.8	19.5^{a}	7.2
I	79.1^{a}	3.2	6.5^{d}	1.0	8.0^{b}	0.00	7.4^{cd}	2.4	15.1^{ab}	1.4
II	82.5^{a}	0.6	4.1^{e}	0.2	7.6^{c}	0.05	1.1^{d}	0.2	9.3^{b}	0.9
III	56.6^{b}	5.2	18.1^{c}	2.4	8.0^{b}	0.08	16.7^{b}	0.2	17.5^{ab}	1.2
IV	56.0^{b}	7.8	18.2^{c}	2.6	8.0^{b}	0.05	16.8^{b}	2.7	17.6^{ab}	1.7
V	27.8^{c}	2.5	41.2^{a}	2.4	8.3^{a}	0.08	28.8^{a}	4.0	11.9^{ab}	0.5
VI	32.0^{c}	3.4	31.1^{b}	3.0	8.0^{b}	0.08	22.2^{ab}	3.3	16.8^{ab}	0.3

Analiza botaniczna (pokazowo, wybrane gatunki)



Genotypowanie szczepów metoda PCR MP

($p < 0.05$, n = 3) according to the Mann-Whitney test

Genus	Species	I	II	III	IV	V	VI
Agrostis	*Agrostis capillaris*	+	+/-	+/-	+/-	+/-	+
Artemisia	*Artemisia vulgaris*	+	+/-	+/-	+/-	+	+
Calamagrostis	*Calmagrostis epigejos*	+/-	+	+	+	+/-	+
Arabidopsis	*Arabidopsis arenosa*	+	+/-	+/-	+/-	+/-	-
Carduus	*Carduus acanthoides*	-	+/-	+/-	+/-	+/-	+
Convolvulus	*Convolvulus repens*	-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
Daucus	*Daucus carota*	+	+	+	+	+	+
Festuca	*Festuca arundinacea*	+	+	+	+	+	+
Festuca	*Festuca ovina*	+	+/-	+/-	+/-	+/-	-
Festuca	*Festuca rubra*	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+/-
Hieracium	*Hieracium piloselloides*	+	+/-	+/-	-	-	+/-
Hypochaeris	*Hypochaeris glabra*	+	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
Hypochaeris	*Hypochaeris radicata*	+	+	+	+	+	+
Mizandrium	*Melandrium album*	-	-	-	+	+	+
Poa	*Poa pratensis*	+/-	+	+	+	+	+/-
Silene	*Silene vulgaris*	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	-
Solidago	*Solidago gigantea*	+/-	+/-	+	+	+	+/-

	Dehydrogenases µg TPF g soil DM^{-1} h^{-1}		Alkaline phosphatase µg p-nitrophenyl g soil DM^{-1} h^{-1}		Acidic phosphatase µg p-nitrophenyl g soil DM^{-1} h^{-1}	
	mean	STD	mean	STD	mean	STD
0	0.12^{bc}	0.04	27.0^{b}	10.4	26.0^{a}	5.7
I	0.09^{c}	0.02	22.1^{b}	6.0	39.4^{a}	10.3
II	0.16^{bc}	0.00	36.5^{b}	0.9	67.8^{b}	3.5
III	0.22^{b}	0.05	52.5^{a}	11.3	86.8^{b}	18.8
IV	0.27^{bc}	0.08	71.0^{ef}	29.6	118.9^{bc}	38.8
V	0.20^{cd}	0.03	47.4^{c}	5.5	85.2^{b}	8.2
VI	0.40^{a}	0.05	91.3^{d}	8.0	154.7^{a}	18.0

	Total number of bacteria 10^7 CFU g^{-1} d.m. of soil		Total number of bacteria Azotobacter 10^4 CFU g^{-1} d.m. of soil		Total number of ammonification bacteria 10^7 CFU g^{-1} d.m. of soil		Total number of fungi 10^4 CFU g^{-1} d.m. of soil	
0	2.35^{a}	1.14	0.00^{a}	0.00	0.25^{a}	0.15	12.76^{a}	3.86
I	6.32^{b}	2.60	0.00^{a}	0.00	1.80^{ab}	1.16	12.31^{a}	2.99
II	42.93^{c}	17.02	0.00^{a}	0.00	0.81^{a}	0.59	121.44^{c}	21.40
III	100.38^{cd}	63.57	207.64^{bc}	102.60	2.97^{b}	0.28	62.52^{bc}	45.48
IV	95.38^{cd}	35.58	180.61^{bc}	76.91	5.16^{bc}	4.67	44.47^{b}	16.28
V	47.63^{c}	13.81	221.17^{d}	19.20	5.94^{bc}	3.77	55.70^{b}	27.40
VI	155.43^{d}	34.40	111.91^{b}	15.14	9.44^{c}	2.56	73.61^{bc}	37.20

	H_2O – extractable						Total content							
	Cd		Zn		Pb		Cd		Pb		Zn		As		Hg	
	mean	STD	mean	STD	mean	STD	mean	STD	mean	STD	mean	STD	mean	STD	mean	STD
0	0.016^{a} bc	0.010	0.07^{a}	0.04	0.07^{a}	0.04	163^{ab} c	114	4876^{a} bcd	2953	1985 g^{d}	9781	1286^{d}	195	0.52^{a}	0.45
I	0.021^{b} c	0.015	0.74^{c} d	0.29	0.41^{b} c	0.13	607^{d}	412	1639 4^{b}	8164	2404 6^{d}	7003	1219^{d}	162	2.15^{b} c	0.91
II	0.027^{c}	0.013	1.49 d	0.49	0.76^{c}	0.36	242^{d}	109	6351^{c} de	2840	7613^{e}	2525	273^{ab}	111	2.70^{c}	0.29
III	0.009^{a}	0.002	0.95 d	0.25	0.28^{b}	0.06	334^{d} e	92	9483^{d} e	2761	2627 4^{d}	8056	672^{c}	5	2.09^{b} c	0.56
IV	0.011^{b} c	0.005	1.19 d	0.47	0.32^{b} c	0.10	224^{d}	14	6503^{b} cd	472	1752 1^{c}	3957	677^{c}	200	1.71^{b}	0.47
V	0.002^{a}	0.000	0.18 b	0.05	0.04^{a}	0.02	134^{b}	11	3052^{a} c	396	1620 3^{c}	102	213^{a}	1	0.98^{a}	0.23
VI	0.003^{a}	0.001	0.82^{c}	0.48	0.08^{a}	0.03	95^{a}	4	2303^{a}	175	1342 5^{b}	456	173^{a}	19	1.86^{b}	0.21

Solidago gigantea

Przeprowadzone badania wykazały duże zróżnicowanie właściwości fizykochemicznych. Aktywności były najwyższe dla osadu ściekowego i wapna odpadowego, zwłaszcza w dawkach 300 i 1000 t/ha. Próbki pobrane z obszaru kontrolnego oraz obiektu gdzie zastosowano osad ściekowy i wapno odpadowe charakteryzowały się przewagą frakcji > 0,01 mm - do 82,5%. Całkowite podobieństwo genetyczne bakterii wiążących N wynosiło 35,4%. Analiza statystyczna wyodrębniła 5 różnych grup genotypów, w tym 2 grupy *A. chroococum*. Podobieństwo między tymi grupami A. chroococcum nie przekraczało 74,6%.

Narodowe Centrum Nauki

Badania realizowane w ramach projektu nr 2015/17/N/ST10/03182 Narodowego Centrum Nauki (NCN) otrzymanego w ramach konkursu Preludium 9, pt.: „Rola mikroorganizmów w zasiedlaniu składowisk odpadów pohutniczych przez rośliny oraz ich wpływ na biodostępność pierwiastków śladowych" (2018-2021) oraz projektu RECARE (numer grantu 603498), finansowanego ze środków 7 Programu Ramowego.