

Aleksandra SAS-NOWOSIELSKA¹, Regina GALIMSKA-STYPA²

¹Institut Ekologii Terenów Przemysłowych
40-832 Katowice, ul. Kossutha 6

²Uniwersytet Śląski, Katedra Mikrobiologii
40-032 Katowice, Jagiellońska 28

FITOEKSTRAKCJA JAKO PRZYJAZNA DLA ŚRODOWISKA METODA OCZYSZCZANIA GLEB Z OŁOWIU

Streszczenie. W ostatnich latach wśród technologii oczyszczania gleb z metali duże zainteresowanie budzi fitoekstrakcja. Jest to metoda wykorzystująca zdolności roślin do biokumulacji znacznych ilości metali w tkankach. W celu intensyfikacji procesu do gleby wprowadzane są związki chelatyzujące. Ocenie ich wpływu na biomasę roślin oraz wybrane mikroorganizmy glebowe poświęcona jest niniejsza praca.

PHYTOEXTRACTION: ENVIRONMENTAL-FRIENDLY METHOD OF CONTAMINATED SOIL CLEANING

Summary. Phytoextraction is a method that uses properties of plants for soil-extracted metal accumulation in their tissues, on the purpose of soil cleaning. In case of so called "induced phytoextraction", chelating agents are added to the soil. The goal of the described experiment is to estimate the influence of the amendment added to the soil on biomass produced and growth of soil microorganisms.

WPROWADZENIE

Zainteresowanie problemem, jak przywrócić terenom zanieczyszczonym ich dawne walory trwa od dłuższego już czasu [2,8,9]. Wskazuje się na możliwe do zastosowania technologie i sugeruje różne scenariusze postępowania z takimi obszarami. Bardzo często zmierza się do obniżenia stężeń zanieczyszczeń bez zwracania uwagi na efekty uboczne towarzyszące stosowaniu technologii chemiczno-technicznych, czego konsekwencją jest niszczenie wszelkich przejawów życia biologicznego w oczyszczonym gruncie.

W ostatnich latach zainteresowanie budzą technologie mniej agresywne wobec środowiska. Do takich metod zaliczana jest fitoekstrakcja, - metoda wykorzystująca naturalne właściwości roślin do biokumulacji metali w tkankach. Efektywność tej metody może być wspomagana poprzez dodatek związków chelatyzujących do gleby [1,7,14].

W Polsce od roku 1997 prowadzone są w warunkach polowych badania nad oceną efektywności wspomaganego procesu fitoekstrakcji [10,11,16]. Wybór rośliny, rodzaj i ilość dodatku wprowadzanego do gleby, jak również wstępna ocena procesu wynoszenia zanieczyszczeń z gleby do części nadziemnej roślin testowych następuje po serii badań w warunkach laboratoryjnych.

Ocena,

- jak wprowadzenie związku chelatyzującego (sól trójpotasowa kwasu wersenowego) do zanieczyszczonej metalami ciężkimi gleby wpływa na wagę świeżej i suchej masy roślin, tak znaczących parametrów dla opłacalności procesu oczyszczania oraz
 - jak reagują w warunkach naturalnych wybrane wskaźniki mikrobiologiczne.
- stanowi cel niniejszej pracy.

MATERIAŁ I METODY

Do badań wybrano uprawiany rolniczo teren, zlokalizowany w pobliżu dawnej huty metali nieżelaznych Orzeł Biały w Bytomiu. Właściwości fizykochemiczne gleby przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1

Charakterystyka gleby

Badana cecha	Zakresy
Gatunek pH H ₂ O zasolenie [g/dm ³]	Glina piaszczysta 6,4 – 7,2 0,4 - 0,8
Zawartość przyswajalnych form makro- i mikroelementów [mg/dm ³]	
N – NO ₃	32 – 76
P	95 – 212
K	167 – 271
Mg	175 – 348
Ca	990 – 1630
Na	< 20
S-SO ₄	52 – 86
Cl	10 – 35
Fe	66 – 110
Mn	27 – 44
Zn	394 – 755
Cd	10 – 12
Pb	184 – 228
Cu	13 – 16

Doświadczenia laboratoryjne

Glebę z warstwy ornej przewieziono do laboratorium i po uśrednieniu wykorzystano do doświadczeń doniczkowych prowadzonych w komorach wegetacyjnych. Między innymi oceniano biomasę wybranych gatunków roślin. Właściwości gleby użytej do doświadczeń przedstawiono w tabeli 2.

Nasiona gorczycy sarepskiej (*Brassica juncea*) oraz brachinii (*Brassica oleracea* x *B.rapa*), kukurydzy (*Zea mays*) i szpinaku (*Spinacia oleracea*) wysiewano po 10 na doniczkę. Po dwóch tygodniach w każdej z doniczek zostawiano po 3 rośliny o podobnym wzroście. Badania prowadzono w pięciu powtórzeniach. Kondycję roślin oceniano w analogicznym czasie w oparciu o wagę świeżej i suchej masy roślin na glebie traktowanej i nie traktowanej solą trójpotasową kwasu wersenowego (dalej EDTA - w środowisku kwaśnym) w ilości 2,5 mmol w przeliczeniu na kilogram gleby.

Tabela 2

Właściwości gleby użytej w doświadczeniach doniczkowych

Badana cecha	Wartość średnia
Gatunek	Gлина piaszczysta
pH KCl	6, 12
przewodnictwo	138 μ S/cm
Zawartość wybranych makro i mikroelementów	
N og	0.17 %
P	114,0 mg/kg
K	30,1 mg/kg
Mg	15,7 mg/kg
Pb	512 mg/kg
Cd	16,5 mg/kg
Cu	35,5 mg/kg
Zn	541 mg/kg

Badania w warunkach naturalnych

Wpływ trójpotasowej soli kwasu wersenowego (EDTA) na wybrane wskaźniki mikrobiologiczne gleby oceniano podczas procesu oczyszczania wspomnianego pola z metali. Aktywność mikrobiologiczną gleby sprawdzono po wprowadzeniu do niej związku chelatyzującego. Powierzchnia badawcza wielkości 0,5 hektara została obsiana gorczycą sarepską (*Brassica juncea*). Związek chelatyzujący wprowadzono w środowisku kwaśnym w stadium fazy kwitnienia, w ilości 2,5 mmol na kilogram gleby. Oceniono wynik produkcji biomasy po wprowadzeniu wspomnianego związku do gleby i porównano go z wynikami doświadczenia prowadzonego w skali laboratoryjnej.

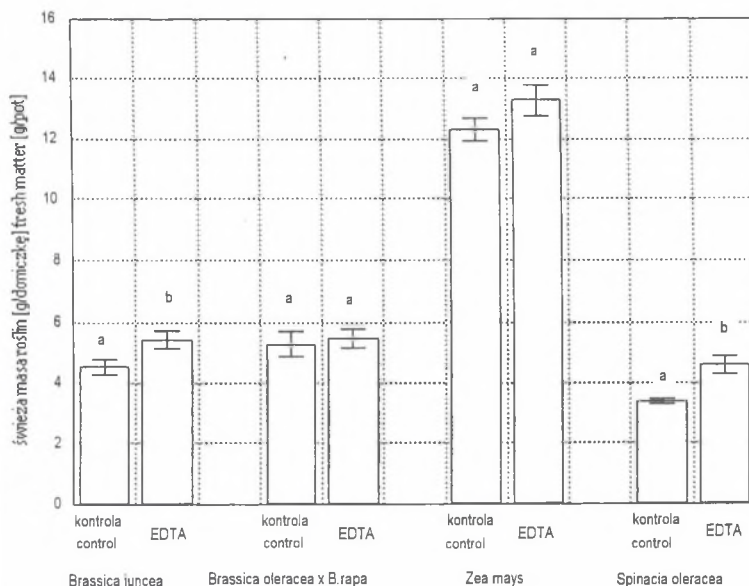
Próby gleby do badań mikrobiologicznych pobrano na wyznaczonych poletkach przed siewem nasion, dzień przed oraz tydzień po wprowadzeniu dodatku do gleby. Próby glebowe oceniano pod względem mikrobiologicznym na podstawie określenia ogólnej liczebności bakterii heterotroficznych oraz liczebności wybranych grup taksonomicznych (bakterie z rodzaju *Pseudomonas*) i fizjologicznych (bakterie denitryfikacyjne), decydujących o

przebiegu właściwych procesów w glebie, a co za tym idzie - o jej odpowiedniej żyzności. Ogólną liczebność bakterii oznaczano na 10% podłożu tryptic soy agar – TSA; Difco [12], bakterie z rodzaju *Pseudomonas* na selektywnym podłożu wg Grant i Holt [6], a liczebność bakterii denitryfikacyjnych na podłożu wg Valera i Alexander [17] metodą MPN stosując 10-dniową inkubację w warunkach anaerobowych. Po okresie inkubacji zawartość azotanów i azotynów mierzono przy użyciu testów Merckoquant.

WYNIKI I DYSKUSJA

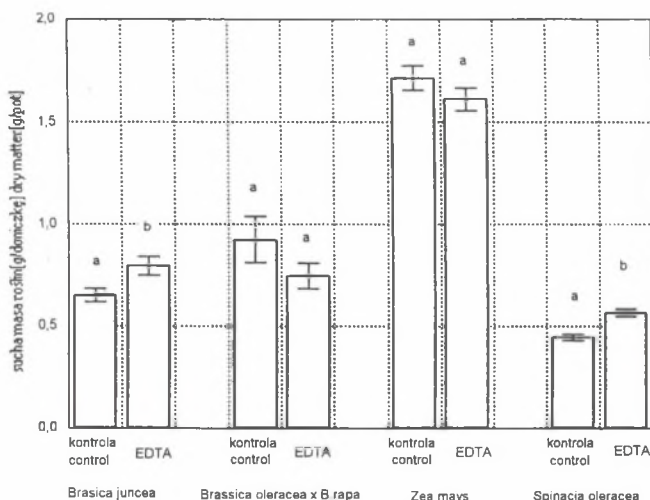
Eksperymenty prowadzono na zanieczyszczonej ołowiem glebie uprawnej pochodzącej z okolicy Kombinatu Górniczo-Hutniczego Orzeł Biały w Bytomiu oraz na pólkach zlokalizowanych w sąsiedztwie Kombinatu. Obok wspomnianego pierwiastka również cynk i kadm występowały w wysokich stężeniach (tabela 1 i 2). Zanieczyszczenie gleby na tym terenie jest następstwem wysokiej depozycji metali wskutek działalności okolicznego przemysłu. Od paru lat profil działania zakładu uległ zmianie, a emisja ołowiu zmniejszyła się i utrzymuje na poziomie niższym aniżeli tło emisji województwa [15]. Tak znaczne obniżenie emisji daje szansę prowadzenia procesu oczyszczania gleby metodą fitoekstrakcji.

Efektywność wspomnianej metody wiąże się nie tylko z ilością metali skumulowanych w tkankach roślin, ale również z plonem roślin. Im wyższa biomasa, tym więcej metali można usunąć z pola wraz z plonem roślin. EDTA jest znanym z literatury związkami, którego dodatek do gleby wielokrotnie zwiększa biokumulację ołowiu w częściach nadziemnych roślin [1,7,14]. Jak wpływa dodatek soli trójpotasowej kwasu wersenowego (EDTA) na świeżą i suchą masę roślin, przedstawiono na rysunkach 1 i 2.



Rys. 1. Świeża masa różnych gatunków roślin w zależności od obecności EDTA w glebie

Fig. 1. Fresh matter in different plant species when tripotassium salt of EDTA (EDTA) was added to the soil

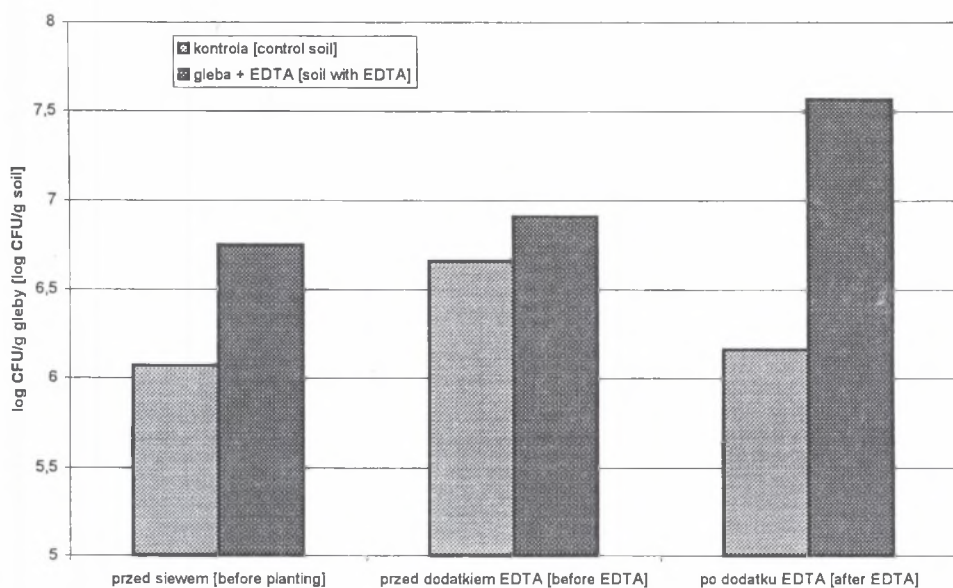


Rys. 2. Sucha masa różnych gatunków roślin w zależności od obecności EDTA w glebie

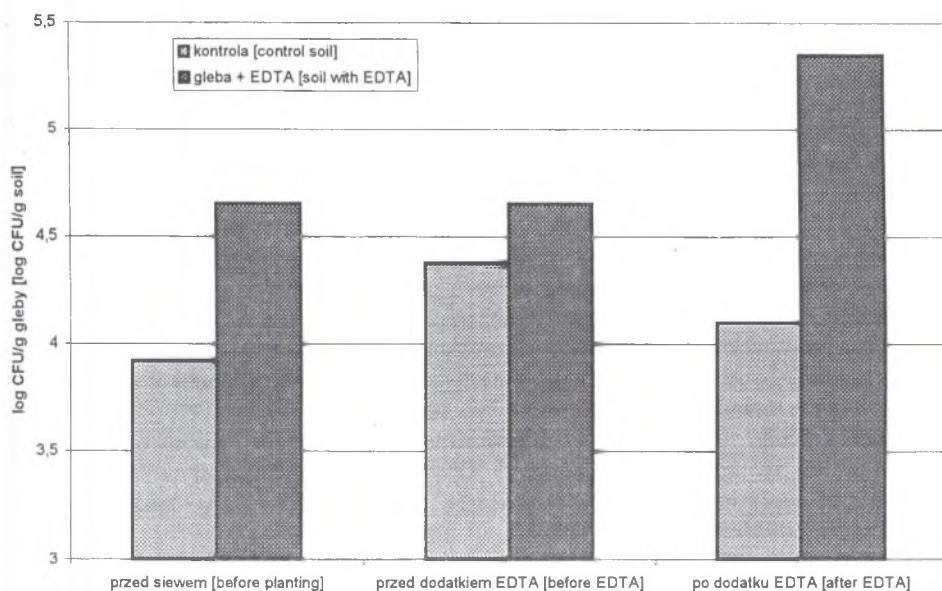
Fig. 2. Dry matter in different plant species when tripotassium salt of EDTA (EDTA) was added to the soil

Nie stwierdzono istotnego statystycznie zmniejszenia biomasy badanych gatunków roślin wskutek wprowadzenia EDTA do gleby. Dotyczy to zarówno świeżej, jak i suchej masy roślin. W przypadku gorczyicy sarepskiej oraz szpinaku stwierdzono niewielki, ale istotny statystycznie wzrost biomasy, co wskazuje na różnice między gatunkami w reakcji na wspomniany dodatek. Ilość wytwarzanej w warunkach laboratoryjnych biomasy roślin to jeden z istotnych wskaźników decydujących o wyborze gatunku do testów polowych oceniających proces fitekstrakcji w skali makro. Obok biomasy, o wyborze odpowiedniego gatunku decyduje również wskaźnik biokumulacji metali w częściach nadziemnych roślin. Do testów polowych wybrano gorczycę sarepską, gatunek wytwarzający zadowalającą biomasa oraz odznaczający się odpowiednią biokumulacją metali. Ocena biomasy tego gatunku przed i po wprowadzeniu EDTA była podobna do obserwowanej w warunkach laboratoryjnych.

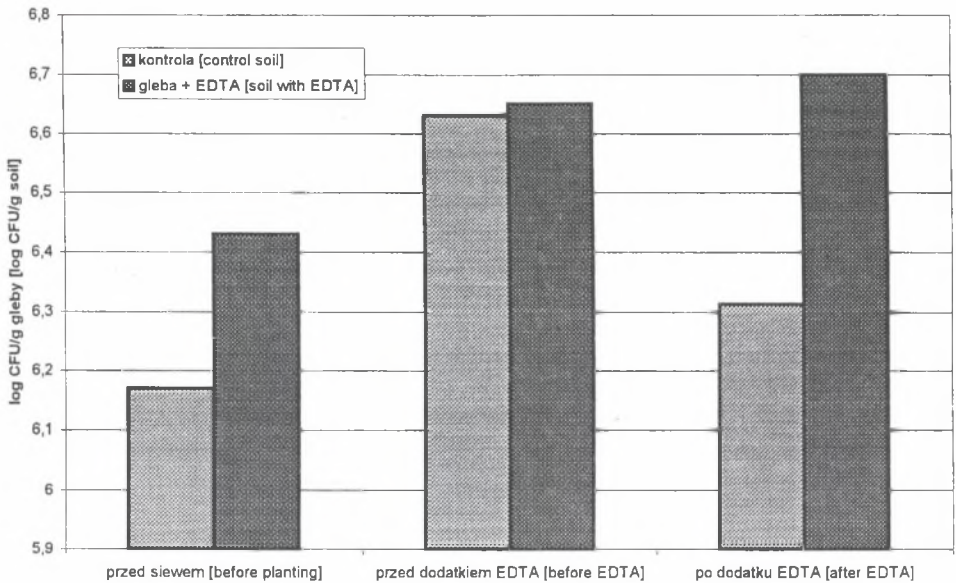
Wpływ wprowadzonego do gleby związku na wybrane mikroorganizmy glebowe trudno było przeprowadzić w laboratorium. Fitekstrakcja prowadzona w skali polowej obejmuje szereg następujących po sobie działań agrotechnicznych zapewniających jak najwyższy plon roślin, ułatwiających wprowadzenie dodatku (czyli EDTA) oraz pomocnych przy zbiorze plonu, który powinien być traktowany jak odpad niebezpieczny. Wpływ dodatków na mikroflorę gleby w warunkach implementacji metody w warunkach naturalnych przedstawiono na rysunkach od 3 do 5. Obserwowano wyraźną stymulację liczebności bakterii pod wpływem EDTA w porównaniu z glebą kontrolną, tj. taką, do której nie wprowadzono żadnych dodatków.



Rys. 3. Wpływ EDTA na zmianę liczebności heterotroficznych bakterii w glebie poddanej fitoekstrakcji
 Fig. 3. Influence of tripotassium salt of EDTA (EDTA) on soil heterotrophic bacteria undergoing phytoextraction



Rys. 4. Wpływ EDTA na zmianę liczebności bakterii z rodzaju *Pseudomonas* w glebie poddanej fitoekstrakcji
 Fig. 4. Influence of tripotassium salt of EDTA (EDTA) on soil *Pseudomonas* undergoing phytoextraction



Rys. 5. Wpływ EDTA na zmianę liczebności bakterii denitryfikacyjnych w glebie poddanej fitoekstrakcji
 Fig. 5. Influence of tripotassium salt of EDTA (EDTA) on denitrifying soil bacteria undergoing phytoextraction

Największy wzrost bakterii notowano w przypadku bakterii denitryfikacyjnych (rys. 4). Również bakterie z rodzaju *Pseudomonas* (rys. 3) i glebowe bakterie heterotroficzne (rys. 2) wykazywały największy wzrost w glebie, do której wprowadzono EDTA. Zależności te są zgodne z wynikami obserwowanymi przez Galimską-Stypa [3,4,5] w badaniach prowadzonych w warunkach kontrolowanych (metoda wazonowa). Uzyskane wyniki sugerują, że EDTA użyte w badaniach polowych odgrywało pozytywną rolę w regulacji wzrostu i metabolizmu bakterii. Można przypuszczać, że EDTA, będący silnym chelatorem, może być wykorzystywany przez niektóre bakterie jako źródło węgla, azotu i energii. Również oczyszczenie gleby z nadmiaru metali w procesie fitoekstrakcji stwarza lepsze warunki dla rozwoju mikroorganizmów bytujących w glebie i umożliwia „odbudowę” szerszego spektrum gatunkowego mikroorganizmów.

WNIOSKI

1. Dodatek związku chelatującego w postaci soli trójpotasowej kwasu wersenowego nie obniżył w sposób istotny świeżej oraz suchej masy brachinii i kukurydzy, natomiast stymulował produkcję biomasy u gorczycy i szpinaku.

2. Wprowadzenie dawki 2,5 mmol soli trójpotasowej kwasu wersenowego nie miało ujemnego wpływu na rozwój badanej mikroflory glebowej, a nawet czasami powodowało wyraźną stymulację wzrostu liczebności bakterii.

LITERATURA

1. Blaylock M.J., Salt D.E., Dushenkov S., Zakharowa O., Gussman Ch., Kapulnik Y., Ensley B.D., Raskin I.: *Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents*. Environ.Sci.Technol. 31; 860-865, 1997.
2. Cunningham S.D., Ow D.W.: *Promises and prospects of phytoremediation*. Plant Physiol.110; 715-719, 1996.
3. Galimska-Stypa R.: *Studies on the toxicity of heavy metals to soil bacteria in the presence of DTPA, EDTA and NTA*. Soc. Res. Environ. Health. 1992.
4. Galimska-Stypa R.: *The effect of synthetic complexans on the toxicity of trivalent chromium in soil*. Materiały Międzynarodowego Symp. „Eurosol”, Wageningen, 1992a.
5. Galimska-Stypa R.: *The effect of chelators on the toxicity of heavy metals to soil bacteria*. Materiały Międzynarodowego Symp. „IHSS 6”, Monopoli, 1992b.
6. Grant M.A., Holt J.G.: *Medium for the selective isolation of members of the genus Pseudomonas from Natural Habitats*. Appl. Environ. Microbiol. 33: 1222-1224, 1977.
7. Huang J.W., Chen J., Berti W.R., Cunningham S.D.: *Phytoremediation of lead-contaminated soils: Role of synthetic chelates in lead phytoextraction*. Environmental Science & Technology. Vol.31. No.3; 800-805, 1997.
8. Huang J.W., Cunningham S.D.: *Lead phytoextraction: species variation in lead uptake and translocation*. New Phytol. 134; 75-84, 1996.
9. Kucharski R., Marchwińska E., Gzyl J., Wala B., Matula B., Strzępek P.: *Ocena przydatności zanieczyszczonych terenów rolniczych do produkcji roślin jadalnych i paszowych*. PAN, Katowice 1994.
10. Kucharski R., Sas-Nowosielska A., Małkowski E., Pogrzeba M.: *Cleaning-up the soil of heavy metals using phytoextraction method. Problems and achievements*. Soil Monitoring Proceedings from the IV. International Conference, Brno 1999. (Proceedings), 19, 1999.
11. Kucharski R., Sas-Nowosielska A., Pogrzeba M., Małkowski E.: *Technology of phytoextraction of lead and cadmium in Poland. Problems and achievements*. Fourth International Symposium and Exhibition on Environmental Contamination in Central and Eastern Europe. Warsaw 1998 (Proceedings), 1998.
12. Lind A.M., Eiland F.: *Microbiological characterization and nitrite reduction in subsurface soils*. Biol. Fertil. Soils 8: 197-203, 1989.
13. Salt D.E., Blaylock M., Kumar N.P.B.A., Dushenkov V., Ensley B.D., Chet I., Raskin I.: *Phytoremediation: A novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants*. Biotech. 13; 468-474, 1995.
14. Salt D.E., Smith R.D., Raskin I.: *Phytoremediation*. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 49; 643-648, 1998.
15. Sas-Nowosielska A., Cenowski M., Hławiczka S., Kucharski R., Kryński K., Wcisło E.: *Analiza stopnia zanieczyszczenia obszaru wokół Zakładów Górniczo-Hutniczych „Orzel Biały”, maszynopis IETU, Katowice, 1997*.
16. Sas-Nowosielska A., Kucharski R., Nowosielski O.: *The use of zinc-tolerant plant species for soil pretreatment before lead and cadmium phytoextraction*. Soil Monitoring Proceedings from the IV. International conference. Brno 1999 (Proceedings), 20 – 23, 1999.
17. Valera L., Alexander M.: *Nutrition and physiology of denitrifying bacteria*. Plant Soil, XV: 268-280, 1961.

Abstract

The soil of many industrial regions during years was polluted by uncontrolled emissions from smelters and dumping of metalliferous wastes which created serious health risk for the crop consumers.

Removal of the pollutant can be accomplished in the short term by applying various mechanical and chemical technologies. These engineering solutions are very expensive but may be the only practical solution to highly dangerous conditions. In less threatening situations some form of bioremediation e.g. phytoextraction are suggested.

From the beginning of 1997 the Department of Energy U.S.DOE Office of Environmental Management, Office of Science and Technology, the IETU and Florida State University have established a working partnership to conduct cost-effective soil cleaning activities. Phytoextraction is relatively not expensive, environmentally sound even assumes addition of chelating agents to the soil. Presented investigations have shown that phytoextraction is a method friendly for environment which do not reduce plant biomass production and have no negative effect on soil microflora.

Praca była finansowana przez U.S. Department of Energy, Office of Science and Technology and Florida State University, #DE-FCZI-95EW55101

Recenzent: Prof. dr hab. Czesława Rosik-Dulewska