

JOLANTA KWIATKOWSKA-MALINA, ALINA MACIEJEWSKA

Katedra Gospodarki Przestrzennej i Nauk o Środowisku Przyrodniczym, Politechnika Warszawska

WPLYW WĘGLA BRUNATNEGO NA AKTYWNOŚĆ MIKROORGANIZMÓW W GLEBACH ZANIECZYSZCZONYCH METALAMI CIĘŻKIMI

THE EFFECT OF BROWN COAL ON THE MICROBIAL ACTIVITY IN SOILS CONTAMINATED BY HEAVY METALS

Abstract: The source of organic matter in soil may be brown coal, organic-mineral fertilizers obtained from brown coal, and peat. These substances take part in all processes in soils and influence their physical, chemical, and biological properties. The purpose of the research was to investigate the influence of brown coal introduced into soil contaminated by heavy metals, on microbial activities. The results showed that regardless the soil type, the dose and time of brown coal application, the dehydrogenase activities varied between 0.045 and 0.278 mg TF·g d.m.⁻¹·24 h⁻¹. Soil enrichment in peptone resulted in increased microbial activity, a compared to samples with lower endogenic activity, which suggests a deficiency of easily available nitrogen forms, due to their sorption on brown coal. Brown coal demonstrates a low degree of mineralization, but simultaneously, very strong sorption properties, which can lead to the reduction of the toxicity of heavy metals. On the other hand, brown coal improves the sorption properties of soil complexes to bind micro- and macro elements, thus limiting their bioavailability. Therefore, nutrients should be added to soil in cases where brown coal is used in the reclamation of contaminated land.

Słowa kluczowe: węgiel brunatny, materia organiczna, aktywność dehydrogenazy, metale ciężkie

Key words: brown coal, organic matter, dehydrogenase activity, heavy metals

WSTĘP

Degradacja chemiczna gleb pod wpływem emisji z udziałem SO₂ i pyłów metalonośnych, polega m.in. na zakwaszeniu oraz skażeniu metalami ciężkimi. Gleby chemicznie zdegradowane zajmują 600 tys. ha, zaś z podwyższoną zawartością metali ciężkich stanowią 3% powierzchni użytków rolnych w Polsce [Główny Inspektorat... 2008]. Nadmiar metali ciężkich w glebie, co często ma miejsce w rejonach silnie uprzemysłowionych lub zurbanizowanych, prowadzi do ich toksycznego oddziaływania w stosunku do mikroflory, mikrofauny, roślin wyższych, zwierząt i ludzi [Karczewska 2002]. Szczególne znaczenie, z punktu widzenia zagrożenia roślin, mikroflory i mikrofauny glebowej oraz włączania metali ciężkich do łańcucha pokarmowego, mają ich rozpuszczalne i koloidalne formy obecne w roztworze glebowym [Wolt 1994]. W dłuższej perspektywie czasowej potencjalna rozpuszczalność (biodostępność) metali ciężkich, zależy m.in. od mineralizacji sub-

stancji organicznej gleby [McLaughlin i in. 2000]. Metale ciężkie związane z substancją organiczną, głównie w formie wielkocząsteczkowych kompleksów metaloorganicznych, tworzących się przy udziale grup karboksylowych (np. z kwasami huminowymi), są zazwyczaj nierozpuszczalne w wodzie [Maciejewska, Kwiatkowska 2007; Malina, Kwiatkowska 2003; Senesi 1992]. Dlatego akumulacja materii organicznej w glebach jest ważna z punktu widzenia ochrony całego środowiska przyrodniczego. Substancje organiczne w glebach mogą pochodzić m.in. z węgla brunatnego i z preparatów z węgla brunatnego [Kwiatkowska i in. 2005]. Przydatność węgla brunatnego jako źródła materii organicznej określają takie jego własności jak: silnie porowata struktura, alkaliczny charakter popiołu węglowego, zdolności pochłaniania i wymiany jonów, powolna mineralizacja substancji organicznej [Kwiatkowska i in. 2006].

Celem pracy było zbadanie wpływu węgla brunatnego wprowadzonego jednorazowo do gleb zanieczyszczonych metalami ciężkimi (Cd, Zn, Pb), na ak-

tywność dehydrogenazową (oddechową) mikroorganizmów glebowych.

MATERIAŁ I METODY

Badane próbki gleby pochodziły z trzech różnych doświadczeń, w których zastosowano węgiel brunatny (WB) w różnych dawkach, w okresie: na rok (Bytom), 4–5 lat (Skierniewice) i 15 lat (Klon) przed wykonaniem badań.

Doświadczenie polowe w Bytomiu było założone na glebie typu rdziny brunatne (*WRB, Leptic Calcari Cambisol*) wytworzonej z pyłu zwykłego na glinie lekkiej. Do gleby wprowadzono jednorazowo WB w dawkach 150 i 300 t·ha⁻¹. Biorąc pod uwagę całkowite zawartości metali ciężkich, gleba ta wykazywała V stopień zanieczyszczenia kadmem [Kabata-Pendias i in.1993] na obiektach: kontrolnym i z mniejszą dawką (150 t·ha⁻¹) WB, natomiast na obiekcie z wyższą dawką (300 t·ha⁻¹) WB wykazywała IV stopień zanieczyszczenia. Gleba w obiekcie kontrolnym i z dawką 150 t·ha⁻¹ WB dla cynku wykazywała IV stopień zanieczyszczenia, natomiast gleba, gdzie zastosowano dawkę 300 t·ha⁻¹ WB wykazywała III stopień zanieczyszczenia. W przypadku ołowiu, gleba na wszystkich obiektach wykazywała III stopień zanieczyszczenia.

Doświadczenie polowe w Klonie założono na glebie rdzawej właściwej (*WRB, Haplic Brunic Arenosol*) wytworzonej z piasku luźnego. Do gleby wprowadzono jednorazowo nawóz z węgla brunatnego – Rekulter, w dawce 160 t·ha⁻¹. Rekulter zawierał w suchej masie 85% węgla brunatnego, 10% torfu niskiego oraz 4% popiołu z węgla brunatnego. Gleba ta nie była zanieczyszczona metalami ciężkimi (zawartość naturalna).

Doświadczenie mikropoletkowe w Skierniewicach prowadzono w wazonach gruntowych, w postaci rur kamionkowych o średnicy 0,4 i wysokości 1,2 m, umieszczonych w gruncie. Wazony napełniono glebą płąwą właściwą (*WRB, Haplic Luvisol*) wytworzoną z piasku gliniastego na glinie lekkiej, do której wprowadzono jednorazowo WB w dawce 100 t·ha⁻¹. Jednocześnie do gleby wprowadzono metale ciężkie w ilości: cynku – 75 (I); 150 (II); 300 (III) mg·kg⁻¹ w formie ZnO, ołowiu – 30 (I); 60 (II); 120 (III) mg·kg⁻¹ w formie PbO i kadmu – 0,69 (I); 1,39 (II); 2,80 (III) mg·kg⁻¹ w formie CdSO₄·8 H₂O, co odpowiadało: I – zawartość podwyższona, II – słabe zanieczyszczenie lub III – średnie zanieczyszczenie metalami ciężkimi wg klasyfikacji IUNG [Kabata-Pendias i in.1993].

Badania enzymu wykonano zgodnie z metodyką PN-82/C-04616.08. Do próbki w formie zawiesiny

glebowej w wodzie (5 ml z rozcieńczenia 10⁻¹), odpowiadającej 0,5 g gleby, dodano aktywny biologicznie trifenylotetrazoliowy chlorek (TTC). TTC zastępuje naturalnie występujące akceptory. W warunkach odtlenienia próbki, TTC pobiera wodory i ulega redukcji do trifenylformazanu (TPF). Stężenie wyekstrahowanego z biomasy TPF odczytano z krzywej wzorcowej i przeliczono na suchą masę próbki. Czas inkubacji próbki przedłużono do 24 godzin [Brzezińska, Włodarczyk 2005]. W badaniach użyto trzy warianty próbek glebowych: 1) bez substratu zewnętrznego (próbka endogenna), 2) z dodatkiem glukozy, 3) z dodatkiem peptonu. Próbka endogenna informuje o aktywności enzymatycznej mikroorganizmów, wykorzystujących wewnątrzkomórkowe zapasowe substraty energetyczne. W próbkach uzupełnionych łatwo rozkładalnymi związkami pokarmowymi dokonuje się oceny aktywności oddechowej, przy dodatku źródła węgla (glukoza) lub źródła azotu (pepton), które pośrednio wskazują na niedobory C lub N w glebie, w porównaniu z próbką endogenną.

WYNIKI I DYSKUSJA

Niezależnie od typu gleby, dawki i czasu od wprowadzenia WB, endogenna aktywność dehydrogenaz mikroflory była mało zróżnicowana i wynosiła od 0,045 do 0,278 mg TF·g s.m.⁻¹·24 h⁻¹ (tab. 1–3). Zbliżone wartości (0,024–0,420 mg TF·g s.m.⁻¹·24 h⁻¹) aktywności dehydrogenazowej w glebach zanieczyszczonych metalami ciężkimi uzyskali Kizalkaya i wsp. [2004]. Natomiast w przypadku gruntów zanieczyszczonych węglowodorami, w literaturze spotyka się rozbieżne wyniki. Kołwzan [2005] w czasie bioremediacji gruntu z produktów ropopochodnych otrzymała stosunkowo niskie wartości (0,050 mg TF·g s.m.⁻¹·24 h⁻¹) aktywności dehydrogenaz, natomiast Płaza [2006] zaobserwowała znacznie wyższe wartości (5,4–56,2 mg TF·g s.m.⁻¹·24 h⁻¹) aktywności oddechowej mikroflory w glebie silnie zanieczyszczonej ropą naftową.

TABELA 1. Aktywność dehydrogenazowa mikroorganizmów w próbkach gleby z Bytomia [mg TF·g s.m.⁻¹·24 h⁻¹]
TABLE 1. Microbial dehydrogenase activity in soil samples from Bytom [mg TF·g d.m.⁻¹·24 h⁻¹]

Dawka węgla brunatnego Dose of brown coal [t·ha ⁻¹]	Aktywność enzymatyczna próbki Enzymatic activity of sample		
	endogennej endogenic	z dodatkiem with addition	
		glukozy glucose	peptonu peptone
0 – kontrola control	0,224	0,324	1,627
150	0,045	0,827	2,632
300	0,267	0,598	0,931

W glebie z Bytomia, stwierdzono podobną aktywność enzymatyczną w próbkach endogennych z kontroli ($0,224 \text{ mg TF} \cdot \text{g s.m.}^{-1} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$) i z wariantu, w którym zastosowano $300 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$ WB ($0,267 \text{ mg TF} \cdot \text{g s.m.}^{-1} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$), natomiast znacznie niższą ($0,045 \text{ mg TF} \cdot \text{g s.m.}^{-1} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$) aktywność w wariacie z dawką $150 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$ WB (tab. 1).

W glebie nie zanieczyszczonej metalami ciężkimi z doświadczenia w Kolnie, nie stwierdzono istotnych różnic w aktywności enzymatycznej w próbkach endogennych pomiędzy kontrolą i wariantem z WB w postaci Rekultera (tab. 2). W doświadczeniu mikroplotkowym natomiast, aktywność enzymatyczna w próbkach endogennych z kontroli ($0,278 \text{ mg TF} \cdot \text{g s.m.}^{-1}$) była około dwukrotnie wyższa w porównaniu do próbek z wariantów zanieczyszczonych metalami ciężkimi i/lub z dodatkiem WB (tab. 3).

Dodatek glukozy lub peptonu do gleb zwiększał aktywność dehydrogenazową mikroorganizmów we wszystkich doświadczeniach (tab. 1–3). Wzrost ten był znacznie wyższy w próbkach z dodatkiem peptonu w porównaniu do wariantów z glukozą. Jedynie w

przypadku gleby bardzo lekkiej, niezanieczyszczonej metalami ciężkimi, z doświadczenia polowego w Klonie z wariantu kontrolnego, dodatek glukozy lub peptonu nie zwiększał aktywności dehydrogenaz w porównaniu z próbką endogenną (tab. 2).

Wzbogacenie próbek gleb peptonem znacznie zwiększało aktywność oddechową mikroorganizmów, w porównaniu do aktywności endogennej, przy czym wzrost ten był wyższy w próbkach charakteryzujących się niższym poziomem aktywności endogennej (tab. 1–3). W doświadczeniu z Bytomia w wariacie bez WB wzrost ten był 7-krotny, dla próbki z dawką $300 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$ WB – 3,5-krotny, zaś w wariacie z dawką $150 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$ WB aż 58,5-krotny. W próbkach gleb z doświadczenia w Klonie, w wariacie z WB w postaci Rekultera, dodatek peptonu zwiększył aktywność dehydrogenazową mikroorganizmów 8,5-krotnie (tab. 2). Potwierdzają to wyniki uzyskane na glebie z Bytomia, świadczące o niedoborach azotu w glebie przy zastosowaniu WB jako źródła materii organicznej. W doświadczeniu mikroplotkowym, aktywność enzymatyczna w próbkach gleb z dodatkiem peptonu była najwyższa, w porównaniu do gleb z doświadczenia w Bytomiu i Klonie i wahała się w zakresie od 4,291 (w wariacie kontrolnym bez metali ciężkich) do 7,054 $\text{mg TF} \cdot \text{g s.m.}^{-1} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$ (w glebie zanieczyszczonej metalami ciężkimi bez dodatku WB) (tab. 3). Znaczny wzrost aktywności enzymatycznej w próbkach z dodatkiem peptonu, świadczy o niedoborach łatwo dostępnych form azotu w glebie, co jest szczególnie widoczne w doświadczeniu mikroplotkowym (tab. 3).

Stwierdzono niższą aktywność dehydrogenazową mikroflory w próbkach gleb, w których zastosowano WB, w porównaniu do wariantów bez dodatku WB (tab. 1–3). Podobne zjawisko zaobserwowali Perez-de-Mora i wsp. [2006], którzy wykazali, że leonardyt trudno ulegający mineralizacji, zawierający znaczną ilość humusu, posiada silne właściwości sorpcyjne, co utrudnia mikroorganizmom szybki dostęp do substratów pokarmowych i w konsekwencji obniża ich aktywność enzymatyczną. Węgiel brunatny posiada podobne właściwości, a więc zwiększa zawartość kwasów huminowych w glebach, wykazuje niewielki stopień mineralizacji, ale jednocześnie silne właściwości sorpcyjne, w tym dla metali ciężkich [Maciejewska, Kwiatkowska, 2007]. Wiązanie metali ciężkich przez WB, prowadzące do obniżenia ich toksycznego wpływu na mikroorganizmy i ich aktywność oddechową, potwierdziły również wyniki niniejszej pracy.

TABELA 2. Aktywność dehydrogenazowa mikroorganizmów w próbkach gleby z Klonu [$\text{mg TF} \cdot \text{g s.m.}^{-1} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$]
TABLE 2. Microbial dehydrogenase activity in soil samples from Klon [$\text{mg TF} \cdot \text{g d.m.}^{-1} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$]

Dawka Rekultera Dose of Rekulter [t·ha ⁻¹]	Aktywność enzymatyczna próbki Enzymatic activity of sample		
	endogennej endogenic	z dodatkiem with addition	
		glukozy glucose	peptonu peptone
0 – kontrola control	0,170	0,158	0,0184
160	0,124	0,193	1,0500

TABELA 3. Aktywność dehydrogenazowa mikroorganizmów w próbkach gleby z doświadczenia mikroplotkowego w Skierniewicach [$\text{mg TF} \cdot \text{g s.m.}^{-1} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$]
TABLE 3. Microbial dehydrogenase activity in soil samples from microplots experiment in Skierniewice [$\text{mg TF} \cdot \text{g d.m.}^{-1} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$]

Dawka węgla brunatnego Dose of brown coal [t·ha ⁻¹]	Aktywność enzymatyczna próbki Enzymatic activity of sample		
	endogennej endogenic	z dodatkiem with addition	
		glukozy glucose	peptonu peptone
0 – kontrola, control	0,278	2,566	4,291
Gleba+MC; Soil+HM	0,106	2,054	7,054
Kontrola, control 0+100	0,164	3,138	6,189
Gleba+MC+100; Soil+HM+100	0,108	1,117	6,194

Objaśnienia – Explanations: MC – metale ciężkie, heavy metals.

WNIOSKI

1. Zależnie od typu gleby, dawki i czasu od wprowadzenia węgla brunatnego, endogenna aktywność dehydrogenaz mikroflory glebowej wahała się w zakresie od 0,045 do 0,278 mg TF·g sm⁻¹·24h⁻¹. Najniższa endogenna aktywność dehydrogenaz wystąpiła w glebie typu rędziny brunatne, zaś najwyższa w glebie płowej właściwej.
2. Zastosowanie węgla brunatnego, jako źródła materii organicznej w glebach, zmniejsza endogenną aktywność dehydrogenazową mikroorganizmów.
3. Wzbogacenie próbek gleby peptonem zwiększało aktywność oddechową mikroorganizmów w porównaniu z endogenną, zwłaszcza w próbkach charakteryzujących się niższym poziomem aktywności endogennej, co świadczy o niewielkiej zawartości łatwo dostępnych form azotu w glebie.
4. Węgiel brunatny wykazuje niewielki stopień mineralizacji, ale jednocześnie ma silne właściwości sorpcyjne, prowadzące do obniżenia toksycznego wpływu metali ciężkich na mikroorganizmy i ich aktywność oddechową. Ponadto węgiel brunatny działa jako kompleks wiążący makro- i mikroelementy, ograniczając ich biodostępność.

LITERATURA

- BRZEZIŃSKA M., WŁODARCZYK T. 2005. Enzymy wewnątrzkomórkowych przemian redoks (oksydoreduktazy). *Acta Agrophysica*, Rozprawy i Monografie **3**: 11–26.
- GLÓWNY INSPEKTORAT OCHRONY ŚRODOWISKA. Raport o stanie środowiska w Polsce 2008. Biblioteka Monitoringu Środowiska, Warszawa 2010.
- KABATA-PENDIAS MOTOWICKA-TERELAK T., PIOTROWSKA M., TERELAK H., WITEK T. 1993. Ocena stopnia zanieczyszczenia gleb i roślin metalami ciężkimi i siarką. Ramowe wytyczne dla rolnictwa. IUNG, Puławy.
- KARCZEWSKA A. 2002. Metale ciężkie w glebach zanieczyszczonych emisjami hut miedzi – formy i rozpuszczalność. *Zesz. Nauk. AR we Wrocławiu*, nr **432**, Rozprawy.
- KIZILKAYA R., AKIN T., BAYRAKLI B., SALAM M. 2004. Microbiological characteristics of soils contaminated with heavy metals. *European Journal of Soil Biology*, **40**, 2: 95–102.
- KOŁWZAN B. 2005. Bioremediacja gleb skażonych produktami naftowymi wraz z oceną ekotoksykologiczną. Oficyna Wyd. Politechniki Wrocławskiej, seria Monografie **44**.
- KWIATKOWSKA J., DĘBSKA B., MACIEJEWSKA A., GONNET S. 2005. Brown coal as the factor modifying the properties of soil organic matter. *Rocz. Glebozn.* **56**, 3/4: 31–41.
- KWIATKOWSKA J., SOKOŁOWSKA Z., MACIEJEWSKA A. 2006. Selected physical and chemical properties for evaluating brown coals used for soil reclamation. *Int. Agrophysics* **20** (2), 121–128.
- MACIEJEWSKA A., KWIATKOWSKA J. 2002. Niektóre właściwości chemiczne gleby oraz jej zdolności buforowe po zastosowaniu nawozu organiczno-mineralnego z węgla brunatnego. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* **482**: 351–357.
- MACIEJEWSKA A., KWIATKOWSKA J. 2007. Migracja cynku, ołowiu i kadmu w układzie gleba – roślina. *Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych* nr **31**: 183–187.
- MALINA G., KWIATKOWSKA J. 2003. Immobilizacja metali ciężkich w środowisku gruntowo-wodnym z wykorzystaniem dodatków organicznych. *Inżynieria i Ochrona Środowiska* (3–4), 371–390.
- McLAUGHLIN M.J., ZARCINAS B.A., STEVENS D.P., COOK N. 2000. Soil testing for heavy metals. *Comm. in Soil Science and Plant Analysis*, **31**: 11–14, 1661–1700.
- PEREZ-DE-MORA A., BURGOS P., MADEJON E., CABREIRA F., JAECKEL P., SCHLOTTER M. 2006. Microbial community structure and function in a soil contaminated by heavy metals: effects of plant growth and different amendments. *Soil Biology and Biochemistry*, **38**, 2: 327–341.
- PLAZA G.A. 2006. Bioremediacja gruntów zanieczyszczonych związkami ropopochodnymi z terenu rafinerii metodą biopryzmy. Monografie **47**, Oficyna Wyd. Politechniki Wrocławskiej.
- SENESE N. 1992. Metal-humic complexes in the environment. Molecular and mechanistic aspects by multiply spectroscopic approach. [W:] Adriano D.C. (ed.) Biogeochemistry of trace metals, Levis P., Boca Raton, 429–496.
- WOLT J.D. 1994. Soil solution chemistry. Applications to environmental science and agriculture. *J. Wiley and Sons*, N. York.

Praca zrealizowana w ramach projektu badawczego nr 4 T09D 021 25 finansowanego przez Komitet Badań Naukowych. Autorzy wyrażają podziękowanie Pracownikom Laboratorium Zakładu Biologii Wydziału Inżynierii Środowiska Politechniki Warszawskiej za wykonanie oznaczeń.

Prof. nadzw. dr hab. inż. Jolanta Kwiatkowska-Malina
Katedra Gospodarki Przestrzennej i Nauk o Środowisku
Przyrodniczym, Politechnika Warszawska
Pl. Politechniki 1
00-661 Warszawa
e-mail: j.kwiatkowska@gik.pw.edu.pl