

**ZESZYTY NAUKOWE  
UNIwersytetu  
PRZYRODNICZEGO  
WE WROCŁAWIU**

**NR 589**

**ROLNICTWO**

**AGRONOMY**

**CIII**



**ZESZYTY NAUKOWE  
UNIwersYTETU  
PRZYRODNICZEGO  
WE WROCLAWIU**

**NR 589**

**ROLNICTWO**

**AGRONOMY**

**CIII**



**WROCLAW 2012**

*Redaktor merytoryczny*  
prof. dr hab. Zofia Spiak

*Redakcja i korekta*  
Elżbieta Winiarska-Grabosz

*Łamanie*  
Paweł Wójcik

*Projekt okładki*  
Grażyna Kwiatkowska

*Weryfikacja tekstów w języku angielskim*  
Cathy Baldysz

**Covered by: Agro, Ulrich's Database, Copernicus Index, EBSCOhost**

Publikacja dofinansowana ze środków PAN (Komitet Gleboznawstwa i Chemii Rolnej)

© Copyright by Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław 2012

Print edition is an original (reference) edition

ISSN 1897-2098  
ISSN 1897-208X

**WYDAWNICTWO UNIWERSYTETU PRZYRODNICZEGO WE WROCŁAWIU**

**Redaktor Naczelny – prof. dr hab. inż. Andrzej Kotecki**  
**ul. Sopotka 23, 50–344 Wrocław, tel./fax 71 328–12–77**  
**e-mail: wyd@up.wroc.pl**

---

Nakład 100 + 16 egz. Ark. wyd. 15,00. Ark. druk. 15,25  
Druk i oprawa: EXPOL, P. Rybiński, J. Dąbek, Spółka Jawna  
ul. Brzeska 4, 87–800 Włocławek



## SPIS TREŚCI

1. J. Antonkiewicz – Wpływ osadów ściekowych i popiołu paleniskowego na plon i zawartość wybranych pierwiastków w runi motylkowo-trawiastej... 9
2. K. Balcer, C. Wołoszyk – Wpływ kompostów z odpadów biodegradowalnych na kształtowanie zawartości mikroskładników w roślinach i glebie ..... 23
3. J. Czekąła – Wpływ wieloletniego stosowania osadów ściekowych na zawartość miedzi, cynku i manganu w roślinach..... 33
4. J. Czekąła, A. Mocek, W. Owczarzak – Działanie wieloletniego nawożenia osadami ściekowymi na zawartość form rozpuszczalnych cynku i miedzi w glebie..... 43
5. A. Dradrach, K. Szopka, A. Karczewska, A. Bogacz – Zawartość cynku, miedzi i ołowiu w poziomach powierzchniowych gleb darniowych wybranych parków miejskich Wrocławia ..... 51
6. B. Gałka, A. Karczewska, K. Popielas, M. Dzięcielski, M. Cuske – Przydatność wybranych roztworów ekstrakcyjnych do oceny pobrania cynku i miedzi przez sałatę (*Lactuca sativa*) z gleb zanieczyszczonych ..... 59
7. L. Gersztyn, A. Karczewska, B. Gałka – Wpływ komunalnych osadów ściekowych na specjację cynku w osadach poflotacyjnych górnictwa miedzi..... 71
8. E. Gębarowska, Stanisław J. Pietr – Aktywność przeciwgrzybowa szczepów *Trichoderma harzianum* odpornych na benomyl wobec fitopatogenów glebowych..... 81
9. M. Jakubus, P. Gajewski, Z. Kaczmarek – Ocena wpływu efektywnych mikroorganizmów (EM) na rozpuszczalność mikroelementów w glebie..... 93
10. A. Jama-Rodzeńska, W. Nowak – Zawartość metali ciężkich w glebie i wierzbie krzewiastej (*Salix viminalis* L.) po użyczeniu gleby komunalnym osadem ściekowym ..... 103
11. H. Jankowska-Huflejt – Wpływ nawożenia i dokarmiania dolistnego na plony, trwałość gatunków i skład chemiczny runi łąkowej w warunkach produkcyjnych..... 115
12. W. Jarecki, D. Bobrecka-Jamro – Wpływ dolistnego dokarmiania Basfoliarem 6–12–6 na wielkość i jakość plonu łubinu wąskolistnego (*Lupinus angustifolius* L.) ..... 125
13. K. Kantek, A. Karczewska – Wpływ osadów ściekowych na rozpuszczalność arsenu w glebach zanieczyszczonych przez przemysł arsenowy w Złotym Stoku..... 135

---

14.	A. Karczewska, B. Gałka, L. Gersztyn, M. Spurgiasz – Wpływ dodatku substancji organicznej na rozpuszczalność i fitoprzyswajalność miedzi w glebach zanieczyszczonych przez przemysł miedziowy.....	147
15.	K. Kozłowska, M. Liszewski – Wpływ nawożenia dolistnego wybranymi mikroelementami na cechy rolnicze ziarna jęczmienia browarnego .....	157
16.	A. Mickiewicz, S. Wróbel – Reakcja kukurydzy uprawianej metodami bezorkowymi na dolistne stosowanie cynku we wspólnym oprysku z herbicidem Shado 300 SC.....	169
17.	M.P. Oksińska, S.J. Pietr – Wpływ wrażliwości na kwas kawowy na efektywność kolonizacji kiełkujących ziarniaków pszenicy przez szczep <i>Pseudomonas reactans</i> PSR2.....	179
18.	A. Rogóż, M. Tabak – Zawartość pierwiastków śladowych w chwastach zbóż na tle ich zawartości w glebie Cz. IV zawartość litu w glebie oraz w wybranych chwastach .....	189
19.	E. Stanisławska-Głubiak, J. Korzeniowska, M. Jakubowski – Wpływ siarki wprowadzonej do gleby na zmiany zawartości niektórych mikroelementów w roślinach przeznaczonych na paszę.....	199
20.	E. Woźniak, P. Misiak, B. Różycka-Roszak, Z. Dega-Szafran – Oddziaływania chlorków n-alkoksykarbonylometylo-n-alkilopiperdydiniowych z błoną fosfolipidową.....	209
21.	M. Wrochna, A. Fołwalska, A. Przybysz, S.W. Gawroński – Ocena wpływu dodatku żelaza na parametry wzrostu i jakość kiełków wybranych gatunków roślin .....	227
22.	L. Kordas, M. Giemza-Mikoda, M. Jabłońska – Plonowanie wybranych odmian sorga w zależności od terminu siewu i nawożenia .....	235
	Recenzenci .....	241

## CONTENTS

1. J. Antonkiewicz – The effect of sewage sludge and furnace ash on yield and contents of selected elements in legume-grass sward ..... 9
2. K. Balcer, C. Wołoszyk – Use of composts prepared from biodegradable waste and the impact on the content of micronutrients in plants and soil ..... 23
3. J. Czekala – Effect of long-term application of sewage sludge on the content of copper, zinc and manganese in plant..... 33
4. J. Czekala, A. Mocek, W. Owczarzak – Effect of long-term fertilization with sewage sludge on the content of soluble forms of zinc and copper in the soil .....43
5. Dradrach A., Szopka K., Karczewska A., Bogacz A. – Total content of zinc, copper and lead in the upper soil horizons of municipal park lawns in Wrocław ..... 51
6. B. Gałka, A. Karczewska, K. Popielas, M. Dzięcielski, M. Cuske – Suitability of selected extracting agents for assessing the uptake of Zn and Cu by lettuce (*Lactuca sativa*) from polluted soils ..... 59
7. L. Gersztyn, A. Karczewska, B. Gałka – The influence of municipal sewage sludge on zinc speciation in tailings produced by the copper industry ..... 71
8. E. Gebarowska, Stanisław J. Pietr – Antifungal activity of *Trichoderma harzianum* strains resistant to benomyl against soil borne pathogens ..... 81
9. M. Jakubus, P. Gajewski, Z. Kaczmarek – Evaluation of the impact of effective microorganisms (EM) on the solubility of microelements in soil .....93
10. A. Jama-Rodzeńska, W. Nowak – Content of heavy metals in soil and willow (*Salix viminalis* L.) after applying municipal sewage sludge ..... 103
11. H. Jankowska-Huflejt – Effect of fertilization and foliar feeding on the yields, persistence of species and chemical composition of meadow sward in production conditions ..... 115
12. W. Jarecki, D. Bobrecka-Jamro – Impact of foliar fertilization with Basfoliar 6-12-6 on the quantity and quality of crops of blue lupin (*Lupinus angustifolius* L.) ..... 125
13. K. Kantek, A. Karczewska – Effect of sewage sludge on the solubility of arsenic in soils contaminated by the arsenic industry in Złoty Stok..... 135
14. A. Karczewska, B. Gałka, L. Gersztyn, M. Spurgiasz – Effect of applying organic matter on the solubility and phytoavailability of copper in soils polluted by the copper industry..... 147
15. K. Kozłowska, M. Liszewski – Effect of foliar fertilization with selected microelements on the agricultural characteristics of malt barley grain ..... 157

---

16.	A. Mickiewicz, S. Wróbel – Response of maize grown with ploughless tillage to the joint foliar application of zinc and herbicide Shado 300 SC .....	169
17.	M.P. Oksińska, S.J. Pietr – Effect of resistance to caffeic acid on efficiency of colonization of germinating wheat seeds by <i>Pseudomonas reactans</i> strain PSR2.....	179
18.	A. Rogóż, M. Tabak – Content of trace elements in cereal weeds based on the content of trace elements in soil. Part IV. Content of lithium in soil and in selected weeds .....	189
19.	E. Stanisławska-Głubiak, J. Korzeniowska, M. Jakubowski – Effect of applying sulphur to the soil on the changes in the content of microelements in plants intended for animal feed.....	199
20.	E. Woźniak, P. Misiak, B. Różycka-Roszak, Z. Dega-Szafran – Interactions of n-alkoxycarbonylmethyl-n-alkylpiperidinium chlorides with phospholipid membrane.....	209
21.	M. Wrochna, A. Fołwalska, A. Przybysz, S.W. Gawroński – Evaluation of growth and quality parameters of sprouts after the addition of iron.....	227
22.	L. Kordas, M. Giemza-Mikoda, M. Jabłońska – Yield of sorghum's varieties depending on sowing date and fertilization .....	235
	Reviewers.....	241

**Jacek Antonkiewicz**

**WPLYW OSADÓW ŚCIEKOWYCH I POPIOŁU  
PALENISKOWEGO NA PLON I ZAWARTOŚĆ WYBRANYCH  
PIERWIASTKÓW W RUNI MOTYLKOWO-TRAWIASTEJ  
THE EFFECT OF SEWAGE SLUDGE AND FURNACE ASH  
ON YIELD AND CONTENTS OF SELECTED ELEMENTS  
IN LEGUME-GRASS SWARD**

*Katedra Chemii Rolnej i Środowiskowej, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie*  
*Department of Agricultural and Environmental Chemistry, University of Agriculture*  
*in Krakow*

Stosowanie komunalnych osadów ściekowych, popiołów paleniskowych oraz ich mieszanin wpływa na skład chemiczny roślin wykorzystywanych do rekultywacji składowisk odpadów. Celem przeprowadzonych badań było poznanie wpływu osadów ściekowych i popiołów paleniskowych oraz ich mieszanin na plon i zawartość Fe, Co, Mn, Al, Si w runi motylkowo-trawiastej. Schemat doświadczenia obejmował 6 obiektów, różniących się dawką wprowadzonych osadów ściekowych i popiołów paleniskowych na hektar: 1 – obiekt kontrolny; 2 – 200 t s.m. osadu ściekowego; 3 – 200 t s.m. popiołu; 4 – 150 t s.m. osadu + 50 t s.m. popiołu; 5 – 50 t s.m. osadu + 150 t s.m. popiołu; 6 – 100 t s.m. osadu + 100 t s.m. popiołu. Zawartość pierwiastków w runi roślin była uzależniona od dawki odpadu. Zastosowane odpady wpłynęły na zwiększenie zawartości Fe, Mn, Al i Si, natomiast obniżyły zawartość Co w runi mieszanki roślin. Stwierdzono, że mieszaniny popiołowo-osadowe wpływają na optymalny stosunek Fe do Mn w roślinach. Oceniając zawartość pierwiastków w runi motylkowo-trawiastej pod względem wartości paszowej, stwierdzono, że zawartość Fe i Mn odpowiadała optymalnej zawartości. Zawartość Si w roślinach kształtowała się poniżej wartości optymalnej.

SŁOWA KLUCZOWE: ruń trawiasto-motylkowata, plon, Fe, Co, Mn, Al, Si, pobranie, stosunki, osad, popiół

---

Do cytowania – For citation: Antonkiewicz J., 2012. Wpływ osadów ściekowych i popiołu paleniskowego na plon i zawartość wybranych pierwiastków w runi motylkowo-trawiastej. Zesz. Nauk. UP Wroc., Rol. CIII, 589: 9–22.

## WSTĘP

Popioły paleniskowe stanowią produkt uboczny procesu spalania węgla kamiennego, które jeśli nie są wykorzystane gospodarczo (budownictwo, drogownictwo), to najczęściej są deponowane na składowiskach (Strzyszczyk, Łukasik 2008). Zdeponowane popioły paleniskowe na składowiskach z racji dużej uciążliwości dla środowiska (pylenie, migracja metali ciężkich) należy zagospodarować przyrodniczo, wykorzystując komunalne osady ściekowe (Antonkiewicz, Radkowski 2006, Czyż, Kiteczak 2007). Produkty uboczne spalania węgla charakteryzują się specyficznymi właściwościami fizyczno-chemicznymi, odczynem zasadowym, zawierają składniki mineralne, w tym mikroelementy, które nie zawsze są dostępne dla roślin, ponieważ występują w formach tlenkowych, węglanowych, nierozpuszczalnych w wodzie (Smołka-Danielowska 2001, Żelechower i wsp. 1998). W przyrodniczym zagospodarowaniu popiołów poleca się wykorzystanie komunalnych osadów ściekowych, ponieważ stanowią bogate źródło dostępnych składników dla roślin, a tym samym poprawiają właściwości fizyczno-chemiczne popiołów (Gilewska, Przybyła 2001, Maciejewska, Wrońska 2003). Stosując popioły i osady do gleby użytkowanej rolniczo bądź w rekultywacji składowisk odpadów, można poprawić bilans składników pokarmowych w środowisku. Wykorzystanie wyżej wymienionych odpadów wpływa na skład chemiczny roślin uprawianych na tych odpadach (Ciećko i wsp. 2007, Kalembsa, Wysokiński 2004).

Celem badań było poznanie wpływu komunalnych osadów ściekowych i popiołów paleniskowych na plon i zawartość żelaza, kobaltu, manganu glinu i krzemu w runi motylkowo-trawistej.

Niniejsza praca dotycząca zawartości Fe, Co, Mn, Al i Si w runi motylkowo-trawistej jest kontynuacją badań nad wpływem osadów ściekowych i popiołów paleniskowych na plon i zawartość metali ciężkich (Antonkiewicz 2009) oraz makroelementów (Antonkiewicz 2010) w mieszance roślin.

## MATERIAŁ I METODY

Badania nad wpływem osadów i popiołów na skład chemiczny roślin przeprowadzono w latach 2002–2005 w warunkach doświadczenia polowego, zlokalizowanego na terenie Miejsko-Przemysłowej Oczyszczalni Ścieków Sp. z o.o. w Oświęcimiu. Jednoczynnikowe doświadczenie polowe prowadzono w układzie losowanych bloków. Powierzchnia poletek wynosiła 8 m<sup>2</sup>. W doświadczeniu polowym zastosowano osady ściekowe i popioły paleniskowe. Schemat doświadczenia obejmował 6 obiektów (każdy w czterech powtórzeniach), różniących się dawką wprowadzonych osadów ściekowych i popiołów paleniskowych (tab. 1). Z danych zamieszczonych w tabeli 1 wynika, że maksymalna dawka osadu ściekowego wynosiła 200 t · ha<sup>-1</sup> s.m. Przy zawartości 19,63% suchej masy dawka osadu ściekowego na powierzchnię poletki (8 m<sup>2</sup>) wynosiła 815 kg świeżej masy. Według nieobowiązującego już Rozporządzenia Ministra Środowiska w sprawie komunalnych osadów ściekowych z 2002 r., wyżej wymieniona dawka osadu ściekowego mogła być zastosowana do rekultywacji gruntów na cele rolne i nierolne, w tym na przykład do rekultywacji składowisk odpadów paleniskowych.

Popiół paleniskowy o numerze katalogowym 10 01 80 i komunalne osady ściekowe o numerze katalogowym 19 08 05 (Katalog odpadów 2001) oraz ich mieszaniny zastosowano jednorazowo na powierzchnię gleby, na dwa tygodnie przed wysianiem mieszanki roślin. Wyżej wymienionych odpadów nie przyorywano, ponieważ miały one symulować warunki składowiska odpadów paleniskowych.

Doświadczenie polowe założono na glebie o składzie granulometrycznym gliny średniej. Wierzchnia warstwa gleby (0–20 cm) zawierała 42% piasku, 7% pyłu grubego, 10% pyłu drobnego, 11% iłu pyłowego grubego, 12% iłu pyłowego drobnego, 18% iłu koloidalnego. Odczyn gleby ( $\text{pH}_{\text{KCl}}$ ), na której założono doświadczenie, był obojętny, natomiast popiołu paleniskowego zasadowy, a komunalnego osadu ściekowego lekko kwaśny (tab. 2). Gleba zawierała C i N odpowiednio 8,24 i 0,67  $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$  s.m. Stwierdzona w osadzie ściekowym zawartość węgla organicznego i azotu ogółem była odpowiednio o ponad 26- i 41-krotnie wyższa w porównaniu z zawartością tych pierwiastków w glebie. Zastosowany popiół paleniskowy zawierał ponad 3,2- i 2,8-krotnie więcej C i N w porównaniu z glebą (tab. 2). Oznaczona zawartość węgla organicznego i azotu ogółem w popiele paleniskowym wskazuje na obecność resztek nie spalonego węgla (Gilewska, Przybyła 2001, Góra 1987).

Tabela 1  
Table 1

Schemat doświadczenia polowego  
Field experiment design

Nr obiektu No object	Kombinacja Combination	Dawka ( $\text{t} \cdot \text{ha}^{-1}$ s.m.) Doses ( $\text{t} \cdot \text{ha}^{-1}$ d.m.)	
		Osadu – Sludge	Popiołu – Ash
1	Kontrola – Control	–	–
2	Osad – Sludge	200	–
3	Popiół – Ash	–	200
4	3/4 osadu + 1/4 popiołu 3/4 Sludge + 1/4 Ash	150	50
5	1/4 osadu+3/4 popiołu 1/4 Sludge+3/4 Ash	50	150
6	Osad + popiół (1:1) Sludge + Ash 1:1	100	100

W doświadczeniu wysiano mieszankę składającą się z traw i roślin motylkowatych o następującym składzie botanicznym: kostrzewa czerwona (*Festuca rubra* L.) odmiany Brudzińska (40%), kostrzewa trzcinowa (*Festuca arundinacea* Schreb.) – odmiany Skarpa (15%), wiechlina łąkowa (*Poa pratensis* L.) – odmiany Skiz (20%), komonica zwyczajna (*Lotus corniculatus* L.) – odmiany Skrzyszowicka (10%), koniczyna biała (*Trifolium repens* L.) – odmiany Haifa (15%). Rośliny wysiano ręcznie w trzeciej dekadzie lipca 2002 r., a ilość wysiewu mieszanki wynosiła 26  $\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ . Norma wysiewu mieszanki została zwiększona o 20% ze względu na niekorzystne warunki glebowe, jakimi charakteryzują się popioły, stanowiące utwory jałowe o złych właściwościach powietrzno-wodnych (Gilewska, Przybyła 2001). Początkowo zasiewy mieszanki zraszano wodą w miarę wysychania podłoża, aby umożliwić kiełkowanie nasion. Po 2 tygodniach od wysiewu obserwowano wschody. Rośliny w pierwszym roku skoszono w trzeciej dekadzie wrze-

śnia, natomiast w kolejnych latach kosząco trzykrotnie, pierwszy raz w fazie kłoszenia dominujących gatunków traw, a pozostałe pokosy po upływie 6–7 tygodni.

Tabela 2  
Table 2

Właściwości gleby oraz odpadów zastosowanych w doświadczeniu polowym  
Properties of soil and wastes used in field experiment

Parametr Parameter		Jednostka Unit	Osad Sludge	Gleba Soil	Popiół Ash
Zawartość – Content					
pH	(H <sub>2</sub> O)		6,32	7,20	8,72
	(KCl 1 mol · dm <sup>-3</sup> )	pH	5,88	6,81	8,46
	(CaCl <sub>2</sub> 0,1 mol · dm <sup>-3</sup> )		6,22	6,91	8,47
Uziarnienie – Texture		–	–	gs*	pgmp**
Sucha masa – Dry weight		(%)	19,63	–	76,12
Węgiel organiczny – Organic karbon		(g · kg <sup>-1</sup> s.m.)	217,0	8,24	26,1
Azot ogółem – Total nitrogen			27,51	0,67	1,91
Żelazo – Iron			25 000,0	10 380,0	42 750,0
Mangan – Manganese			483,0	277,0	744,0
Kobalt – Cobalt		(mg · kg <sup>-1</sup> s.m.)	6,22	5,90	11,04
Glin – Aluminium			7482,0	12 547,0	17 596,0
Krzem – Silicon			1123,0	985,5	1647,0

\* gs – glina średnia – medium loam

\*\* pgmp – piasek gliniasty mocny pylasty – heavy loamy silty sand

Po zbiorach mieszankę roślin wysuszono w suszarce z wymuszonym obiegiem powietrza, w temp 70°C, a następnie określono wielkość plonu suchej masy. Próbkę materiału roślinnego poddano mineralizacji na sucho w piecu muflowym w temp. 450°C, a uzyskany popiół rozpuszczono w 20% kwasie azotowym (V). W pracy przedstawiono średni plon mieszanki roślin z poszczególnych lat 2002–2005 oraz średnią ważoną zawartości pierwiastków z badanego okresu. W glebie oznaczono zawartość pierwiastków zbliżoną do ogólnej po uprzednim spopieleniu materii organicznej i trawieniu w mieszaninie HClO<sub>4</sub> i HNO<sub>3</sub> (3:2), (Ostrowska i wsp. 1991). Zawartość Fe, Co, Mn, Al i Si w przesączach gleb, podobnie jak i w materiale roślinnym, oznaczono metodą ICP–AES (inductively coupled plasma – atomowa spektrofotometria emisyjna oparta na palniku indukcyjnie wzbudzonej plazmy).

## WYNIKI

Gleba, na której założono doświadczenie, charakteryzowała się naturalną zawartością Cd, Pb, Cu, Ni, Zn i Cr oraz odpowiadała normom stawianym pod względem zawartości metali ciężkich przy stosowaniu osadów ściekowych (Antonkiewicz 2009, Rozporządzenie 2002, 2010). Oceniając komunalny osad ściekowy, stwierdzono, że spełniał on wymogi pod względem zawartości metali ciężkich przy stosowaniu w rolnictwie i rekultywacji gruntów na cele rolne i nierolne (Antonkiewicz 2009, Rozporządzenie 2002, 2010).



Zawartość Fe, Mn, Co, Al, Si w popiele paleniskowym była odpowiednio ponad 3,1-, 1,7-, 0,87–0,40-, 0,67-krotnie wyższa w porównaniu z zawartością w glebie (tab. 2). Zastosowany w doświadczeniu komunalny osad ściekowy był zasobniejszy w Fe i Mn w porównaniu z glebą, natomiast zawartość Co i Si w osadzie była na porównywalnym poziomie jak w glebie. Osad ściekowy charakteryzował się najniższą zawartością glinu i zawartość tego pierwiastka w osadzie była ponad 0,4-krotnie niższa w porównaniu z glebą.

**Plon suchej masy roślin.** Wpływ komunalnych osadów ściekowych i popiołów paleniskowych oraz ich mieszanin na wielkość plonu mieszanki traw i roślin motylkowatych był prezentowany we wcześniejszych pracach (Antonkiewicz, Radkowski 2006, Antonkiewicz 2009).

W doświadczeniu polowym zarejestrowano istotny wpływ osadu ściekowego i popiołu paleniskowego oraz ich mieszanin na wielkość plonu mieszanki roślin uzyskanego w latach 2002–2005 (tab. 3). Najniższy plon uzyskano w pierwszym roku badań, a wynikało to między innymi z niepełnego okresu wegetacji mieszanki roślin. Plon mieszanki roślin w latach 2003–2005 pozostawał w miarę wyrównany, jakkolwiek w drugim roku badań (2003) uzyskano najwyższe zbiory, a w następnych latach ich wielkość uległa nieznacznemu obniżeniu. Rozpatrując średni plon z okresu badań, stwierdzono, że najwyższy plon wynoszący ponad  $8,7 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$  uzyskano w obiekcie 4, w którym zastosowano 150 t s.m. osadu i 50 t s.m. popiołu na ha. Zwiększenie plonu mieszanki roślin w tym obiekcie wynosiło ponad 160%, w porównaniu z plonem uzyskanym w kontroli. Zastosowany wyłącznie osad ściekowy w ilości  $200 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$  s.m. (obiekt 2) również spowodował o ponad 130% zwiększenie plonu mieszanki roślin. Mieszanina popiołowo-osadowa, przygotowana poprzez zmieszanie tych odpadów w stosunku wagowym 1:1, (obiekt 6), także wpłynęła istotnie na podwyższenie plonu i w wyżej wymienionym obiekcie zarejestrowano prawie 100% większy plon, w porównaniu z kontrolą. Wysoka wartość nawozowa osadu ściekowego ulegała znacznemu obniżeniu w wyniku dużego dodatku popiołu w obiekcie, w którym wymieszano 50 t s.m. osadu z 150 t s.m. popiołu (obiekt 5). Uzyskany w tym obiekcie plon był jednak istotnie wyższy w porównaniu z obiektem kontrolnym. Zastosowany wyłącznie popiół paleniskowy w dawce  $200 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$  s.m. istotnie wpłynął na obniżenie wielkości plonu i stanowił on 60% wielkości plonu uzyskanego w obiekcie kontrolnym (tab. 3).

Tabela 3  
Table 3

Plon mieszanki roślin ( $\text{t s.m.} \cdot \text{ha}^{-1}$ )  
Yield of plant mixture ( $\text{t d.m.} \cdot \text{ha}^{-1}$ )

Nr obiektu No object	Kombinacja* Combination	Rok wegetacji – Year of vegetation				Średnia Average
		2002	2003	2004	2005	
1	Kontrola Control	0,49	4,39	4,33	4,06	3,32
2	O	2,45	10,22	9,41	8,56	7,66
3	P	0,15	2,65	2,60	2,35	1,94
4	OP 3/4:1/4	2,78	11,81	10,56	9,83	8,74
5	PO 1/4:3/4	0,80	6,86	6,79	6,31	5,19
6	PO 1:1	2,26	8,21	8,20	7,73	6,60
V%**		76,10	47,07	43,71	43,70	46,72
NRI <sub>(<math>\alpha=0,05</math>)</sub> – LSD <sub>(<math>\alpha=0,05</math>)</sub>		0,17	0,42	0,25	0,25	0,30

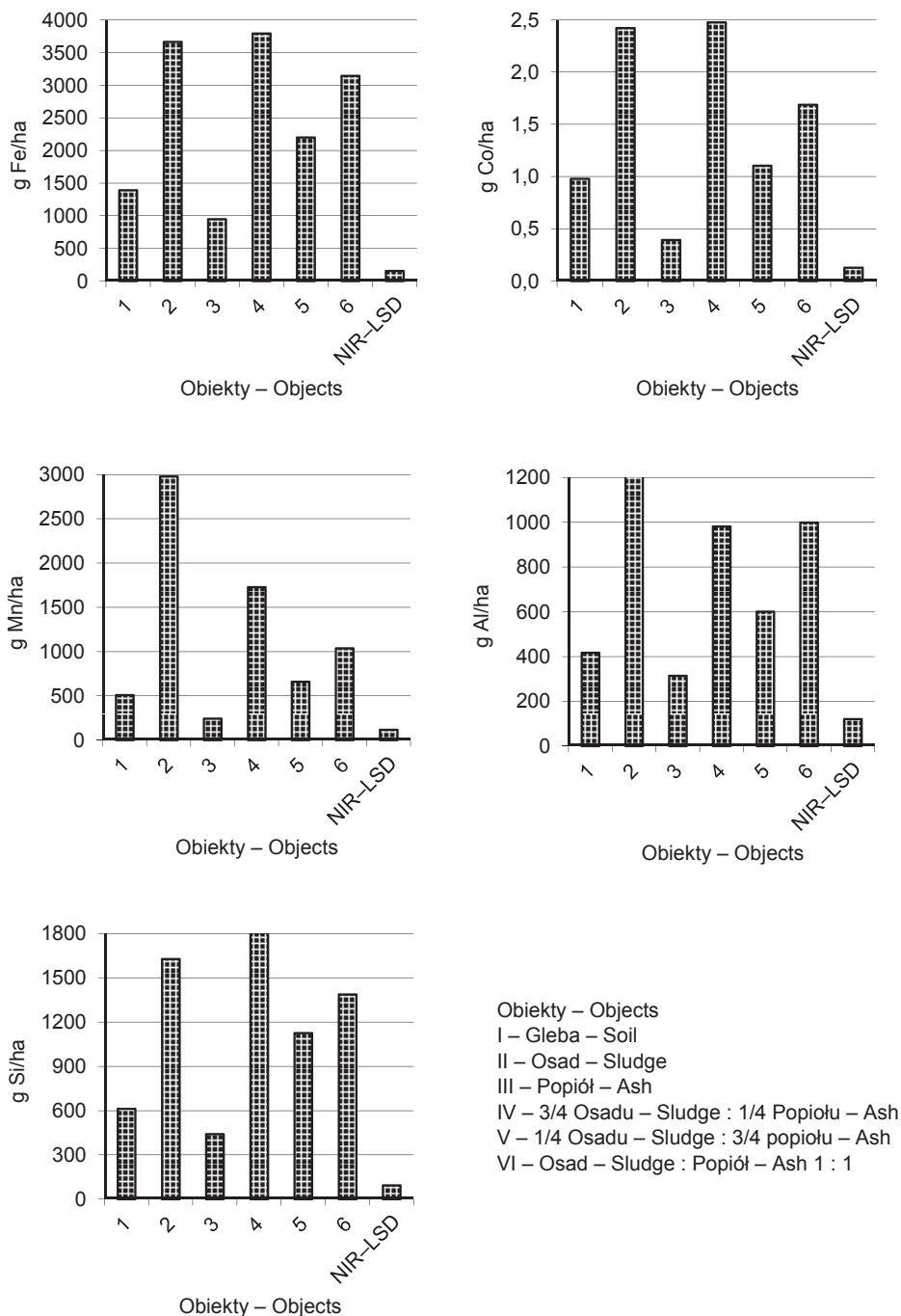
\* objaśnienia jak w tabeli 1 – See Table 1 for explanation of symbols

\*\* Współczynnik zmienności – Variability coefficient

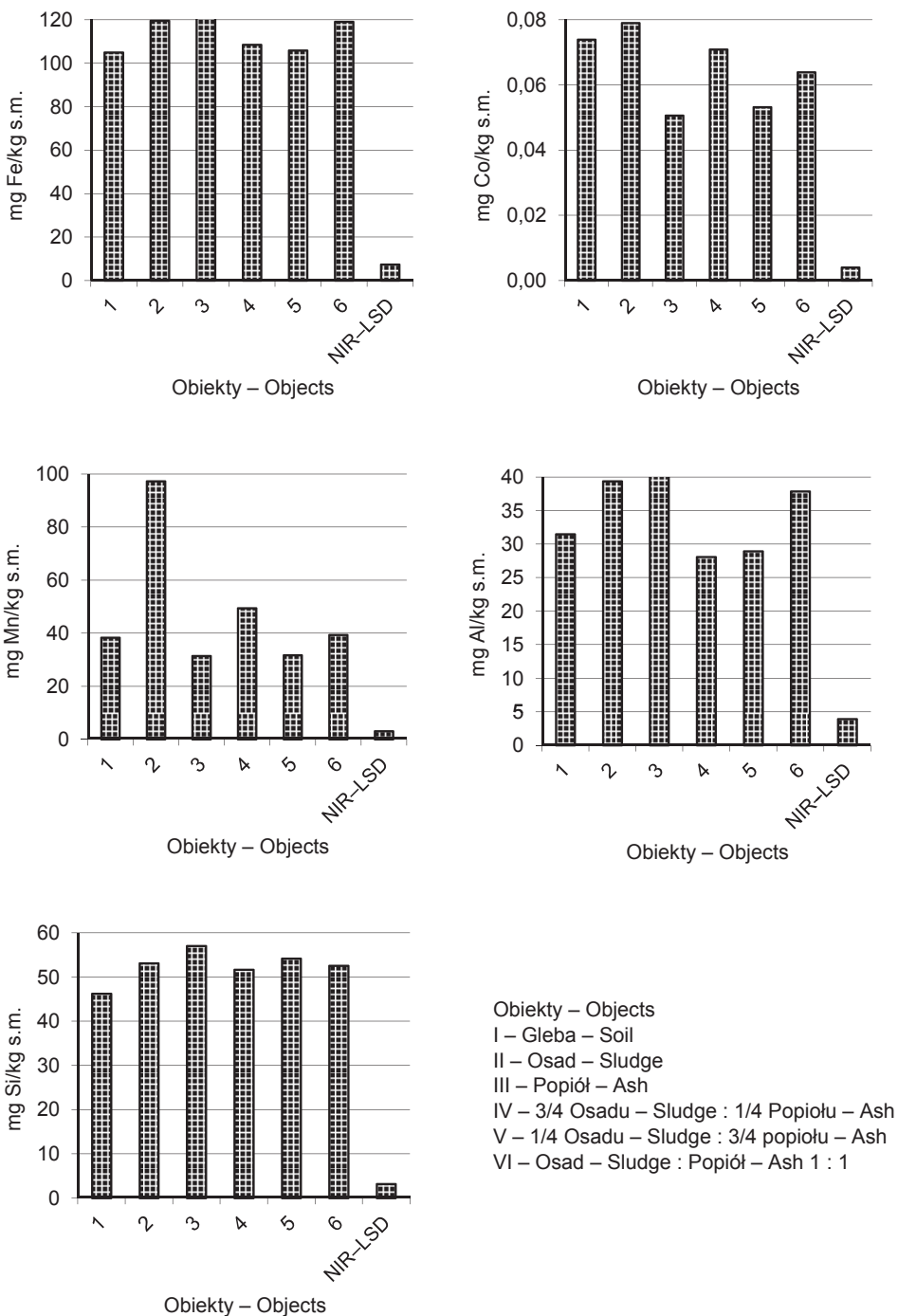
**Zawartość pierwiastków w mieszance roślin.** Zastosowane w doświadczeniu komunalne osady ściekowe, popioły oraz ich mieszaniny wpłynęły na zawartość Fe, Co, Mn, Al i Si w runi motylkowo-trawiastej (ryc. 1). Stwierdzono, że największym zróżnicowaniem charakteryzowała się ruń pod względem zawartości Mn ( $V = 52\%$ ), a najmniejszym krzem i żelazo ( $V = 6,8\%$ ). Zawartość pierwiastków w runi mieszanki motylkowo-trawiastej, w zależności od obiektu, wahała się w zakresie: 104–122 mg Fe, 0,05–0,08 mg Co; 31,4–97,2 mg Mn; 28,1–40,6 mg Al; 46,2–57,0 mg Si  $\cdot$  kg<sup>-1</sup> s.m. (ryc. 1). Spośród oznaczonych pierwiastków najwyższą zawartość Co i Mn stwierdzono w runi uprawianej na obiekcie, w którym zastosowano wyłącznie komunalny osad ściekowy w dawce 200 t  $\cdot$  ha<sup>-1</sup> s.m., natomiast Fe, Al i Si w obiekcie, w którym zastosowano wyłącznie popiół paleniskowy również w dawce 200 t  $\cdot$  ha<sup>-1</sup> s.m.

Wykorzystane komunalne osady ściekowe w ilości 200 t  $\cdot$  ha<sup>-1</sup> s.m. (obiekt 2) spowodowały istotne zwiększenie zawartości Fe, Co, Mn, Al i Si w mieszance traw z roślinami motylkowatymi w porównaniu z roślinami uzyskanymi w obiekcie kontrolnym. Natomiast nawożenie wyłącznie popiołem paleniskowym spowodowało istotnie zmniejszenie zawartości Co i Mn w badanych roślinach, w porównaniu z roślinami uzyskanymi w kontroli.

Zastosowanie mieszanin popiołowo-osadowych spowodowało zwiększenie zawartości Fe i Si w badanej runi, w porównaniu z kontrolą. Ponadto znaczny udział komunalnego osadu w mieszaninie popiołowo-osadowej (obiekt 4) spowodował zwiększenie zawartości Mn w badanej runi roślin. Zwiększenie zawartości tego mikroelementu w runi roślin spowodowane było uwalnianiem tego pierwiastka z osadu ściekowego w wyniku jego mineralizacji. W badaniach stwierdzono zmniejszenie zawartości Mn w runi roślin pod wpływem dodatku popiołu paleniskowego (obiekt 3), co wynika ze słabej rozpuszczalności tego mikroelementu w warunkach odczynu alkalicznego. Zarejestrowano także wpływ mieszaniny popiołowo-osadowej (wymieszanej w stosunku wagowym 1:1) na istotny wzrost zawartości Al w mieszance trawiasto-motylkowatej. Znaczny udział popiołu w mieszaninie popiołowo-osadowej (obiekt 5) wpłynął na obniżenie zawartości Co i Mn, w porównaniu z obiektem kontrolnym.



Ryc. 1. Zawartość pierwiastków w biomacie roślin  
 Fig. 1. Content of elements in plants biomass



Ryc. 2. Pobranie pierwiastków przez biomasę roślin

Fig. 2. Uptake of elements by plants biomass

**Pobranie pierwiastków.** Ilość pierwiastków wyniesionych (pobrane) z obiektów zależała od wielkości plonu i zawartości danego pierwiastka w plonie (ryc. 2).

W niniejszych badaniach stwierdzono, że zastosowanie wyłącznie osadu ściekowego w dawce  $200 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$  s.m. spowodowało w największych ilościach pobranie Fe, Co, Mn, Al oraz Si przez rośliny uprawiane w mieszance. Znaczny udział osadu w mieszaninie popiołowo-osadowej (obiekt 4) również sprzyjał większemu pobieraniu pierwiastków, w porównaniu z obiektem kontrolnym. Większe pobranie badanych pierwiastków związane było ze wzrostem plonu mieszanki roślin motylkowo-trawistych. Zastosowany wyłącznie popiół paleniskowy, w dawce  $200 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$ , spowodował obniżenie pobrania badanych pierwiastków, co było związane głównie z obniżeniem plonu mieszanki roślin (tab. 3). Spośród badanych pierwiastków Fe było pobrane w największych ilościach, a Co w najmniejszych.

**Proporcje wagowe pomiędzy pierwiastkami w biomase roślin.** W pracy przedstawiono proporcje występujące pomiędzy pierwiastkami, które mają charakter poznawczy. Z badań wynika, że zastosowane osady ściekowe, popioły paleniskowe oraz ich mieszaniny w sposób wyraźny modyfikowały proporcje pomiędzy oznaczonymi pierwiastkami (tab. 4).

Tabela 4  
Table 4

Proporcje pomiędzy pierwiastkami w mieszance roślin  
Relation between elements in plants mixture

Nr obiektu No object	Kombinacja Combination	Fe:Co	Fe:Mn	Fe:Al	Fe:Si	Mn:Co	Mn:Al	Mn:Si	Al:Si
1	Kontrola – Control	1421	2,74	3,34	2,27	518,83	1,22	0,83	0,68
2	Osad – Sludge	1512	1,23	3,04	2,25	1230,69	2,47	1,83	0,74
3	Popiół – Ash	2419	3,90	3,02	2,15	620,35	0,77	0,55	0,71
4	3/4 osadu+1/4 popiołu 3/4 sludge+1/4 ash	1530	2,19	3,86	2,10	697,58	1,76	0,96	0,54
5	1/4 osadu+3/4 popiołu 1/4 sludge+3/4 ash	1990	3,34	3,66	1,95	596,72	1,10	0,59	0,53
6	Osad + popiół (1:1) Sludge + ash 1:1	1863	3,03	3,15	2,27	615,37	1,04	0,75	0,72
V% – Współczynnik zmienności V% – Variability coefficient		21,2	34,13	10,44	5,75	36,43	44,52	51,55	14,08

Stwierdzono duży zakres zmienności proporcji, co wskazuje, że mieszanka uprawianych roślin na odpadach cechuje się znaczną tolerancją na kształtowanie się stosunków pomiędzy pierwiastkami. Największą zmienność wykazano w przypadku proporcji Mn : Si i Mn : Al, natomiast najmniejszą w przypadku Fe : Si. Zastosowanie wyłącznie komunalnego osadu ściekowego w dawce  $200 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$  s.m. (obiekt 2) wpłynęło na zwiększenie wartości stosunku wagowego Mn : Co, Mn : Al, Mn : Si w porównaniu z obiektem kontrolnym. W przypadku zastosowanego wyłącznie popiołu paleniskowego, również w dawce  $200 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$  (obiekt 3), wpłynęło na zwiększenie wartości stosunku wagowego Fe : Co i Fe : Mn w porównaniu z wartością tych proporcji uzyskanymi z obiektu kontrolnego. W przypadku proporcji Fe : Al, Fe : Si, Al : Si stwierdzono, że dodatek osadów i popiołów oraz ich mieszanin nie miał większego wpływu na zwiększenie lub obniżenie wartości wyżej wymienionych stosunków w mieszance roślin.

Do normalnego wzrostu roślin przeznaczonych na paszę konieczne jest utrzymanie mniej więcej stałego i określonego stosunku Fe : Mn. Przyjęto, że optymalny stosunek Fe : Mn wynosi 1,5–2,5:1. Jak podają Falkowski i wsp. (2000), poniżej wartości 1,5 tego stosunku występują objawy toksyczności manganu i niedoboru żelaza, natomiast gdy stosunek Fe : Mn kształtuje się powyżej 2,5, w roślinie występują brak manganu i nadmiar żelaza. Analizując wartość proporcji pomiędzy Fe i Mn w runi roślin, stwierdzono, że zastosowane mieszaniny popiołowo-osadowe wpłynęły na wartość tej proporcji zbliżoną do optymalnej. Wartość stosunku Fe : Mn w runi roślin uprawianych wyłącznie na osadzie (obiekt 2) świadczyła o zdecydowanym nadmiarze Mn i niedoborze Fe.

## DYSKUSJA

Zastosowanie do gleby odpadów takich jak komunalne osady ściekowe, popioły paleniskowe oraz ich mieszaniny wpływają korzystnie na wielkość plonu i skład chemiczny roślin (Antonkiewicz 2009, 2010, Kalembasa, Wysokiński 2002, Maciejewska, Wrońska 2003). Z innych badań (Góra 1987) wynika, że wprowadzenie do gleby zbyt dużej ilości popiołów może prowadzić do zachwiania równowagi jonowej, co w konsekwencji przyczyni się do obniżenia plonu roślin. Z przeprowadzonych w niniejszej pracy badań wynika, że wykorzystanie wyłącznie popiołów paleniskowych wpłynęło na zmniejszenie plonowania mieszanki roślin, natomiast dodatek osadów ściekowych spowodował zwiększenie plonowania. Zwiększenie wielkości plonu mieszanki roślin, zwłaszcza na obiektach gdzie zastosowano mieszaniny popiołowo-osadowe, tłumaczy się poprawą właściwości fizyczno-chemicznych wierzchniej warstwy gleby, np. zwiększeniem pojemności sorpcyjnej gleb, stopniem wysycenia zasadami, zawartością próchnicy, poprawą stosunków wodnych (Koter i wsp. 1984, Maciejewska, Wrońska 2003).

Wielu autorów (Ciećko i wsp. 2007, Kalembasa, Wysokiński 2004) zwraca uwagę na osady ściekowe i popioły paleniskowe jako bogate źródło nie tylko metali o właściwościach toksycznych, ale także składników pełniących funkcję mikroelementów. Z badań własnych wynika, że zastosowanie osadów ściekowych, popiołów oraz ich mieszanin spowodowało zwiększenie zawartości Fe, Mn, Al, Si, a zmniejszyło zawartość Co w runi uprawianych roślin. Uzyskane wyniki pokrywają się z badaniami innych autorów (Kalembasa, Wysokiński 2004), gdzie dodatek osadów ściekowych i alkalizacja środowiska glebowego poprzez wykorzystanie popiołów wpłynęły na zwiększenie zawartości mikroelementów w biomase roślin.

Zastosowanie wyłącznie popiołów paleniskowych wpłynęło na zmniejszenie zawartości Mn, Co w runi roślin testowanych. Z badań Curyły i wsp. (1981, 1985), Kabaty-Pendias i wsp. (1987) wynika, że zawartość Mn, Co w roślinach przy wysokim pH podłoża ulega obniżeniu, ponieważ w glebach zasadowych Mn i Co występują w formach trudno rozpuszczalnych w roztworze glebowym, np. w formie węglanowej. Wzrost odczynu roztworu glebowego, pod wpływem zaaplikowanych tylko popiołów paleniskowych, ogranicza pobieranie kationów śladowych przez rośliny (Antonkiewicz 2009, Kabata-Pendias i wsp. 1987).

**Ocena składu chemicznego.** Roślin przeznaczonych do rekultywacji, zagospodarowania odpadów, nie powinno się przeznaczać na cele paszowe, ponieważ zawsze istnieje możliwość występowania w nich metali ciężkich w ilościach ponadnormatywnych. Plon

roślin rekultywacyjnych winien być przeznaczony na cele przemysłowe, energetyczne czy do produkcji kompostu. Przemysłowe przeznaczenie biomasy roślin jest ponadto gwarancją wyłączenia metali ciężkich z łańcucha troficznego. W pracy zwrócono uwagę na pierwiastki takie jak: żelazo, mangan, kobalt, glin i krzem, które występują w roślinach w zróżnicowanych ilościach, jednak niezbędnych do prawidłowego ich wzrostu i rozwoju (Falkowski i wsp. 2000, Szoszkiewicz, Znamirowski 1989). Dlatego do celów poznawczych zawartość wyżej wymienionych pierwiastków w runi oceniano pod względem paszowym.

Dla badanych pierwiastków przyjęto następujące wartości optymalne, poniżej których występuje ich niedobór w roślinach przeznaczonych na pasze: 40–80 mg Fe; 40–70 mg Mn; 0,08–0,16 mg Co · kg<sup>-1</sup> s.m. (Szoszkiewicz, Znamirowski 1989, Curyło i wsp. 1985). Zwierzęta skarmiane paszą bogatą w krzem mogą odkładać ten pierwiastek w formie kamieni moczowych, dlatego próbowano ustalić granicę bezpieczeństwa jego zawartości w paszy, uznając wartość 9,0 g · kg<sup>-1</sup> s.m. za dopuszczalną (Falkowski i wsp. 2000). Zastosowane w doświadczeniu komunalne osady ściekowe i popioły paleniskowe w pełni pokryły zapotrzebowanie roślin na Fe. Zawartość tego pierwiastka w mieszance roślin mieściła się nieco powyżej wartości optymalnej. Natomiast zawartość Co i Si w mieszance traw i roślin motylkowatych kształtowała się poniżej wartości optymalnej. Z badań wynika, że zastosowany popiół paleniskowy wyraźnie wpłynął na niedobór Co w mieszance roślin. Z literatury (Wojcieszczuk i wsp. 2009, Kalemekiewicz, Socho 2004) wynika, że popioły paleniskowe są źródłem mikroelementów, ale ich rozpuszczalność a jednocześnie przyswajalność jest na ogół niewielka w odniesieniu do ich ogólnej zawartości. Zawartość Mn w mieszance roślin uprawianej w warunkach obiektu kontrolnego mieściła się poniżej wartości optymalnej, natomiast biomasa wyprodukowana na osadzie ściekowym (obiekt 2) zawierała Mn powyżej wartości optymalnej.

Z przeprowadzonych badań wynika, że proporcje między pierwiastkami w runi testowanych roślin były wyraźnie modyfikowane przez osady ściekowe, popioły paleniskowe oraz ich mieszaniny. We wcześniejszych badaniach własnych również stwierdzono, że zastosowane popioły paleniskowe wpływają na wartość proporcji pomiędzy pierwiastkami w roślinach (Antonkiewicz 2008). Zmiana w proporcji pomiędzy pierwiastkami w mieszance roślin wywołana była przypuszczalnie zmniejszeniem rozpuszczalności pierwiastków w roztworze glebowym, a tym samym ograniczoną przyswajalnością tych pierwiastków dla roślin (Curyło 1981, Maciak, Liwski 1981).

## WNIOSKI

1. Zastosowane komunalne osady ściekowe, popioły paleniskowe oraz ich mieszaniny spowodowały istotne zwiększenie zawartości Fe, Al i Si. Zastosowany wyłącznie popiół paleniskowy wpłynął na obniżenie Co i Mn w runi motylkowo-trawiastej w porównaniu z kontrolą i osadem ściekowym.

2. Zawartość Fe i Mn w runi roślin odpowiadała normom stawianym paszom dobrej jakości, natomiast zawartość Co i Si kształtowała się poniżej wartości optymalnej.

3. Zastosowanie osadu ściekowego w dawce 200 t · ha<sup>-1</sup> s.m. oraz jego mieszanina z popiołem w stosunku ¾ do ¼ spowodowało największe pobranie Fe, Co, Mn, Al oraz Si przez mieszanek roślin motylkowo-trawiastej, natomiast popiół paleniskowy wykorzystany



w tej samej dawce spowodował obniżenie pobrania wyżej wymienionych pierwiastków przez mieszankę roślin.

4. Komunalny osad ściekowy spowodował zwiększenie wartości stosunku wagowego Mn : Co, Mn : Al, Mn : Si w runi roślin. Popiół paleniskowy spowodował zwiększenie wartości stosunku wagowego Fe : Co i Fe : Mn w porównaniu z wartościami tych stosunków w runi roślin uzyskanych z obiektu kontrolnego.

## PIŚMIENNICTWO

- Antonkiewicz J., 2008. Wpływ popiołu paleniskowego z węgla kamiennego na plonowanie i zawartość mikrośladników w wybranych gatunkach traw. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln., 524: 281–293.
- Antonkiewicz J., 2009. Ocena przyrodniczego wykorzystania popiołów paleniskowych i komunalnych osadów ściekowych. Zesz. Nauk UR w Krakowie, 331, Seria rozprawy 454.
- Antonkiewicz J., 2010. Effect of sewage sludge and furnace waste on the content of selected elements in the sward of legume-grass mixture. J. Elementol., 15, 3: 435–443.
- Antonkiewicz J., Radkowski A., 2006. Przydatność wybranych gatunków traw i roślin motylkowatych do biologicznej rekultywacji składowisk popiołów paleniskowych. Annales UMCS, sec. E, 61: 413–421.
- Ciećko Z., Żołnowski A.C., Chelstowski A., 2007. Wpływ następczy popiołów z węgla kamiennego na skład chemiczny runi łąkowej. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln., 518: 23–33.
- Curyło T., 1981. Wpływ niektórych właściwości gleby i poziomu nawożenia NPK na pobieranie kobaltu przez rośliny. Cz. I. Wyniki badań nad zależnością między zawartością kobaltu w glebach i roślinach. Acta Agr. et Silvestr. Ser. Agrar., 20: 57–80.
- Curyło T., Krauze A., Kuczyńska I., Sapek B., 1985. Liczby graniczne zawartości Fe, Cu, Mn, Zn, Co, J, Se i Mo w roślinności łąk i pastwisk pod kątem oceny ich wartości paszowej. Prace Kom. Nauk PTG, 93, Warszawa: 43–60.
- Czyż H., Kitzczak T., 2007. Przydatność gatunków traw i surowców odpadowych do rekultywacji hałd popiołowo-żuźlowych. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln., 518: 45–52.
- Falkowski M., Kukułka I., Kozłowski S., 2000. Właściwości chemiczne roślin łąkowych. Wyd. AR Poznań.
- Gilewska M., Przybyła Cz., 2001. Wykorzystanie osadów ściekowych w rekultywacji składowisk popiołowych. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln., 477: 217–222.
- Góra E., 1987. Wpływ popiołów elektrownianych na plonowanie i skład chemiczny roślin na glebie ciężkiej. Zesz. Nauk. AR Kraków Nr 219, Roln., 27: 39–55.
- Kabata-Pendias A., Piotrowska M., Wiącek K., 1987. Wpływ popiołów z węgla kamiennego na gleby i rośliny. Arch. Ochr. Środ., 1–2: 97–104.
- Kalembasa S., Wysokiński A., 2002. Wpływ nawożenia mieszaniną osadów ściekowych z popiołem węgla brunatnego lub z CaO na plon i skład chemiczny roślin. Cz. I. Plon roślin. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln., 482: 251–256.
- Kalembasa S., Wysokiński A., 2004. Zawartość wybranych mikroelementów w osadach ściekowych świeżych i kompostowanych z dodatkiem popiołu z węgla brunatnego. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln., 502: 819–824.



- Kalembkiewicz J., Socho E., 2004. Sequential extraction of Cr, Fe, Co, and Ni from industrial ash. *Ecolog. Chem. and Engin.*, 11, 4–5: 347–352.
- Katalog odpadów, 2001. Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 27 września 2001 r. w sprawie katalogu odpadów. *Dz.U. RP*, Nr 112, poz. 1206.
- Koter M., Nowak G., Czapla J., 1984. Wpływ popiołów z węgla kamiennego na fizykochemiczne właściwości gleby. *Roczn. Glebozn.*, 35, 1: 97–106.
- Maciak F., Liwski S., 1981. Wpływ wysokich (melioracyjnych) dawek popiołów z węgla brunatnego i kamiennego na plonowanie i skład chemiczny roślin na glebie piaskowej. *Roczn. Glebozn.*, 32, 1: 81–100.
- Maciejewska A., Wrońska D., 2003. Zagospodarowanie mieszanin osadowo-popiołowych w świetle literatury, obowiązujące prawa i praktyki. *Monogr. t. II. „Obieg pierwiastków w przyrodzie”*. Wyd. IOŚ, Warszawa: 634–642.
- Ostrowska A., Gawliński S., Szczubiałka Z., 1991. Metody analizy i oceny właściwości gleb i roślin. *Katalog*. Wyd. IOŚ, Warszawa.
- Rozporządzenie, 2010. Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 13 lipca 2010 r. w sprawie komunalnych osadów ściekowych. *Dz.U. RP*, Nr 137, poz. 924.
- Rozporządzenie, 2002. Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 1 sierpnia 2002 r. w sprawie komunalnych osadów ściekowych. *Dz.U. RP*, Nr 134, poz. 1140.
- Smółka-Danielowska D., 2001. Badania składu fazowego popiołów powęglowych z indywidualnych palenisk domowych i jego wpływ na środowisko. *Zesz. Nauk. Politechniki Śląskiej*, 1515, Seria: Górnictwo, 249: 157–164.
- Strzyszczyk Z., Łukasik A., 2008. Zasady stosowania różnorodnych odpadów do rekultywacji biologicznej terenów poprzemysłowych na Śląsku. *Gospodarka Surowcami Mineralnymi*, 24, 2/3: 41–49.
- Szoszkiewicz J., Znamirowski M., 1989. Zawartość mikroelementów w runi użytków zielonych Wielkopolski. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, 325: 181–185.
- Wojcieszczuk T., Meller E., Sammel A., Stankowski S., 2009. Zawartość i rozpuszczalność niektórych składników chemicznych w popiołach o różnym pochodzeniu. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, 535: 483–493.
- Żelechower M., Smółka D., Jabłońska M., Dytkowicz A., 1998. Determination of chemical and phase composition of fly-ashes by combined EPMA and XRD methods. *Mikrochim. Acta (Suppl.)*, 15: 207–210.

## THE EFFECT OF SEWAGE SLUDGE AND FURNACE ASH ON YIELD AND CONTENTS OF SELECTED ELEMENTS IN LEGUME-GRASS SWARD

### Summary

Applying municipal sewage sludge, furnace ashes, or a combination thereof affects the chemical composition of plants used in the reclamation of landfill sites. The aim of the research was to determine the effect of sewage sludge, furnace ash, or a combination of both on the yield and the contents of Fe, Co, Mn, Al and Si in legume-grass sward. A field experiment was set up with 6 treatments of different doses of applied sewage sludge and furnace ashes on sites: 1 – control treatment; 2 – 200 t d.m. of sewage sludge; 3 – 200 t d.m. of ash; 4 – 150 t d.m. of sludge + 50 t d.m. of ash;

5 – 50 t d.m. of sludge + 150 t d.m. of ash and 6 – 100 t d.m. of sludge + 100 t d.m. of ash. The content of elements in the sward depended on the dose of sewage sludge applied. Doses of sewage sludge led to an increase in Fe, Mn, Al and Si concentrations, but a decrease in the Co content in the sward plant biomass. The results of the experiment revealed that combined mixtures of ash and sludge led to an optimal Fe to Mn ratio in plants. An evaluation of the content of elements in the legume-grass sward showed that the Fe and Mn content corresponded to the optimal level with regard to fodder value. The Si concentration in plants was below the optimal value.

KEY WORDS: grass-legume sward, yield, Fe, Co, Mn, Al and Si, uptake, ratios, sludge, ash

**Krzysztof Balcer, Czesław Wołoszyk**

**WPŁYW KOMPOSTÓW Z ODPADÓW BIODEGRADOWALNYCH  
NA KSZTAŁTOWANIE ZAWARTOŚCI MIKROSKŁADNIKÓW  
W ROŚLINACH I GLEBIE**

**USE OF COMPOSTS PREPARED FROM BIODEGRADABLE  
WASTE AND THE IMPACT ON THE CONTENT  
OF MICRONUTRIENTS IN PLANTS AND SOIL**

*Zakład Rekultywacji i Chemii Środowiska, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie*

*Department of Reclamation and Environmental Chemistry, West Pomeranian University of Technology, Szczecin*

W dwuczynnikowym doświadczeniu wazonowym badano wpływ kompostów, sporządzonych z różnym udziałem odpadów biodegradowalnych (kompost I – komunalny osad ściekowy 70% + słoma pszenna 30%, kompost II – osad 35% + odpady kuchenne 35% + słoma 30%, kompost III – osad 70% + łuska kakaowa 30%, kompost IV – osad 35% + odpady kuchenne 35% + łuska kakaowa 30%, kompost V – osad 70% + słoma 15% + łuska kakaowa 15%, kompost VI – osad 35% + odpady kuchenne 35% + słoma 15% + łuska kakaowa 15%) na kształtowanie zawartości miedzi, manganu i cynku w roślinach testowych i glebie. W schemacie badań uwzględniono 6 rodzajów kompostów, dwie ich dawki i obiekty kontrolne – bez nawożenia oraz z nawożeniem NPK. Pierwsza dawka kompostów, w przeliczeniu na azot, wynosiła 0,510 g N, a II dawka była trzykrotnie większa – 1,530 g. Na wszystkich obiektach z kompostami zastosowano nawożenie mineralne NPK w dawce, jak na obiekcie kontrolnym z nawożeniem NPK.

W pierwszym roku badań rośliną testową była trawa – *Festulolium*, którą zebrano trzykrotnie, a w drugim, kiedy oceniano działanie następcze kompostów, rzepak jary. W *Festulolium* z wszystkich obiektów z kompostami i NPK, w porównaniu z obiektem tylko z NPK, wzrost średniej ważonej z trzech pokosów zawartości pierwiastków śladowych był zróżnicowany, a średni wyniósł: miedzi 158,4%, manganu 12,5%, a cynku 33,6%. Poszczególne komposty, również w działaniu następczym, powodowały dość znaczne zwiększenie zawartości analizowanych mikrośladników w nasionach i słomie rzepaku jarego.

W glebie z obiektów nawożonych kompostami, po dwóch latach od ich zastosowania, stwierdzono zwiększenie zawartości ogólnej wszystkich oznaczanych mikrośladników. Również za-

---

Do cytowania – For citation: Balcer K., Wołoszyk C., 2012. Wpływ kompostów z odpadów biodegradowalnych na kształtowanie zawartości mikrośladników w roślinach i glebie. Zesz. Nauk. UP Wroc., Rol. CIII, 589: 23–32.

wartość form pierwiastków śladowych rozpuszczalnych w 1 mol HCl · dm<sup>-3</sup> wzrosła – z wyjątkiem cynku. Zarówno w przypadku roślin, jak i gleby, większe zwwyżki zawartości mikrośladników uzyskiwano w wyniku nawożenia kompostami zawierającymi w swoim składzie 70% komunalnego osadu ściekowego, który był ich głównym nośnikiem.

SŁOWA KLUCZOWE: osady ściekowe, komposty, mikrośladniki, rośliny testowe, gleba

## WSTĘP

Coraz większa troska o stan środowiska przejawia się między innymi racjonalnym wykorzystaniem różnego rodzaju odpadów komunalnych i przemysłowych. Jedną z bardziej uciążliwych grup odpadów są komunalne osady ściekowe. Jednak liczne wyniki badań wskazują na możliwość przyrodniczego wykorzystania ich potencjału nawozowego, a zwłaszcza kompostów z udziałem osadów. Duży potencjał nawozowy kompostów osadowych jest wynikiem nie tylko znacznej w nich zawartości makrośladników, ale i mikrośladników (Czekała 2008, Czekała, Sawicka 2006, Górska, Stępień 2008, Spiak, Kulczycki 2004, Wołoszyk i wsp. 2009). Ponadto, coraz nowsze uregulowania prawne stwarzają problemy z zagospodarowaniem substancji, które do niedawna stanowiły paszę dla zwierząt. Zmiana sposobu zagospodarowania dotyczy między innymi odpadów kuchennych, którymi karmiono trzodę chlewną, a obecnie ten sposób ich wykorzystania jest zabroniony i są one deponowane na wysypiskach odpadów.

Z nielicznych jeszcze badań wynika, że odpady kuchenne przedstawiają dość znaczną wartość nawozową (Debosz i wsp. 2002, Petersen, Gron 2003). Ze względu na duże uwilgotnienie i szeroki stosunek substancji organicznej do części popielnych optymalną metodą ich utylizacji powinno być kompostowanie (Chang, Hsu 2008). W celu przyspieszenia procesu kompostowania nierozłożonych elementów odpadów kuchennych powinno się je kompostować z dodatkiem komponentów wprowadzających do masy kompostowej drobnoustroje (np. z osadów ściekowych) i materiały zwiększające zawartość suchej masy (słoma zbóż, trociny i inne). Z badań Fu i wsp. (2006) wynika, że optymalne warunki kompostowania odpadów kuchennych z osadami ściekowymi uzyskuje się po wymieszaniu tych komponentów w stosunku 1:1.

Wcześniejsze badania wartości nawozowej kompostów sporządzonych z osadów ściekowych i słomy zbóż wskazują na ich dużą wartość nawozową (Czekała, Sawicka 2006, Pourcher i wsp. 2005). Brakuje natomiast informacji odnośnie wartości kompostów, w których słomę zastąpiono łuską kakaową bądź jednocześnie dodawano oba komponenty. Wiadomo bowiem, że łuska kakaowa charakteryzuje się dużą zawartością azotu, fosforu, a zwłaszcza potasu, co według Chung i wsp. (2003) może stanowić uzupełniające źródło tego składnika w kompostach z osadami ściekowymi, które zazwyczaj zawierają mało tego pierwiastka. Jednocześnie należy nadmienić, że dostępność słomy zbóż będzie ograniczana poprzez zwiększone zapotrzebowanie na nią jako na materiał energetyczny (Dach 2010).

Celem badań było określenie wpływu kompostów sporządzonych z różnym udziałem komunalnych osadów ściekowych i innych odpadów biodegradowalnych na kształtowanie zawartości miedzi, manganu i cynku w roślinach testowych i glebie.

## MATERIAŁ I METODY

W badaniach nad wartością nawozową kompostów, o zróżnicowanym udziale odpadów biodegradowalnych, przygotowano 6 ich rodzajów: kompost I – komunalny osad ściekowy 70% + słoma pszenna 30%, kompost II – osad 35% + odpady kuchenne 35% + słoma 30%, kompost III – osad 70% + łuska kakaowa 30%, kompost IV – osad 35% + odpady kuchenne 35% + łuska kakaowa 30%, kompost V – osad 70% + słoma 15% + łuska kakaowa 15%, kompost VI – osad 35% + odpady kuchenne 35% + słoma 15% + łuska kakaowa 15% (wartości procentowe określają udział suchej masy). Komunalny osad ściekowy pochodził z Miejskiej Oczyszczalni Ścieków w Stargardzie Szczecińskim, prażona łuska kakaowa ze Szczecińskich Zakładów Cukierniczych „Gryf”, a odpady kuchenne z Zakładu Odzysku i Składowania Odpadów Komunalnych w Leśnie Górnym koło Polic. Kompostowanie prowadzono przez 12 miesięcy, a po tym okresie komposty zastosowano w doświadczeniu wazonowym do nawożenia roślin testowych.

Doświadczenie założono metodą kompletnej randomizacji w 3 powtórzeniach, w wazonach typu Kick-Brauckmanna wypełnionych 9 kg gleby lekkiej, pobranej z poziomu Ap pola produkcyjnego Rolniczej Stacji Doświadczalnej w Lipniku koło Stargardu Szczecińskiego. Pierwszym z badanych czynników było 6 rodzajów kompostów, a drugim dwie ich dawki. W schemacie badań uwzględniono obiekty kontrolne – bez nawożenia i z nawożeniem mineralnym NPK. Pierwsza dawka kompostów, w przeliczeniu na azot, wynosiła 0,510 g N, a II dawka była trzykrotnie większa i wynosiła 1,530 g N na wazon. Na wszystkich obiektach z kompostami zastosowano nawożenie NPK w dawce, jak na obiekcie kontrolnym z nawożeniem NPK (0,30 g N, 0,0654 g P, 0,149 g K na wazon). Azot wniesiono do wazonów (przed siewem, po I i II pokosie) w postaci wodnego roztworu mocznika, a fosfor (cała dawka przed siewem) jako wodny roztwór superfosfatu potrójnego, natomiast potas (przed siewem i po I pokosie trawy) w wodnym roztworze 60-procentowej soli potasowej.

W pierwszym roku badań rośliną testową była trawa – *Festulolium* (odmiana „Felo-pa”), którą zebrano trzykrotnie, po około trzydziestu dniach wegetacji każdego odrostu. Po zbiorze trzeciego pokosu glebę w wazonach wymieszano, przykrywając ścierną po zebranej trawie i wazon, przykryte folią, przechowywano (od listopada do kwietnia) w kontenerze.

W drugim roku badań wazonu ustawiono na wózkach pod zadaszeniem z folii i po spulchnieniu gleby zastosowano nawożenie NPK do wszystkich wazonów – oprócz obiektu kontrolnego (bez nawożenia mineralnego). Dawka azotu wynosiła 0,21 g N (mocznik), fosforu 0,0457 g P (superfosfat potrójny granulowany), potasu 0,174 g K na wazon (60-procentowa sól potasowa). Wodne roztwory superfosfatu potrójnego i soli potasowej zastosowano w całości przed siewem rzepaku, a mocznik – ½ dawki przed siewem i ½ dawki po miesiącu. Jako roślinę testową wysiano rzepak jary – odmiana „Star” (10 nasion na wazon, a po przerywce pozostawiono 7 roślin). Po zbiorze (w fazie dojrzałości technicznej) oznaczono plon świeżej masy całych roślin, a po wysuszeniu oddzielnie plon nasion i słomy rzepaku oraz pobrano próbki gleby do analiz. W roślinach oznaczono całkowitą zawartość miedzi, manganu i cynku metodą ASA, po uprzedniej mineralizacji materiału roślinnego w mieszaninie kwasów chlorowego (VII) i azotowego (V) w stosunku 1 : 3. Przed oznaczeniem całkowitej zawartości mikrośladników w glebie poddano ją mineralizacji w kwasach chlorowym (VII) i azotowym (V) zmieszanych

w stosunku 1 : 1, a zawartość form rozpuszczalnych oznaczono po ekstrakcji roztworem 1 mol HCl · dm<sup>-3</sup>. Analizę wariancji wyników oznaczeń zawartości mikroskładników w roślinach i glebie wykonano w układzie dwuczynnikowym, bezpowtórzeniowym, według pakietu FR-ANALWAR.

## WYNIKI I DYSKUSJA

Komposty zastosowane do nawożenia roślin testowych różniły się składem fizyczno-chemicznym, co wiązało się ze zróżnicowanym udziałem w nich poszczególnych komponentów (tab. 1). W kompostach z 70-procentowym udziałem komunalnego osadu ściekowego więcej było suchej masy, fosforu, wapnia i mikroskładników. Natomiast w kompostach, w których połowę udziału osadu ściekowego zastąpiono odpadami kuchennymi, odnotowano większą ogólną zawartość azotu i w większości przypadków węgla organicznego oraz potasu. Nie stwierdzono natomiast znaczących różnic w składzie chemicznym kompostów, zależnych od dodatku słomy bądź łuski kakaowej. Pomimo zróżnicowanego składu fizyczno-chemicznego wszystkie komposty spełniały normy określone w Rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 18 czerwca 2008 r. w sprawie wykonania niektórych przepisów ustawy o nawozach i nawożeniu (Dz.U. nr 119, poz. 765).

Tabela 1  
Table 1

Skład fizyczno-chemiczny kompostów przed zastosowaniem do wazonów  
Physico-chemical composition of composts before application to pots

Rodzaj kompostu Type of composts	Sucha masa Dry matter (g·kg <sup>-1</sup> św.m.) (g·kg <sup>-1</sup> f.m.)	Corg.	N	P	K	Ca	Cu	Mn	Zn
		(g·kg <sup>-1</sup> s.m.) (g·kg <sup>-1</sup> d.m.)				(mg·kg <sup>-1</sup> s.m.) (mg·kg <sup>-1</sup> d.m.)			
Kompost I Compost I	202	338	28,8	15,4	12,9	24,6	187,2	245,2	835,4
Kompost II Compost II	150	338	30,7	11,9	16,5	14,1	108,4	161,5	442,2
Kompost III Compost III	218	292	28,2	15,4	19,6	25,3	181,2	234,2	843,3
Kompost IV Compost IV	208	415	34,3	11,5	21,9	14,5	106,1	158,5	448,2
Kompost V Compost V	194	300	27,4	16,3	16,8	24,4	187,7	235,1	839,6
Kompost VI Compost VI	173	398	38,0	11,6	20,5	13,9	108,8	162,6	384,8

W analizowanym doświadczeniu do wazonów z poszczególnymi kompostami zastosowano różne ilości mikroskładników, gdyż wielkość dawek kompostów była zależna od zawartości w nich azotu. Jednak we wszystkich przypadkach więcej miedzi, manganu i cynku wniesiono z kompostami zawierającymi po 70% osadu ściekowego, który był

głównym nośnikiem pierwiastków śladowych, w porównaniu z pozostałymi komponentami kompostów.

W próbkach trawy (*Festulolium*) z każdego pokosu oznaczono zawartość miedzi, manganu i cynku, a w pracy przedstawiono średnie ważone zawartości tych mikrośladników z trzech pokosów. Średnia ważona zawartość miedzi w *Festulolium* z poszczególnych obiektów z kompostami nie różniła się istotnie (tab. 2). Jednak, w porównaniu ze średnią ważoną zawartością miedzi w trawie z obiektu kontrolnego bez nawożenia, jak i z obiektu z wyłącznym nawożeniem NPK, uzyskano znaczne zwwyżki zawartości tego składnika na wszystkich obiektach z kompostami. W stosunku do zawartości z nawożeniem NPK średnia zwwyżka z wszystkich obiektów z kompostami wyniosła 158,4%. Więcej miedzi oznaczono w trawie nawożonej kompostami z większym udziałem osadu ściękowego, czyli zebranej z obiektów, na których zastosowano więcej miedzi z kompostami. Wielkość dawki kompostów nie różnicowała istotnie zawartości miedzi w *Festulolium*, ale w wyniku zastosowania drugiej dawki osadów uzyskano o 23,5% większą zawartość tego mikrośladnika w trawie w porównaniu z dawką pierwszą.

Tabela 2

Table 2

Zawartość mikrośladników w *Festulolium* oraz w nasionach i słomie rzepaku jarego (mg·kg<sup>-1</sup> s.m.)  
The total content of micronutrients in *Festulolium* and in seeds and straw of spring rape (mg·kg<sup>-1</sup> d.m.)

Obiekty – Objects*	<i>Festulolium</i> **			Rzepak jary – Spring rape					
				nasiona – seeds			słoma – straw		
	Cu	Mn	Zn	Cu	Mn	Zn	Cu	Mn	Zn
Kompost I Compost I + NPK	6,46	51,69	33,77	3,76	38,96	35,60	5,48	19,60	17,96
Kompost II Compost II + NPK	5,16	46,50	28,92	3,42	31,05	32,93	4,99	18,85	16,77
Kompost III Compost III+ NPK	6,46	50,45	31,85	3,52	34,00	36,81	5,36	18,85	17,67
Kompost IV Compost IV+ NPK	5,35	46,16	28,38	3,42	30,65	32,91	5,34	16,20	15,71
Kompost V Compost V+ NPK	6,36	51,07	32,88	3,60	38,00	34,68	5,54	19,30	18,93
Kompost VI Compost VI+ NPK	5,22	46,95	27,59	3,28	31,90	33,24	5,28	17,10	17,10
NIR <sub>0,01</sub> – LSD <sub>0,01</sub>	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.
Dawka 1 – Dose 1	5,22	46,80	28,24	3,30	31,19	33,30	5,18	17,93	16,32
Dawka 2 – Dose 2	6,45	50,80	32,89	3,71	37,00	35,42	5,48	18,70	18,39
NIR <sub>0,01</sub> – LSD <sub>0,01</sub>	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.
Średnia – Mean	5,84	48,80	30,56	3,50	34,09	34,36	5,33	18,32	17,35
Kontrola – Control	2,15	40,71	20,66	2,92	24,60	30,80	4,01	10,70	13,83
NPK	2,26	43,38	22,87	2,74	23,80	29,70	4,52	13,80	12,29

\* objaśnienia oznaczeń podano w metodyce – For explanations see methods

\*\* zawartość mikrośladników w *Festulolium* podano jako średnia ważona z trzech pokosów – the content of microelements in *Festulolium* is given as a weighted mean from three cuts

Średnia ważona zawartość manganu w *Festulolium* z obiektu bez nawożenia wyniosła 40,7, a z NPK 43,38 mg·kg<sup>-1</sup> s.m. (tab. 2). Podobnie jak w przypadku miedzi nie stwierdzono



istotnych różnic w zawartości manganu w trawie między obiektami nawożonymi poszczególnymi kompostami. Komposty sporządzone z 70-procentowym dodatkiem osadu ściekowego zwiększyły zawartość manganu w trawie średnio o 17,7% w stosunku do obiektu z NPK, a te w których połowę osadu zastąpiono odpadami kuchennymi – średnio o 7,3%. Druga dawka kompostów, w porównaniu z pierwszą, zwiększyła zawartość manganu w trawie o 8,5%, ale różnica ta nie była istotna.

W wyniku zastosowania kompostów znacznemu zwiększeniu uległa zawartość cynku w *Festulolium* (tab. 2). W porównaniu z obiektem kontrolnym (bez nawożenia) średnia zawartość cynku wyniosła 47,0%, a z nawożeniem NPK 33,6%. W trawie z obiektów nawożonych kompostami bez udziału odpadów kuchennych średnia ważona zawartość cynku wahała się od 31,85 do 33,77 mg·kg<sup>-1</sup> s.m., a z ich udziałem od 27,57 do 28,92 mg·kg<sup>-1</sup> s.m. Druga dawka kompostów, która była 3-krotnie większa od dawki pierwszej, spowodowała ponad 16-procentowy wzrost zawartości cynku w trawie.

Wszystkie komposty w działaniu następczym zwiększyły zawartość miedzi, manganu i cynku w nasionach oraz słomie rzepaku jarego, ale podobnie jak w przypadku *Festulolium* nie stwierdzono istotnego zróżnicowania między poszczególnymi kompostami (tab. 2). W porównaniu z obiektem kontrolnym bez nawożenia średnia zawartość miedzi w nasionach rzepaku wyniosła 19,9%, a w stosunku do obiektu z nawożeniem NPK 27,7%, natomiast w słomie odpowiednio 32,9 i 17,9%.

Względne przyrosty całkowitej zawartości manganu w nasionach rzepaku z obiektów nawożonych kompostami były znacznie wyższe niż miedzi i w stosunku do obiektu kontrolnego bez nawożenia wyniosły średnio 38,6%, a w stosunku do obiektu z NPK – 43,2%. W słomie rzepaku jarego również odnotowano duże przyrosty zawartości manganu, które w porównaniu z obiektem kontrolnym wyniosły 71,2, a z nawożeniem NPK 32,8%.

Średnia całkowita zawartość cynku w nasionach rzepaku jarego (34,36 mg·kg<sup>-1</sup> s.m.) z obiektów z kompostami była prawie dwukrotnie większa niż w słomie (17,35 mg·kg<sup>-1</sup> s.m.) – tabela 2. W odróżnieniu od dwóch wcześniej omawianych mikrośladników przyrosty zawartości cynku w nasionach rzepaku z obiektów z kompostami, w porównaniu z obiektem kontrolnym bez nawożenia i z nawożeniem NPK, były mniejsze i wyniosły one odpowiednio 11,6 i 15,7%, a większe przyrosty zawartości cynku stwierdzono w słomie rzepaku (25,5 i 41,2%).

W drugim roku od zastosowania kompostów utrzymała się, w większości przypadków, przewaga kompostów z 70-procentowym udziałem osadu ściekowego nad tymi, w których połowę osadu zastąpiono odpadami kuchennymi w zwiększaniu zawartości analizowanych mikrośladników w nasionach i słomie rzepaku jarego. Podobnie jak w działaniu bezpośrednim większa dawka kompostów powodowała większy wzrost zawartości mikrośladników w nasionach i słomie rzepaku jarego.

Z powyższej analizy wynika, że komposty w działaniu bezpośrednim, zastosowane z uzupełniającym nawożeniem mineralnym (NPK), zwiększyły zawartość mikrośladników (Cu, Mn i Zn) w *Festulolium*. Mniej efektywne działanie kompostów z udziałem odpadów kuchennych, w kształtowaniu zawartości miedzi, manganu i cynku w trawie, należy wiązać z wniesieniem do wazonów mniejszej ilości mikrośladników z tymi kompostami, z uwagi na niższą zawartość mikrośladników w odpadach kuchennych niż w osadach ściekowych. Korzystny wpływ komunalnych osadów ściekowych, jak i kompostów z ich udziałem, na zawartość mikrośladników w roślinach potwierdzają badania Czyżyka (2009), Izewskiej (2009) oraz Wołoszyka i wsp. (2009).



Po zbiorze rzepaku jarego, czyli w drugim roku od zastosowania kompostów, stwierdzono wzrost zawartości ogólnej miedzi, manganu i cynku w glebie, w porównaniu z obiektem kontrolnym bez nawożenia i z nawożeniem NPK (tab. 3). Większe zwwyżki zawartości analizowanych mikrośladników w glebie, tak jak w przypadku roślin testowych, powodowały komposty z 70-procentowym udziałem osadów ściekowych. Różnice zawartości mikrośladników w glebie z obiektów z poszczególnymi kompostami nie były istotne, ale średnie zwwyżki w stosunku do obiektu kontrolnego bez nawożenia i z nawożeniem NPK były dość znaczne. Średnia całkowita zawartość miedzi w glebie, w stosunku do obiektu kontrolnego bez nawożenia, wzrosła o 28,3%, a z nawożeniem NPK o 24,9%, natomiast manganu odpowiednio o 10,8 i 9,8%, a cynku o 36,5 i 23,7%.

Tabela 3

Table 3

Zawartość całkowita oraz form mikrośladników rozpuszczalnych w 1 mol HCl dm<sup>-3</sup>  
w glebie po zbiorze rzepaku jarego  
The total content and forms of micronutrients soluble in 1 mol HCl dm<sup>-3</sup>  
in soil after the harvest of spring rape

Obiekty* – Objects	Cu		Mn		Zn	
	(mg·kg <sup>-1</sup> s.m.) – (mg·kg <sup>-1</sup> d.m.)					
	zawartość całkowita total content	formy rozpuszczalne soluble forms	zawartość całkowita total content	formy rozpuszczalne soluble forms	zawartość całkowita total content	formy rozpuszczalne soluble forms
Kompost I Compost I + NPK	6,03	2,44	221,9	125,5	16,45	7,96
Kompost II Compost II+ NPK	5,18	2,26	207,8	121,5	15,45	5,80
Kompost III Compost III+ NPK	5,82	2,51	231,9	136,5	16,15	7,64
Kompost IV Compost IV+ NPK	5,24	2,22	217,4	116,0	15,05	5,64
Kompost V Compost V+ NPK	6,12	2,70	231,1	132,0	17,85	7,29
Kompost VI Compost VI+ NPK	5,57	2,14	209,4	113,0	14,05	5,88
NIR <sub>0,01</sub> – LSD <sub>0,01</sub>	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.
Dawka 1 – Dose 1	5,14	2,17	217,2	115,7	14,50	5,76
Dawka 2 – Dose 2	6,18	2,58	222,6	132,5	17,17	7,64
NIR <sub>0,01</sub> – LSD <sub>0,01</sub>	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.
Średnia – Mean	5,66	2,38	219,9	124,1	15,83	6,70
Kontrola – Control	4,41	1,89	198,5	103,0	11,60	3,16
NPK	4,53	1,96	200,3	110,0	12,80	6,80

\*Objaśnienia oznaczeń podano w metodyce – For explanations see methods

Po zbiorze rzepaku jarego odnotowano również wzrost zawartości w glebie form mikrośladników rozpuszczalnych w 1 mol HCl · dm<sup>-3</sup>, który był znaczniejszy w glebie z obiektów z kompostami bez udziału odpadów kuchennych (tab. 3). Zawartość miedzi w glebie, w porównaniu z obiektem kontrolnym bez nawożenia, wzrosła średnio

o 25,9%, z nawożeniem NPK o 21,4%, a manganu odpowiednio o 20,5 i 12,8%. Natomiast zawartość form cynku rozpuszczalnych w 1 mol HCl · dm<sup>-3</sup> w glebie z obiektów z kompostami była znacznie większa niż w glebie z obiektu kontrolnego bez nawożenia (o 112%), a w porównaniu z nawożeniem NPK – nieco mniejsza (o 1,5%). Zarówno w przypadku zawartości całkowitej, jak i form mikroskładników rozpuszczalnych, w glebie z obiektów z drugą dawką kompostów stwierdzono więcej mikroskładników. W porównaniu z dawką pierwszą kompostów całkowita zawartość miedzi była większa średnio o 20,2%, manganu o 2,5%, a cynku o 18,4%, natomiast form rozpuszczalnych w 1 mol HCl · dm<sup>-3</sup> odpowiednio o 18,9, 14,4 i o 32,6%.

W wyniku nawożenia komunalnymi osadami ściekowymi i kompostami sporządzonymi z dodatkiem różnych komponentów uzyskiwano poprawę właściwości fizyczno-chemicznych gleb, w tym wzrost zawartości całkowitej i form przyswajalnych mikroskładników w glebach (Czyżyk, Kozdraś 2004, De Brouwere, Smolders 2006, Górska, Stępień 2008, Iżewska i wsp. 2009). Niniejsze badania również wskazują na przydatność kompostów z osadów ściekowych z dodatkiem odpadów, które nie zawsze są racjonalnie zagospodarowywane (odpady kuchenne), do użytkowania gleb.

## WNIOSKI

1. Skład chemiczny kompostów był zależny od rodzaju i procentowego udziału w nich poszczególnych komponentów. Komposty z 70-procentowym udziałem komunalnego osadu ściekowego zawierały więcej Cu, Mn i Zn niż komposty, w których 35% osadu zastąpiono odpadami kuchennymi.

2. Poszczególne komposty, w porównaniu z wyłącznym nawożeniem NPK, zwiększyły zawartość Cu, Mn i Zn zarówno w *Festulolium* (działanie bezpośrednie), jak i w nasionach i słomie rzepaku jarego (działanie następcze). W obu roślinach druga dawka kompostów spowodowała większy wzrost zawartości analizowanych mikroskładników.

3. W glebie z obiektów nawożonych kompostami, po dwóch latach od ich zastosowania, stwierdzono zwiększenie całkowitej zawartości wszystkich oznaczanych mikroskładników oraz form miedzi i manganu rozpuszczalnych w 1 mol HCl · dm<sup>-3</sup>.

4. Zarówno w przypadku roślin, jak i gleby większe zwyczajnie zawartości mikroskładników uzyskiwano w wyniku nawożenia kompostami zawierającymi w swoim składzie 70% komunalnego osadu ściekowego, w porównaniu z kompostami z udziałem po 35% osadu ściekowego i odpadów kuchennych, bez względu na udział innych komponentów (słoma, łuska kakaowa).

## PIŚMIENNICTWO

- Antolin M., Pascual I., Garcia C., Polo A., Sanchez-Diaz M., 2005. Growth, yield and solute content of barley in soils treated with sewage sludge under semiarid Mediterranean conditions. *Field Crops Research*, 94: 224–23.
- Chang J.I., Hsu T., 2008. Effects of compositions on food waste composting. *Bioresource Technol.*, 99: 8068–8074.

- Chung B.Y., Iiyama K., Han K.W., 2003. Compositional characterization of cacao (*Theobroma cacao* L.) hull. *Agric. Chem. Biotechnol.*, 46(1): 12–16.
- Czekała J., 2008. Właściwości chemiczne kompostu wytworzonego z komunalnego osadu ściekowego i różnych bioodpadów. *J. Res. Appl. Agric. Eng.*, Vol. 53(3): 35–41.
- Czekała J., Sawicka A., 2006. Przetwarzanie osadu ściekowego z dodatkiem słomy i trocin na produkt bezpieczny dla środowiska. *Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie*, 6(18): 41–50.
- Czyżyk F., 2009. Zawartość Zn, Cu, Cr, Ni w trawach i kukurydzy, nawożonych kompostem z wiejskich osadów ściekowych. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 541: 89–95.
- Czyżyk F., Kozdraś M., 2004. Zawartość mikroelementów w glebie lekkiej nawożonej kompostami z wiejskich osadów ściekowych. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 502(II): 737–744.
- Dach J., 2010. Wpływ dodatku różnego rodzaju słomy na dynamikę procesu i wielkość emisji amoniaku z kompostowanych osadów ściekowych. *J. Res. Appl. Agric. Eng.*, Vol. 55(2): 8–13.
- De Brouwere K., Smolders E., 2006. Yield response of crops amended with sewage sludge in the field is more affected by sludge properties than by final soil metal concentration. *European. J. Soil Science*, 57: 558–567.
- Debosz K., Petersen S., Kure L., Ambus P., 2002. Evaluating effects of sewage sludge and household compost on soil physical, chemical and microbiological properties. *Appl. Soil Ecol.*, 19: 237–248.
- Fu, S.-T., Yu, S.-L., Yan, X.-J., Fu, Y. 2006., Co-digestion of waste activated sludge and kitchen garbage. *Huanjing Kexue/Environ. Sci.*, 27(7): 1459–1463.
- Górska E.B., Stępień W., 2008. Wpływ kompostu z osadu ściekowego na wybrane właściwości gleby. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 533: 139–146.
- Iżewska A., 2009. The impact of manure, municipal sewage sludge and compost prepared from municipal sewage sludge on crop field and content of Mn, Zn, Cu, Ni, Pb, Cd in spring rape and spring triticale. *J. Elementol.*, 14(3): 449–456.
- Iżewska A., Krzywy E., Wołoszyk Cz., 2009. Evaluation of impact of fertilization with manure, municipal sewage sludge and compost prepared from sewage sludge on content of Mn, Zn, Cu and Pb, Cd in light soil. *J. Elementol.*, 14(3): 457–466.
- Petersen J., Gron C., 2003. Recycling of sewage sludge and household compost to arable land: fate and effects of organic contaminants, and impact on soil fertility. *Soil. Till. Res.*, 72: 139–152.
- Pourcher A.M., Morand P., Picard-Bonnaud F., Billaude S., Monpoeho S., Federighi M., Ferre V. Moguedet G., 2005. Decrease of enteric micro-organisms from rural sewage sludge during their composting in straw mixture. *J. Appl. Microbiol.*, 99: 528–539.
- Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z 18 czerwca 2008 roku w sprawie wykonania niektórych przepisów ustawy o nawozach i nawożeniu (Dz.U. nr 119, poz. 765).
- Spiak Z., Kulczycki G., 2004. Zawartość mikroelementów w osadach ściekowych z wybranych oczyszczalni województwa dolnośląskiego. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 502(II): 973–978.
- Wołoszyk Cz., Iżewska A., Krzywy-Gawrońska E., 2009. Content, uptake and utilization by plants of copper, manganese and zinc from municipal sewage sludge and wheat straw. *J. Elementol.*, 14(3): 593–604.

## USE OF COMPOSTS PREPARED FROM BIODEGRADABLE WASTE AND THE IMPACT ON THE CONTENT OF MICRONUTRIENTS IN PLANTS AND SOIL

### Summary

A two-factor pot experiment was performed to measure the impact on the content of copper, manganese and zinc in test plants and soil from using composts prepared with different proportions of biodegradable waste (compost I – municipal sewage sludge 70% + wheat straw 30%, compost II – sludge 35% + kitchen waste 35% + straw 30%, compost III – sludge 70% + cocoa husk 30%, compost IV – sludge 35% + kitchen waste 35% + cocoa husk 30%, compost V – sludge 70% + straw 15% + cocoa husk 15%, compost VI – sludge 35% + kitchen waste 35% + straw 15% + cocoa husk 15%). The experiment was set up with 6 types of composts, using two applications and control sites, with and without NPK fertilization. The first application of composts resulted in 0.510 g N and the second application was three times higher – 1.530 g. On all sites treated with composts, mineral (NPK) fertilization was applied in the same dose as for the control site.

In the first year of the experiment the test plant was grass – *Festulolium*, harvested three times, and in the second year for assessing the subsequent impact of composting the test plant was spring rape. For the sites of *Festulolium* with composting and NPK compared to the control sites treated only with NPK, there was a significant increase in the weighted average content of trace elements. The mean values rose: copper 158.4%, manganese 12.5% and zinc 33.6%. Some of the composts in the second year led to a fairly significant increase in the content of analyzed micronutrients in the seeds and stalks of spring rape. In soil from sites which had been fertilized with composts for two years, there was an increase in the total content of all the analyzed micronutrients. There was also a rise in the content of the soluble forms of trace elements in 1 mol HCl dm<sup>-3</sup> with the exception of zinc. For both plants and soil there were greater increases in the content of macronutrients from fertilizing with composts that contained 70% municipal sewage sludge.

KEY WORDS: sewage sludge, composts, micronutrients, test plants, soil

**Jacek Czekala**

**WPLYW WIELOLETNIEGO STOSOWANIA  
OSADÓW ŚCIEKOWYCH NA ZAWARTOŚĆ MIEDZI,  
CYNKU I MANGANU W ROŚLINACH**

**EFFECT OF LONG-TERM APPLICATION  
OF SEWAGE SLUDGE ON THE CONTENT  
OF COPPER, ZINC AND MANGANESE IN PLANT**

*Katedra Gleboznawstwa i Ochrony Gruntów, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu*  
*Department of Soil Science and Land Protection, University of Life Sciences in Poznań*

Badania polowe przeprowadzone w latach 2001–2006 miały na celu określenie wpływu osadów ściekowych stosowanych corocznie w zróżnicowanych dawkach (0; 2; 4 i 8 Mg·ha<sup>-1</sup> s.m.) na gromadzenie miedzi, cynku i manganu przez rośliny uprawiane w dwóch cyklach zmianowania (ziemniaki–jęczmień jary–żyto ozime). Nie stwierdzono nadmiernej zawartości pierwiastków w bulwach ziemniaka i ziarnie roślin zbożowych, w warunkach zastosowanych dawek osadu. Czynnikiem mającym decydujący wpływ na zawartość badanych metali w roślinach były lata, w mniejszym stopniu dawki osadów.

SŁOWA KLUCZOWE: osady ściekowe, nawożenie, miedź, cynk, mangan, zawartość w roślinach

**WSTĘP**

Osady ściekowe stanowią w Polsce poważny problem społeczny, ekonomiczny oraz ekologiczny. Dlatego ich racjonalne zagospodarowanie staje się pilną potrzebą, tym bardziej że w swoim składzie zawierają zarówno składniki rolniczo użyteczne, jak i zanieczyszczenia mineralne oraz organiczne (El Bassam, Bramm 1982, Czekala 2002, 2010, Koch 2002, Harrison i wsp. 2006, Siebielec, Stuczyński 2008). Mając na uwadze zawarte w osadach mikroelementy o rolniczym znaczeniu, osady spełniające wszelkie normy prawne (Rozporządzenie... 2010) są stosowane w nawożeniu. Z badań starszych, jak i nowszych

---

Do cytowania – For citation: Czekala J., 2012. Wpływ wieloletniego stosowania osadów ściekowych na zawartość miedzi, cynku i manganu w roślinach. Zesz. Nauk. UP Wroc., Rol. CIII, 589: 33–42.

wynika, że wykorzystanie poszczególnych składników z osadów ściekowych jest zróżnicowane. Dotyczy to również metali ciężkich pobranych przez rośliny, uprawiane na glebach nawożonych osadami (Diez, Krauss 1990, Gerzabek i wsp. 1998, Sing, Agrawal 2007). Wynikać to może z różnych powodów. Jednym z nich jest niewątpliwie występowanie metali w osadach w różnych połączeniach chemicznych, co może wpływać na ich odmienną rozpuszczalność w glebie, a tym samym i dostępność dla roślin (Jakubus, Czekala 2001, Patorczyk-Pytlik, Gediga 2008, 2009). Pochodną tych procesów może być występowanie pierwiastków w różnym stężeniu w roztworze glebowym (McBride i wsp. 1999). Z drugiej jednak strony, w glebie zachodzą procesy sorpcji, w wyniku których zmienia się dostępność poszczególnych metali dla roślin (Demirbas 2008).

Celem pracy było określenie wpływu stosowania osadów ściekowych na gromadzenie miedzi, cynku i manganu przez rośliny uprawne w warunkach doświadczenia polowego.

## MATERIAŁ I METODY

W latach 2001–2006 przeprowadzono doświadczenie polowe na glebie płowej w Zakładzie Doświadczalno-Dydaktycznym Katedry Agronomii UP w Poznaniu, zlokalizowanym w Złotnikach k. Poznania (52°29' N, 16°50' E). Średnia zawartość w glebie węgla organicznego wynosiła 6,68 g·kg<sup>-1</sup>, azotu ogólnego 0,60 g·kg<sup>-1</sup> i C : N = 11,1 : 1, a odczyn, średnio dla obiektów wynosił pH<sub>KCl</sub> – 5,60, w zakresie od pH 4,85 do 5,98. Zawartości ogólne cynku, miedzi i manganu w poziomie próchnicznym wynosiły średnio odpowiednio: 31,5; 5,28 i 370,0 mg·kg<sup>-1</sup>, a przyswajalne 4,82; 1,56 i 110,0 mg·kg<sup>-1</sup>.

Tabela 1  
Table 1

Schemat układu doświadczenia  
Diagram of the experiment

NPK	NPK + osady ściekowe NPK + sewage sludge		
	2,0	4,0	8,0
(Mg·ha <sup>-1</sup> s.m.) – (Mg·ha <sup>-1</sup> d.m.)			
A	B	C	D

Osady stosowano corocznie w dawkach: 2 Mg·ha<sup>-1</sup>, 4 Mg·ha<sup>-1</sup> i 8 Mg·ha<sup>-1</sup> suchej masy (tab. 1). Jego wybrane właściwości przedstawiono w tabeli 2. Gleby obiektu kontrolnego oraz z dodatkiem osadów były jednocześnie nawożone nawozami mineralnymi, w ilościach kolejno dla roślin: (N, P, K, kg·ha<sup>-1</sup>): 120–22–83; 50–29–100; 60–35–90, uprawianych w dwóch trzyletnich zmianowaniach: ziemniak–jęczmień jary–żyto ozime. W doświadczeniu uprawiano ziemniaki odmiany Bila (2001) i Danusia (2004), jęczmień jary odmian Stratus (2002) i Ania (2005) oraz żyto ozime odmian Wibro (2003) i Dańkowskie Złote (2006).

Każdy obiekt prowadzono w czterech powtórzeniach, a wielkość poletek wynosiła 42 m<sup>2</sup>. Wyniki zawartości Cu, Zn i Mn dotyczą plonu głównego, tzn. bulw ziemniaka oraz ziarna zbóż, ponieważ plony uboczne pozostawiano na polu i przyorywano.

W próbkach roślin wykonano analizy następującymi metodami:

- sucha masa – metodą suszarkową w temp. 105°C,

- $\text{pH}_{(\text{H}_2\text{O})}$  – potencjometrycznie,
- materia organiczna – przez spopielenie w temp.  $550^\circ\text{C}$ ,
- węgiel organiczny – metodą utleniająco-miareczkową (oksydometryczną) z dichromianem (VI) potasu w środowisku kwaśnym,
- azot ogólny – metodą Kjeldahla,
- popiół pozostały po określeniu strat na żarzeniu ( $500^\circ\text{C}$ ) rozpuszczono na gorąco w roztworze  $3 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ HCl}$ , oznaczając w nim zawartość makro- i mikrośladników,
- K, Na, Ca metodą emisyjnej spektrometrii atomowej,
- fosfor (P) metodą kolorymetryczną z metawanadynianem,
- magnez (Mg), cynk, miedź i mangan metodą absorpcyjnej spektrometrii atomowej (ASA)

Zawartość Cu, Mn i Zn w próbkach roślin analizowano corocznie z każdego poletka (powtórzenia) oddzielnie, a wyniki przedstawione w pracy są średnimi z czterech powtórzeń poletkowych.

Tabela 2  
Table 2

Wybrane właściwości osadów ściekowych  
Selected properties of the sewage sludge

Parametr – Parameter	Jednostka – Unit	Zawartość – Content
Sucha masa – Dry matter	( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	$198,2 \pm 12,76^*$ (168,0–203,6)**
$\text{pH} - \text{H}_2\text{O}$	–	6,52–7,18
$\text{C}_{\text{org}}$ : Organic carbon ( $\text{C}_{\text{org}}$ )	( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ s.m.)	$320,4 \pm 15,88$ (295,1–341,7)
$\text{N}_{\text{og}}$ : Total nitrogen ( $\text{N}_{\text{tot}}$ )	( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ DM)	$57,33 \pm 5,48$ (48,72–62,70)
C : N		( $5,69 \pm 0,77$ ) 4,74–6,62
$\text{P}_{\text{og}}$ : Total P	( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ s.m.)	$25,82 \pm 2,16$ (22,83–28,56)
$\text{Ca}_{\text{og}}$ : Total Ca	( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ DM)	$16,25 \pm 5,40$ (11,60–24,83)
Cu	Zawartość ogólna Total content	$200,7 \pm 51,36$ (122,2–262,4)
Zn		$779,0 \pm 249,6$ (461,0–1000,0)
Mn		$173,0 \pm 33,29$ (115,8–210,6)

\* Średnio – Average

\*\* Zakres – Range

Wyniki badań poddano analizie wariancji, a ocenę różnic między średnimi wykonano z zastosowaniem testu Duncana programem STAT.

## WYNIKI I OMÓWIENIE

Najmniejsza dawka osadów odpowiadała według obowiązujących wówczas (do 2010) normom tzw. dawce normatywnej, wynoszącej  $10 \text{ Mg} \cdot \text{ha}^{-1}$  suchej masy, co pięć lat. W przypadku doświadczenia norma ta utrzymana była na poziomie  $2 \text{ Mg} \cdot \text{ha}^{-1}$  s.m. osadów corocznie. Pozostałe dawki były ponadnormatywne. Taki układ doświadczenia teo-

retycynie pozwalał ocenić ewentualny przepływ metali z osadów do gleby i roślin. Tym bardziej że z zastosowanymi dawkami osadów wprowadzono do gleby w okresie sześciu lat badań od 2409,2 do 9636,8 g·ha<sup>-1</sup> miedzi, od 9347,2 do 37 388,8 g·ha<sup>-1</sup> cynku oraz od 2075,6 do 8302,4 g·ha<sup>-1</sup> manganu.

Tabela 3  
Table 3

Wpływ dawek osadów ściekowych niezależnie od lat badań  
na średnią zawartość miedzi, cynku i manganu w roślinach (mg·kg<sup>-1</sup>s.m.)  
Effect of sewage sludge doses regardless of years  
on the average content of copper, zinc and manganese in plants (mg·kg<sup>-1</sup>d.m.)

Składnik Element	NPK	Osady ściekowe (Mg·ha <sup>-1</sup> s.m.) – Sewage sludge (Mg·ha <sup>-1</sup> d.m.)		
		2,0	4,0	8,0
Cu	4,00ab	3,74a	4,64c	4,32bc
Zn	36,63	38,07	36,38	39,62
Mn	19,48	20,60	19,93	18,79

Różne litery oznaczają istotne różnice (test Duncana)

Different letters indicate means significantly different (Duncan's test)

Dane wskazują na zróżnicowany wpływ stosowania osadów (tab. 3) i lat (tab. 4) na zawartość analizowanych pierwiastków. W przypadku dawek osadów najsilniejszy wpływ według analizy statystycznej wykazano w przypadku miedzi ( $F=11,34^{**}$ ,  $p < 0,01$ ), a jego brak dla cynku i manganu. Mimo wykazanych różnic brak było jednoznacznego trendu zmian zawartości miedzi związanej z dawkami osadów, chociaż przy dawkach 4 i 8 Mg·ha<sup>-1</sup> były one istotnie wyższe niż przy dawce 2 Mg·ha<sup>-1</sup>. W przypadku manganu, różnice w zawartości między obiektami były statystycznie nieistotne, ale zawartość ta zmniejszała się wraz z dawkami osadów. Wyniki zawarte w tabeli 4 świadczą z kolei o istotnym wpływie lat badań na zawartość badanych pierwiastków. Wydaje się to być naturalnym efektem zróżnicowanych potrzeb każdej z uprawianych roślin na poszczególne składniki (Gambuś i wsp. 2004., Szulc i wsp. 2004, Wiśniowska-Kielian i wsp. 2007, Strumpf, Reichmuth 2009). Biorąc pod uwagę zawartość mikroelementów z dwóch rotacji zmianowań wynika, że zawartość Cu w ziemniakach wynosiła średnio 4,76 mg·kg<sup>-1</sup>s.m., ziarnie jęczmienia jarego 3,22 mg·kg<sup>-1</sup>s.m., a życie ozimym 4,64 mg·kg<sup>-1</sup>s.m.

Tabela 4  
Table 4

Wpływ lat badań (roślin) niezależnie od dawek osadów ściekowych  
na średnią zawartość miedzi, cynku i manganu w roślinach (mg·kg<sup>-1</sup> s.m.)  
Effect of years of research (plants) regardless of the doses of sewage sludge  
on the average content of copper, zinc and manganese in plants (mg·kg<sup>-1</sup> d.m.)

Składnik Element	Lata badań – Years of experiment					
	1	2	3	4	5	6
Cu	6,27e	2,95a	4,10c	3,22ab	3,45b	5,04d
Zn	19,04a	51,51c	42,92b	14,77a	52,73c	45,07bc
Mn	8,31b	20,46c	34,87f	4,58a	23,03d	26,95e

Różne litery oznaczają istotne różnice (test Duncana)

Different letters indicate means significantly different (Duncan's test)



W przypadku cynku zawartości te wynosiły odpowiednio: 16,9; 52,1 i 44,0 mg·kg<sup>-1</sup>s.m., a dla manganu: 6,37; 21,73 i 30,91 mg·kg<sup>-1</sup>s.m. Można powiedzieć, że omawiane różnice spowodowane mogły być w większym stopniu cechami gatunkowymi roślin niż nawożeniem. Najwyższy wpływ omawianego czynnika dotyczył manganu ( $F= 275,24^{**}$ ,  $p < 0,01$ ), kolejno miedzi ( $F= 79,83^{**}$   $p < 0,01$  i cynku ( $F= 38,05^{**}$   $p < 0,01$ ).

Tabela 5  
Table 5

Współdziałanie czynników doświadczenia na zawartość średnią  
miedzi, cynku i manganu w roślinach (mg·kg<sup>-1</sup>s.m.)  
Interaction of factors on the experience of the average content  
of copper, zinc and manganese in plants (mg·kg<sup>-1</sup>d.m.)

Składnik Element	Obiekt nawożenia The object of fertilization	Lata badań – Years of experiment					
		2001	2002	2003	2004	2005	2006
Cu	A	5,80h	3,29a–e	4,14d–g	3,33a–e	3,22a–d	4,22efg
	B	4,70fg	2,71a	4,17d–g	2,90ab	3,18abc	4,76g
	C	8,50i	2,64a	4,00c–g	3,31a–e	3,80b–f	5,58h
	D	6,10h	3,17abc	4,07c–g	3,36a–e	3,59a–e	5,62h
Zn	A	20,05	48,02	38,60	15,25	54,12	43,30
	B	18,40	52,27	44,40	14,04	54,60	44,70
	C	19,72	43,30	43,20	14,57	50,80	46,70
	D	17,55	62,45	45,50	15,24	51,40	45,60
Mn	A	8,15a	27,42efg	33,60hi	4,35a	20,05bc	23,30cde
	B	8,27a	19,47bc	38,60j	5,08a	23,66cde	28,50fg
	C	8,55a	17,05b	35,70ij	4,84a	25,47def	28,00fg
	D	8,25a	17,87b	31,60gh	4,07a	22,94cd	28,00fg

Różne litery oznaczają istotne różnice (test Duncana)

Different letters indicate means significantly different (Duncan's test)

Mówiąc o zróżnicowanych zawartościach badanych mikroelementów, wyraźniej ujawniło się ono w warunkach współdziałania czynników doświadczenia (tab. 5), które miało jednak różny przebieg dla poszczególnych pierwiastków. Było ono istotnie udowodnione dla miedzi ( $F= 5,80^{**}$   $p < 0,01$ ) i manganu ( $F= 4,15^{**}$   $p < 0,01$ ), a nieistotne dla cynku.

Z analizy danych zawartych w tabeli 5 wynika jednak, że skala tego zróżnicowania nie była duża, na co wskazują i same wartości statystyki F. W odniesieniu do miedzi wykazano brak zróżnicowania między obiektami nawożenia w ziarnie żyta ozimego, w trzecim roku badań (od 4,00 do 4,17 mg·kg<sup>-1</sup>s.m.), podobnie jak w czwartym roku, w odniesieniu do bulw ziemniaka (od 3,22 do 3,36 mg·kg<sup>-1</sup>s.m.). Podobne zjawisko odnotowano w przypadku manganu i ziemniaka, w pierwszej (od 8,15 do 8,55 mg·kg<sup>-1</sup>s.m.) i drugiej rotacji (od 4,07 do 5,08 mg·kg<sup>-1</sup>s.m.) oraz żyta ozimego w 2006 r. (od 28,00 do 28,50 mg·kg<sup>-1</sup>s.m.). W ostatnim przypadku zawartości manganu na obiektach z osadami ściekowymi były jednak istotnie wyższe od tych, jakie wykazano na obiekcie kontrolnym z NPK (23,30 mg·kg<sup>-1</sup>s.m.). Uwagę zwracają zróżnicowane zawartości pierwiastków, nie tylko między uprawianymi roślinami, ale i obu rotacjami, chociaż przy zmiennych zależnościach statystycznych. Jednym z czynników mających wpływ na taki układ zawartości

mogły być różne odmiany obu roślin, zastosowanych w poszczególnych zmianowaniach. Na znaczenie odmian roślin w zróżnicowanym gromadzeniu metali ciężkich zwrócono uwagę między innymi w pracach Kumar i wsp. (1995) oraz Choudhary i wsp. (1995).

Analizując nawożenie osadami ściekowymi, zastanawia brak ich silniejszego wpływu przy dawkach  $4 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  i  $8 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  na zwiększone ilości pierwiastków w roślinach. Zjawisko to nie było jednak odosobnione, bowiem autorzy często dowodzą braku zależności między dawkami osadów, a więc i ilością wprowadzonych do gleby metali a ich zawartością w roślinie (Gardiner i wsp. 1995, Akdeniz i wsp. 2006). Niemniej, rozpatrywać to można między innymi z dostępnością poszczególnych pierwiastków dla roślin, z uwzględnieniem w pierwszym rzędzie warunków pogodowych, czyli lat, a w dalszej kolejności z dawkami osadów. Wskazują na to wyniki przedstawione w pracy, jak i inne doniesienia (von Diez, Krauss 1990, Bozkurt i wsp. 2010). Nie bez znaczenia są procesy sorpcji w glebie, jak i właściwości samego metalu, co powoduje zróżnicowane wiązanie pierwiastków z różną siłą między innymi przez materię organiczną gleby (Minkina i wsp. 2006).

Spiak i Śmiatacz (2004) wykazały, że dostępność miedzi dla roślin zależała od rodzaju związku pierwiastka dodanego do gleby, jak i samych roślin (owies, gryka, kukurydza), które różniły się gromadzeniem miedzi, jak i jej pobraniem z plonem. Rozpatrując więc lata badań w ujęciu roślin, trzeba podkreślić, że właśnie ten czynnik miał najsilniejszy, istotny wpływ również na zawartość cynku ( $F= 38,05^{**}$   $p < 0,01$ , tab. 4) oraz manganu ( $F= 275,24^{**}$   $p < 0,01$ , tab. 6).

Niewielki lub brak większego zróżnicowania w zawartości metali w roślinach pod wpływem zastosowanych dawek wynikać mógł również z ilości wprowadzonych metali do gleby, jak i prawdopodobnie głębokości przyorania osadów. W przypadku doświadczenia teoretyczny roczny wzrost ilości miedzi w poziomie 0–25 cm gleby pod wpływem zastosowanych dawek osadów kształtował się od 0,065 do 0,560  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  s.m., cynku od 0,245 do 2,133  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  s.m. i manganu od 0,062 do 0,448  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  s.m. Nie były to ilości na tyle duże, żeby mogły spowodować nadmierne pobranie przez rośliny. Tym bardziej że metale w środowisku glebowym podlegają wielu przemianom, w tym i sorpcji, w wyniku którego to procesu następuje zmniejszenie ich dostępności dla roślin. Między innymi Gorlach i Gambuś (1991) wykazali, że z wprowadzonych do gleby 30 mg Cu na kg gleby zaadsorbowane zostało od 95 do 98% ilości pierwiastka, a dla cynku wprowadzonego w 80 mg na kg gleby od 88 do 99%. W przypadku miedzi wspomnieć należy również o roli próchnicy w wiązaniu tego pierwiastka, co sprawia, że na ogół jest go stosunkowo mało w formach mobilnych w glebie (Gorlach, Gambuś 1991).

Wyniki badań (Kuziemska, Kalembasa 1997) potwierdzają wykazane w pracy tendencje braku zróżnicowania zawartości metali ciężkich w roślinach pod wpływem dawek osadów, bez względu na ich dawki i pochodzenie. We wcześniejszych badaniach wazonowych Roszyk i wsp. (1988) nie stwierdzili istotnego działania metali zawartych w osadach na ich gromadzenie w ziarnie owsa. Stwierdzenia takiego nie można jednak odnieść do plonu ubocznego wielu roślin, w tym słomy czy łęcin. Chociaż w badaniach własnych nie analizowano w nich zawartości Cu, Zn i Mn, wychodząc z założenia, że pozostawały na polu i były przyorywane, to jednak wyniki badań m.in. Roszyka i wsp. (1988) oraz Barana i wsp. (2002) świadczą jednoznacznie nie tylko o większej akumulacji metali w tych organach, ale i w ilościach zależnych od dawek osadów ściekowych. Spotykana odmienność uzyskanych wyników przez badaczy wynikać może nie tylko

z różnych warunków przeprowadzonych badań, ale i z różnej rozpuszczalności metali ciężkich osadów (Herms, Brümmer 1978). Nie bez znaczenia są również stosowane dawki osadów, chociaż zawartość miedzi i cynku w roślinach nie zawsze koresponduje z ich ilością wprowadzoną do gleby z osadami (Gardiner i wsp. 1995). Podobny trend wykazano w pracy.

W pracy nie badano kwestii przemieszczania się metali w głąb gleby, ale są doniesienia o ich stratach drogą wymycia (van der Sloot i wsp. 2003).

## WNIOSKI

1. Osady ściekowe stosowane w corocznych dawkach ponadnormatywnych wynoszących 4,0 i 8,0 Mg·ha<sup>-1</sup> w okresie sześciu lat miały istotny, ale zróżnicowany wpływ na zawartość miedzi i manganu w bulwach ziemniaka i ziarnie zbóż w porównaniu z obiektem kontrolnym NPK, a były bez wpływu na zawartość cynku.

2. Zawartość pierwiastków w organach plonu głównego zróżnicowana była w większym stopniu gatunkiem roślin niż nawożeniem osadem ściekowym.

## PIŚMIENNICTWO

- Akdeniz H., Yilmaz I., Bozkurt M.A., Keskin B., 2006. The effect of sewage sludge and nitrogen applications on grain sorghum grown (*Sorghum vulgare* L.) in Van-Turkey. Pol. J. Environ. Stud., 15(1): 19–26.
- Baran S., Wójcikowska-Kapusta A., Żukowska G., 2002. Pobieranie miedzi przez różne gatunki roślin uprawnych z gleby lekkiej użyźnianej osadem ściekowym. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln., 484: 37–44.
- Bozkurt M.A., Yarılgaç T., Yazıcı A., 2010. The Use of Sewage Sludge as an Organic Matter Source in Apple Trees. Pol. J. Environ. Stud., 19(4): 267–274.
- Choudhary C, Bailey L.D, Grant C.A, Leisle D., 1995. Effect of Zn on concentration of Cd and Zn in plant tissue of two wheat lines. Can. J. Plant Sci., 75: 445–448.
- Czekała J., 2002. Wybrane właściwości osadów ściekowych z oczyszczalni regionu Wielkopolski. Cz. I. Odczyn, sucha masa, organiczna i węgiel organiczny oraz mikroskładniki. Acta Agrophysica, 70(I): 75–82.
- Czekała J., 2011. Rolnicze wykorzystanie osadów ściekowych [w:] Metody zagospodarowania osadów ściekowych. II Ogólnop. Konf. Szkoleniowa, Zielona Góra, 3–4 lutego 2011r.: 26–34.
- Demirbas A., 2008. Heavy metal adsorption onto agro-based waste materials: A review. Journal of Hazardous Materials, 157: 220–229.
- El Bassam, N. Bramm A., 1982. Statusbericht Siedlungabfälle im Landbau. Landwirtschaftsverlag GmbH, Münster-Hiltrup.: 1–176.
- Gambuś F., Rak M., Wiczorek J., 2004. Wpływ niektórych właściwości gleby na fitoprzyzwalność i rozpuszczalność cynku, miedzi i niklu w glebie. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln., 502: 71–79.

- Gardiner D.T., Miller R.W., Badamchian B., Azzari A.S., Sisson D.R., 1995. Effect of repeated sewage sludge applications on plant accumulation of heavy metals. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 55, 1: 1–6.
- Gerzabek M.H., Lombi E., Herger P., 1998. Use of sewage sludge- nitrogen availability and heavy metal uptake into rape. *Die Bodenkultur*, 49(2): 85–96.
- Gorlach E., Gambuś F., 1991. Desorpcja i fitotoksyczność metali ciężkich zależnie od właściwości gleby. *Rocz. Gleb. XLII(3–4)*: 207–214.
- Harrison E.Z., Oakes S.R., Hysell M., Hay A., 2006. Organic chemicals in sewage sludges. *Science of the Total Environment*, 367: 481–497.
- Herms U., Brümmer G., 1978. Löslichkeit von Schwermetallen in Siedlungsabfällen und Böden in Abhängigkeit von pH-Wert, Redoxbedingungen und Stoffbestand. *Mitteilgn. Dtsch. Bodenkundl. Gesellsch.*, 27: 23–34.
- Koch M., 2002. Quellenermittlung von Schadstoffen in kommunalen Abwässern und Sedimenten. Dissertation, Technischen Universität Berlin: 1–462.
- Kumar N., Dushenkov V., Motto H., Raskin I., 1995. Phytoextraction: The Use of Plants to Remove Heavy Metals from Soils. *Environ. Sci. Technol.*, 29: 1232–1238.
- Kuziemska B., Kalembasa S., 1997. Wpływ wapnowania, dawki i rodzaju osadów ściekowych oraz nawożenia NPK na plon, skład chemiczny roślin i gleby. *Arch. Ochr. Środ.*, 23(1–2): 127–132.
- Jakubus M., Czekala J., 2001. Heavy metal speciation in sewage sludge. *Polish J. Environmental Studies*, 10 (4): 245–250.
- McBride M.B., Richards B.K., Steenhuis T., Spiers. G., 1999. Long-term leaching of trace elements in a heavily sludge-amended silty clay loam soil. *Soil Sci.*, 164: 613–623.
- Minkina T.M., Motuzova G.V., Nazarenko O.G., 2006. Interaction of Heavy Metals with the Organic Matter of an Ordinary Chernozem. *Eurasian Soil Science*, 39(7): 720–726.
- Patorczyk-Pytlik B., Gediga K., 2008. Część II. Wykorzystanie metody BCR do oceny przemian form Cu w glebach nawożonych kompostami z osadu ściekowego. *Ekotoksykologia w Ochronie Środowiska*: 297–302.
- Patorczyk-Pytlik B., Gediga K., 2009. BCR method in assessing alterations of copper forms in sludge composted according to different methods. *Environment Protection Engineering*, 35(1): 89–94.
- Roszyk E., Roszyk S., Spiak Z., 1988. Wartość nawozowa osadów ściekowych z niektórych oczyszczalni południowo-zachodniej Polski. Cz. III. Doświadczenia wegetacyjne. *Rocz. Gleb. XXXIX*, 1: 113–125.
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 13 lipca 2010 r. w sprawie komunalnych osadów ściekowych. *Dz.U. Nr 137, poz. 924*.
- Siebielec G., Stuczyński T., 2008. Metale śladowe w komunalnych osadach ściekowych wytwarzanych w Polsce. *Proceedings of ECOpole*, 2(2): 479–484.
- Spiak Z., Śmiatacz S., 2004. Wpływ różnych form związków miedzi na pobranie tego pierwiastka przez rośliny. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, 502(I): 341–347.
- Singh R.P., Agrawal M., 2007. Effect of sewage sludge amendment on heavy metal accumulation and consequent responses of *Beta vulgaris* plants. *Chemosphere*, 67: 2229–2240.
- Strumpf T., Reichmuth C., 2009. Risikoabschätzung von Schadelementen (Schwermetallen) im System Boden/Pflanze, *Gesunde Pflanzen*, 61: 39–50.
- Szule W., Rutkowska B., Łabętowicz J., 2004. Bilans mikroelementów w zmianowaniu w trwałym doświadczeniu nawozowym. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, 502 (I): 363–370.

- Van der Sloot H.A., Comans R.N.J., Meeussen J.C.L., Dijkstra J.J., 2003. Leaching methods for soil, sludge and treated biowaste. ECN Environmental Risk Assessment: 1–73.
- Von Diez Th., Krauss M., 1990. Schwermetallaufnahme durch Gemüsepflanzen bei extremer Bodenbelastung. *Landwirtsch. Jahrb.*, 67(5): 549–559.
- Von Th. Die, Krauss M., 1990. Schwermetallaufnahme durch Gemüsepflanzen bei extremer Bodenbelastung. *Landwirtsch. Jahrbuch*, 67(5): 549–559.
- Wiśniowska-Kielian B., Lipiński W., Stanisławska-Głubiak E., Korzeniowska E., Antonkiewicz J., 2007. Ocena składu chemicznego roślin. Oddział Krakowski PTIE, Kraków, Krajowa SCh-Roln., Warszawa: 1–62.

## **EFFECT OF LONG-TERM APPLICATION OF SEWAGE SLUDGE ON THE CONTENT OF COPPER, ZINC AND MANGANESE IN PLANTS**

### **S u m m a r y**

Field experiments carried out from 2001 to 2006 were aimed at determining the influence of annually applying sewage sludge in varying doses (0; 2; 4 and 8 Mg·ha<sup>-1</sup> DM) on the accumulation of copper, zinc and manganese in crop plants cultivated in two rotational cycles (potatoes-spring barley-winter rye). No excessive concentrations of the tested elements were found in potato tubers and cereal grains as a result of applying doses of sewage sludge. One factor which had a definite impact on the content of metals in the crop plants was the particular year of the study. There was less of an impact on the amount of metals found in crop plants from changing the dose of the sludge application.

KEY WORDS: sewage sludge, fertilization, copper, zinc, manganese, contents, uptake in plants



**Jacek Czekala, Andrzej Mocek, Wojciech Owczarzak**

**DZIAŁANIE WIELOLETNIEGO NAWOŻENIA OSADAMI  
ŚCIEKOWYMI NA ZAWARTOŚĆ FORM ROZPUSZCZALNYCH  
CYNKU I MIEDZI W GLEBIE**

**EFFECT OF LONG-TERM FERTILIZATION WITH SEWAGE  
SLUDGE ON THE CONTENT OF SOLUBLE FORMS  
OF ZINC AND COPPER IN THE SOIL**

*Katedra Gleboznawstwa i Ochrony Gruntów, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu  
Department of Soil Science and Land Protection, University of Life Sciences in Poznań*

Osady ściekowe zawierają zmienne ilości makro- i mikroelementów, w tym miedzi i cynku, ale w niektórych przypadkach mogą być alternatywnym źródłem tych pierwiastków dla gleb i roślin.

Wieloletnie (2001–2006) badania polowe miały na celu określenie wpływu corocznego stosowania osadu ściekowego w zróżnicowanych dawkach (2,0; 4,0; i 8,0 Mg·ha<sup>-1</sup>·s.m.) na zawartość przyswajalnych form miedzi i cynku w glebie. Wykazano, że w warunkach doświadczenia osady w małym stopniu przyczyniły się do zmian zawartości miedzi przyswajalnej w glebie, ale w drugim cyklu zmianowania (2004–2006) ujawniła się tendencja wzrostu tych ilości na obiektach z osadami, w porównaniu z obiektem kontrolnym (NPK). Natomiast zawartość cynku przyswajalnego wzrastała systematycznie z każdym rokiem, w tym większym stopniu, im większa była dawka osadów. Po sześciu latach badań wzrost ten w stosunku do ilości z roku 2001 wynosił dla corocznej dawki 2 Mg·ha<sup>-1</sup>·s.m. 29,4%; dla 4 Mg·ha<sup>-1</sup>·s.m. – 44,0% a dla 8 Mg·ha<sup>-1</sup>·s.m. aż 110,7%.

**SŁOWA KLUCZOWE:** osady ściekowe, nawożenie, rozpuszczalne formy miedzi i cynku

## **WSTĘP**

Na ogół nie kwestionuje się możliwości rolniczego wykorzystania osadów, głównie jako źródła materii organicznej i azotu (Baran 1993, Krzywy, Wołoszyk 1996, Siebielec, Stuczynski 2008, Czekala 2000, 2011). W ostatnich latach wskazuje się na osady jako źródło

---

Przeprowadzone badania realizowano częściowo w ramach projektu badawczego Nr 6 P06 R 021 2, finansowanego ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

---

Do cytowania – For citation: Czekala J., Mocek A., Owczarzak W., 2012. Działanie wieloletniego nawożenia osadami ściekowymi na zawartość form rozpuszczalnych cynku i miedzi w glebie. Zesz. Nauk. UP Wroc., Rol. CIII, 589: 43–50.

rezerw fosforu dla rolnictwa (Sapek, Sapek 1999, Petersen i wsp. 2003, Krzywy i wsp. 2004). Są one również zasobne w pierwiastki śladowe, w tym cynk i miedź (Merrington i wsp. 2003, Czeaka 2011).

Biorąc pod uwagę akumulację większości metali ciężkich w glebach w warunkach wieloletniego stosowania osadów ściekowych (McBride i wsp. 1999, Stepień i wsp. 2000), gleby takie wymagają stałej kontroli, między innymi ze względu na możliwość przemieszczania się rozpuszczalnych form pierwiastków do niższych poziomów gleby (Kucharska i wsp. 2004, McLaren i wsp. 2004), a w konsekwencji do wód gruntowych (Łuczkiwicz 2006).

Celem pracy było określenie wpływu komunalnych osadów ściekowych stosowanych w zróżnicowanych dawkach na zawartość przyswajalnych form miedzi i cynku w glebie.

## MATERIAŁ I METODY

Doświadczenie polowe przeprowadzono w latach 2001–2006 w Zakładzie Doświadczalno-Dydaktycznym Katedry Agronomii UP w Poznaniu, zlokalizowanym w Złotnikach k. Poznania (52°29' N, 16°50' E) na glebie płowej. Charakteryzowała się ona odczynem lekko kwaśnym ( $\text{pH}_{\text{KCl}} - 5,93$ ), średnią zawartością węgla organicznego ( $6,68 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), azotu ogólnego ( $0,60 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) a stosunek C : N wynosił 11,1 : 1. Przedstawione wyżej wartości są średnimi, ale podkreślić należy stosunkowo dużą zmienność, jaka miała miejsce w glebie, na której zlokalizowane było doświadczenie.

Osad ściekowy stosowano corocznie, po zbiorze roślin w dawkach 2, 4 i 8  $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  suchej masy, z wyjątkiem roku założenia doświadczenia. Ze względów organizacyjnych osady ściekowe zastosowano wiosną 2001 r., co miało niewątpliwie wpływ na rozkład osadu w okresie wegetacyjnym w pierwszym roku badań. Nawożenie mineralne określono według potrzeb pokarmowych roślin, uprawianych w dwóch trzyletnich zmianowaniach: ziemniaki–jęczmień jary–żyto ozime. Dawki nawozów wynosiły kolejno dla roślin (kg N, P, K na hektar): 120–22–83; 50–29–100; 60–35–90. Doświadczenie przeprowadzono w czterech powtórzeniach, a wielkość poletek wynosiła 42  $\text{m}^2$ .

Osady ściekowe w każdym roku pochodziły z tej samej chemiczno-biologicznej komunalnej oczyszczalni ścieków, a ich wybrane właściwości przedstawiono w tabeli 1.

Corocznie po sprzęcie roślin pobierano próbki glebowe do analiz z każdego obiektu i powtórzeń z poziomu 0–30 cm, a w roku rozpoczęcia doświadczenia (2001) i zakończenia (2006) dodatkowo z głębokości 30–60 cm. Po wysuszeniu i roztarciu próbki glebowe przesiano przez sito o średnicy oczek 2 mm. Tak przygotowany materiał poddano ekstrakcji roztworem 1 mol  $\text{HCl}\cdot\text{dm}^{-3}$  (Gembarzewski i wsp. 1987). Formy rozpuszczalne miedzi i cynku oznaczono metodą absorpcyjnej spektrometrii atomowej na aparacie typu Varian Spectra AA 220 FS.

Przedstawione w pracy wyniki są średnimi z czterech powtórzeń obiektowych. Otrzymane wyniki opracowano statystycznie metodą analizy wariancji, a istotność różnic określono testem Duncana, przy poziomie  $p < 0,05$ .



Tabela 1  
Table 1Niektóre właściwości osadów ściekowych  
Some properties of the sewage sludges

Parametr – Parameter	Jednostka – Unit	Zawartość – Content
Sucha masa – Dry matter	(g·kg <sup>-1</sup> )	198,2±12,76* (168,0–203,6)**
pH <sub>KCl</sub>	–	6,52–7,18
Materia organiczna; Organic matter	(g·kg <sup>-1</sup> s.m.) (g·kg <sup>-1</sup> d.m.)	736,5±51,85 (668,0–797,0)
C <sub>org.</sub> : Organic carbon (C <sub>org.</sub> )	(g·kg <sup>-1</sup> s.m.)	320,4±15,88 (295,1–341,7)
N <sub>org.</sub> : Total nitrogen (N <sub>tot</sub> )	(g·kg <sup>-1</sup> d.m.)	57,33±5,48 (48,72–62,70)
C : N		5,69±0,77 (4,74–6,62)
P <sub>og.</sub> : Total P	(g·kg <sup>-1</sup> s.m.) (g·kg <sup>-1</sup> d.m.)	25,82±2,16 (22,83–28,56)
Cu ogólna – Total Cu	(mg·kg <sup>-1</sup> s.m.)	200,7±51,36 (122,2–262,4)
Zn ogólna – Total Zn	(mg·kg <sup>-1</sup> d.m.)	779,0±249,6 (461,0–1000,0)

\* Średnia – Average

\*\* Zakres – Range

## WYNIKI I DYSKUSJA

W okresie 6 lat badań wraz z osadami wprowadzono do gleby od 2409 do 7227 g·ha<sup>-1</sup> miedzi oraz od 9353 do 28 060 g·ha<sup>-1</sup> cynku. Dane przedstawione w tabeli 2 wskazują, że w warstwie 0–30 cm dopiero w drugim cyklu zmianowania (lata 2004–2006) miedź obecna w osadach przechodziła wolno w formy przyswajalne, a jej zawartość wzrastała wraz ze zwiększaniem dawek osadów. Tendencja ta powiększała się wraz z upływem lat. Jednocześnie wykazano, że zawartości Cu przyswajalnej w glebie obiektu kontrolnego ulegały zmniejszeniu, systematycznie od 2003 r. Skutkiem tego był wzrost różnic ilościowych tych form miedzi między obiektem kontrolnym a obiektami z osadami. Przyjmując ilość miedzi w roku 2004 w warstwie 0–30 cm obiektu kontrolnego za zawartość porównawczą (2,53 mg·kg<sup>-1</sup> s.m.), wykazano, że dla dawek osadów zawartość ta wzrastała średnio w latach 2004–2006 o 10,3, 19,85 i 33,6%.

Oznacza to, że dopiero po czterech latach corocznego stosowania osadów nastąpiło systematyczne różnicowanie zawartości Cu przyswajalnej w poziomie próchnicznym gleby w zależności od dawki osadów (tab. 2). Trzeba jednak podkreślić, że ujawnione różnice były statystycznie nieistotne z wyjątkiem 2006 r., kiedy wzrost ten w glebach nawiezionych osadami w stosunku do kontroli wynosił już odpowiednio 37,2, 47,3 oraz 51,7%.

Tabela 2  
Table 2

Wpływ nawożenia osadem ściekowym na zawartość form rozpuszczalnych miedzi w glebie  
Effect of fertilization with sewage sludge on the contents soluble forms of cooper in soil

Nawożenie Fertilization	Głębokość (cm) – Depth								
	0–30						30–60		
	(mg·kg <sup>-1</sup> s.m.) – (mg·kg <sup>-1</sup> d.m.)								
	2001	2002	2003	2004	2005	2006	Średnia Average	2001	2006
NPK	2,10	1,98	3,70	2,53	2,38	2,26 <sup>a*</sup>	2,49	3,35 <sup>b</sup>	3,06
O <sub>1</sub> <sup>**</sup> – SS <sub>1</sub> <sup>+</sup> NPK	2,12	2,13	3,73	2,70	2,58	3,10 <sup>ab</sup>	2,73	3,19 <sup>b</sup>	2,53
O <sub>2</sub> – SS <sub>2</sub> <sup>+</sup> NPK	2,14	2,20	3,88	2,84	2,91	3,33 <sup>b</sup>	2,88	2,66 <sup>ab</sup>	2,80
O <sub>3</sub> – SS <sub>3</sub> <sup>+</sup> NPK	2,03	2,44	2,11	3,32	3,40	3,43 <sup>b</sup>	2,79	1,96 <sup>a</sup>	3,33

\* Różne litery w kolumnie oznaczają różnice istotnie statystycznie

Different letters in column mean different statistical significant

\*\*O<sub>1</sub> – osad 2 Mg s.m·ha<sup>-1</sup>; O<sub>2</sub> – 4 Mg s.m·ha<sup>-1</sup>; O<sub>3</sub> – 8 Mg s.m·ha<sup>-1</sup> corocznie

SS<sub>1</sub> – sewage sludges – 2 Mg DM·ha<sup>-1</sup>; SS – 4 Mg DM·ha<sup>-1</sup>; SS<sub>3</sub> – 8 Mg DM·ha<sup>-1</sup> annual

Porównując z kolei średnie zawartości Cu w glebie dla lat 2001–2006, stwierdzono, że po sześciu latach stosowania osadów ściekowych bez względu na dawkę zaistniałe różnice między obiektami były nieistotne. Może mieć to związek z formami jej występowania w osadach ściekowych, głównie we frakcji nierozpuszczalnej. Świadczą o tym wyniki badań Jakubus i Czeakała (2001), w których stosując analizę sekwencyjną, stwierdzili, że spośród analizowanych pierwiastków w komunalnych osadach ściekowych miedź charakteryzowała się najmniejszą rozpuszczalnością. Udział tych form pierwiastka w zawartości ogólnej wynosił średnio 28,1%. Powyższe właściwości wydają się być charakterystyczne dla miedzi, co potwierdzają również wyniki badań Patorczyk-Pytlik i Gedigi (2009a). Autorzy stosując analizę specjacyjną, wykazali, że miedź w osadach ściekowych, jak w inicjalnych kompostach przygotowanych z jego udziałem występowała głównie w formie rezydualnej (od 51 do 73%). Poza tym miedź równie silnie wiąże się z materią organiczną (Van Dijk 1970, Marinsky, Bunzl 1980, Luo, Christe 1998, Gondek, Kopeć 2006). Nie bez znaczenia w kształtowaniu ilości miedzi rozpuszczalnej w glebie są uprawiane rośliny (Czeakała 2004).

Przedstawione wyżej czynniki mają więc większy czy mniejszy wpływ na rozpuszczalność miedzi, co wyjaśnia brak istotnych różnic między obiektami doświadczenia w zawartości form przyswajalnych pierwiastka w zależności od dawki osadów ściekowych zastosowanych w przeprowadzonym doświadczeniu.

Zależność taką potwierdzają badania Barana i wsp. (2002), którzy stosowali jednorazowo osady w dawkach od 0,0 do 600,0 Mg·ha<sup>-1</sup> w przeliczeniu na suchą masę. Z przedstawionych przez autorów danych wynika, że procent miedzi rozpuszczalnej w glebie był na ogół niezależny od dawki osadów, jak i roku badań. Dowodzi tego między innymi fakt zwiększenia udziału tej formy Cu w stosunku do zawartości ogólnej pierwiastka w granicach około 90% tylko w drugim roku po przyoraniu osadów i brak jednoznacznych kierunków takich zmian w dalszych latach. Potwierdzeniem stosunkowo wolnego rozkładu

połączeń miedzi w glebie są również badania Patorczyk-Pytlik, Gedigi 2009b, w których wykazano słabsze uruchamianie się Cu z samych osadów ściekowych wprowadzonych do gleby, w porównaniu z kompostami wytworzonymi z udziałem osadów. Oznacza to także, że ruchliwość pierwiastka w glebie może być mała, chociaż zwraca się uwagę na istotny wpływ odczynu na ten proces (Gondek 2009).

Cynk uważa się za pierwiastek bardzo ruchliwy w glebie. Spiak i Wall (2000) wykazali, że zawartość formy rozpuszczalnej cynku w 1 mol HCl·dm<sup>-3</sup> w większym stopniu decydowała o pobieraniu tego pierwiastka przez rośliny niż inne właściwości gleby. Dane przedstawione w tabeli 3 świadczą o względnie wolnym, ale systematycznym wpływie zastosowanych dawek osadów na wzrost rozpuszczalności tego pierwiastka w glebie.

Tabela 3

Table 3

Wpływ nawożenia osadem ściekowym na zawartość form rozpuszczalnych cynku w glebie  
Effect of fertilization with sewage sludge on the contents of soluble forms of zinc in soil

Nawożenie Fertilization	Głębokość (cm) – Depth								
	0–30							30–60	
	(mg·kg <sup>-1</sup> s.m.) – (mg·kg <sup>-1</sup> d.m.)								
	2001	2002	2003	2004	2005	2006	Średnia Average	2001	2006
NPK	10,62	9,24	11,30	10,74	11,40	12,70 <sup>a</sup>	11,00	3,20	5,20
O <sub>1</sub> * – SS <sub>1</sub> + NPK	10,20	9,85	10,90	12,15	12,40	13,20 <sup>a</sup>	11,45	3,60	3,80
O <sub>2</sub> – SS <sub>2</sub> + NPK	10,07	10,86	13,10	13,30	13,32	14,50 <sup>a</sup>	12,52	2,70	5,20
O <sub>3</sub> – SS <sub>3</sub> + NPK	10,58	11,78	14,40	15,21	16,80	22,30 <sup>b</sup>	15,17	2,60	6,20

\*Oznaczenia jak w tabeli 2 – Explanations as in Table 2

W odróżnieniu od miedzi, już w drugim roku badań (2002), ujawniła się tendencja wzrostu zawartości cynku rozpuszczalnego w porównaniu z ilością określoną w glebie obiektu kontrolnego. Przemiany, jakim cynk ulegał w glebie po zastosowaniu osadów, przyczyniły się do wzrostu rozpuszczalności pierwiastka. Przykładowo, w odniesieniu do zawartości cynku obiektu kontrolnego określonej w 2001 r., po 6 latach jego stosowania, ilość pierwiastka wzrosła średnio dla dawki 2 Mg·ha<sup>-1</sup> o 7,8%, przy 4 Mg·ha<sup>-1</sup> o 17,9%, a przy 8 Mg·ha<sup>-1</sup> o 42,8%. Oznacza to, że cynk wnoszony do gleby wraz z osadami ściekowymi szybciej i w zdecydowanie większym stopniu podlegał przemianom do form rozpuszczalnych niż miedź. Wynikać to może między innymi z innego udziału połączeń chemicznych cynku niż miedzi w osadach (Jakubus, Czekala 2001). Autorzy wykazali, że średnio 44,2% zawartego w osadach cynku występowało w formach względnie łatwo podlegających rozpuszczaniu. Z analizy danych tabeli 3 wynika również, że zawartość rozpuszczalnych form cynku, począwszy od 2002 r., była tym większa, im większa była dawka osadów. Dynamika tych zmian była większa niż miedzi, dla której podobną tendencję stwierdzono dopiero w drugiej rotacji zmianowania od 2004 r. Wykazane kierunki zmian potwierdzają sugestie Basta i wsp. (2005), zdaniem których ilość rozpuszczalnych form metali ciężkich w glebie związana jest z ich zawartościami ogólnymi.

Zdaniem Gondka (2009) największa zawartość mobilnych form cynku występowała w glebie lekkiej. Czynnikiem ten, w połączeniu z dużą ruchliwością pierwiastka (Kabata-Pendias 2002), stwarza więc możliwość przemieszczania się do głębszych poziomów

gleby. Pośrednio potwierdzają to dane przedstawione w tabeli 3 w odniesieniu do warstwy gleby 30–60 cm. Trudno jest wytłumaczyć brak zmian zawartości Zn w warstwie 30–60 cm w 2006 r. ( $3,80 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ s.m}$ ) w stosunku do 2001 r. przy corocznym stosowaniu  $2 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$  osadów na 1 ha. Tym bardziej że są to wartości średnie z czterech powtórzeń (poletek). Niemniej, tendencje zmian ilościowych w 2006 r. dowodzą zwiększenia zawartości cynku rozpuszczalnego niezależnie od kombinacji nawozowej. Wzrost ten w stosunku do ilości w 2001 r. był największy przy corocznym stosowaniu osadów w dawkach  $4 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$  (o 92,6%) i  $8 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$  (o 138,5%). Wyniki te świadczą jednoznacznie o możliwości przemieszania się cynku w glebie, w warunkach wieloletniego stosowania osadów ściekowych. Wynikać to może między innymi z większej biodostępności, a więc i rozpuszczalności tego pierwiastka w glebie (Chen i wsp. 2010), która zwiększa się w warunkach sprzyjających interakcji cynku i miedzi (Luo, Rimmer 1995).

## WNIOSKI

1. Osady ściekowe stosowane corocznie, w okresie sześciu lat doświadczenia, w zróżnicowanych dawkach, nie miały istotnego wpływu na zawartość przyswajalnych form miedzi w poziomie próchnicznym gleby.

2. Ilość miedzi przyswajalnej w warstwie gleby 30–60 cm po 6 latach badań uległa obniżeniu, a cynku zwiększeniu, przy zachowaniu nieistotnych różnic między obiektami doświadczenia.

3. Zawartość cynku przyswajalnego w glebie zwiększała się w latach badań wraz ze wzrastającymi dawkami osadów ściekowych, w stosunku do ilości z obiektu kontrolnego.

4. W warunkach wieloletniego stosowania komunalnych osadów ściekowych dynamika zmian ilościowych przyswajalnych form cynku w glebie była większa niż miedzi.

5. Osady ściekowe stosowane tylko w dawkach ponadnormatywnych mogą być źródłem przyswajalnej miedzi, a głównie cynku.

## PIŚMIENNICTWO

- Baran S., 1993. Kategorie osadów ściekowych a proces mineralizacji ich substancji organicznej i zawartość miedzi w gryce. *Ann. UMCS*, 48(19): 143–148.
- Baran S., Wójcikowska-Kapusta A., Żukowska G., 2002. Pobieranie miedzi przez różne gatunki roślin uprawnych z gleby lekkiej użyźnianej osadem ściekowym. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, 484: 37–44.
- Basta N.T., Ryan J.A., Chaney R.L., 2005. Trace element chemistry in residual-treated soil: Key concepts and metal bioavailability. *J. Environ. Qual.*, 34: 49–63.
- Chen G., Zeng G., Du Ch., Huang D., Tang L., Wang L., Shen G., 2010. Transfer of heavy metals from compost to red soil and groundwater under simulated rainfall conditions. *Journal of Hazardous Materials*, 181: 211–216.
- Czekala J., 2000. Wartość próchnicotwórcza i działanie nawozowe osadu ściekowego. *Folia Univ. Agric. Stein.* 211 *Agricultura*, (84): 75–80.

- Czekała J., 2004. Wpływ czynników agrotechnicznych na zawartość miedzi rozpuszczalnej w poziomie próchnicznym gleby. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, 502: 35–42.
- Czekała J., 2011. Rolnicze wykorzystanie osadów ściekowych [w:] *Metody zagospodarowania osadów ściekowych*. II Ogólnop. Konf. Szkolen., Zielona Góra, 3–4 lutego 2011 r.: 26–34.
- Czuba R., 2000. Mikroelementy we współczesnych systemach nawożenia. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, 471(I): 161–170.
- Jakubus M., Czekała J., 2001. Heavy metal speciation in sewage sludge. *Polish J. Environmental Studies*, 10 (4): 245–250.
- Kabata-Pendias A., 2002. Biogeochemia cynku [w:] *Cynk w środowisku – problemy ekologiczne i metodyczne*. Zeszyty Naukowe, PAN, „Człowiek i Środowisko”, Warszawa, 33: 11–18.
- Gembarzewski H., Kamińska A., Korzeniowska J., 1987. Zastosowanie 1 mol-dm<sup>-3</sup> roztworu HCl jako wspólnego ekstrahenta do oceny zasobności gleb w przyswajalne formy mikroelementów. *Prace Kom. Nauk PTG*, 99: 1–9.
- Gondek., Kopeć M., 2006. Heavy metal binding by organic substance in sewage sludge of various origin. *EJPAU*, 9(3): 1–13.
- Gondek K., 2009. Aspekty nawozowe i środowiskowe przemian i dostępności dla roślin wybranych pierwiastków w warunkach nawożenia różnymi materiałami organicznymi. *Zesz. Nauk., Rozprawy*, 452(329), Uniw. Roln., Kraków: 1–164.
- Guiqiu Ch., Zeng G., Du Ch., Huang D., Tang L., Wang L., Shen G., 2010. Transfer of heavy metals from compost to red soil and groundwater under simulated rainfall conditions. *Journal of Hazardous Materials*, 181: 211–216.
- Krzywy E., Wołoszyk Cz., 1996. Charakterystyka chemiczna i możliwości wykorzystania do produkcji kompostów osadów ściekowych z miejskich oczyszczalni ścieków. *Zesz. Nauk. AR Szczecin. Rolnictwo*, 172(62): 265–271.
- Krzywy E., Krzywy J., Iżewska A., 2004. Możliwości wykorzystania niektórych odpadów do wzbogacenia gleb w fosfor. *Pr. Nauk. AE we Wrocławiu, Chemia*, 1017: 221–227.
- Kucharska B., Nowak L., Chylińska E., 2004. Dynamika przemieszczania w glebie metali ciężkich. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, 499: 189–196.
- Luo Y., Rimmer D. L., 1995. Zinc-copper interaction affecting plant growth on a metal-contaminated soil. *Environmental Pollution*, 88: 79–83.
- Luo Y.M., Christe P. 1998. Bioavailability of copper and zinc in soils treated with alkaline stabilized sewage sludge. *J. Environ. Qual.*, 27: 335–342.
- Łuczkiwicz A., 2006. Soil and groundwater contamination as a result of sewage sludge land application. *Polish J. of Environ. Stud. Vol.*, 15(6): 869–876.
- Marinsky J.A., Bunzl W.K., 1980. The binding of trace amounts of lead(II), copper(II), cadmium(II), zinc(II) and calcium(II) to soil organic matter. *Talanta*, 27: 461–468.
- McBride M.B., Richards B.K., Steenhuis T., Spiers G., 1999. Long-term leaching of trace elements in a heavily sludge-amended silty clay loam soil. *Soil Science*, 164(9): 613–623.
- McLaren R.G., Clucas L.M., Taylor M.D., Hendry T., 2004. Leaching of macronutrients and metals from undisturbed soils treated with metal-spiked sewage sludge. 2. Leaching of metals. *Austr. J. Soil Res.*, 42(4): 459–471.
- Merrington G., Oliver I., Smernik R.J., McLaughlin M.J., 2003. The influence of sewage sludge properties on sludge-borne metal availability. *Advances in Environmental Research*, 8: 21–36.
- Patorczyk-Pytlik B., Gediga K., 2009a. BCR method in assessing alterations of copper forms in sludge composted according to different methods. *Environment Protection Engineering*, 35(1): 89–94.

- Patorczyk-Pytlik B., Gediga K. 2009b., Cz. II. Wykorzystanie metody do oceny przemian form Cu w glebach nawożonych kompostami z osadu ściekowego. (Maszynopis).
- Petersen S., Petersen N.J., Rubæk G.H., 2003. Dynamics and plant uptake of nitrogen and phosphorus in soil amended with sewage sludge. *Applied Soil Ecology*, 24: 187–195.
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 1 sierpnia 2002 r. w sprawie komunalnych osadów ściekowych. Dz.U.02.124.1140 z dnia 27 sierpnia 2002 r.
- Sapek A., Sapek B., 1999. Wykorzystanie fosforu z osadów ściekowych w rolnictwie. *Folia Univ. Agric. Stein. 200 Agricultura*, (77): 331–336.
- Siebielec G., Stuczyński T., 2008. Metale śladowe w komunalnych osadach ściekowych wytwarzanych w Polsce. *Proceedings of ECOpole*, 2(2): 479–484.
- Spiak Z., Wall Ł., 2000. Współzależność zawartości cynku w glebach i roślinach w warunkach połowych. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, 471(I): 145–152.
- Stępień W., Mercik S., Szulc W., 2000. Wpływ osadu ściekowego surowego i przekompostowanego na pobieranie metali ciężkich przez rośliny buraka ćwikłowego. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, 472: 611–618.
- Van Dijk H., 1970. Cation binding of humic acids. *Geoderma*, 5: 53–67.

## **EFFECT OF LONG-TERM FERTILIZATION WITH SEWAGE SLUDGE ON THE CONTENT OF SOLUBLE FORMS OF ZINC AND COPPER IN THE SOIL**

### **S u m m a r y**

Sewage sludge contains varying amounts of macro- and microelements, including copper and zinc, and in some cases can serve as an alternative source of these chemical elements for soil and plants.

The long-term field experiment (2001–2006) was aimed at determining the influence of annually applying different doses of sewage sludge (0; 2; 4 and 8 Mg·ha<sup>-1</sup> DM) on the content of available copper and zinc in the soil. The study demonstrated that under the experimental conditions the applied sewage sludge contributed only slightly to changes in the content of available copper in soil. However, in the course of the second half of the study (2004–2006), there was an increase in the content of elements in samples fertilized with sewage sludge in comparison with the control samples (NPK). In contrast, the content of available zinc increased steadily in consecutive years of the study; the higher the dose of sewage sludge the greater the increase in elements. In the sixth year of the experiment, the total increase from the beginning of the study in 2001 reached 29,4% for the sludge dose of 2 Mg·ha<sup>-1</sup> DM, 44,0% for the sludge dose of 4 Mg·ha<sup>-1</sup> DM, and 110,7% for the sludge dose of 8 Mg·ha<sup>-1</sup> DM.

KEY WORDS: sewage sludge, fertilization, soluble forms of copper and zinc

**Agnieszka Dradrach<sup>1</sup>, Katarzyna Szopka<sup>2</sup>,  
Anna Karczewska<sup>2</sup>, Adam Bogacz<sup>2</sup>**

**ZAWARTOŚĆ CYNKU, MIEDZI I OŁOWIU W POZIOMACH  
POWIERZCHNIOWYCH GLEB DARNIOWYCH WYBRANYCH  
PARKÓW MIEJSKICH WROCLAWIA**

**TOTAL CONTENT OF ZINC, COPPER AND LEAD  
IN THE UPPER SOIL HORIZONS  
OF MUNICIPAL PARK LAWNS IN WROCLAW**

<sup>1</sup> *Katedra Kształtowania Agroekosystemów i Terenów Zieleni, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu*

*Department of Agroecosystems and Green Areas Management, Wrocław University of Environmental and Life Science*

<sup>2</sup> *Instytut Nauk o Glebie i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu*  
*Institute of Soil Science and Environmental Protection, Wrocław University of Environmental and Life Science*

Badaniami objęto gleby darniowe trzech parków Wrocławia: Parku Szczytnickiego, Zachodniego oraz Południowego. Próbkę gleb pobierano przy użyciu laski glebowej z dwóch głębokości: 0–5 cm oraz 5–15 cm. W badanych próbkach glebowych oznaczono podstawowe właściwości gleb metodami ogólnie przyjętymi w gleboznawstwie oraz całkowitą zawartość cynku, miedzi i ołowiu metodą AAS. Zawartość analizowanych pierwiastków śladowych w badanych glebach charakteryzuje się dużym zróżnicowaniem zarówno między parkami, jak również między punktami w obrębie jednego parku. Najwyższe średnie zawartości analizowanych pierwiastków śladowych stwierdzono w glebach trawników Parku Zachodniego, przy czym najwyższe zawartości cynku odnotowano w poziomach powierzchniowych 0–5 cm w tym parku, zaś ołowiu w poziomach głębszych 5–15 cm. Najniższe zawartości analizowanych pierwiastków śladowych wykazano w Parku Południowym. W badanych glebach w nielicznych punktach stwierdzono przekroczenie standardów jakości gleb dla ołowiu na terenach zurbanizowanych.

**SŁOWA KLUCZOWE:** cynk, miedź, ołów, trawniki miejskie, gleby terenów zurbanizowanych

---

Do cytowania – For citation: Dradrach A., Szopka K., Karczewska A., Bogacz A., 2012. Zawartość cynku, miedzi i ołowiu w poziomach powierzchniowych gleb darniowych wybranych parków miejskich Wrocławia. Zesz. Nauk. UP Wroc., Rol. CIII, 589: 51–58.



## WSTĘP

Obecnie, w czasach postępującej urbanizacji i industrializacji środowiska, zieleń której istotną część stanowią nawierzchnie trawiaste, jest niezbędnym elementem w kształtowaniu przestrzeni miast. Do miejsc szczególnie koncentrujących zieleń miejską należą m.in. tereny parkowe, gdzie jednym z podstawowych elementów ich krajobrazu są trawniki – pełniące istotne funkcje głównie ze względów ekologiczno-biologicznych, estetycznych oraz walorów rekreacyjno-wypoczynkowych. Jednak, by zieleń mogła spełniać swoje zadanie, musi być w odpowiedniej kondycji, co nie jest łatwe ze względu na ciągle zmieniające się warunki środowiskowe. Jednym z istotnych elementów wpływających na kondycję trawników miejskich jest zawartość pierwiastków śladowych w glebach, na których trawniki te zostały założone (Nowakowski 1990).

Oddziaływanie czynników siedliskowych i antropogenicznych bardzo istotnie wpływa na charakter ekosystemów trawiastych (Harkot i wsp. 2005). Trawniki stały się ważnym elementem w strukturach miast, dzięki swojej dużej zdolności regeneracyjnej i zdecydowanie wpływają na ogólną kondycję danego środowiska (Rutkowska, Hempel 1986, Rutkowska, Pawluśkiewicz 1996, Wolski 2002, Wysocki 1994).

Zanieczyszczenie metalami ciężkimi gleb terenów rekreacyjnych może stwarzać pewne zagrożenia dla zdrowia ludzi, mimo że metale ciężkie z takich gleb zasadniczo nie wchodzą do łańcuchów pokarmowych, w których konsumentem byłby człowiek. Zagrożenie to możemy wiązać z unoszeniem przez wiatr pyłu z gleby, jak również w przypadku małych dzieci bezpośrednim kontaktem z glebą zanieczyszczoną (Adriano 1986, Karczewska i wsp. 2000)

Wiele badań prowadzonych na obszarach zurbanizowanych wskazuje na duże lokalne zróżnicowanie zanieczyszczenia tych gleb, co przypisywać należy różnym mechanizmom, m.in. wpływowi emisji motoryzacyjnych, stosowaniu farb i tynków zawierających metale ciężkie, emisjom przemysłowym, a wreszcie sytuowaniu miast na terenach poprzemysłowych i wykorzystywaniu różnych materiałów oraz odpadów budowlanych do niwelacji i zagospodarowania terenu (Carey i wsp. 1980, Kelly i wsp. 1996, Karczewska i wsp. 2009, Kabała i wsp. 2009).

Celem badań było określenie zawartości trzech metali: cynku, miedzi i ołowiu w poziomach powierzchniowych gleb darniowych wybranych parków miejskich Wrocławia.

## MATERIAŁ I METODY

Próbki glebowe pobrano z gleb darniowych trzech parków zlokalizowanych w południowej (Park Południowy), zachodniej (Park Zachodni) oraz centralnej (Park Szczytnicki) części Wrocławia.

Próbki pobierano z dwóch głębokości 0–5 cm i 5–15 cm przy użyciu próbnika glebowego przystosowanego do profilów gleb zadarnionych. Próbka średnia składała się z 5 próbek podstawowych pobieranych z powierzchni 20 m<sup>2</sup>. Z każdego parku pobrano próbki z 4 trawników. Do badań wytypowano 12 trawników, z których pobrano łącznie 24 próbki glebowe.

W zgromadzonym materiale oznaczono skład granulometryczny oraz podstawowe właściwości chemiczne i fizykochemiczne gleb: zawartość węgla organicznego C<sub>org</sub>, pH w roztworze KCl o stężeniu 1 mol·dm<sup>-3</sup> oraz w wodzie. Analizy wykonano, stosując metody standardowe, przyjęte w badaniach gleboznawczych (Ostrowska i wsp. 1991).



Całkowitą zawartość Cu, Pb i Zn w próbkach oznaczono metodą płomieniową AAS, po mineralizacji mikrofalowej próbek w mieszaninie stężonych kwasów  $\text{HNO}_3 + \text{HCl}$ : 3:1.

## OMÓWIENIE WYNIKÓW

Badane gleby charakteryzują się zróżnicowanym składem granulometrycznym pomiędzy poszczególnymi parkami. W większości badanych próbek glebowych dominuje uziarnienie piasków słabogliniastych i gliniastych, a zawartość frakcji  $< 0,002$  mm waha się w zakresie od 1 do 8% (tab.1). Najmniejszym zróżnicowaniem składu granulometrycznego charakteryzują się gleby trawników Parku Zachodniego, które równocześnie są glebami najlżejszymi o składzie piasku słabogliniastego. Gleby trawników Parku Szczytnickiego to głównie gleby o uziarnieniu piasków gliniastych. Największym zróżnicowaniem w obrębie poszczególnych punktów charakteryzują się gleby Parku Południowego, wykazują uziarnienie piasków słabogliniastych oraz gliniastych

Badane gleby cechują się dużym zróżnicowaniem odczynu od kwaśnego, słabo kwaśnego po obojętny. W glebach Parku Szczytnickiego pH w KCl waha się od 4,6 do 7,0, dla gleb Parku Południowego stwierdzono pH od 5,3 do 6,6 oraz od 4,4 do 5,7 dla gleb trawników Parku Zachodniego.

Zawartość węgla organicznego jest zróżnicowana pomiędzy poszczególnymi obiektami (tab.1). Większą zawartość węgla stwierdzono w poziomie 0–5 cm niż w poziomie 5–15 cm we wszystkich badanych glebach.

Zawartość metali w badanych glebach charakteryzowało duże zróżnicowanie i mieściła się ona w szerokich zakresach: 39,8 – 878  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  dla Zn, 14,0 – 276  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  dla Cu oraz 4,2 – 931  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  dla Pb (tab. 2).

Tabela 1  
Table 1

Podstawowe właściwości badanych gleb  
Basic soil properties in examined soils

Miejsce poboru próbek glebowych Location of sampling areas	Głębokość pobrania próbki (cm) Depth of sample	$C_{\text{org.}}$ ( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	pH $\text{H}_2\text{O}$	pH KCl	Fracja Fraction < 0,002 (%)
Park Szczytnicki Szczytnicki Park	0–5	4,9	5,3	4,6	5
	5–15	3,2	5,5	4,5	8
	0–5	3,8	6,0	5,5	3
	5–15	3,0	6,5	5,7	4
	0–5	8,7	6,7	6,2	2
	5–15	3,4	7,5	7,0	3
	0–5	4,9	5,9	5,2	3
	5–15	3,0	6,2	5,3	4
Park Południowy Południowy Park	0–5	6,6	5,9	5,3	5
	5–15	3,0	6,3	5,4	8
	0–5	8,0	6,5	6,1	3
	5–15	4,1	6,9	6,6	4
	0–5	3,0	5,4	4,5	2
	5–15	2,0	5,7	4,5	3
	0–5	4,6	6,0	5,2	3
	5–15	2,0	6,7	6,1	4

Tabela 1 cd.  
Table 1 cont.

Park Zachodni Zachodni Park	0-5	2,8	5,5	4,4	1
	5-15	2,9	5,6	4,6	1
	0-5	4,0	5,4	4,5	1
	5-15	1,7	6,0	5,0	1
	0-5	3,2	5,9	5,5	2
	5-15	1,3	6,0	5,0	1
	0-5	7,7	6,0	5,3	3
	5-15	4,1	6,0	5,7	2

Tabela 2  
Table 2

Zakres oraz średnie zawartości cynku, miedzi i ołowiu w poziomach powierzchniowych gleb trawników trzech parków miejskich Wrocławia  
Zinc, copper and lead range of content, mean concentration in surface soils layers of three city parks lawn in three districts of Wrocław

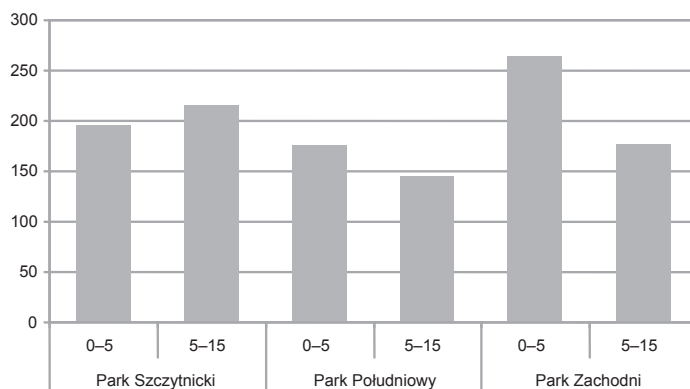
Miejsce poboru próbek glebowych Location of sampling areas	Głębokość pobrania próbki Depth of sample (cm)	Zn (mg·kg <sup>-1</sup> )			Cu (mg·kg <sup>-1</sup> )			Pb (mg·kg <sup>-1</sup> )					
		zakres range	średnia average values	odch. stand. deviation	mediana median	zakres range	średnia average values	odch. stand. deviation	zakres range	średnia average values	odch. stand. deviation		
Park Szczytnicki	0-5	105-372	195,75	120	153	21,7-65,8	46,43	21	49	43,5-121	80,90	32	80
Szczytnicki Park	5-15	130-433	216,50	145	152	24,6-89,0	51,15	27	46	68,6-123	87,68	24	80
Park Południowy	0-5	127-232	176,25	43,3	173	31,3-50,1	37,10	8,8	33,5	47,0-73,8	58,70	11,3	57
Południowy Park	5-15	121-185	144,50	28,1	136	24,9-35,2	29,70	4,8	29,4	40,9-76,3	55,38	15	52,2
Park Zachodni	0-5	39,8-878	264,40	409,4	69,9	14,0-276	80,23	130,5	15,5	4,24-324	107,04	146,5	50
Zachodni Park	5-15	66,9-466	177,95	192,4	89,5	15,5-204	64,90	92,8	20,1	47,4-931	273,68	438,3	58,2

Średnie zawartości cynku w poziomach 0–5 cm wahają się od 176,25 mg·kg<sup>-1</sup> (gleby Parku Szczytnickiego) do 264,40 mg·kg<sup>-1</sup> (gleby Parku Zachodniego) (tab. 2, rys. 1). Dla głębszych poziomów średnie zawartości tego pierwiastka mieszczą się w granicach od 144,5 do 216,5 mg·kg<sup>-1</sup>. W przypadku poziomów głębszych najwyższe koncentracje tego pierwiastka stwierdzono dla gleb Parku Szczytnickiego. Największe zróżnicowanie zawartości tego pierwiastka wykazano w glebach Parku Zachodniego. Potwierdzają to wysokie wartości odchylenia standardowego (tab. 2).

Największe zróżnicowanie zawartości spośród wszystkich pierwiastków śladowych wykazuje ołów, co potwierdzają wysokie wartości odchylenia standardowego, szczególnie w poziomach 5–15 gleb Parku Zachodniego. Największe średnie zawartości tego pierwiastka odnotowano w poziomach podpowierzchniowych 5–15 cm trawników Parku Zachodniego zlokalizowanego w najbardziej uprzemysłowionej części Wrocławia (rys. 3). Gleby Parku Zachodniego charakteryzują się najniższą ze wszystkich zawartością części sflawianych w glebach oraz niską zawartością węgla organicznego. Tak wysoką zawartość tego pierwiastka wiązać można z faktem, iż park ten został założony na terenach nieużytków poprzemysłowych, na gruntach obcego pochodzenia o nieznanym składzie. Mimo bliskiego sąsiedztwa ruchliwych arterii komunikacyjnych, w parku tym nie stwierdzono koncentracji ołowiu w poziomach 0–5 cm. Podobne zależności w swoich pracach wykazały Karczevska i wsp. (2000) oraz Maliszewska-Kordybach i wsp. (2012).

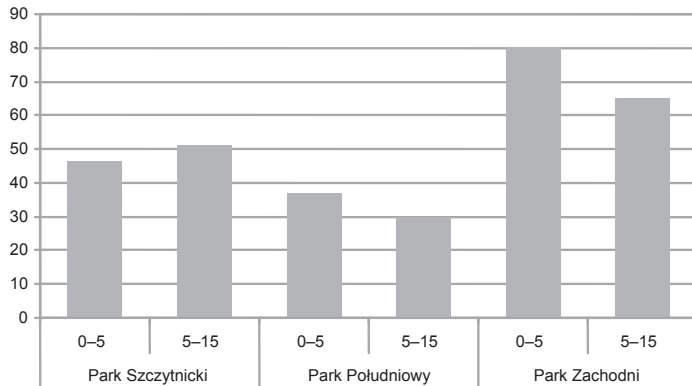
Średnia zawartość miedzi waha się w zakresie od 29,70 do 80,23 mg·kg<sup>-1</sup>, przy czym w poziomach 0–5 cm średnia zawartość Cu wynosi od 37,10 do 80,23 mg·kg<sup>-1</sup>, zaś w poziomach głębszych 5–15 cm od 29,70 do 64,90 mg·kg<sup>-1</sup>. Uzyskane zawartości miedzi w poziomach powierzchniowych gleb darniowych wybranych trawników parków Wrocławia są często niższe lub porównywalne z wartościami tego pierwiastka w glebach dużych aglomeracji miejskich w Polsce i w Europie (Karczevska i wsp. 2009, Maliszewska-Kordybach i wsp. 2012, Niedbała, Smolińska 2011).

W zestawieniu średnich zawartości badanych pierwiastków śladowych trzech parków miejskich Wrocławia (rys. 1, 2, 3) widać wyraźne różnice ich zawartości pomiędzy poszczególnymi parkami.



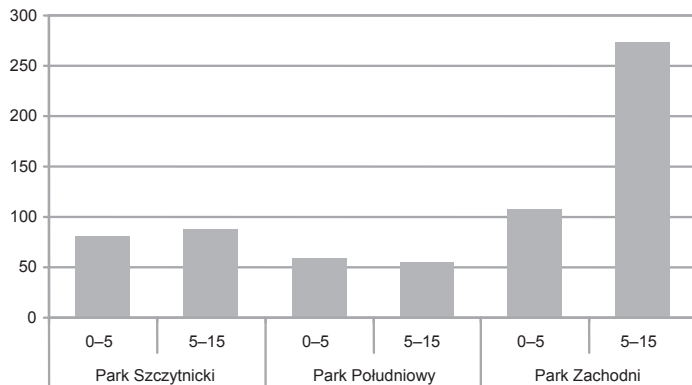
Rys. 1. Porównanie średnich zawartości cynku (Zn) w poziomach powierzchniowych badanych gleb trawników wybranych parków Wrocławia

Fig. 1. Comparison of mean concentration of Zn in surface layers of lawn soils in three different city parks of Wrocław



Rys. 2. Porównanie średnich zawartości miedzi (Cu) w poziomach powierzchniowych badanych gleb trawników wybranych parków Wrocławia

Fig. 2. Comparison of mean concentration of Cu in surface layers of lawn soils in three different city parks of Wrocław



Rys. 3. Porównanie średnich zawartości ołowiu (Pb) w poziomach powierzchniowych badanych gleb trawników wybranych parków Wrocławia

Fig. 3. Comparison of mean concentration of Pb in surface layers of lawn soils in three different city parks of Wrocław

Najwyższe średnie zawartości wszystkich badanych pierwiastków zanotowano w Parku Zachodnim. Najniższe średnie zawartości badanych pierwiastków występują w glebach darniowych na terenie Parku Południowego leżącego w młodszej historycznie części Wrocławia. Wyższe koncentracje metali ciężkich w glebach starszych, historycznych części miast w porównaniu z nowymi osiedlami należy wiązać z bardzo długą presją antropogeniczną w tych rejonach oraz intensywnym ruchem komunikacyjnym (Maliżewska-Kordybach i wsp. 2012).

Brak wyraźnie wyższej zawartości badanych pierwiastków śladowych w poziomach powierzchniowych niż w warstwach głębszych nie jest zjawiskiem typowym, zazwyczaj bowiem poziomy wierzchnie są bogatsze w metale, co wynika z wielu czynników, między innymi naturalnej bioakumulacji. Wyższe zawartości chociażby ołowiu w poziomach

5–15 cm niż w poziomach 0–5 cm należy wiązać z antropogeniczną genezą tych gleb. Powstały one z przemieszania materiałów różnego pochodzenia i układ poziomów glebowych jest w tych glebach nienaturalny, mimo że zawartość węgla wykazuje typowy układ dla gleb nieprzekształconych – jest wyższa w poziomach wierzchnich (tab. 1). Podobne wyniki uzyskali w swoich badaniach dla gleb Wrocławia Karczevska i wsp. (2009).

## WNIOSKI

1. Zawartości pierwiastków śladowych w glebach darniowych wybranych parków miejskich wykazują duże zróżnicowanie, potwierdzone często wysokimi wartościami odchylenia standardowego, co związane jest z pochodzeniem i niejednorodnością podłoża, typową dla gleb urbanoziemnych.

2. W niektórych punktach stwierdzono zawartość pierwiastków śladowych, szczególnie ołowiu, przekraczające wartości dopuszczalne dla obszaru sozologicznego B zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Środowiska z 2002 roku w sprawie standardów jakości gleb i standardów jakości ziemi .

3. Wysokie zawartości pierwiastków śladowych w niektórych punktach analizowanych obiektów badań (szczególnie w Parku Zachodnim) pochodzą najprawdopodobniej z dwóch źródeł: opadu z atmosfery pyłów bogatych w pierwiastki śladowe oraz zastosowaniu do urządzania terenów rekreacyjnych podłoży lub materiałów użyźniających niewiadomego pochodzenia.

## PIŚMIENNICTWO

- Adriano D.C., 1986. Trace elements In the terrestrial environment. Springer, Berlin Heidelberg New York.
- Carey A.E., Gowen J.A., Forehand T.J., Tai H., Wiersma G.B., 1980. Heavy metal concentrations in soils of five United States Cities, 1972 Urban Soils Monitoring Program. Pesticides Monitoring Journal, 13: 150–154.
- Harkot W., Wyłupek T., Czarnecki Z., 2005. Trawy na poboczach dróg Lubelszczyzny. Łąkarstwo w Polsce. PTL, 8: 71–74.
- Karczevska A., Bogda A., Wolszczak M., Gałka B., Szopka K., Kabała C., 2009. Miedź, ołów i cynk w glebach przemysłowej części osiedla Różanka we Wrocławiu. Ochr. Środ. Zasob. Natur., 41: 516–522.
- Karczevska A., Kabała C., Avenarius K., 2000. Metale ciężkie w glebach na obszarze Parku Szczytnickiego we Wrocławiu. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln., 471: 981–987.
- Kabała C., Chodak T., Szerszeń L., Karczevska A., Szopka K., Frątczak U., 2009. Factors influencing the concentration of heavy metals in soils of allotment gardens in the city of Wrocław, Poland. Fresenius Env. Bullet. 18 (7): 1118–1124.
- Kelly J., Thornton I., Simpson R., 1996. Urban geochemistry: a study of the influence of anthropogenic activity on the heavy metal content of soils in traditionally industrial and non-industrial areas of Britain. Applied Geochemistry 11, 1–3: 363–370.
- Maliszewska-Kordybach B., Gałązka R., Klimkowicz-Pawlas A., Smreczak B., Łysiak M., 2012. Czy gleby w Puławach są zanieczyszczone? Polish Jour. of Agronomy, 9: 7–16.

- Niedbała M., Smolińska B., 2011. Monitoring zanieczyszczenia gleb miejskich miasta Łodzi wybranymi pierwiastkami śladowymi w latach 2008–2010. *Ochr. Środ. Zasob. Natur.*, 49: 247–255.
- Nowakowski M., 1990. Centrum miasta. Teoria, projekty, realizacje. Arkady, Warszawa.
- Ostrowska A., Gawliński S., Szczubiałka Z., 1991. Metody analiz i oceny właściwości gleb i roślin – katalog. Instytut Ochrony Środowiska, Warszawa.
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 9 września 2002 r. w sprawie standardów jakości gleby oraz standardów jakości ziemi. *Dz.U.* Nr 165, poz. 1359.
- Rutkowska B., Hempel A., 1986. Trawniki. PWRiL, Warszawa.
- Rutkowska B., Pawluśkiewicz M., 1996. Trawniki. PWRiL, Warszawa.
- Wolski K., 2002. Możliwości wykorzystania sewru rzutowego i perforacyjnego w zakładaniu sportowych nawierzchni trawiastych. *Przegląd Naukowy Inżynieria i Kształtowanie Środowiska*, Rocznik XI, Zeszyt 1 (24): 79–82.
- Wysocki C., 1994. Studia nad funkcjonowaniem trawników na obszarach zurbanizowanych (na przykładzie Warszawy). Rozprawa habilitacyjna. Wydaw. SGGW.

## TOTAL CONTENT OF ZINC, COPPER AND LEAD IN THE UPPER SOIL HORIZONS OF MUNICIPAL PARK LAWNS IN WROCLAW

### Summary

The concentrations of Zn, Cu, Pb in the 0–5 cm and 5–15 cm layers of municipal park lawn soils were examined in three different districts of Wrocław: Śródmieście (central part of the town – Szczytnicki Park), Krzyki (south part of the town – Południowy Park) and Fabryczna (western, industrial part of the town – Zachodni Park). There were wide ranges in the concentrations of metals: Cu from 14,0–204 mg·kg<sup>-1</sup>, Zn from 39,8–433 mg·kg<sup>-1</sup> and Pb 4,24–931 mg·kg<sup>-1</sup>.

Soil samples from the 0–5 cm layer were not found to contain significantly higher concentrations of metals than those taken from the 5–15 cm layer. This may be explained by the impact of human activity on the soil, the mixing of various materials with soil layers and the destruction of the natural pattern of the soil horizons.

KEY WORDS: zinc, copper, lead, lawn soils, urban soils

**Bernard Gałka, Anna Karczewska, Karolina Popielas,  
Mateusz Dzięcielski, Mateusz Cuske**

**SUITABILITY OF SELECTED EXTRACTING AGENTS  
FOR ASSESSING THE UPTAKE OF ZN AND CU BY LETTUCE  
(*LACTUCA SATIVA*) FROM POLLUTED SOILS**

**PRZYDATNOŚĆ WYBRANYCH ROZTWORÓW  
EKSTRAKCYJNYCH DO OCENY POBRANIA  
CYNKU I MIEDZI PRZEZ SAŁATĘ (*LACTUCA SATIVA*)  
Z GLEB ZANIECZYSZCZONYCH**

*Institute of Soil Science and Environmental Protection, Wrocław University  
of Environmental and Life Sciences*

*Instytut Nauk o Glebie i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu*

This study examined the suitability of two solutions: 0.01 M CaCl<sub>2</sub> and 1 M NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> for assessing the uptake of Cu and Zn by lettuce, based on a pot experiment carried out on samples of highly contaminated soils collected from various sites in Lower Silesia. Different organic substances were added to the soils in order to modify the solubility of the elements under analysis. The results of extracting Cu and Zn with 0.01 M CaCl<sub>2</sub> did not show any strong correlation with the concentrations of elements in the aboveground parts of lettuce, neither for the data results taken in total nor for each of the individual soil samples to which organic substances were added. Extracting Cu with 1 M NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> from Cu-contaminated soils led to significantly higher results than those obtained by extracting Cu with 0.01 M CaCl<sub>2</sub>, however, it was concluded that this solution is not appropriate for the use of evaluating the phytoavailability of either Cu or Zn in lettuce.

KEY WORDS: soils, extraction, phytoavailability, calcium chloride, ammonium nitrate, lettuce

---

Work supported by the Ministry of Science and Higher Education within the scope of research project N N305 395538.

---

For citation – Do cytowania: Gałka B., Karczewska A., Popielas K., Dzięcielski M., Cuske M., 2012. Suitability of selected extracting agents for assessing the uptake of Zn and Cu by lettuce (*Lactuca sativa*) from polluted soils. Zesz. Nauk. UP Wroc., Rol. CIII, 589: 59–70.

## INTRODUCTION

For many years research has been conducted on trying to find appropriate extraction reagents and test conditions for extracting trace elements from the soil, and using the results to provide information on the availability of these elements for plants.

Current research shows that there is no universal extraction solution which can be used to evaluate the phytoavailability of elements for different species of plants. The reason for this is, among other things, the fact that the uptake of metals by plants is determined not only by the metal content and forms in the soil, but also by various physiological factors (Ross 1994, Kabata-Pendias, Pendias 1999). Despite this, neutral salt solutions are commonly used to determine the content of available micronutrients in soils, especially polluted ones (Karczewska 2002). Many authors have emphasized the advantages of extraction with a 0.01 M  $\text{CaCl}_2$  solution as a good test of the phytoavailability of elements. This method, proposed as universal for macro- and micronutrients (Sauerbeck, Styperek 1985, Novozamsky et al. 1993, Houba et al. 2000), has been accepted by ISO. However, it should be noted that there is not always a direct relationship between the results of the extraction and the uptake of metals by plants (McLaughlin et al. 2000). One study reported the discrepancies connected with the presence of Ca in the analyzed solution (Zeien, Brümmer 1989). Another, quite commonly recommended reagent for the extraction of phytoavailable forms of trace elements, is a solution of 1 M  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ . According to many authors, this solution can be used both for contaminated and uncontaminated soils (Alloway, Morgan 1986, Davies 1992, Prüß 1997), and therefore, is the standard extracting agent in Germany. In Poland, however, the only commonly applied test is the one that extracts potentially available trace elements, which uses the Rinkis reagent, i.e. 1 M solution of HCl (Gembarzewski et al. 1987), even though the limitations have been pointed out repeatedly of using this extracting agent in contaminated soil analytics.

The purpose of this study was to compare the suitability of 0,01 M  $\text{CaCl}_2$  and 1 M  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  to assess the phytoavailability of Cu and Zn for plants, based on the uptake of these elements by lettuce, in a pot experiment carried out on a range of samples of heavily contaminated soils taken from various sites in Lower Silesia which had been treated with a variety of organic substances that modified the phytoavailability of elements.

## MATERIALS AND METHODS

The experiment was conducted in 2011 with soil from areas impacted by the copper industry, that is, the regions of Głogów (1), Legnica (2, 3, 4), the area surrounding Żelazny Most (5); and soil enriched with various elements from the former districts of arsenic and polymetallic ore processing industries in Złoty Stok (6–8), Radzimowice (9), and the Kaczawskie Mountains (Karczewska, Kabała 2010). The basic properties of the soils used in the experiment were assayed by the methods commonly used in Polish soil science and are shown in Table 1.

The soil material was treated with a variety of organic substances, which were presumed to modify the solubility of metal elements. The organic matter was sewage sludge of varying degrees of stabilization (4 types), forest debris from different habitats (3 types),



two composts with varying degrees of maturity produced from urban waste, granular bovine manure (Tab. 2), and synthetic citric acid. The most important properties of the organic matter were assayed: hydration, pH (in distilled water), the total organic carbon content (from an automatic CS-MAT Analyzer) and the content of water soluble organic carbon (RWO) after filtering the extracts through a 0.45  $\mu\text{m}$  membrane. The additives were put into the soil at a dose equivalent to 20 g d.wt. $\cdot\text{kg}^{-1}$ . Standard doses of macro- and micronutrients were also used, except Cu and Zn.

The research was set up as a mini-pot experiment, with vases containing 1 kg soil and with the May Queen variety of lettuce as the test plant. The subsequent phytoavailability of copper and zinc in the soils was determined after the pot experiment using the extraction solution 0.01 M  $\text{CaCl}_2$  (1:20, m:v). In selected variants of soils that had a high content of Cu, the 1 M solution of  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  (1:25, m:v) was used as the extract agent. The tests were performed in three repetitions. The concentration of Cu and Zn in the aboveground parts of the plants were determined after mineralization of the samples of plant material with the "wet" – open system with a reflux cooler in concentrated perchloric acid. The measurement of Cu and Zn in an aqueous solution was done by FAAS.

Our statistical analysis included a study of the correlation between the content of the two elements in the dry matter of the aboveground parts of the plants and the concentration of the element forms in soils extracted with  $\text{CaCl}_2$  and  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  solutions. The correlations were analyzed for individual soil samples, as well as for the data taken in total for all the samples in the pot experiment.

## RESULTS AND DISCUSSION

The soils examined had a wide range of textures: from sand that did not contain clay fraction (soil 5) to silt loams and sandy loams, with a maximum clay fraction content of 9% (soil 4) (Tab. 1). Other characteristics of the soils were also varied: the pH ranged from 4.5 to 7.3, and the organic carbon content from 7.5 to 41.2  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ . The content of trace elements of Cu and Zn in soils also represented a wide range: Cu from 30.1 to 1432  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  and Zn from 16.9 to 332  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  (Tab. 1). In addition, some organic substances added to the soils (sludge and composts) contained significant amounts of Cu and Zn, up to 704  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  s.m. (OS1) and 3050  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  d.wt. (OS2) (Tab. 2).

Table 1  
Tabela 1Basic properties of soils used for the experiment  
Podstawowe właściwości gleb wykorzystanych do doświadczeń

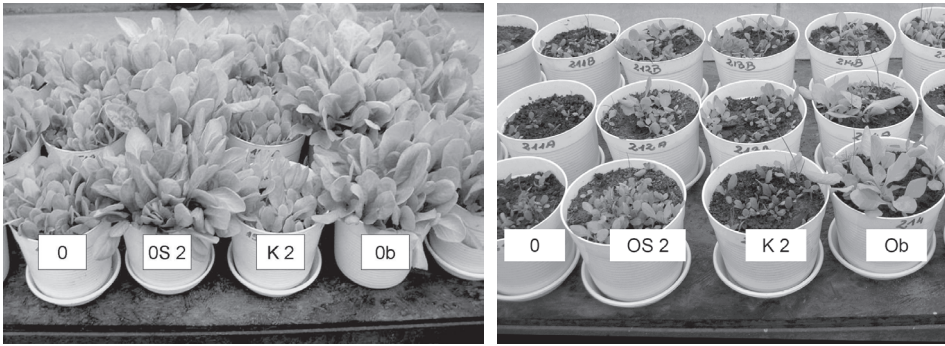
Soil No Gleba Nr	Sampling site Miejsce pobrania	Textural group* Grupa granulometryczna	Percent of fraction <0.002 mm Udział % frakcji	pH (1 M KCl)	Corg (g·kg <sup>-1</sup> )	Total content Całkowita zawartość	
						Cu	Zn
						(mg·kg <sup>-1</sup> )	
1	Głogów – vicinity of smelter (forest) Głogów – rejon huty (teren zalesiony)	pg	4	5.4	7.5	1432	53.6
2	Legnica – vicinity of smelter (forest) Legnica – rejon huty (teren zalesiony)	pyg	7	5.3	11.9	1239	248
3	Legnica – vicinity of smelter (forest) Legnica – rejon huty (teren zalesiony)	pyg	7	4.5	18.8	1004	116
4	Legnica – vicinity of smelter (arable land) Legnica – rejon huty (pole orne)	pyg	9	5.9	22.6	470	127
5	Żelazny Most – forest Żelazny Most – teren zalesiony	pl	0	6.3	7.7	47.9	16.9
6	Złoty Stok – Trująca valley – fallow land Złoty Stok – dolina Trującej – nieużytek	gp	5	7.3	16.0	44.1	126
7	Złoty Stok – Trująca valley – meadow Złoty Stok – dolina Trującej – łąka	gp	6	7.2	27.6	30.1	132
8	Złoty Stok – Złoty Potok valley – forest Złoty Stok – dolina Złotego Potoku – las	gp	3	4.7	41.2	93.8	239
9	Radzimowice – fallowed arable land Radzimowice – pole orne odłogowane	gp	3	5.5	36.2	72.0	332

Textural groups according to PTG (2009). Symbols correspond to the following USDA groups: pg – LS (loamy sand), pyg – SiL (silt loam), pl – S (sand), gp – SL (sandy loam)  
Grupy granulometryczne wg PTG (2009)

Table 2  
Tabela 2Basic properties of organic materials  
Podstawowe właściwości dodatków organicznych

Organic material Materiał organiczny	Symbol	C org	RWO DOC	pH (H <sub>2</sub> O)	Total concentrations Całkowite zawartości	
					Cu	Zn
		(g·kg <sup>-1</sup> d.m.) (g·kg <sup>-1</sup> s.m.)	(mg·kg <sup>-1</sup> d.m.) (mg·kg <sup>-1</sup> s.m.)		(mg·kg <sup>-1</sup> d.m.) (mg·kg <sup>-1</sup> s.m.)	
Osady ściekowe surowe – Środa Śląska Raw sewage sludge – Środa Śląska	OS1	261	3.2	7.5	704	2057
Osady ściekowe stabiliz. – Środa Śląska Stabilized sewage sludge – Środa Śląska	OS2	207	1.1	7.0	220	3050
Osady ściekowe surowe – Wrocław Raw sewage sludge – Wrocław	OS3	226	4.5	7.0	689	1580
Osady ściekowe stabiliz. – Wrocław Stabilized sewage sludge – Wrocław	OS4	188	18.1	11.3	294	760
Kompost po bioreaktorze Compost produced in bioreactor	K1	199	1.6	6.3	78	710
Kompost dojrzały Mature compost	K2	168	1.0	7.2	48	714
Ściółka iglasta (sosnowa) Forest debris from pine	Sc1	300	3.0	3.6	4.3	40
Ściółka liściasta – łęg (olsza) Forest debris from adler	Sc2	490	3.0	5.5	11.1	68
Ściółka liściasta – grąd (buk) Forest debris from beech	Sc3	383	9.5	4.8	17.8	71
Obornik Manure	Ob	315	1.5	6.2	117	414

Plant growth in soils 1 and 2, which contained very high concentrations of Cu, was severely inhibited. Plants exhibited strong chlorosis and deformities, and died after a short period of time. This was probably the result of high copper toxicity. A similar effect was observed for lettuce growing in soils 6 and 7, which probably stemmed from the phytotoxicity of arsenic that was present in these soils in extremely high concentrations (6500 and 1770 mg·kg<sup>-1</sup>). The Photo 1 shows examples of the differences in plant growth in soils 4 and 7 with several added substances. The variants of the experiment where the biomass of the aboveground parts of the plants was lower than 0.1 g·vase<sup>-1</sup> are not presented in the analysis of the results, as in these cases it was not possible to attain the desired level of precision.



Phot. 1. Example of different growth of lettuce in the experiment – soils: 4 (left) and 7 (right) with various additives

Fot. 1. Przykład zróżnicowania wzrostu sałaty w doświadczeniu – gleby: 4 (po lewej) i 7 (po prawej) z różnymi dodatkami

Figure 1a shows the graphs illustrating the dependence of the results of extracting Cu and Zn from the soils with the solution of 0.01 M  $\text{CaCl}_2$  and the content of these elements in the aboveground parts of lettuce for all the samples analyzed. The vast majority of the test extraction results were in the low-value range – below  $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  Cu and Zn. The results corresponded with the highly varied concentrations of Cu and Zn in the aboveground parts of the lettuce, often exceeding  $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ . The distribution of the data presented with plots (Fig. 1) is far from normal. Therefore, the calculated values of the coefficients of correlation,  $R = 0.210$  for Cu and  $R = 0.327$  for Zn (Tab. 3), should be regarded as merely vague. The results of the study indicate, however, that in the case of both Cu and Zn at the highest concentrations of the elements in a form subject to extraction, there were only relatively small quantities taken up by lettuce. Some authors (McLaughlin et al. 2000, Gupta, Sinha 2007, Rao et al. 2008) have stated that the usefulness of the 0.01 M  $\text{CaCl}_2$  solution as an indicator of the phytoavailability of micronutrients may be limited to soils with similar characteristics and similar sources of analyzed constituents. Therefore, in the final analysis the correlations were tested only for soils 1–4, polluted by copper smelter emissions, and in order to obtain a distribution close to normal, the correlations are shown in the graphs in the logarithmic scale (Fig. 1b). For this set of results a significant positive correlation ( $R = 0.425$ ) was found between the results of extracting with the 0.01 M  $\text{CaCl}_2$  solution and the content of Zn in lettuce. No correlation was found for Cu (Tab. 3).

Analysis of the results performed separately for each of the soils also does not confirm the existence of a strong positive correlation between the results of extracting Cu and Zn and the uptake of these elements by lettuce (Tab. 3). Positive correlation coefficients, with a significance level of 95%, were obtained only for the results of extracting with the 0.01 M  $\text{CaCl}_2$  solution: for Zn and soil 1, and Cu for soil 8. These correlations, however, could be incidental in nature, in part stemming from the low differentiation and generally low values of the extraction results. The declining dependence found for Cu for soil 1 ( $R = -0.564$ ) is also probably random in nature.

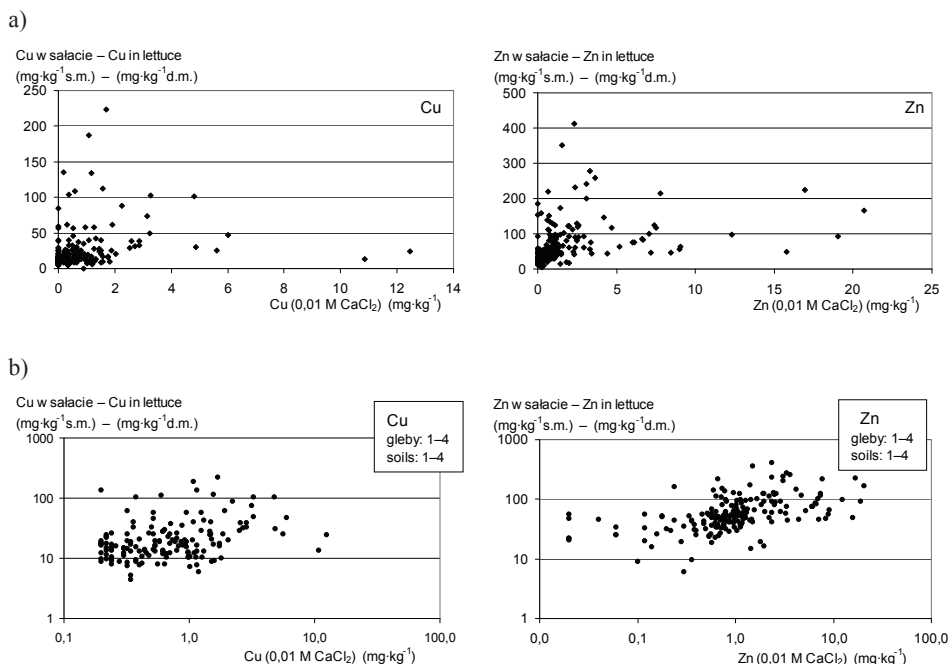


Fig. 1. Dependence between the results of extracting Cu and Zn from soils with 0.01 M CaCl<sub>2</sub> and the concentrations of these elements in lettuce: a) for all the samples examined; b) for soils 1–4

Rys. 1. Zależność wyników ekstrakcji Cu i Zn z gleb roztworem 0,01 M CaCl<sub>2</sub> i zawartości tych pierwiastków w częściach nadziemnych sałaty: a) dla wszystkich analizowanych próbek, b) dla gleb 1–4

Table 3  
Tabela 3

Pearson correlation coefficients between the concentrations of extractable Cu and Zn in soils and the concentrations of these elements in the aboveground parts of lettuce  
Współczynniki korelacji Pearsona między zawartością w glebie form Cu i Zn podanych na ekstrakcję a zawartością tych pierwiastków w nadziemnych częściach sałaty

Soil Gleba	N	Correlation coefficients – for extraction with the solution Współczynnik korelacji dla ekstrakcji roztworem			
		0,01 M CaCl <sub>2</sub>		1 M NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	
		Cu	Zn	Cu	Zn
1	2	3	4	5	6
All Wszystkie	226	(0.210)	(0.327 *)	n.d.	n.d.
1–4	86	0.074	0.425 *	(0.835 *)	(0.320)
1	11	-0.564 *	0.601 *		
2	13	-0.262	0.040	n.d.	n.d.
3	10	-0.525	0.236		
4	52	-0.046	-0.121	-0.263	0.318
5	61	0.109	0.126		
6	3	n.d.	(-0.081)		

Table 3 cont.  
Tabela 3 c.d.

1	2	3	4	5	6
7	8	-0.237	0.237	n.d.	n.d.
8	8	0.778 *	-0.057		
9	61	-0.032	0.368		

n.d. – not determined – nie oznaczono

Correlations significant at  $P = 0.05$  – Korelacje istotne na poziomie  $P = 0,05$

The coefficients in brackets are given for comparative assessment – see the commentary in the text  
Współczynniki w nawiasie mają charakter orientacyjny – komentarz w tekście

A graphical illustration of the correlation between the uptake of Cu and Zn by lettuce and the results of soil extraction (soil 4) is shown in Fig. 2. The content level of Cu and Zn in lettuce grown in the soil to which different substances were added resulted a wide range of values: 6.0–58.0  $\text{mg kg}^{-1}$  and 29–139  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  d.wt., respectively, while the results of extracting these elements with the 0.01 M  $\text{CaCl}_2$  solution were low, less than 2  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ . The results obtained for soil 4, as well as for the data analyzed in total, do not confirm that there is an inherent relationship between the concentration in the soil of the trace elements in a form that are susceptible to 0.01 M  $\text{CaCl}_2$  extraction and the uptake of the elements by the test lettuce plants. At the same time, many authors of similar research studies have reported that this extract agent is good and useful for evaluating the phyto-availability of Zn for different plant species including lettuce (Athens, Gupta, 1996, Pueyo et al. 2004, Meers et al. 2007). In turn, the published reports on Cu have been unable to validate the usefulness of the solution for analysis (McBride et al. 2003).

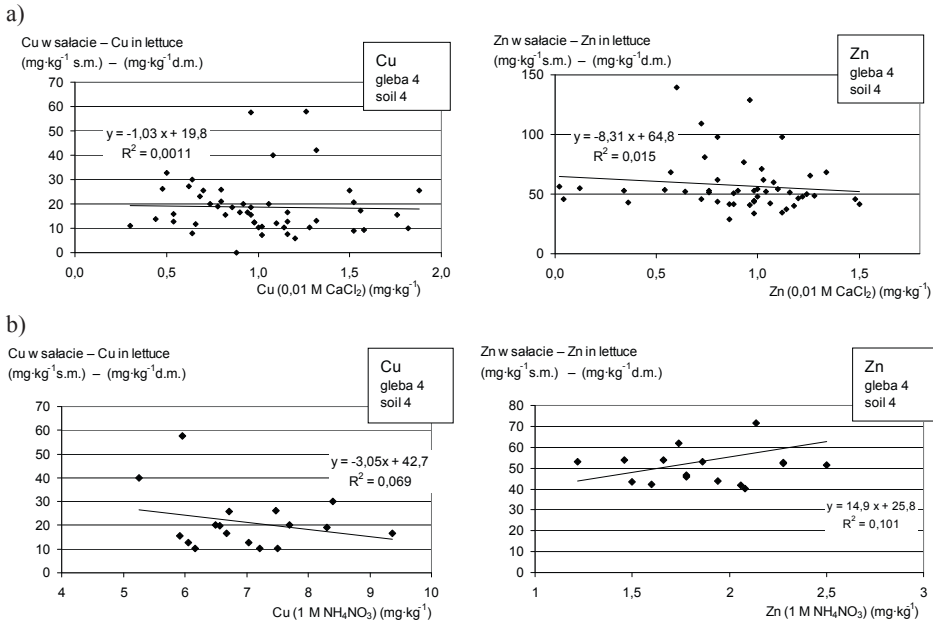


Fig. 2. Dependence between the results of extracting Cu and Zn from soil 4 with a) 0.01 M  $\text{CaCl}_2$  and b) 1 M  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  and the concentrations of these elements in the aboveground parts of lettuce  
Rys. 2. Zależność wyników ekstrakcji Cu i Zn z gleby nr 4 roztworami: a) 0,01 M  $\text{CaCl}_2$  i b) 1 M  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  oraz zawartości tych pierwiastków w częściach nadziemnych sałaty

Based on the results obtained for some of the samples, the suitability of the 1 M  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  solution to evaluate the availability of Cu and Zn should also be critically regarded. Although extracting Cu with this solution gave better results compared to 0.01 M  $\text{CaCl}_2$ , the existence of a core relationship between the amount of extractable copper and zinc from the soil and the content (concentration) in the biomass from the aboveground parts of lettuce could not be found. The positive values of the coefficients of correlation obtained in the combined analysis of samples from soils 1–4 (Tab. 3) could at first indicate that there is a relation between the results of extraction and the uptake of elements by plants, especially in the case of Cu ( $R = 0.835$ ). However, a more thorough analysis of these results indicates that they reflect only the differentiation in the total content of Cu in individual soils (Fig. 3), and that the extraction results for individual soils do not show a correlation with the uptake of Cu by lettuce. The lack of a correlation (for example, soil 4), is evident in Fig. 2b. Gryschnko et al. (2005) studied the usefulness of the 1 M  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  solution to evaluate the phytoavailability of Cd, Zn, Ni, Pb and Cu, and found a positive correlation for Cd and Zn, but for Cu they were unable to obtain satisfactory results.

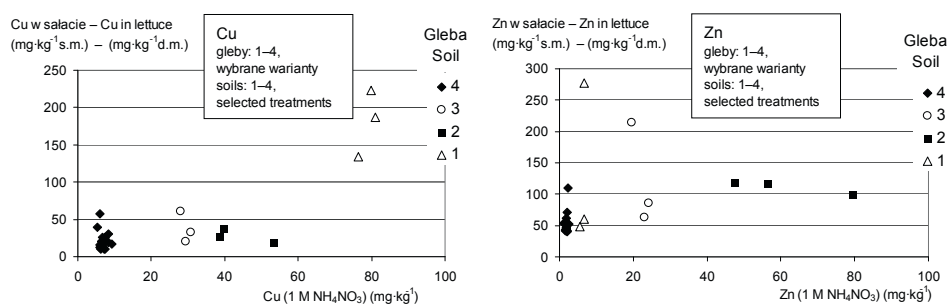


Fig. 3. Dependence between the results of extracting Cu and Zn from soils 1–4 with 1 M  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , and the concentrations of these elements in the aboveground parts of lettuce (for selected treatments)

Rys. 3. Zależność wyników ekstrakcji Cu i Zn z gleb 1–4 roztworem 1 M  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  oraz zawartości tych pierwiastków w częściach nadziemnych sałaty (dla wybranych wariantów doświadczenia)

## CONCLUSIONS

1. The results of the pot experiment on the extraction of copper and zinc with the 0.01 M  $\text{CaCl}_2$  solution in the soils tested did not show a significant correlation with concentrations of these elements in the aboveground parts of lettuce. No correlations were found either for the set of data obtained for all the soils tested or for specific soils to which organic substances were added.

2. The quantity of copper extracted with the 1 M  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  solution from soils contaminated with this element were significantly higher than the amounts extracted with the 0.01 M  $\text{CaCl}_2$  solution, but also showed no significant correlation with the concentration of Cu in the aboveground biomass of lettuce.

3. The content in the soil of the forms of Cu and Zn that are susceptible to extraction with neutral salt solutions is only one of many factors that determine the uptake of these

elements by plants from contaminated soils. In light of the results obtained, it can be concluded that there are other more decisive factors that impact the concentrations of Cu and Zn in plant biomass.

## REFERENCES

- Alloway B.J., Morgan H., 1986. The behaviour and availability of Cd, Ni and Pb in polluted soils [in:] Assink J.W., van den Brink W.J. (eds.): Contaminated Soils. Dordrecht: 101–113.
- Aten C.F., Gupta S.K., 1996. On heavy metals in soil; rationalization of extractions by dilute salt solutions, comparison of the extracted concentrations with uptake by ryegrass and lettuce, and the possible influence of pyrophosphate on plant uptake. *Sci. Total Environ.*, 178: 45–53.
- Davies B.E., 1992. Inter-relationships between soil properties and the uptake of cadmium, copper, lead and zinc from contaminated soils by radish (*Raphanus sativus* L.). *Water Air Soil Poll.*, 63: 331–342.
- Gembarzewski H., Kamińska W., Korzeniowska J., 1987. Zastosowanie 1 M roztworu HCl jako wspólnego ekstrahenta do oceny zasobności gleby w przyswajalne formy mikroelementów. *Prace Kom. Nauk. PTG, Warszawa*: 1–9.
- Gryschko R., Kuhnle R., Tertytze K., Breuer J., Stahr K., 2005. Soil extraction of readily soluble heavy metals and As with 1M  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  – solution evaluation of DIN 19730. *J. Soils Sediments*, 5: 101–106.
- Gupta A.K., Sinha S., 2007. Assessment of single extraction methods for the prediction of bioavailability of metals to *Brassica juncea* L. Czern. (var. Vaibhav) grown on tannery waste contaminated soil, *J. Hazard. Mat.*, 149: 144–150.
- Houba V.J.G., Temminghoff E.J.M., Gaikhorst G.A., Van Vark W., 2000. Soil analysis procedures using 0.01 M calcium chloride as extraction reagent, *Comm. Soil Sci. Plant Anal.*, 31: 1299–1396.
- Kabata-Pendias A., Pendias H., 1999. *Biogeochemia pierwiastków śladowych*. PWN, Warszawa.
- Karczewska A., 2002. Metale ciężkie w glebach zanieczyszczonych emisjami hut miedzi – formy i rozpuszczalność. *Zesz. Nauk. AR we Wrocławiu. CLXXXIV*, 432, Wrocław.
- Karczewska A., Kabała C., 2010. Gleby zanieczyszczone metalami ciężkimi i arsenem na Dolnym Śląsku – potrzeby i metody rekultywacji. *Zesz. Nauk. UP we Wrocławiu, Rolnictwo*, 96: 59–80.
- McBride M.B., Nibarger E.A., Richards B.K., Steenhuis T., 2003. Trace metal accumulation by red clover grown on sewage sludge-amended soils and correlation to Mehlich 3 and calcium chloride-extractable metals. *Soil Sci.*, 168 (1): 29–38.
- McLaughlin M.J., Zarcinas B.A., Stevens D.P., Cook N., 2000. Soil testing for heavy metals. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.*, 31: 1661–1700.
- Meers E., Samson R., Tack F.M.G., Ruttens A., Vandegheuchte M., Vangronsveld J., Verloo M.G., 2007. Phytoavailability assessment of heavy metals in soils by single extractions and accumulation by *Phaseolus vulgaris*. *Environ. Exp. Bot.*, 60: 385–396.
- Novozamsky I., Lexmond Th.M., Houba V.J.G., 1993. A single extraction procedure of soil for evaluation of uptake of some heavy metals by plants. *Intern J. Environ. Anal. Chem.*, 51: 47–58.
- Prüß A., 1997. Action values for mobile ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ -extractable) trace elements in soils based on the German national standard DIN 19730 [in:] Prost R. (ed.), Contaminated Soils. 3rd Internatio-



- nal Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements, Institut National de la Recherche Agronomique, Paris: 415–423.
- Pueyo M., Lopez-Sanchez J.F., Rauret G., 2004. Assessment of  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{NaNO}_3$  and  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  extraction procedures for the study of Cd, Cu, Pb and Zn extractability in contaminated soils. *Anal. Chim. Acta*, 504: 217–226.
- Rao C.R.M., Sahuquillo A., Lopez Sanchez J.F., 2008. A review of the different methods applied in environmental geochemistry for single and sequential extraction of trace elements in soils and related materials. *Water Air Soil Poll.*, 189: 1–4, 291–333.
- Ross S.M. (ed.), 1994. Toxic metals in soil-plant system. John Wiley and Sons Ltd., London 1994: 63–152.
- Sauerbeck D.R., Styperek P., 1985. Evaluation of chemical methods for assessing the cadmium and zinc availability from different soils and sources [in:] Leschber R., Davis R.D., L'Hermite P. (eds.) *Chemical methods for assessing bioavailable metals in sludges and soils*. Elsevier, Amsterdam: 49–67.
- Zeien H., Brümmer G.W., 1989. Chemische Extraktionen zur Bestimmung von Schwermetallbindungsformen in Böden. *Mitt. Dtsch. Bodenkundl. Gesellsch.*, 59 / I: 505–510.

**PRZYDATNOŚĆ WYBRANYCH ROZTWORÓW  
EKSTRAKCYJNYCH DO OCENY POBRANIA  
CYNKU I MIEDZI PRZEZ SAŁATĘ (*LACTUCA SATIVA*)  
Z GLEB ZANIECZYSZCZONYCH**

**Streszczenie**

W niniejszej pracy badano przydatności roztworów 0,01 M  $\text{CaCl}_2$  oraz 1 M  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  do oceny fitoprzyswajalności Cu i Zn – opierając się na pobraniu tych pierwiastków przez sałatę siewną w doświadczeniu wazonowym realizowanym na zróżnicowanych, silnie zanieczyszczonych glebach, pochodzących z różnych obiektów Dolnego Śląska. Do gleb tych wprowadzono różne substancje organiczne modyfikujące fitoprzyswajalność analizowanych pierwiastków. Stwierdzono, że wyniki ekstrakcji Cu i Zn roztworem 0,01 M  $\text{CaCl}_2$  nie wykazały istotnej pozytywnej korelacji ze stężeniami tych pierwiastków w nadziemnych częściach sałaty w przypadku badanych gleb ogółem, jak i dla poszczególnych gleb, do których wprowadzono dodatki organiczne. Ilości Cu ekstrahowane roztworem 1 M  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  z gleb zanieczyszczonych tym pierwiastkiem były wyższe od uzyskanych w ekstrakcji roztworem 0,01 M  $\text{CaCl}_2$ . Stwierdzono jednak, że roztwór ten również nie może być stosowany do oceny fitoprzyswajalności Cu i Zn dla sałaty.

**SŁOWA KLUCZOWE:** gleby, ekstrakcja, fitoprzyswajalność, chlorek wapnia, azotan amonowy, sałata



**Leszek Gersztyn, Anna Karczewska, Bernard Gałka**

**THE INFLUENCE OF MUNICIPAL SEWAGE SLUDGE  
ON ZINC SPECIATION IN TAILINGS  
PRODUCED BY THE COPPER INDUSTRY**

**WPŁYW KOMUNALNYCH OSADÓW ŚCIEKOWYCH  
NA SPECJACJĘ CYNKU W OSADACH POFLOTACYJNYCH  
GÓRNICHTWA MIEDZI**

*Institute of Soil Science and Environmental Protection, Wrocław University  
of Environmental and Life Sciences*

*Institut Nauk o Glebie i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu*

The study presents the results of zinc speciation analysis carried out on tailings produced by the copper industry that was amended with sewage sludge. Two kinds of tailings were examined taken from the impoundments Żelazny Most (ZM) and Iwiny III (Iw). The two kinds of sewage sludge used in the experiment had different biochemical stability and properties. A modified BCR method of sequential extraction, proposed by the Community Bureau of Reference, was applied to determine the content of 4 Zn fractions (F1-F4). Residual fraction F4 predominated in the tailings from both sites. The addition of raw sewage sludge caused a statistically significant increase in the total zinc concentrations in the tailings and an increase in the Zn content in fractions F1-F3. The only statistically significant change in Zn speciation caused by the application of stabilized sewage sludge was an increase in the zinc concentration in fraction F1 in the Iw tailings. The results of this study reveal the benefit – from the standpoint of the nutritional needs of plants for zinc – brought about by applying municipal sewage sludge in the process of the reclamation of tailings impoundments.

**KEY WORDS:** tailings, municipal sewage sludge, zinc, speciation, sequential extraction, BCR

---

Praca finansowana ze środków na rozwój młodych naukowców Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu

---

For citation – Do cytowania: Gersztyn L., Karczewska A., Gałka B., 2012. The influence of municipal sewage sludge on zinc speciation in tailings produced by copper industry. Zesz. Nauk. UP Wroc., Rol. CIII, 589: 71–80.

## INTRODUCTION

The extraction and processing of copper ore in the Legnica-Głogów Copper District (LGOM) is associated with serious environmental burdens, particularly the accumulation of mining waste and tailings (Łuszczkiewicz 2000), the emission of pollutants into the atmosphere (Dobrzanski, Byrdziak 1995), soil pollution as a result of metallurgical dust deposits (Karczewska, 2002), and the emission of particulate matter from tailings deposits (Kabała et al. 2008). The development of environmental technologies has led to a significant reduction in atmospheric emissions, but there still remains the unresolved problem of remediating tailings landfills (Piestrzyński et al. 2007). The high content of heavy metals, especially Cu and Pb in tailings, as well as other adverse conditions, make it difficult and sometimes impossible to effectively remediate tailings sites (Spiak, Gediga 2009).

The most important, potentially toxic element in tailings produced by copper mining is copper. Due to the high content of calcium carbonate and the alkaline pH of the tailings, copper remains in insoluble forms (Bogda et al. 2003, Kijewski 1995, Karczewska et al. 2012b). Therefore, more attention should be paid to other trace elements which occur in the mined ore in low quantities and whose deficiencies can affect the development of vegetation to be introduced. This group of elements includes zinc, which is important for the metabolism of organisms (Alloway 2004) but appears in concentrations similar to that in the geochemical composition of copper ore gangue rock (Alloway 1995, Kabata-Pendias, Pendias 1999, Piestrzyński et al. 2007). A lack of available forms of macro and trace elements in tailings may cause a slowdown or an inhibition of the growth of vegetation introduced on the surface of reclaimed landfills.

The reclamation of depleted land and industrial waste areas has usually consisted of applying organic matter from various sources, e.g. peat, composts or sludge (Siuta 2005). Introducing organic matter such as sewage sludge to the surface of a tailings landfill can significantly increase the total content of trace elements in the tailings, which is important for the assimilation of heavy metals such as zinc (Wilk, Gworek 2009). At the same time it can also increase the content of mobile forms of these elements (Karczewska 2012a,b).

The aim of this work was to determine the impact of applying municipal sewage sludge on the overall content and speciation of zinc in tailings produced by copper mining.

## MATERIALS AND METHODS

In a pot experiment completed in 2011, tailings were taken from two landfills Żelazny Most (ZM) and Iwiny III (Iw). To begin with, the basic properties of the tailings were determined: grain size distribution, carbonate content, pH and the total content of Zn. Standard methods of soil science were used (Ostrowska et al. 1991). The grain size distribution of the tailings was assayed using Bouyoucos-Casagrande's aerometric-sieve method as modified by Prószyński. The content of carbonates was determined by the method of Scheibler. The pH of the tailings was determined potentiometrically, in suspension with distilled water (1: 2.5 m:v). The total content of Zn in the tailings was assayed after mineralization of samples with perchloric acid in an open system with a reflux condenser.

The sludge used in the experiment was obtained from the Wrocław Sewage Treatment Plant at Janówek. Two types of sewage sludge were used: raw and unstabilized sludge from a thickener (OS1) and sludge that was subjected to anaerobic digestion and stabilized with lime (OS2). Analyses of the basic properties of the sludge were performed, water content (by weight), pH (potentiometrically), the total organic carbon content (with an automatic Analyzer CS-MAT), and the content of water soluble organic carbon (RWO). In order to measure RWO, water extracts of sewage sludge were made (1:10 m:v, shaken for 2 hours), then centrifuged and filtered through 0.45  $\mu\text{m}$  membranes (Zmora-Nahum et al. 2005). The organic carbon content in the filtrates was assayed with an automatic TOC ThermoCorporation analyzer.

The experiment was carried out using vases with 1 kg of tailings mixed with sewage sludge at a dose of 20 g d.m.·kg<sup>-1</sup> in three replications. The test plants used were the Queen May variety of lettuce and the Nira variety of Italian ryegrass. The scope of the research did not include assessing the characteristics of plant growth or the uptake of nutrients from the soil.

After the end of the 3-month experiment, a representative sample was taken from each vase by combining with several sub-samples collected using soil probes. The resulting material was subjected to sequential zinc fractionation with the modified BCR method (Rauret et al. 1999, Sahuquillo et al. 1999). The BCR method makes it possible to separate the element into the following fractions (Tab. 1): soluble in acidic medium and exchangeable (F1), extracted using 0.11 acetic acid; reducible (F2), which represents mainly zinc bound with hydrated iron and manganese oxides obtained in an extraction solution of 0.5 M NH<sub>2</sub>OH-HCl with pH 1.5; oxidized fraction (F3), associated with organic substances and sulphides, extracted with 8.8M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and 1M CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub>; residual fraction (F4) obtained by digestion in concentrated perchloric acid. The concentration of zinc in the obtained extracts, as well as in an aqueous solution after digestion, was assayed with atomic absorption flame spectrophotometry using a Philips X 100 PU apparatus. Recovery of Zn in sequential extraction was calculated by comparing the total content of Zn in the samples and the sum of the fractions F1-F4.

Table 1  
Tabela 1

Fractions and extracting agents used with the BCR method  
Frakcje wydzielane w metodzie BCR i użyte odczynniki ekstrahujące

No. fraction Nr frakcji	Name of the fraction Nazwa frakcji	Extracting agent Odczynnik ekstrahujący
F1	Exchangable and acid-extractable Wymienna i rozpuszczalna w kwasach	0.11 M CH <sub>3</sub> COOH
F2	Reducible Redukowalna	0.5 M NH <sub>2</sub> OH-HCl
F3	Oxidizable Utlenialna	8.8 M H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 1 M CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub>
F4	Residual Rezydualna	Concentrated HClO <sub>4</sub> (digestion) Stężony HClO <sub>4</sub> (mineralizacja)

The results obtained on the changes in the zinc content in the various fractions after applying sewage sludge were subjected to statistical analysis using the Duncan test.

## RESULTS AND DISCUSSION

### Properties of tailings

Tailings ZW and Iw used in the experiment varied in granulation, content of carbonates, pH, and zinc content (Tab. 2). Tailings from the landfill Żelazny Most (ZM) had a texture of sand and contained 9.5%  $\text{CaCO}_3$ . The material from the Iwiny III landfill (Iw) was much heavier (texture of silt loam) and contained 46% calcium carbonate. The total zinc content in the ZM and Iw tailings were similar, 68 and 50  $\text{mg Zn} \cdot \text{kg}^{-1}$ , respectively.

Table 2  
Tabela 2

Basic properties of tailings  
Podstawowe właściwości osadów poflotacyjnych

Tailing Osad poflotacyjny	ZM	Iw
Textural group – Grupa granulometryczna	Sand Piasek luźny	Silt loam Pył gliniasty
Clay content (%) – Udział procentowy frakcji iłu (<0.002 mm)	2	9
$\text{CaCO}_3$ (%)	9,5	46
pH ( $\text{H}_2\text{O}$ )	7,2	7,3
Total zinc content ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) Całkowita zawartość cynku	68	50

### Properties of sewage sludge

The sewage sludge used, although obtained from a single sewage treatment plant, differed significantly in terms of physical and chemical properties (Tab. 3). Differences in water content and total organic carbon content, as well as great differences in pH, were related to the fact that the sludge was taken at various stages of technological processing at the sewage treatment plant. The percentage of soluble carbon (RWO) in the total organic carbon content was much higher in stabilized sewage sludge (9.6%) than in the raw sludge (2.0%). This difference can be explained by the alkaline pH of lime-stabilized sludge. The zinc content in the OS1 and OS2 sludge was 1576 and 760  $\text{mg kg}^{-1}$ , respectively, and was many times greater than in the tailing waste material.

Table 3  
Tabela 3Basic properties of sewage sludge  
Podstawowe właściwości osadów ściekowych

Sewage sludge – Osad ściekowy		OS1	OS2
pH (H <sub>2</sub> O)		7.0	11.3
Water content (%) – Uwodnienie		95	67
C org. (organic carbon) (g·kg <sup>-1</sup> d.wt) (węgiel organiczny) (g·kg <sup>-1</sup> s.m.)		226	188
Dissolved organic carbon (DOC) Rozpuszczalny węgiel org. (RWO)	(g·kg <sup>-1</sup> d.wt) – (g·kg <sup>-1</sup> s.m.)	4.5	18.1
	% C org.	2.0	9.6
Zinc concentration (mg·kg <sup>-1</sup> d.wt.) Zawartość cynku (mg·kg <sup>-1</sup> s.m.)		1576	760

**Results of zinc speciation analysis**

The total content of Zn in the tailings was similar and did not exceed the geochemical background specified by Kabata-Pendias and Pendias (1999) as 75 mg · kg<sup>-1</sup>.

The recovery of Zn was satisfactory, from 92 to 112% for all sequential extractions analyzed.

Depending on the source and characteristics of the tailings, the distribution of zinc differed in the tailings without an amendment (option 0), as determined by BCR (Figure 1). In both the ZM and Iw tailings the residual fraction F4 was predominant, but the level of the other fractions was different for the two sites. The level of fraction F1 (soluble and exchangeable fraction) was much higher in the ZM tailings (an average of 31% of the total content of Zn) than in the Iw tailings (15%). This could have been due to differences in the textures and levels of calcium carbonate in the tailings. The tailings taken from the Żelazny Most landfill are lighter and more susceptible to Zn leaching and to pH changes caused by the acidification of the samples as a result of the extraction of the F1 fraction (Rauret et al. 1999, Sahuquillo et al. 1999). In turn, differences in the amount of fraction F2 were probably related to the level of iron hydroxides susceptible to reduction. There were also differences in the level of the oxidizable fraction (F3) in the ZM and Iw tailings, which would have been due to the specific properties of the deposited material and not to the differences in the content of organic matter, which in the case of both tailings was very low.

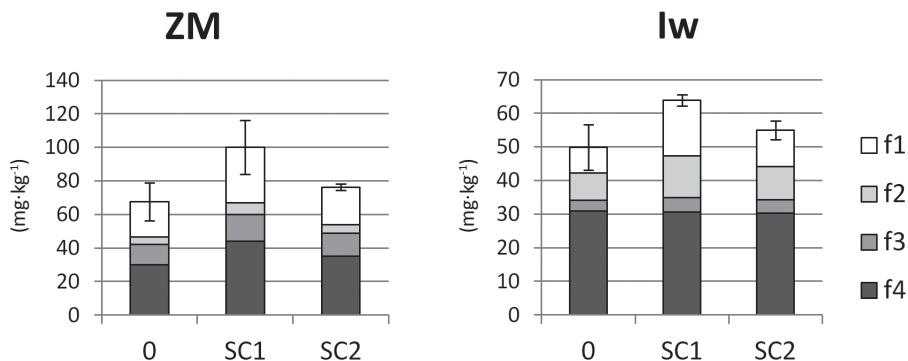


Fig. 1. Zinc speciation in the Żelazny Most (ZM) and Iwiny III (Iw) tailings, without amendments (0), and amended with sewage sludge OS1 and OS2 (error bars indicate the values of standard deviation SD)

Rys. 1. Rozmieszczenie frakcji cynku w osadach poflotacyjnych Żelazny Most (ZM) i Iwiny III (Iw) bez dodatków (0) oraz z dodatkiem osadów ściekowych OS1 i OS2 (słupki błędów oznaczają wartości odchylenia standardowego SD)

Applying sewage sludge, depending on its properties, caused changes in the total content of zinc in the tailings and also in the distribution of the various fractions (Fig. 1). Introducing raw sewage sludge (OS1) to the tailings resulted in statistically significant changes in both the total content of zinc and the zinc content in individual fractions (Tab. 4). Fractions F1, F2 and F3 of both tailings were richer in zinc, while there was no statistically significant change in the Zn content in the residual fraction (F4). When raw sludge OS1, rich in zinc, was added to the tailings deposits there was an increase in the content of Zn, especially in the most mobile fraction (F1). Adding stabilized sewage sludge OS2 to the tailings led to much smaller changes in the total content and speciation of zinc. A statistically significant increase in the content of Zn was noted only in fraction F1 (soluble and exchangeable) in the deposits from Iw.

Some authors have reported that the increase of zinc in the soluble and exchangeable soil fractions is an adverse effect of the agricultural use of sewage sludge rich in this element. The work of Ashworth and Alloway (1998), Singh and Agrawal (2008), Kalem-basa and Malinowska (2010) found an increase in the content of soluble forms of heavy metals after the application of organic waste materials, and this was considered to be a disturbing phenomenon. However, in the case of a low content of zinc in reclaimed land, and a very low content of phytoavailable forms of zinc, an increase in the level of these forms should be seen as a positive effect of applying sewage sludge. The total content of Zn in both ZM and Iw tailings, could be regarded as sufficient to meet the nutrient needs of plants (Kabata-Pendias, Pendias 1999). In view of the alkaline pH of the deposits and the high calcium carbonate content, there is a risk that the forms of Zn available to plants would be insufficient (Kabata-Pendias, Pendias, Alloway 1999, 2004). Therefore, the increased content of Zn in the F1 fraction (potentially useful to plants), which occurred after the application of either type of sewage sludge (OS1 and OS2), should be considered as beneficial to the effectiveness of future landfill remediation.



Table 4  
Tabela 4

Content of zinc in fractions F1-F4 of the tailings, non-amended and amended with sewage sludge ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )

Zawartość cynku we frakcjach F1-F4 osadów po flotacyjnych bez dodatków oraz z dodatkiem osadów ściekowych

Amendment Dodatek	Fractions – Frakcje				
	F1	F2	F3	F4	F1+F2+F3+F4
ZM					
0	20.9 <sup>a</sup>	4.4 <sup>a</sup>	12.3 <sup>a</sup>	30 <sup>a</sup>	67.6 <sup>a</sup>
OS1	33.2 <sup>b</sup>	6.9 <sup>b</sup>	15.9 <sup>b</sup>	44 <sup>a</sup>	101.1 <sup>b</sup>
OS2	22.5 <sup>a</sup>	5.1 <sup>a</sup>	13.7 <sup>ab</sup>	35 <sup>a</sup>	76.3 <sup>a</sup>
Iw					
0	7.7 <sup>a</sup>	8.1 <sup>a</sup>	3.1 <sup>a</sup>	31 <sup>a</sup>	49.9 <sup>a</sup>
OS1	16.6 <sup>c</sup>	12.4 <sup>b</sup>	4.3 <sup>b</sup>	31 <sup>a</sup>	63.9 <sup>b</sup>
OS2	10.9 <sup>b</sup>	9.8 <sup>a</sup>	3.9 <sup>ab</sup>	30 <sup>a</sup>	54.9 <sup>a</sup>

Explanation: <sup>a,b,c</sup> – homogenous groups according to the Duncan's test  $\alpha < 0.05$

Objaśnienie: <sup>a,b,c</sup> – grupy jednorodnie wyznaczone testem Duncana  $\alpha < 0,05$

It should be added that the results obtained from the conducted experiment are inconclusive on the impact of soluble organic compounds (RWO) on possible changes in the speciation of Zn originally present in tailings. These changes are primarily associated with the high content of zinc in the sludge. It is, therefore, not possible to determine whether and how the application of sewage sludge containing different amounts of soluble organic matter can affect the redistribution of Zn between the examined fractions F1-F4.

## CONCLUSIONS

1. The fractional distribution of zinc in tailings produced by copper mining depends on the characteristics of the deposits, and the predominant fraction is the residual F4 fraction.

2. Applying raw sewage sludge OS1, which is rich in zinc, caused a statistically significant increase in the total zinc content in tailings from both sites, while the stabilized sewage sludge OS2 had a statistically insignificant increase in the content of Zn in the tailings.

3. Adding raw sewage sludge OS1 caused a significant increase in the zinc content in fractions F1, F2 and F3 in the tailings from both sites, and applying stabilized sewage sludge OS2 caused only a significant increase in the zinc content in the F1 fraction of Iw tailings.

4. The increase in the Zn content in fraction F1, soluble and removable, after applying either sewage sediment, should be regarded as a benefit to the process of reclamation due to the improved availability of zinc for plants.

5. Further studies are needed on the dynamics of changes in speciation and phytoavailability of zinc in tailings after applying organic substances.

## REFERENCES

- Alloway B.J., 1995. Heavy metals in soils, 2nd ed.: Blackie Ac.& Prof. London, UK.
- Alloway B.J., 2004. Zinc in soils and crop nutrition. International Zinc Association. Brussels, Belgium.
- Ashworth D.J., Alloway B.J., 2004. Soil mobility of sewage sludge-derived dissolved organic matter, copper, nickel and zinc. *Environ. Poll.*, 127 (1): 137–144.
- Bogda A., Szopka K., Karczevska A., 2003. Zawartość i rozpuszczalność wybranych metali ciężkich w osadach poflotacyjnych górnictwa miedzi [w:] Gworek B., Misiak J. (red.): Obieg pierwiastków w przyrodzie: bioakumulacja, toksyczność, przeciwdziałanie. T. II. Wyd. IOŚ, Warszawa: 238–241.
- Dobrzański J., Byrdziak H., 1995. Wpływ polskiego przemysłu miedzianego na środowisko naturalne. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 418: 383–389.
- Kabała C., Medyńska A., Chodak T., Jezierski P., Gałka B., 2008. Zmiany zawartości miedzi i arsenu w glebach wokół składowiska odpadów po flotacji rud miedzi w 12-letnim cyklu badań monitoringowych. *Roczn. Gleb.*, 58 (3–4): 81–88.
- Kabata-Pendias A., Pendias H., 1999. Biogeochemia pierwiastków śladowych. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa.
- Kalembasa D., Malinowska E., 2010. Działanie osadu ściekowego na zawartość metali ciężkich w biomacie trawy *Miscanthus sacchariflorus* oraz w glebie. *Ochr. Środ. Zas. Nat.*, 42: 198–203.
- Karczevska A., 2002. Metale ciężkie w glebach zanieczyszczonych emisjami hut miedzi – formy i rozpuszczalność. *Zesz. Nauk. AR Wrocł. Nr 432, Rozprawy 184.*
- Karczevska A., Gersztyn L., Gałka B., 2012a. Wpływ dodatku osadów ściekowych o różnych właściwościach na udział rozpuszczalnych form miedzi w glebach zanieczyszczonych. *Ochr. Środ. Zas. Nat.* 51: 53–61.
- Karczevska A., Gersztyn L., Gałka B., 2012b. Wpływ różnie ustabilizowanych osadów ściekowych na rozpuszczalność Cu, Pb i As w osadach poflotacyjnych przemysłu miedzianego i arsenowego. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 566: 103–113.
- Kijewski P., 1995. Występowanie metali ciężkich na obszarze Środkowego Nadodrza w strefie oddziaływania przemysłu miedzianego. *Fizykochem. Probl. Mineral.*, 29: 47–54.
- Łuszczkiewicz A., 2000. Koncepcje wykorzystania odpadów flotacyjnych z przeróbki rud miedzi w regionie Legnicko-Głogowskim. *Inż. Miner.*, 1: 25–35.
- Ostrowska A., Gawliński Z., Szczubiałka Z., 1991. Metody analizy i oceny właściwości gleb i roślin. IOŚ Warszawa.
- Piestrzyński A., Banaszak A., Zaleska-Kuczmierczyk M. (red.), 2007. Monografia KGHM S.A. Wydanie 2, zmienione. Wyd. CBPM Cuprum, Wrocław–Lubin.
- Rauret G., López-Sánchez J.F., Sahuquillo A., Rubio R., Davidson C.M., Ure A.M., Quevauviller Ph., 1999. Improvement of the BCR three step sequential extraction procedure prior to the certification of new sediment and soil reference materials. *J. Environ. Monit.*, 1: 57–61.
- Sahuquillo A., López-Sánchez J.F., Rubio R., Rauret G., Thomas R.P., Davidson C.M., Ure A.M., 1999. Use of a certified reference material for extractable trace metals to assess sources of uncertainty in the BCR three-stage sequential extraction procedure. *Anal. Chim. Acta*, 382: 317–327.
- Singh R.P., Agrawal M., 2008. Potential benefits and risks of land application of sewage sludge. *Waste Manag.*, 28(2): 347–358.

- Siuta J., 2005. Rekultywacyjna efektywność osadów ściekowych na składowiskach odpadów przemysłowych. *Acta Agrophys.*, 5(2): 417–425.
- Spiak Z., Gediga K., 2009. Usefulness of selected mineral wastes for reclamation of copper industry dumping site. *Environ. Prot. Eng.*, 35 (1): 79–88.
- Wilk M., Gworek B., 2009. Metale ciężkie w osadach ściekowych. *Ochr. Środ. Zas. Nat.*, 39: 40–59.
- Zmora-Nahum S., Markovitch O., Tarchitzky J., Chen Y., 2005. Dissolved organic carbon (DOC) as a parameter of compost maturity. *Soil Biol. Biochem.* 37: 2109–2116.

## **WPLYW KOMUNALNYCH OSADÓW ŚCIEKOWYCH NA SPECJACJĘ CYNKU W OSADACH POFLOTACYJNYCH GÓRNICTWA MIEDZI**

### **Streszczenie**

W pracy przedstawiono wyniki badań specjacji cynku w osadach poflotacyjnych górnictwa miedzi z dodatkiem osadów ściekowych. Badane osady poflotacyjne pochodziły z dwóch składowisk Żelazny Most (ZM) i Iwiny III (Iw). Dwa rodzaje komunalnych osadów ściekowych różniły się stopniem stabilizacji biochemicznej i właściwościami. Do analizy specjacji Zn zastosowano zmodyfikowaną metodykę sekwencyjnej ekstrakcji według Community Bureau of Reference (BCR), w której wyróżniono 4 frakcje Zn (F1-F4). Dominującą frakcją Zn w obu osadach poflotacyjnych stanowiła frakcja rezydualna (F4). Dodatek surowych osadów ściekowych spowodował istotny statystycznie wzrost całkowitej zawartości cynku w osadach poflotacyjnych, jak i wzrost zawartości Zn w każdej z frakcji F1-F3. Stabilizowane osady ściekowe wpłynęły jedynie na statystycznie istotny wzrost stężeń cynku we frakcji F1 osadów Iw. Zmiany te należy traktować jako korzystne z punktu widzenia zaopatrzenia roślin w cynk w perspektywie rekultywacji składowisk.

**SŁOWA KLUCZOWE:** osady poflotacyjne, komunalne osady ściekowe, cynk, specjacja, ekstrakcja sekwencyjna, BCR



**Elżbieta Gębarowska, Stanisław J. Pietr**

**AKTYWNOŚĆ PRZECIWGRZYBOWA  
SZCZEPÓW *TRICHODERMA HARZIANUM* ODPORNICH  
NA BENOMYL WOBEC FITOPATOGENÓW GLEBOWYCH  
ANTIFUNGAL ACTIVITY OF *TRICHODERMA HARZIANUM*  
STRAINS RESISTANT TO BENOMYL  
AGAINST SOIL BORNE PATHOGENS**

*Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu  
Department of Agricultural Microbiology, Wrocław University of Environmental  
and Life Sciences*

Badano zdolność szczepów macierzystych *T. harzianum* F84, F85, F86 i ich mutantów wyselekcjonowanych w kierunku odporności na benomyl, do produkcji metabolitów o właściwościach przeciwgrzybowych w stosunku do fitopatogenów *Fusarium culmorum*, *F. oxysporum*, *Rhizoctonia solani* oraz *Sclerotinia sclerotiorum* w warunkach *in vitro*. Aktywność przeciwgrzybowa metabolitów ekstrahowanych do fazy organicznej octanu etylu z płynnych hodowli na podłożu Czapek Dox Broth badanych szczepów macierzystych *T. harzianum* i ich mutantów była w znacznym stopniu zróżnicowana. Najmniej wrażliwy na badane metabolity był szczep *F. oxysporum*. Wyraźne ograniczenie wzrostu *F. oxysporum* obserwowano jedynie przez metabolity szczepów macierzystych F84 i F86 oraz ich mutanty F84-284 i F86-273, stopień zahamowania wynosił od 51 do 57%. Spośród testowanych patogenów *Rh. solani* był najbardziej wrażliwy na metabolity badanych szczepów. Ekstrakty z hodowli szczepów macierzystych hamowały jego wzrost w zakresie od 91 do 99%, a ich mutanty w zakresie 86 do 100%. Większość mutantów indukowanych promieniami UV odpornych na benomyl cechowała ograniczona zdolność do biosyntezy metabolitów przeciwgrzybowych. Największą zdolność do produkcji metabolitów aktywnych w stosunku do testowanych fitopatogenów wykazywały szczepy macierzyste *T. harzianum* F84 i F86 oraz odporne na benomyl szczepy F84-281 i F86-273.

**SŁOWA KLUCZOWE:** biologiczna ochrona roślin, benomyl, *Trichoderma harzianum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*

---

Do cytowania – For citation: Gębarowska E., Pietr S.J., 2012. Aktywność przeciwgrzybowa szczepów *Trichoderma harzianum* odpornych na benomyl wobec fitopatogenów glebowych. Zesz. Nauk. UP Wroc., Rol. CIII, 589: 81–92.

## WSTĘP

Grzyby z rodzaju *Trichoderma* wzbudzają największe zainteresowanie wśród grzybów saprofitycznych wykorzystywanych w biologicznej ochronie roślin. Możliwość ich zastosowania w ochronie roślin związana jest z szeregiem specyficznych cech takich jak mikopasożytnictwo, wydzielanie biologicznie czynnych metabolitów przeciwgrzybowych i przeciwbakteryjnych, zdolność do konkurencji o organiczne źródła węgla i energii, indukcja mechanizmów odporności systemicznej i wydzielanie stymulatorów wzrostu roślin (Benitez i wsp. 2004, Wojtowiak-Gębarowska 2006). Zdolność do produkcji metabolitów o charakterze antybiotyków jest jednym z najczęściej badanych mechanizmów działania tych grzybów. Grzyby z rodzaju *Trichoderma* wydzielają lotne i nielotne metabolity, do których należą np. antybiotyki peptydowe, seskwiterpenoidy, izonitryle, metabolity z grupą izocjanidową, polikektydy, alkile pyronowe (Sivasithamparam, Ghisalberti 1998). Znana jest ich aktywność przeciwgrzybowa wobec *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* i innych fitopatogenów z rodzajów *Pythium*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Phytophthora* i *Bipolaris* oraz przeciwbakteryjna wobec *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* czy *Micrococcus luteus* (Faull i wsp. 1994, Ghisalberti, Rowland 1993).

Wykorzystanie biologicznych środków ochrony roślin napotyka na szereg problemów, głównie ze względu na brak możliwości ich integracji z chemicznymi środkami ochrony roślin. Łączenie ochrony biologicznej z chemiczną w zintegrowanym systemie zwalczania fitopatogenów, zdaniem wielu autorów (m.in. Chet i wsp. 1982, Lifschitz i wsp. 1985), zwiększy efektywność ochrony roślin poprzez ograniczenie pojawiania się wśród patogenów form odpornych na fungicydy. Równocześnie możemy oczekiwać ograniczenia kosztów produkcji jak i mniejszej presji na środowisko poprzez zmniejszenie zużycia pestycydów (Ślusarski, Pietr 2009). Wykorzystanie grzybów mikopasożytniczych w zintegrowanym systemie ochrony roślin wymaga jednak selekcji szczepów odpornych na fungicydy przy jednoczesnym zachowaniu ich zdolności antagonistycznych w środowisku naturalnym. Fungicydy benzimidazolowe były powszechnie wykorzystywane w ochronie roślin, a konsekwencją ich intensywnego stosowania stało się rozpowszechnienie zjawiska odporności wśród fitopatogenów na tę grupę środków. Jednocześnie odporność na jeden z fungicydów z tej grupy z reguły generowała odporność krzyżową na pozostałe benzimidazole (Brent 2012). Większość fungicydów benzimidazolowych, ze względu na wspomnianą odporność oraz toksyczność produktów ich rozkładu (Amorim i wsp. 2005), została wycofana, poza tiofanatem metylu i karbendazymem. Wykorzystanie odpornych na benomyl szczepów *T. harzianum* może ograniczyć zjawisko narastającej odporności wśród fitopatogenów na te środki. Ponadto mutanty odporne na benomyl opisane w literaturze cechowała zwiększona konkurencyjność w rizoferze (Ahmad, Baker 1987), co Cuevas i wsp. (1994) powiązali ze zwiększoną aktywnością enzymów degradujących polisacharydy roślinne.

Celem pracy było określenie, czy w wyniku mutacji indukowanych promieniami UV w kierunku odporności na benomyl u grzybów *T. harzianum* nastąpiły zmiany w produkcji metabolitów przeciwgrzybowych. Efekt antagonistyczny substancji antybiotycznych wydzielanych przez szczepy *Trichoderma harzianum* był oceniany w warunkach *in vitro* wobec wybranych fitopatogenów glebowych.

## MATERIAŁ I METODY

W badaniach wykorzystano szczepy macierzyste *T. harzianum* F84, F85 i F86 oraz ich 10 mutantów wyselekcjonowanych wcześniej w kierunku odporności na benomyl F84-281, -284, -285, -287, -290, F85-292, -293, -296, -301, F86-273 (Stankiewicz i wsp. 1997). Szczepy te charakteryzowały się również odpornością na tiofanat metylu (Wojtkowiak-Gębarowska 2005). Badano wpływ ww. szczepów na wzrost następujących grzybów fitopatogenicznych: *Fusarium culmorum* F1, *Fusarium oxysporum* F88, *Rhizoctonia solani* F93 i *Sclerotinia sclerotiorum* F110. Wszystkie szczepy pochodziły z kolekcji Zakładu Mikrobiologii Rolniczej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Kolekcję badanych grzybów utrzymywano na podłożu PDA (Emapol, Poland) w temperaturze +4°C.

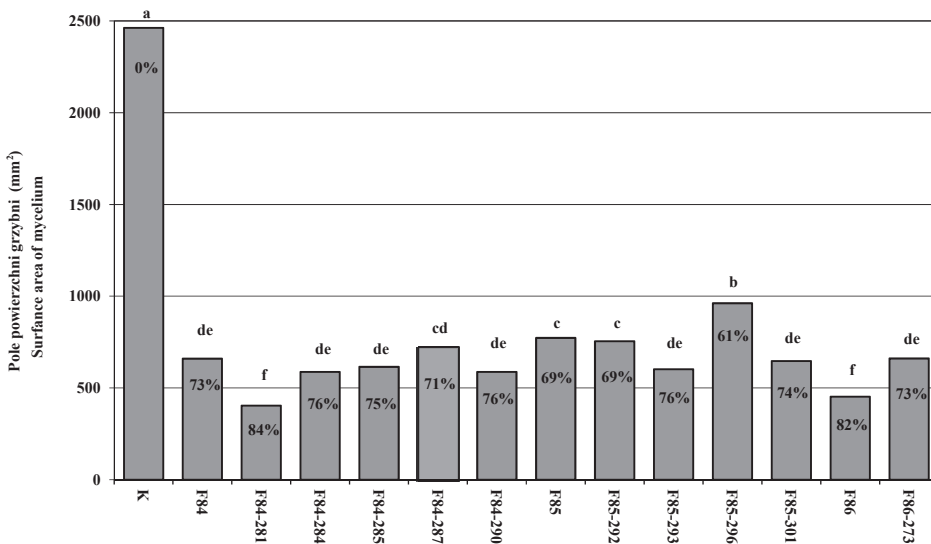
Hodowle płynne badanych szczepów *T. harzianum* oraz izolację substancji antybiotycznych prowadzono wg zmodyfikowanej metody Pezeta i wsp. (1999). W tym celu podłoże Czapek Dox Broth (Emapol, Poland) zaszczerpiono wodną zawiesiną zarodników konidialnych oraz fragmentów grzybni badanych szczepów *T. harzianum*. Hodowle prowadzono w stałej temperaturze +27°C w warunkach intensywnego napowietrzania (150 rpm, amplituda 5) przez 14 dni. Supernatanty po wcześniejszym oddzieleniu od grzybni ekstrahowano octanem etylu (EtOAc), osuszano ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) i odparowywano pod próżnią (+35°C), a suchą pozostałość wypłukiwano EtOAc. Uzyskane ekstrakty oczyszczano przy użyciu filtrów z membraną PTFE o średnicy por 0,45  $\mu\text{m}$  (Minisart SRP 15).

Aktywność przeciwgrzybową uzyskanych substancji antybiotycznych oznaczano metodą zatruwania podłoża (Wojtkowiak-Gębarowska, Pietr 2006). Surowe ekstrakty z kultur badanych szczepów wprowadzano do pożywki PDA (5% v/v) ostudzonej do około 45°C i po dokładnym wymieszaniu rozlewano na płytki Petriego. Analogicznie do pożywki kontrolnej PDA wprowadzono 5% (v/v) EtOAc. Odparowano rozpuszczalnik organiczny i wykładano centralnie na pożywkę krążki o średnicy 5 mm wycięte z 7-dniowych grzybni patogenów rosnących na PDA. Doświadczenie założono w 3 powtórzeniach dla każdego patogenu. Płytki z patogenami inkubowano w stałej temperaturze (+27°C). Codziennie mierzono radialny przyrost grzybni patogenów. Doświadczenie prowadzono do całkowitego zarośnięcia podłoża przez grzybnię patogenów na płytkach kontrolnych. Rzeczywiste wyniki pomiarów wzrostu grzybni patogenów wyrażano jako pole powierzchni grzybni w  $\text{mm}^2$  i poddano analizie wariancji przy zastosowaniu testu Tukey'a ( $p=0,05$ ).

## WYNIKI

Stopień zahamowania wzrostu grzybni testowanych patogenów w obecności substancji antybiotycznych badanych szczepów macierzystych *T. harzianum* F84, F85, F86 i ich mutantów odpornych na benomyl przedstawiają ryciny 1–4, odpowiednio dla *F. culmorum* F1, *F. oxysporum* F88, *S. sclerotiorum* F110 oraz *Rh. solani* F93. Obserwowano zróżnicowany efekt antagonistyczny badanych szczepów macierzystych *T. harzianum* oraz ich mutantów na wzrost grzybni fitopatogenów. Porównując aktywność przeciwgrzybową w stosunku do *F. culmorum* F1, stwierdzono większe ograniczenie wzrostu tego patogenu na podłożu z dodatkiem ekstraktu z hodowli płynnej szczepu *T. harzianum* F86 (~82%) niż w przypadku dwóch pozostałych szczepów macierzystych F84 i F85, których metabolity hamowały

wzrost grzybni F1 w podobnym stopniu, odpowiednio o około 73 i 69% (ryc. 1). Spośród wszystkich badanych szczepów mutant F85-296 produkował substancje przeciwgrzybowe o najsłabszym działaniu. Największy efekt antagonistyczny, jednocześnie większy niż szczepu macierzystego, stwierdzono dla szczepu F84-281 (~84%). Podobny efekt był obserwowany w przypadku szczepu macierzystego *T. harzianum* F86.



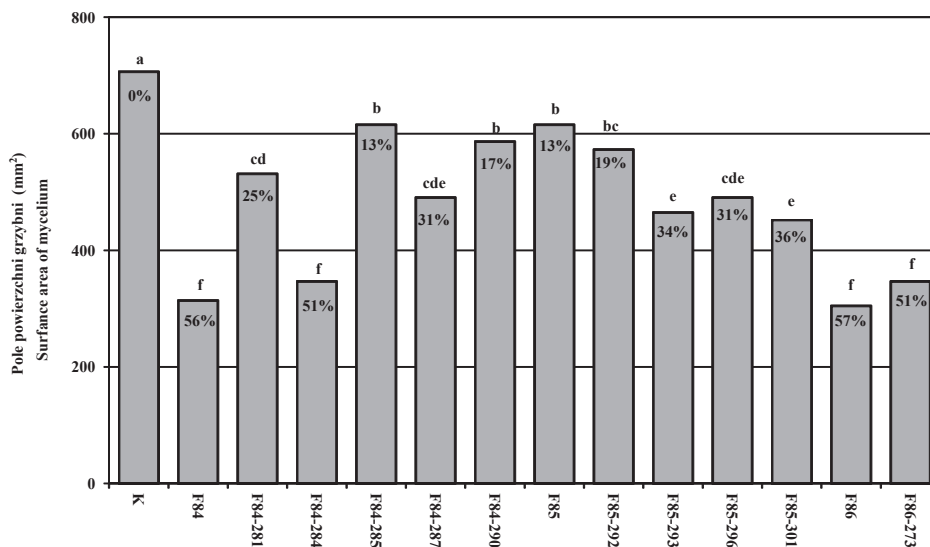
Ryc. 1. Wzrost grzybni *F. culmorum* F1 na podłożu kontrolnym (K) i w obecności metabolitów czynnych z hodowli *T. harzianum* szczepów macierzystych (F84, F85, F86) oraz ich mutantów odpornych na benomyl (F84-281, -284, -285, -287, -290, F85-292, -293, -296, -301, F86-273). Legenda: słupki oznaczone tymi samymi literami nie różnią się od siebie istotnie wg testu Tukeya (NIR = 85,4; F=326,5; p < 0,001); wewnątrz słupków przedstawiono relatywne zahamowanie wzrostu radialnego grzybni (%)

Fig. 1. Growth of mycelium of *F. culmorum* strain F1 on control medium (K) and in the presence of active metabolites from cultures of *T. harzianum* parental strains (F84, F85, F86) and their benomyl-resistant mutants (F84-281, -284, -285, -287, -290, F85-292, -293, -296, -301, F86-273). Legend: bars marked with the same letter do not differ significantly according to Tukey test (NIR = 85,4; F = 326,5, p < 0,001); on the bars the relative inhibition of radial growth of mycelium was presented (%)

Porównując aktywność przeciwgrzybową badanych szczepów *T. harzianum* w stosunku do *F. oxysporum* F88 (ryc. 2), stwierdzono relatywnie słabsze ograniczenie wzrostu tego fitopatogenu w porównaniu z ich wpływem na wzrost grzybni *F. culmorum* F1. Spośród badanych szczepów macierzystych *T. harzianum* metabolity szczepów F84 i F86 hamowały wzrost *F. oxysporum* F88 w największym stopniu (56–57%). Trzeci z badanych szczepów macierzystych *T. harzianum* F85 produkował związki antybiotyczne o znacznie słabszym oddziaływaniu na wzrost tego patogenu (~13%). Wśród badanych mutantów jedynie szczep F84-284 i F86-273 produkowały metabolity, których aktywność ograniczała wzrost radialny *F. oxysporum* F88 o około 51%. Jednak aktywności te były słabsze niż ich szczepów macierzystych. Żaden z badanych ekstraktów z płynnych



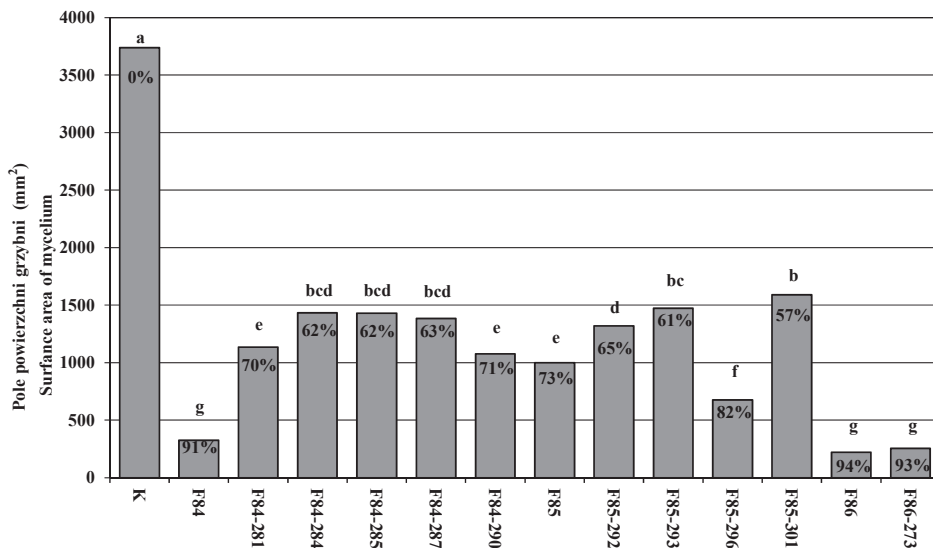
kultur szczepów odpornych na benomyl nie wykazywał większej aktywności antagonicznej niż metabolity ze szczepów macierzystych F84 i F86.



Ryc. 2. Wzrost grzybni *F. oxysporum* F88 na podłożu kontrolnym (K) i w obecności metabolitów czynnych z hodowli *T. harzianum* szczepów macierzystych (F84, F85, F86) oraz ich mutantów odpornych na benomyl (F84-281, -284, -285, -287, -290, F85-292, -293, -296, -301, F86-273). Legenda: słupki oznaczone tymi samymi literami nie różnią się od siebie istotnie wg testu Tukeya (NIR = 44,7; F=74,06; p < 0,001); Wewnątrz słupków przedstawiono relatywne zahamowanie wzrostu radialnego grzybni (%)

Fig. 2. Growth of mycelium *F. oxysporum* strain F88 on control medium (K) and in the presence of active metabolites from cultures of *T. harzianum* parental strains (F84, F85, F86) and their benomyl-resistant mutants (F84-281, -284, -285, -287, -290, F85-292, -293, -296, -301, F86-273). Legend: bars marked with the same letter do not differ significantly according to Tukey test (NIR = 44,7; F=74,06; p < 0,001); on the bars the relative inhibition of radial growth of mycelium was presented (%)

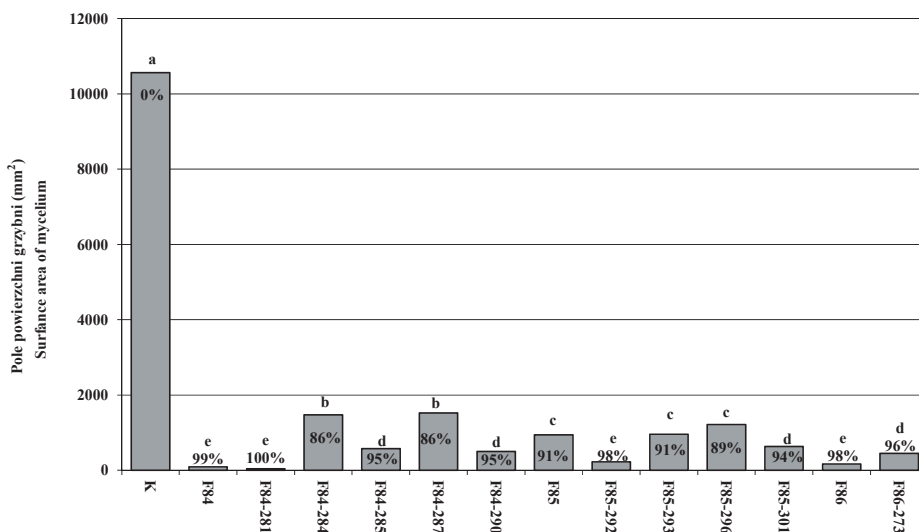
Hamujący wpływ ekstraktów z badanych płynów pohodowlanych na wzrost grzybni *S. sclerotiorum* F110 (ryc. 3) był relatywnie większy niż w przypadku obydwóch gatunków z rodzaju *Fusarium*. Spośród badanych szczepów macierzystych *T. harzianum* metabolity z F84 i F86 w podobnym stopniu hamowały wzrost *S. sclerotiorum* F110 (odpowiednio o 91 i 94%). Trzeci z badanych szczepów macierzystych produkował związki antybiotyczne o mniejszej aktywności. Ograniczały one wzrost tego patogenu tylko o 73% (ryc. 3). Generalnie, ekstrakty z kultur płynnych szczepów odpornych na benomyl nie wykazywały większego efektu przeciwrzybowego niż metabolity szczepów macierzystych *T. harzianum* F84 oraz F86. Jedynie mutant F86-273 wydzieliał do podłoża substancje czynne, które hamowały wzrost *S. sclerotiorum* F110 na poziomie podobnym, co jego szczep macierzysty. Spośród badanych mutantów szczep F85-296 produkował metabolity, które dawały silniejszy efekt przeciwrzybowy (82%) w porównaniu ze szczepem macierzystym F85, lecz aktywność tych metabolitów była słabsza niż metabolitów ze szczepu macierzystego F84 i F86, jak również mutantu F86-273.



Ryc. 3. Wzrost grzybni *S. sclerotiorum* F110 na podłożu kontrolnym (K) i w obecności metabolitów czynnych z hodowli *T. harzianum* szczepów macierzystych (F84, F85, F86) oraz ich mutantów odpornych na benomyl (F84-281, -284, -285, -287, -290, F85-292, -293, -296, -301, F86-273). Legenda: słupki oznaczone tymi samymi literami nie różnią się od siebie istotnie wg testu Tukeya (NIR = 145,6; F=333,4; p < 0,001); wewnątrz słupków przedstawiono relatywne zahamowanie wzrostu radialnego grzybni (%)

Fig. 3. Growth of mycelium *S. sclerotiorum* strain F110 on control medium (K) and in the presence of active metabolites from cultures of *T. harzianum* parental strains (F84, F85, F86) and their benomyl-resistant mutants (F84-281, -284, -285, -287, -290, F85-292, -293, -296, -301, F86-273). Legenda: bars marked with the same letter do not differ significantly according to Tukey test Tukeya (NIR = 145,6; F=333,4; p < 0,001); on the bars the relative inhibition of radial growth of mycelium was presented (%)

Wśród testowanych patogenów *Rh. solani* F93 był najbardziej wrażliwy na substancje antybiotyczne produkowane przez wszystkie badane szczepy *T. harzianum* (ryc. 4). Praktycznie, całkowite zahamowanie wzrostu grzybni tego patogenu obserwowano w przypadku wprowadzenia do podłoża ekstraktów z kultur płynnych szczepów macierzystych F84 i F86 (98–99%). Dla szczepów F84-281, F85-292, F86-273, F84-290, F84-285 odpornych na benomyl obserwowano porównywalny efekt (95–100%). Podobnie jak opisano powyżej – trzeci z badanych szczepów macierzystych *T. harzianum* F85 produkował metabolity czynne, które w mniejszym stopniu ograniczały wzrost *Rh. solani* F93.



Ryc. 4. Wzrost grzybni *Rh. solani* F93 na podłożu kontrolnym (K) i w obecności metabolitów czynnych z hodowli *T. harzianum* szczepów macierzystych (F84, F85, F86) oraz ich mutantów odpornych na benomyl (F84-281, -284, -285, -287, -290, F85-292, -293, -296, -301, F86-273). Legenda: słupki oznaczone tymi samymi literami nie różnią się od siebie istotnie wg testu Tukeya (NIR = 56,6; F=21206,3;  $p < 0,001$ ); wewnątrz słupków przedstawiono relatywne zahamowanie wzrostu radialnego grzybni (%)

Fig. 4. Growth of mycelium *Rh. solani* strain F93 on control medium (K) and in the presence of active metabolites from cultures of *T. harzianum* parental strains (F84, F85, F86) and their benomyl-resistant mutants (F84-281, -284, -285, -287, -290, F85-292, -293, -296, -301, F86-273). Legend: bars marked with the same letter do not differ significantly according to Tukey test Tukeya (NIR = 56,6; F=21206,3;  $p < 0,001$ ); on the bars the relative inhibition of radial growth of mycelium was presented (%)

Dwa szczepy macierzyste *T. harzianum* F84 oraz F86 wykazywały największą zdolność do wydzielania metabolitów aktywnych w stosunku do badanych fitopatogenów w warunkach *in vitro* i była ona na podobnym poziomie. Większość badanych mutantów odpornych na benomyl produkowała metabolity ekstrahowane do fazy organicznej octanu etylu o słabszej aktywności w porównaniu do szczepów macierzystych *T. harzianum* F84 i F86. Jedynie dwa szczepy, F86-273 i F84-281, spośród badanych mutantów odpornych na benomyl cechowały się najmniej zmienioną zdolnością do wydzielania metabolitów przeciwrzybowych i wydzielanie ich było z reguły na poziomie nie mniejszym niż szczepów macierzystych.

## DYSKUSJA

Badane ekstrakty antybiotyczne wykazywały najsłabszy efekt antagonistyczny w stosunku do *F. oxysporum* F88, a najbardziej wrażliwy na działanie tych metabolitów okazał się patogen *Rh. solani*. Hamujące działanie metabolitów produkowanych przez szczepy

*T. harzianum* było w niewielkim stopniu zróżnicowane w stosunku do *Rh. solani* w przeciwieństwie do *F. oxysporum* czy *S. sclerotiorum*. Obserwowany ponadto brak bezpośredniej zależności pomiędzy aktywnością antybiotyczną badanych ekstraktów wobec poszczególnych fitopatogenów można powiązać zarówno z ich zróżnicowaną wrażliwością, a także ze zróżnicowanym składem związków biologicznie aktywnych produkowanych przez poszczególne szczepy *T. harzianum*. Uzyskane wyniki badań można porównać do opisywanego w literaturze przedmiotu zróżnicowania zdolności do produkcji substancji przeciwgrzybowych pomiędzy poszczególnymi szczepami nawet w obrębie tego samego gatunku (Dennis, Webster 1971a,b, Ghisalberti i wsp. 1990, Almassi i wsp. 1991). Obserwowane zróżnicowane zmiany w intensywności produkcji związków biologicznie czynnych wśród odpornych na benomyl mutantów indukowanych promieniami UV wynika z nieselektywnego działania tego czynnika mutagennego. Zmiany w procesach metabolicznych w wyniku napromieniowania pociągnęły za sobą prawdopodobnie również istotne zmiany w procesach metabolicznych odpowiedzialnych za biosyntezę substancji antybiotycznych. Papavizas i wsp. (1982) także opisywali zmiany zdolności do produkcji metabolitów aktywnych w stosunku do niektórych patogenów przez mutanty *T. harzianum* odporne na benomyl. Uzyskane przez nich nowe biotypy charakteryzowały się zróżnicowanym wytwarzaniem aktywnych metabolitów i zdolnościami mykopasożytniczymi w stosunku *Pythium ultimum*, *S. cepivorum* oraz *Rh. solani*. Podobnie jak w naszych badaniach Papavizas i wsp. (1982) nie stwierdzili korelacji pomiędzy zdolnością do wydzielania przez mutanty indukowane promieniami UV metabolitów hamujących wzrost *S. cepivorum* a zdolnością do ograniczania wzrostu *Rh. solani*. Stwierdzony słaby efekt antagonistyczny zarówno szczepów macierzystych *T. harzianum*, jak i mutantów indukowanych promieniami UV w stosunku do *F. oxysporum* jest zgodny z wynikami innych badań (Faull i wsp. 1994, Howell 1998). Faull i wsp. (1994) stwierdzili, że antybiotyki wytwarzane przez mutanty *T. harzianum* indukowane promieniami UV nie oddziaływały na wzrost grzybni *F. oxysporum*, natomiast całkowicie hamowały wzrost *Pythium ultimum*, co ich zdaniem sugeruje zróżnicowany skład metabolitów produkowanych przez poszczególne szczepy. Również Howell (1998) donosi, że w wyniku mutacji indukowanych promieniowaniem UV może dochodzić do całkowitej utraty zdolności do produkcji antybiotyków, jak również zdolności biosyntezy tylko niektórych antybiotyków, a także możliwe jest uzyskanie mutantów bardziej aktywnych niż szczepy macierzyste. Możliwe jest, że badane przez nas szczepy *T. harzianum* F84, F85 i F86 oraz ich mutanty posiadają zdolność do biosyntezy większej ilości antybiotyku/-ów aktywnych w stosunku do *Rh. solanin* niż w stosunku do *F. oxysporum*. Zdolność do biosyntezy szeregu związków o właściwościach przeciwgrzybowych, między innymi alkile pyronowe, izonitryle, polikektydy, peptaibole i steroidy, jest zróżnicowana pomiędzy gatunkami, jak również pomiędzy poszczególnymi szczepami (Ghisalberti, Sivasithamparam 1991, Sivasithamparam, Ghisalberti 1998). Zarówno szczepy, jak i gatunki z rodzaju *Trichoderma* wykorzystywane lub opisywane jako potencjalnie możliwe do wykorzystania w biologicznej ochronie roślin mają zdolność do biosyntezy tylko jednej substancji o charakterze antybiotyku przeciwgrzybowego, jak również wśród nich opisano takie, które wydzielają szereg substancji biologicznie czynnych, co wydatnie zwiększa potencjalne możliwości ograniczania rozwoju patogenów (Ghisalberti, Sivasithamparam 1991, Wiest i wsp. 2002). Nie powinno dziwić więc tym bardziej takie zróżnicowanie pomiędzy mutantami, u których doszło do wielu niekierunkowych i niekontrolowanych zmian w ekspresji

rozmaitych genów. Faull i wsp. (1994) obserwowali, że mutant *T. harzianum* BC10 indukowany promieniami UV wytwarzał antybiotyk izonitrylowy homatolinę II, do którego produkcji nie był zdolny szczep macierzysty. Pojawienie się takiego mutantu po pojedynczej mutacji sugeruje ich zdaniem, że represja genów kodujących ścieżki metaboliczne odpowiedzialne za produkcję izonitryli może być łatwo odwrócona pod wpływem szeregu czynników środowiskowych i zmieniać charakter oddziaływania na inne grzyby.

Podsumowując wyniki badań własnych na tle danych literaturowych, można stwierdzić, że w wyniku indukowanych mutacji w kierunku odporności na benzimidazole (benomyl, tiofanat metylu) z reguły dochodzi do zaburzeń procesów biosyntezy metabolitów przeciwgrzybowych, co powoduje istotne ograniczenie wydzielania i/lub zmiany składu tych metabolitów. Na podstawie oceny zdolności do produkcji metabolitów o właściwościach przeciwgrzybowych przez mutanty *T. harzianum* za potencjalnie możliwe do wykorzystania zarówno w biologicznej, jak i w zintegrowanej ochronie roślin w połączeniu z tiofanatem metylu i karbendazymem należałoby uznać dwa szczepy F84-281 i F86-273.

## WNIOSKI

1. Spośród testowanych patogenów największą wrażliwością, w warunkach *in vitro*, na metabolity ekstrahowalne do fazy organicznej octanu etylu z płynnych kultur *T. harzianum* wykazywał szczep *Rh. solani* F93, a najmniejszą *F. oxysporum* F88.

2. Szczepy macierzyste *T. harzianum* F84 i F86 oraz szczepy F84-281 i F86-273 odporne na benomyl wykazywały największą zdolność do produkcji metabolitów aktywnych w kulturach płynnych w stosunku do fitopatogenicznych grzybów *F. culmorum*, *F. oxysporum*, *Rh. solani* oraz *S. sclerotiorum*.

3. Mutacje indukowane UV u szczepów *T. harzianum* w kierunku odporności na benomyl powodują z reguły zmniejszenie zdolności do produkcji i wydzielania do podłoża płynnych metabolitów aktywnych w stosunku do fitopatogenicznych grzybów *F. culmorum*, *F. oxysporum*, *Rh. solani* oraz *S. sclerotiorum*.

## PIŚMIENNICTWO

- Ahmad J.S., Baker R., 1987. Rhizosphere competence of *Trichoderma harzianum*. *Phytopathol.*, 77: 182–189.
- Almassi F., Ghisalberti E.L., Narbey M.J., Sivasthamparam K., 1991. New antibiotic from strains of *Trichoderma harzianum*. *J. Natural Products*, 54: 396–402.
- Amorim M.J.B., Römcke J., Soares A.M.V.M., 2005. Avoidance behaviour of *Enchytraeus albidus*: Effects of Benomyl, Carbendazim, phenmedipham and different soil types. *Chemosph.*, 59: 501–510.
- Benitez T., Rincon A.M., Codon A.C., 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *Intern. Microbiol.*, 7: 249–260.
- Brent K., 2012. Historical Perspectives of Fungicide Resistance [in:] *Fungicide Resistance in Crop Protection: Risk and Management*. Red. T.S. Thind T.S., Oxfordshire – Cambridge, CAB International: 3–18.

- Chet I., Elad Y., Kalfon A., Hadar Y., Katan J., 1982. Integrated control of soilborne and bulb borne pathogens in iris. *Phytopathol.*, 71: 286–290.
- Cuevas V.C., Culiati C.T., Manaligod R.L., Sajise N.E., 1994. Induction of fungicide resistance for enhanced cellulase production in *Trichoderma harzianum* Rifai. *Philipp. J. Scien.*, 123(2): 177–192.
- Dennis C., Webster J., 1971 a. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*. I Production of non-volatile antibiotics. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 57: 25–39.
- Dennis C., Webster J., 1971 b. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*. II. Production of volatile antibiotics. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 57: 41–48.
- Faull J.L., Graeme-Cook K.A., Pikelington B.L., 1994. Production of an isonitrile antibiotic by an UV-induced mutant of *Trichoderma harzianum*. *Phytochem.*, 36(5): 1273–1276;
- Ghisalberti E.L., Narbey M.J., Dewan M.M., Sivasithamparam K., 1990. Variability among strains of *Trichoderma harzianum* in their ability to reduce take-all and to produce pyrone *Plant and Soil*, 121: 287–291.
- Ghisalberti E.L., Rowland C.Y., 1993. Antifungal metabolites from *Trichoderma harzianum*. *J. Nat. Prod.*, 56: 1799–1804.
- Ghisalberti E.L., Sivasithamparam K., 1991. Antifungal antibiotics produced by *Trichoderma* spp. *Soil. Biol. Biochem.*, 23: 1011–1020.
- Howell C.R., 1998. The role of antibiosis in biocontrol [in:] *Trichoderma and Gliocladium*. Red. Harman E.G., Kubicek C.P., London, Taylor & Francis Ltd, Padstow, vol. 2: 173–184.
- Lifschitz R., Lifschitz S., Baker R., 1985. Decrease in incidence of *Rhizoctonia* preemergence damping - off by use of integrated chemical and biological controls. *Plant Disease*, 69: 431–434.
- Papavizas G.C., Lewis J.A., Abd-El Moity T.H., 1982. Evaluation of new biotypes of *Trichoderma harzianum* for tolerance of benomyl and enhanced biocontrol capabilities. *Phytopathol.*, 72: 126–132.
- Pezet R., Pont V., Tabacchi R., 1999. Simple analysis of 6-pentyl-a-pyrone, a major antifungal metabolite of *Trichoderma* spp., useful for testing the antagonistic activity of these fungi. *Phytochem. Anal.*, 10: 285–288.
- Sivasithamparam K., Ghisalberti E.L., 1998. Secondary metabolism in *Trichoderma* and *Gliocladium* [in:] *Trichoderma and Gliocladium* Basic biology, taxonomy and genetics (red.) Kubicek Ch.P. i Harman G.E., London, Taylor & Francis Ltd, Padstow, vol. 1: 139–181.
- Stankiewicz M., Pietr S.J., Gajewska E., Jaśkiewicz P.P., 1997. Aktywność mykopasożytnicza indukowanych mutantów *Trichoderma harzianum* odpornych na benomyl i iprodione [w:] *Drobnoustroje w środowisku. Występowanie, aktywność i znaczenie*. Barabasz (red.) AR w Krakowie: 631–638.
- Ślusarski C., Pietr S.J. 2009. Combined application of dazomet and *Trichoderma asperellum* as an efficient alternative to methyl bromide in controlling the soil-borne disease complex of bell pepper. *Crop Protection*, 28(8): 668–674.
- Wiest A., Grzegorski D., Xu B-W., Goulard Ch., Rebuffat S., Ebbola D., Bodo B., Kenerley Ch., 2002. Identification of peptaibols from *Trichoderma virens* and cloning of a peptaibol synthetase. *J. Biol. Chem.*, 277, 20862–20868.
- Wojtkowiak-Gębarowska E., 2006. Wybrane cechy fizjologiczne mutantów *Trichoderma* spp. odpornych na benomyl i iprodione. Praca doktorska, Akademia Rolnicza, Wrocław.
- Wojtkowiak-Gębarowska E., 2006. Mechanizmy zwalczania fitopatogenów glebowych przez grzyby z rodzaju *Trichoderma*. *Post. Mikrobiol.*, 45(4): 261–273.
- Wojtkowiak-Gębarowska E., Pietr S.J., 2006. Colonization of roots and growth stimulation of cucumber by iprodione-resistant isolates of *Trichoderma* spp. applied alone and combined with fungicides. *Phytopathol. Pol.*, 41: 51–64.

## ANTIFUNGAL ACTIVITY OF *TRICHODERMA HARZIANUM* STRAINS RESISTANT TO BENOMYL AGAINST SOIL BORNE PATHOGENS

### Summary

The ability of *T. harzianum* strains F84, F85 and F86 and their benomyl-resistant UV induced mutants to produce antifungal metabolites against soil-borne plant pathogens *Fusarium culmorum*, *F. oxysporum*, *Rhizoctonia solani* and *Sclerotinia sclerotiorum* was studied *in vitro*. There were significant differences in the antifungal activity of metabolites extracted from the organic phase with ethyl acetate from cultures of *T. harzianum* and benomyl-resistant UV induced mutants grown on a liquid Czapek Dox Broth medium. Plant pathogenic *F. oxysporum* was the least sensitive to metabolites isolated from cultures of *T. harzianum*. Growth was inhibited from 51 to 57% on solid media with extracts from cultures of parental strains F84 and F86 as well as for mutants F84-284 and F86-273. Among tested plant pathogens, *Rh. solani* appeared to be the most sensitive to the extracted metabolites. The growth of mycelial was inhibited from 91 to 99% after applying organic extracts from cultures of parental strains and from 86 to 100% after applying extracts from cultures of the mutant strains. Most of the benomyl-resistant UV induced mutants were found to be less active producers of antifungal metabolites. Among tested strains of *T. harzianum* the most active antifungal metabolites versus tested pathogens were extracted from cultures of two parental strains F84 and F86 and from two benomyl-resistant mutants F84-281 and F86-273.

KEY WORDS: biological control, benomyl, *Trichoderma harzianum*, *Fusarium culmorum*, *F. oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*





**Monika Jakubus, Piotr Gajewski, Zbigniew Kaczmarek**

**OCENA WPŁYWU EFEKTYWNYCH MIKROORGANIZMÓW  
(EM) NA ROZPUSZCZALNOŚĆ MIKROELEMENTÓW W GLEBIE**

**EVALUATION OF THE IMPACT  
OF EFFECTIVE MICROORGANISMS (EM)  
ON THE SOLUBILITY OF MICROELEMENTS IN SOIL**

*Katedra Gleboznawstwa i Ochrony Gruntów, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu  
Department of Soil Science and Ground Protection, Poznań University of Life Sciences*

Materia organiczna jest cennym źródłem składników pokarmowych i pozytywnie wpływa na żyzność gleby. Jednak rozkład materii organicznej i związane z tym uwalnianie składników pokarmowych jest długotrwałe. Uważa się, że jednoczesne wprowadzenie efektywnych mikroorganizmów (EM) zintensyfikuje przemiany materii organicznej, stymulując uwalnianie składników pokarmowych. Jednak stosowanie EM w praktyce budzi szereg kontrowersji.

Założono doświadczenie inkubacyjne, aby ocenić wpływ wspólnie zastosowanego dodatku materii organicznej (osady ściekowe oraz komposty) wraz z preparatem EM na rozpuszczanie mikroelementów w glebie. W założonym doświadczeniu gleba płowa właściwa była inkubowana z osadami ściekowymi (w ilościach odpowiadających dawkom 10 i 200 t s.m.·ha<sup>-1</sup>), kompostem (w ilościach odpowiadających dawkom 30 i 120 t s.m.·ha<sup>-1</sup>) oraz preparatem EM-A w ilości odpowiadającej 100 dm<sup>3</sup>·ha<sup>-1</sup>.

Na podstawie wyników badań stwierdzono, że zmiany ilościowe metali w glebie wywołane były przede wszystkim rodzajem dodanej materii organicznej i jej dawką. Wpływ efektywnych mikroorganizmów na rozpuszczalność mikroelementów w glebie był statystycznie nieistotny.

**SŁOWA KLUCZOWE:** efektywne mikroorganizmy, mikroelementy, osady ściekowe, kompost

## **WSTĘP**

Pomimo dominujących tendencji do stosowania uproszczeń w uprawie roli i roślin niezmienny pozostaje model prawidłowej gospodarki oparty na właściwym zmianowaniu roślin w płodozmianie, stosowaniu środków ochrony roślin oraz nawozów mineralnych,

---

Do cytowania – For citation: Jakubus M., Gajewski P., Kaczmarek Z., 2012. Ocena wpływu efektywnych mikroorganizmów (EM) na rozpuszczalność mikroelementów w glebie. Zesz. Nauk. UP Wroc., Rol. CIII, 589: 93–102.

naturalnych i organicznych. Szczególne znaczenie w kształtowaniu i utrzymaniu żyzności gleby przypisywane jest wprowadzanej materii organicznej, która reprezentowana jest nie tylko przez nawozy naturalne, lecz również alternatywne źródła, takie jak osady ściekowe czy komposty przygotowane na ich bazie. Bogata literatura (Czekala 2011, Hargreaves i wsp. 2008, Jakubus 2005, Krzywy i wsp. 2004) dokumentuje zasobność osadów ściekowych i kompostów w materię organiczną oraz makro- i mikroskładniki niezbędne dla roślin. Wprowadzenie takich źródeł materii organicznej do gleby może gwarantować poprawę struktury oraz właściwości fizykochemicznych i chemicznych gleby. Z aplikacją osadów ściekowych czy kompostów związany jest długotrwały efekt wywołany wolnym uwalnianiem składników, co nie zawsze może być zjawiskiem pożądanym. Jak podają Khaliq i wsp. (2006), Mupondi i wsp. (2006), Muthaura i wsp. (2010), znaczącą rolę w zainicjowaniu przemian rozkładu materii organicznej, a co za tym idzie – uwalnianiu składników pokarmowych odgrywają efektywne mikroorganizmy (EM). Preparaty zawierające efektywne mikroorganizmy utożsamiane są z bionawozami (Mayer i wsp. 2010, Muthaura i wsp. 2010, Schenck zu Schweinsberg-Mickan, Müller 2009), a zatem ich stosowaniu przypisywane jest pozytywne i bezpieczne oddziaływanie na środowisko. Technologia EM została opracowana w latach 80. ubiegłego stulecia w Japonii przez prof. Teruo Higa. Jest to kompozycja około 80 mikroorganizmów naturalnie występujących w środowisku. Zalicza się do nich między innymi: bakterie kwasu mlekowego i fotosyntetyczne, drożdże, promieniowce oraz grzyby (Javaid, Bajwa 2011, Mayer i wsp. 2010). Wyszczególnione organizmy koegzystują we wzajemnej symbiozie, a ich stosowanie, zdaniem twórcy, niesie dla roślin, zwierząt, gleb oraz wód szereg korzystnych zmian. Na przestrzeni ostatnich lat wiarygodność tego twierdzenia była weryfikowana w licznych badaniach naukowych, jednak z uzyskanych wyników nie płyną jednoznaczne wnioski. Podkreślić należy, że dobrze udokumentowana została rola EM w poprawie zdrowotności roślin uprawnych (Bogliłowa, Gleń 2008, Górski, Góra 2009, Piskier 2006) oraz wzroście ich plonu (Khaliq i wsp. 2006, Muthaura i wsp. 2010, Shah i wsp. 2001). Znacznie bardziej sprzeczne są dane dotyczące korzyści płynących z suplementacji zwierząt preparatem EM (Chotisasi-torn i wsp. 1997, Sokół i wsp. 2009) czy jego wpływu na podniesienie szeroko rozumianej żyzności gleb (Condor Golec i wsp. 2007, Jakubus i wsp. 2010). Rola EM w rozkładzie materii organicznej i uwalnianiu składników pokarmowych, mimo że często podkreślana w literaturze, nie została jednoznacznie określona. Wśród danych literaturowych można znaleźć przykłady świadczące o takim wpływie (Formowitz i wsp. 2007, Javaid, Bajwa 2011, Valarini i wsp. 2003), jak mu zaprzeczające (Schenck zu Schweinsberg-Mickan, Müller 2009).

Mając powyższe na uwadze, podjęto badania, których celem była ocena wpływu preparatu EM na rozkład w glebie osadów ściekowych oraz kompostów i związane z tym uwalnianie mikroelementów niezbędnych dla roślin.

## MATERIAŁ I METODY

Wykorzystane w badaniach próbki glebowe pochodziły z inkubacyjnego doświadczenia, do którego wykorzystano wierzchnią warstwę gleby podtypu płowa właściwa (PTG 2011) o składzie granulometrycznym gliny piaszczystej (PTG 2008). Materiał glebowy inkubowano z osadami ściekowymi z komunalnej oczyszczalni ścieków, kompostem powsta-

łym na bazie komunalnych osadów ściekowych oraz preparatem EM-A. Ilości osadów ściekowych odpowiadały dawkom 10 i 200 t s.m. $\cdot$ ha<sup>-1</sup>, natomiast w przypadku kompostu były to dawki 30 i 120 t s.m. $\cdot$ ha<sup>-1</sup>. Preparat EM-A został dodany w ilości równoważnej 100 dm<sup>3</sup> $\cdot$ ha<sup>-1</sup>. Poszczególne komponenty zostały dokładnie wymieszane, umieszczone w 20 kg pojemnikach plastikowych, a następnie doprowadzone do 60% PPW. Doświadczenie prowadzone było w warunkach kontrolowanych temperatury ( $\pm$  25°C) i wilgotności ( $\pm$ 60%) przez okres 9 miesięcy. Schemat doświadczenia obejmował następujące kombinacje:

- K1 – kontrola,
- K2 – gleba inkubowana z osadami ściekowymi w ilości odpowiadającej 10 t s.m. $\cdot$ ha<sup>-1</sup>,
- K3 – gleba inkubowana z osadami ściekowymi w ilości odpowiadającej 10 t s.m. $\cdot$ ha<sup>-1</sup> oraz z preparatem EM-A,
- K4 – gleba inkubowana z osadami ściekowymi w ilości odpowiadającej 200 t s.m. $\cdot$ ha<sup>-1</sup>,
- K5 – gleba inkubowana z osadami ściekowymi w ilości odpowiadającej 200 t s.m. $\cdot$ ha<sup>-1</sup> oraz preparatem EM-A,
- K6 – gleba inkubowana z kompostem w ilości odpowiadającej 30 t s.m. $\cdot$ ha<sup>-1</sup>,
- K7 – gleba inkubowana z kompostem w ilości odpowiadającej 30 t s.m. $\cdot$ ha<sup>-1</sup> oraz preparatem EM-A,
- K8 – gleba inkubowana z kompostem w ilości odpowiadającej 120 t s.m. $\cdot$ ha<sup>-1</sup>,
- K9 – gleba inkubowana z kompostem w ilości odpowiadającej 120 t s.m. $\cdot$ ha<sup>-1</sup> oraz preparatem EM-A,

Każda z kombinacji doświadczenia została przeprowadzona w 2 powtórzeniach.

Próbki do badań zostały pobrane w dniu założenia doświadczenia (P) oraz jego zakończenia (K). Analizy zostały wykonane na próbkach średnich, które składały się z 4 pojedynczych próbek pobranych z każdego pojemnika i dokładnie wymieszanych. Następnie były one suszone w temperaturze pokojowej i przesiewane przez sito o średnicy oczek 2 mm. Tak przygotowany materiał podlegał analizom chemicznym obejmującym oznaczenie:

pH w 1 mol $\cdot$ dm<sup>-3</sup>KCl,

zawartości węgla organicznego (Corg), które zostały określone aparatem Vario Max CNS, przyswajalnych dla roślin ilości metali (Cu, Zn, Mn i Fe) w 1 mol $\cdot$ dm<sup>-3</sup>HCl. W uzyskanych po ekstrakcji roztworach pierwiastki oznaczono techniką absorpcyjnej spektrometrii atomowej (AAS) na aparacie Varian 220 FS. Określenie odczynu gleb oraz ilości przyswajalnych dla roślin mikroelementów wykonano zgodnie z metodami zaproponowanymi przez Jakubus (2010).

Wyniki zaprezentowane w pracy są średnimi z 4 powtórzeń, dla których przeprowadzono analizę wariancji dla eksperymentów wieloczynnikowych w układzie całkowicie losowym, posługując się testem F na poziomie ufności  $p = 0,95$ . W analizie uwzględniono dwa czynniki doświadczenia: zastosowane dodatki (A) oraz czas inkubacji (B). Istotność różnic międzyobiektowych sprawdzono metodą Tukey'a na poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ , po czym wydzielono grupy jednorodne. Analizy podstawowe poszerzono o rachunki korelacji liniowej między podstawowymi właściwościami gleby a uzyskanymi danymi dotyczącymi przyswajalnych ilości metali. Istotne statystycznie różnice pomiędzy parametrami gleby a zawartością wyekstrahowanych metali zostały oznaczone przez \* dla  $p < 0,05$  oraz \*\* dla  $p < 0,01$ .

## WYNIKI I DYSKUSJA

Jedną z korzyści stosowania efektywnych mikroorganizmów jest przyspieszona mineralizacja materii organicznej, której towarzyszy uwalnianie składników pokarmowych, w tym mikroelementów niezbędnych dla roślin. W związku z tym, że proces mineralizacji może oddziaływać na odczyn gleby oraz zawartość węgla organicznego, przeanalizowano ewentualne zmiany tych parametrów w warunkach przeprowadzonego doświadczenia. Uzyskane wyniki świadczą, że zastosowane dodatki materii organicznej w postaci osadu ściekowego i kompostu nie spowodowały zasadniczych różnic w wartościach pH oraz ilości węgla organicznego. Odczyn gleby był obojętny (zakres od 6,56 do 7,15), zaś ilość węgla wahała się od 12,13 do 19,38 g·kg<sup>-1</sup> (tab.1). Udowodniono, że niezależnie od czynników doświadczenia ilości węgla organicznego oraz wartości pH były mniejsze (o 5–17%) w glebie z końca inkubacji (tab.1). Jednocześnie wyniki badań nie potwierdziły istotnego znaczenia preparatu EM w kształtowaniu powyższych właściwości.

Tabela 1  
Table 1

Wpływ czynników doświadczenia na zmiany odczynu  
oraz zawartości węgla organicznego (g·kg<sup>-1</sup>) gleby  
Influence of experiment factors on changes of soil reaction  
and total organic content (g·kg<sup>-1</sup>) in soil

Właściwość Property	Kombinacja* – Object /Termin pobrania próbek** – Term of sample collection																	
	1*		2		3		4		5		6		7		8		9	
	P**	K	P	K	P	K	P	K	P	K	P	K	P	K	P	K	P	K
pH	6,80	6,83	7,07	6,56	7,15	6,63	7,00	6,56	7,10	6,71	7,08	6,90	6,88	6,92	7,11	6,96	6,83	7,02
NIR – LSD AxB	0,209																	
Corg	12,65	12,13	13,92	13,82	14,29	13,45	18,81	17,59	19,38	18,27	14,90	13,90	14,83	13,41	15,75	15,80	14,13	14,70
NIR – LSD AxB	1,580																	

P – początek doświadczenia – beginning of experiment

K – koniec doświadczenia – ending of experiment

Wśród pozytywnych efektów związanych z doglebowym stosowaniem efektywnych mikroorganizmów akcentowana jest ich szczególna rola w zwiększaniu ilości węgla organicznego (Valarini i wsp. 2003). Wykorzystując inkubacyjne badania, Jakubus i wsp. (2010) dowiedli, że wzrastające dawki preparatu EM-A nie różnicowały w istotny sposób zawartości węgla organicznego w analizowanych glebach. Natomiast Tołoczko i wsp. (2009) wykazali zmniejszenie poziomu ilościowego węgla organicznego pod wpływem preparatu EM-A. Również oddziaływanie efektywnych mikroorganizmów na odczyn gleby nie zostało jednoznacznie sprecyzowane. Najczęściej odnotowywany jest wzrost wartości pH (Valarini i wsp. 2003, Zydlik, Zydlik 2008). Z kolei Jakubus i wsp. (2010) w warunkach gleby czarna ziemia typowa inkubowanej z preparatem EM-A określili małe – 11% – obniżenie wartości pH.

W przeprowadzonych badaniach przeanalizowano zmiany zawartości mikroelementów niezbędnych dla roślin, takich jak Cu, Zn, Mn oraz Fe. Niezależnie od czynników doświadczenia w glebie najmniejsze ilości, wahające się w zakresie od 2,97 do 7,00 mg·kg<sup>-1</sup>, określono dla Cu, zaś najwięcej z gleby wyekstrahowano żelaza (od 780 do 1400 mg·kg<sup>-1</sup>).

W glebie z doświadczenia cynk przyswajalny dla roślin kształtował się na poziomie od 9,37 do 31,18 mg·kg<sup>-1</sup>, a mangan od 66,67 do 82,55 mg·kg<sup>-1</sup> (tab. 2). Interakcyjne oddziaływanie czynników doświadczenia na zmiany ilościowe metali w statystycznie istotny sposób zostało potwierdzone w przypadku Zn, Mn i Fe (tab. 2). Bez względu na zastosowane dodatki inkubacja gleby przyczyniła się do wzrostu ilości przyswajalnych metali. Zjawisko to szczególnie widoczne było w odniesieniu do cynku i żelaza. Z gleby po zakończeniu doświadczenia roztworem 1 mol × dm<sup>3</sup> HCl wyekstrahowano więcej cynku (o 15 do 22%) oraz żelaza (o 6 do 44%) niż na początku doświadczenia. Różnice w zawartości manganu w glebie z początku oraz końca doświadczenia były małe, rzędu 3–8% (tab. 2). Zaznaczyć należy, że zmiany ilościowe metali w glebie podczas jej inkubacji najbardziej zostały zaakcentowane w warunkach dodanych osadów ściekowych.

Tabela 2  
Table 2

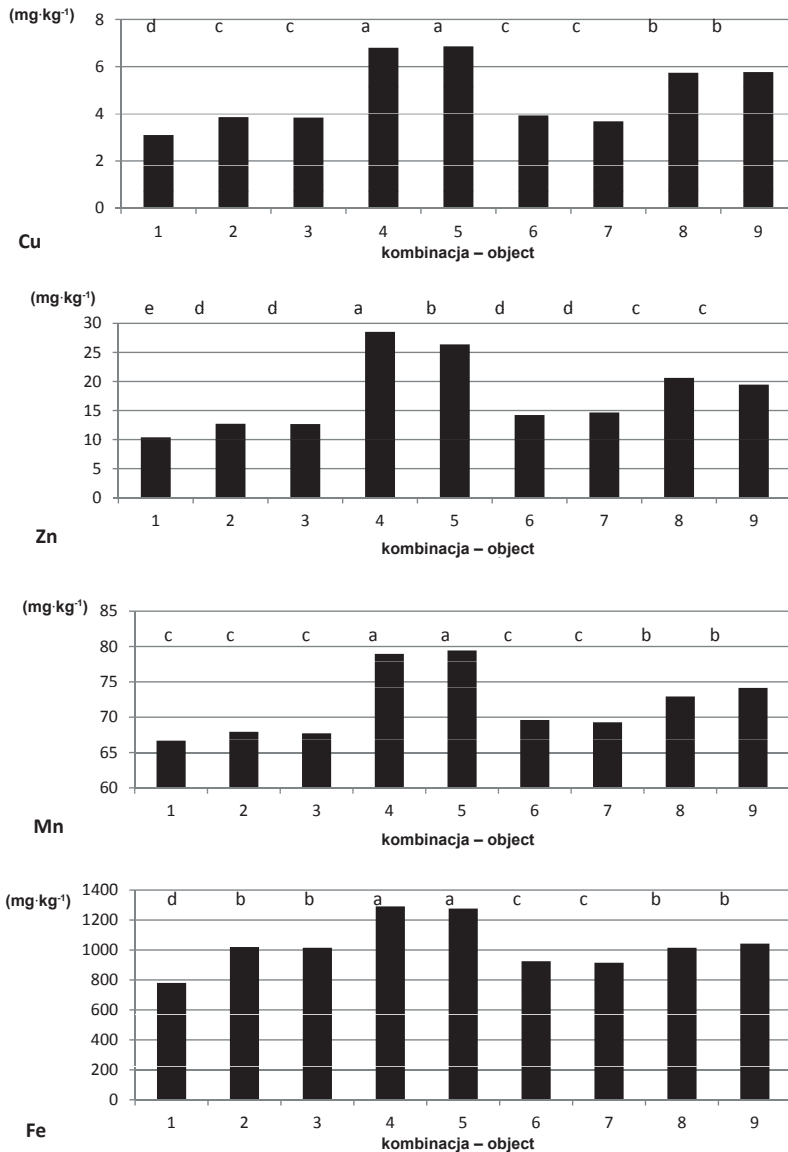
Wpływ czynników doświadczenia na zawartość mikroelementów w glebie (mg·kg<sup>-1</sup>)  
Influence of experiment factors on content of microelements (mg·kg<sup>-1</sup>) in soil

Metal Metal	Kombinacja* – Object /Termin pobrania próbek** – Term of sample collection																	
	1*		2		3		4		5		6		7		8		9	
	P**	K	P	K	P	K	P	K	P	K	K	P	P	K	P	K	K	P
Cu	2,97	3,23	3,49	4,24	3,44	4,23	6,78	6,81	6,73	7,00	3,50	4,36	3,23	4,13	5,73	5,75	5,56	5,98
NIR–LSD AxB	n.i.																	
Zn	9,37	11,40	11,81	13,63	11,55	13,81	25,87	31,18	23,87	28,89	13,25	15,21	13,93	15,38	18,55	22,69	17,87	21,06
NIR–LSD AxB	1,824																	
Mn	66,68	66,67	67,12	68,76	67,72	67,72	75,63	82,30	76,34	82,55	68,13	71,09	68,13	70,43	71,88	74,00	73,68	74,63
NIR–LSD AxB	2,680																	
Fe	780	780	835	1205	830	1200	1182	1400	1183	1370	920	930	910	920	980	1050	1010	1075
NIR–LSD AxB	71,854																	

P – początek doświadczenia – beginning of experiment

K – koniec doświadczenia – ending of experiment

Wpływ efektywnych mikroorganizmów na przyswajalność mikroelementów nie został statystycznie udowodniony (tab. 2, rys. 1), co znalazło swoje potwierdzenie w danych literaturowych (Jakubus i wsp. 2010). Brak wyraźnie zaznaczonych pozytywnych zmian po zastosowaniu EM we właściwościach glebowych Javaid i Bajwa (2011) tłumaczą niewystarczającą jednokrotną aplikacją tego preparatu. Cytowani autorzy sugerują kilkukrotne zastosowanie EM, przy czym, jak podkreślają, uzależnione jest to od gleby. Także Badura (2004) twierdzi, że większy pozytywny wpływ efektywnych mikroorganizmów na żyzność gleb można odnotować w warunkach gleb zaniedbanych i zdegradowanych, gdzie równowaga mikrobiologiczna jest zachwiana.



Rys. 1. Wpływ dodatku materii organicznej oraz preparatu EM na zmiany zawartości mikroelementów w glebie

Fig. 1. Influence of organic matter application and EM preparation on changes of microelements content in soil

Zawartości metali w glebie z doświadczenia przede wszystkim modyfikowane były wprowadzonymi ilościami osadów ściekowych oraz kompostu. Jednocześnie efektem większych dawek dodatków organicznych były większe zawartości badanych metali. Gleba wzbogacona ilością osadów ściekowych odpowiadającą dawce 200 t s.m. ·ha<sup>-1</sup> (K4 i K5) charakteryzowała się największymi średnimi ilościami analizowanych metali, co

wobec zawartości wykazanych w glebie kontrolnej było o 19% (Mn), 66% (Fe), 2,0 (Cu) oraz 2,5 (Zn) razy więcej (rys. 1). Podobne zależności stwierdzono w przypadku gleby z kombinacji 8 i 9. W porównaniu z glebą kontrolną gleba inkubowana z kompostem w dawce odpowiadającej 120 t s.m.·ha<sup>-1</sup> odznaczała się o 11, 39, 85% i 2,0-krotnie większymi ilościami Mn, Fe, Cu oraz Zn odpowiednio (rys. 1). Istotny wpływ różnych dawek kompostu na zmiany ilościowe żelaza i manganu w inkubowanej glebie podkreśliła także Jakubus (2009).

Rozpuszczalność metali w glebie uzależniona jest między innymi od odczynu gleby oraz ilości i jakości materii organicznej (Kabata-Pendias 2004, Karczewska 2002). Mając to na uwadze, przeanalizowano wzajemne zależności pomiędzy wspomnianymi właściwościami glebowymi a ilościami metali. Spośród badanych mikroelementów najmniejszą liczbę istotnych korelacji określono dla Cu, zaś największą dla Zn (tab. 3). Większość określonych zależności miała ujemny charakter i dotyczyła gleby wzbogaconej osadami ściekowymi w dawce odpowiadającej 200 t s.m.·ha<sup>-1</sup> bez i z dodatkiem EM (kombinacja 4 i 5). Pomimo że wartości pH gleby z poszczególnych kombinacji doświadczenia były do siebie zbliżone, to najsilniej wpływały na przyswajalne ilości cynku i żelaza. Niezależnie od zastosowanych dodatków odczyn gleby kształtował ilości Zn w 50–96%, a Fe w 58–82%, przy czym wartości współczynników korelacji były ujemne, potwierdzając zjawisko obniżania się rozpuszczalności metali w zakresie odczynów obojętnych. Wyjątkiem od tego były dane uzyskane dla gleby kombinacji 8, gdzie stwierdzono dodatnio skorelowaną zawartość Zn, Mn oraz Fe z wartością pH. Zjawisko to można tłumaczyć na podstawie wyników pracy Brümmera i wsp. (1986) oraz Hermsa (1982) wskazujących na możliwość wzrostu rozpuszczalności metali w postaci kompleksów metaloorganicznych w glebie zasobnej w materię organiczną i jednocześnie charakteryzującą się pH powyżej 7,0. Oddziaływanie węgla organicznego na poziom wyekstrahowanych metali z gleby było słabsze i głównie dotyczyło gleby kombinacji 4 i 5. Odnotować należy, że przyswajalne ilości metali w glebie były zarówno ujemnie, jak i dodatnio skorelowane z zawartością Corg. Jak wynika z danych zawartych w tabeli 3, najczęściej ujemnych zależności określono dla Zn, Mn i Fe (od  $r = -0,720^*$  do  $r = -0,961^{**}$ ). Taką niejednoznaczność uzyskanych danych należy interpretować zmiennym tempem procesu mineralizacji i humifikacji dodanej do gleby materii organicznej w różnych formach i dawkach. Zachodzący proces mineralizacji osadów ściekowych lub kompostów mógł spowodować rozpad metaloorganicznych kompleksów, a uwolnione jony podlegały w dalszej kolejności bądź adsorpcji na tlenkach Fe i Mn, bądź tworzyły trwalsze połączenia organiczne z powstającym humusem w glebie. Można założyć, że takie przemiany intensywniej zachodziły w warunkach gleby kombinacji 4 i 5, gdzie materia organiczna była zastosowana w postaci osadu ściekowego w ilości odpowiadającej 200 t s.m.·ha<sup>-1</sup>. Ponadto według Brümmera i wsp. (1986) przy odczynie obojętnym gleb łatwo przebiega wiązanie metali (między innymi miedzi i cynku) przez rozpuszczalne substancje organiczne, co potencjalnie może zwiększyć pulę pierwiastka w łatwo przyswajalnych formach.



Tabela 3  
Table 3

Współczynniki korelacji prostej między odczynem oraz zawartością węgla organicznego a ilościami mikroelementów w glebie  
Linear correlation coefficients of soil reaction and organic carbon content and microelements amounts in soil

Kombinacja Object	Cu		Zn		Mn		Fe	
	pH	Corg	pH	Corg	pH	Corg	pH	Corg
1	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
2	n.i.	n.i.	n.i.	0,838**	n.i.	n.i.	-0,906**	n.i.
3	-0,826**	-0,820**	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	-0,843**	n.i.
4	n.i.	n.i.	-0,951**	-0,790*	-0,971**	-0,918**	-0,707*	-0,928**
5	n.i.	n.i.	-0,979**	-0,720*	-0,838**	-0,886**	-0,762*	-0,961**
6	-0,914**	n.i.	-0,910**	n.i.	-0,826**	n.i.	n.i.	n.i.
7	n.i.	0,899**	-0,912**	n.i.	n.i.	0,782*	n.i.	n.i.
8	n.i.	n.i.	0,713*	n.i.	0,983	n.i.	0,779*	n.i.
9	n.i.	n.i.	-0,729*	0,802	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.

## PODSUMOWANIE

Uzyskane wyniki nie potwierdziły zasadności stosowania efektywnych mikroorganizmów w celu przyspieszenia mineralizacji wprowadzonej materii organicznej w postaci osadów ściekowych oraz kompostu. Jednocześnie trudno podkreślić pozytywne oddziaływanie preparatu na przyspieszone uwalnianie mikroelementów niezbędnych dla roślin. Zaobserwowane zmiany ilościowe metali w glebie przede wszystkim wynikały z zastosowanych dodatków organicznych, co szczególnie widoczne było w przypadku osadów ściekowych wprowadzonych do gleby w ilości odpowiadającej 200 t s.m.·ha<sup>-1</sup>. Po zakończeniu 9-miesięcznej inkubacji w glebie stwierdzono większe zawartości metali, głównie cynku i żelaza, a ich ilości uzależnione były od węgla organicznego oraz odczynu gleby.

## PIŚMIENNICTWO

- Badura L., 2004. Czy znamy wszystkie uwarunkowania funkcji mikroorganizmów w ekosystemach lądowych? *Kosmos* 53, 3–4: 373–379.
- Boligłowa E., Gleń K., 2008. Assessment of effective microorganisms activity (EM) in winter wheat protection against fungal diseases. *Ecological Chemistry and Engineering A.*, 15: 1–2, 23–27.
- Brümmer G., Gerth J., Herms U., 1986. Heavy metal species, mobility and availability in soils. *Z. Pflanzenernaehr. Bodenk.*, 149: 382–398.
- Chotisatorn S., Chantsavang S., Attamangkune S., Plaiboon A., 1997. Using an effective Microorganism supplementation in Layers. *Kasetsart J.*, 31: 363–367.
- Condor Golec A.F., Gonzales Perez P., Lokare Ch., 2007. Effective Microorganisms. Myth or reality? *Rev. Peru. Biol.*, 14 (2): 315–319.
- Czekała J., 2011. Rolnicze wykorzystanie osadów ściekowych. II Ogólnopolska Konferencja Szkoleniowa nt. „Metody zagospodarowania osadów ściekowych” Zielona Góra 3–4 lutego 2011: 26–34.



- Formowitz B., Elango F., Okumoto S., Müller T., Buerkert A., 2007. The role of „effective microorganisms” in the composting of banana (*Musa ssp.*) residue. *J. Plant Nutr. Soil Sci.*, 170, 6: 722–728.
- Górski R., Góra K., 2009. Wpływ efektywnych mikroorganizmów (EM) na rozwój *in vitro* grzyba *Trichoderma Harzianum* występującego w uprawie pieczarki dwuzarodnikowej (*Agaricus bisporus*). *Postępy w Ochronie Roślin*, 49(4): 2005–2008.
- Hargreaves J.C., Adl M.S., Warman P.R., 2008. A review of the use of composted municipal solid waste in agriculture. *Agr. Ecosyst. Environ.*, 123: 1–14.
- Hermes U., 1982. Untersuchungen zur Schwermetalllöslichkeit in kontaminierten Böden und kompostierten Siedlungsabfällen in Abhängigkeit von Bodenreaktion, Redoxbedingungen und Stoffbestand. Dissertation, Kiel: 110–133.
- Jakubus M., 2005. Sewage sludge characteristic with regard to their agricultural and reclamation usefulness. *Folia Univ. Agric. Stetin., Agricultura*, 244 (99): 73–82.
- Jakubus M., 2009. Zawartości Fe i Mn w glebie ekstrahowane roztworami o różnej sile jonowej podczas rozkładu kompostu. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, 541: 121–131.
- Jakubus M., 2010. Wybrane zagadnienia z gleboznawstwa i chemii rolnej. UP Poznań.
- Jakubus M., Kaczmarek Z., Gajewski P., 2010. Wpływ wzrastających dawek preparatu EM-A na właściwości gleb uprawnych. Cz. II. Właściwości chemiczne. *J. Res. Appl. Agric. Engin.*, 55 (3): 128–132.
- Javaid A., Bajwa R., 2011. Field evaluation of effective microorganisms (EM) application for growth, nodulation and nutrition of mug bean. *Turk J. Agric. For.*, 35: 443–452.
- Kabata-Pendias A., 2004. Soil – plant transfer of trace elements-an environmental issue. *Geoderma* 122: 143–149.
- Karczewska A., 2002. Metale ciężkie w glebach zanieczyszczonych emisjami hut miedzi – formy i rozpuszczalność. *Zesz. Nauk. AR Wroc.*, 432: 157.
- Khaliq A., Abbasi M., K., Hussain T., 2006. Effects if integrated use of organic and inorganic nutrient sources with effective microorganisms (EM) on seed cotton yield in Pakistan. *Bioresource Technol.*, 97: 967–972.
- Krzywy E., Izewska A., Wołoszyk Cz. 2004. Ocena składu chemicznego i wartości nawozowej osadu ściekowego oraz kompostów wyprodukowanych z komunalnego osadu ściekowego. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, 499: 173–179.
- Mayer J., Scheid S., Widmer F., Fließbach A., Oberholzer H., 2010. How effective are „Effective microorganisms (EM)”? Results from a field study in temperature climate. *Appl. Soil Ecol.*, 46: 230–239.
- Mupondi L.T., Mnkeni P.N.S., Brutsch M.O., 2006. The effects of goat manure, sewage sludge and effective microorganisms on the composting of pine bark. *Compost Sci. Util.*, 14, 3: 201–210.
- Muthaura Ch., Musyimi D.M., Ogur J.A., Okello S.V., 2010. Effective microorganisms and their influence on growth and yield of pigweed (*Amaranthus dubians*) *ARPN J. Agric. Biol. Sci.*, 5, 1: 17–21.
- Piskier T., 2006. Reakcja pszenicy jarej na stosowanie biostymulatorów i absorbentów glebowych. *J. Res. Appl. Agric. Engin.*, 51, 2: 136–138.
- PTG, 2008. Klasyfikacja uziarnienia gleb i utworów mineralnych. *Rocz. Gleb.*, 60, 2: 5–16.
- PTG, 2011. Systematyka gleb Polski. Wydanie 5. *Rocz. Gleb.*, 62, 3: 193.
- Shah S.H., Saleem M.F., Shahid M., 2001. Effect of different fertilizers and effective microorganisms on growth, yield and quality of maize. *Int. J. Agri.Biol.*, 3, 4: 378–379.
- Sokół R., Michalczyk M., Spodniewska A., Barski D., 2009. The influence of administering „effective microorganisms” to pullets on chosen hematological and biochemical blond indexes. *Pol. J. Vet. Sci.*, 12, 4: 519–522.
- Schenck zu Schweinsberg-Mickan M., Müller T., 2009. Impact of effective microorganisms and other biofertilizers on soil microbial characteristics, organic-matter decomposition, and plant growth. *J. Plant Nutr. Soil Sci.*, 172: 704–712.

- Tołoczko W., Trawczyńska A., Niewiadomski A., 2009. Zawartość związków próchnicznych w glebach nawożonych preparatem EM. *Rocz. Gleb.*, LX, 1: 97–101.
- Valarini P.J., Diaz Alvarez M.C., Gasco J.M., Guerrero F., Tokeshi H., 2003. Assessment of soil properties by organic matter and EM- microorganism incorporation. *R. Bras. Ci. Solo*, 27: 519–525.
- Zydlik P., Zydlik Z., 2008. Impact of biological effective microorganism (EM) preparations on some physico-chemical properties of soil land vegetative growth of apple- tree rootstocks. *Nauka Przyr. Technol.*, 2, 1: 1–8.

## **EVALUATION OF THE IMPACT OF EFFECTIVE MICROORGANISMS (EM) ON THE SOLUBILITY OF MICROELEMENTS IN SOIL**

### **S u m m a r y**

Organic matter is a good source of nutrients and positively affects soil quality. The composition of organic nutrients can have an effect on crop yields over the long term. Effective microorganisms (EM) along with organic materials can be added to the soil, which stimulates the supply and release of nutrients in the soil. Applying EM, however, arouses numerous controversies.

An incubation experiment was conducted to evaluate the effect on the release of microelements in the soil from integrating the use of organic nutrients (from sources of sewage sludge and compost) and EM. In the experiment performed Luvisols were incubated for 9 months in controlled conditions of temperature and air humidity with sewage sludge (two doses corresponding to 10 and 200 d.m. t per hectare), compost (two doses corresponding to 30 and 120 d.m. t per hectare) and a preparation of EM-A corresponding to 100 dm<sup>3</sup> per hectare.

The results of the study showed that when EMs were used the quantitative changes in the level of microelements depended on the type and dose of the applied organic matter. There was no statistically significant impact from using EMs on the content of metals or the amount of organic carbon.

**KEY WORDS:** effective microorganism, microelements, sewage sludge, compost

**Anna Jama-Rodzeńska, Władysław Nowak**

**ZAWARTOŚĆ METALI CIĘŻKICH W GLEBIE  
I WIERZBIE KRZEWIASTEJ (*SALIX VIMINALIS* L.)  
PO UŻYŻNIENIU GLEBY  
KOMUNALNYM OSADYM ŚCIEKOWYM**

**CONTENT OF HEAVY METALS  
IN SOIL AND WILLOW (*SALIX VIMINALIS* L.)  
AFTER APPLYING MUNICIPAL  
SEWAGE SLUDGE**

*Katedra Szczegółowej Uprawy Roślin, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu*  
*Department of Crop Production, Wrocław University of Environmental and Life Sciences*

Fitoekstrakcja metali ciężkich przez wierzbę z rodzaju *Salix* wydaje się być obiecującym narzędziem w fitoremediacji nisko i średnio zanieczyszczonych gleb metalami ciężkimi. Wierzba charakteryzuje się dużą ilością produkowanej biomasy. Celem pracy było wytypowanie klonu, który akumuluje największą ilość metali ciężkich w liściach, korze i drewnie oraz określenie ich akumulacji w glebie pod wpływem zastosowania osadu ściekowego. W pracy przedstawiono wyniki dotyczące wpływu komunalnych osadów ściekowych na zawartość manganu, żelaza, miedzi i cynku w liściach, korze i drewnie oraz ich zawartości w glebie. Doświadczenie z klonami wierzby krzewiastej założono w 2003 r., natomiast z osadem ściekowym w latach 2008–2010 w Stacji Badawczo-Dydaktycznej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Eksperyment został założony metodą split -plot z dwoma czynnikami zmiennymi: pierwszym czynnikiem były dwie dawki osadu ściekowego na tle kontroli: 14,3 Mg·ha<sup>-1</sup> i 28,5 Mg·ha<sup>-1</sup> s.m, a drugim czynnikiem były cztery klony wierzby krzewiastej. Analiza wariancji wykazała istotny wpływ warunków pogodowych w latach badań, dawek osadów ściekowych i właściwości genetycznych klonów w badanym materiale roślinnym. Największe stężenie metali ciężkich stwierdzono w liściach, mniej w korze, a najmniej w drewnie. Osad ściekowy spowodował zwiększenie także zawartości metali ciężkich w glebie.

**SŁOWA KLUCZOWE:** klony wierzby, osad ściekowy, metale ciężkie

---

Do cytowania – For citation: Jama-Rodzeńska A., Nowak W., 2012. Zawartość metali ciężkich w glebie i w wierzbie krzewiastej (*Salix viminalis* L.) po użyżnieniu gleby komunalnym osadem ściekowym. Zesz. Nauk. UP Wroc., Rol. CIII, 589: 103–114.

## WSTĘP

Zgodnie z dyrektywami Unii Europejskiej Polska jest zobowiązana do zwiększania udziału energii ze źródeł odnawialnych w bilansie energetycznym. Celem Polityki Energetycznej kraju jest zwiększenie udziału energii odnawialnej nie tylko ze względu na wzrastające zanieczyszczenie środowiska substancjami gazowymi, ciekłymi lub stałymi, wynikające ze spalania węgla, ale i znaczny wzrost cen kopalnych surowców energetycznych. Dokument ten przewiduje zmniejszenie zużycia energii o 20% w celu poprawy efektywności energetycznej, ograniczenie emisji dwutlenku węgla, wzrost wykorzystania energii ze źródeł odnawialnych w bilansie energii finalnej do 15% w 2020 r. i 20% w 2030. W warunkach Polski największy udział energii ze źródeł odnawialnych powinna stanowić energia otrzymywana ze spalania biomasy, w tym wierzby, która daje wysokie i stabilne plony w naszych warunkach klimatycznych.

Osady ściekowe z powodzeniem można wykorzystać do użyźniania plantacji wiktynowych, które bardzo dobrze wykorzystują składniki pokarmowe w nich zawarte. Osady ściekowe korzystnie oddziałują także na plon tych roślin. Są one bogatym źródłem substancji organicznej, pierwiastków biogennych, ale niekiedy mogą zawierać w swym składzie nadmierne ilości metali ciężkich lub innych związków o charakterze szkodliwym. Zawarte w osadach ściekowych metale ciężkie pobierane są przez system korzeniowy i akumulowane głównie w częściach nadziemnych roślin bez negatywnego wpływu na ich wzrost i plonowania. Celem badań było określenie ilości pobieranych przez poszczególne organy wierzby metali ciężkich i wpływu na akumulację tych metali w glebie, ze wskazaniem klonu wierzby gromadzącego największe ilości metali ciężkich w liściach, korze i drewnie.

## MATERIAŁ I METODY

Doświadczenie z klonami wierzby nawożonych osadem ściekowym przeprowadzono w latach 2008–2010 na glebie brunatnoziemnej, typu płowego, podtypu opadowo-glejowego w Stacji Badawczo-Dydaktycznej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Sadzonki wierzby (sztobry) wysadzono wiosną 2003 r. w rozstawie 0,7 x 0,4 m w ilości 35 714 sztuk na hektar. Doświadczenie założono metodą losowanych podbloków z dwoma czynnikami zmiennymi w trzech powtórzeniach. Czynniki badanymi były w kolejności:

**I** dawki osadu ściekowego pochodzącego z Wrocławskiej Oczyszczalni Ścieków Janówek

- 1. bez osadu (obiekt kontrolny)
- 2. dawka pojedyncza osadu : 14,3 t·ha<sup>-1</sup> suchej masy (s.m.)
- 3. dawka podwójna osadu : 28,5 t·ha<sup>-1</sup> suchej masy (s.m.)

**II** cztery klony wierzby krzewiastej oznaczone w kolekcji następującymi liczbami:

- 1001 *Salix viminalis dasycladis* ss *Baltica*
- 1047 *Salix viminalis* var *gigantea*
- 1053 *Orm Valne*
- 1054 *Salix viminalis* 082

Wielkość dawki osadu ściekowego została ustalona na podstawie załącznika 1 do Rozporządzenia Ministra Środowiska w sprawie komunalnych osadów ściekowych z dnia 13 lipca 2010 r. z przeznaczeniem do rekultywacji na cele nierolne. Zastosowane dawki osadów były znacznie wyższe w porównaniu z zapotrzebowaniem wierzby na azot i fosfor. Celem tego było sprawdzenie wpływu na plonowanie i skład chemiczny uzyskanego plonu. Osad ściekowy zastosowany jednorazowo, powierzchniowo wiosną 2008 r. Charakteryzował się on odczynem alkalicznym, wysoką zawartością składników biogennych (N, P), a zawartość metali ciężkich nie przekraczała dopuszczalnych wartości określonych w rozporządzeniu Ministra Środowiska w sprawie komunalnych osadów ściekowych z dnia 13 lipca 2010 r. (tab.1). Nie zbadano zawartości Zn, Mn i Fe w osadzie ściekowym.

Tabela 1  
Table 1

Zawartość suchej masy oraz wybranych składników pokarmowych w higienizowanym osadzie ściekowym WOS Janówek – Charakterystyka chemiczna higienizowanego osadu ściekowego WOS Janówek

The content of dry mass and selected nutrients in communal sewage sludge coming from Wastewater Treatment Plant Janówek and the content of crucial nutrients

Oznaczenia Specification	Jednostka Unit	Osad higienizowany Communal sewage sludge
Odczyn pH – Reaction	–	12
Sucha masa – Dry mass	(g·kg <sup>-1</sup> )	220
Substancja organiczna – Organic matter		450
Azot ogólny – Nitrogen		36
Fosfor ogólny – Phosphorus		28
Wapń – Calcium		100
Magnez – Magnesium		7
Ołów – Lead		(mg·kg <sup>-1</sup> )
Kadm – Cadmium	2,00	
Chrom – Chromium	108	
Miedź – Copper	415	
Nikiel – Nickel	50	
Rtęć – Mercury	0,05	

Pierwszy rok badań charakteryzował się na ogół korzystnym przebiegiem temperatury. Temperatura w okresie wegetacji była nieco wyższa od średniej z wielolecia. Suma opadów w okresie IV–IX w 2008 r. była nieznacznie wyższa od średniej z wielolecia przy jednocześnie wyższej o 0,8°C temperaturze powietrza. W 2009 r. średnia temperatura okresu wegetacji była o 1,2°C wyższa w stosunku do okresu wegetacji średniej z wielolecia, a suma opadów wyższa o 112,4 mm. Najcieplejszymi miesiącami były czerwiec, lipiec i sierpień. W miesiącach letnich (czerwiec, lipiec) występowały niekorzystne zjawiska pogodowe – ulewne deszcze połączone z silnym wiatrem, a sumy opadów przekroczyły średnie wieloletnie. Rok 2010 charakteryzował się najniższą temperaturą w okresie wegetacji i najobfitszymi opadami w tym okresie (tab. 2).

Tabela 2

Tabela 2

Suma miesięcznych opadów (mm) oraz średnie miesięczne temperatury (°C) w latach 2008–2010  
Sum of monthly rainfall (mm) and average monthly temperature (°C) in years 2008–2010

Rok Year	Miesiące – Months						Suma /Średnia okresu wegetacji Sum/Mean of gro- wing season	Suma (średnia) roczna Sum (mean) of year
	IV	V	VI	VII	VIII	IX	–	–
	<b>Opady – Rainfall</b>							
<b>2008</b>	87,1	37,3	36,5	65,6	94,0	27,9	<b>348,4</b>	<b>549,7</b>
<b>2009</b>	30,9	67,3	141,7	134,2	53,5	12,0	<b>439,6</b>	<b>729,7</b>
<b>2010</b>	45,4	140,7	32,9	78,9	109,1	134,1	<b>541,1</b>	<b>772,9</b>
Średnia Mean <b>1976– 2005</b>	30,5	51,3	59,5	78,9	61,7	45,3	<b>327,2</b>	<b>523,8</b>
<b>Temperatura – Temperature</b>								
2008	8,8	14,3	18,8	19,8	18,9	13,2	<b>15,6</b>	<b>10,2</b>
2009	12,0	14,2	15,7	19,5	19,3	15,3	<b>16,0</b>	<b>9,4</b>
2010	9,3	12,7	17,8	21,4	18,9	12,5	<b>15,4</b>	<b>8,2</b>
Średnia Mean <b>1976– 2005</b>	8,3	14,1	16,9	18,7	17,9	13,3	<b>14,8</b>	<b>8,7</b>

Próbki drewna i kory wierzby do analiz pobierano po zakończeniu okresu wegetacji każdego roku badań, natomiast próbki liści w sierpniu każdego roku ze środkowej części pędu. Próbki kory i drewna pobierano z 10 losowo wybranych pędów z każdego klonu i wariantu nawożenia. Po okorowaniu pędów korę i drewno wysuszone, zmielono, po czym poddano analizom laboratoryjnym.

Próbki glebowe pobierano po zakończeniu okresu wegetacji z trzech głębokości. (0–5, 5–15 i 15–30 cm). Glebę po wysuszeniu w temperaturze pokojowej i przesianiu przez sito o średnicy oczek 1 mm (zgodnie z klasyfikacją składu granulometrycznego według PTG) poddano analizom chemicznym. Celem pobierania gleby z różnych głębokości było sprawdzenie, czy metale ciężkie z osadów ściekowych poddano dynamice przemieszczania w głąb gleby.

Metale ciężkie w materiale roślinnym i glebie oznaczono metodą ASA po suchej mineralizacji próbek roślinnych, a w glebie w wyciągu 1 mol HCl·dm<sup>-3</sup> roztworu kwasu solnego.

Zgodnie z metodyką doświadczeń polowych przeprowadzono analizę wariancji badanych cech, a parametry statystyczne oceniono na poziomie ufności 0,05.

## WYNIKI BADAŃ

Zawartość metali ciężkich w wierzbie była zróżnicowana w zależności od organu rośliny. Najwięcej metali ciężkich stwierdzono w liściach, z wyjątkiem cynku, mniej w korze,

a najmniej w drewnie. Osad ściekowy z reguły istotnie zwiększał zawartość metali ciężkich w analizowanych próbkach. Klonem charakteryzującym się najlepszymi właściwościami fitoremediacyjnymi (akumulacja największych ilości metali ciężkich) okazał się klon 1001 (tab. 4). Najwięcej metali ciężkich w wierzbie stwierdzono na ogół w pierwszym roku (2008) prowadzenia badań (tab. 5).

Badane czynniki nie wywarły wpływu na zawartość manganu w liściach, korze i drewnie wierzby (tab. 3). Zastosowane dawki osadu ściekowego nie miały istotnego wpływu na wzrost zawartości manganu w materiale roślinnym. Najwięcej manganu stwierdzono w liściach, mniej w korze, a najmniej w drewnie. Największe jego ilości odnotowano na obiekcie kontrolnym. Analiza wariancji nie wykazała istotnego wpływu właściwości genetycznych klonu na zawartość tego pierwiastka w roślinie. Zmienne w latach badań warunki pogodowe nie miały istotnego wpływu na zawartość manganu (tab. 5).

Zawartość żelaza w liściach różnicowała się pod wpływem dawek osadu (tab. 3). W porównaniu z kontrolą pojedyncza dawka osadu ściekowego zwiększyła zawartość żelaza w liściach. Nie stwierdzono istotnych różnic między klonami w zawartości żelaza w liściach (tab. 4). Czynniki pogodowe nie miał istotnego wpływu na zawartość żelaza w liściach, korze i drewnie (tab. 5).

Zawartość miedzi mieściła się w zakresach fizjologicznych (nieprzekraczających poziomu fitotoksyczności) (tab. 3, 4). Przyjęto następującą klasyfikację dopuszczalnych zawartości metali ciężkich określającą poziomy fitotoksyczności: Cu – 25–40, Ni – 50–100, Zn – 500–1500 mg·kg<sup>-1</sup> (Labrecque i wsp. 1995). W obrębie badanych klonów wierzby największą zawartość miedzi stwierdzono również w liściach, mniejszą w korze, a najmniejszą w drewnie. Zastosowane dawki osadów ściekowych nie miały istotnego wpływu na zawartość miedzi w korze i drewnie wierzby. Pojedyncza dawka osadów ściekowych spowodowała istotny statystycznie wzrost stężenia miedzi w drewnie (tab. 3). Badane klony nie różniły się istotnie zawartością miedzi w liściach, korze i drewnie. Warunki klimatyczne w latach nie miały istotnego wpływu na zawartość miedzi w liściach i korze, natomiast zawartość miedzi w drewnie była istotnie zróżnicowana w latach badań. Najwięcej miedzi w drewnie stwierdzono w pierwszym roku badań (tab. 5).

Największą zawartością cynku wyróżniała się kora, mniejszą liście, a najmniejszą drewno (tab. 3). Zawartość cynku była istotnie zróżnicowana w zależności od zastosowanych dawek osadów ściekowych. Największe zawartości cynku w liściach, korze i drewnie zanotowano na obiekcie z podwójną dawką osadów, a najmniejsze na obiekcie kontrolnym. Nie stwierdzono wpływu czynnika genetycznego na zawartość cynku w liściach, korze i drewnie. Analiza wariancji wykazała istotny wpływ zmian pogodowych w latach na zawartość cynku w liściach, korze i drewnie. Najwięcej cynku w liściach, korze i drewnie stwierdzono w pierwszym roku badań, a najmniej w trzecim roku (tab. 5).

Tabela 3  
Table 3

Wpływ dawek osadów ściekowych na zawartość metali ciężkich  
w liściach, korze i drewnie wierzby krzewiastej (średnia dla lat 2008–2010) (mg·kg<sup>-1</sup>)  
The influence of doses of sewage sludge on the content of heavy metals  
in willow's leaves, bark and wood (mean for 2008–2010) (mg·kg<sup>-1</sup> d.m.)

Dawka osadu Doses of sludge	Mn			Fe			Cu			Zn		
	liście leaves	kora bark	drewno wood	liście leaves	kora bark	drewno wood	liście leaves	kora bark	drewno wood	liście leaves	kora bark	drewno wood
Kontrola Control	68,6	27,8	8,10	164,9	52,8	16,3	7,68	4,52	3,54	87,6	102,2	22,6
Osad I Sewage I	56,6	22,0	7,17	193,1	50,8	16,3	7,49	4,56	4,16	108,9	119,4	27,7
Osad II Sewage II	65,2	26,1	8,09	164,4	49,6	16,6	7,21	4,35	3,88	117,8	131,9	28,8
NIR ( $\alpha=0,05$ )	r.n	r.n	r.n	19,67	r.n	r.n	r.n	r.n	0,42	21,39	20,16	4,59
Średnia Mean	63,5	25,3	7,78	174,13	51,06	16,4	7,46	4,47	3,86	104,7	117,8	26,4

Tabela 4  
Table 4

Zawartość wybranych metali ciężkich w liściach, korze i drewnie wierzby krzewiastej (mg·kg<sup>-1</sup>)  
The content of heavy metals in leaves, bark and wood of willow

Numer klonu Number of clone	Mn			Fe			Cu			Zn		
	liście leaves	kora bark	drewno wood	liście leaves	kora bark	drewno wood	liście leaves	kora bark	drewno wood	liście leaves	kora bark	drewno wood
1001	64,1	29,3	8,88	166,1	53,1	14,9	7,51	4,45	3,72	109,5	100,18	26,3
1047	67,7	26,1	7,12	190,9	50,3	17,83	7,90	4,24	4,01	107,8	121,03	26,9
1053	63,5	25,6	8,76	172,9	48,9	17,87	7,27	4,44	3,65	92,3	121,51	26,2
1054	58,5	20,1	6,38	170,5	51,9	14,95	7,15	4,79	4,05	109,6	128,8	26,2
NIR ( $\alpha=0,05$ )	r.n	r.n	r.n	r.n	r.n	r.n	r.n	r.n	r.n	r.n	20,16	r.n

Tabela 5  
Table 5

Zawartość wybranych metali ciężkich w liściach, korze i drewnie wierzby krzewiastej  
(średnie z lat 2008–2010) (mg·kg<sup>-1</sup>)  
The content of heavy metals in leaves, bark and wood of willow (mean for 2008–2010)

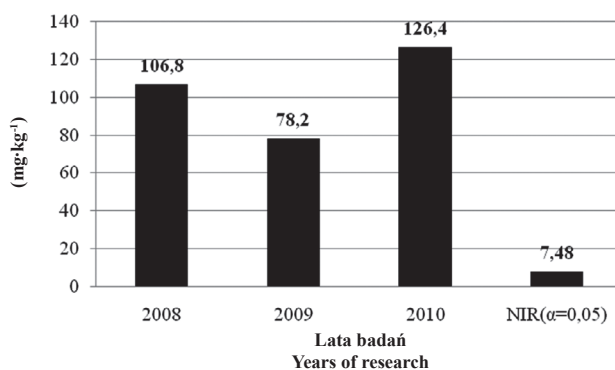
Lata badań Years of research	Mn			Fe			Cu			Zn		
	liście leaves	kora bark	drewno wood	liście leaves	kora bark	drewno wood	liście leaves	kora bark	drewno wood	liście leaves	kora bark	drewno wood
2008	70,75	26,28	8,45	179,2	50,3	16,41	7,11	4,71	4,34	137,3	135,2	30,7
2009	61,33	24,95	8,12	167,5	53,7	17,04	7,88	4,28	3,69	90,6	111,3	25,9
2010	58,26	24,64	6,79	178,6	49,2	15,75	7,39	4,45	3,53	86,5	107,2	22,6
NIR ( $\alpha=0,05$ )	r.n	r.n	r.n	r.n	r.n	r.n	r.n	r.n	0,42	21,39	20,16	4,59



Zastosowane dawki osadów ściekowych wpłynęły na zmiany ilościowe metali ciężkich w glebie. Różnice zaznaczyły się na wszystkich badanych obiektach. Największe ilości manganu, żelaza, miedzi i cynku stwierdzono w warstwach powierzchniowych gleby w większości poletek doświadczalnych. Zawartość manganu w glebie zależała istotnie od warunków pogodowych w latach badań. Największą jego zawartość stwierdzono w trzecim roku badań (rys. 1).

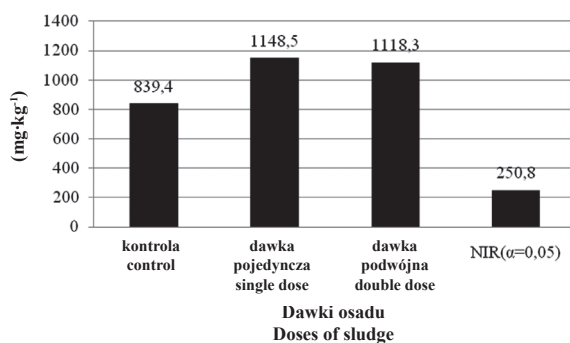
Stężenie żelaza w glebie zależało od dawki zastosowanych osadów i przebiegu pogody w latach badań. Najwięcej żelaza wykazano w pierwszym roku badań na obiekcie z pojedynczą dawką osadów ściekowych (rys. 2, 3).

Zawartość cynku i miedzi kształtowana była wielkością od dawki osadu ściekowego, a zawartość miedzi była dodatkowa zróżnicowana w zależności od głębokości pobrania próbki gleby (rys. 4, 5, 6). Pojedyncza dawka osadu spowodowała istotny wzrost zawartości cynku i miedzi w glebie w porównaniu z obiektem z podwójną dawką osadów ściekowych. Najwięcej miedzi stwierdzono w warstwie powierzchniowej gleby (0–5 cm).



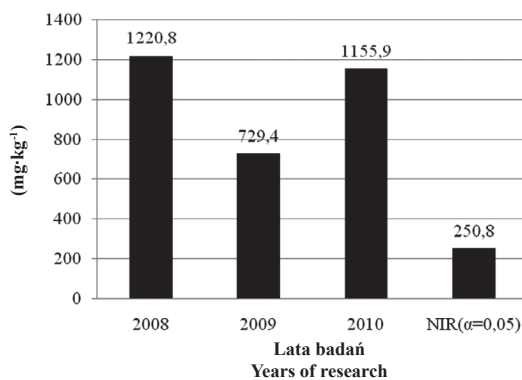
Rys. 1. Zawartość manganu w glebie w latach badań 2008–2010

Fig. 1. The content of manganese in soil in years 2008–2010



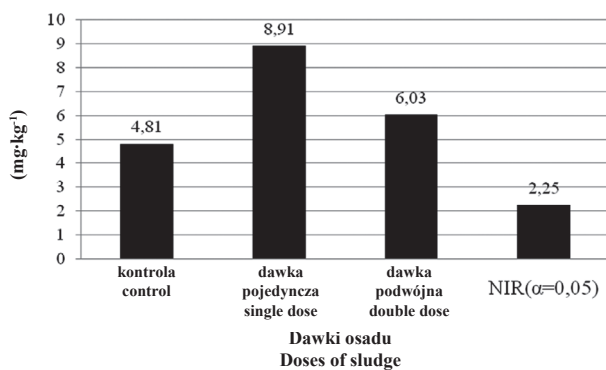
Rys. 2. Wpływ nawożenia osadem ściekowym na zawartość żelaza w glebie

Fig. 2. Influence of sewage sludge fertilization on content of Fe in soil



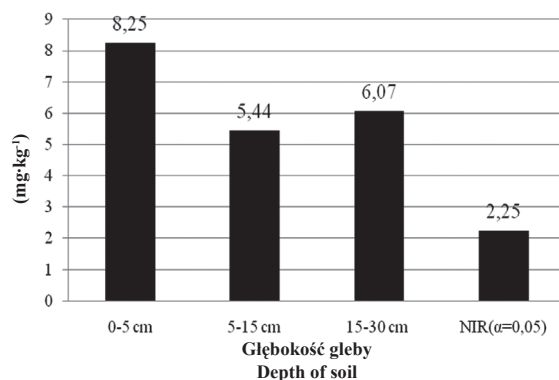
Rys. 3. Zawartość żelaza w glebie w latach badań 2008–2010

Fig. 3 The content of iron in soil in years 2008–2010



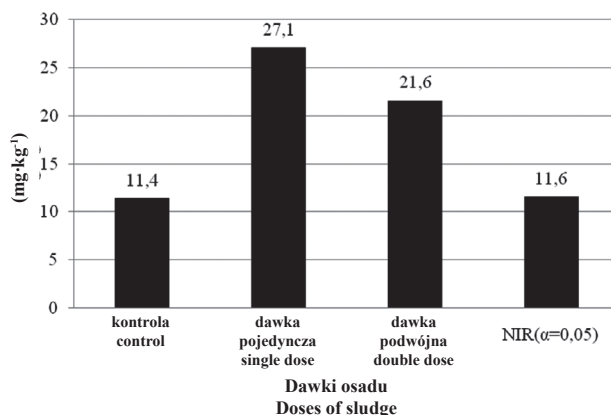
Rys. 4. Zawartość miedzi na różnych głębokościach gleby w latach badań 2008–2010

Fig. 4. The content of copper on various depth of soil in years of experiment 2008–2010



Rys. 5. Wpływ dawki osadu ściekowego na zawartość miedzi w glebie

Fig. 5. Influence of doses of sewage sludge on the content of copper in soil



Rys. 6. Wpływ dawki osadu ściekowego na zawartość cynku w glebie

Fig. 6. Influence of doses of sewage sludge on Zin content in soil

## DYSKUSJA

Biomasa wierzby krzewiastej charakteryzowała się zróżnicowaną zawartością metali ciężkich. Najwięcej metali ciężkich stwierdzono w liściach, mniej w korze, a najmniej w drewnie. Zależność tę potwierdzają wyniki innych badań [Labrecque i wsp. 1995, Landberg, Greger 2002, Kaniuczak i wsp. 2003, Meers i wsp. 2005, Maxted i wsp. 2007, Keller i wsp. 2003]. Najwięcej manganu, żelaza, cynku i miedzi w liściach wykazano w pierwszym bądź drugim roku po zastosowaniu osadu. Zarówno w badaniach własnych, jak i wcześniejszych zagranicznych nie odnotowano przekroczenia poziomów fitotoksyczności manganu, żelaza, miedzi i cynku w biomase wierzby pod wpływem nawożenia osadem ściekowym [Baran i wsp. 2000, 2001, Kaniuczak i wsp. 2003, Labrecque i wsp. 1995]. Również w badaniach Kaniuczak [2000] zawartość manganu w badanych klonach wikliny mieściła się w zakresie norm fizjologicznych. Największe stężenie manganu w badaniach tej autorki odnotowano w liściach, mniejsze w korze i najmniejsze w drewnie, co potwierdzają badania własne. Klasyfikacja dopuszczalnych zawartości metali ciężkich określająca poziomy fitotoksyczności wg Labrecqua (1995) przedstawia się następująco: Cu – 25–40, Ni – 50–100, Zn – 500–1500 mg·kg<sup>-1</sup>. W badaniach Kalembasy (2009) największe zawartości miedzi, cynku i ołowiu wykazano na obiekcie z najwyższą dawką osadów ściekowych (200 kg N·ha<sup>-1</sup>). Badania własne także potwierdzają tę tezę. Według Kalembasy [2009] największą zawartość miedzi odnotowano w pierwszym roku badań, również wykazują to badania własne. Według Barana (2001b) organ rośliny jak i dawka osadu nie miały wpływu na zawartość miedzi w wierzbie. W badaniach własnych uzyskano odmienne wyniki. Dawki osadów ściekowych miały statystycznie istotny wpływ tylko na zawartość miedzi w drewnie badanych klonów. W badaniach własnych zawartość miedzi mieściła się w przedziale od 3,54 mg·kg<sup>-1</sup> (drewno) do 7,68 mg·kg<sup>-1</sup> (liście), podobnie jak w doświadczeniach Barana (2001), a jego poziom nie przekroczył poziomu fitotoksyczności (25–40 mg·kg<sup>-1</sup>).

Osad ściekowy powodował zmiany zawartości metali ciężkich w glebie, co potwierdzają liczne badania (Baran i wsp. 1996a, 1996b). Baran i wsp. (1996 c, 2001) wykazali

liniowy wzrost zawartości Cu, Pb, Zn w stosunku do zastosowanych dawek osadów, a następnie spadek, co było wynikiem pobierania pierwiastka przez wierzbę. Zatrzymywanie pierwiastków śladowych w poziomach powierzchniowych wiąże się z właściwościami sorpcyjnymi gleb (Mazur 1995). Pionowe rozmieszczenie metali ciężkich jest różne i zależy od właściwości metali.

## WNIOSKI

1. Osad ściekowy istotnie zwiększył zawartość metali ciężkich w liściach, korze i drewnie. Najwięcej metali ciężkich stwierdzono w liściach, mniej w korze, a najmniej w drewnie, z wyjątkiem cynku, którego najwyższą zawartość wykazano w korze, mniej w liściach i najmniej w drewnie.

2. Pobranie przez rośliny oznaczonych metali układała się według kolejności Fe>Zn>Mn>Cu.

3. Najlepszymi zdolnościami fitoremediacyjnymi wykazał się klon 1001. Najwięcej metali ciężkich stwierdzono na ogół w pierwszym roku badań, a najmniej w trzecim.

4. Osad ściekowy powodował istotny wzrost zawartości metali ciężkich w glebie. Największą ich zawartość odnotowano w warstwie powierzchniowej na obiekcie z pojedynczą dawką osadów.

## PIŚMIENNICTWO

- Baran S., Bielińska E., Wiśniewski J., Wójcikowska-Kapusta A., 2001a. Wpływ uprawy wikliny na zawartość cynku i miedzi oraz aktywność dehydrogenaz i fosfataz w glebie lekkiej użyźnionej osadem ściekowym, *Folia Univ. Agric. Stetin.* 223 *Agricultura*, (89): 7–14.
- Baran S., Flis-Bujak M., Kwiecień J., Pietrasik W., Żukowska G., Szczepanowska I., 1996a. Zmiany zawartości ołowiu i cynku w glebie użyźnionej odpadami komunalnymi, *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 437: 39–44.
- Baran S., Flis-Bujak M., Turski R., Żukowska G., 1996b. Zmiany właściwości fizykochemicznych gleby lekkiej użyźnionej osadem ściekowym, *Rocz. Gleb.*, 47: 123–130.
- Baran S., Turski R., Flis-Bujak M., Kwiecień J., Pietrasik W., Zaleski P., 1996c. Formy miedzi w glebie lekkiej użyźnionej osadem ściekowym, *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 437: 79–88.
- Baran S., Wójcikowska-Kapusta A., Jaworska B., 2001b. Przydatność wikliny do sanitacji gleb zanieczyszczonych miedzią i ołowiem, *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 477: 187–193.
- Baran S., Wójcikowska-Kapusta A., Jaworska B., Saadi L., 2000. Zawartość cynku w wiklinie i glebie użyźnionej osadem ściekowym, *Fol. Univ. Agric. Stetin.*, 211 *Agricultura*, 84: 25–29.
- Kalembasa S., Wysokiński A., Cichuta R., 2009. Zawartość metali ciężkich w wierzbie (*Salix viminalis*) przy zróżnicowanym nawożeniu azotowym, *Acta Agrophysica*, 13(2): 385–392.
- Kaniuczak J., Błażej J., Gąsior J. 2000. Zawartość pierwiastków śladowych w różnych klonach wikliny, I Zawartość żelaza, manganu, miedzi i cynku, *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 472: 379–385.

- Kaniuczak J., Błażej J., Kaniuczak R., Rożek D., 2003. Bioakumulacja metali ciężkich w klonach wikliny przemysłowo-energetycznych uprawianej w różnych warunkach siedliskowych, Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 493: 879–887.
- Keller C., Hammer D., Kayser A., Richner W., Brodbeck M., Sennhauser M., 2003. Root development and heavy metals phytoextraction efficiency: comparison of different plant species in the field, Plant and Soil, 249: 67–81.
- Labrecque M., Teodorescu T.I., Daigle S., 1995. Effect of wastewater sludge on growth and heavy metal bioaccumulation of two *Salix* species, Plant and Soil, 171: 303–316.
- Landberg T., Greger M. 2002. Differences in oxidative stress in heavy metal resistant and sensitive clones of *Salix viminalis*, Journal of Plant Physiology, 159: 69–75.
- Maxted A.P., Black C.R., West H.M., Crout N.M.J., Mcgrath S.P., Young S.D., 2007. Phytoextraction of cadmium and zinc by *Salix* from soil historically amended with sewage sludge, Plant Soil, 290: 157–172.
- Mazur T., 1995. Rolnicze i ekologiczne znaczenie substancji organicznej, Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 422: 42–46.
- Meers E., Lamsal S., Vervaeke P., Hoppgood M., Lust N., Tack F.M.G., 2005. Availability of heavy metals for uptake by *Salix viminalis* on a moderately contaminated dredged sediment disposal site, Environmental Pollution, 137: 354–364.

## CONTENT OF HEAVY METALS IN SOIL AND WILLOW (*SALIX VIMINALIS* L.) AFTER APPLYING MUNICIPAL SEWAGE SLUDGE

### Abstract

Using willow trees for the phytoextraction of heavy metals is a promising technology for the remediation of low and medium contaminated sites. *Salix viminalis* is known to have a high capacity for producing biomass. This experiment shows the impact of applying municipal sewage sludge on the content of heavy metals in the soil and in the leaves, bark and wood of willow trees. The main aim of the research was to identify the willow clone that accumulated the greatest amount of manganese, iron, copper and zinc in the leaves, bark and wood and to measure the resulting concentration of tested metals in the soil. The experiment was set up in 2003 with willow seedlings and then sewage sludge was applied from 2008 to 2010 at the Experimental Station in Wrocław. The experiment was performed using the split-plot method with two changeable factors in three replicants: the first factor varied the doses of sewage sludge, 75 and 150 Mg·ha<sup>-1</sup> fresh mass, 14,3 Mg·ha<sup>-1</sup> and 28,6 Mg·ha<sup>-1</sup> dry mass; and the second factor was four selected clones of willow (*Salix viminalis* L.). Variance analysis of the results showed that there had been significant impact on the content of heavy metals in plant material from differences in weather conditions, the doses of sewage sludge used, and the genetic properties of the willow clones. The highest levels of micronutrients were found in the leaves. There were lower levels of elements in the bark and the lowest levels were in the wood. Sewage sludge was found to significantly impact the content of heavy metals in soil.

KEY WORDS: clones of willow, heavy metals, sewage sludge



**Halina Jankowska-Huflejt**

**WPLYW NAWOŻENIA I DOKARMIANIA DOLISTNEGO  
NA PLONY, TRWAŁOŚĆ GATUNKÓW I SKŁAD CHEMICZNY  
RUNI ŁĄKOWEJ W WARUNKACH PRODUKCYJNYCH**

**EFFECT OF FERTILIZATION AND FOLIAR FEEDING  
ON THE YIELDS, PERSISTENCE OF SPECIES  
AND CHEMICAL COMPOSITION OF MEADOW SWARD  
IN PRODUCTION CONDITIONS**

*Zakład Użytków Zielonych, Instytut Technologiczno-Przyrodniczy w Falentach  
Department of Grasslands, Institute of Technology and Life Sciences*

Celem badań była ocena wpływu nawożenia i dokarmiania dolistnego na trwałość gatunków, plony oraz skład chemiczny runi łąkowej w warunkach produkcyjnych.

Badania prowadzono w latach 2006–2008 na 3-kośnej, zdegradowanej łące na glebie organicznej, na kwaterach o powierzchni 1 ha. Doświadczenie obejmowało 5 kombinacji: 1) PK, 2) NPK doglebowo, 3) NPK (N dolistnie), 4) NPK+Plonvit (N i Plonvit dolistnie), 5) NPK+Plonvit+MgSO<sub>4</sub> (N, Plonvit, MgSO<sub>4</sub> dolistnie). Stosowano nawożenie: P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 60 i K<sub>2</sub>O 120 kg/ha doglebowo, mocznik dolistnie i doglebowo (N 120 kg/ha) oraz dokarmiano dolistnie magnezem (9 kg MgSO<sub>4</sub>/ha) i Plonvitem (6 l/ha). Stwierdzono, że nawożenie i dokarmianie dolistnie azotem oraz Plonvitem i MgSO<sub>4</sub> (4. i 5.) działało stabilizująco na plony i wyrównanie ich rozkładu, zwłaszcza w okresach niedoboru opadów, ale największe plony łączne za 3 lata – 23,87 t z ha (średnio 7,96) uzyskano na obiekcie 4. (NPK+Plonvit) i nieco (o 0,7 t) mniejsze na obiekcie 2. (NPK – N dog.). Na większości obiektów zmniejszył się udział roślin zielnych (z 40–47,5% do 20% na obiekcie 2. i do 30–32% na pozostałych) oraz zwiększył się do ok. 15% udział bobowatych, tylko na obiekcie 4. i na 3. do 8 i 10%. Największy udział traw (65%) uzyskano na obiekcie 2. (NPK – N dog.) oraz 60 i 59% na obiektach 4. i 3.; do dominacji zwiększył się udział *Holcus lanatus* na obiektach 1., 3. i 4., a udział *Poa pratensis* i *Poa trivialis* zwiększył się na obiektach 2. i 4., a zmniejszył na 1. Na wszystkich obiektach zwiększył się nieco udział *Festuca rubra* i prawie całkowicie wypadła *Phalaris arundinacea*. Skład chemiczny runi I pokosu był najkorzystniejszy na obiekcie 5. (NPK+Plonvit+MgSO<sub>4</sub>): średnie zawartości K (15,3 g kg<sup>-1</sup> s.m.), Ca (11,3 g kg<sup>-1</sup> s.m.), Mg (3,4 g kg<sup>-1</sup> s.m.) były największe, a zawartości sodu (0,9 g kg<sup>-1</sup>), i fosforu (3,0 g kg<sup>-1</sup>) porównywalne z zawartościami w runi innych obiektów.

**SŁOWA KLUCZOWE:** dokarmianie dolistne, Plonvit, plony, skład botaniczny, zawartość składników mineralnych

---

Do cytowania – For citation: Jankowska-Huflejt H., 2012. Wpływ nawożenia i dokarmiania dolistnego na plony, trwałość gatunków i skład chemiczny runi łąkowej w warunkach produkcyjnych. Zesz. Nauk. UP Wroc., Rol. CIII, 589: 115–124.

## WSTĘP

Czynnikiem wspomagającym uzyskiwanie dużych plonów roślin dobrej jakości może być uzupełnienie nawożenia doglebowego dolistnym dokarmianiem azotem oraz makro- i mikroelementami. Według Szewczuka i Michałowicza (2003) zabieg ten zapewni bardziej efektywne i szybsze dostarczanie roślinom potrzebnych składników pokarmowych oraz lepsze (10-, a niektórych nawet 30-krotnie) ich wykorzystanie niż nawożenie doglebowe, zwłaszcza w warunkach prawidłowego odczynu gleby (Michałojć, Szewczuk 2003). Dolistne dokarmianie roślin łąkowych może mieć duże znaczenie zwłaszcza na glebach organicznych i w warunkach ograniczonego pobierania składników pokarmowych z gleby, np. w warunkach suszy, niedostatecznie rozwiniętego systemu korzeniowego czy nieodpowiedniego pH. Dotychczas niewiele jest badań i opracowań na ten temat, brak wyników doświadczeń produkcyjnych, a jednocześnie coraz większa liczba dostępnych na rynku preparatów do dolistnego dokarmiania roślin z informacjami nie zawsze popartymi wynikami badań naukowych.

Celem przeprowadzonych badań była ocena wpływu nawożenia i dokarmiania dolistnego na trwałość gatunków, plonowanie i skład chemiczny runi łąkowej w warunkach produkcyjnych. Założono, że nawożenie pogłówne uzupełnione dokarmianiem dolistnym ułatwi renowację użytku i uzyskiwanie dużych plonów zielonki lub suchej masy jako wartościowej paszy dla zwierząt. Będzie to możliwe w wyniku lepszego wykorzystania zastosowanych składników nawozowych, gdyż nawożenie dolistne trwałych użytków zielonych (szybciej przyswajalne i uzupełniające niedoborowe składniki) powinno wpłynąć dodatnio na wszystkie procesy w roślinie. W warunkach zaniedbanych użytków zielonych może być elementem renowacyjnym, ograniczając wypadanie ze składu botanicznego cennych roślin.

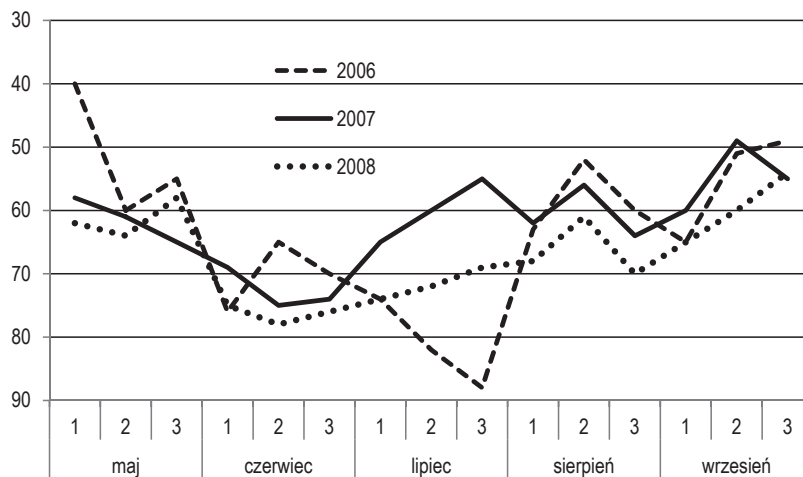
## METODY BADAŃ

Badania prowadzono w latach 2006–2008 jako łąkowe (powierzchnia łąki ok. 1 ha), na zdegradowanej łące trwałej na glebie organicznej – torfowo-murszowej (mIIcc(b)) w ZDMUZ w Biebrzy. Doświadczenie obejmowało 5 kombinacji nawozowych: PK; NPK – N doglebowo, NPK – N dolistnie, NPK + Plonvit (N i Plonvit dolistnie), NPK + Plonvit + MgSO<sub>4</sub> (N, Plonvit i MgSO<sub>4</sub> dolistnie). Zakres prac badawczych obejmował: ocenę plonów suchej masy, skład botaniczny runi – metodą szacunkową (udział w plonie), skład chemiczny runi, poziom wody gruntowej w odstępach dekadowych (rys. 1). Nawożenie wykonywano 3-krotnie w sezonie wegetacyjnym: wiosną oraz po I i II pokosie, nawożenie dolistne na run o wysokości 12 cm, w trzy tygodnie po rozpoczęciu wegetacji oraz 8–10 dni po sprzęcie poszczególnych pokosów. Roczne dawki nawozów wynosiły: N (mocznik) – 120 kg/ha (50 + 45 + 25); K<sub>2</sub>O – 120 kg/ha (3 x 40 kg/ha); P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> – 60 kg; MgSO<sub>4</sub> – 9 kg/ha (3 x 3 kg/ha), Plonvit P – 6 l/ha (3 x 2 l/ha) (skład Plonvitu P, w g/l, N – 8; Mg – 5; Fe – 0,5; Mn – 0,55; Zn – 0,5; Cu – 0,3; B – 0,15; Mo – 0,005; Na – 1,5; Ti – 0,01; J – 0,003).

Łąkę koszono 3-krotnie. Makroskładniki w runi oznaczano po mineralizacji próbek na moko w mieszaninie stężonych kwasów (azotowy HNO<sub>3</sub>, nadchlorowy HClO<sub>4</sub>; siarkowy H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – w proporcji: 4 : 1 : 0,5); Mg – w wyciągu po ekstrakcji 0,05 mol CaCl<sub>2</sub> d·m<sup>-3</sup>,



Ca – po ekstrakcji 0,03 mol  $\text{CH}_3\text{COOH d}\cdot\text{m}^{-3}$ , N i P – metodą kolorymetrii przepływowej, K i Na – spektrometrii emisyjnej, płomieniowej, Mg i Ca – spektrometrii absorpcji atomowej.



Rys. 1. Poziom wody gruntowej (cm) – w dekadach

Fig. 1. The level of ground water (cm) – in decade

## WYNIKI I OMÓWIENIE

**Plonowanie.** Plony s.m. roślin zależały od roku oraz rodzaju i sposobu nawożenia. Zwłaszcza w latach 2006 (z długotrwałą suszą od końca maja do połowy sierpnia) i 2008 (długi wiosenny okres bezopadowy), w których susza wpłynęła na wielkość i rozkład plonowania (tab. 1, rys. 1). W 2006 r. plony III pokosu równały się z plonami I, a na niektórych obiektach nawet je przewyższały, jak np. po nawożeniu NPK (N dog. i dol.). Jednak podczas suszy (II odrost) największe plony (2,26 i 2,16 t z ha) uzyskano na obiektach 4. i 5., tj. z dokarmianiem dolistnym. W 2008 r. na większości obiektów nawozowych plony I pokosu były porównywalne lub mniejsze od plonów II pokosu, a istotnie największy roczny plon s.m. uzyskano na obiekcie NPK (N dog.) – 9,20 t z ha, kolejny – na obiekcie NPK + Plonvit – 8,19 t z ha. Plony s.m. z pozostałych obiektów były zbliżone do siebie: od 7,10 t na NPK+Plonvit+MgSO<sub>4</sub>, do 7,71 t z ha na PK. Na obiektach nawożonych dolistnie plony I i II pokosu były bardziej wyrównane w latach niż na pozostałych obiektach nawozowych.

Tabela 1  
Table 1Plony s.m (t ha<sup>-1</sup>)  
Dry matter yields

Kombinacja nawozowa	I pokos – 1 <sup>st</sup> cut			II pokos – 2 <sup>nd</sup> cut			III pokos – 3 <sup>th</sup> cut			Razem – Total			
	2006	2007	2008	2006	2007	2008	2006	2007	2008	2006	2007	2008	3 lata 3 years
1. PK	3,25	2,54	2,85	1,77	2,88	3,32	2,32	1,49	1,54	7,34	6,92	7,71	21,97
2. NPK (N dogl.)	2,75	2,87	3,96	1,01	3,14	3,27	2,70	1,47	1,97	6,46	7,48	9,20	23,14
3. NPK (N dol.)	2,43	2,72	2,51	0,91	2,70	2,99	2,94	1,51	1,94	6,28	6,93	7,44	20,65
4. NPK + Plonvit	3,44	2,96	3,36	2,26	2,72	3,13	2,66	1,63	1,70	8,36	7,32	8,19	23,87
5. NPK + Plonvit + MgSO <sub>4</sub>	2,88	3,02	2,42	2,16	3,06	3,05	2,65	1,59	1,63	7,68	7,66	7,10	22,44
Odchylenie standardowe Standard deviation	0,48	0,29	0,62	0,63	0,32	0,24	0,56	0,17	0,21	0,99	0,45	0,82	0,48

Sumaryczne plony z trzech lat badań były istotnie największe (23,87 t z ha) na obiekcie NPK + Plonvit i nieco tylko mniejsze (23,14 t) na obiekcie NPK (N – dog.). Najmniejszy plon sumaryczny (20,65 t z ha) uzyskano na obiekcie NPK (N dol.). Natomiast w innych badaniach własnych autorki (Jankowska-Huflejt 2006) na glebie mineralno-murszowej różnice w wielkości plonów po nawożeniu mocznikiem dolistnie i doglebowo były nieistotne, natomiast na glebie organicznej największe plony uzyskano na obiekcie mocznik doglebowo z MgSO<sub>4</sub> dolistnie, ale już bez MgSO<sub>4</sub> – po moczniku dolistnie. Największe plony po stosowaniu azotu doglebowo uzyskali także Jodelka i wsp. (2003). Z kolei w badaniach własnych autorki na glebie mineralnej (Jankowska-Huflejt Klusek 2006) większe plony uzyskano po dolistnym dokarmianiu roślin. Również w 10-letnich badaniach Jodelki (2008) zastosowanie doglebowo 55 kg azotu (saletra amonowa) i 3-krotne dolistne dokarmianie 10-proc. roztworem mocznika łącznie z Plonvitem P dało zbliżone, a w niektórych latach nawet lepsze ilościowo i jakościowo efekty plonotwórcze niż zastosowanie 220 kg N doglebowo.

**W składzie florystycznym** (tab. 2) zmniejszył się udział roślin zielnych – z zakresu 40–47,5 do 20–32%. Dominujący w 2006 r. *Leontodon autumnalis* L. zmniejszył swój udział z zakresu 20–32,5 do 3–10%, największe zmniejszenie – o ponad 20% udziału – nastąpiło na obiektach PK oraz NPK (N dol. i dog.), na pozostałych o 15 i 13%. Zwiększył się natomiast udział *Ranunculus repens* L. – na obiektach PK i NPK (N dol.) do 10%. Miejsce roślin zielnych zajęły bobowate (*Trifolium repens* L.) i trawy. Udział bobowatych na większości obiektów doświadczalnych zwiększył się do 15%, tylko na NPK+Plonvit i NPK (N dol.) do 8 i 10%. Największy udział traw (do ok. 60%) uzyskano na obiekcie NPK (N dog.) – wzrost o 10% oraz NPK+Plonvit i NPK (N dol.) wzrost o 5 i 6,5%. Do ilości dominującej (oprócz NPK – N dol. i dog.) zwiększył się udział *Holcus lanatus*: na PK (z 20 do 34%), na NPK + Plonvit (z 12,5 do 25%). Zmiany udziału *Poa pratensis* L. i *Poa trivialis* były zróżnicowane: zwiększenie wystąpiło głównie na obiektach NPK (N dog.) (z 32,5 do 40%) i NPK + Plonvit (z 18,5 do 25%),

a zmniejszenie na PK (z 19 do 10%). Na wszystkich obiektach zwiększył się nieco udział *Festuca rubra*: głównie na obiektach NPK (N dol. i N dog.) oraz prawie całkowicie wypadła *Phalaris arundinacea* L. W innych badaniach własnych (Jankowska-Huflejt 2006) po stosowaniu mocznika doglebowo zwiększył się udział *Ranunculus repens* L. i *Taraxacum officinale* (F.H. Wigg), a po stosowaniu dolistnym uzyskano większą trwałość i udział grupy traw (w tym *Alopecurus pratensis* L. i *Lolium multiflorum* Lam.) w runi. W badaniach Jodelki i wsp. (2003) mocznik stosowany dolistnie najbardziej stymulował udział *Festuca pratensis* Huds.

Tabela 2  
Table 2Skład florystyczny runi – I pokos  
Botanical composition of the sward – 1<sup>st</sup> cut

Gatunek Species	1. PK		2. NPK (N doglebowo N soil fertiliza- tion)		3. NPK (N dolistnie – N foliar)		4. NPK + Plonvit		5. NPK+ + Plonvit + MgSO <sub>4</sub>	
	2006	2008	2006	2008	2006	2008	2006	2008	2006	2008
<i>Phalaris arundinacea</i>	0,5	+	3,5	1	9	2	9	1	10	+
<i>Poa pratensis</i> i <i>trivialis</i>	19	10	32,5	40	29,5	25	18,5	25	14	18
<i>Alopecurus pratensis</i>	5	2	5	2	4	2	7,5	1	5	2
<i>Holcus lanatus</i>	20	34	7,5	10	7,5	20	12,5	25	26	25
<i>Festuca rubra</i>	3,5	10	6,5	12	2,5	10	5	8	5	10
Inne – Other	1									
Trawy razem Grasses total	52,5	54	55	65	52,5	59	55	60	60	55
<i>Trifolium repens</i>	6	15	3,5	15	2	10	3,5	8	3	15
<b>Bobowate razem Fabaceae total</b>	6	15	3,5	15	2	10	3,5	8	3	15
<i>Leontodon autumnalis</i>	32,5	10	27,5	5	24,5	3	20	5	20	7
<i>Ranunculus repens</i> L.	1,5	10	2,5	5	3	10	4	5	4	4
<i>Arabis arenosa</i>	2	2	3	1	2	2	3,5	1	1	
<i>Rumex acetosa</i> L.	5	5	4	4	6,5	5	8	4	5	3
<i>Taraxacum officinale</i>	+	1	1,5	2	2	3	2	2	2	4
<i>Achillea millefolium</i> L.	0,5	+	1	2	6	5		8	1	4
<i>Veronica chamaedrys</i>		+		2		5		8		4
Inne – Other	1,0	3	2	1	1	3	3,0	5	5,1	8
Zielne razem Herbs and weeds total	47,5	31	45	20	47,5	31	45	32	40	30

**Zawartość składników mineralnych w runi** (tab. 3) w dużym stopniu zależała od pokosu, na co wpływały warunki wodne (rys. 1). Zawartość azotu w suchej masie runi

Tabela 3  
Table 3

Zawartość (g kg<sup>-1</sup> s.m.) składników mineralnych w runi łąkowej z 3 pokosów – lata 2006–2008  
Content (g kg<sup>-1</sup> d.m.) of mineral components in the sward from 3 cuts – years 2006–2008

Obiekt Treatment	Lata Years	N			P			K			Ca			Mg			Na		
		I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
1. PK	2006	28,3	29,4	33,7	3,5	2,8	3,2	17,5	17,3	21,2	12,1	14,1	13,0	3,2	4,6	4,0	1,0	1,7	3,0
	2007	21,6	23,3	32,8	2,6	2,6	2,5	13,	13,6	12,4	8,7	11,4	13,0	2,8	3,4	4,4	1,0	1,4	2,
	2008	26,7	27,3	30,9	3,4	2,9	2,7	13,4	13,6	19,1	11,2	17,1	13,3	2,6	4,2	3,0	0,9	1,4	1,7
	średnio mean	25,5	26,7	32,5	3,2	2,8	2,8	14,6	14,8	17,6	10,7	14,2	13,1	2,9	4,1	3,8	1,0	1,5	2,1
2. NPK (N doglebowo)	2006	3,0,4	31,1	34,4	3,3	2,9	3,3	11,6	18,0	12,8	11,4	12,9	11,7	3,7	4,0	4,7	0,9	1,8	1,5
	2007	23,9	26,4	34,	2,8	2,2	2,5	11,8	11,3	10,9	7,7	10,3	11,2	2,7	3,4	4,6	0,5	1,4	1,4
	2008	26,4	28,6	32,8	2,8	2,6	2,4	11,4	13,8	17,9	11,1	13,7	11,3	2,5	3,5	2,7	0,9	1,3	1,6
	średnio mean	26,9	28,2	33,7	3,0	2,6	2,7	11,6	14,4	13,9	10,1	12,3	11,4	3,0	3,6	4,0	0,8	1,5	1,5
3. NPK (N dolistnie)	2006	31,5	32,4	33,9	3,3	2,7	2,8	9,7	23,8	15,	11,5	12,0	11,6	3,4	3,7	4,2	1,1	1,2	2,0
	2007	28,7	28,6	33,1	2,7	2,5	2,5	12,9	14,9	14,7	9,0	11,6	12,8	3,1	3,2	3,9	0,6	0,8	1,0
	2008	27,0	25,5	30,9	3,4	2,7	2,8	13,8	13,3	15,8	12,0	14,5	11,5	2,5	3,6	3,3	0,9	0,1	1,3
	średnio mean	29,1	29,7	33,0	3,1	2,6	2,7	12,1	17,7	15,6	10,8	12,0	12,2	3,0	3,5	3,9	0,9	1,2	1,7
4. NPK + Plonvit	2006	29,4	28,8	31,3	3,4	2,9	2,7	18,6	26,3	24,3	9,7	11,1	10,2	3,0	3,7	3,6	1,6	0,9	1,0
	2007	25,1	26,7	30,1	2,7	2,6	2,1	12,7	15,9	13,2	8,7	11,5	10,9	3,1	3,3	3,8	0,6	1,4	1,3
	2008	23,5	24,8	27,2	3,0	2,3	2,7	11,9	10,3	16,9	8,9	12,0	11,3	2,5	3,6	2,9	0,8	0,1	1,3
	średnio mean	26,0	26,8	29,5	3,0	2,6	2,5	14,4	17,5	18,1	9,1	11,5	10,8	2,9	3,5	3,5	1,0	0,8	1,2
5. NPK +Plonvit +MgSO4	2006	31,3	32,7	31,4	3,3	3,2	2,7	17,6	19,4	15,1	12,6	15,0	11,6	3,8	5,0	4,9	0,8	1,4	1,5
	2007	24,7	25,7	32,6	2,5	2,2	2,3	14,6	12,2	12,4	10,4	11,6	12,9	3,2	4,2	4,6	0,9	0,8	1,2
	2008	26,4	23,1	31,4	3,1	2,3	2,8	13,8	10,7	20,4	10,9	10,4	12,5	3,1	3,0	3,2	1,0	1,3	1,2
	średnio mean	27,5	27,2	31,8	3,0	2,6	2,6	15,3	14,1	16,0	11,3	12,3	12,3	3,4	4,1	4,2	0,9	1,2	1,3
Odchylenie standardowe Standard deviation		2,9	3,0	1,9	0,03	0,3	0,3	2,5	4,7	3,8	1,5	1,9	0,9	0,4	0,5	0,7	0,3	0,5	0,5

była dosyć duża we wszystkich latach, zwłaszcza w runi III pokosu. Generalnie w I i II pokosie zawartość ta była mniejsza na PK i NPK+Plonvit, a większa na NPK (N dog. i N dol.) oraz NPK+Plonvit+  $MgSO_4$ , a w III pokosie – większa na NPK i PK. Zawartość fosforu w małym stopniu zależała od nawożenia, w latach 2006 i 2007 w I pokosie była większa w runi z obiektów PK i NPK (N dog.), a w II pokosie (susza) po dokarmianiu Plonvitem i  $MgSO_4$ . W 2008 r., też z małą ilością opadów w okresie wiosennym, więcej zawierała go run z obiektów PK i NPK (N dol.), a znacznie mniej z obiektów NPK (N dog.).

Zawartość potasu we wszystkich latach i na wszystkich obiektach była większa w runi II i III pokosu niż I. W runi I pokosu jego średnie (z trzech lat) zawartości były największe (15,3 oraz 14,6 i 14,4 g  $kg^{-1}$ ) na obiektach NPK+Plonvit+ $MgSO_4$  oraz PK i NPK + Plonvit. W runi II pokosu była największa na obiekcie NPK (N dol.) i NPK + Plonvit, a w III pokosie w runi z obiektów PK i NPK + Plonvit. Najmniej potasu, we wszystkich pokosach, zawierała run z obiektu NPK (N dog.). W okresach suszy – lata 2006 (okres I i II odrostu) i 2008 (okres wiosenny) – najwięcej na obiektach PK oraz obiektach z dokarmianiem (z Plonvitem i  $MgSO_4$ ).

Zawartość wapnia w runi I pokosu średnio z lat badań była największa na obiektach NPK + Plonvit +  $MgSO_4$  (11,3 g  $kg^{-1}$  s. m.) oraz NPK (N dol.) i PK (10,8 i 10,7 g  $kg^{-1}$ ). Również w latach niedoboru opadów (2006 i 2008) run z tych obiektów zawierała go więcej w stosunku do pozostałych obiektów. W kolejnych pokosach (I i III) zawartość wapnia była raczej wyrównana, oprócz runi z obiektu PK, w której była znacznie większa (14,2 g  $kg^{-1}$  w II i 13,1 w III pokosie). We wszystkich pokosach najmniej Ca (9,1 g  $kg^{-1}$ ; 11,5 oraz 10,8 g  $kg^{-1}$  w kolejnych pokosach) zawierała run z obiektu NPK + Plonvit, co można tłumaczyć najmniejszym udziałem w runi roślin bobowatych. W badaniach Koleczarka i wsp. (2008) zawartość wapnia była jednoznacznie większa po nawożeniu N dolistnie (55,2  $kg\ ha^{-1}$ ) niż doglebowo (41,9  $kg\ ha^{-1}$ ).

Duża ogólnie zawartość magnezu była – zgodnie z oczekiwaniami – średnio we wszystkich pokosach największa (3,4  $kg\ ha^{-1}$  oraz 4,1 i 4,2  $kg\ ha^{-1}$ ) w runi dokarmianej dolistnie tym składnikiem (obiekt NPK+Plonvit+ $MgSO_4$ ). Z pozostałych obiektów wyróżniała się jeszcze run z obiektu PK (2,9; 4,1 i 3,8 g  $kg^{-1}$ ) i w mniejszym stopniu z NPK (N dog.).

Zawartość sodu średnia z trzech lat w runi wszystkich pokosów i obiektów była mała: od 0,8 g  $kg^{-1}$  (na NPK + Plonvit II pokos i NPK dogl. I pokos) do 2,1 g  $kg^{-1}$  na PK w III pokosie. W I pokosie w większości próbek nie przekraczała 1 g  $kg^{-1}$  s.m., uznawanej za zadowalającą dla przeżuwaczy (Krzywiecki 2002). W runi I pokosu zawartość ta była wyrównana, a w runi II i III pokosu największa na obiekcie PK i NPK (N dog.), a najmniejsza na NPK+Plonvit, szczególnie mało w 2008 r. W badaniach nawożenia dolistnego łąk Koleczarek i wsp. (2008) podają, że zawartość sodu była większa w przypadku dolistnego stosowania mocznika niż saletry amonowej doglebowo w mniejszej dawce.

Ogólnie można stwierdzić, że nawożenie NPK+Plonvit+ $MgSO_4$  (nawożenie N i dokarmianie dolistnie) okazało się najkorzystniejsze ze względu na największe zawartości K, Ca, Mg oraz niewiele tylko mniejsze lub porównywalne z innymi obiektami zawartości fosforu. Dużą zawartość składników mineralnych w runi obiektu PK można wytłumaczyć przyspieszoną mineralizacją gleby torfowej w wyniku jej przesuszenia przez kolejne lata z długimi okresami suszy. O składzie chemicznym runi decydował też jej

skład gatunkowy. Na większości obiektów z dużym udziałem (prawdopodobnie po przesuszeniu gleby) występowała kłosówka wełnista, bogata w składniki mineralne, chociaż nie lubiana przez zwierzęta. Trawa ta również na obiekcie NPK (N dol.) zwiększyła swój udział do 20%, a uzupełniała ją (ponad 30% udziału w plonie) grupa roślin zielnych, też charakteryzujących się większą zawartością składników mineralnych niż trawy.

## WNIOSKI

1. Nawożenie dolistnie azotem i jednoczesne dokarmianie dolistne Plonvitem i  $MgSO_4$  działało stabilizująco na plony i wyrównanie ich rozkładu, zwłaszcza w okresach niedoboru opadów. Największe plony sumaryczne uzyskano na obiekcie NPK+Plonvit (N i Plonvit dolistnie) i nieco mniejsze (o 0,73 t z ha) na obiekcie NPK (N doglebowo).

2. Trzyletnie dolistne nawożenie azotem i dokarmianie Plonvitem oraz regularne trzykonne użytkowanie zdegradowanej łąki spowodowało korzystne zmiany składu botanicznego na wszystkich obiektach: zmniejszył się udział roślin zielnych.

3. W trzyletnim doświadczeniu najkorzystniejszy skład chemiczny runi łąkowej I pokosu uzyskano po nawożeniu łącznym NPK + Plonvit +  $MgSO_4$ . Średnie zawartości K, Ca, Mg były największe, a zawartości fosforu i sodu porównywalne z zawartością w runi innych obiektów.

4. Sposób stosowania azotu: dolistnie czy doglebowo miał mniejszy wpływ na plony i skład chemiczny niż dokarmianie Plonvitem i  $MgSO_4$ .

## PIŚMIENNICTWO

- Falkowski M., Kukułka I., Kozłowski S., 2000. Właściwości chemiczne roślin łąkowych. Poznań: AR: 132.
- Jankowska-Huflejt H., 2006. Analiza plonowania i zmian składu botanicznego runi łąkowej pod wpływem dokarmiania azotem dolistnie i doglebowo. *Annales UMCS Sec.E. Agricultura* 61: 397–404.
- Jankowska-Huflejt H., Klusek G., 2006. The influence of different foliar fertilization on the yield and botanical composition of meadow sward. *Grassland Science in Europe*, 11: 107–109.
- Jodełka J., Jankowski K., Ciepela G.A., 2003. Ocena stosowania azotu dolistnie w systemie nawożenia łąki trwałej. *Acta Agrophysica*, 85: 339–345.
- Jodełka J., Dokarmianie dolistne traw. *Farmer* 9/2008.
- Kolczarek R., Ciepela G.A., Jankowska J., Jodełka J., 2008. Influence of different forms of nitrogen fertilization on the content of macroelements (Ca, Mg) in meadow sward Part II. *J. Elementol.*, 13 (3): 349–355.
- Krzywiecki S., 2002. Żywnienie krów mlecznych paszami z łąk i pastwisk [w:] Pasze z użytków zielonych czynnikiem jakości zdrowotnej środków żywienia zwierząt i ludzi. Pr. zbior. Red. H. Jankowska-Huflejt, J. Zastawny. Falenty: Wydaw. IMUZ: 36–52.
- Michałojć Z., Szewczuk C., 2003. Teoretyczne aspekty dolistnego dokarmiania roślin. *Acta Agrophysica* 85: 9–18.
- Szewczuk C., Michałojć Z., 2003. Praktyczne aspekty dolistnego dokarmiania roślin. *Acta Agrophysica* 85: 19–30.

## EFFECT OF FERTILIZATION AND FOLIAR FEEDING ON THE YIELDS, PERSISTENCE OF SPECIES AND CHEMICAL COMPOSITION OF MEADOW SWARD IN PRODUCTION CONDITIONS

### Summary

The aim of this study was to evaluate the effect of fertilization and foliar feeding on the persistence of species, yields and chemical composition of the meadow sward in production conditions. The study was conducted in 2006–2008 on 3-cut, degraded meadow on organic soil, on the plots of 1 ha area. The experiment included 5 combinations: 1) PK, 2) NPK to soil, 3) NPK (N foliar), 4) NPK+Plonvit (N and Plonvit foliar), 5) NPK+Plonvit+MgSO<sub>4</sub> (N, Plonvit, MgSO<sub>4</sub> foliar). The following fertilization was applied: P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 60 and K<sub>2</sub>O 120 kg/ha to soil, urea foliar and to soil (N 120 kg/ha) and foliar feeding with magnesium (9 kg MgSO<sub>4</sub>/ha) and Plonvit (6 l/ha). It was found that fertilization and foliar feeding with nitrogen, Plonvit and MgSO<sub>4</sub> (4. and 5.) stabilized yields and even their distribution, especially in periods with shortage of rainfall, but the highest total yields for 3 years – 23.87 t ha (mean 7.96 t) was obtained at object 4. (NPK+Plonvit) and slightly (by 0.7 t) lower on an object 2. (NPK-N to soil). On most objects, the proportion of herbaceous plants decreased from 40–47.5% to 20% on object 2. and to 30–32% on the remaining objects. The participation legumes increased to approximately 15%, but only on object 4. and to 8% and 10% on object 3. The largest share of grasses (65%) was obtained on object 2. (NPK- N to soil) and 60% and 59% on objects 4. i 3. *Holcus lanatus* dominated on objects 1., 3. and 4. The share of *Poa pratensis* and *Poa trivialis* increased on objects 2. and 4. and declined on object 1. On all objects slightly increased the participation of *Festuca rubra* but *Phalaris arundinacea* almost completely disappeared. The chemical composition of the I cut sward was the most favorable on object 5. (NPK+Plonvit+ MgSO<sub>4</sub>): the mean content of K (15,3 g kg<sup>-1</sup> s.m.), Ca (11,3 g kg<sup>-1</sup> s.m.), Mg (3,4 g kg<sup>-1</sup> s.m.) were the highest, and Na content (0.9 g kg<sup>-1</sup>) and P (3.0 g kg<sup>-1</sup>) similar to the contents in sward from other objects.

KEY WORDS: foliar feeding, Plonvit, yields, botanical composition, mineral elements content





**Wacław Jarecki, Dorota Bobrecka-Jamro**

**WPLYW DOLISTNEGO DOKARMIANIA BASFOLIA-  
REM 6–12–6 NA WIELKOŚĆ I JAKOŚĆ PLONU ŁUBINU  
WĄSKOLISTNEGO (*LUPINUS ANGUSTIFOLIUS* L.)**

**IMPACT OF FOLIAR FERTILIZATION  
WITH BASFOLIAR 6-12-6 ON THE QUANTITY AND QUALITY  
OF CROPS OF BLUE LUPIN (*LUPINUS ANGUSTIFOLIUS* L.)**

*Katedra Produkcji Roślinnej, Uniwersytet Rzeszowski*  
*Department of Crop Production, University of Rzeszów*

Ścisłe doświadczenie polowe przeprowadzono w latach 2009–2011 w Stacji Doświadczalnej Wydziału Biologiczno-Rolniczego Uniwersytetu Rzeszowskiego w Krasnem. Celem badań było określenie reakcji odmian łubinu wąskolistnego – Neptun i Zeus na dolistne dokarmianie Basfoliarem 6–12–6. Wyniki badań dowiodły, że aplikowany nawóz istotnie zwiększył liczbę strąków na roślinie i masę tysiąca nasion (MTN) w porównaniu z obiektem kontrolnym. Liczba nasion w strąku nie została istotnie zróżnicowana przez badany czynnik. Zastosowane dokarmianie dolistne istotnie zwiększyło plon nasion oraz zawartość białka ogólnego w nasionach w porównaniu z obiektem kontrolnym. Stwierdzono, że użycie Basfoliaru 6–12–6 w niewielkim stopniu zmodyfikowało zawartość makro- i mikroelementów w nasionach. Istotne różnice, w porównaniu z kontrolą, dotyczyły tylko manganu. W nasionach odmiany Neptun, w porównaniu z odmianą Zeus, uzyskano istotne zróżnicowanie zawartości wapnia, magnezu, manganu i miedzi.

**SŁOWA KLUCZOWE:** łubin wąskolistny, dokarmianie dolistne, plon, elementy struktury plonu, białko, makro- i mikroelementy

## WSTĘP

Prawidłowe zaopatrzenie rośliny strączkowych w składniki pokarmowe zwiększa liczbę kwiatów, zawiązywanie strąków i wykształcanie nasion. W efekcie tego wzrasta plon i poprawia się jego wartość biologiczna. Rośliny strączkowe obok makroelementów wykazują również duże zapotrzebowanie na mikroelementy takie jak: molibden,

Do cytowania – For citation: Jarecki W., Bobrecka-Jamro D., 2012. Wpływ dolistnego dokarmiania Basfoliarem 6–12–6 na wielkość i jakość plonu łubinu wąskolistnego (*Lupinus angustifolius* L.). Zesz. Nauk. UP Wroc., Rol. CIII, 589: 125–134.

bor, miedź, mangan, cynk, żelazo czy tytan (Yu, Rengel 1999, Prusiński, Borowska 2003, Prusiński i wsp. 2010). Niedobór mikroelementów w glebach Polski jest zróżnicowany regionalnie i dotyczy głównie boru i miedzi (Gembarzewski 2000, Lipiński 2009). Wystąpić może również ograniczone pobierania składników pokarmowych przez system korzeniowy, np. w wyniku niedoboru wody. Za korzystne wówczas uznaje się stosowanie preparatów dolistnych (Prusiński, Borowska 2003, Księżak, Podlesny 2005, Faligowska, Szukała 2007b, Prusiński i wsp. 2010). Zabieg dokarmiania dolistnego pozwala na bardzo szybkie wprowadzenie do części nadziemnych roślin uprawnych deficytowych składników pokarmowych (Czuba 2000, Szewczuk, Michałojć 2003, Grzyś 2004, Jaskulski 2004, Szewczuk, Sugier 2009). Dla roślin strączkowych szczególnie polecane są nawozy zawierające komplet makro- i mikroelementów (Szewczuk, Sugier 2009). Ponieważ mikroelementy są na ogół słabo reutilizowane w roślinie, stąd za korzystne uznaje się ich kilkakrotne stosowanie w okresie wegetacji (Czuba 2000, Hoffmann, Górecki 2000, Szewczuk, Michałojć 2003). Dotychczasowe wyniki badań nad zasadnością stosowania nawozów dolistnych w uprawie łubinu są rozbieżne (Faligowska, Szukała 2007a, b, Kurasiak-Popowska, Szukała 2007, Prusiński i wsp. 2010). Zabieg taki można zatem rekomendować dla praktyki rolniczej tylko w uzasadnionych przypadkach a przy ocenie potrzeb dolistnego dokarmiania trzeba brać pod uwagę efekty ekonomiczne. Koszty dokarmiania nie powinny bowiem przewyższyć wartości uzyskanej zwyżki plonu nasion. Stąd polecane w agrotechnice roślin uprawnych, w tym strączkowych jest łączne stosowanie nawozów dolistnych z agrochemikaliami (Pruszyński, Mrówczyński 2002, Prusiński, Borowska 2003, Piwowar 2007, Szewczuk, Sugier 2009, Sztuder 2009). Celem badań było określenie reakcji łubinu wąskolistnego na dokarmianie dolistne Basfoliarem 6–12–6.

## MATERIAŁ I METODY

Ścisłe dwuczynnikowe doświadczenie polowe z łubinem wąskolistnym prowadzono w latach 2009–2011 w Stacji Doświadczalnej Wydziału Biologiczno-Rolniczego Uniwersytetu Rzeszowskiego w Krasnem (50°03' N, 22°06' E) koło Rzeszowa. Eksperyment prowadzono w czterech powtórzeniach w układzie split-plot. Badanymi czynnikami były:

- I – dokarmianie dolistne (Basfoliar 6–12–6, brak dokarmiania)
- II – odmiany (Neptun, Zeus).

Warunki wilgotnościowo-termiczne podano według Biuletynów Agrometeorologicznych IMiGW w Warszawie, na podstawie zapisów Stacji Meteorologicznej w Jasionce koło Rzeszowa. W 2010 r. obfite opady atmosferyczne, wynoszące w okresie kwiecień–sierpień 651,8 mm, silnie zróżnicowały wzrost i rozwój roślin. Przebieg warunków pogodowych w 2009 i 2011 r. był na ogół korzystny dla wegetacji roślin. Suma opadów od kwietnia do sierpnia wyniosła odpowiednio 372,5 mm i 450,0 mm. Średnie temperatury powietrza były mniej zmienne i w mniejszym zakresie odbiegały od wieloletnich (tab. 1).

Tabela 1  
Table 1

Warunki pogodowe w okresie wegetacji łubinu wąskolistnego w latach 2009–2011  
Weather conditions in the growing period of blue lupine in the years 2009–2011

Miesiące Months	Opady (mm) – Rainfall				Średnie temperatury (°C) Mean temperatures			
	2009	2010	2011	Średnia z lat Average for the years	2009	2010	2011	Średnia z lat Average for the years
IV	3,7	49,9	50,0	50,6	11,1	8,9	10,3	8,7
V	102,6	177,0	49,2	80,8	13,8	14,3	13,9	13,9
VI	146,4	126,1	88,5	82,0	16,6	17,9	18,1	17,0
VII	98,0	200,2	233,7	88,2	20,7	20,8	18,6	19,0
VIII	21,8	98,6	28,6	68,8	19,4	19,5	19,0	18,2

Próbkę glebową oznaczono w Okręgowej Stacji Chemiczno-Rolniczej w Rzeszowie. Gleba należała do kompleksu pszennego dobrego, klasy bonitacyjnej IIIa. Była to gleba brunatnoziemna wytworzona z lessu, o składzie granulometrycznym pyłu zwykłego. Z punktu widzenia kategorii agronomicznej można ją zaliczyć do gleb średnich. Charakteryzowała się odczynem kwaśnym lub lekko kwaśnym. Zawartość przyswajalnego fosforu, potasu i mikroelementów była średnia, zaś magnezu bardzo niska (tab. 2).

Tabela 2  
Table 2

Wyniki analizy gleby (mg·kg<sup>-1</sup>)  
Results of soil analysis

Rok Year	pH w KCl 1 mol·dm <sup>-3</sup>	Zawartość przyswajalnych form składników pokarmowych The content of available forms of nutrients							
		P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	Mg	Cu	Mn	Zn	Fe	B
2009	5,10	141	170	21	4,1	188,0	5,3	1210	1,55
2010	5,94	112	130	19	4,5	139,5	4,8	965	1,50
2011	5,67	148	145	21	3,2	143,2	5,0	1440	1,50

Wysiewu nasion łubinu wąskolistnego dokonywano w pierwszej lub drugiej dekadzie kwietnia. Materiał siewny zaprawiono Sarfunem T 450 FS. Ilość wysiewu nasion dla obu odmian wyniosła 100 szt·m<sup>-2</sup>. Kwalifikowany materiał siewny pochodził z Hodowli Roślin Smolice, oddział Przebędowo. Powierzchnia jednego poletka wynosiła 15 m<sup>2</sup> (do zbioru 12 m<sup>2</sup>). Przedplonem w każdym roku badań była pszenica ozima. Nawożenie mineralne fosforowo-potasowe (superfosfat potrójny 46% i sól potasowa 60%) zastosowano pod orkę przedzimową w dawkach: 60 kg·ha<sup>-1</sup> P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> i 80 kg·ha<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>O. Szczepienia Nitraginą i nawożenia startowego azotem mineralnym nie stosowano. Do zwalczania chwastów wykorzystano Afalon Dyspersyjny 450 SC w dawce 1,5 dm<sup>3</sup>·ha, zaś do zwalczania chorób użyto Gwarantu 500 SC w dawce 2 dm<sup>3</sup>·ha. Basfoliar 6–12–6 aplikowano dwukrotnie w fazie pąkowania i po przekwitnięciu, w każdorazowej dawce po 10 dm<sup>3</sup>·ha. Ilość cieczy roboczej wyniosła 300 dm<sup>3</sup>·ha. Skład nawozu dolistnego przedstawiono w tabeli 3.

Tabela 3  
Table 3Skład chemiczny nawozu – Basfoliar 6–12–6  
The chemical composition of the fertilizer – Basfoliar 6–12–6

Składniki pokarmowe Nutrients	Zawartość w % objętościowych Content in % by volume	Zawartość w % wagowych Content in% by weight	Zawartość (g·dm <sup>3</sup> ) Content
N – azot – nitrogen	7,2	6,0	72,0
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> – fosfor – phosphorus	14,4	12,0	144,0
K <sub>2</sub> O – potas – potassium	7,2	6,0	72,0
MgO – magnez – magnesium	0,012	0,01	0,12
Mn – mangan – manganese	0,012	0,01	0,12
Cu – miedź – copper	0,012	0,01	0,12
Fe – żelazo – iron	0,012	0,01	0,12
B – bor – boron	0,012	0,01	0,12
Zn – cynk – zinc	0,06	0,05	0,6
Mo – molibden – molybdenum	0,005	0,005	0,06

W fazie pełnej dojrzałości nasion, z każdego poletka, pobrano losowo 20 roślin. Próba ta posłużyła do określenia elementów struktury plonu: liczby strąków na roślinie, liczby nasion w strąku i masy tysiąca nasion przy 15% wilgotności.

Zbiór przeprowadzano jednoetapowo w pierwszej lub drugiej dekadzie sierpnia. Desykacji nie stosowano. Podczas zbioru z każdej kombinacji określano średni plon nasion, przeliczając go na powierzchnię 1 ha, przy uwzględnieniu wilgotności 15%.

Zawartość azotu ogólnego w nasionach określono metodą Kjeldahla i przeliczono na białko ogólne. Oznaczenia zawartości poszczególnych pierwiastków dokonano przy użyciu spektrofotometru absorpcji płomieniowej Hitachi Z-2000, metodą krzywej wzorcowej. W przypadku oznaczania Ca, Mg, K i Na zastosowano dodatek lantanu (do stężenia 0,1% w roztworze).

Uzyskane wyniki opracowano statystycznie za pomocą analizy wariancji (według modelu split-plot). Istotność różnic pomiędzy wartościami cech testowano na podstawie półprzedziałów ufności Tukeya, przy poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ . Do obliczeń wykorzystano program statystyczny ANALWAR-5FR.

## WYNIKI I DYSKUSJA

Wyniki badań dowiodły istotnego wpływu dokarmiania dolistnego na wzrost liczby strąków na roślinie i MTN w porównaniu z obiektem kontrolnym. Liczba nasion w strąku pozostała na jednakowym statystycznie poziomie. Prusiński i Borowska (2003) podają, że zawiązywanie organów generatywnych u roślin strączkowych uzależnione jest między innymi od warunków termicznych i wodnych. Zjawisko to zależy również od równowagi żywieniowej, stąd opadanie strąków wzmaga niedobór tak makro-, jak i mikroelementów. Komponenty struktury plonu oraz zawartość białka w nasionach nie zostały zróżnicowane przez czynnik odmianowy (tab. 4). Galek i wsp. (2006) dowiedli natomiast istotnej zmienności elementów struktury plonu u poszczególnych rodów

i odmian łubinu wąskolistnego. Dotyczyły one jednak zróżnicowania odmian tradycyjnych w stosunku do samookończących.

Analiza statystyczna wyników badań wykazała istotny wpływ dokarmiania dolistnego na wzrost zawartości białka ogólnego w nasionach w porównaniu z kontrolą (tab. 4). Średnia zawartość tego składnika wyniosła 32%. Faligowska i Szukała (2007a) podają, że nawozy dolistne w małym zakresie modyfikują wydajność białka, wyjątkiem w ich badaniach była jednorazowo zastosowana dawka Mikrosolu U. Wiatr i wsp. (2007) stwierdzili, że zawartość białka ogólnego w nasionach łubinu wąskolistnego podlega zmienności genetycznej oraz wpływowi siedliska. Skrajne zawartości białka w ich badaniach wahały się od 29,4 do 34,2%. Podleśny i wsp. (2010) uzyskali natomiast małe zróżnicowanie odmianowe zawartości omawianego składnika w nasionach łubinu wąskolistnego.

Tabela 4  
Table 4

Elementy struktury plonu łubinu wąskolistnego i zawartość białka ogólnego w nasionach (średnie z lat 2009–2011)  
Yield components of blue lupine and protein content in seeds (average of the years 2009–2011)

Dokarmianie dolistne Foliar fertilization	Odmiana Cultivar	Liczba strąków na roślinie Number of pods per plant	Liczba nasion w strąku Number of seeds in a pod	Masa tysiąca nasion (g) Thousand seed weight	Białko ogólne (g·kg <sup>-1</sup> s.m.) Total protein (g·kg <sup>-1</sup> d.m.)
Kontrola Control	Neptun	6,05	3,40	144,1	320
	Zeus	5,90	3,35	139,6	312
Basfoliar 6–12–6	Neptun	6,75	3,50	150,9	324
	Zeus	6,70	3,45	145,4	324
NIR <sub>0,05</sub> LSD <sub>0,05</sub> I x II		r.n.	r.n.	r.n.	r.n.
NIR <sub>0,05</sub> LSD <sub>0,05</sub> I x II x lata – years		r.n.	r.n.	r.n.	r.n.
Kontrola Control	–	5,98	3,38	141,85	316
Basfoliar 6–12–6		6,73	3,48	148,15	324
NIR <sub>0,05</sub> LSD <sub>0,05</sub> I		0,729	r.n.	5,891	7,56
NIR <sub>0,05</sub> LSD <sub>0,05</sub> I x lata – years		r.n.	r.n.	r.n.	r.n.
–	Neptun	6,4	3,45	147,5	322
	Zeus	6,3	3,40	142,5	318
NIR <sub>0,05</sub> LSD <sub>0,05</sub> II		r.n.	r.n.	r.n.	r.n.
NIR <sub>0,05</sub> LSD <sub>0,05</sub> II x lata – years		r.n.	r.n.	r.n.	r.n.
Średnia – Mean		6,35	3,43	145,0	320

r.n. – różnica nieistotna – non-significant differences

W badaniach potwierdzono, że dokarmianie dolistne zwiększa plon nasion łubinu wąskolistnego (tab. 5). Uzyskana istotna różnica w stosunku do obiektu kontrolnego

wyniosła średnio  $0,3 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$ , tj. 11%. W praktyce rolniczej o potrzebie nawożenia mikroelementami decydują głównie niska zasobność ich form przyswajalnych w glebie oraz odczyn. Z uwagi na fakt, że gleba pod doświadczeniem była lekko kwaśna lub kwaśna oraz zawierała średnie zawartości fosforu, potasu i mikroelementów, efekty dokarmiania dolistnego nie były tak duże jak oczekiwano. Dodatkowo w latach badań 2009 i 2011 układ warunków pogodowych sprzyjał prawidłowej wegetacji roślin. Faligowska i Szukała (2007a) wykazali korzystny wpływ dokarmiania dolistnego na plon łubinu wąskolistnego. Dotyczyło to jednak tylko podwójnej dawki Ekolistu Standard. Z kolei Prusiński i wsp. (2010) nie uzyskali modyfikującego wpływu dokarmiania dolistnego Ekolistem na plonowanie żadnego z badanych gatunków i odmian łubinu.

Średnio w latach badań odmiany Neptun i Zeus plonowały na jednakowym statystycznie poziomie, przy czym zmiennie w latach (tab. 5). W 2009 r. odmiana Neptun plonowała istotnie wyżej od odmiany Zeus. W kolejnych latach plon nasion badanych odmian ukształtował się na jednakowym statystycznie poziomie. Na dużą niestabilność i wahania plonów łubinu w poszczególnych latach zwracają również uwagę Podleśny (2007), Prusiński (2007) oraz Podleśny i wsp. (2010).

Tabela 5  
Table 5

Plon nasion w latach 2009–2011 ( $\text{t}\cdot\text{ha}^{-1}$ )  
Yield of seeds in years 2009–2011

Dokarmianie dolistne Foliar fertilization	Odmiana Cultivar	Lata badań – Years of research			Średnia z lat Mean in years
		2009	2010	2011	
Kontrola Control	Neptun	3,00	2,60	2,50	2,70
	Zeus	2,70	2,60	2,96	2,75
Basfoliar 6–12–6	Neptun	3,40	2,70	3,20	3,10
	Zeus	3,00	2,80	3,05	2,95
NIR <sub>0,05</sub> LSD <sub>0,05</sub> I x II		r.n.	r.n.	r.n.	r.n.
NIR <sub>0,05</sub> LSD <sub>0,05</sub> I x II x lata – years		r.n.	r.n.	r.n.	r.n.
Kontrola Control	–	2,85	2,60	2,73	2,73
Basfoliar 6–12–6		3,20	2,75	3,13	3,03
NIR <sub>0,05</sub> LSD <sub>0,05</sub> I		0,328	r.n.	0,334	0,273
NIR <sub>0,05</sub> LSD <sub>0,05</sub> I x lata – years		r.n.	r.n.	r.n.	r.n.
–	Neptun	3,20	2,65	2,86	2,90
	Zeus	2,85	2,70	3,00	2,85
NIR <sub>0,05</sub> LSD <sub>0,05</sub> II		0,339	r.n.	r.n.	r.n.
NIR <sub>0,05</sub> LSD <sub>0,05</sub> II x lata – years		r.n.	r.n.	r.n.	r.n.
Średnia – Mean		3,03	2,68	2,93	2,88

r.n. – różnica nieistotna – non-significant differences

Aplikacja Basfoliaru 6–12–6 nie modyfikowała istotnie zawartości makroelementów w nasionach łubinu wąskolistnego (tab. 6). Stwierdzono natomiast istotnie wyższą zawartość wapnia a niższą magnezu w nasionach odmiany Zeus w porównaniu z Neptunem.

Średnia zawartość badanych składników wyniosła: sód 40,17; wapń 1969,76; magnez 1667,67; fosfor 2669,96 i potas 9674,14 mg·kg<sup>-1</sup>. Wyniki te były zbieżne z podanymi przez Faligowską i Szukałę (2007b) dla potasu, wapnia i magnezu. Autorzy ci wykazali modyfikujący wpływ warunków pogodowych, zaś brak istotnego wpływu nawozów dolistnych, na skład chemiczny nasion.

Tabela 6  
Table 6

Zawartość makroelementów w nasionach (mg·kg<sup>-1</sup>)  
Macroelements content in seeds

Dokarmianie dolistne Foliar fertilization	Odmiana Cultivar	Na	Ca	Mg	P	K
Kontrola Control	Neptun	39,25	1930,26	1705,25	2701,33	9656,25
	Zeus	40,12	2005,33	1635,87	2656,65	9705,11
Basfoliar 6–12–6	Neptun	39,95	1936,24	1698,35	2682,56	9634,90
	Zeus	41,35	2007,21	1631,20	2639,27	9700,28
NIR <sub>0,05</sub> LSD <sub>0,05</sub> I x II		r.n.	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.
NIR <sub>0,05</sub> LSD <sub>0,05</sub> I x II x lata – years		r.n.	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.
Kontrola Control	–	39,68	1967,80	1670,56	2678,99	9680,68
Basfoliar 6–12–6	–	40,65	1971,73	1664,78	2660,92	9667,59
NIR <sub>0,05</sub> LSD <sub>0,05</sub> I		r.n.	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.
NIR <sub>0,05</sub> LSD <sub>0,05</sub> I x lata – years		r.n.	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.
–	Neptun	39,60	1933,25	1701,80	2691,95	9645,58
	Zeus	40,74	2006,27	1633,54	2647,96	9702,70
NIR <sub>0,05</sub> LSD <sub>0,05</sub> II		r.n.	72,358	67,554	r.n.	r.n.
NIR <sub>0,05</sub> LSD <sub>0,05</sub> II x lata – years		r.n.	r.n.	r.n.	r.n.	r.n.
Średnia – Mean		40,17	1969,76	1667,67	2669,96	9674,14

r.n. – różnica nieistotna – non-significant differences

Dokarmianie dolistne wywarło istotny wpływ na zawartość manganu w nasionach. Uzyskana różnica w stosunku do obiektu kontrolnego wyniosła 6,2 mg Mn·kg<sup>-1</sup>. Zawartość żelaza, miedzi i cynku nie została istotnie zróżnicowana przez badany nawóz dolistny. Odmiana Zeus zawierała w nasionach więcej manganu a mniej miedzi w porównaniu z nasionami odmiany Neptun. Różnice to potwierdzono statystycznie (tab. 7). Barłóg i Biernacka (2003) podają, że zawartość mikroelementów w nasionach łubinu wąskolistnego zależy od odmiany oraz od rodzaju nawożenia azotowego.

Tabela 7  
Table 7Zawartość mikroelementów w nasionach (mg·kg<sup>-1</sup>)  
Microelements content in seeds

Dokarmianie dolistne Foliar fertilization	Odmiana Cultivar	Fe	Mn	Cu	Zn
Kontrola Control	Neptun	33,48	68,52	3,76	26,31
	Zeus	33,51	76,69	3,60	26,42
Basfoliar 6–12–6	Neptun	33,57	77,25	3,94	26,08
	Zeus	33,59	80,29	3,70	26,39
NIR <sub>0,05</sub> LSD <sub>0,05</sub> I x II		r.n.	r.n.	r.n.	r.n.
NIR <sub>0,05</sub> LSD <sub>0,05</sub> I x II x lata – years		r.n.	r.n.	r.n.	r.n.
Kontrola Control	–	33,50	72,61	3,68	26,37
Basfoliar 6–12–6		33,58	78,77	3,82	26,24
NIR <sub>0,05</sub> LSD <sub>0,05</sub> I		r.n.	5,589	r.n.	r.n.
NIR <sub>0,05</sub> LSD <sub>0,05</sub> I x lata – years		r.n.	r.n.	r.n.	r.n.
–	Neptun	33,53	72,89	3,85	26,20
	Zeus	33,55	78,49	3,65	26,41
NIR <sub>0,05</sub> LSD <sub>0,05</sub> II		r.n.	4,257	0,198	r.n.
NIR <sub>0,05</sub> LSD <sub>0,05</sub> II x lata – years		r.n.	r.n.	r.n.	r.n.
Średnia – Mean		33,54	75,69	3,75	26,31

r.n. – różnica nieistotna – non-significant differences

**WNIOSKI**

1. Dokarmianie dolistne Basfoliaru 6–12–6 zwiększało plon nasion łubinu wąskolistnego. Średnio z 3 lat badań przyrost plonu nasion wyniósł 0,3 t·ha<sup>-1</sup> w porównaniu z obiektem kontrolnym. Było to wynikiem istotnego wzrostu liczby strąków na roślinie i masy 1000 nasion. Liczba nasion w strąku nie została istotnie zmieniona przez badany czynnik. Elementy struktury plonu i plon nasion nie podlegały zróżnicowaniu przez czynnik odmianowy.

2. Zawartość białka ogólnego w nasionach istotnie wzrosła pod wpływem dokarmiania dolistnego w odniesieniu do obiektu kontrolnego. Czynniki odmianowy nie modyfikował zawartości tego składnika.

3. Zastosowanie Basfoliaru 6–12–6, w odniesieniu do obiektu kontrolnego, zróżnicowało w nasionach tylko zawartość manganu. Stwierdzono natomiast istotnie wyższą zawartość wapnia i manganu a niższą magnezu i miedzi w nasionach odmiany Zeus w porównaniu z odmianą Neptun.



## PIŚMIENNICTWO

- Barłóg P., Biernacka A., 2003. Wpływ magnezu i nawozów azotowych na zawartość i nagromadzenia niektórych mikroelementów w łubinie wąskolistnym (*Lupinus angustifolius* L.). Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 495: 81–94.
- Czuba R., 2000. Mikroelementy we współczesnych systemach nawożenia. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 471: 161–169.
- Faligowska A., Szukała J., 2007a. Plonowanie i wydajność paszowa łubinu wąskolistnego w zależności od systemów uprawy roli i dolistnego dokarmiania mikroelementami. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 522: 209–217.
- Faligowska A., Szukała J., 2007b. Wpływ systemów uprawy roli i dolistnego dokarmiania mikroelementami na jakość nasion i efektywność ekonomiczną uprawy łubinu wąskolistnego Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 522: 219–228.
- Galek R., Kalińska H., Sawicka-Sienkiewicz E., 2006. Analiza wybranych cech morfologicznych i struktury plonu w kolekcji łubinu wąskolistnego (*Lupinus angustifolius* L.). Biul. IHAR, 240/241: 243–252.
- Gembarzewski H., 2000. Stan i tendencje zmian zawartości mikroelementów w glebach i roślinach z pól produkcyjnych w Polsce. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 471: 171–179.
- Grzyś E., 2004. Rola i znaczenie mikroelementów w żywieniu roślin. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 502: 89–99.
- Hoffmann J., Górecki H., 2000. Nowe technologie wytwarzania nawozów mikroelementowych. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 471: 637–645.
- Jaskulski D., 2004. Efektywność dolistnego stosowania nawozów „Sonata”. Annales UMCS, Sec. E, 59, 1: 431–439.
- Księżak J., Podleśny J., 2005. Rośliny strączkowe [w:] pod red. Jacka Chotkowskiego, Rynki i technologie produkcji roślin uprawnych. Wieś Jutra. Warszawa: 312–328.
- Kurasiak-Popowska D., Szukała J., 2007. Effect of tillage systems, microelement foliar fertilization and harvest methods on the germinability and vigor of narrow-leaf lupin seeds. EJPAU, 10 (4): 27.
- Lipiński W., 2009. Ocena zasobności gleb Polski w mikroelementy. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 541, cz. II: 291–296.
- Piwoń A., 2007. Nowe produkty w grupie nawozów mineralnych i ich marketing. Roczniki Naukowe SERiA. T. IX., 3: 164–168.
- Podleśny J., 2007. Doskonalenie wybranych elementów technologii produkcji nasion roślin strączkowych. Wybrane elementy technologii produkcji roślinnej. Studia i Raporty IUNG – PIB Puławy. 9: 189–208.
- Podleśny J., Strobel W., Podleśna A., Kotlarz A., 2010. Wpływ terminu zbioru na plon i skład chemiczny nasion zróżnicowanych odmian łubinu wąskolistnego. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 550: 121–129.
- Prusiński J., 2007. Postęp biologiczny w łubinie (*Lupinus sp.*) – rys historyczny i stan aktualny. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 522: 23–37.
- Prusiński J., Borowska M., 2003. Potencjał biologiczny roślin strączkowych i jego wykorzystanie, cz. II. Dolistne dokarmianie roślin strączkowych. Hodowla Roślin i Nasiennictwo, 1: 8–13.
- Prusiński J., Kaszkowiak E., Borowska M., 2010. Produkcyjne efekty zastosowania IBA i Ekolistu w uprawie łubiny żółtego (*Lupinus luteus* L.) wąskolistnego (*Lupinus angustifolius* L.) i białego (*Lupinus albus* L.). Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 550: 89–96.

- Pruszyński S., Mrówczyński M. (pod red.), 2002. Łączne stosowanie agrochemikaliów. IOR Poznań: 8–48.
- Szewczuk Cz., Michałojć Z., 2003. Praktyczne aspekty dolistnego dokarmiania roślin. *Acta Agrophys.*, 85: 19–29.
- Szewczuk Cz., Sugier D., 2009. Ogólna charakterystyka i podział nawozów dolistnych oferowanych na polskim rynku. *Annales UMCS, Sec. E, LXIV*, 1: 29–36.
- Sztuder H., 2009. Ocena efektywności dolistnego dokarmiania wybranych gatunków roślin nawozami płynnymi zawierającymi mikroelementy. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 541, cz. II: 417–424.
- Wiatr K., Dolata A., Mańczak T., 2007. Koncentracja i zmienność podstawowych cech jakościowych nasion odmian łubinów zarejestrowanych w Polsce. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 522: 75–85.
- Yu Q., Rengel Z., 1999. Micronutrient Deficiency Influences Plant Growth and Activities of Superoxide Dismutases in Narrow-leaved Lupins. *Annals of Botany*, 83: 175–182.

**IMPACT OF FOLIAR FERTILIZATION WITH BASFOLIAR 6-12-6  
ON THE QUANTITY AND QUALITY OF CROPS OF BLUE LUPIN  
(*LUPINUS ANGUSTIFOLIUS* L.)**

**S u m m a r y**

Formal field experiments were carried out from 2009 to 2011 at the Research Station of the Biology and Agriculture Faculty of Rzeszów University in Krasne. The goal of the research was to determine the reaction of Neptun and Zeus varieties of blue lupin to foliar fertilization with Basfoliar 6-12-6. The results of the experiments proved that the applied fertilizer considerably increased the amount of pods in the plant and the thousand seed mass compared to the control sample. The number of seeds in a pod did not change significantly. Foliar fertilization increased the seed yield and the overall content of albumen in the seeds compared to the control sample. Using Basfoliar 6-12-6 led to a slight change in the amount of micro and macro elements in the seeds. There were significant differences only in the level of manganese compared to the control samples. There were considerable differences in the content of calcium, magnesium, manganese, and copper in the seeds of the Neptun variety compared to the Zeus variety.

KEY WORDS: blue lupine, foliar nutrition, yield, yield components, protein, macro- and microelements

**Katarzyna Kantek<sup>1</sup>, Anna Karczewska<sup>2</sup>**

**WPŁYW OSADÓW ŚCIEKOWYCH NA ROZPUSZCZALNOŚĆ  
ARSENU W GLEBACH ZANIECZYSZCZONYCH PRZEZ  
PRZEMYSŁ ARSENOWY W ŻŁOTYM STOKU**

**EFFECT OF SEWAGE SLUDGE ON THE SOLUBILITY  
OF ARSENIC IN SOILS CONTAMINATED  
BY THE ARSENIC INDUSTRY IN ŻŁOTY STOK**

<sup>1</sup> *Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Zakład Herbologii i Techniki Uprawy Roli we Wrocławiu*

*Institute of Soil Science and Plant Cultivation – National Research Institute in Puławy, Department of Weed Science and Tillage Systems in Wrocław*

<sup>2</sup> *Instytut Nauk o Glebie i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu*  
*Institute of Soil Science and Environmental Protection, Wrocław University of Environmental and Life Sciences*

W glebach regionu Żłotego Stoku zanotowano zawartości As wynoszące od 190 mg·kg<sup>-1</sup> w poziomach powierzchniowych gleb użytków rolnych do 22320 mg·kg<sup>-1</sup> w utworach powierzchniowych Hałdy Storczykowej. Z danych literaturowych wynika, że w różnych warunkach zabsorbowany w glebie arsen może ulec uruchomieniu i przedostając się do środowiska, może stanowić zagrożenie dla ekosystemu. Jest to możliwe m.in. w wyniku nawożenia z wykorzystaniem nawozów organicznych zawierających niskocząsteczkowe frakcje materii organicznej. W doświadczeniu badaniom poddane zostały gleby zanieczyszczone arsenem, pochodzące z okolic dawnego zbiornika osadów poflotacyjnych oraz ze Żłotego Jaru. Gleby po oznaczeniu podstawowych właściwości poddane zostały testom ekstrakcji z surowymi (OS1) i stabilizowanymi (OS2) osadami ściekowymi stosowanymi w formie ekstraktu (E) i zawiesiny (Z). Użyte dawki osadów ściekowych wynosiły: 10, 20 i 50 g s.m.·kg<sup>-1</sup>, co odpowiada 25, 50, i 125 Mg s.m.·ha<sup>-1</sup>. Roztworem podstawowym w testach ekstrakcji był 0,001 mol·dm<sup>-3</sup> chlorek wapnia (CaCl<sub>2</sub>). Otrzymane wyniki wskazują na brak znaczącego wzrostu rozpuszczalności arsenu w wyniku stosowania osadów w postaci zawiesin. Wzrost mobilności pierwiastka zanotowano po użyciu ekstraktów osadów zarówno surowych, jak i stabilizowanych. Największa ilość As (30,9 mg·kg<sup>-1</sup>)

---

Praca została sfinansowana ze środków MNiSW w ramach projektu badawczego nr N305 395538.

---

Do cytowania – For citation: Kantek K., Karczewska A., 2012. Wpływ osadów ściekowych na rozpuszczalność arsenu w glebach zanieczyszczonych przez przemysł arsenowy w Żłotym Stoku. Zesz. Nauk. UP Wroc., Rol. CIII, 589: 135–146.

uległa mobilizacji w glebach obiektu 1, o największym zanieczyszczeniu, po zastosowaniu ekstraktu z osadów ściekowych w największej dawce. Rozpuszczalność arsenu zmniejszała się wraz ze wzrostem dawki zawiesiny osadów ściekowych w obydwu stosowanych rodzajach (OS1 i OS2).

SŁOWA KLUCZOWE: arsen, osady ściekowe, testy ekstrakcji, gleba

## WSTĘP

Średnia zawartość arsenu w glebach świata oszacowana została na  $5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  (Kabata-Pendias 1994, Matschullat 2000). Dopuszczalne zawartości tego pierwiastka w polskich glebach określone jako standardy jakości gleb (Rozporządzenie 2002) wynoszą  $20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  w odniesieniu do gleb użytkowanych rolniczo lub leśnie i  $60 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  w przypadku gleb obszarów przemysłowych. Znacznie wyższe zawartości arsenu w glebach związane są z obszarami dawnej eksploatacji rud polimetalicznych oraz wydobywania i przetwórstwa złota (Karczevska i wsp. 2005). Dotyczy to zwłaszcza rejonu Złotego Stoku, gdzie od średniowiecza prowadzona była eksploatacja złota, a później pozyskiwano i przetwarzano rudy arsenu. Tamtejsze obszary noszą znamiona degradacji morfologicznej i chemicznej gleb. Koncentracja arsenu w utworach hałd rejonu Złotego Potoku osiąga  $22\ 320 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Maksymalne zawartości tego pierwiastka w glebach leśnych rejonu Sztolni Książęcej wynoszą  $880 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  w przypadku nieużytków i  $190 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  dla gleb użytkowanych rolniczo (Krysiak, Karczevska 2008). Tak wysokie zawartości arsenu mogą stanowić zagrożenie dla ekosystemu, zwłaszcza w przypadku wystąpienia warunków sprzyjających jego mobilizacji.

W kształtowaniu rozpuszczalności arsenu zasadnicze znaczenie ma skład kompleksu sorpcyjnego, odczyn oraz potencjał oksydoredukcyjny gleby. Arsen charakteryzuje się znacznym powinowactwem do wodorotlenków żelaza i glinu oraz do materii organicznej. Jony arsenianowe mogą być też wiązane w sieciach minerałów ilastych (Kabata-Pendias, Pendias 1999, Lombi i wsp. 2000).

Arsen występuje w roztworze glebowym w postaci anionów, co warunkuje jego odmienne właściwości w porównaniu z pozostałymi metalami ciężkimi (Karczevska 2002, Karczevska i wsp. 2005, Krysiak 2007b, Matschullat 2000, Plak 2007). W formie tej tworzy połączenia z dodatnio naładowanymi wodorotlenkami żelaza i glinu (Voigt i wsp. 1996), rzadziej – manganu. Ulega także sorpcji niespecyficznemu przez substancję organiczną. Wiązanie przez wodorotlenki żelaza zachodzi najintensywniej w warunkach odczynu kwaśnego, co skutkuje najmniejszą mobilnością jonów arsenianowych w tych warunkach (Karczevska 2002). Spadek wartości pH roztworu glebowego poniżej 3 powoduje rozpad wodorotlenków i wzrost koncentracji jonów arsenianowych w roztworze. Ze wzrostem rozpuszczalności arsenu mamy do czynienia także w warunkach odczynu zasadowego ( $\text{pH} > 7$ ), za sprawą zachodzących procesów desorpcji. Zjawisko to nasila się w przypadku gleb o wysokiej zawartości substancji organicznej (Krysiak 2007). Rozpad tlenków Fe i Al i wzrost mobilności arsenu w środowisku glebowym są także wynikiem warunków redukcyjnych (Krysiak, Karczevska 2011). Nie można określić jednak jednoznacznie wpływu potencjału redox na ruchliwość As w glebie, ponieważ w warunkach redukcyjnych mogą zachodzić również procesy ograniczające jego mobilność, np. sorpcja i kompleksowanie przez substancję organiczną (Niedzielski i wsp. 2000, Krysiak 2007, Plak 2007).

Mimo że arsen nie należy do pierwiastków o znacznej ruchliwości w glebie (Andermann 2004, Assis i wsp. 2010), w pewnych warunkach może ulec mobilizacji. Na kształtowanie

rozpuszczalności metali ciężkich w roztworze glebowym znaczący wpływ mają także rodzaj oraz skład frakcyjny substancji organicznej. W przypadku arsenu stwierdzono zależność między rozmieszczeniem tego pierwiastka w obrębie profilu glebowego a zawartością rozpuszczalnej niskocząsteczkowej materii organicznej (Kalbitz, Wennrich 1998). Do najbardziej ruchliwych należą połączenia arsenu z kwasami fulwowymi oraz innymi niskocząsteczkowymi związkami organicznymi (Antoniadis, Alloway 2002, Ashworth 2004, Drozd i wsp. 2002, Pastuszko 2007, Pena-Mendez i wsp. 2005, Kononowa 1963, Thompson, Troeth 1987). Największą stabilnością charakteryzują się kompleksy arsenu tworzone z wysokocząsteczkową materią organiczną – kwasami huminowymi. Tego typu połączenia powodują unieruchomienie arsenu w glebie (Pastuszko 2007). Zależności te mają znaczenie z punktu widzenia ochrony środowiska. Stosowanie użyźnienia gleb z użyciem surowych osadów ściekowych, niedojrzałych kompostów czy gnojowicy może powodować zwiększenie mobilności arsenu, a tym samym zwiększać zagrożenie zanieczyszczenia ekosystemu tym pierwiastkiem. Dostarczanie nawozów zawierających stabilne, wysokocząsteczkowe frakcje materii organicznej, tj. obornika, dojrzałego kompostu czy stabilizowanych osadów ściekowych zmniejsza ryzyko wzrostu rozpuszczalności tego pierwiastka.

W niniejszej pracy podjęto próbę określenia wpływu różnego rodzaju substancji organicznej pochodzącej z osadów ściekowych na udział rozpuszczalnych form arsenu w silnie zanieczyszczonych glebach rejonu Złotego Stoku.

## METODYKA

Analizom poddany został materiał glebowy pochodzący z obszaru poddanego oddziaływaniu przemysłu arsenowego w Złotym Stoku. Próby oznaczone numerami 1, 2, 3 pobrane zostały z trzech obiektów o różnej lokalizacji (rys. 1). Analizowany materiał pochodził z poziomów powierzchniowych (0–20 cm). Został pobrany z pięciu losowo wyznaczonych punktów w obrębie każdego z obiektów.



Rys. 1. Lokalizacja obiektów poboru próbek (1, 2, 3)

Fig. 1. Location of sampling sites (1, 2, 3)

### **Pochodzenie materiału glebowego**

Obiekt 1 zlokalizowany został na północy miasta, na nieużytku w dolinie rzeki Trująca, poniżej osadnika odpadów poflotacyjnych dawnych zakładów arsenowych. Obiekt 2, podobnie, zlokalizowany był ok. 800 m niżej w dolinie rzeki Trującej, na terenie użytkowanym jako trwałe użytki zielone. Obiekt 3 położony był w rejonie Sztolni Książęcej w Żłotym Jarze, na obszarze silnie przekształconym w wyniku prowadzonych działań górniczych. Materiał glebowy z tego obiektu stanowiły wymieszane utwory naturalne oraz trudny do odróżnienia materiał stokowych hałd górniczych.

### **Analizy właściwości gleb**

Pobrano materiał glebowy, po uprzednim wysuszeniu i przesianiu, został poddany analizie laboratoryjnym, w których oznaczono podstawowe właściwości: skład granulometryczny metodą areometryczną Bouyoucosa w modyfikacji Casagrande'a i Prószyńskiego, odczyn – metodą potencjometryczną – w roztworze 1 mol  $\text{dm}^{-3}$  KCl i w wodzie, zawartość kationów zasadowych – metodą Pallmana, kwasowość hydrolityczną – zmodyfikowaną metodą Kappena, kwasowość wymienną metodą Sokołowa oraz zawartość węgla organicznego – metodą Tiurina. W celu scharakteryzowania właściwości sorpcyjnych badanych gleb obliczone zostały:  $T_w$  – wymienna pojemność sorpcyjna gleb, stanowiąca sumę kwasowości wymiennej i sumę wymiennych kationów zasadowych, oraz  $V$  – wysycenie kompleksu sorpcyjnego zasadami, stanowiące stosunek sumy wysycenia kationami zasadowymi i wymiennej pojemności sorpcyjnej. W analizowanych materiałach oznaczono także całkowitą zawartość arsenu metodą ICP-AES po mineralizacji w wodzie królewskiej.

### **Testy ekstrakcji**

Testy ekstrakcji przeprowadzono dla uśrednionych prób. Próbkę glebową pobraną z poszczególnych punktów w obrębie danego obiektu zostały w tym celu zmieszane przy zachowaniu stałego stosunku wagowego. Roztworem podstawowym w doświadczeniu był 0,001 mol  $\text{dm}^{-3}$  chlorek wapnia ( $\text{CaCl}_2$ ). W testach ekstrakcji zastosowano dodatek dwóch rodzajów osadów ściekowych: surowych (OS1) i stabilizowanych tlenowo (OS2), pochodzących z oczyszczalni ścieków w Środzie Śląskiej. Oprócz wariantów ekstrakcji, w których dawkowano osady ściekowe w postaci zawiesiny (Z), zastosowano także dodatek ekstraktu z osadów ściekowych (E) w roztworze 0,001 mol  $\cdot \text{dm}^{-3}$   $\text{CaCl}_2$ , pozbawiony nierozpuszczalnych frakcji, a zawierający tylko frakcje niskocząsteczkowe substancji organicznej.

Osady ściekowe w formie zawiesiny stosowano w trzech dawkach, odpowiadających 10, 20 i 50 g s.m.  $\cdot \text{kg}^{-1}$ , równoważnych dawkom osadów ściekowych 25, 50, i 125 Mg s.m.  $\cdot \text{ha}^{-1}$ . Ekstrakty z osadów ściekowych (to jest wydzielone ich rozpuszczalne frakcje) stosowano w ilościach odpowiadających tym samym dawkom osadów ściekowych. Próbkę po aplikacji powyższych dodatków z zachowaniem stałego stosunku masy gleby do roztworu – 1:5 wytrząsano przez 2 godz., po czym odwirowano (6 min, 3 tys. obrotów/min). Następnie roztwory przesączono przez sączki twarde. W otrzymanych ekstraktach oznaczono zawartość As metodą IPC-AES przy użyciu aparatu Varian, model Liberty 220.

## WYNIKI I DYSKUSJA

### Podstawowe właściwości gleb

Gleby użyte w doświadczeniu zaliczyć można do utworów średniej ciężkości, wg klasyfikacji gleb PTG z 2008 r. zaliczone one zostały w większości do glin piaszczystych (tab. 1). Po uwzględnieniu frakcji szkieletowych gleby obiektu 2 określono jako słabo żwirowe, a obiektu 3 – jako rumoszowo-skalne o niewielkiej zawartości frakcji ziemistej. Odczyn badanych gleb obiektów 1 i 2 nie był zróżnicowany, a wartości pH (KCl) kształtowały się na poziomie 7,1–7,4 (tab. 1). W przypadku gleb obiektu 3 stwierdzono znaczne zróżnicowanie wartości pH, które wahały się w granicach 4,2–7,3. Silnie kwaśny odczyn części próbek wynika z występowania w Żłotym Jarze kwaśnych skał macierzystych – gnejsów.

Tabela 1

Table 1

Podstawowe właściwości gleb obiektów 1, 2, 3. Wartości średnie (dla 5 próbek z każdego obiektu)  
Basic soils properties – sites 1, 2, 3. Average values (for 5 samples from each site)

Nr obiektu Site No	Grupa granulometryczna, wg PTG 2008 Textural group, acc. to PTG 2008		Zawartość procentowa frakcji Percentage of fractions		$C_{org}$ ( $g\ kg^{-1}$ )	Zawartość próchnicy (%) Humus content	pH		Całkowita zawartość As ( $mg\ kg^{-1}$ ) Total concentration of As
	części ziemiste fine earth	z uwzględnieniem szkieletu including skeleton	<0,02 mm	<0,002 mm			KCl	H <sub>2</sub> O	
1	gp	gp	24	4	1,5	0,26	7,38	7,20	6540
2	gp	gp2ż	30	5	29,6	5,09	7,22	7,38	1970
3	gp	gp3ż	20	2	35,8	6,18	4,96	5,50	1840

gp – glina piaszczysta – sandy loam

gp2ż – glina piaszczysta średnio żwirowa – gravelly sandy loam

gp3ż – glina piaszczysta – very gravelly sandy loam

Natomiast niewielka intruzja węglanowa może być przyczyną wysokich wartości pH gleb w pozostałych próbkach. Wartości kwasowości wymiennej  $K_w$  – niskie dla obiektów 1 i 2 oraz zróżnicowane w glebach obiektu 3 – są powiązane z odczynem gleb (tab. 2).

Tabela 2

Table 2

Właściwości sorpcyjne gleb obiektów 1, 2, 3. Wartości średnie (dla 5 próbek z każdego obiektu)  
Soils sorption properties – treatments 1, 2, 3. Average values (for 5 samples from each site)

Numer obiektu Site No	Kationy zasadowe Base cations				Kationy kwasowe Acidic cations		$K_w$ Acidity	S BC	$T_w$ CEC	V BS
	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	H <sup>+</sup>	Al <sup>3+</sup>				
	cmol(+) $kg^{-1}$									%
1	0,43	0,27	19,9	5,92	0,08	0,02	0,10	26,5	26,6	99,6
2	0,34	0,18	8,36	4,57	0,12	0,04	0,16	13,5	13,6	98,8
3	0,29	0,40	10,0	2,09	0,12	2,94	3,06	12,8	15,9	72,2



Zawartości kationów zasadowych w badanych glebach mają związek z ich odczynem. Wartości najwyższe ( $26,5 \text{ cmol}(+)\cdot\text{kg}^{-1}$ ) stwierdzono w glebach obiektu 1 o najwyższym oznaczonym pH, a najniższe ( $12,8 \text{ cmol}(+)\cdot\text{kg}^{-1}$ ) w obiekcie 3 o najniższym pH. Najniższe zawartości węgla organicznego zanotowano w glebach obiektu 1 (średnio  $0,15 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), a najwyższe, sięgające  $3,58 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , w glebach leśnych obiektu 3.

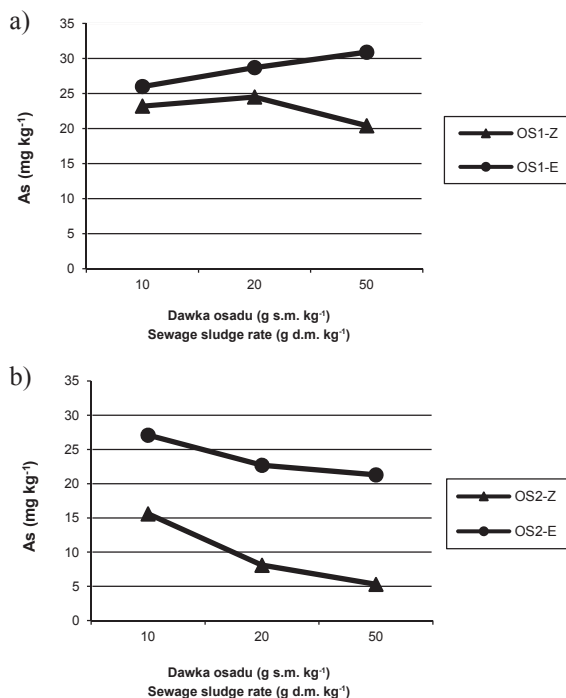
Całkowite zawartości arsenu w analizowanych glebach znacznie przekraczają wartości standardów określone w rozporządzeniu (Rozporządzenie 2002). Najwyższą zawartość As (średnio:  $6540 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) stwierdzono w glebach obiektu 1, znajdującego się w najmniejszej odległości od zbiornika osadów poflotacyjnych. Tak wysoka zawartość As w warstwie powierzchniowej gleb ma związek z zaistniałą w przeszłości awarią ścian zbiornika i depozycją szlamu na okolicznych terenach (Krysiak 2007). W glebach pozostałych dwóch obiektów także zanotowano ponadnormatywne zawartości As, wynoszące średnio  $1970 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  w obiekcie 2 i  $1840 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  w 3. Nie można jednoznacznie stwierdzić, w jakim stopniu wysokie poziomy zawartości As w analizowanych glebach, zwłaszcza w przypadku obiektu 3, wynikają z działań antropogenicznych, a w jakim są skutkiem naturalnego wzbogacenia skał.

### Wyniki testów ekstrakcji

Wyniki testów ekstrakcji z użyciem osadów ściekowych wydają się potwierdzać wpływ różnych frakcji materii organicznej na kształtowanie rozpuszczalności arsenu w glebie. Najwyższe bezwzględne stężenia form rozpuszczalnych As zanotowano w ekstraktach pochodzących z gleb obiektu nr 1. Największą ilość As równą  $30,9 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  gleby wyekstrahowano w przypadku testów prowadzonych przy użyciu najwyższej dawki ekstraktu otrzymanego z surowych osadów ściekowych (OS1-E) –  $50 \text{ mg s.m.}\cdot\text{kg}^{-1}$ .

Wyższe stężenia arsenu występowały w roztworach wytrząsanych z dodatkiem ekstraktów (E) osadów ściekowych w porównaniu z roztworami z dodatkiem zawiesiny (Z). Tendencję tę stwierdzono zarówno w przypadku surowych (OS1), jak i stabilizowanych (OS2) osadów ściekowych. W ekstraktach pochodzących z gleb obiektu 1 zawartość form As podatnych na ekstrakcję roztworem  $0,001 \text{ M CaCl}_2$  wzrastała proporcjonalnie do dawki stosowanego ekstraktu stabilizowanego, uzyskując wartości blisko dwukrotnie wyższe niż w przypadku roztworu z dodatkiem zawiesiny tego osadu (rys. 2b). Podobnie stosowanie surowych osadów ściekowych w postaci ekstraktu powoduje wzrost zawartości jonów arsenu w przesączu w porównaniu ze stosowaną zawiesiną tego osadu (rys. 2a). Powyższe zależności mogą wynikać z wpływu niskocząsteczkowej frakcji materii organicznej na wzrost rozpuszczalności As w glebie. Inni autorzy (Bauer, Błodau 2006, Hartley i wsp. 2009) potwierdzają mobilizujący wpływ niskocząsteczkowej materii organicznej na rozpuszczalność arsenu. Uważa się, że następuje to za sprawą konkurowania związków organicznych, np. kwasów fulwowych, z arsenem o tworzenie wiązań z żelazem, co powoduje uwolnienie jonów arsenianowych zabsorbowanych przez tlenki żelaza do roztworu (Hartley i wsp. 2009). Surowe osady ściekowe charakteryzuje wysoki udział niskocząsteczkowych frakcji, w porównaniu z osadami stabilizowanymi. Ekstrakt z osadów ściekowych pozbawiony został stałych, wielkocząsteczkowych frakcji materii organicznej, które mogłyby powodować wtórną sorpcję uwolnionych jonów As.



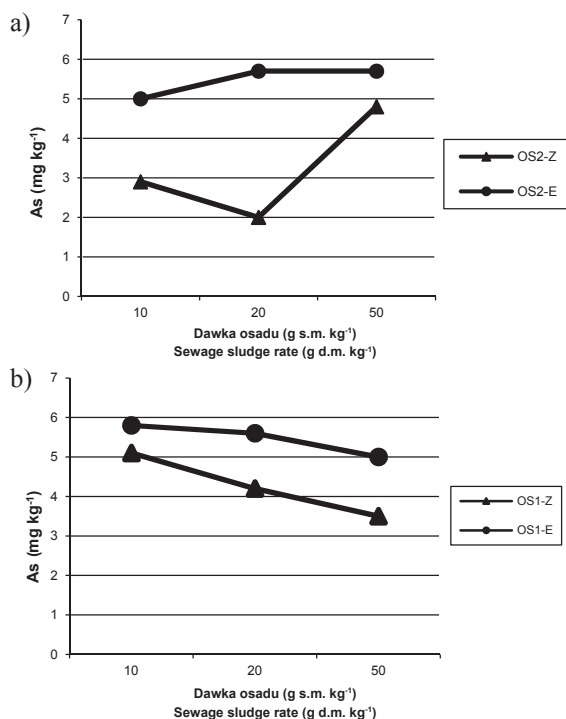


Rys. 2. Wpływ zawiesiny (Z) i ekstraktu (E) osadów ściekowych surowych (OS1) – (a) i stabilizowanych (OS2) – (b) na mobilność arsenu w materiale glebowym obiektu 1. Wykresy przedstawiają ilość As wyekstrahowanego z gleby (mg·kg<sup>-1</sup>)

Fig. 2. Influence of the suspension (Z) and extract (E) of the raw (OS1) – (a) and stabilized (OS2) – (b) sewage sludge on As mobility in soil from the site No 1. The figures show the amounts of As extracted from soil (mg·kg<sup>-1</sup>)

Stabilizowane osady ściekowe zawierają głównie wysokocząsteczkowe frakcje materii organicznej, co wpływa na tworzenie się stabilnych, nierozpuszczalnych, połączeń z metalami obecnymi w roztworze (Rao i wsp. 2008, Wilk, Gworek 2009). Zdolności wysokocząsteczkowej materii organicznej do tworzenia wiązań z metalami potwierdzają badania prowadzone przez Bauera i Blodau'a (2006). Przeprowadzone w doświadczeniu testy ekstrakcji wykazały, że w przypadku stosowania stabilizowanych osadów ściekowych wraz ze wzrostem ich dawki następuje zmniejszenie ilości jonów arsenianowych uwalnianych do roztworu. Także dodatek ekstraktu z tych osadów spowodował ograniczenie rozpuszczalności As, choć w stopniu mniejszym niż to obserwowano w przypadku zawiesiny.

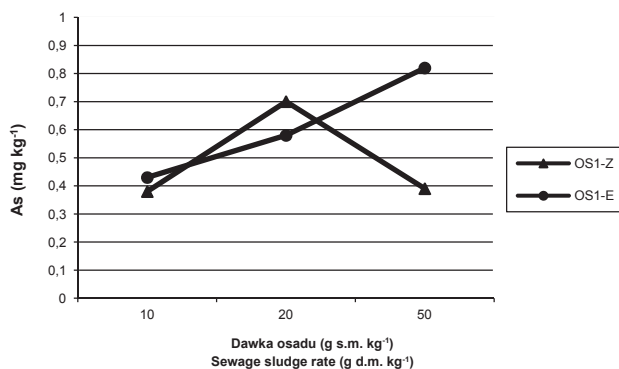
W przypadku gleby nr 2, o całkowitej zawartości As wynoszącej 1970 mg·kg<sup>-1</sup>, niższej niż w glebie obiektu 1, uruchomieniu uległy znacznie mniejsze ilości arsenu (rys. 3a,b). Maksymalne ilości form mobilnych As wyniosły 5,8 mg·kg<sup>-1</sup> i były podobne w przypadku zastosowania ekstraktów z obu rodzajów osadów ściekowych. Przy wykorzystaniu osadów w formie zawiesiny uruchomione zostały mniejsze ilości As. W przypadku gleb obiektu 2, podobnie jak w glebach obiektu 1, zaobserwowano zmniejszenie stężenia form As podatnych na mobilizację (od 5,1 do 3,5 mg·kg<sup>-1</sup>) wraz ze wzrostem dawki zawiesiny osadów stabilizowanych. Po zastosowaniu maksymalnej dawki osadów surowych zaobserwowano wzrost ilości ekstrahowanych jonów As w roztworze.



Rys. 3. Wpływ zawiesiny (Z) i ekstraktu (E) osadów ściekowych surowych (OS1) – (a) i stabilizowanych (OS2) – (b) na mobilność arsenu w materiale glebowym obiektu 2. Wykresy przedstawiają ilość As wyekstrahowanego z gleby (mg·kg<sup>-1</sup>)

Fig. 3. Influence of the suspension (Z) and extract (E) of the raw (OS1) – (a) and stabilized (OS2) – (b) sewage sludge on As mobility in soil from the site No 2. The figures show the amounts of As extracted from soil (mg·kg<sup>-1</sup>)

Ilości As podatne na mobilizację były w glebach obiektu 3 niższe niż w glebach obiektów 1 i 2. Maksymalna zawartość As w ekstraktach, uzyskana przy użyciu najwyższej dawki ekstraktów z surowych osadów ściekowych, odpowiadała 0,87 mg·kg<sup>-1</sup>gleby (rys. 3). Testy ekstrakcji gleb tego obiektu z użyciem stabilizowanych osadów ściekowych nie dały miarodajnych wyników i z przyczyn technicznych nie zostały powtórzone. Zdolność arsenu do tworzenia połączeń z substancją organiczną może być kształtowana przez takie czynniki jak zawartość w glebie żelaza, fosforu, wartość pH czy pochodzenie pierwiastka w glebie (Hartley i wsp. 2009). Stosunkowo niewielka mobilność arsenu w utworach obiektu 3 zdaje się wynikać z faktu występowania tego pierwiastka w innej formie niż w glebach obiektów 1 i 2. Mniejszą rozpuszczalność As należy wiązać także z większą zawartością próchnicy glebowej (tab. 1) oraz z nieco bardziej kwaśnym odczynem gleb obiektu 3 (sorpcja anionów w glebach kwaśnych jest silniejsza niż w glebach obojętnych).



Rys. 4. Wpływ zawiesiny (Z) i ekstraktu (E) surowych osadów ściekowych (OS1) na mobilność arsenu w materiale glebowym obiektu numer 3. Wykresy przedstawiają ilość As wyekstrahowanego z gleby ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )

Fig. 4. Influence of the suspension (Z) and extract (E) of sewage sludge on As mobility in soil from the site No 3. The figure shows the amounts of As extracted from soil ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )

We wszystkich testowanych glebach ilość form rozpuszczalnych As zmniejszała się wraz ze wzrostem dawki zawiesiny osadów ściekowych, co prawdopodobnie jest skutkiem unieruchamiania jonów arsenianowych przez wysokocząsteczkową materię organiczną. Otrzymane wyniki potwierdzają powinowactwo As do wysokocząsteczkowej materii organicznej obecnej w osadach ściekowych.

Ilości arsenu uwolnione z gleb pod wpływem substancji organicznej pochodzącej z surowych i stabilizowanych osadów ściekowych można określić jako niewielkie, gdyż stanowią one niewielki procent całkowitych zawartości As w badanych glebach. Największe ilości As podatnego na mobilizację zanotowano w glebie obiektu 1, jednak ilości te nie przekraczają 0,5% całkowitej zawartości arsenu. Najwyższy procentowy udział uwolnionego arsenu w stosunku do całkowitej zawartości As w glebie wyniósł 0,5% (w glebie obiektu 1). Jednak bezwzględne ilości As podatnego na mobilizację w glebie 1 (rzędu  $30 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) są wyższe niż dopuszczalna całkowita zawartość As w glebach użytków rolnych określona w standardach, która wynosi  $20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  (Rzporządzenie 2002).

## WNIOSKI

1. Największą podatność na mobilizację arsenu, mierzoną zarówno bezwzględną zawartością, jak i udziałem procentowym jego form rozpuszczalnych stwierdzono w glebie obiektu 1, to jest glebie o największej całkowitej zawartości arsenu pochodzącego z osadów poflotacyjnych, a zarazem o najniższej zawartości próchnicy.

2. Najmniejszą podatność na mobilizację wykazywał arsen w glebie obiektu 3 – o najmniejszym zanieczyszczeniu i największej zawartości próchnicy.

3. Surowe osady ściekowe powodują zwiększenie rozpuszczalności As w większym stopniu niż osady po stabilizacji, co wynika zapewne z wyższej zawartości niskocząsteczkowej frakcji materii organicznej w osadach surowych.

4. Dodatek ekstraktu z osadów ściekowych powoduje uwolnienie do roztworu większych ilości arsenu w porównaniu z osadami stosowanymi w formie zawiesiny, co potwierdza znaczenie wielkocząsteczkowych frakcji zawiesiny w procesach wtórnej sorpcji uwolnionego arsenu.

5. Mimo że ilości arsenu uwalnianego z gleb w trakcie prowadzonego doświadczenia nie przekroczyły 0,5% całkowitej zawartości tego pierwiastka w glebach, to w przypadku obiektu 1 ilości te, sięgające  $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , były wyższe od dopuszczalnej całkowitej zawartości As w glebach użytków rolnych, określonej w standardach.

## PIŚMIENNICTWO

- Andermann C., 2004. The influence of soluble Natural Organic Matter (NOM) on the mobility of arsenic stabilized by Iron oxihydroxides, in a Tailing material. Oberseminar, 04/05: 32–42.
- Antoniadis V., Alloway B.J., 2002. The role of dissolved organic carbon in the mobility of Cd, Ni and Zn in sewage sludge-amended soils. *Environ. Pollut.*, 117: 515–521.
- Ashworth D.J., Alloway B.J., 2004. Soil mobility of sewage sludge-derived dissolved organic matter, copper, nickel and zinc. *Environ. Pollut.*, 127 (1): 137–144.
- Assis I.R., Dias L.E., Mello J.W.V., Fernandes R.B.A., Abrahao W.A.P., Silva S.C., 2010. Arsenic ability to plants in tropical soils. INCT-ACQUA – Annual Report, Institute of Science and Technology for Mineral Resource, Water and Biodiversity, Federal University of Vicosa, Brazil, (maszynopis).
- Bauer M., Blodau C., 2006. Mobilization of arsenic by dissolved organic matter from iron oxides, soils and sediments. *Sci. Tot. Environ.*, 354: 179–190.
- Drozd J., Licznar M, Licznar S.E., Weber J., 2002. *Gleboznawstwo z elementami mineralogii i petrografii*, Wyd. AR, Wrocław.
- Hartley W., Dickinson N.M., Lepp N.W., 2009. Arsenic mobility in brownfield soils amended with green waste compost or biochar and planted with *Miscanthus*. *Environ. Pollut.*, 157: 2654–2662.
- Matschullat J., 2000. Arsenic in the geosphere – a review. *Sci. Tot. Environ.*, 294: 297–312.
- Kabata-Pendias A., 1994. Biogeochemia arsenu i selenu [w:] *Arsen i selen w środowisku: problemy ekologiczne i metodyczne*. ZN PAN „Człowiek i Środowisko”, 8: 9–16.
- Kabata-Pendias A., Pendias H., 1999. *Biogeochemia pierwiastków śladowych*. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa
- Kalbitz K., Wennrich R., 1998. Mobilization of heavy metals and arsenic In polluted wetland soils and its dependence on dissolved organic matter. *Sci. Tot. Environ.* 291 (1–3): 45–57.
- Karczewska A., 2002. *Metale ciężkie w glebach zanieczyszczonych emisjami hut miedzi – formy i rozpuszczalność*. Rozprawa habilitacyjna, Zeszyty Naukowe AR we Wrocławiu, Rozprawy CLXXXIV, Wydział Rolniczy, 432, Wrocław.
- Karczewska A., Bogda A., Gałka B. Krajewski J., 2005. *Ocena zagrożenia środowiska przyrodniczego w rejonie oddziaływania złoża rud polimetalicznych Żeleźniak (Wojcieszów – Góry Kaczawskie)*. Monografia. Wyd. AR, Wrocław.
- Kononowa M., 1963. *Substancje organiczne gleby*. Izdatielstwo Akademii Nauk SSSR, Moskwa: 180–248.
- Krysiak A., Karczewska A., 2008. *Formy arsenu w glebach zanieczyszczonych rejonu Złotego Stoku w świetle sekwencyjnej ekstrakcji*. *Rocz. Glebozn.* LIX, (1): 118–127.

- Krysiak A., 2007. Mobilność arsenu w środowisku glebowym na przykładzie rejonu eksploatacji rud polimetalicznych w Złotym Stoku. Rozprawa doktorska. Wyd. UP Wrocław (maszynopis).
- Krysiak A., Karczewska A., 2011. Wpływ zawadnienia na mobilność arsenu w glebach rejonu dawnego górnictwa złota i arsenu w Złotym Stoku. *Rocz. Glebozn.*, T. LXII, 2: 240–248.
- Lombi E., Sletten R.S., Wenzel W.W., 2000. Sequentially extracted arsenic from different size fractions of contaminated soils. *Water Air Soil Poll.*, 124: 319–332.
- Niedzielski P., Siepak M., Siepak J., 2000. Występowanie i zawartości arsenu antymonu i seleniu w wodach i innych elementach środowiska. *Roczn. Ochrony Środ.*, 15: 317–341.
- Pastuszko A., 2007. Substancja organiczna w glebach. *Ochrona Środ. Zas. Nat.*, 30: 83–98.
- Pena-Mendez E.M., Havel J., Patocka J. 2005 Humic substances – compounds of still unknown structure: applications in agriculture, industry, environment and biomedicine. *J. Appl. Biomed.*, 3: 13–24.
- Plak A., 2007. Czynniki kształtujące zawartość i formy arsenu w glebach aglomeracji lubelskiej. *Acta Agrophysica, Monografia. Instytut Agrofizyki im. Bogdana Dobrzańskiego PAN, Lublin.*
- Rao C.R.M., Sahuquillo A., Lopez Sanchez F., 2008. A review of the different methods applied in environmental geochemistry for single and sequential extraction of trace elements in soils and related materials. *Water Air Soil Poll.*, 189: 291–333.
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 9 września 2002 r. w sprawie standardów jakości gleb oraz standardów jakości ziem (Dz.U. 2002, Nr 165, poz. 1359).
- Thompson L.M., Troeth F.R., 1987. Gleba i jej żyzność. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa: 132–161.
- Wilk M., Gworek B., 2009. Metale ciężkie w osadach ściekowych. *Ochrona Środ. Zas. Nat.*, 39: 40–59.
- Voigt D.E., Brantley S.L., Hennet R.J.C., 1996. Chemical fixation of arsenic in contaminated soils. *Appl. Geochem.*, 11: 633–643.

## EFFECT OF SEWAGE SLUDGE ON THE SOLUBILITY OF ARSENIC IN SOILS CONTAMINATED BY THE ARSENIC INDUSTRY IN ZŁOTY STOK

### Summary

In the soils of the region around Zloty Stok the content of As has been reported as ranging from 190 mg·kg<sup>-1</sup> in the soil horizons of agricultural land to 22,320 mg·kg<sup>-1</sup> in the surface horizons of Hałda Storczykowa. According to data in scientific literature, arsenic absorbed in the soil can be released in certain situations, and can thus pose a risk to the environment. One of the situations could be, for example, when organic fertilizers are applied which contain low molecular weight fractions of organic matter. The soils studied in the experiment were collected from areas surrounding the former tailings impoundment and from the Zloty Jar valley. After determining the basic soil properties, soils were subjected to extraction tests with raw (OS1) and stabilized (OS2) sewage sludge used in an extract form (E) and in a suspended form (Z). The doses of sludge were 10, 20, and 50 g d.m.·kg<sup>-1</sup>, and corresponded to 25, 50, and 125 Mg d.m.·ha<sup>-1</sup>. The basic electrolyte in the extraction tests was 0,001 M calcium chloride (CaCl<sub>2</sub>). The results showed no significant increase in the solubility of arsenic after applying sludge in the suspended form. An increased mobility of arsenic was observed after applying sludge in the extract form, obtained either from raw or stabilized

sewage sludge. The largest amount of As ( $30,9 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) was mobilized in the soils from site 1, after applying sewage sludge extracts in the highest dose. Arsenic solubility decreased with increasing doses of sewage sludge suspensions obtained from both types of sewage sludge (OS1 and OS2).

KEY WORDS: arsenic, sewage sludge, extraction tests, soil

**Anna Karczewska, Bernard Gałka,  
Leszek Gersztyn, Monika Spurgiasz**

**WPŁYW DODATKU SUBSTANCJI ORGANICZNEJ  
NA ROZPUSZCZALNOŚĆ I FITOPRZYSWAJALNOŚĆ MIEDZI  
W GLEBACH ZANIECZYSZCZONYCH  
PRZEZ PRZEMYSŁ MIEDZIOWY**

**EFFECT OF APPLYING ORGANIC MATTER  
ON THE SOLUBILITY AND PHYTOAVAILABILITY  
OF COPPER IN SOILS POLLUTED BY THE COPPER INDUSTRY**

*Institut Nauk o Glebie i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu  
Institute of Soil Science and Environmental Protection, Wrocław University of Environmental and Life Sciences*

W przeprowadzonym doświadczeniu badano wpływ różnych rodzajów substancji organicznej na rozpuszczalność i fitoprzyswajalność miedzi w 5 glebach pochodzących z rejonu hut miedzi Głogów i Legnica oraz składowiska osadów po flotacyjnych Żelazny Most. Badania przeprowadzono w warunkach doświadczenia wazonowego, z sałatą siewną *Lactuca sativa*, odmiany Królowa Majowych, jako rośliną testową. Do gleb wprowadzono 4 rodzaje osadów ściekowych, 2 rodzaje kompostów o różnym stopniu dojrzałości oraz 3 rodzaje ściółek leśnych, w dawce 20 g s.m.·kg<sup>-1</sup>. Po zakończeniu doświadczenia określono rozpuszczalność Cu w glebach, opierając się na wynikach ekstrakcji roztworem 0,01M CaCl<sub>2</sub>. Fitoprzyswajalność miedzi oceniano na podstawie stężenia Cu w nadziemnych częściach sałaty. Potwierdzono, że wprowadzenie substancji organicznej o zróżnicowanych właściwościach do gleb zanieczyszczonych miedzią może powodować zmiany podatności Cu na ekstrakcję oraz modyfikować fitotoksyczność i fitoprzyswajalność tego pierwiastka. Efekty te są jednak trudne do przewidywania, gdyż zależą w znacznej mierze od właściwości gleb. W glebach najsilniej zanieczyszczonych obserwowano silne fitotoksyczne działanie Cu, którego nie eliminowały dodatki organiczne. Na glebach słabiej zanieczyszczonych uzyskano satysfakcjonujący plon sałaty, przy czym dodatek stabilizowanych, alkalicznych osadów ściekowych oraz niedojrzałego kompostu powodował wzrost rozpuszczalności i pobrania Cu przez sałatę, a dodatek kompostu dojrzałego ograniczał to pobranie Cu przez rośliny.

**SŁOWA KLUCZOWE:** gleby, miedź, ekstrakcja, chlorek wapnia, sałata, osady ściekowe, kompost, ściółka leśna

Praca została sfinansowana ze środków MNiSW w ramach projektu badawczego nr N N305 395538.

Do cytowania – For citation: Karczewska A., Gałka B., Gersztyn L., Spurgiasz M., 2012. Wpływ dodatku substancji organicznej na rozpuszczalność i fitoprzyswajalność miedzi w glebach zanieczyszczonych przez przemysł miedziowy. Zesz. Nauk. UP Wroc., Rol. CIII, 589: 147–156.

## WSTĘP

Problem nadmiernych zawartości w glebach pierwiastków należących do mikroelementów, w tym miedzi, występuje w Polsce lokalnie i dotyczy na przykład bezpośredniego sąsiedztwa hut miedzi Legnica i Głogów (Terelak i wsp. 1997, Karczewska 2002, Szerszeń i wsp. 2004). W celu ograniczenia niekorzystnych skutków zanieczyszczenia gleb miedzią stosuje się rekultywację tych gleb, opartą głównie na strategii immobilizacji (Karczewska 2008). Obejmuje ona neutralizację kwaśnego odczynu oraz wzbogacenie kompleksu sorpcyjnego, zwłaszcza gleb lekkich. W tym celu wprowadza się do gleb substancję organiczną, często odpadową, jaką stanowić mogą m.in. komposty i osady ściekowe (Baran, Turski 1999, Kaniuczak i wsp. 2009). Wprawdzie polskie prawo (Rozporządzenie 2010) ogranicza stosowanie osadów ściekowych do rekultywacji gleb zanieczyszczonych metalami ciężkimi, jednak wielu autorów dowodzi, że zabieg taki nie wiąże się ze wzrostem zagrożenia (Theodoratos i wsp. 2000, Gondek 2004, 2009). Inni autorzy przytaczają jednak dowody na to, że niskocząsteczkowe, łatwo rozpuszczalne frakcje materii organicznej, np. słabo shumifikowanych osadów ściekowych czy kompostów, mogą wpływać na wzrost rozpuszczalności metali ciężkich w glebach w wyniku działania kompleksującego (Kalbitz, Wennrich 1998, Singh, Agrawal 2008, Kalembasa, Malinowska 2010). Efekt taki może mieć miejsce także w glebach już zrekultywowanych i zalesionych, wskutek oddziaływania na obecne w glebie metale produktów transformacji ściółek leśnych (Pohlman, McColl 1988, Andersen i wsp. 2004, Titeux i wsp. 2002, Mertens i wsp. 2007, Medyńska, Kabała 2010).

Celem niniejszej pracy była ocena wpływu różnych rodzajów substancji organicznej wprowadzonej do gleb na rozpuszczalność i fitoprzyswajalność miedzi w glebach zanieczyszczonych tym pierwiastkiem, położonych w sąsiedztwie hut miedzi Głogów i Legnica oraz składowiska osadów poflotacyjnych Żelazny Most. Badania przeprowadzono w warunkach doświadczenia wazonowego, z sałatą siewną *Lactuca sativa* jako rośliną testową.

## MATERIAŁ I METODY

Do doświadczenia wytypowano gleby pochodzące z rejonów pozostających pod wpływem przemysłu miedziowego – hut miedzi Głogów (1), i Legnica (2,3,4) oraz składowiska osadów poflotacyjnych Żelazny Most (5). Gleby te z założenia różniły się właściwościami, a zwłaszcza składem granulometrycznym oraz zawartością Cu. Podstawowe właściwości gleb, oznaczone metodami powszechnie przyjętymi w gleboznawstwie (Ostrowska i wsp. 1991), przedstawiono w tabeli 1. Całkowitą zawartość Cu w glebach oraz w materiałach organicznych oznaczono po mineralizacji próbek stężonym kwasem nadchlorowym, w układzie otwartym z chłodnicą zwrotną.

W doświadczeniu użyto 9 różnych rodzajów dodatków organicznych: 4 rodzaje osadów ściekowych (OS1-OS4), 2 rodzaje kompostów (K1 i K2) o różnym stopniu dojrzałości oraz 3 rodzaje ściółek leśnych – sosnową (Sc1), bukową (Sc2) i olszową (Sc3), które wymieszano z materiałem glebowym w dawce 20 g s.m.·kg<sup>-1</sup>. Podstawowe właściwości dodatków organicznych: zawartość substancji organicznej ogółem, zawartość węgla organicznego rozpuszczalnego w wodzie (RWO), pH oraz całkowitą zawartość Cu oznaczono metodami



przyjętymi w analityce materiałów organicznych (Ostrowska i wsp. 1991), a wyniki przedstawiono w tabeli 2.

Materiał glebowy zmieszany z dodatkami organicznymi wykorzystano do doświadczenia miniwazonowego z sałatą siewną *Lactuca sativa*, odmiany Królowa Majowych, jako rośliną testową. Po zakończeniu 10-tygodniowego doświadczenia, na podstawie wyników ekstrakcji materiału glebowego roztworem obojętnej soli 0,01M CaCl<sub>2</sub> (1:20, m:v), określono rozpuszczalność Cu w glebach (Houba i wsp. 2000). Fitoprzyzwajalność miedzi oceniano na podstawie stężenia Cu w suchej masie nadziemnych części sałaty. Stężenie to określono również po mineralizacji próbek kwasem nadchlorowym. Wielkość plonu sałaty (to jest biomasa jej części nadziemnych zebranych z każdego wazonu) stanowiła wskaźnik informujący o fitotoksyczności materiału glebowego. Doświadczenie wykonano w 3 powtórzeniach.

## WYNIKI I DYSKUSJA

### Właściwości gleb i zastosowanych dodatków organicznych

Zgodnie z założeniem – gleby wykorzystane w doświadczeniu charakteryzowały się dużym zróżnicowaniem składu granulometrycznego, całkowitej zawartości Cu oraz innych właściwości (tab. 1). Najlżejszym uziarnieniem, piasku luźnego (według PTG 2009), charakteryzowała się gleba 5, z rejonu składowiska Żelazny Most, zawierająca także stosunkowo niewielką ilość Cu (47,9 mg·kg<sup>-1</sup>). Znacznie zwięźlejszy skład, typowy dla pokrywy glebowej rejonu Legnicy, miały gleby nr 2, 3 i 4. Najwyższą zawartością Cu (1430 mg·kg<sup>-1</sup>) charakteryzowała się gleba nr 1, pochodząca z rejonu Głogowa.

Tabela 1  
Table 1

Podstawowe właściwości gleb wykorzystanych do doświadczeń  
Basic properties of soils used for the experiment

Nr gleby Soil No	Lokalizacja Location	Użytkowanie Usage	Udział % frakcji Percentage of fraction (mm)		C org. (g·kg <sup>-1</sup> )	pH (1 M KCl)	T CEC (cmol·kg <sup>-1</sup> )	Cu całkowita (mg·kg <sup>-1</sup> ) total
			<0,002	0,002–0,05				
1	Głogów	Leśne Forest	4	26	7,5	5,5	4,38	1432
2	Legnica	Leśne Forest	7	72	11,9	5,3	6,36	1239
3	Legnica	Leśne Forest	9	69	18,8	4,5	6,57	1004
4	Legnica	Orne Arable	7	67	22,6	5,5	8,26	470
5	Żelazny Most	Leśne Forest	0	9	7,7	6,3	3,99	47,9

Dodatki organiczne zastosowane w doświadczeniu zawierały od 325 do 890 g·kg<sup>-1</sup> s.m. substancji organicznej, przy czym najuboższe w substancję organiczną (do 450 g·kg<sup>-1</sup> s.m.) były osady ściekowe (tab. 2). Zawartość rozpuszczalnych w wodzie form substancji organicznej w dodatkach była zróżnicowana – w zakresie RWO odpowiadającym od 1,0

do 18,1 g C·kg<sup>-1</sup> s.m. Najwyższą zawartość RWO (18,1 g C·kg<sup>-1</sup> s.m.) stwierdzono w osadach ściekowych OS4 higienizowanych wapnem, o silnie alkalicznym odczynie. Wysoką zawartością RWO charakteryzowała się także ściółka z lasu łęgowego (Sc3). Zastosowane dodatki zawierały zróżnicowane ilości miedzi. Najbardziej zasobne w Cu były surowe osady ściekowe ze Środy Śląskiej (OS1) i z Wrocławia (OS3), zawierające około 700 mg Cu·kg<sup>-1</sup> s.m. Wobec silnego zanieczyszczenia miedzią gleb 1–4 wprowadzenie do nich niewielkich dawek dodatków organicznych, silnie wzbogaconych w ten pierwiastek, nie wpłynęło znacząco na całkowitą zawartość Cu w glebach badanych w doświadczeniu wazonowym.

Tabela 2  
Table 2

Podstawowe właściwości dodatków organicznych  
Basic properties of organic materials

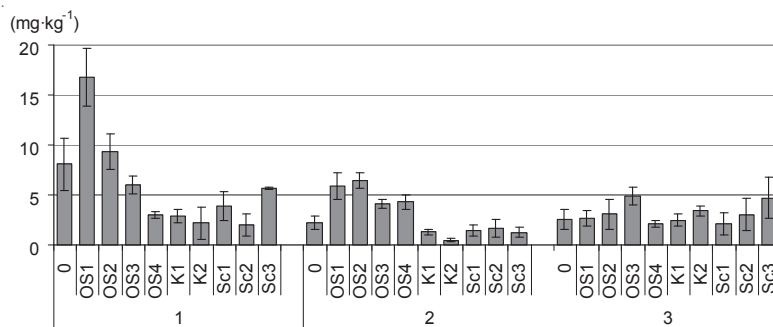
Dodatek Material	Zawartość substancji org. (g·kg <sup>-1</sup> s.m.) Organic matter content (g·kg <sup>-1</sup> d.m.)	Rozpuszczalny Corg. (RWO) (g·kg <sup>-1</sup> s.m.) Soluble Corg., (g·kg <sup>-1</sup> d.m.)	pH (H <sub>2</sub> O)	Cu całkowita (mg·kg <sup>-1</sup> s.m.) Total Cu (mg·kg <sup>-1</sup> d.m.)
OS1	450	3,2	7,5	704
OS2	356	1,1	7,0	220
OS3	385	4,5	7,0	690
OS4	325	18,1	11,3	295
K1	533	1,6	6,3	78
K2	520	1,0	7,2	48
Sosna (Sc1)	560	3,0	3,6	4,3
Buk (Sc2)	890	3,0	4,8	11,1
Olsza (Sc3)	450	9,5	5,5	17,8

### Rozpuszczalność miedzi w glebach

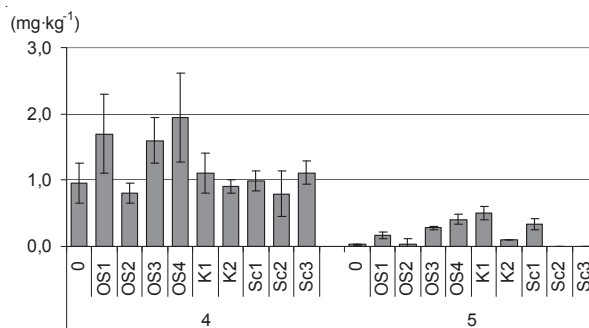
Zawartość form rozpuszczalnych Cu, to jest form podatnych na ekstrakcję roztworem 0,01 M CaCl<sub>2</sub> w glebach kontrolnych 1, 2 i 3 bez dodatków (0), mieściła się w przedziale 2,2–8,1 mg·kg<sup>-1</sup>, co stanowiło 0,2–0,6% całkowitej zawartości Cu (rys. 1). Natomiast w glebach 4 i 5 zawartość ta wynosiła poniżej 1 mg·kg<sup>-1</sup>, co odpowiadało poniżej 0,2% całkowitej zawartości Cu (rys. 2).

Zmieszanie materiału glebowego z dodatkami organicznymi spowodowało zmiany podatności Cu na ekstrakcję, przy czym były one tylko w niektórych przypadkach statystycznie istotne i nie układały się według tego samego schematu dla wszystkich gleb. Dodatek surowych osadów ściekowych ze Środy Śl. (OS1) spowodował ponad dwukrotny i istotny statystycznie wzrost rozpuszczalności Cu w najsilniej zanieczyszczonych glebach 1 i 2 oraz w glebie 5. Podobnego efektu nie stwierdzono z kolei w glebach 3 i 4 (rys. 1 i 2). Surowe osady ściekowe z Wrocławia (OS3) także przyczyniły się do wzrostu podatności na ekstrakcję Cu, ale tylko w glebach 2–5. W silnie zanieczyszczonej glebie 1, o niewielkiej pojemności sorpcyjnej i lżejszym składzie granulometrycznym (tab. 1), dodatki organiczne, z wyjątkiem osadów ściekowych OS1, w większości spowodowały zmniejszenie podatności Cu na ekstrakcję. Podobny efekt wystąpił w glebie 2, po wprowadzeniu do niej kompostów i ściółek. W odróżnieniu od tych dodatków wszystkie osady ściekowe przyczyniły się z kolei do wzrostu podatności Cu na ekstrakcję w tej

glebie. W glebach 3 i 4 zastosowane dodatki, z wyjątkiem przedstawionych wyżej osadów ściekowych, nie miały istotnego wpływu na zmiany rozpuszczalności Cu. Podatność Cu na ekstrakcję w glebie 5, piaszczystej, słabo zanieczyszczonej, choć ogólnie była bardzo niska, zwiększyła się po wprowadzeniu do tej gleby osadów ściekowych z Wrocławia, najbardziej zasobnych w Cu, a także słabo przetworzonego kompostu K1. Istotny wzrost rozpuszczalności Cu w glebie 5 nastąpił także po wprowadzeniu do niej ściółki iglastej (Sc1), podczas gdy dodatek ściółek liściastych spowodował efekt odwrotny.



Rys. 1. Zawartość form Cu podatnych na ekstrakcję roztworem 0,01 M CaCl<sub>2</sub> w glebach 1–3  
 Fig. 1. Concentrations of Cu extractable with 0.01 M CaCl<sub>2</sub> in soils 1–3

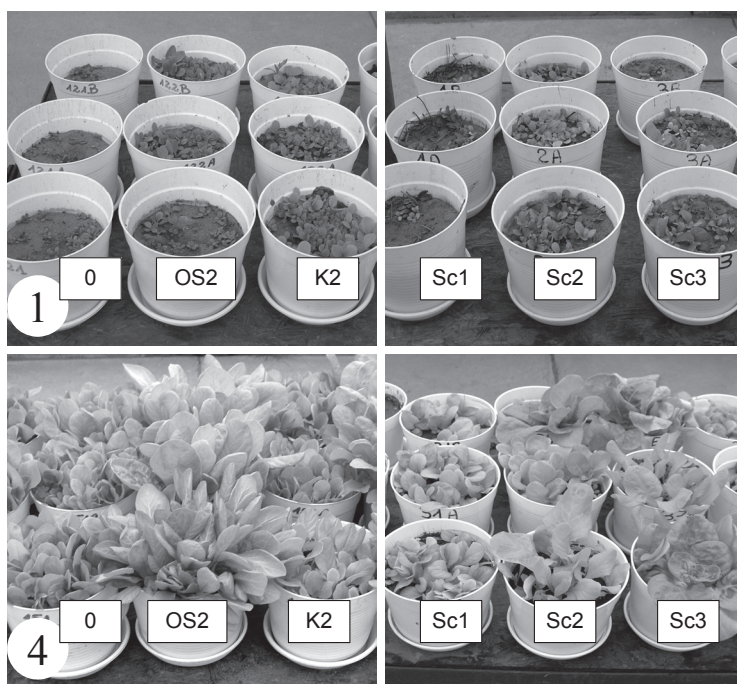


Rys. 2. Zawartość form Cu podatnych na ekstrakcję roztworem 0,01 M CaCl<sub>2</sub> w glebach 4 i 5  
 Fig. 2. Concentrations of Cu extractable with 0.01 M CaCl<sub>2</sub> in soils 4 and 5

Wzrost rozpuszczalności Cu w wymienionych wyżej przypadkach, zwłaszcza pod wpływem surowych osadów ściekowych oraz ściółki iglastej, a także słabo przetworzonego kompostu, należy prawdopodobnie przypisywać wprowadzeniu do gleb niskocząsteczkowej substancji organicznej o właściwościach kompleksujących, która w tego typu materiałach organicznych obecna jest zwykle w znacznych ilościach (Karczewska 2002, Kalbitz, Wennrich 1998, Singh, Agrawal 2008, Pohlman, McColl 1988, Andersen i wsp. 2004, Titeux i wsp. 2002). Jednak wskaźnikiem tego efektu nie może być zawartość rozpuszczalnego węgla organicznego ogółem (RWO), którego największe wartości stwierdzono w osadach OS4 oraz w ściółce liściastej Sc3.

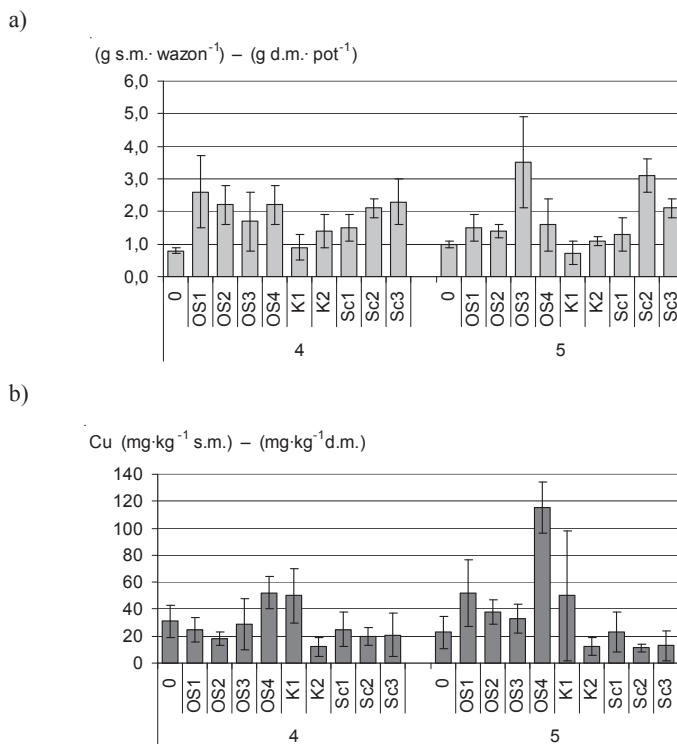
### Fitotoksyczność i fitoprzyswajalność miedzi

W większości wazonów objętych doświadczeniem rośliny wykiełkowały, ale w glebach najsilniej zanieczyszczonych (1–3) zaczęły obumierać wkrótce po wschodach, co niewątpliwie należy przypisać przede wszystkim fitotoksycznemu oddziaływaniu wysokich koncentracji Cu. Z gleb tych nie uzyskano dostatecznego plonu sałaty, aby można ją było poddać analizie. Dodatek materiałów organicznych nie ograniczył tego efektu w takim stopniu, który umożliwiłby analizę materiału roślinnego z gleb 1–3, choć wprowadzenie osadów ściekowych OS4, a także kompostu K2 i ściółek Sc2 i Sc3 (fot. 1), wpłynęło na ograniczenie symptomów toksyczności u sałaty rosnącej na tych glebach i opóźniło efekt zamierania roślin. Wymienione dodatki wpłynęły także pozytywnie na wielkość biomasy sałaty rosnącej na glebie 4, ale nie wszystkie miały pozytywny wpływ na wzrost roślin na glebie 5 (fot. 1 i rys. 3a).



Fot. 1. Porównanie wzrostu sałaty na glebie 1 i 4 po 6 tygodniach trwania doświadczenia w wybranych wariantach: 0, OS2, K2, Sc1, Sc2 i Sc3

Phot. 1. Comparison of lettuce growth in soils 1 and 4 after 6 weeks of the experiment in selected treatments: 0, OS2, K2, Sc1, Sc2 and Sc3



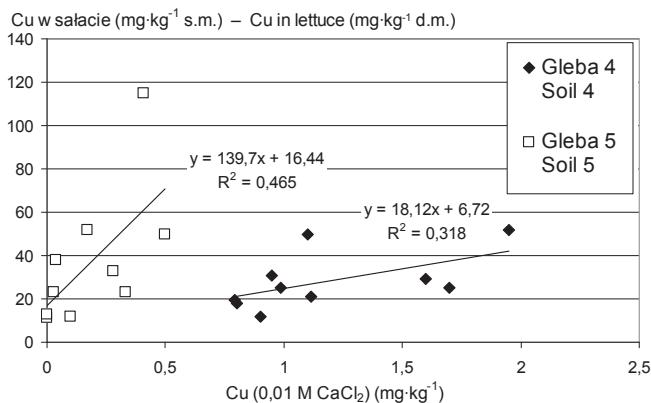
Rys. 3. Plon nadziemnych części sałaty pozyskany na glebach 4 i 5 (a) oraz zawartość Cu w biomasie (b)

Fig. 3. Yield of aboveground parts of lettuce grown in soils 4 and 5 (a), and Cu concentrations in the biomass (b)

Analiza zawartości Cu w częściach nadziemnych sałaty rosnącej na glebach 4 i 5 wskazała, że dodatek osadów ściekowych higienizowanych wapnem, o silnie alkalicznym odczynie (OS4) spowodował istotny wzrost pobrania Cu przez sałatę (rys. 3b). Także dodatek słabo przetworzonego kompostu (K1) przyczynił się do pobrania z gleb większych ilości Cu. W tym ostatnim przypadku zaobserwowano duże zróżnicowanie wyników między powtórzeniami, co skutkowało tym, że wpływ kompostu K1 na pobranie Cu nie został statystycznie potwierdzony na poziomie  $P=0,05$  (rys. 3b). Dodatek do gleb dojrzałego kompostu (K2) wpłynął natomiast na istotne ograniczenie pobrania Cu przez sałatę z gleb 4 i 5.

Uzyskane wyniki potwierdzają, że wprowadzenie do gleb zanieczyszczonych miedzią substancji organicznej o zróżnicowanych właściwościach może powodować zmiany podatności Cu na ekstrakcję oraz modyfikować fitotoksyczność i fitoprzyzwajalność tego pierwiastka. Efekty te są jednak trudne do przewidzenia, gdyż zależą w dużej mierze od właściwości gleb. Znaczącemu wzrostowi podatności Cu na ekstrakcję roztworem 0,01 M  $\text{CaCl}_2$  odpowiadał wzrost pobrania Cu, co stwierdzono na przykładzie gleb 4 i 5 z dodatkiem OS4 i K1. Jednak uzyskane efekty nie zależały bezpośrednio od zawartości RWO w stosowanych dodatkach. Dla poszczególnych gleb 4 i 5, analizowanych

oddzielnie, stwierdzono dodatnią korelację między zawartością w glebie form Cu podatnych na ekstrakcję  $\text{CaCl}_2$  i koncentracją Cu w częściach nadziemnych sałaty. Korelacji takiej nie obserwowano, gdy zbiór wyników uzyskanych na obu glebach potraktowano łącznie (rys. 4). Opisany związek był znacznie silniejszy w przypadku gleby 5 o ubogim kompleksie sorpcyjnym i niewielkiej zawartości Cu. Problem korelacji między zawartością w glebie form mikroelementów podatnych na ekstrakcję roztworami obojętnych soli a pobraniem tych mikroelementów przez rośliny jest przedmiotem odrębnego opracowania (Gałka i wsp. 2012).



Rys. 4. Zależność między zawartością w glebach 4 i 5 form Cu podatnych na ekstrakcję roztworem 0,01 M  $\text{CaCl}_2$  oraz koncentracją Cu w częściach nadziemnych sałaty

Fig. 4. Dependence between the concentrations of 0.01 M  $\text{CaCl}_2$  extractable Cu in soils and Cu concentrations in the aboveground parts of lettuce

## WNIOSKI

1. Dodatki organiczne wprowadzone do gleb miały wpływ na stężenie form Cu podatnych na ekstrakcję roztworem 0,01 M  $\text{CaCl}_2$ , jak i na wielkość pozyskiwanej biomasy roślin oraz zawartość miedzi w tej biomacie.

2. Wpływ zastosowanych dodatków organicznych na podatność na ekstrakcję Cu w glebach roztworem 0,01 M  $\text{CaCl}_2$  był różny i zależał od właściwości gleb.

3. W glebach zawierających szczególnie duże ilości miedzi wystąpiło silne fitotoksyczne działanie tego pierwiastka i efekt nie został wyeliminowany ani ograniczony przez wprowadzenie do gleb dodatku materiałów organicznych.

4. W przypadku gleb zawierających niższe ilości miedzi dodatek stabilizowanego osadu ściekowego o alkalicznym odczynie oraz niedojrzałego kompostu spowodował zwiększenie rozpuszczalności Cu w glebach oraz wzrost pobrania Cu przez sałatę. Natomiast wprowadzenie do tych gleb kompostu dojrzałego znacząco ograniczyło pobranie Cu przez rośliny.

5. Ściółka z drzew iglastych przyczyniła się do wzrostu podatności Cu na ekstrakcję w glebach wytworzonych z piasku, ale w warunkach doświadczenia efekt ten nie przełożył się na zwiększone pobranie Cu przez rośliny.

6. W dalszych badaniach należy szczególną uwagę poświęcić właściwościom rozpuszczalnej substancji organicznej w kontekście jej działania kompleksującego wobec Cu, a także dynamice przemian tej substancji w glebach.

## PIŚMIENNICTWO

- Andersen M., Raulund-Rasmussen K., Strobel B., Hansen H., 2004. The effects of tree species and site on the solubility of Cd, Cu, Ni, Pb and Zn in soils. *Water Air Soil Poll.*, 154: 357–370.
- Baran S., Turski R., 1999. Wybrane zagadnienia z utylizacji i unieszkodliwiania odpadów. Wyd. AR w Lublinie, Lublin.
- Gałka B., Karczevska A., Popielas K., Dziecielski M., Cuske M., 2012. Przydatność wybranych roztworów ekstrakcyjnych do oceny pobrania cynku i miedzi przez sałatę (*Lactuca sativa*) z gleb zanieczyszczonych. *Zesz. Nauk. UP we Wrocławiu* (złożono do druku).
- Gondek K., 2004. Wpływ nawożenia mineralnego, obornikiem i osadem grabarskim na zawartość wybranych metali ciężkich w roślinach i glebie. *Acta Agrophysica*, 3 (3): 465–478.
- Gondek K., 2009. Content of cadmium in maize (*Zea mays* L.) and soils fertilized with sewage sludge and mixtures of sewage sludge and peat. *Pol. J. Natur. Sc.*, 24 (3): 146–157.
- Houba V.J.G., Temminghoff E.J.M., Gaikhorst G.A., van Vark W., 2000. Soil analysis procedures using 0.01 M calcium chloride as extraction reagent. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 31: 1299–1396.
- Kalbitz K., Wennrich R., 1998. Mobilization of heavy metals and arsenic in polluted wetland soils and its dependence on dissolved organic matter. *Sci. Total Environ.*, 209: 27–39.
- Kalembasa D., Malinowska E., 2010. Działanie osadu ściekowego na zawartość metali ciężkich w biomacie trawy *Miscantus sacchariflorus* oraz w glebie. *Ochr. Środ. Zas. Nat.*, 42: 198–203.
- Kaniuczak J., Hajduk E., Zamorska J., Ilek M., 2009. Charakterystyka osadów ściekowych pod względem przydatności do przyrodniczego wykorzystania. *Zesz. Nauk. P-W O/PTIE i O/PTG w Rzeszowie*, 11: 89–94.
- Karczevska A., 2002. Metale ciężkie w glebach zanieczyszczonych emisjami hut miedzi – formy i rozpuszczalność. *ZN AR we Wrocławiu. CLXXXIV*, 432, Wrocław.
- Karczevska A., 2008. Ochrona gleb i rekultywacja terenów zdegradowanych. Wydawnictwo UP we Wrocławiu.
- Medyńska A., Kabała C., 2010. Heavy metals concentration and extractability in forest litters in the area impacted by copper smelter near Legnica. *Ecolog. Chem. Engin. A*, 17: 981–989.
- Mertens J., Neve L., De Schrijver A., Piesschaert F., Oosterbaan A., Tack F.M.G., Verheyen K., 2007. Tree species effect on the redistribution of soil metals. *Environ. Poll.*, 149: 173–181.
- Ostrowska A., Gawliński Z., Szczubiałka Z., 1991. Metody analizy i oceny właściwości gleb i roślin. IOŚ. Warszawa.
- Pohlman A.A., McColl J.G., 1988. Soluble organics from forest litter and their role in metal dissolution. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 52: 265–271.
- PTG 2009. Klasyfikacja uziarnienia gleb i utworów mineralnych – PTG 2008. *Rocz. Glebozn.*, 60 (2): 5–16.
- Rozporządzenie, 2010. Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 13 lipca 2010 r w.s. komunalnych osadów ściekowych (Dz.U. 2010 nr 137, poz. 924).



- Singh R.P., Agrawal M., 2008. Potential benefits and risks of land application of sewage sludge. *Waste Manag.*, 28 (2): 347–358.
- Szerszeń L., Chodak T., Kabała C., 2004. Zmiany zawartości miedzi, ołowiu i cynku w glebach w rejonie hut miedzi Głogów i Legnica w latach 1972–2002. *Rocz. Glebozn.*, 55, 3: 195–205.
- Terelak H., Stuczyński T., Piotrowska M., 1997. Heavy metals in agricultural soils in Poland. *Polish J. Soil Sci.*, 30 (2): 35–42.
- Theodoratos P., Moirou A., Xenidis A., Paspaliaris J., 2000. The use of municipal sewage sludge for the stabilization of soil contaminated by mining activities. *J. Hazard. Mat.*, 77 (1–3): 177–191.
- Titeux H., Brahy V., Delvaux B., 2002. Metal complexing properties of forest floor leachates might promote incipient podzolization in a Cambisol under deciduous forest. *Geoderma*, 107: 93–107.

## **EFFECT OF APPLYING ORGANIC MATTER ON THE SOLUBILITY AND PHYTOAVAILABILITY OF COPPER IN SOILS POLLUTED BY THE COPPER INDUSTRY**

### **S u m m a r y**

The impact of various types of organic matter on copper solubility and phytoavailability was examined in 5 soils from the vicinities of copper smelters in Legnica and Głogów and the tailings impoundment Żelazny Most. The study was carried out in a pot experiment with lettuce *Lactuca sativa* as the test plant. Soils were enriched with 4 types of sewage sludge, 2 composts of varying degrees of maturity and 3 types of forest debris, at a rate of 20 g d.m.·kg<sup>-1</sup>. After completing the experiment, the solubility of Cu in the soils was determined based on the results of soil extraction with 0.01 M CaCl<sub>2</sub>. Copper phytoavailability was evaluated based on Cu concentrations in the aboveground parts of lettuce. The results confirm that applying various kinds of organic matter to soils contaminated with copper can affect Cu extractability, phytotoxicity and phytoavailability. Such effects are difficult to predict, because they depend largely on soil properties. In the most polluted soils the strong phytotoxic effect of Cu was not eliminated by adding organic matter. In less contaminated soils, satisfactory growth of lettuce was obtained. In those soils, the addition of stabilized, alkaline sewage sludge and an immature compost caused an increase in Cu solubility and uptake by lettuce, while the addition of a mature compost reduced Cu uptake by plants.

**KEY WORDS:** soils, copper, extraction, calcium chloride, lettuce, sewage sludge, compost, forest debris



**Katarzyna Kozłowska, Marek Liszewski**

**WPLYW NAWOŻENIA DOLISTNEGO  
WYBRANYMI MIKROELEMENTAMI NA CECHY ROLNICZE  
ZIARNA JĘCZMIENIA BROWARNEGO**

**EFFECT OF FOLIAR FERTILIZATION  
WITH SELECTED MICROELEMENTS ON THE AGRICULTURAL  
CHARACTERISTICS OF MALT BARLEY GRAIN**

*Katedra Szczegółowej Uprawy Roślin, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu,  
Department of Crop Production, Wrocław University of Environmental and Life Science*

Badania zostały przeprowadzone w latach 2010–2011. Założono ściśle doświadczenie polowe metodą losowanych podbloków (split-plot), w układzie trzyczynnikowym. Badania uwzględniały następujące czynniki: (1) odmiana (Henrike i Mauritia); (2) mikroelementy (Cu, Mn i łączne zastosowanie obu mikroelementów); (3) dawka mikroelementów (obiekt kontrolny – bez mikroelementów, zalecana przez producenta oraz podwojona w odniesieniu do zalecanej). Mikroskładniki stosowano dolistnie w formie chelatów.

Uzyskano wyraźne zróżnicowanie wykształtowanych kłosów, liczby i masy ziarna z kłosa, masy 1000 ziaren, celności oraz zawartości białka w ziarnie pomiędzy odmianami. Dla odmiany Henrike stwierdzono istotnie wyższą liczbę i masę ziarna z kłosa, masę 1000 ziaren oraz słabsze rozkrzewienie w porównaniu z odmianą Mauritia. Odmiana Henrike charakteryzowała się szczególnie wyższą celnością oraz zawartością białka w ziarnie niż Mauritia. Zastosowanie zalecanych dawek nawozów mikroelementowych (Mn i Cu+Mn) spowodowało istotny wzrost liczby ziaren w kłosie w porównaniu z obiektem kontrolnym. Poszczególne mikroelementy oraz zastosowane dawki nie miały szczególnego wpływu na kształtowanie różnic pozostałych elementów struktury plonu oraz cech rolniczych ziarna. Czynniki odmianowy, jak i nawożenie mikroelementami nie wpłynęły istotnie na plonowanie jęczmienia. Przebieg warunków pogodowych najsilniej decydował o cechach rolniczych ziarna jęczmienia browarnego.

**SŁOWA KLUCZOWE:** jęczmień browarny, dolistne nawożenie mikroelementami, miedź, mangan, plon ziarna, celność, białko

## WSTĘP

Mikroelementy regulują szereg procesów biochemicznych przebiegających w roślinach. Pierwiastki te są składnikami lub aktywatorami wielu reakcji enzymatycznych (Barczak, Kozera 2003, Barczak i wsp. 2005, Michałojć, Szewczuk 2003, Ruskowska, Wojcieszka-Wyskupajtyś 1996). Zwiększają one również efektywność nawożenia makroelementami, wpływając tym samym na wysokość plonu oraz wartość biologiczną ziarna. Niedobór mikroelementów może zmieniać cechy jakościowe ziarna, a w szczególności wpływać na ilość i jakość białka (Barczak, Kozera 2003). Jęczmień jest najbardziej wrażliwy na niedobory miedzi i manganu (Podleśna 2002, Ruskowska, Wojcieszka-Wyskupajtyś 1996, Stanisławska-Głubiak, Korzeniowska 2003).

W praktyce rolniczej coraz częściej zdarza się, że składniki pokarmowe mogą występować w glebie w ilościach niewystarczających lub w formach trudno dostępnych dla roślin (Szewczuk, Michałojć 2003). Niedobór składników w roślinie może być spowodowany przez niewłaściwy odczyn gleby (dla pobrania większości pierwiastków korzystny jest odczyn lekko kwaśny), antagonistyczne lub synergistyczne działanie między pierwiastkami, przebieg pogody czy zawartość substancji organicznej w glebie (Szewczuk, Michałojć 2003).

Najbardziej skutecznym sposobem doraźnego dostarczenia deficytowych mikrośladników jest nawożenie dolistne z wykorzystaniem chelatów (Alexander, Schroeder 1987, Czuba 1996, Wójcik 1998). Główną zaletą nawożenia dolistnego roślin jest szybkość działania i wysoki stopień wykorzystania wnoszonych składników (Czuba 1996, Michałojć, Szewczuk 2003).

Celem pracy było określenie wpływu nawożenia dolistnego miedzią i manganem na plonowanie oraz wybrane cechy rolnicze ziarna dwóch odmian jęczmienia browarnego.

## MATERIAŁ I METODY

Badania zostały przeprowadzone w latach 2010–2011, na polach Katedry Szczegółowej Uprawy Roślin w Pawłowicach koło Wrocławia. W ścisłym doświadczeniu polowym założonym metodą losowanych podbloków (split-plot) uwzględniono trzy czynniki zmienne: (1) odmiana (Henrike i Mauritia); (2) mikroelementy (Cu, Mn i łączne zastosowanie obu mikroelementów) oraz (3) dawka (obiekt kontrolny – bez mikroelementów, zalecana przez producenta oraz podwojona w odniesieniu do zalecanej). Mikroelementy aplikowano w formie płynnych nawozów, w postaci chelatów produkowanych przez firmę Intermag. Nawożenie wykonano w dwóch terminach przypadających na następujące fazy rozwojowe jęczmienia: faza krzewienia (Cu) oraz strzelania w źdźbło (Mn). Przy łącznym nawożeniu pierwiastkami (Cu+Mn) zastosowano zalecane terminy, podobnie jak w przypadku nawożenia pojedynczymi mikroelementami, tzn. rośliny były nawożone Cu w fazie krzewienia, a następnie w fazie strzelania w źdźbło – Mn. Zabieg został wykonany opryskiwaczem poletkowym dawką zalecaną przez producenta w ilości 0,8 kg nawozu Intermag chelat Cu14 Top ha<sup>-1</sup> (140 g Cu·kg<sup>-1</sup> nawozu) i 1 kg nawozu Intermag chelat Mn13 Top ha<sup>-1</sup> (130 g Mn·kg<sup>-1</sup> nawozu). Roślinom dostarczono dodatkowo podstawowe makroskładniki, takie jak: azot (40 kg N·ha<sup>-1</sup>–34% saletra amonowa), fosfor (40 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>·ha<sup>-1</sup> – superfosfat wzbogacony) i potas (60 kg K<sub>2</sub>O·ha<sup>-1</sup>–60% sól potasowa).

Doświadczenie zostało założone na glebie brunatnej, wytworzonej z gliny lekkiej na glinie średniej, zaliczonej do kompleksu przydatności rolniczej pszennego dobrego, klasy bonitacyjnej – IIIb. W roku 2010 zawartość N min. w warstwie gleby od 0 do 60 cm była niższa (o 19,6 kg·ha<sup>-1</sup>) niż w roku 2011 (49,1 kg·ha<sup>-1</sup>). W roku 2010 gleba charakteryzowała się bardzo wysoką zawartością fosforu i magnezu, a także średnią potasu (odpowiednio: 213, 114 i 192 mg·kg<sup>-1</sup> gleby). W sezonie 2011 gleba wykazywała wysoką zawartość potasu i magnezu oraz niską fosforu (odpowiednio: 225, 133 i 67 mg·kg<sup>-1</sup> gleby). W obu latach badań (2010 i 2011) gleba charakteryzowała się wysoką zawartością miedzi (odpowiednio: 7,4 i 14 mg·kg<sup>-1</sup> gleby) i średnią manganu (odpowiednio: 215 i 189 mg·kg<sup>-1</sup> gleby). Odczyn gleby (pH w 1 mol KCl·dm<sup>-3</sup>) był lekko kwaśny – pH 5,7 (2010 r.) i kwaśny – pH 5,4 (2011 r.) (Zalecenia nawozowe 1990).

Przedplonem dla jęczmienia jarego był rzepak ozimy. Siew przeprowadzono w następujących terminach: 31.03.2010 r. i 30.03.2011 r., w ilości 300 sztuk·m<sup>2</sup>. W 2010 r. chwasty zwalczano w fazie krzewienia się jęczmienia preparatem Chwastox Turbo 340 SL (2,0 l·ha<sup>-1</sup>), a w 2011 r. Chwastoxem Ekstra 300 SL (3,0 l·ha<sup>-1</sup>). W obu latach badań w fazie strzelania w źdźbło zastosowano fungicyd Amistar 250 SC w dawce 1 l·ha<sup>-1</sup>. Zabieg wykonano ponownie na początku kłoszenia preparatami: Corbel 750 EC w dawce 1 l·ha<sup>-1</sup> (2010 r.) i Artea 330 EC w dawce 0,5 l·ha<sup>-1</sup> (2011 r.). W 2010 r. stwierdzono pojawienie się skrzypionek i mszyc, dlatego wykonano oprysk insektycydem Fastac 100 EC w dawce 0,6 l·ha<sup>-1</sup>. Zbiór jęczmienia przeprowadzono po uzyskaniu przez obie badane odmiany dojrzałości pełnej.

W celu określenia liczby kłosów produktywnych oraz masy i liczby ziarniaków w kłosie z każdego poletka pobrano próbki roślin z powierzchni 0,25 m<sup>2</sup>. Po zbiorze określony został plon ziarna ogółem i plon ziarna celnego. Oznaczono parametry jakościowe ziarna: celność przy użyciu sit Vöglä, masę 1000 ziaren (MTZ) oraz zawartości białka ogółem metodą Kjeldahla [Analytica – EBC 1998]. Ekstraktywność teoretyczną obliczono, korygując ze wzoru Bishopa (Błażewicz, Liszewski 2004, Dylkowski 1959):

$$E = 84,5 - 0,75 B + 0,1 MTZ,$$

gdzie:  $E$  – ekstraktywność ziarna jęczmienia wg Bishopa [% s.m.],  $B$  – zawartość białka w ziarnie jęczmienia [% s.m.],  $MTZ$  – masa 1000 ziaren [g s.m.], 84,5 – wartość stała dla jęczmienia dwurzędowego.

Do opisu wpływu warunków atmosferycznych na rozwój jęczmienia posłużono się współczynnikiem Sielianinowa, obliczonym za pomocą wzoru [Radomski 1987]:

$$K = P / (0,1 \cdot T)$$

gdzie:  $K$  – współczynnik hydrotermiczny Sielianinowa,  $P$  – suma opadów w poszczególnych fazach rozwojowych,  $T$  – suma średnich temperatur dziennych w poszczególnych fazach rozwojowych.

Wyniki poddano analizie wariancji z wykorzystaniem testu t-Studenta, na poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ .

## WYNIKI I DYSKUSJA

W 2010 r. warunki atmosferyczne ( $K = 3,29$ ) po siewie sprzyjały uzyskaniu dobrych wschodów jęczmienia (96%) (tab. 1). Faza krzewienia przebiegała w optymalnych warunkach do wzrostu i rozwoju ( $K = 4,24$ ), co sprzyjało dobremu rozkrzewieniu się roślin jęczmienia (843 szt. $\cdot$ m<sup>2</sup>). Korzystne warunki utrzymywały się również w fazie strzelania w źdźbło ( $K = 1,89$ ). W fazie kłoszenia nastąpiło zahamowanie rozwoju jęczmienia oraz opóźnienie rozpoczęcia wypełniania i dojrzewania ziarna, spowodowane suszą ( $K = 0,47$ ). Poprawa warunków wilgotnościowych nastąpiła dopiero w fazie dojrzałości woskowej. Długość okresu wegetacji jęczmienia wynosiła od 117 (Henrike) do 122 dni (Mauritia).

Tabela 1  
Table 1

Fazy rozwojowe jęczmienia browarnego na tle warunków atmosferycznych  
oraz współczynniki hydrotermiczne Sielianinowa ( $K$ )

Development stages of brewing barley depend on weather condition  
and values of Sielianinow's index

Stan roz- woju roślin Growth stage	Rok Year	Odmiana Cultivar	Terminy Period	Liczba dni Number of days	Temperatura (°C) Temperature		Opady (mm) Rainfall		Współczyn- nik Sieliani- nowa Sielianinow's index $K$
					suma sum	średnia means	suma sum	liczba dni number of days	
					1	2	3	4	
A	2010	Henrike	31.03– 15.04	16	140,4	8,8	46,2	12	3,29
		Mauritia	31.03– 15.04	16	140,4	8,8	46,2	12	3,29
	2011	Henrike	30.04– 11.04	13	144,9	11,1	10,9	4	0,75
		Mauritia	30.03– 11.04	13	144,9	11,1	10,9	4	0,75
B	2010	Henrike	16.04– 29.04	14	145,1	10,4	9,5	3	0,65
		Mauritia	16.04– 08.05	23	261,9	11,4	39,3	10	1,50
	2011	Henrike	12.04– 26.04	15	169,6	11,3	16,5	6	0,97
		Mauritia	12.04– 02.05	21	251,0	12,0	16,5	6	0,66
C	2010	Henrike	30.04– 19.05	20	239,7	12,0	98,8	16	4,12
		Mauritia	09.05– 24.05	16	199,3	12,5	86,9	12	4,36
	2011	Henrike	27.04– 16.05	20	248,6	12,4	34,1	5	1,37
		Mauritia	03.05– 20.05	18	242,1	13,5	37,7	6	1,56

Tabela 1 cd.  
Table 1 cont.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
D	2010	Henrike	20.05–01.06	13	184,9	14,2	44,8	8	2,42
		Mauritia	25.05–10.06	17	282,9	16,6	38,6	7	1,36
	2011	Henrike	17.05–25.05	9	163,9	18,2	3,6	1	0,22
		Mauritia	21.05–30.05	10	174,3	17,4	11,7	2	0,67
E	2010	Henrike	02.06–08.07	37	687,0	18,6	35,2	7	0,51
		Mauritia	11.06–10.07	30	558,7	18,6	23,5	5	0,42
	2011	Henrike	26.05–14.06	20	387,2	19,4	45,1	4	1,16
		Mauritia	31.05–21.06	22	431,9	19,6	37,1	8	0,86
F	2010	Henrike	09.07–14.07	6	147,9	24,7	0,4	1	0,03
		Mauritia	11.07–18.07	8	198,5	24,8	24,3	4	1,22
	2011	Henrike	15.06–28.06	14	253,6	18,1	39,9	6	1,57
		Mauritia	22.06–12.07	21	388,7	18,5	113,4	11	2,92
G	2010	Henrike	15.07–25.07	11	243,8	22,2	61,1	5	2,51
		Mauritia	19.07–30.07	12	236,8	19,7	51,5	5	2,17
	2011	Henrike	29.06–15.07	17	323,2	19,0	84,9	10	2,63
		Mauritia	13.07–21.07	9	180,2	20,0	62,1	7	3,45
Okres wegetacji Growing season	2010	Henrike	31.03–25.07	117	1788,8	15,3	296,0	52	1,65
		Mauritia	31.03–30.07	122	1878,5	15,4	310,3	55	1,65
	2011	Henrike	30.03–15.07	108	1691,0	15,7	235,0	36	1,39
		Mauritia	30.03–21.07	114	1580,2	13,9	289,4	44	1,83

Początek faz rozwojowych – The beginning of growth stage: **A:** BBCH<sub>00</sub> – BBCH<sub>11</sub> (suchy ziarniak – faza 1. liścia) – (dry seed – first-leaf stage); **B:** BBCH<sub>11</sub> – BBCH<sub>21</sub> (faza 1. liścia – pocz. fazy krzewienia: widoczne 1 rozkrzewienie) – (first-leaf stage – beginning of tillering: 1st tiller appearing); **C:** BBCH<sub>21</sub> – BBCH<sub>31</sub> (pocz. fazy krzewienia – 1. kolanko) – (tillering – first node stage); **D:** BBCH<sub>31</sub> – BBCH<sub>51</sub> (1. kolanko – początek kłoszenia) – (first node stage – beginning earing); **E:** BBCH<sub>51</sub> – BBCH<sub>73</sub> (pocz. kłoszenia – pocz. dojrzałości mleczej) – (beginning earing – beginning of milk stage); **F:** BBCH<sub>73</sub> – BBCH<sub>83</sub> (pocz. dojrzałości mleczej – pocz. dojrzałości woskowej) – (beginning milk stage – beginning of dough stage); **G:** BBCH<sub>83</sub> – BBCH<sub>89</sub> (pocz. dojrz. woskowej – dojrzałość pełna) – (beginning dough stage – full maturity)

W 2011 r., dzięki dobremu uwilgotnieniu gleby przed siewem, uzyskano wschody roślin na poziomie – 92%. Niższe niż w roku 2010 sumy opadów przypadające na fazę krzewienia spowodowały słabsze rozkrzewienie jęczmienia (572 szt.·m<sup>2</sup>). W sezonie 2011 faza strzelania w źdźbło przebiegała w warunkach suszy ( $K - 0,45$ ), co miało wpływ na skrócenie tej fazy. W fazie kłoszenia i wypełniania ziarniaka warunki atmosferyczne były umiarkowanie korzystne dla rozwoju jęczmienia ( $K - 1,01$ ). Wyższe sumy opadów odnotowano dopiero w fazie dojrzewania ziarniaków. W sezonie 2011 długość okresu wegetacji wahała się od 108 (Henrike) do 114 dni (Mauritia).

Według Słabońskiego [1985] temperatura powietrza w fazie krzewienia nie powinna przekraczać 18°C, a opady powinny być umiarkowane. Warunki takie wystąpiły w 2010 r., sprzyjając intensywnemu rozkrzewieniu roślin jęczmienia.

Pecio (2002) i Słaboński (1985) twierdzą, że w fazach strzelania w źdźbło i kłoszenia temperatura od 17–19°C i umiarkowane opady (30–70 mm) sprzyjają wytworzeniu silnego systemu korzeniowego i tym samym zwiększeniu wytrzymałości roślin na suszę. Takie warunki sprzyjają wytworzeniu maksymalnej powierzchni asymilacyjnej, warunkując intensywny przebieg fotosyntezy (Pecio 2002, Słaboński 1985). W 2011 r. w fazie strzelania w źdźbło zaznaczył się deficyt opadów.

Okres od fazy kwitnienia do fazy dojrzewania ziarniaka jest szczególnie ważny w uprawie jęczmienia. Następuje wtedy zawiązywanie ziarna oraz jego wypełnienie w wyniku procesu fotosyntezy (Pecio 2002). Bertholdsson (1999) i Pecio (2002) podają, że niedobory opadów są przyczyną zmniejszenia intensywności fotosyntezy, co ogranicza ilość dostępnych węglowodanów do syntezy skrobi. Tym samym następuje zwiększone przemieszczanie azotu z części wegetatywnych do ziarna. Prowadzi to do zmniejszenia plonu ziarna, przy jednoczesnym zwiększeniu zawartości azotu i białka w ziarnie (Pecio 2002). Wielu autorów (Podleśna 2002, Ruskowska, Wojcieszka-Wyskupajtyś 1996) twierdzi, że również niedobory miedzi i manganu wpływają na ograniczenie intensywności przebiegu fotosyntezy.

Bertholdsson (1999) i Pecio (2002) uważają, że w uprawie jarego jęczmienia brzoźnego jednym z najistotniejszych problemów są coraz częściej występujące okresowe niedobory wody. Mają one istotny wpływ na pobieranie oraz przemieszczanie w roślinie azotu, którego zbyt duża ilość podwyższa zawartość białka w ziarnie (Przulj, Momčilović 2001). W obu sezonach stwierdzono nierównomierny rozkład opadów, w niewystarczających dla niektórych faz rozwojowych jęczmienia ilościach. Sezon 2011 charakteryzował się niższą (o 41,0 mm) niż w 2010 r. (303,2 mm) sumą opadów dla całego okresu wegetacji jęczmienia, a także niewystarczającą ilością opadów w okresie od strzelania w źdźbło do fazy wypełniania ziarniaka. Skutkowało to niższym plonem ziarna oraz niekorzystnym podwyższeniem zawartości białka w ziarnie, w porównaniu z rokiem 2010.

Odmiana Mauritia charakteryzowała się istotnie wyższym krzewieniem produkcyjnym (o 132 szt.·m<sup>2</sup>) niż odmiana Henrike (641 szt.·m<sup>2</sup>) (tab. 2). Podleśna podaje (2002), że niedobór miedzi powoduje ograniczony rozwój pędu głównego, przy jednoczesnym zwiększeniu liczby i masy pędów bocznych. Hamowany jest także rozwój organów generatywnych (Podleśna 2002). W przeprowadzonym doświadczeniu czynnik nawozowy nie różnicował istotnie krzewienia produkcyjnego.

Tabela 2  
Table 2

Cechy rolnicze ziarna jęczmienia jarego (średnie dla czynników i lat)  
Agricultural characteristics of grain spring barley (means for variables and years)

Warianty Treatments		Liczba kłosów produktywnych z 1 m <sup>2</sup> Number of pro- ductive ears per m <sup>2</sup>	Liczba ziaren w kłosie Number of grains per ear	Masa ziarna z kłosa (g) Weight of grains per ear
Odmiana Cultivar	Henrike	641	21,49	1,21
	Mauritia	773	18,96	1,00
NIR <sub>0,05</sub> – LSD <sub>0,05</sub>		32,0	0,37	0,05
Mikroelement Microelement	Cu	717	20,27	1,10
	Mn	698	20,08	1,11
	Cu + Mn	706	20,31	1,11
NIR <sub>0,05</sub> – LSD <sub>0,05</sub>		r.n.	r.n.	r.n.
Dawka nawozu Dose of fertilizer	0	710	19,94	1,11
	1	704	20,48	1,11
	2	707	20,25	1,11
NIR <sub>0,05</sub> – LSD <sub>0,05</sub>		r.n.	0,35	r.n.
Lata Years	2010	843	19,75	1,04
	2011	572	20,69	1,18
NIR <sub>0,05</sub> – LSD <sub>0,05</sub>		69,2	0,67	0,05

r.n. – różnica nieistotna – non significant difference

NIR–LSD – najmniejsza istotna różnica – least significant difference

0 – dawka kontrolna – dose control

1 – dawka zalecana przez producenta – dose recommended by the producer

2 – dawka podwojona w odniesieniu do zalecanej – dose doubled the recommended

Istotnie większą liczbę i masę ziarna z kłosa stwierdzono dla odmiany Henrike (odpowiednio: o 2 szt. i 0,21 g), o czym zadecydowało jej słabsze rozkrzewienie się. Ruszkowska i Wojcieszka-Wyskupajtyś (1996) uważają, że w wyniku niedoboru Cu powstaje zdegenerowany pyłek niezdolny do procesu zapylania, co może wpływać na wykształcenie mniejszej liczby ziarniaków w kłosie. Stosowanie zalecanych dawek nawożenia dolistnego manganem oraz łącznej aplikacji obu mikroelementów powodowało istotny wzrost liczby ziarniaków w kłosie, w porównaniu z obiektem nie nawożonym mikroelementami (tab. 2, 3). Istotnie wyższą liczbę i masę ziarna z kłosa stwierdzono w sezonie 2011. Czynniki nawozowy nie wpływał na masę ziarna z kłosa.

Tabela 3  
Table 3

Wpływ współdziałania pomiędzy nawożeniem mikroelementami a dawką nawozów na liczbę ziaren w kłosie w szt. (średnie z lat 2010–2011)  
Impact interaction between fertilization with microelements and dose of fertilizer on number of grains per ear (means for 2010–2011)

Dawka nawozu Dose of fertilizer	Mikroelement Microelement		
	Cu	Mn	Cu+Mn
0	20,13	19,88	19,81
1	20,44	20,50	20,50
2	20,25	19,88	20,63
NIR <sub>0,05</sub> – LSD <sub>0,05</sub>	0,61		

r.n. – różnica nieistotna – non significant difference

NIR–LSD – najmniejsza istotna różnica – least significant difference

0 – dawka kontrolna – dose control

1 – dawka zalecana przez producenta – dose recommended by the producer

2 – dawka podwojona w odniesieniu do zalecanej – dose doubled the recommended

Wielu autorów (Liszewski i wsp. 2011, Pecio 2002) potwierdza fakt, że plon ziarna jęczmienia zależy przede wszystkim od liczby kłosów na jednostce powierzchni. Pomimo istotnego wpływu czynnika odmianowego i lat badań na liczbę kłosów produkcyjnych jęczmienia nie wykazano zróżnicowania plonów ziarna ogółem i ziarna celnego przez żaden z badanych czynników (tab. 4). Średnie plony ziarna ogółem i ziarna celnego wynosiły odpowiednio: 6,83 i 6,47 t·ha<sup>-1</sup> (2010 r.) oraz 6,33 i 6,26 t·ha<sup>-1</sup> (2011 r.).

Tabela 4  
Table 4

Plony ziarna jęczmienia jarego, t·ha<sup>-1</sup> (średnie dla czynników i lat)  
Yields of spring barley grain, t·ha<sup>-1</sup> (means for variables and years)

Warianty Treatments		Plon ziarna Grain yields	Plon ziarna celnego Grain of choice quality yields
Odmiana Cultivar	Henrike	6,60	6,43
	Mauritia	6,56	6,30
NIR <sub>0,05</sub> – LSD <sub>0,05</sub>		r.n.	r.n.
Mikroelement Microelement	Cu	6,56	6,35
	Mn	6,59	6,37
	Cu + Mn	6,58	6,36
NIR <sub>0,05</sub> – LSD <sub>0,05</sub>		r.n.	r.n.
Dawka nawozu Dose of fertilizer	0	6,52	6,31
	1	6,58	6,36
	2	6,64	6,42
NIR <sub>0,05</sub> – LSD <sub>0,05</sub>		r.n.	r.n.
Lata Years	2010	6,83	6,47
	2011	6,33	6,26
NIR <sub>0,05</sub> – LSD <sub>0,05</sub>		r.n.	r.n.

r.n. – różnica nieistotna – non significant difference

NIR–LSD – najmniejsza istotna różnica – least significant difference

0 – dawka kontrolna – dose control

1 – dawka zalecana przez producenta – dose recommended by the producer

2 – dawka podwojona w odniesieniu do zalecanej – dose doubled the recommended



Domska i Raczkowski (2009) oraz Warechowska i Domska (2002) w swoich badaniach podkreślają pozytywny wpływ nawożenia mikroelementami na wielkość plonów zbóż. Podkreślają, że dla uzyskania wysokiego plonu ziarna wskazane jest uzupełnienie nawożenia podstawowego, ograniczonego najczęściej do NPKMg w mikroelementy (Domska, Raczkowski 2009, Warechowska, Domska 2002). Barczak i wsp. (2005) wnioskuje natomiast, że wielkość plonu jęczmienia była w większym stopniu różnicowana w latach badań niż po zastosowaniu dolistnego nawożenia mikroelementami (Cu, Zn, Mn, Mo, B).

Wystarczająca zasobność gleby w miedź i mangan oraz stosunkowo korzystny przebieg pogody w obu latach badań spowodowały, że wpływ działania mikroskładników był znikomy na plonowanie jęczmienia.

Błażewicz i Liszewski (2004) twierdzą, że zwiększonej liczbie kłosów na jednostce powierzchni towarzyszy mniejsza liczba i masa ziarna z kłosa oraz masa 1000 ziaren, a także niższa celność. Zależność tę potwierdzają badania własne, w których odmiana Mauritia charakteryzowała się większą liczbą kłosów na 1m<sup>2</sup>, przy jednoczesnym obniżeniu celności ziarna, liczby i masy ziarna z kłosa, a także masy 1000 ziaren (tab. 2 i tab. 5).

Tabela 5  
Table 5

Wpływ nawożenia dolistnego miedzią i manganem  
na wybrane cechy jakościowe ziarna jęczmienia jarego (średnie dla czynników i lat)  
The effect of foliar fertilization copper and manganese  
on selected quality features of spring barley grain (means for variables and years)

Wyszczególnienie Specifications		Celność ziarna (%) Grain filling	Masa 1000 ziaren (g s.m.) Weight of 1000 grains	Białko Protein (% s.m. – d.m.)	Ekstraktywność słodu wg Bishopa Malt extractivity by Bishop
Odmiana Cultivar	Henrike	97,5	47,0	11,5	80,6
	Mauritia	95,1	43,6	11,2	80,4
NIR <sub>0,05</sub> – LSD <sub>0,05</sub>		0,36	0,56	0,27	r.n.
Mikroelement Microelement	Cu	96,8	45,2	11,4	80,5
	Mn	96,9	45,2	11,4	80,5
	Cu + Mn	96,8	45,5	11,3	80,6
NIR <sub>0,05</sub> – LSD <sub>0,05</sub>		r.n.	r.n.	r.n.	r.n.
Dawka na- wozu Dose of ferti- lizer	0	96,9	45,3	11,4	80,5
	1	96,8	45,3	11,4	80,5
	2	96,8	45,3	11,3	80,5
NIR <sub>0,05</sub> – LSD <sub>0,05</sub>		r.n.	r.n.	r.n.	r.n.
Lata Years	2010	94,7	43,8	11,1	80,6
	2011	98,9	46,8	11,7	80,4
NIR <sub>0,05</sub> – LSD <sub>0,05</sub>		1,69	0,71	0,50	r.n.

r.n. – różnica nieistotna – non significant difference

NIR–LSD – najmniejsza istotna różnica – least significant difference

0 – dawka kontrolna – dose control

1 – dawka zalecana przez producenta – dose recommended by the producer

2 – dawka podwojona w odniesieniu do zalecanej – dose doubled the recommended

Rozbicki (1994) uważa, że celność ziarna jęczmienia browarnego nie powinna być niższa niż 90%. Dla obu badanych odmian stwierdzono wysoką dla jęczmienia browarnego celność ziarna, niezależnie od lat badań (tab. 5). Istotnie wyższą celnością charakteryzowała się odmiana Henrike (o 2,4%) w porównaniu z odmianą Mauritia (95,1%). W sezonie 2011 jęczmień charakteryzował się wyższą celnością ziarna (o 4,2%) niż w roku 2010 (94,7%).

Masa 1000 ziaren była silnie różnicowana przez czynnik odmianowy. Wyższą masą 1000 ziaren charakteryzowała się odmiana Henrike (o 3,4%) w porównaniu z odmianą Mauritia (43,6 g).

Wielu autorów (Klockiewicz-Kamińska 2005, Liszewski i wsp. 2011) podkreśla w swoich badaniach, że podstawowym parametrem jakościowym ziarna jęczmienia browarnego jest normatywna zawartość białka w ziarnie (9,5–11,5%) (Klockiewicz-Kamińska 2005). W doświadczeniu odmiana Henrike charakteryzowała się istotnie wyższą (o 0,3%) zawartością białka niż odmiana Mauritia (11,2%).

Szczególnie ważnym zabiegiem agrotechnicznym wpływającym w zasadniczy sposób na plonowanie roślin oraz na cechy jakościowe ziarna (głównie zawartość białka) jest nawożenie azotem, ponieważ wraz ze wzrostem dostępności N wzrasta zawartość białka (Liszewski i wsp. 2011). Za odpowiednią ilość N (łącznie z gleby i nawozów mineralnych), dostępną dla roślin jęczmienia browarnego, przyjmuje się maksymalnie 90 kg N·ha<sup>-1</sup> (Timmer i wsp. 1993). W doświadczeniu norma przyjęta przez Timmera i wsp. (1993) nie została przekroczona. Podwyższenie zawartości białka w ziarnie (11,7%) z roku 2011 spowodowane było przypuszczalnie niedostateczną ilością opadów.

Nawożenie mikroelementami i dawki nawozów nie różnicowały istotnie celności ziarna, *MTZ* i zawartości białka w ziarnie.

Według wielu autorów (Błażewicz, Liszewski 2003, Klockiewicz-Kamińska 2005, Kunze 1999) ekstraktywność jest podstawowym wskaźnikiem jakości słodu, która ma znaczenie ekonomiczne (im wyższa jest ekstraktywność, tym lepsza jest wydajność warzelni). Klockiewicz-Kamińska (2005) podaje, że ekstraktywność jęczmienia nie powinna być mniejsza niż 81,6%. W doświadczeniu średnia wartość ekstraktywności wg Bishopa wynosiła 80,5% i nie była różnicowana przez żaden z badanych czynników.

## WNIOSKI

1. Wyniki badań wskazują, że czynnikiem najsilniej decydującym o cechach rolniczych ziarna jęczmienia browarnego był przebieg warunków pogodowych.

2. Czynniki odmianowy w większym stopniu niż nawożenie miedzią i manganem różnicował analizowane parametry technologiczne oraz elementy struktury plonu jęczmienia browarnego, takie jak: liczba kłosów produktywnych, liczba i masa ziarna z kłosa, masa 1000 ziaren, celność oraz zawartość białka w ziarnie.

3. Pod wpływem zastosowanych zalecanych dawek nawozów mikroelementowych zawierających mangan oraz łącznej aplikacji obu mikroelementów (Cu+Mn) stwierdzono istotny wzrost ziarniaków w kłosie, w porównaniu z obiektem nie nawożonym mikroelementami.

## PIŚMIENNICTWO

- Alexander A., Schroeder M., 1987. Fertilizer use efficiency. Modern trends in foliar fertilization. *Journal of Plant Nutrition*, Vol. 10: 1391–1399.
- Analytica – EBC., Verlag Hans Carl Getranke – Fachverlag, Nurnberg 1998,
- Barczak B., Kozera W., 2003. Oddziaływanie nawożenia mikroelementami na zawartość i skład frakcyjny białka ziarna jęczmienia jarego. *Acta Agrophysica*, 85: 31–38.
- Barczak B., Nowak K., Kozera W., Majcherczak E., 2005. Wpływ dokarmiania dolistnego mikroelementami na wielkość plonu ziarna jęczmienia jarego. *Fragm. Agron.*, 4(88): 5–17.
- Bertholdsson N.O., 1999. Characterization of malting barley cultivars with more or less stable protein content under varying environmental conditions. *European Journal of Agronomy*, 10: 1–8.
- Błażewicz J., Liszewski M., 2004. Skuteczność wskaźnika Q i metody Bishopa w ocenie wartości browarnej jęczmienia. *Pam. Puł.*, 135: 7–17.
- Błażewicz J., Liszewski M., Płaskowska E., 2003. Wartość browarna jęczmienia odmian Rudzik i Brenda z sezonu wegetacyjnego 2000. *Żywność Nauka Technologia Jakość*, 1(34): 99–109.
- Czuba R., 1996. Celowość i możliwości uzupełnienia niedoborów mikroelementów u roślin. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 434: 55–64.
- Domska D., Raczkowski M., 2009. Wpływ techniki dokarmiania mikroelementami na plonowanie i jakość ziarna pszenżyta. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 541: 105–112.
- Dylkowski W., 1959. Kontrola chemiczno-techniczna produkcji słodu i piwa. WPLiS, Warszawa: 106–112.
- Klockiewicz-Kamińska E., 2005. Metoda oceny wartości browarnej i klasyfikacja jakościowa odmian jęczmienia. *COBORU, Słupia Wielka*, 80: 3–15.
- Kunze W., 1999. *Technologia piwa i słodu*. Piwochmie Spółka z o.o., Warszawa.
- Liszewski M., Błażewicz J., Kozłowska K., Zembold-Guła A., Szwed L., 2011. Wpływ nawożenia azotem na cechy rolnicze ziarna jęczmienia browarnego. *Fragm. Agron.*, 28(1): 40–49.
- Michałojć Z., Szewczuk C., 2003. Teoretyczne aspekty dolistnego dokarmiania roślin. *Acta Agrophysica*, 85: 9–17.
- Pecio A., 2002. Środowiskowe i agrotechniczne uwarunkowania wielkości i jakości plonu ziarna jęczmienia browarnego. *Fragm. Agron.*, 4(76): 7–97.
- Podleśna A., 2002. Wpływ mikroelementów na jakość zbóż w Polsce. *Więś Jutra*, 5(46): 36–37.
- Przulj N., Momčilović V., 2001: Genetic variation for dry matter and nitrogen accumulation and translocation in two-rowed spring barley. I. Dry matter translocation. *Eur. J. Agron.*, 15: 241–254,
- Radomski C., 1987. *Agrometeorologia*. PWN, Warszawa: 442–448.
- Rozbicki J., 1994: *Jęczmień – uprawa na cele browarne, konsumpcyjne i paszowe*. SGGW, Warszawa.
- Ruszkowska M., Wojcieszka-Wyskupajtyś U., 1996. Mikroelementy – fizjologiczne i ekologiczne aspekty ich niedoborów i nadmiarów. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 434: 1–11.
- Słaboński A. 1985. *Jęczmień jary i ozimy*. PWRiL, Warszawa.
- Stanisławska-Głubiak E., Korzeniowska J., 2003. Zasady nawożenia mikroelementami roślin uprawnych. *Więś Jutra*, 10(63): 14–15.
- Szewczuk C., Michałojć Z. 2003. Praktyczne aspekty dolistnego dokarmiania roślin. *Acta Agrophysica*, 85: 19–29.
- Timmer R.D., Duijnhouwer I.D.C., Laarhoven H.P.M. van, Angelina S.A.G.F., Son C.G.M. van, Van Gestel M.J.M.C. van, Van Laarhoven H.P.M., Van Son C.G.M., Van Gestel M.J.M.C.,

1993. Prospects for growing malting barley outsider the southwestern clay district of the Netherlands. *Jaarboekje Stichting Nederlands Instiyuut voor Brouwgerst, Mout en Bier*. 57: 39–43.
- Warechowska M., Domska D., 2002. Wpływ dolistnego dokarmiania azotem i mikroelementami na zawartość i skład białka ziarna pszenżyta jarego. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 484: 733–741.
- Wójcik P., 1998. Pobieranie składników mineralnych przez nadziemne części roślin z nawożenia pozakorzeniowego. *Post. Nauk Rol.*, 1: 49–64.
- Zalecenia nawozowe . Cz. I. 1990. Liczby graniczne do wyceny zawartości w glebach makro- i mikroelementów. IUNG. Wyd. 2.

## **EFFECT OF FOLIAR FERTILIZATION WITH SELECTED MICROELEMENTS ON THE AGRICULTURAL CHARACTERISTICS OF MALT BARLEY GRAIN**

### **S u m m a r y**

The research was conducted from 2010 to 2011. A field experiment was set up with the split-plot design with three variable factors. The tested factors were: (1) cultivar (Henrike and Mauritia); (2) microelements (Cu, Mn and a combination of both microelements); (3) doses of fertilization (control group – without microelements, doses recommended by the producer, double the recommended dose). Foliar fertilization of microelements in the chelate form was applied.

There were significant differences obtained in the number of productive ears, number of grains and weight of grains per ear, 1000 grain weight, grain filling and protein content in the grain between cultivars. Cultivar Henrike was characterized by a higher number and weight of grains per ear, 1000 grain weight and weaker tillering compared with the Mauritia cultivar. Cultivar Henrike was characterized by higher grain filling and protein content in the grain than Mauritia. The use of recommended doses of fertilizer microelements (Mn and Cu+Mn) resulted in a significant increase in the number of grains per ear compared to the control group. Microelement fertilization in the applied doses did not lead to differences in the yield components or agricultural features of the grain. The variety of the cultivar and microelement fertilization did not significantly affect the barley yield.

Various weather conditions had the highest impact on the characteristics of malt barley grain.

**KEY WORDS:** malt barley, foliar fertilization with microelements, copper, manganese, grain yields, grain filling, protein

**Aleksandr Mickiewicz<sup>1</sup>, Stanisław Wróbel<sup>2</sup>**

**REAKCJA KUKURYDZY UPRAWIANEJ METODAMI  
BEZORKOWYMI NA DOLISTNE STOSOWANIE CYNKU  
WE WSPÓLNYM OPRYSKU Z HERBICIDEM SHADO 300 SC**

**RESPONSE OF MAIZE GROWN WITH PLOUGHLESS TILLAGE  
TO THE JOINT FOLIAR APPLICATION  
OF ZINC AND HERBICIDE SHADO 300 SC**

*<sup>1</sup> Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa Państwowy Instytut Badawczy w Puławach  
Institute of Soil Science and Plant Cultivation – State Research Institute in Puławy*

*<sup>2</sup> Zakład Herbologii i Technik Uprawy Roli we Wrocławiu  
Department of Weed Science and Tillage Systems in Wrocław*

W ścisłych doświadczeniach polowych przeprowadzonych na glebie średniej oceniano możliwość i skuteczność łącznego stosowania dolistnego cynku i herbicydu Shado 300 SC w uprawie kukurydzy. Kukurydzę uprawiano w monokulturze trzema metodami bezorkowymi: głębokie kultywatorowanie (na głębokość warstwy ornej), uproszczona uprawa agregatem uprawowym (do 12 cm) i siew bezpośredni (siewnikiem z krojem tarczowym). Gleba pola doświadczalnego charakteryzowała się średnią zawartością cynku. Odczyn gleby kształtował się w zakresie od kwaśnego do lekko kwaśnego ( $\text{pH}_{\text{KCl}}$  w zakresie 5,2–5,7).

Analizy gleby w okresie wegetacji kukurydzy wykazały charakterystyczny dla upraw bezorkowych wzrost zawartości Corg., P, K, Mg i Zn w warstwie gleby 0–10 cm oraz spadek wartości  $\text{pH}_{\text{KCl}}$  w stosunku do warstwy głębszej (11–20 cm). Dolistna aplikacja cynku, jak również połączenie tego zabiegu ze stosowaniem herbicydu Shado 300 SC powodowały istotne przyrosty zawartości Zn w analizowanych organach kukurydzy oraz wzrost plonów ziarna i słomy. Wspólna aplikacja nie osłabiała chwastobójczych właściwości herbicydu.

Najwyższe średnie przyrosty plonów ziarna (do 1,4 t z ha) oraz słomy (do 2,8 t z ha) stwierdzano w wariancie z głębokim kultywatorowaniem przy łącznej aplikacji cynku z herbicydem. W warunkach oddzielnego stosowania zabiegów przyrosty te były tylko nieznacznie niższe. Działanie herbicydu było jednakowo skuteczne niezależnie od sposobu stosowania preparatów. Wyniki te jak również brak negatywnych objawów łącznego zabiegu na roślinach wskazują na możliwość praktycznego zastosowania metody.

**SŁOWA KLUCZOWE:** kukurydza, uprawy bezorkowe, monokultura, cynk, herbicyd, łączna aplikacja

---

Opracowanie wykonano w ramach realizacji zadania 2.6 w programie wieloletnim IUNG PIB

---

Do cytowania – For citation: Mickiewicz A., Wróbel S., 2012. Reakcja kukurydzy uprawianej metodami bezorkowymi na dolistne stosowanie cynku we wspólnym oprysku z herbicidem Shado 300 SC. Zesz. Nauk. UP Wroc., Rol. CIII, 589: 169–178.

## WSTĘP

Wzrost udziału kukurydzy w strukturze zasiewów łączy się często z uproszczeniami uprawy roli i zmianowania roślin, sprzyjającymi powstawaniu niedoborów składników pokarmowych lub ograniczeniem ich dostępności. Odczuwalny brak obornika i nawozów organicznych wzmacnia te niekorzystne zjawiska. Stwierdzone niedobory dotyczą najczęściej niestosowanych w nawożeniu podstawowych mikroelementów, których dostępność ulegać może ograniczeniu np. pod wpływem okresowej suszy, wzrostu odczynu gleby czy intensywnego pobierania przez rośliny nawet w warunkach odpowiedniego poziomu zaopatrzenia gleb w te składniki (Czuba 2000).

Kukurydza wykazująca szczególną wrażliwość na niedobory cynku może reagować w takich warunkach wzrostem plonów ziarna nawet o 20% na dolistne dokarmianie tym mikroelementem (Grzebisz i wsp. 2008, Potarzycki, Grzebisz 2009). Mając na uwadze stale zwiększające się koszty uprawy kukurydzy, poszukuje się oszczędnych rozwiązań, jak np. łączenie zabiegów. Biorąc pod uwagę możliwości praktycznego stosowania oprysków, opracowano szereg sposobów łączenia fungicydów i insektycydów z preparatami mikroelementowymi (Mrówczyński i wsp. 1998). Konieczność wczesnego zwalczania chwastów ogranicza natomiast możliwości łącznej dolistnej aplikacji herbicydów i mikroelementów. Celem przeprowadzonych badań była ocena zaopatrzenia w cynk i reakcji kukurydzy na nawożenie dolistne tym mikroelementem stosowanym oddzielnie lub łącznie z herbicydem Shado 300 SC, w warunkach trzech systemów bezorkowych i kilkuletniej monokultury.

## METODY BADAŃ

Badania przeprowadzono w trzyletnich ściślejszych doświadczeniach polowych w latach 2009–2011), na glebie średniej (głina średnia pylasta), zaliczanej do kompleksu przydatności rolniczej żytnej bardzo dobrego i klasy bonitacyjnej III b. Gleba charakteryzowała się odczynem lekko kwaśnym, średnią zasobnością w przyswajalne formy fosforu, boru, cynku, miedzi i manganu oraz wysoką zawartością potasu i magnezu (Zalecenia nawozowe 1985). Stosowano trzy bezorkowe sposoby uprawy roli: głęboka uprawa jesienna kultywatorami typu Horsch Tiger (do 25 cm), (GK); uprawa uproszczona (do 12 cm), (UU) – brona talerzowa + agregat uprawowy wiosną; uprawa zerowa (UZ) – siew bezpośredni. Przed siewem kukurydzy przeprowadzono zabieg chemicznego zwalczania chwastów, stosując oprysk Roundupem w dawce 2 l·ha<sup>-1</sup>. Doświadczenie założono w układzie dwuczynnikowym metodą split block w 4 powtórzeniach według schematu:

- A. Czynniki I rzędu – systemy uprawy roli: A1 – GK; A2 – UU; A3 – UZ.
- B. Czynniki II rzędu – sposoby aplikacji dolistnej Insolu Zn i herbicydu Shado 300 SC:
  - B1 – herbicyd Shado 300 SC – bez Zn,
  - B2 – Insol Zn + herbicyd Shado 300 SC – we wspólnym oprysku,
  - B3 – Insol Zn i herbicyd Shado 300 SC – stosowane w oddzielnych opryskach.

Uwaga: dokonując oceny statystycznej zasobności dwóch poziomów warstwy ornej gleby z podbloku B1 (bez nawożenia cynkiem), (tab. 1), za czynniki II rzędu przyjęto poziomy pobrania próbek gleby: 0–10 cm i 11–20 cm.

Powierzchnia poletek dostosowana do szerokości roboczej maszyn wynosiła 25 m<sup>2</sup> (2,5 m x 10,0 m). Nawóz cynkowy Insol Zn o zawartości 5% Zn w formie chelatu stosowano w dawce 12 litrów<sup>-1</sup>·ha<sup>-1</sup> (30 ml·poletko<sup>-1</sup>), a herbicyd Shado 300 SC stosowano w dawce standardowej 1,5 l·ha<sup>-1</sup>. Zabiegi wykonano opryskiwaczem plecakowym „Gloria”, ze stałym ciśnieniem 0,25 MPa i wydatkiem cieczy użytkowej 250 l·ha<sup>-1</sup>. Fitotoksyczność zastosowanych agrochemikaliów oceniano bonitacyjnie w terminie 7–10 dni po zabiegach, z użyciem skali 1:9. Rośliną doświadczalną była kukurydza odmiany mieszańcowej Ajax, średnio wczesna, (FAO 240), uprawiana w monokulturze (2., 3. i 4. rok monokultury). Nawożenie podstawowe azotem, fosforem i potasem wynosiło odpowiednio: 200 kg N, 90 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> oraz 120 kg K<sub>2</sub>O·ha<sup>-1</sup>. Azot zastosowano w 3 dawkach, przypadających na następujące terminy: przedsiewna dawka azotu – 60 kg N·ha<sup>-1</sup> (siewnik z aplikatorem nawozów), w fazie 6–8 liści 80 kg N·ha<sup>-1</sup>, pozostałe 30% w fazie rozwoju wiech (BBCH 53). Nawożenie fosforem i potasem zastosowano w jednej dawce wiosną, bezpośrednio przed siewem kukurydzy. Nawożenia organicznego i wapnowania nie stosowano. Corocznie analizowano części wskaźnikowe kukurydzy (liście kolbowe w okresie rozwoju znamion (BBCH 63) wg Bergmana (1986) oraz ziarno i słomę kukurydzy na zawartość cynku. W celu rozpoznania stanu zasobności gleby w czasie pobrania części wskaźnikowych przeanalizowano również próbki gleby z dwóch poziomów warstwy ornej (0–10 cm, 11–20 cm), oznaczając w nich pH w 1 mol KCl dm<sup>-3</sup> oraz zawartość przyswajalnych form P, K, Mg i Zn i węgla organicznego. Analizy chemiczne gleby i roślin wykonano metodami stosowanymi w stacjach chemiczno-rolniczych (Metody badań laboratoryjnych cz. I i II 1980). Zbiór kukurydzy przeprowadzono ręcznie w fazie dojrzałości pełnej, określając plon ziarna i słomy z poletek. Wyniki opracowano statystycznie, wykonując analizę wariancji w systemie AWAR (Filipiak, Wilkos 1995), a istotność różnic międzyobiektowych oceniano, stosując test Tukeya (p=0,05).

## WYNIKI BADAŃ I Dyskusja

Analiza chemiczna gleby w okresie intensywnego pobierania składników mineralnych (rozwoju znamion kukurydzy (BBCH 63)) wykazała charakterystyczne dla upraw bezorkowych (Crozier i wsp. 1999, Lavado i wsp. 1999) zwiększenie koncentracji zawartości substancji organicznej oraz P, K, Mg i Zn w powierzchniowym (0–10 cm) poziomie gleby, w porównaniu z poziomem 11–20 cm. Zmianom tym towarzyszył spadek wartości pH<sub>KCl</sub> w poziomie 0–10 cm w porównaniu z poziomem 11–20 cm (tab. 1). Zmiany takie nie występują zazwyczaj w typowych uprawach płuznych (Wróbel, Nowak-Winiarska 2007). Użycie kultywatora typu Horsch Tiger, którego działanie nie łączy się z odwracaniem skiby, spowodowało efekt stratyfikacji powierzchniowej podobny jak w innych uprawach bezpłuznych. Efekt ten był jednak mniej wyraźny niż w dwóch pozostałych systemach uprawy (UU i UZ). Próbkę do tych badań pobierano wyłącznie z obiektów kontrolnych B1 (bez nawożenia cynkiem), aby wykluczyć wpływ aplikacji Zn i ocenić jedynie oddziaływanie sposobów uprawy roli na wybrane parametry glebowe.



Tabela 1  
Table 1

Wybrane cechy gleby doświadczalnej w okresie wegetacji kukurydzy (średnio z 3 lat)  
Selected characteristics of the tested soil during the growing season of maize (mean for 3 years)

Systemy uprawy Tillage systems	Poziom (cm) Level	pH <sub>KCl</sub>	SO – OM	P	K	Mg	Zn
			(%)	(mg·100 g <sup>-1</sup> )			(mg·kg <sup>-1</sup> )
A1 – GK Cultivating deep	0–10	5, 15	1,44	4,18	16,88	9,21	11,56
	11–20	5,36	1,28	3,59	15,01	8,51	10,97
A2 – UU Reduced tillage	0–10	4,98	1,49	4,43	19,23	9,68	11,35
	11–20	5,45	1,26	3,44	14,48	8,35	9,77
A3 – UZ No tillage	0–10	5,00	1,43	4,49	18,50	9,15	12,06
	11–20	5,51	1,29	3,36	14,40	8,76	9,99
Współdziałanie* interaction * NIR <sub>p=0,05</sub>	II/I I/II	0,42 r.n – n.s.	0,12 r.n – n.s.	0,61 r.n – n.s.	3,97 r.n – n.s.	1,08 r.n – n.s.	1,22 0,84

Czynnik I rzędu – metody uprawy roli – first order factor – tillage method

Czynnik II rzędu – poziom pobrania próbki – second order factor – sampling level

SO – substancja organiczna – OM – organic matter;

r.n. – różnice nieistotne statystycznie – n.s. – non-significant differences

Jak wynika z wcześniejszych badań nad chemizmem gleb uprawianych systemami uproszczonymi, nierównomierne rozmieszczenie składników nawozowych w warstwie ornej może oddziaływać na ich dostępność dla roślin (Lal i wsp. 1998, Wróbel, Nowak-Winiarska 2007). Uzyskane wyniki potwierdzają te doniesienia. W przedstawianych badaniach wpływ uprawy uproszczonej (UU) lub jej całkowitego braku (UZ) uwidocznił się najbardziej wyraźnie w spadkach zawartości cynku w częściach wegetatywnych kukurydzy (części wskaźnikowe, słoma), w stosunku do roślin pochodzących z gleby kultywatorowanej do głębokości warstwy ornej (GK), (tab. 2). W ziarnie wpływ ten był mniej wyraźny, aczkolwiek statystycznie istotny. Nawożenie dolistne cynkiem zarówno łącznie z herbicydem, jaki i oddzielnie istotnie zwiększało zawartość tego pierwiastka w roślinach, dzięki czemu w systemach uprawy UU i UZ zabezpieczony został odpowiedni poziom cynku w ziarnie.



Tabela 2  
Table 2Zawartość cynku w kukurydzy (średnio z 3 lat)  
Zinc content in maize (mean for 3 years)

Obiekty doświadczenia Treatments		Części wskaźnikowe Indicator organs	Ziarno grain	Słoma straw
Systemy uprawy Tillage systems	Dolistna aplikacja Zn Zn foliar application	Zn (mg·kg <sup>-1</sup> )		
A1 – GK Cultivating deep	B1 kontrola – control	65,20	35,03	31,90
	B2 Zn+H łącznie – together	68,07	38,27	33,77
	B3 Zn osobno – separately	67,20	38,17	33,70
A2 – UU Reduced tillage	B1 kontrola – control	41,50	33,97	30,93
	B2 Zn+H łącznie – together	69,37	36,80	32,93
	B3 Zn osobno – separately	69,67	36,43	32,20
A3 – UZ No tillage	B1 kontrola – control	34,80	33,70	28,80
	B2 Zn+H łącznie – together	62,63	37,23	30,30
	B3 Zn osobno – separately	60,10	36,43	31,17
Współdziałanie* interaction * NIR <sub>a=0,05</sub>	II/I	12,76	2,29	1,40
	I/II	11,70	1,14	2,88
Dane porównawcze Comparative figures		25–70*	35,5**	33,00**

H – herbicyd – herbicide

\* zakres zawartości optymalnych wg Bergmanna (1986) – The optimum range by Bergmann (1986)

\*\* zawartości przeciętne wg Fotymy i Mercika (1995) – Average content according to Fotyma and Mercik (1995)

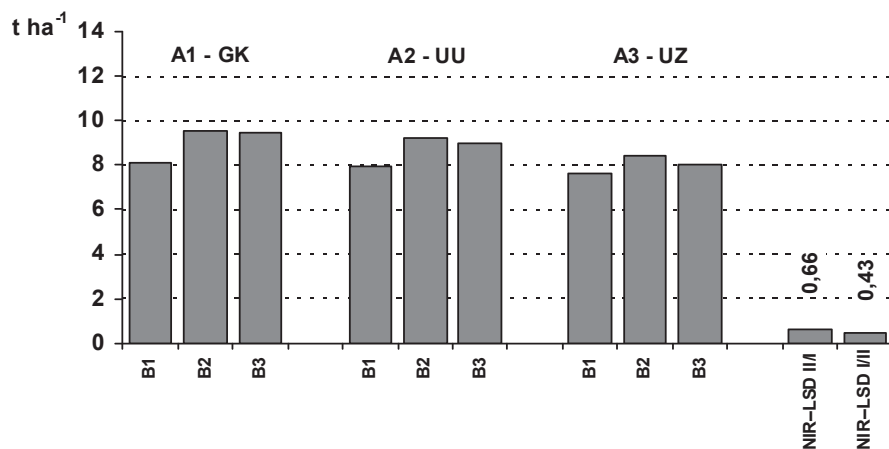
Cynk jako składnik enzymów bierze udział w licznych procesach metabolicznych w tym w syntezie białek, a jego niedobór ogranicza wzrost i plonowanie roślin. Warunki upraw uproszczonych (zwłaszcza UU, UZ) w kilkuletniej monokulturze nie sprzyjały odpowiedniemu zaopatrzeniu kukurydzy w ten mikroelement. Odpowiednie zaopatrzenie kukurydzy w cynk uzyskano pod wpływem jego dolistnej aplikacji, niezależnie od tego czy stosowano go łącznie z herbicydem Shado 300 SC, czy oddzielnie. Zawartości cynku w częściach wskaźnikowych roślin nie przekraczały jednak górnej granicy optimum Bergmanna (1986).

Układ warunków pogodowych w latach prowadzenia badań umożliwił wyliczenie syntezy wyników plonowania ziarna i słomy kukurydzy z trzech lat badań (rys. 1 i 2). Okresowe niedobory wody (na przełomie sierpnia i września 2009 i w czerwcu 2011 r.) mieściły się w granicach tolerancji roślin.

Statystycznie istotne przyrosty masy plonów ziarna i słomy w obiektach gdzie stosowano nawożenie dolistne cynkiem, wskazały na jego działaniem plonotwórcze. Dolistna aplikacja cynku stosowana we wspólnym oprysku z herbicydem oddziaływała bardziej korzystnie zarówno na poziom plonowania, jak i zaopatrzenia roślin w ten składnik, w porównaniu z opryskiem oddzielnym (tab. 2, rys. 1 i 2). Najwyższe przyrosty plonów ziarna i słomy pod wpływem nawożenia cynkiem uzyskano w systemie uprawy głębokiej (GK). Wynosiły one odpowiednio 1,4 t·ha<sup>-1</sup> i 2,8 t·ha<sup>-1</sup> przy stosowaniu łącznym z herbicydem

oraz 1,3 t·ha<sup>-1</sup> i 2,2 t·ha<sup>-1</sup> przy aplikacji oddzielnej. Podobne prawidłowości wynikające z wcześniejszych badań nad łącznym stosowaniem tych agrochemikaliów potwierdzają uzyskane wyniki (Domaradzki, Wróbel 2010, Seta, Mrówczyński 2004).

Omówione wyżej zależności występowały bardziej wyraźnie w systemach uprawy UU i UZ (rys. 1 i 2). Niezależnie od wpływu nawożenia cynkiem na przyrost masy pólów wzrost zawartości Zn w ziarnie oznacza jednocześnie poprawę jego wartości biologicznej (tab. 2).



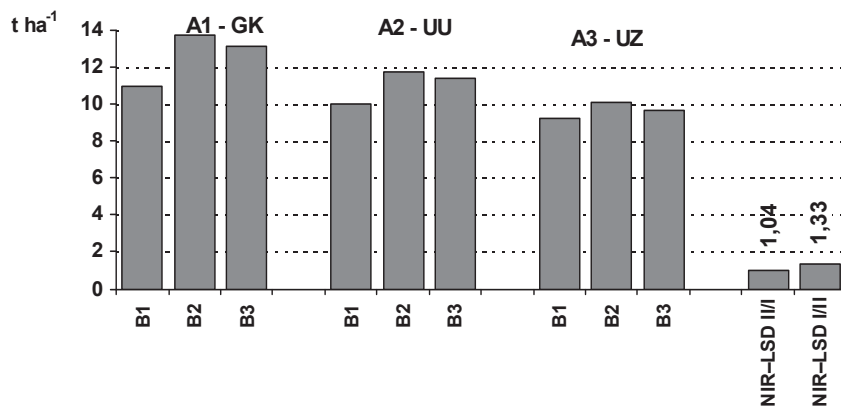
B1 – herbicyd bez Zn – herbicide without zinc

B2 – Insol Zn + herbicyd we wspólnym oprysku – Insol Zn + herbicide in a joint spray

B3 – Insol Zn i herbicyd stosowane w oddzielnych opryskach – Insol Zn + herbicide in separate sprays

Rys 1. Plony ziarna kukurydzy (średnie z trzech lat)

Fig. 1. Corn grain yields (mean for three years)



For explanation – refer to Figure 1

Rys. 2. Plony słomy kukurydzy (średnie z trzech lat)

Fig. 2. Corn straw yields (mean for three years)

Jak wynika z wcześniejszych badań nad plonowaniem roślin w warunkach upraw uproszczonych, z reguły obserwuje się spadki plonów w początkowych latach prowadzenia takich upraw. Rhoton (2000) podaje minimalny okres czteroletni, w którym następuje stabilizacja warunków glebowych. Porównywane w prezentowanych badaniach systemy uprawy roli wykazały najbardziej korzystny wpływ głębokiej uprawy kultywatorom Horsch zarówno pod względem zaopatrzenia roślin kukurydzy w cynk, jak i uzyskanych plonów ziarna i słomy. Na tle danych z literatury podejmującej tematykę upraw uproszczonych (Buah i wsp. 2000, Cruz 1982, Franzlubbers, Hons 1996, Włodek i wsp. 2003) warunki glebowe systemu uprawy z zastosowaniem kultywatora firmy Horsch ocenić można jako pośrednie między systemem płuznym a uprawą powierzchniową agregatem uprawowym. Wysoki poziom plonów kukurydzy uzyskany w warunkach tego sposobu uprawy upoważnia natomiast do stwierdzenia, że może on z powodzeniem zastępować orkę jesienną. Ten system uprawy roli o charakterze konserwującym pozwoli na ograniczenie strat substancji organicznej i erozji, zapewniając uzyskanie wysokich plonów roślin. W stosunku do uprawy głębokiej (GK) płytka uprawa powierzchniowa (UU) spowodowała średnią obniżkę plonu ziarna o 3,5%, a słomy o 12,3%, natomiast całkowity brak uprawy (UZ) zmniejszyła średnie plony ziarna kukurydzy o 12,3%, a plony słomy o 23,7%.

## WNIOSKI

1. W warstwie powierzchniowej (0–10 cm) gleby uprawianej trzema porównywanymi sposobami bezorkowymi stwierdzano zwiększoną koncentrację substancji organicznej oraz przyswajalnych form P, K, Mg i Zn, którym towarzyszył spadek wartości  $pH_{KCl}$ . Zmiany te stawały się bardziej wyraźne w miarę ograniczania głębokości uprawy roli.

2. Warunki badanych systemów bezorkowych i monokultury negatywnie wpływały na zawartość cynku w roślinach kukurydzy.

3. Nawożenie dolistne Insolem Zn, stosowane zarówno łącznie z herbicydem Shado 300 SC, jak i oddzielnie, istotnie zwiększało zawartość cynku w analizowanych organach kukurydzy.

4. Pozytywne efekty produkcyjne oraz korzyści ekonomiczne wynikające z łączenia zabiegów pozwalają zakwalifikować tę metodę do stosowania praktycznego.

## PIŚMIENNICTWO

- Bergmann W., 1986. Bemerkungen und Tabellen zur analytischen Pflanzendiagnose der Pflanzen- oder Blattanalyse. VEB Gustav-Fisher-Verlag, Jena: 1–38.
- Buah S., Polito T., Killorn R., 2000. No-tillage corn response to placement of fertilizer nitrogen, phosphorus and potassium. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 31 (19&20): 3121–3133.
- Croizer C.R., Naderman G.C., Tucker M.R., Sugg R.E., 1999. Nutrient and pH stratification with conventional and no-till management. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.*, 30, 1–2: 65–74.

- Cruz J.C., 1982. Effect of crop rotation and tillage systems on some soils properties. Root Distribution and Crop Production. PhD Thesis. Purdue University: 3–73.
- Czuba R., 2000. Mikroelementy we współczesnych systemach nawożenia. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 471: 161–169
- Domaradzki K., Wróbel S., 2010. Evaluating the possibilities of combined herbicide application with trace element fertilization in sugar beet cultivation. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 556: 71–78.
- Filipiak K., Wilkos S., 1995. Obliczenia statystyczne. Opis systemu AWAR. IUNG Puławy, R(324): 1–52.
- Fotyma M., Mercik S., 1995. Chemia rolna. PWN, Warszawa: 356.
- Franzlubbers A.J., Hons F.M., 1996. Soil-profile distribution of primary and secondary plant-available nutrient under conventional and no tillage. Soil & Tillage Research., 39: 229–239.
- Grzebisz W., Wrońska M., Diatta J., Dullin P., 2008. Effect of zinc foliar application at an early stage of maize growth on patterns of nutrients and dry matter accumulations by canopy. J.Elementol., 13(1): 17–28.
- Lal R., Fausey N.R., Brown L.C., 1998. Drainage and tillage effects on leaf tissue nutrient contents of corn and soybeans on Crosby-Kokomo soils in Ohio. Proc. 7-th Intern. Drain. Symp. Orlando. 8–10.03: 465–471.
- Lavado R.S., Porcelli C.A., Alvarez R., 1999. Concentration and distribution of extractable elements in a soil as affected by tillage systems and fertilization. Sci.Tot. Environ., 232, 3: 185–191.
- Metody badań laboratoryjnych w Stacjach Chemiczno-Rolniczych, 1980. Cz. I. Badanie gleb., IUNG Puławy: 1–76.
- Metody badań laboratoryjnych w Stacjach Chemiczno-Rolniczych, 1980. Cz. II. Badanie materiału roślinnego., IUNG Puławy: 1–126.
- Mrówczyński M., Stobiecki S., Zachmann A., 1998. Tendencje i perspektywy łącznego stosowania agrochemikaliów z uwzględnieniem aspektów ekonomicznych. Prog. Plant Protec., 38 (1): 283–287.
- Potarzycki J., Grzebisz W., 2009. Effect of zinc foliar application on rain yield of maize and its yielding components. Plant Soil Environ., 55, 2009 (12): 519–527.
- Rhorton F.E., 2000. Influence of time on soil response to no-till practices. Soil Science Society of America Journal. 64, 2: 700–709.
- Seta G., Mrówczyński M., 2004. Wpływ zabiegów insektycydowo-nawozowych w ochronie rzepaku ozimego na plonowanie roślin w latach 2002–2003. Prog. Plant Protection/Postępy w Ochr. Roślin, 44 (2): 1078–1081.
- Włodek S., Hryńczuk B., Pabin J., Biskupski A., 2003. Zawartość składników pokarmowych w warstwach poziomu próchniczego gleby uprawianej różnymi sposobami. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 493: 727–732.
- Wróbel S., Nowak-Winiarska K., 2007. Dostępność składników pokarmowych dla roślin w warunkach uproszczeń uprawy roli. Studia i Raporty IUNG-PIB, 8: 177–193.
- Zalecenia nawozowe, 1985. Liczby graniczne do wyceny zawartości w glebach makro- i mikroelementów. Praca zbiorowa. Wyd. IUNG-PIB Puławy, P(28), 1: 1–34.

## **RESPONSE OF MAIZE GROWN WITH PLOUGHLESS TILLAGE TO THE JOINT FOLIAR APPLICATION OF ZINC AND HERBICIDE SHADO 300 SC**

### **S u m m a r y**

Formal field experiments were conducted in medium soil to evaluate the feasibility and effectiveness of using a combination of zinc and Shado 300 SC herbicide on corn cultivation. Maize was grown in a monoculture with three ploughless tillage methods: deep cultivating (to the depth of the topsoil), reduced tillage (up to 12 cm) and direct drilling (drill with disc type of face).

The soil in the experimental field contained an average level of zinc. Soil pH ranged from acidic to slightly acidic ( $\text{pH}_{\text{KCl}} 5,2-5,7$ ). Analysis of the soil during the corn growing period showed a rise in the concentrations of C org., P, K, Mg, and Zn in the 0-10 cm layer of soil which is typical for ploughless tillage and a decrease in the  $\text{pH}_{\text{KCl}}$  value for the deeper layer (11-20 cm). Foliar application of zinc, as well as the treatment of combined zinc and herbicide Shado 300 SC resulted in significant increases in the Zn content in the analyzed plant organs and increased yields of corn grain and stalks. The combined herbicide foliar application did not weaken herbicidal properties. The highest average yield increases in the grain (up to  $1.4 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) and stalks (up to  $2.8 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) were obtained with deep cultivating and the combined application of zinc with the herbicide. When treatment applications were done separately, the increases in the yields were only slightly lower. The herbicide was equally effective regardless of the method used. The results of the study and the absence of adverse indications from using a combined treatment on plants suggest the potential practical application of this approach.

**KEY WORDS:** corn, ploughless tillage, monoculture, zinc, herbicide, joint application



**Małgorzata P. Oksińska, Stanisław J. Pietr**

**WPŁYW WRAŻLIWOŚCI NA KWAS KAWOWY  
NA EFEKTYWNOŚĆ KOLONIZACJI KIELKUJĄCYCH  
ZIARNIAKÓW PSZENICY PRZEZ SZCZEP  
*PSEUDOMONAS REACTANS* PSR2**

**EFFECT OF RESISTANCE TO CAFFEIC ACID ON EFFICIENCY  
OF COLONIZATION OF GERMINATING WHEAT SEEDS  
BY *PSEUDOMONAS REACTANS* STRAIN PSR2**

*Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu  
Department of Agricultural Microbiology, Wrocław University of Environmental  
and Life Sciences*

Kwas kawowy jest związkiem fenolowym, którego występowanie w tkankach pszenicy może być związane z aktywacją mechanizmów odpornościowych. Związek ten, podobnie jak produkty jego nieenzymatycznego utleniania, wykazuje silną aktywność bakteriobójczą. Szczep *Pseudomonas reactans* PSR2 charakteryzował się zdolnością do wzrostu w obecności do 0,6 mg mL<sup>-1</sup> kwasu kawowego wprowadzonego do agarowego podłoża King B. Bakterię tę cechowała także wysoka efektywność zasiedlania 48 godz. kielkujących ziarniaków pszenicy. Skonstruowano dwa transpozonowe mutanty tego szczepu, które wykazywały istotnie większą wrażliwość na kwas kawowy i/lub produkty jego utleniania. Minimalne stężenie hamujące wzrost mutantów wynosiło 0,4 i 0,5 mg mL<sup>-1</sup> wprowadzonego kwasu kawowego. Transkoniuganty cechowały się zdecydowanie niższą efektywnością kolonizacji kielkujących ziarniaków pszenicy w porównaniu ze szczepem PSR2. Wyniki badań pozwalają na stwierdzenie, że zdolność do wzrostu w obecności kwasu kawowego i/lub produktów jego utleniania jest jedną z cech, która warunkuje efektywne namnażanie się szczepów *P. reactans* w ryzosferze pszenicy.

SŁOWA KLUCZOWE: *Pseudomonas reactans*, pszenica, kolonizacja, kwas kawowy

## WSTĘP

Szereg bakterii z rodzaju *Pseudomonas* jest zdolnych do intensywnej kolonizacji sfermosfery i ryzosfery roślin. Uznaje się je za drobnoustroje, które stymulują wzrost roślin i mogą mieć zastosowanie w ich biologicznej ochronie przed glebowymi patogenami (Buyer i wsp. 1999). Opisano możliwości wykorzystania tych szczepów do ograniczenia porażenia systemu korzeniowego przez fitopatogeny z rodzaju *Gaeumannomyces*, *Pythium*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Phytophthora* i *Thielaviopsis* (Weller 1988). Lugtenberg i Dekkers (1999) podkreślali, że warunkiem umożliwiającym zapoczątkowanie wzajemnych oddziaływań pomiędzy roślinami i mikroorganizmami ryzosferowymi, który decyduje jednocześnie o powodzeniu biologicznej kontroli, jest zdolność drobnoustrojów do efektywnego zasiedlania korzeni. Do czynników mających wpływ na skuteczność kolonizacji zalicza się dostępność i wykorzystanie substancji odżywczych, będących głównie składnikami wydzielin korzeniowych (Chet i wsp. 1990, Lugtenberg i wsp. 1996), oraz przeżywalność w warunkach konkurencji z mikroflorą ryzosferową (Lugtenberg i wsp. 1996). Podstawową cechą każdego szczepu efektywnie kolonizującego ryzosferę jest utworzenie populacji o rozmiarach pozwalających na uzyskanie przewagi ekologicznej nad innymi drobnoustrojami, określanej na co najmniej  $8,0 \times 10^3$  jednostek tworzących kolonie na 1 gram korzenia (Scher i wsp. 1984).

Rozwój mikroorganizmów w ryzosferze jest limitowany przez obecność kwasów fenolowych, które wydzielane są przez korzenie, liście oraz przez hipokotyl, podczas kiełkowania nasion (Rovira, 1956, Vancura, 1964, Blum i wsp. 1991, Miller i wsp. 1991, Kobayashi i wsp. 1996). Wykazano, że szereg związków fenolowych uwalnianych przez rośliny hamuje wzrost wielu gatunków bakterii (Fernandez i wsp. 1996, Campos i wsp. 2003, Maddox i wsp. 2010). W tkankach oraz wydzielinach korzeniowych pszenicy stwierdzono obecność m.in. kwasu *p*-hydroksybenzoesowego, wanilinowego, syringinowego, kawowego, chlorogenowego, ferulowego, kumarowego, sinapowego i protokatechinowego (Onyeneho, Hettiarachchy 1992, Weidner i wsp. 1999, Wu i wsp. 2000, 2001, Mpofo i wsp. 2006, Verma i wsp. 2009). Toksyczność kwasów fenolowych wynika z faktu, że w wyniku aktywności oksydazy polifenolowej są one utleniane do chinonów. Enzymem utleniającym jest także peroksydaza, która powoduje nagromadzenie nadtlenu wodoru, co zwiększa tempo polimeryzacji związków fenolowych i odkładania w ścianach komórkowych substancji lignino-podobnych (Agrios 2005). Kwas kawowy, ze względu na swoją strukturę chemiczną, jest także podatny na nieenzymatyczne utlenianie. Zachodzi ono szczególnie intensywnie w warunkach tlenowych przy alkalicznym odczynie środowiska. Produktami powstającymi w wyniku nieenzymatycznego procesu są, podobnie jak przy enzymatycznym utlenianiu, związki o charakterze chinonów (Cilliers, Singleton 1989, 1990, Giacomelli i wsp. 2002).

Dotychczasowe badania bakterii kolonizujących 48 godz. kiełkujące ziarniaki pszenicy wykazały, że niektóre szczepy z gatunku *P. reactans* efektywnie zasiedlają tę specyficzną niszę ekologiczną (Oksińska i wsp. 2011). W literaturze przedmiotu niewiele jest doniesień na temat możliwości zastosowania szczepów *P. reactans* w biologicznej ochronie roślin. Wykazano jednakże przydatność szczepu *P. reactans* B3 w ochronie buraków cukrowych (Faltin i wsp. 2004) oraz *P. reactans* PSR21 w ochronie pszenicy ozimej (Kita i wsp. 2004, Nowak i wsp. 2005). *P. reactans* PSR2 został opisany jako najefektywniejszy spośród szczepów kolonizujących pszenicę odmiany Henika (Oksińska i wsp. 2011).



Bakterie efektywnie namnażające się na kielkujących ziarniakach tej pszenicy, w tym szczep *P. reactans* PSR2, charakteryzowały się zdolnością do wzrostu w obecności wysokich stężeń kwasu kawowego, mieszczących się w zakresie od 0,6 do 1,0 mg mL<sup>-1</sup>. Celem tej pracy było zbadanie, czy odporność na bakteriobójcze działanie kwasu kawowego i/lub produktów jego utleniania może być związana z efektywnością zasiedlania kielkujących ziarniaków pszenicy przez szczep *P. reactans* PSR2.

## MATERIAŁ I METODY

### Drobnoustroje

Szczep *P. reactans* PSR2 został wyizolowany z ryzosfery rzepaku (*Brassica napus* L. odm. Jantar), który uprawiany był po pszenicy ozimej (*Triticum aestivum* L. odm. Jawa) w Stacji Doświadczalnej WODR w Łosiuwie na Dolnym Śląsku (Pietr, Stankiewicz, 1990).

Mutanty transpozonowe typu Tn5, charakteryzujące się większą niż szczep PSR2 wrażliwością na obecność kwasu kawowego w podłożu agarowym, skonstruowano, wykorzystując szczep *Escherichia coli* DH5a, uzyskany dzięki uprzejmości Plant Pathology and Biocontrol Unit, Swedish University of Agricultural Sciences (Uppsala, Szwecja). Drobnoustroje przechowywano w temp -70°C, w podłożu (pH 7,0) o składzie: woda destylowana (1000 ml), bacto trypton (10 g), ekstrakt drożdżowy (5 g) (Difco Laboratories, Detroit, USA), NaCl (500 mg), K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (6,3 g), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (1,8 g), cytrynian sodu (450 mg), MgSO<sub>4</sub> × 7H<sub>2</sub>O (90 mg), (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (900 mg), glicerol (50,6 g) (Sigma Aldrich, Inc., St. Louis, USA).

### Wzrost szczepu *P. reactans* PSR 2 w obecności kwasu kawowego

Zdolność szczepu PSR2 do wzrostu w obecności kwasu kawowego była analizowana na stałym podłożu Kinga B (KB) (King i wsp. 1954), które zostało wzbogacone o kwas kawowy w stężeniu od 0,1 do 1,0 mg mL<sup>-1</sup> (pH 7,0). Kwas kawowy rozpuszczono w 1 M roztworze NaOH i sterylizowano przez filtrację (0,22 μm). Dwudziestoczerogodzinną hodowlę bakterii uzyskaną na podłożu KB zawieszono w 0,1 M roztworze MgSO<sub>4</sub> × 7H<sub>2</sub>O, do uzyskania gęstości 8,0 log<sub>10</sub> jtk mL<sup>-1</sup>. Pięć mikrolitrów zawiesiny bakterii wprowadzano punktowo na podłoże KB, 48 godz. po wprowadzeniu do niego kwasu kawowego. To opóźnienie pozwoliło na nagromadzenie się w pożywce produktów utleniania tego związku (Cilliers, Singleton 1989). Wzrost bakterii był analizowany po 72 godzinach inkubacji w 28°C, w odniesieniu do wzrostu na podłożu KB, do którego nie wprowadzono kwasu kawowego. Minimalne stężenie hamujące (MIC) zostało wyrażone jako ilość mg mL<sup>-1</sup> wprowadzonego kwasu kawowego, która hamowała wzrost bakterii.

### Konstrukcja mutantów o obniżonej tolerancji kwasu kawowego

Do uzyskania transpozonowych mutantów streptomycyno odpornego (30 mg mL<sup>-1</sup>) szczepu *P. reactans* PSR2, wykorzystany został szczep *E. coli* DH5a. Jest on donorem plazmidu pRL765, który zawiera transpozon typu Tn5, warunkujący odporność na kanamycynę (50 mg mL<sup>-1</sup>). Bakterie hodowano przez 24 godz. w temp. 28°C w płynnym podłożu LM o składzie: bacto trypton (10 g), ekstrakt drożdżowy (6 g), K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (1,5 g), NaCl (0,5 g), MgSO<sub>4</sub> × 7H<sub>2</sub>O (0,4 g), woda destylowana (1000 mL) (pH 7.0), które uzu-

pełniono dodatkowo streptomycyną ( $30 \text{ mg mL}^{-1}$ ) dla szczepu PSR2 oraz kanamycyną ( $50 \text{ mg mL}^{-1}$ ) dla szczepu DH5a. Komórki mikroorganizmów przenoszono do sterylnego podłoża i hodowla była kontynuowana przez kolejne 10 godz. Po upływie tego czasu bakterie wirowano (5 min, 15 000 rpm), zawieszano w 100 mL niezawierającego antybiotyków podłoża LM i inkubowano po 50 mL zmieszanych razem zawiesin. Uzyskane 24-godzinne transkoniuganty posiewano na stałe podłoże LM, zawierające streptomycynę i kanamycynę. Po 48-godzinnej inkubacji w temp.  $28^\circ\text{C}$  wyszczepiano je na agarowe podłoże KB uzupełnione antybiotykami i kwasem kawowym, w stężeniu od 0,1 do  $0,6 \text{ mg mL}^{-1}$ . Izolaty, nierosnące w obecności  $0,6 \text{ mg mL}^{-1}$  kwasu kawowego, ale zdolne do wzrostu w obecności niższych stężeń tego związku, uznano za mutanty o obniżonej zdolności do tolerancji kwasu kawowego i/lub produktów jego utleniania.

### **Namnażanie się szczepu PSR2 oraz jego mutantów na kielkujących ziarniakach pszenicy**

Powierzchniową dezynfekcję ziarniaków pszenicy (*Triticum aestivum* odm. Mewa i Zyta) prowadzono przez 15 minut w 10% wodnym roztworze Chloroxu (The Clorox Company, Oakland, USA). Do inokulacji ziarniaków użyto 24-godzinną hodowlę szczepu PSR2 uzyskaną na stałym podłożu KB. Bakterie zawieszano w 0,5% roztworze karboksymetylocelulozy (CMC) w 0,9% NaCl, do uzyskania gęstości  $8,0 \log_{10}$  jtk  $\text{mL}^{-1}$ . Inokulację prowadzono z wytrząsaniem (amplituda 5 cm, 200 rpm), przez 45 minut w temp  $28^\circ\text{C}$ . Zaszczepione ziarniaki suszono przez 20 godz. w temperaturze pokojowej, a następnie umieszczano je w 0,1 M roztworze  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  i poddawano sonikacji (10 min, 16 kHz). Zdolność bakterii do adhezji określano na podstawie ilości jednostek tworzących kolonie (jtk) uzyskanych po 72 godz. inkubacji zmywu na podłożu Goulda (Gould i wsp. 1985) w temp.  $28^\circ\text{C}$ .

Zainokulowane ziarniaki umieszczano po 10 w 100 g niesterylnego piasku rzecznoego zwilżonego 20 mL wody wodociągowej. Hodowlę prowadzono w fitotronie, z zastosowaniem fotoperiodu 14 godz. / 10 godz., w temp.  $24\text{--}26^\circ\text{C}$  /  $14\text{--}16^\circ\text{C}$ . Kielkujące ziarniaki pobierano po upływie 24 oraz 48 godz., umieszczano w 0,1 M roztworze  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  i poddawano sonikacji. Zdolność do namnażania się bakterii na kielkujących ziarniakach określano na podstawie ilości jtk uzyskanych na podłożu Goulda. Badanie efektywności kolonizacji przez mutanty prowadzono na podłożu Goulda uzupełnionym kanamycyną ( $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), w sposób opisany dla szczepu PSR2. Obiekt kontrolny w doświadczeniu stanowiły zdezynfekowane ziarniaki pszenicy, zaprawiane jałowym roztworem CMC i w dalszych etapach eksperymentu traktowane tak jak próby badane. Analizę statystyczną średnich uzyskanych z trzech powtórzeń przeprowadzono za pomocą wielokrotnego testu rozstępu Ducana, przy 95% poziomie istotności (ANOVA/MANOVA, Statistica Version 5, 97 Edition, StatSoft, Inc., Tulsa, USA).

## WYNIKI I OMÓWIENIE

Analiza sekwencji genu kodującego 16S rRNA (numer dostępu Banku Genów GQ354529, [www.ncbi.nih.gov](http://www.ncbi.nih.gov)) wykorzystanego w tej pracy szczepu PSR2 wykazała, że należy on do gatunku *P. reactans*. Wzrost tego szczepu nie był hamowany na podłożu KB zawierającym związki fenolowe takie jak: kwas ferulowy, *o*-kumarowy, *p*-kumarowy, *trans*-cynamonowy oraz syringowy, w stężeniu 1 mg mL<sup>-1</sup> (Oksińska i wsp. 2011). Obecność kwasu kawowego w stałym podłożu KB okazała się czynnikiem ograniczającym jego rozwój. MIC kwasu kawowego określone zostało na poziomie 0,7 mg mL<sup>-1</sup> związku wprowadzonego do agarowego podłoża KB. Podczas trwania eksperymentu stwierdzono pojawienie się brązowych pigmentów zarówno w inokulowanym bakteriami podłożu testowym, jak i w nieinokulowanym podłożu kontrolnym. Taka zmiana zabarwienia pożywki świadczy o zachodzącym w warunkach tlenowych nieenzymatycznym procesie utleniania kwasu kawowego (Lutter i wsp. 2007). Ponieważ zarówno produkty utleniania kwasu kawowego, jak i nieutleniona postać tego związku mogą hamować wzrost bakterii, w pracy tej stwierdzono, że wzrost szczepu *P. reactans* PSR2 jest hamowany przez kwas kawowy i/lub produkty jego utleniania. W doświadczeniu przeprowadzonym z zastosowaniem szczepu *Pseudomonas proteolytica* PSR114 wykazano, że w stałym podłożu KB oraz płynnym podłożu o składzie naśladującym wydzieliny korzeniowe roślin jednoliściennych wzrost bakterii był hamowany głównie przez produkty utleniania kwasu kawowego (Oksińska i wsp., w opracowaniu).

We wcześniejszych badaniach wykazano, że szczep PSR2 efektywnie zasiedla 48 godz. kielkujące ziarniaki pszenicy odm. Henika. Liczebność tej bakterii zwiększała się z 5,01 log<sub>10</sub> jtk mL<sup>-1</sup> uzyskanych w wyniku adhezji do ziarniaków do 7,18 log<sub>10</sub> jtk mL<sup>-1</sup> po 48 godzinach namnażania na siewkach pszenicy (Oksińska i wsp. 2011). W celu sprawdzenia, czy zdolność do efektywnej kolonizacji kielkujących ziarniaków pszenicy jest skorelowana z tolerancją kwasu kawowego i/lub produktów jego utleniania, skonstruowano Tn5 transpozonowe mutanty tego szczepu, cechujące się obniżoną odpornością na obecność tych związków.

Ocenie zdolności do kolonizacji 48 godz. kielkujących ziarniaków pszenicy odm. Mewa i Zyta poddano szczep *P. reactans* PSR2 oraz jego mutanty R22 i R24, charakteryzujące się wartościami MIC na poziomie 0,4 i 0,5 mg mL<sup>-1</sup> wprowadzonego kwasu kawowego (odpowiednio). Wyniki przedstawione w tabeli 1 wskazują, że wyższa efektywność kolonizacji cechuje szczep typu dzikiego. Po 48 godz. wykazuje on przyrost liczebności o 2,72 (odm. Mewa) i 3,1 (odm. Zyta) jednostki log<sub>10</sub> jtk mL<sup>-1</sup>, podczas gdy w przypadku obu mutantów wartość ta waha się od 0,68 do 1,52 jednostek. Szczep PSR2 charakteryzuje się istotnym zwiększeniem liczebności zarówno po 24-, jak i po 48-godzinnym okresie kolonizacji. W przypadku obu mutantów przyrost liczebności stwierdzono jedynie w ciągu pierwszych 24 godz. Może to świadczyć o niewielkim wpływie negatywnego oddziaływania kwasu kawowego i produktów jego utleniania na pierwszym etapie kolonizacji lub też o występowaniu tych związków w niewielkich ilościach. Nie można jednak mówić o całkowitym braku oddziaływania, ponieważ liczebności mutantów są istotnie niższe od liczebności szczepu dzikiego pomimo ich lepszej adhezji. Podobne wyniki zostały uzyskane dla szczepu *P. proteolytica* PSR114 (Oksińska i wsp., w opracowaniu), którego mutant M2019 charakteryzował się obniżeniem liczebności uzyskanej po 48 godz. kolonizacji pszenicy ozimej odm. Kobra o 1,05 jednostek log<sub>10</sub> jtk mL<sup>-1</sup> w porównaniu

ze szczepem typu dzikiego. Natomiast w czasie pierwszych 24 godz. kolonizacji różnice pomiędzy tymi bakteriami nie były istotne.

Tabela 1

Table 1

Namnażanie się szczepu *Pseudomonas reactans* PSR2 i jego transpozonowych mutantów, charakteryzujących się zwiększoną wrażliwością na obecność kwasu kawowego i/lub produktów jego utleniania, na 24 i 48 godz. kiełkujących ziarniakach pszenicy (*Triticum aestivum* L. odm. Mewa i Zyta)

Multiplication of *Pseudomonas reactans* strain PSR2 and its transposon mutants, which were characterized by reduced level of resistance to caffeic acid and/or products of its oxidation, on 24 and 48-h old germinating wheat seeds (*Triticum aestivum* L. cv. Mewa and Zyta)

Inokulacja ziarniaków Seed treatment	Odmiana pszenicy Wheat cultivar	(log <sub>10</sub> jtk mL <sup>-1</sup> ) (log <sub>10</sub> cfu mL <sup>-1</sup> )		
		0 godz. (adhezja) 0 h (adhesion)	po 24 godz. after 24 h	po 48 godz. after 48 h
<i>P. reactans</i> PSR2	Mewa	4,11 ± 0,19 <sup>a</sup>	6,33 ± 0,09 <sup>b</sup>	6,83 ± 0,25 <sup>c</sup>
	Zyta	3,93 ± 0,25 <sup>a</sup>	6,39 ± 0,15 <sup>b</sup>	7,03 ± 0,25 <sup>c</sup>
mutant R22	Mewa	4,45 ± 0,09 <sup>d</sup>	5,46 ± 0,03 <sup>eg</sup>	5,97 ± 0,06 <sup>fh</sup>
	Zyta	4,55 ± 0,11 <sup>d</sup>	5,56 ± 0,11 <sup>egh</sup>	5,41 ± 0,12 <sup>eg</sup>
mutant R24	Mewa	4,42 ± 0,16 <sup>d</sup>	5,49 ± 0,17 <sup>eg</sup>	5,41 ± 0,30 <sup>eg</sup>
	Zyta	4,37 ± 0,04 <sup>d</sup>	5,83 ± 0,10 <sup>gh</sup>	5,84 ± 0,17 <sup>gh</sup>
ziarniaki nieinokulowane seed untreated	Mewa	ND	1,42 ± 0,11 <sup>j</sup>	2,90 ± 0,26 <sup>k</sup>
	Zyta	ND	2,11 ± 0,15 <sup>i</sup>	2,88 ± 0,17 <sup>k</sup>

± Odchylenie standardowe

± Standard deviation

ND – wzrost nie wykrywalny (log<sub>10</sub> jtk mniejszy niż 2.00)

ND – No detectable growth (log<sub>10</sub> of CFU less than 2.00)

Różnice pomiędzy wartościami oznaczonymi różnymi literami <sup>a-k</sup> są istotne statystycznie (wielokrotny test rozstępu Duncana, 95% poziom istotności).

Differences among means marked with different letters <sup>a-k</sup> are statistically important (Duncan's multiple range test, the 95% level of significance).

Uzyskane wyniki wskazują, że tolerancja kwasu kawowego i/lub produktów jego utleniania zwiększa efektywność namnażania się szczepu *P. reactans* PSR2 w ryzosferze pszenicy, w okresie pierwszych 48 godz. kiełkowania ziarniaków. Jednym z czynników decydujących o zdolności bakterii do zasiedlania ryzosfery roślin jest tolerancja uwalnianych przez korzenie substancje o silnej aktywności przeciwbakteryjnej, takie jak kwas kawowy.

## WNIOSKI

Efektywna kolonizacja kiełkujących ziarniaków pszenicy odmiany Mewa i Zyta przez szczep *P. reactans* PSR2 jest uzależniona od wrażliwości tej bakterii na obecność kwasu kawowego i/lub produktów jego utleniania.

## PIŚMIENNICTWO

- Agrios G.N., 2005. Plant Pathology. Fifth ed. Elsevier Academic Press, San Diego, Boston, New York, Sydney, Tokyo.
- Blum U., Wentworth T.R., Klein K., Worsham A.D., King L.D., Gerig T.M., Lyu S.W., 1991. Phenolic acid content of soils from wheat – no till, wheat – conventional till, and fallow – conventional till soybean cropping systems. *J. Chem. Ecol.*, 15: 1045–1068.
- Buyer J.S., Roberts D.P., Russek-Cohen E., 1999. Microbial community structure and function in the spermosphere as affected by soil and seed type. *Can. J. Microbiol.*, 45: 138–144.
- Campos F.M., Couto J.A., Hogg T.A., 2003. Influence of phenolic acids on growth and inactivation of *Oenococcus oeni* and *Lactobacillus hilgardii*. *J. Appl. Microbiol.*, 94: 167–74.
- Chet I., Ordentlich A., Shapira R., Oppenheim A., 1990. Mechanisms of biocontrol of soil-borne plant pathogens by rhizobacteria. *Plant Soil*, 129: 85–92.
- Cilliers J.J.L., Singleton V.L., 1989. Nonenzymic autoxidative phenolic browning reactions in a caffeic acid model system. *J. Agric. Food Chem.*, 37: 890–896.
- Cilliers J.J.L., Singleton V.L., 1990. Caffeic acid autoxidation and the effects of thiols. *J. Agric. Food Chem.*, 38: 1789–1796.
- Faltin F., Lottmann J., Grosch R., Berg G., 2004. Strategy to select and assess antagonistic bacteria for biological control of *Rhizoctonia solani* Kühn. *Can. J. Microbiol.*, 50: 811–820.
- Fernandez M.A., García M.D., Saenz M.T., 1996. Antibacterial activity of the phenolic acids fractions of *Scrophularia frutescens* and *Scrophularia sambucifolia*. *J. Ethnopharmacol.*, 53: 11–4.
- Giacomelli C., Ckless K., Galato D., Miranda F.S., Spinelli A., 2002. Electrochemistry of caffeic acid aqueous solutions with pH 2.0 to 8.5. *J. Braz. Chem. Soc.*, 13: 332–338.
- Gould W.D., Hagedorn C., Bardinelli T.R., Zablotowicz R.M., 1985. New selective media for enumeration and recovery of fluorescent pseudomonads from various habitats. *Appl. Environ. Microbiol.*, 49: 28–32.
- King E.O., Ward M.K., Raney D.E., 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. *J. Lab. Clin. Med.*, 44: 301–307.
- Kita W., Pietr S.J., Nowak W., Sowiński J., 2004. The effect of biological and conventional method of plant protection on the yield and healthiness of two wheat cultivars. *Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska*, 49: 1747–1754.
- Kobayashi A., Myong J.K., Kawazu K., 1996. Uptake and exudation of phenolic compounds by wheat and antimicrobial components of the root exudate. *Z. Naturforsch.*, 51: 527–533.
- Lugtenberg B.J.J., Dekkers L.C., 1999. What makes *Pseudomonas* bacteria rhizosphere competent? *Environ. Microbiol.*, 1: 9–13.
- Lugtenberg B., van der Bij A., Bloemberg G., Woeng T.C., Dekkers L., Kravchenko, L., Mulders I., Phoelich C., Simons M., Spaink H., Tikhonovich I., de Weger L., Wijffelman C., 1996. Molecular basis of rhizosphere colonization by *Pseudomonas* bacteria [in:] *Biology of plant-microbe interaction. The 8th International Symposium on Molecular Plant-Microbe Interactions*, Knoxville, Tennessee, July 14–19., 1996. Red. G. Stacey, B. Mullin, P.M. Gresshoff, International Society for Molecular Plant- Microbe Interactions, St. Paul, Minnesota, USA: 435–440.
- Lutter M., Clark A.C., Prenzler P.D., Scollary G.R., 2007. Oxidation of caffeic acid in a wine-like medium: Production of dihydroxybenzaldehyde and its subsequent reactions with (+)-catechin. *Food Chem.*, 105: 968–975.
- Maddox C.E., Laur L.M., Tian L., 2010. Antibacterial activity of phenolic compounds against the phytopathogen *Xylella fastidiosa*. *Curr. Microbiol.*, 60: 53–58.

- Miller H.G., Ikawa M., Peirce L.C., 1991. Caffeic acid identified as an inhibitory compound in asparagus root filtrate. Hort. Sci., 26: 1525–1527.
- Mpofu A., Sapirstein H.D., Beta T., 2006. Genotype and environmental variation in phenolic content, phenolic acid composition, and antioxidant activity of hard spring wheat. J. Agric. Food Chem., 54: 1256–1270.
- Nowak W., Sowiński J., Pietr S.J., Kita W., 2005. The effect of plant protection treatment on the quality of winter wheat grain. Pamiętniki Puławskie, 139: 117–127.
- Oksińska M.P., Wright S.A.I., Pietr S.J., 2011. Colonization of wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.) by strains of *Pseudomonas* spp. with respect to their nutrient utilization profiles. Eur. J. Soil Biol. 47: 364–373.
- Onyeneho S.N., Hettiarachchy N.S., 1992. Antioxidant activity of durum wheat bran. J. Agric. Food Chem., 40: 1496–1500.
- Pietr S.J., Stankiewicz M., 1990. Charakterystyka bakterii ryzooplany wybranych roślin uprawnych uprawianych w różnych środowiskach glebowych przy zastosowaniu równania Hattoriego oraz na podstawie występowania różnych grup fizjologicznych. Zesz. Nauk. AR, Wroc., 53: 123–132.
- Rovira A.D., 1956. Plant – root exudates in relation to the rhizosphere microflora. The nature of root exudate from oats and peas. Plant Soil, 7: 178–194.
- Scher F.M., Ziegler J.S., Kloepper J.W., 1984. A method for assessing the root – colonizing capacity of bacteria on maize. Can. J. Microbiol., 30: 151–157.
- Vancura V., 1964. Root exudates of plants. Analysis of root exudates of barley and wheat in their initial phases of growth. Plant Soil, 21: 231–248.
- Verma B., Hucl P., Chibbar R.N., 2009. Phenolic acid composition and antioxidant capacity of acid and alkali hydrolyzed wheat bran fractions. Food Chem., 116: 947–954.
- Weidner S., Amarowicz R., Karamac M., Dąbrowski G., 1999. Phenolic acids in caryopses of two cultivars of wheat, rye and triticale that display different resistance to pre-harvest sprouting. Eur. Food Res. Technol., 210: 109–113.
- Weller D.M., 1988. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. Ann. Rev. Phytopathology, 26: 379–407.
- Wu H., Haig T., Pratley J., Lemerle D., An M., 2000. Allelochemicals in wheat (*Triticum aestivum* L.): variation of phenolic acids in root tissues. J. Agric. Food Chem., 48: 5321–5325.
- Wu H., Haig T., Pratley J., Lemerle D., An M., 2001. Allelochemicals in wheat (*Triticum aestivum* L.): cultivar difference in the exudation of phenolic acids. J. Agric. Food Chem., 49: 3742–3745.

**EFFECT OF RESISTANCE TO CAFFEIC ACID ON EFFICIENCY  
OF COLONIZATION OF GERMINATING WHEAT SEEDS  
BY *PSEUDOMONAS REACTANS* STRAIN PSR2**

**S u m m a r y**

Caffeic acid is the phenolic compound commonly found in wheat tissues that is connected with plant resistance to pathogens. This compound and products of its non-enzymatic autoxidation possess antimicrobial activity. *Pseudomonas reactans* strain PSR2 grew rapidly in the presence of 0.6 mg mL<sup>-1</sup> of caffeic acid that was added to agar King medium B. This strain was also recognized

as a very effective colonizer of 48-hour germinating wheat seeds. Two transposon mutants of strain PSR2 were constructed, which were characterized by a reduced level of resistance to caffeic acid and/or products of its oxidation. The minimal inhibitory concentrations of these mutants were 0.4 and 0.5 mg mL<sup>-1</sup> of added caffeic acid. The transconjugants were significantly less effective in colonizing 48-hour germinating wheat seeds, in comparison to strain PSR2. Based on the results of the study, we concluded that the ability to grow in the presence of caffeic acid and/or products of its oxidation is one of the important traits of the effective multiplication of strain *P. reactans* in the wheat rhizosphere.

KEY WORDS: *Pseudomonas reactans*, wheat, colonization, caffeic acid





**Antoni Rogóż, Monika Tabak**

**ZAWARTOŚĆ PIERWIASTKÓW ŚLADOWYCH W CHWASTACH ZBÓŻ NA TLE ICH ZAWARTOŚCI W GLEBIE  
CZ. IV ZAWARTOŚĆ LITU W GLEBIE  
ORAZ WYBRANYCH CHWASTACH**

**CONTENT OF TRACE ELEMENTS IN CEREAL WEEDS  
BASED ON THE CONTENT OF TRACE ELEMENTS IN SOIL  
PART IV. CONTENT OF LITHIUM  
IN SOIL AND IN SELECTED WEEDS**

*Katedra Chemii Rolnej i Środowiskowej, Uniwersytet Rolniczy im. H. Kołłątaja w Krakowie  
Department of Agricultural and Environmental Chemistry, University of Agriculture  
in Krakow*

W pierwszej dekadzie czerwca 2007 r. na terenie gminy Brzeźnica pobrano 30 prób glebowych z gruntów ornych z głębokości 0–25 cm, na których uprawiano zboża. W próbach glebowych oznaczono podstawowe właściwości fizykochemiczne metodami standardowymi używanymi w chemii rolnej. Całkowitą zawartość litu w glebach oznaczono po wcześniejszej mineralizacji próbek gleb w temperaturze 450°C, a następnie po ich wytrawieniu w mieszaninie kwasów (nadchlorowego i azotowego) i roztworzeniu w HCl. Zawartość tego pierwiastka w formie rozpuszczalnej oznaczono w 0,1 mol HCl · dm<sup>-3</sup>.

Całkowita zawartość litu w badanych glebach wahała się w szerokim zakresie od 9,11 do 33,75 mg Li · kg<sup>-1</sup>, przy średniej geometrycznej 14,77 mg Li · kg<sup>-1</sup>. Natomiast zawartość litu w formie rozpuszczalnej oznaczanej w roztworze HCl o stężeniu 0,1 mol · dm<sup>-3</sup> wahała się od 0,06 do 0,28 mg Li · kg<sup>-1</sup>, przy średniej geometrycznej 0,135 mg Li · kg<sup>-1</sup>.

Z tych samych miejsc pobrano określoną liczbę rosnących chwastów, tj. mak polny, chaber bławatek, rumian polny, oset polny, występujących w uprawach zbóż. Zebrane próbki chwastów poddano mineralizacji na sucho.

Zawartość litu w zebranych chwastach była zróżnicowana w zależności od zawartości i formy tego pierwiastka w glebie, składu granulometrycznego, odczynu, gatunku i stadium rozwojowego chwastów. Średnia geometryczna zawartość litu w korzeniach chwastów wahała się od 0,13 do 13,75 mg Li · kg<sup>-1</sup>, natomiast w częściach nadziemnych od 0,07 do 11,51 mg Li · kg<sup>-1</sup>.

**SŁOWA KLUCZOWE:** chwasty, pH gleby, zawartość litu w glebie i roślinach

---

Do cytowania – For citation: Rogóż A., Tabak M., 2012. Zawartość pierwiastków śladowych w chwastach zbóż na tle ich zawartości w glebie. Cz. IV zawartość litu w glebie oraz wybranych chwastach. Zesz. Nauk. UP Wroc., Rol. CIII, 589: 189–198.

## WSTĘP

Zawartość pierwiastków śladowych bywa najczęściej badana w glebach oraz roślinach uprawnych ze względu na ich przeznaczenie, tj. paszowe względnie konsumpcyjne. Bardzo rzadko w literaturze spotkać można dane dotyczące zawartości litu w roślinach towarzyszących uprawom rolniczym, tj. w chwastach. Stwierdzono duże zróżnicowanie w zawartości i pobraniu litu przez różne gatunki roślin uprawianych w tych samych warunkach (Jurkowska i wsp. 1997, 2003). Ze względu na wykorzystywanie litu w różnych dziedzinach przemysłu powstaje pytanie, czy nie prowadziło to do lokalnego zanieczyszczenia środowiska, a także czy istnieje jego toksyczne oddziaływanie na rośliny. Dlatego istnieje potencjalne niebezpieczeństwo wzrostu zawartości tego pierwiastka w diecie pokarmowej zwierząt, bez objawów szkodliwego wpływu na rośliny. Lit jest niezbędny dla zwierząt, jego zapotrzebowanie jest pokrywane z paszy, co potwierdzają liczne prace (Kabata Pendias, Pendias 1999, Kośla 1999).

Celem niniejszych badań było określenie zawartości litu w wybranych chwastach zbóż na tle zawartości w glebie.

## MATERIAŁ I METODYKA

W pierwszej dekadzie czerwca 2007 r. na terenie gminy Brzeźnica pobrano 30 prób glebowych z gruntów ornyczych z głębokości 0–25 cm, na których uprawiane były zboża. Każda próbka glebowa stanowiła średnią próbkę z próbek indywidualnych (0,5–1,0 kg gleby). W pobranych próbkach glebowych określano podstawowe właściwości fizykochemiczne gleb powszechnie znanymi metodami stosowanymi w chemii rolnej (Lityński i wsp. 1976): skład granulometryczny oznaczono metodą areometryczną Bouyoucosa-Casagrande w modyfikacji Prószyńskiego, wartość pH metodą potencjometryczną w zawiesinie glebowej w  $H_2O$  i w roztworze  $1 \text{ mol KCl} \cdot \text{dm}^{-3}$ , zawartość węgla organicznego metodą Tiurina.

Całkowitą zawartość litu w badanych próbkach glebowych oznaczono po wcześniejszej ich mineralizacji w temperaturze  $450^\circ\text{C}$ , następnie wytrawiano w mieszaninie kwasów (nadchlorowym i azotowego) i roztwarzano w HCl (Ostrowska i wsp. 1991). Zawartość tego pierwiastka w formie rozpuszczalnej oznaczono w roztworze HCl o stężeniu  $0,1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Z tych samych miejsc, z których pobrano próby gleby, pobrano określoną liczbę chwastów, tj. mak polny, chaber bławatek, rumian polny, ostrożeń polny występujących w zbożach. Zebrane próbki chwastów, po usunięciu części ziemistych z korzeni, umyto i rozdzielono na części nadziemne oraz korzenie. Próbki chwastów poddano mineralizacji na sucho, a uzyskane popioły roztworzono w kwasie azotowym ( $\text{HNO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) w stosunku objętościowym (1 : 2). Zawartość litu we wszystkich uzyskanych roztworach oznaczano metodą Absorpcyjnej Spektrofotometrii Atomowej. Uzyskane wyniki dotyczące zawartości litu w glebie odniesiono do powietrznie suchej gleby, natomiast w chwastach do suchej masy. Wyniki opracowano statystycznie, obliczając średnie geometryczne oraz współczynniki korelacji prostej.

## WYNIKI I OMÓWIENIE

### Charakterystyka zebranego materiału glebowego

Badane gleby były zróżnicowane właściwościami fizycznymi oraz chemicznymi. Czynniki decydujące o poziomie litu w glebie to: rodzaj skały macierzystej, procesy glebotwórcze, odczyn gleby, zawartość materii organicznej, zawartość części spławianych, interakcje z innymi pierwiastkami, warunki oksydoredukcyjne oraz czynniki antropogeniczne (Gambuś, Gorlach 1996, Rogóż 2002, Symonowicz, Kalembasa 2009).

Wartość pH badanych gleb oznaczona w zawieszynie wodnej wahała się od 4,81 do 7,68, natomiast w roztworze 1 mol KCl·dm<sup>-3</sup> od 3,95 do 6,64. Według pięciostopniowej skali zakwaszenia wyodrębniono trzy grupy gleb: 17 próbek zaliczono do gleby bardzo kwaśnej i kwaśnej, 10 próbek do gleby lekko kwaśnej oraz 3 próbki to gleby obojętne. Kwasowość hydrolityczna badanych gleb wahała się od 16,3 do 96,2 mmol(+)- kg<sup>-1</sup>gleby. Zawartość węgla organicznego wahał się od 10,6 do 20,5 gC · kg<sup>-1</sup> gleby. Na podstawie składu granulometrycznego wyodrębniono trzy kategorie agronomiczne: 6 próbek to gleby średnie o udziale części spławialnych od 20 do 35%, 14 próbek to gleby ciężkie o udziale części spławialnych od 36 do 50%, 5 próbek to gleby bardzo ciężkie o udziale części spławialnych > 50%.

Wystąpiły istotne różnice w całkowitej zawartości litu w badanych glebach oraz w zawartości formy rozpuszczalnej. Całkowita zawartość litu w badanych glebach wahała się w zakresie od 9,11 do 33,75 mg Li · kg<sup>-1</sup>, przy średniej geometrycznej 14,77 mg Li · kg<sup>-1</sup> i współczynniku zmienności 43%. Natomiast zawartość litu w formie rozpuszczalnej oznaczanej w roztworze HCl o stężeniu 0,1 mol · dm<sup>-3</sup> wahała się od 0,06 do 0,28 mg Li · kg<sup>-1</sup>, przy średniej geometrycznej 0,135 mg Li · kg<sup>-1</sup> i współczynniku zmienności 40%. W badanych glebach całkowita zawartość litu oraz zawartość formy rozpuszczalnej zależała od wartości pH. Średnia geometryczna całkowita zawartość litu w glebach lekko kwaśnych i obojętnych była mniejsza o 11 i 22% od średniej geometrycznej zawartości litu w glebach o pH <5,5. Podobna zależność wystąpiła w mniejszym zakresie w przypadku form rozpuszczalnych (tab. 1).

Tabela 1

Table 1

Zawartości litu w glebie (mg · kg<sup>-1</sup>) w zależności od pH gleby  
Lithium content in soil ( mg · kg<sup>-1</sup> DM) depending on soil pH

Średnie zawartości Mean contents	Całkowite zawartości Total content	Formy rozpuszczalne Content of soluble forms
pH w 1 mol KCl · dm <sup>-3</sup> ≤ 5,5 – pH in 1 mol KCl · dm <sup>-3</sup> ≤ 5,5		
Średnia geometryczna <b>Geometric mean</b>	15,84	<b>0,15</b>
Zakres – Range	9,30–33,75	0,10–0,26
pH w 1 mol KCl · dm <sup>-3</sup> od 5,6 do 6,5 – pH in 1 mol KCl · dm <sup>-3</sup> from 5,5–6,5		
Średnia geometryczna <b>Geometric mean</b>	14,12	<b>0,12</b>
Zakres – Range	10,03–13,65	0,06–0,28
pH w 1 mol KCl · dm <sup>-3</sup> ≥ 6,6 – pH in 1 mol KCl · dm <sup>-3</sup> ≥ 6,6		
Średnia geometryczna <b>Geometric mean</b>	12,42	0,11
Zakres – Range	9,11–13,08	0,09–0,12

Rogóż (2002, 2010) wykazał, że zmiany odczynu w doświadczeniu wazonowym w wyniku zastosowania nawozów wapniowych lub magnezowych oraz dawki tych nawozów wpływały istotnie na zawartość i pobranie litu niezależnie od jego zawartości w glebie. W niniejszych badaniach stwierdzono ponadto, że całkowita zawartość litu oraz jego zawartość w formie rozpuszczalnej wzrastała wraz ze wzrostem zawartości części spławialnych w badanych glebach (tab. 2).

Tabela 2  
Table 2

Zawartości litu ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) w glebie w zależności od zawartości części spławialnych  
Lithium content in soil ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) depending on contents of floatable particles

Średnie zawartości Mean contents	Całkowite zawartości Total content	Formy rozpuszczalne Content of soluble forms
Zawartość frakcji $< 0,02 \text{ mm} \leq 35\%$ – Content of fraction $< 0,02 \text{ mm}$ to $\leq 35\%$		
Średnia geometryczna <b>Geometric mean</b>	11,80	<b>0,125</b>
Zakres – Range	9,31–17,39	0,09–0,260
Zawartość frakcji $< 0,02 \text{ mm}$ od 36 do 50% – Content of fraction $< 0,02 \text{ mm}$ from 36 to 50%		
Średnia geometryczna <b>Geometric mean</b>	14,07	0,127
Zakres – Range	9,11–26,25	0,06–0,280
Zawartość frakcji $< 0,02 \text{ mm} \geq 50\%$ – Content of fraction $< 0,02 \text{ mm}$ higher up $\geq 50\%$		
Średnia geometryczna <b>Geometric mean</b>	23,30	<b>0,177</b>
Zakres – Range	10,69–33,75	0,13–0,25

Rogóż (2004) wykazał istotnie dodatnią zależność między zawartością części spławialnych oraz ilu koloidalnego w glebie a zawartością litu w formie rezydualnej oraz w formie całkowitej. Natomiast nie stwierdzono istotnych zależności między odczynem mierzonym w  $1 \text{ mol KCl} \cdot \text{dm}^{-3}$  a zawartością tego pierwiastka w poszczególnych frakcjach uzyskanych w wyniku sekwencyjnego frakcjonowania. W niniejszych badaniach odnotowano istotną ujemną zależność pomiędzy pH gleb mierzonym w  $1 \text{ mol KCl} \cdot \text{dm}^{-3}$  a całkowitą zawartością badanego pierwiastka. Wykazano istotnie dodatnią zależność między całkowitą zawartością litu a procentową zawartością węgla organicznego oraz całkowitą zawartością litu a procentową zawartością frakcji glebowej o średnicy  $< 0,02 \text{ mm}$  (tab. 3).

Tabela 3  
Table 3

Współczynniki korelacji prostej (r) pomiędzy zawartością litu w glebach a wybranymi właściwościami fizycznymi i chemicznymi gleb  
Simple correlation coefficients (r) between lithium content in soils and selected physical and chemical properties of soils

Właściwości gleby Properties of soil	Całkowite zawartości Total contents	Zawartość formy rozpuszczalnej Contents of soluble forms
pH <sub>KCl</sub> – Soil pH in KCl	-0,346 *	-0,219
% C org. – Organic C content	0,421 *	0,188
Fracje gleby – Share of fraction		
< 0,02 mm	0,454 **	0,164
< 0,002 mm	0,684 ***	0,296

n = liczba próbek 30 – number of samples 30

(r) istotne przy – significant at: \*p=0,05; \*\*p=0,01; \*\*\*p=0,001

### Zawartość litu w roślinach

Zawartość litu w wybranych chwastach pochodzących z upraw zbóż była zróżnicowana, w zależności od całkowitej zawartości tego pierwiastka i zawartości formy rozpuszczalnej w glebie, wartości pH, stopnia uwilgotnienia gleby, nawożenia, gatunku i stadium rozwojowego rośliny oraz analizowanej części rośliny. Potwierdzają tę zależność liczne prace (Gambuś, Gorlach 1996, Gambuś 1997, Rogóż 2003, 2013).

Z przeprowadzonych badań wynika, że wzrost wartości pH<sub>KCl</sub> gleby powyżej 5,5 wpływał niejednoznacznie na zawartość litu w korzeniach i częściach nadziemnych badanych chwastów pochodzących z upraw zbóż. Przyjmując np. średnią geometryczną zawartość litu w korzeniach roślin maku pochodzących z gleb o pH<sub>KCl</sub> ≤ 5,5 za 100, to średnia geometryczna zawartość tego pierwiastka w korzeniach maku pochodzących z gleb lekko kwaśnych i obojętnych była mniejsza o 55 i 22%, natomiast w częściach nadziemnych odpowiednio o 37 i 12%. Najwyższy spadek zawartości litu wystąpił ze wzrostem wartości pH w oście polnym (tab. 4).

Tabela 4  
Table 4

Zawartość litu (mg · kg<sup>-1</sup>s.m) w chwastach zbóż w zależności od odczynu gleby  
Lithium content (mg · kg<sup>-1</sup>DM) in cereal crop weeds depending on soil reaction

pH <sub>KCl</sub> – pH in 1 mol KCl · dm <sup>-3</sup>	Korzenie – Roots	Części nadz. – Tops
1	2	3
<b>Chaber bławatek – <i>Centaurea cyanus</i> L.</b>		
≤ 5,5	<u>1,273*</u> 0,42–4,40**	<u>0,518*</u> 0,21–2,74**
od 5,6 do 6,5	<u>0,798</u> 0,31–1,68	<u>0,464</u> 0,09–1,28
≥ 6,6	<u>1,086</u> 0,79–1,33	<u>0,518</u> 0,39–0,79
<b>Mak polny – <i>Papaver rhoeas</i> L.</b>		
<≤ 5,5	<u>1,211</u> 0,37–4,45	<u>0,622</u> 0,32–1,83
od 5,6 do 6,5	<u>0,540</u> 0,14–1,95	<u>0,391</u> 0,07–0,94
≥ 6,6	<u>0,950</u> 0,76–1,21	<u>0,550</u> 0,35–0,91

Tabela 4 cd.  
Table 4 cont.

1	2	3
<b>Rumian polny – <i>Anthemis arvensis</i> L.</b>		
	<b><u>1,332</u></b>	<b><u>0,551</u></b>
≤ 5,5	0,69–3,29	0,35–0,91
od 5,6 do 6,5	<b><u>0,773</u></b>	<b><u>0,465</u></b>
	0,13–1,48	0,11–1,44
≥ 6,6	<b><u>0,627</u></b>	<b><u>0,365</u></b>
	0,43–0,87	0,31–0,99
<b>Oset polny – <i>Cirsium arvense</i></b>		
	<b><u>2,586</u></b>	<b><u>2,941</u></b>
≤ 5,5	0,13–13,75	0,56–11,51
od 5,6 do 6,5	<b><u>1,754</u></b>	<b><u>2,679</u></b>
	0,62–5,64	1,08–9,66
≥ 6,6	<b><u>1,199</u></b>	<b><u>1,491</u></b>
	0,91–1,69	1,24–1,83

\* średnia geometryczna – geometric mean

\*\* zakres – range

Całkowita zawartość litu związana z zawartością frakcji glebowej o średnicy < 0,02 mm w badanych glebach wpływała niejednoznacznie na zawartość tego pierwiastka w korzeniach i częściach nadziemnych badanych chwastów pochodzących z upraw zbóż (tab. 5).

Tabela 5  
Table 5

Zawartości litu (mg · kg<sup>-1</sup>) w wybranych chwastach w zależności od zawartości litu w glebie  
Lithium content (mg · kg<sup>-1</sup> DM) in cereal crop weeds depending on lithium content in soil

Całkowita zawartość litu w glebie* (mg · kg <sup>-1</sup> ) Total lithium content in soil	Korzenie – Roots	Części nadz. – Tops
1	2	3
<b>Chaber bławatek – <i>Centaurea Cyanus</i> L.</b>		
	<b><u>0,886*</u></b>	<b><u>0,437*</u></b>
11,80	0,42–2,16**	0,26–0,68**
	<b><u>1,005</u></b>	<b><u>0,479</u></b>
14,07	0,31–2,44	0,09–1,72
	<b><u>1,710</u></b>	<b><u>0,636</u></b>
23,30	0,61–4,40	0,29–2,74
<b>Mak polny – <i>Papaver rhoeas</i> L.</b>		
	<b><u>0,941</u></b>	<b><u>0,612</u></b>
11,80	0,58–2,31	0,39–0,94
	<b><u>0,779</u></b>	<b><u>0,376</u></b>
14,07	0,14–4,45	0,07–1,36
	<b><u>1,481</u></b>	<b><u>0,824</u></b>
23,30	0,72–6,45	0,44–1,83
<b>Rumian polny – <i>Anthemis arvensis</i> L.</b>		
	<b><u>1,184</u></b>	<b><u>0,514</u></b>
11,80	0,69–2,03	0,31–0,87

Tabela 5 cd.  
Table 5 cont.

1	2	3
14,07	<b>0,956</b> 0,13–3,29	<b>0,551</b> 0,11–1,90
23,30	<b>1,205</b> 0,15–2,55	<b>0,744</b> 0,41–3,20
<b>Oset polny – <i>Cirsium arvense</i></b>		
11,80	<b>1,096</b> 0,73–1,69	<b>1,873</b> 0,91–1,873
14,07	<b>2,116</b> 0,62–13,75	<b>2,706</b> 0,56–11,51
23,30	<b>3,647</b> 1,86–12,35	<b>3,827</b> 2,77–5,89

\* średnia geometryczna – geometric mean

\*\* zakres – range

Właściwości fizykochemiczne gleb wpływały w niejednakowym stopniu na zawartość tego pierwiastka w chwastach pochodzących z upraw roślin zbożowych, czego dowodzą współczynniki korelacji prostej. Stwierdzono istotną ujemną zależność pomiędzy pH gleb mierzonym 1 mol KCl · dm<sup>-3</sup> a zawartością litu w korzeniach badanych chwastów. Wykazano również istotnie dodatnią zależność między całkowitą zawartością litu w glebach a zawartością tego kationu w korzeniach chabra bławatka oraz w korzeniach ostu polnego (tab. 6).

Tabela 6  
Table 6

Współczynniki korelacji prostej (r) pomiędzy zawartością litu w chwastach roślin zbożowych a wybranymi właściwościami fizycznymi i chemicznymi gleb  
Simple correlation coefficients (r) between lithium content in crop weeds and selected physical and chemical properties of soils

Właściwości gleby Properties of soil	Korzeń – Roots	Części nadz. – Tops
1	2	3
<b>Chaber bławatek – <i>Centaurea Cyanus</i> L.</b>		
(pH <sub>KCl</sub> ) – soil pH in KCl	-0,365*	-0,1090
Całk. zaw. – Total content	0,473**	0,400*
Forma rozp. – Content of soluble forms	0,25	0,521**
<b>Mak polny – <i>Papaver rhoeas</i> L.</b>		
(pH <sub>KCl</sub> ) – soil pH in KCl	-0,385*	-0,390*
Całk. zaw. – Total content	–	–
Forma rozp. – Content of soluble forms	0,264	0,297
<b>Rumian polny – <i>Anthemis arvensis</i></b>		
(pH <sub>KCl</sub> ) – soil pH in KCl	-0,382*	-0,127
Całk. zaw. – Total content	–	–
Forma rozp. – Content of soluble forms	–	–

Tabela 6 cd.  
Table 6 cont.

Oset polny – <i>Cirsium arvense</i>		
(pH <sub>KCl</sub> ) – soil pH in KCl	-0,413*	-0,364*
Całk. zaw. – Total content	0,412*	0,424*
Forma rozp. – Content of soluble forms	0,404*	0,495**

n= liczba próbek roślinnych (30) – number of samples 30

(r) istotne przy – significant at: \*p=0,05; \*\*p=0,01; \*\*\*p=0,001

## WNIOSKI

1. Całkowita zawartość litu w badanych glebach była dość zróżnicowana, podobnie jak zawartość formy rozpuszczalnej oznaczanej w roztworze HCl o stężeniu 0,1 mol · dm<sup>-3</sup>. Wraz ze wzrostem wartości pH<sub>KCl</sub> > 5,5 w badanych glebach obserwujemy niższe całkowite zawartości litu oraz w formie rozpuszczalnej.

2. Całkowita zawartość litu oraz jego zawartość w formie rozpuszczalnej wzrastała wraz ze wzrostem zawartości części spławialnych w badanych glebach.

3. Zawartość litu w badanych chwastach występujących w uprawach roślin zbożowych wahała się w dużym zakresie w zależności od gatunku, analizowanej części rośliny, zawartości i formy badanego pierwiastka glebie oraz odczynu gleby. Wyższe zawartości litu wystąpiły w korzeniach chabra bławatka, maku polnego oraz rumianu polnego niż w częściach nadziemnych w przeciwieństwie do ostu polnego.

4. Wykazano istotną ujemną zależność pomiędzy pH gleby mierzonym w 1 mol KCl · dm<sup>-3</sup> a zawartością litu w korzeniach badanych chwastów. Wystąpiła istotnie dodatnia zależność między całkowitą zawartością litu i formami rozpuszczalnymi związanymi z zawartością frakcji glebowej < 0,02 mm a zawartością litu w korzeniach chabra bławatka oraz w korzeniach ostu polnego.

## PIŚMIENNICTWO

- Lityński T., Jurkowska H., Gorlach E., 1976. Analiza chemiczno-rolnicza. PWN, Warszawa.
- Gambuś F., Gorlach E., 1996. Wpływ obornika, słomy i węgla brunatnego na fitoprzywajalność metali ciężkich. Zesz. Nauk. AR Szczecin, Rolnictwo, 62: 131–137.
- Gambuś F., 1997. Pobranie metali ciężkich przez różne gatunki roślin uprawnych. Cz. II. Akumulacja metali ciężkich przez rośliny. Acta Agr. et Silv., Ser Agr., 35: 31–43.
- Jurkowska H., Rogóż A., Wojciechowicz T., 1997. Porównanie toksycznego działania litu na niektóre gatunki roślin. Acta Agr. et Silv., ser. Agr., 35: 45–50.
- Jurkowska H., Rogóż A., Wojciechowicz T., 2003. Phytotoxicity of lithium on various soils. Polish J. of Soil Sci., Vol. XXXVI/1: 71–76.
- Kabata-Pendias A., Pendias H., 1999. Biogeochemia pierwiastków śladowych. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa.
- Kośla T., 1999. Biologiczne i chemiczne zanieczyszczenia produktów rolniczych. Wydawnictwo SGGW: 68–71.



- Ostrowska A., Gawliński S., Szczubiałka Z., 1991. Metody analizy i oceny właściwości gleb i roślin. Instytut Ochrony Środowiska, Warszawa: 105–107.
- Rogóż A., 2002. Zawartość i pobranie pierwiastków śladowych przez rośliny przy zmiennym odczynnie gleby. Cz. I. Zawartość i pobranie miedzi, cynku oraz manganu przez rośliny. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 482: 439–451.
- Rogóż A., 2003. Właściwości fizykochemiczne gleb i zawartość pierwiastków śladowych w uprawianych warzywach. Cz. I. Zawartość pierwiastków śladowych w glebach. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 493: 209–217.
- Rogóż A., 2004. Badania nad formami litu w glebie. Cz. I. Formy litu w glebie a właściwości fizykochemiczne gleb. J. Elementol., 9 (4): 715–725.
- Rogóż A., Niemiec M., 2010. Zawartość i pobranie pierwiastków śladowych w chwastach roślin zbożowych na tle ich zawartości w glebie. Cz. I. Zawartość miedzi, cynku, manganu oraz żelaza w glebie i chwastach. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 556: 907–922.
- Rogóż A., 2010. Effect of soil properties on lithium phytoavailability. Part 1. Lithium content and uptake by maize and rye. Ecol. Chem. Eng. A. Vol 17, 4–5: 473–481.
- Rogóż A., 2010. Effect of soil properties on lithium phytoavailability. Part 2. Lithium content in soil after completion of maize and rye vegetation. Ecol. Chem. Eng. A. Vol 17, 8: 1008–1012.
- Symonowicz B., Kalembasa S., 2009. Zmiany zawartości Fe, Li, i Ti w kukurydzy pod wpływem stosowania odpadowych materiałów organicznych, popiołu i nawożenia mineralnego. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 538: 257–265.

**CONTENT OF TRACE ELEMENTS IN CEREAL WEEDS  
BASED ON THE CONTENT OF TRACE ELEMENTS IN SOIL  
PART IV. CONTENT OF LITHIUM IN SOIL AND IN SELECTED WEEDS**

**S u m a r y**

30 soil samples were taken in the first ten days of June 2007 from the Brzeznicza district. Samples were taken at a depth of 0–25 cm from arable lands on which cereal plants were cultivated. The basic physicochemical properties of the soil samples were determined by standard methods used in agricultural chemistry. The total lithium content in the soils was determined after mineralization of the samples at a temperature of 450°C, digestion with a mixture of perchloric and nitric acids and dilution in HCl. The content of lithium in a soluble form was determined in 0.1 mol HCl · dm<sup>-3</sup>.

The total lithium content in the examined soils varied widely from 9.11 to 33.75 mg Li · kg<sup>-1</sup>, with a geometric mean of 14.77 mg Li · kg<sup>-1</sup>. The content of the soluble form of lithium, determined in the 0.1 mol · dm<sup>-3</sup> HCl solution, varied from 0.06 to 0.28 mg Li · kg<sup>-1</sup>, with a geometric mean of 0.135 mg Li · kg<sup>-1</sup>.

A sample of weeds (i.e. red poppy, cornflower, corn chamomile, creeping thistle) growing in cereal crops were taken from each location. The collected weed samples were subjected to dry mineralization.

The lithium content in the collected weeds varied depending on the content and form of this element in soil, granulometric composition, pH, plant species and development stage. The lithium content in the roots of the weeds varied from 0.13 to 13.75 mg Li · kg<sup>-1</sup> and in the top parts from 0.07 to 11.51 mg · kg<sup>-1</sup>.

KEY WORDS: weeds, soil pH, lithium content in soil and plants



**Ewa Stanisławska-Głubiak<sup>2</sup>, Jolanta Korzeniowska<sup>2</sup>,  
Marek Jakubowski<sup>1</sup>**

**WPLYW SIARKI WPROWADZONEJ DO GLEBY NA ZMIANY  
ZAWARTOŚCI NIEKTÓRYCH MIKROELEMENTÓW  
W ROŚLINACH PRZEZNACZONYCH NA PASZĘ**

**EFFECT OF APPLYING SULPHUR TO THE SOIL  
ON THE CHANGES IN THE CONTENT OF MICROELEMENTS  
IN PLANTS INTENDED FOR ANIMAL FEED**

*<sup>1</sup>Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach  
Institute of Soil Science and Plant Cultivation – State Research Institute in Pulawy*

*<sup>2</sup>Zakład Herbologii i Technik Uprawy Roli we Wrocławiu  
Department of Weed Science and Soil Tillage Systems in Wrocław*

Nawożenie pól uprawnych siarką może powodować zwiększoną akumulację niektórych mikroelementów w roślinach wskutek zakwaszającego działania siarki na glebę. Nadmierna zawartość tych pierwiastków może być szkodliwa zarówno dla samej rośliny, jak i jej konsumentów. Celem badań było sprawdzenie, w jakim stopniu doglebowe stosowanie siarki wpływa na gromadzenie Cu, Zn i Mn w roślinach, z uwzględnieniem maksymalnych tolerowanych zawartości w paszach dla zwierząt. Przeprowadzono 2 dwuletnie doświadczenia wazonowe, w których zastosowano 3 dawki siarki elementarnej (S1=60, S2=80, S3=120 mg S · kg<sup>-1</sup>) w porównaniu z obiektem kontrolnym bez siarki (0). Doświadczenia przeprowadzono na glebie lekkiej zróżnicowanej 2 poziomami pH: pH1 – gleba lekko kwaśna i pH2 – gleba obojętna. Wpływ siarki uwidocznił się głównie wzrastającą zawartością Mn i Zn w roślinach na glebie pH1 oraz sporadycznymi zmianami koncentracji pierwiastków na glebie pH2. Z przeprowadzonych badań wynika, że nawożąc gleby siarką, należy zachować pewną ostrożność przy ewentualnym przeznaczaniu na paszę słomy owsa, łądyg łubinu i zielonki z kukurydzy ze względu na możliwość nadmiernego nagromadzenia w nich manganu. Niebezpieczna dla zdrowia zwierząt może się okazać także gorczyca biała ze względu na łatwość gromadzenia nadmiernej ilości cynku.

**SŁOWA KLUCZOWE:** nawożenie siarką, mikroelementy, zawartość w roślinach, miedź, cynk, mangan, pasza

---

Do cytowania – For citation: Stanisławska-Głubiak E., Korzeniowska J., Jakubowski M., 2012. Wpływ siarki wprowadzonej do gleby na zmiany zawartości niektórych mikroelementów w roślinach przeznaczonych na paszę. Zesz. Nauk. UP Wroc., Rol. CIII, 589: 199–208.

## WSTĘP

Zmniejszenie w ostatnich latach emisji dwutlenku siarki oraz stosowanie nawozów wysokoskoncentrowanych i ograniczenie zużycia nawozów naturalnych spowodowało między innymi pogłębiający się niedobór siarki siarczanowej w glebach. Wyniki badań świadczą o występowaniu w naszym kraju obszarów z wyraźnym niedoborem siarki dla roślin uprawnych (Lipiński i wsp. 2003). Nawożenie siarką często staje się koniecznością, zwłaszcza roślin o dużym zapotrzebowaniu na ten pierwiastek. Dotyczy to głównie gatunków z rodziny krzyżowych i motylkowatych. Stosowanie nawozów zawierających siarkę może jednak powodować zakwaszenie gleby (Motowicka-Terelak, Terelak 1998) oraz zwiększone pobranie przez rośliny nie tylko siarki, ale również niektórych innych pierwiastków, zwłaszcza z grupy metali ciężkich. Wskutek zakwaszającego działania siarki na glebę i modyfikacji jej aktywności mikrobiologicznej niektóre pierwiastki mogą akumulować się nadmiernie w tkankach roślinnych, szkodząc samej roślinie lub jej konsumentom (Kabata-Pendias, Mukherjee 2007, Podleśna 2009, Wróbel, Nowak-Winiarska 2011).

Celem badań było sprawdzenie wpływu wprowadzonej do gleby siarki na pobranie i ewentualne nadmierne gromadzenie Cu, Zn i Mn w roślinach przeznaczonych na paszę.

## METODYKA BADAŃ

W latach 2010–2011 przeprowadzono 2 dwuletnie doświadczenia wazonowe w hali weterytarnej Stacji Doświadczalnej IUNG-PIB w Jelczu-Laskowicach, w których badano działanie nawozowe mielonej siarki elementarnej, zastosowanej w 3 dawkach (S=60, S2=80, S3=120 mg S·kg<sup>-1</sup> s.m. gleby), w porównaniu z obiektem kontrolnym bez siarki (0). Doświadczenia różniące się gatunkami roślin testowych i ich zmianowaniem przeprowadzono w wazonach typu Wagnera o pojemności 9 kg powietrznie suchej gleby, w układzie kompletnej randomizacji, w 4 powtórzeniach. Jako podłoża użyto gleby lekkiej o składzie granulometrycznym piasku gliniastego, która charakteryzowała się kwaśnym odczynem oraz średnią zawartością form przyswajalnych Cu, Zn i Mn (tab. 1). Glebę zróżnicowano pod względem odczynu na 2 poziomy pH (pH1=5,7 i pH2=7,1) poprzez zastosowanie na miesiąc przed siewem nasion odpowiednio obliczonych dawek wapna w postaci CaCO<sub>3</sub>.

Tabela 1  
Table 1

Charakterystyka gleby użytej do doświadczeń  
Characteristic of experiments soils

pH KCl	C org. (g·kg <sup>-1</sup> ) organic carbon	Fracje mechaniczne Soil fraction (%)			Zawartość (mg·kg <sup>-1</sup> ) – Content							
		2,0– 0,05 mm	0,05– 0,002 mm	<0,002 mm	P	K	Mg	S-SO <sub>4</sub>	Cu	Mn	Zn	
4,7	5,3	81	17	2	20,0	24,9	17,0	44,9	3,0	75,0	4,0	

W roku 2010 w doświadczeniu I uprawiano owies i gorczycę białą w poplonie, natomiast w doświadczeniu II – łubin żółty, a po nim żyto na zielonkę. W roku 2011 w doświadczeniu I po owsie roślinami testowymi były: łubin żółty jako roślina główna oraz w poplonie kukurydza na zielonkę, a w doświadczeniu II – owies wraz z poplonową kukurydzą.

Dawki siarki były stosowane przedsięwzięcie tylko w pierwszym roku. W drugim roku badano działanie następcze tego składnika. Nawożenie podstawowe stosowano każdego roku w dawkach: N – 100, P – 50, K – 200 i Mg – 50 mg·kg<sup>-1</sup> gleby. Ponadto wprowadzono do gleby: 0,16 mg Mo; 0,41 mg B; 0,50 mg Cu; 2,33 mg Mn i 0,83 mg Zn·kg<sup>-1</sup> gleby jako pożywkę mikroelementową w postaci roztworu wodnego. W czasie wegetacji rośliny testowe, z wyjątkiem poplonów, zasilano pogłównie azotem w dawce 100 mg·kg<sup>-1</sup>.

Do analiz chemicznych pobrano średnie obiektowe próbki ziarna i słomy owsa, strąków i łodyg łubinu oraz zielonej masy części nadziemnych gorczycy, żyta i kukurydzy. Analizy wykonywano według procedur badawczych IUNG-PIB. Zawartość Cu, Mn i Zn oznaczono metodą spektrometrii absorpcji atomowej po mineralizacji prób na sucho w piecu muflowym i roztwarzaniu kwasem solnym (PB 9 Wyd.III-28.05.09). Zawartość siarki oznaczono metodą spektrometrii emisji plazmowej po mineralizacji z NaHCO<sub>3</sub> (PB 110.2 Wyd. I-09.12.10).

Wyniki dotyczące zawartości pierwiastków w roślinach poddano analizie wariancji dla doświadczeń jednoczynnikowych. W ocenie różnic między obiektami wykorzystano test Tukey'a ( $\alpha < 0,05$ ). Obliczenia statystyczne wykonywano za pomocą programu AWAR (Filipiak, Wilkos 1995).

## WYNIKI I DYSKUSJA

Przemiany siarki elementarnej w glebie polegają na jej utlenianiu do formy siarczanowej przy udziale mikroorganizmów, spośród których największą rolę odgrywają gatunki z rodzaju *Thiobacillus* (Gajewska i wsp. 2006). Proces utleniania zredukowanych form siarki prowadzi z jednej strony do powstania anionów siarczanowych pobieranych przez rośliny, z drugiej – do zakwaszenia gleby. Kwaśny odczyn gleby sprzyja na ogół większej mobilności miedzi, cynku i manganu oraz ich dostępności dla roślin (Kabata-Pendias, Pendias 2001). W przeprowadzonych badaniach nawożenie roślin siarką nie wpłynęło znacząco na zmiany odczynu gleby. W pierwszym roku po jej aplikacji na glebie lekko kwaśnej (pH1) najwyższa dawka siarki obniżyła pH gleby maksymalnie o 0,4 jednostki, a na glebie obojętnej (pH2) zaledwie o 0,2 jednostki (tab. 2). W drugim roku po zbiorze roślin stwierdzono ogólne obniżenie pH gleby w stosunku do pierwszego roku. Niemniej siarka nie spowodowała większego zakwaszenia gleby, niż stwierdzono na obiekcie kontrolnym. Wyjątkiem była gleba pH2 w doświadczeniu I, gdzie zastosowanie najwyższej dawki siarki obniżyło pH o 0,3 jednostki w stosunku do kontroli.

Tabela 2  
Table 2Odczyn gleby po zbiorze roślin testowych  
Soil pH after harvest

Obiekt Treat- ment	Doświadczenie I – Experiment I				Doświadczenie II – Experiment II			
	2010		2011		2010		2011	
	pH1	pH2	pH1	pH2	pH1	pH2	pH1	pH2
0	5,4	6,9	4,3	5,1	5,2	6,8	4,2	5,2
S1	5,4	6,9	4,2	5,0	5,1	6,9	4,2	5,3
S2	5,1	6,8	4,2	5,0	5,1	6,9	4,1	5,1
S3	5,0	6,7	4,2	4,8	5,0	6,7	4,1	5,2

Jednocześnie zaobserwowano wzrost zawartości siarki w roślinach testowych (tab. 3, tab. 4). W pierwszym roku po aplikacji siarki w dawce S2 i S3 na obu glebach wzrosła koncentracja tego składnika w ziarnie owsa oraz w życie poplonowym. Zaobserwowano również nieudowodnioną statystycznie tendencję wzrostu zawartości siarki w słomie owsa oraz w gorczycy poplonowej. W drugim roku po nawożeniu siarką zwiększoną koncentrację tego składnika stwierdzono w ziarnie i słomie owsa, łodygach łubinu oraz w strąkach łubinu, ale tylko na glebie pH1. Z kolei kukurydza nie zareagowała zwiększoną zawartości siarki.

Tabela 3  
Table 3Zawartość siarki w suchej masie roślin testowych  
w pierwszym roku po nawożeniu siarką – 2010 ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )  
Sulphur concentration in the test plants  
in first year after sulphur application – 2010 ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \text{DM}$ )

Obiekt Treat- ment	Doświadczenie I – Experiment I						Doświadczenie II – Experiment II					
	owies – oats				gorczyca mustard	łubin – lupin				żyto rye		
	ziarno grain		słoma straw			strąki pods		łodygi stalks				
	pH1	pH2	pH1	pH2	pH1	pH2	pH1	pH2	pH1	pH2	pH1	pH2
0	2,0 ab	1,5 a	5,9 a	3,5 a	8,1 a	7,8 a	1,7 a	1,6 a	4,6 a	5,4 a	2,4 a	2,1a
S1	1,9 a	1,7 ab	6,3 a	3,4 a	8,3 a	8,1a	1,5 a	2,0 a	4,7 a	5,4 a	2,5 a	2,2 ab
S2	2,2 b	1,7 ab	6,5 a	3,6 a	9,7 a	9,0 a	1,5 a	2,0 a	4,6 a	5,1 a	2,4 a	2,3 bc
S3	2,1 ab	1,8 b	7,7 a	3,9 a	9,8 a	8,7 a	1,6 a	1,8 a	4,8 a	6,0 a	3,1 b	2,4 c

Jednakowe litery oznaczają brak istotnych różnic między obiektami według testu Tukey'a ( $P < 0,05$ )  
The same letters indicate no significant differences between treatments according to Tukey's test ( $P < 0.05$ )

Tabela 4  
Table 4

Zawartość siarki w suchej masie roślin testowych  
w drugim roku po nawożeniu siarką – 2011(g · kg<sup>-1</sup>)  
Sulphur concentration in the test plants  
in second year after sulphur application – 2011 (g · kg<sup>-1</sup> DM)

Obiekt Treatment	Doświadczenie I – Experiment I						Doświadczenie II – Experiment II					
	łubin – lupin				kukurydza maize		owies – oats				kukurydza maize	
	strąki pods		łodygi stalks				ziarno grain		słoma straw			
	pH1	pH2	pH1	pH2	pH1	pH2	pH1	pH2	pH1	pH2	pH1	pH2
0	1,4 a	1,4 a	6,0 a	5,1 a	2,7 a	2,4 a	2,4 a	1,8 a	4,7 a	3,8 a	1,7 a	1,6 a
S1	1,6 ab	1,6 a	6,5 ab	6,6 ab	2,6 a	2,4 a	2,9 b	1,8 a	5,4 b	4,4 ab	1,5 a	2,0 a
S2	1,6 ab	2,0 a	6,5 ab	6,4 ab	2,8 a	2,4 a	2,7 bc	1,8 a	6,0 b	4,4 ab	1,5 a	2,0 a
S3	1,8 b	1,6 a	8,1 b	7,0 b	3,0 a	2,4 a	3,2 c	2,0 b	6,8 c	5,2 b	1,6 a	1,8 a

Jednakowe litery oznaczają brak istotnych różnic między obiektami według testu Tukey'a (P < 0,05)

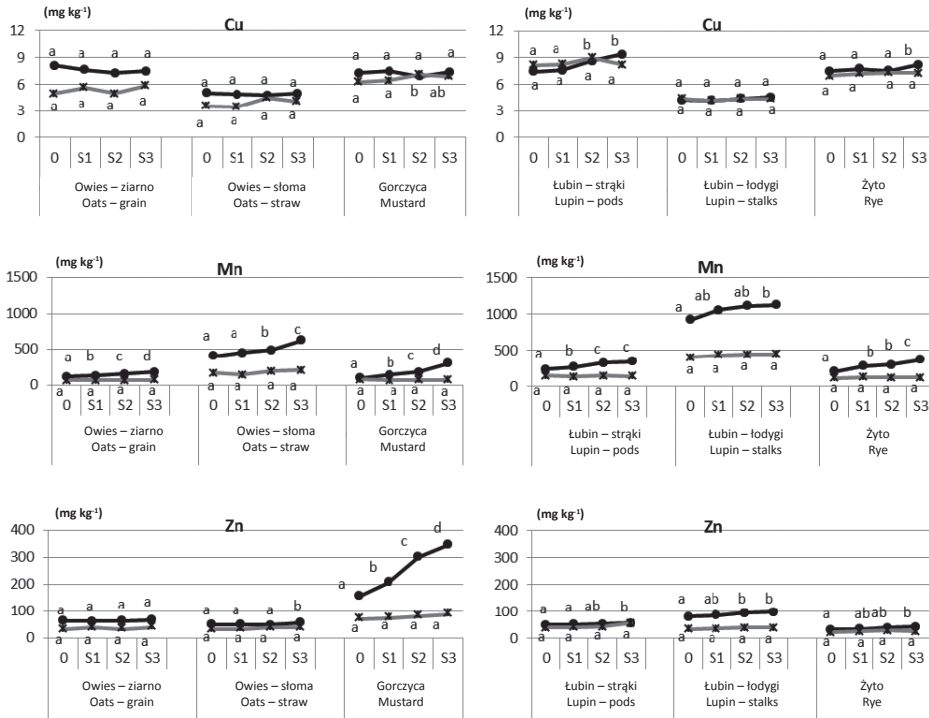
The same letters indicate no significant differences between treatments according to Tukey's test (P < 0.05)

W związku z zakwaszającym wpływem siarki elementarnej na glebę oraz ze zwiększonym pobraniem jej przez roślinę spodziewano się zmian zawartości niektórych mikroelementów w uprawianych roślinach. W badaniach Ryana (2007) dodatek siarki do gleby spowodował tylko niewielki wzrost zawartości Zn i Cu w trawie. Według badań Doleżalowej i Ryana (2009) zastosowanie siarki skutkowało większą zawartością manganu oraz mniejszą zawartością miedzi w ziarnie pszenicy, mimo że nie doprowadziło do wzrostu zawartości przyswajalnych form tych metali w glebie. Podobnie Kulczycki (2004a,b) po nawożeniu siarką stwierdził wzrost zawartości miedzi, cynku i manganu w gorczycy, gryce i kukurydzy.

Przeważa opinia, że mangan, cynk i miedź mogą przechodzić w glebie w formy łatwiej rozpuszczalne przy niższych wartościach pH. Mercik i wsp. (2004) stwierdzili jednak, że zawartość Zn, a zwłaszcza Cu w roślinach była mało uzależniona od pH gleby. W badaniach własnych wpływ siarki na zawartość mikroelementów w roślinach uwidocznił się głównie na glebie lekko kwaśnej (pH1), natomiast na glebie obojętnej (pH2) zmiany były sporadyczne. W przypadku gleby obojętnej stwierdzono tylko w kilku przypadkach wzrost zawartości badanych mikroelementów w roślinach testowych. W wyniku następczego działania siarki nastąpił wzrost koncentracji miedzi w łubinie, głównie w łodygach, oraz manganu i cynku w kukurydzy poplonowej uprawianej po łubinie.

Na glebie lekko kwaśnej w pierwszym roku po zastosowaniu siarki obserwowano przede wszystkim wzrost koncentracji Mn we wszystkich roślinach testowych (rys. 1). Na ogół każda kolejna dawka siarki powodowała istotny wzrost zawartości Mn w stosunku do dawki niższej. O ile w ziarnie i słomie owsa oraz w strąkach łubinu, po nawożeniu najwyższą dawką S, zawartość Mn wzrosła o około 50% , a w życie poplonowym o 80%, to w gorczycy stwierdzono już 200% wzrost zawartości tego pierwiastka w stosunku do poziomu kontrolnego. Niemniej jednak w odniesieniu do wartości 1000 mg·kg<sup>-1</sup>, tolerowanej w paszy dla bydła (USA NRC 2000), nie stwierdzono przekroczenia dopuszczalnej

koncentracji Mn w wyżej wymienionych roślinach. Jedynie w łądych łubinu mimo że wzrost koncentracji Mn wskutek zastosowania siarki wynosił tylko około 20%, to zanotowano przekroczenie dopuszczalnej zawartości tego pierwiastka, ponieważ na obiekcie kontrolnym była ona już bliska limitu paszowego.

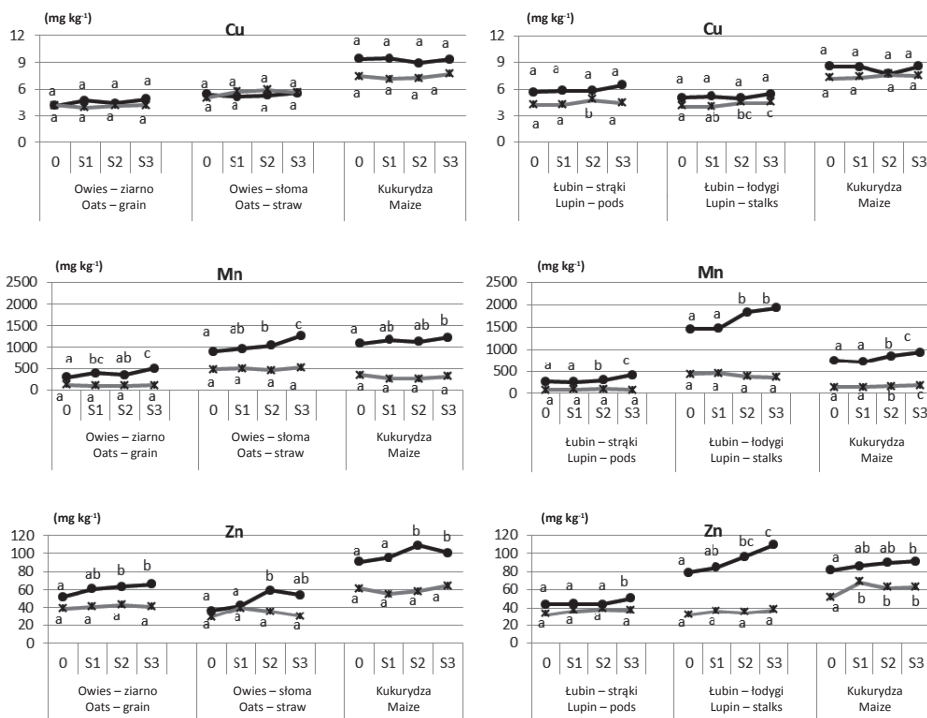


Rys. 1. Zawartość miedzi, manganu i cynku w suchej masie roślin testowych na glebie pH1 (-●-) i pH2 (-○-) w pierwszym roku po nawożeniu siarką; jednakowe litery oznaczają brak istotnych różnic między obiektami według testu Tukey'a ( $P < 0,05$ )

Fig. 1. Concentration of Cu, Mn and Zn in dry matter of test plants at pH1 (-●-) and pH2 soil (-○-) in first year after sulphur application; the same letters indicate no significant differences between treatments according to Tukey's test ( $P < 0.05$ )

W działaniu następczym siarki, w drugim roku po jej zastosowaniu, również obserwowano zwiększoną koncentrację manganu w roślinach w porównaniu z poziomem kontrolnym (rys. 2). Należy zwrócić uwagę, że tylko wyższe dawki siarki (S2 i S3) powodowały istotny wzrost zawartości Mn w roślinach, podczas gdy w pierwszym roku również dawka S1. W odniesieniu do przyjętej normy paszowej stwierdzono nadmierną zawartość manganu w łądych łubinu, słomie owsa oraz w kukurydzy uprawianej po owsie. Zawartość ta była bliska granicy normy lub ją przekraczała już na obiekcie kontrolnym, a nawożenie siarką spowodowało dalszy wzrost koncentracji Mn.





Rys. 2. Zawartość miedzi, manganu i cynku w suchej masie roślin testowych na glebie pH1 (●) i pH2 (○) w drugim roku po nawożeniu siarką; jednakowe litery oznaczają brak istotnych różnic między obiektami według testu Tukey'a (P < 0,05)

Fig. 2. Concentration of Cu, Mn and Zn in dry matter of test plants at pH1 (●) and pH2 soil (○) in second year after sulphur application; the same letters indicate no significant differences between treatments according to Tukey's test (P < 0.05)

Zawartość cynku w roślinach testowych uprawianych w pierwszym roku po nawożeniu siarką na ogół wzrastała ze wzrastającymi jej dawkami, chociaż w mniejszym stopniu niż w przypadku manganu. Podobnie El-Fatah i Khaled (2010) stwierdzili w pszenicy większy wpływ siarki na wzrost zawartości manganu, niż cynku. Według badań Gembarzewskiego i wsp. (2003) pobieranie cynku i jego toksyczność dla roślin uzależnione były od odczynu gleby, jak również od wrażliwości gatunkowej. W niniejszych badaniach wpływ siarki na zawartość Zn stwierdzono wyłącznie na glebie lekko kwaśnej. W największym stopniu reagowała gorczyca, natomiast w ziarnie owsa nie obserwowano wzrostu zawartości tego składnika.

W wyniku działania następczego siarki wszystkie rośliny testowe uprawiane na glebie pH1 gromadziły cynk w biomacie w ilości większej niż rośliny nie nawożone siarką. W słomie owsa i łodygach łubinu koncentracja Zn była odpowiednio wyższa o 50 i 38%, w nasionach owsa i strąkach łubinu o 27 i 13% wyższa. Należy podkreślić, że podwyższone zawartości Zn w roślinach nie przekraczały maksymalnego tolerowanego poziomu w paszach według normy amerykańskiej, która dla bydła wynosi 500 mg·kg<sup>-1</sup> (USA NRC 2000). Według ostrzejszej normy polskiej, która bez wyszczególniania grup zwierząt podaje poziom cynku 100 mg·kg<sup>-1</sup> jako tolerowany w paszy (Kabata-Pendias i wsp. 1993),

przekroczenia stwierdzono jedynie dla gorczycy. W kukurydzy wpływ nawożenia siarką na zawartość cynku nie był widoczny. Należy przypomnieć, że w roślinie tej nie stwierdzono również wzrostu koncentracji siarki.

Nawożenie siarką powodowało sporadyczne zmiany koncentracji miedzi w roślinach. Jedynie w strąkach łubinu oraz życie poplonowym na glebie pH1, w pierwszym roku po nawożeniu, stwierdzono 24 i 10% istotny statystycznie wzrost koncentracji Cu przy najwyższej dawce siarki. Zwiększona koncentracja tego pierwiastka była kilkakrotnie niższa w porównaniu z polskimi ( $25 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) i amerykańskimi ( $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) limitami paszowymi.

## WNIOSKI

1. Doglebowe stosowanie siarki elementarnej spowodowało wzrost koncentracji tego składnika w suchej masie roślin uprawnych w pierwszym roku po aplikacji, a także w działaniu następczym.

2. Wskutek zastosowania siarki na glebie lekko kwaśnej w badanych roślinach stwierdzono wzrost zawartości manganu oraz w mniejszym stopniu cynku, przy niewielkich zmianach zawartości miedzi. Na glebie obojętnej tylko działanie następcze siarki spowodowało sporadyczny wzrost zawartości tych pierwiastków w roślinach.

3. W łądych łubinu, słomie owsa oraz w zielonce kukurydzy zawartość manganu wzrastała powyżej poziomu  $1000 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  suchej masy, uważanego za maksymalną tolerowaną zawartość w paszy dla bydła.

4. Rośliny nawożone siarką, z wyjątkiem gorczycy białej, nie gromadziły cynku w ilościach przekraczających  $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  suchej masy przyjętych jako maksymalna tolerowana zawartość w paszy dla zwierząt.

5. Nawożąc gleby siarką, należy zachować ostrożność w przypadku przeznaczania na paszę słomy owsa, łądyg łubinu i zielonki kukurydzy, ze względu na możliwość nadmiernego nagromadzenia w nich manganu, oraz gorczycy białej gromadzącej nadmierne ilości cynku.

6. Przy nawożeniu gleby siarką pod rośliny wymagające dużych jej ilości należy mieć na uwadze możliwość nadmiernego pobierania manganu i cynku przez rośliny w uprawie następczej. Jeśli w zmianowaniu byłaby to roślina przeznaczona na paszę, to należałoby dawkę siarki odpowiednio zmniejszyć.

## PIŚMIENNICTWO

- Doleželova E., Ryan P., 2009. Effect of Farmyard Manure, Sewage Sludge and Elementary Sulphur Application on the Content of Heavy Metals in Soil and Wheat Grain. *Ecolog. Chem. Engin. A*, 16(5/6): 541–548.
- El-Fatah M.S., Khaled S.M., 2010. Influence of organic matter and different rates of sulphur and nitrogen on dry matter and mineral composition of wheat plant in new reclaimed sandy soil. *J. Amer. Sci.*, 6(11): 1078–1084.
- Filipiak K., Wilkos S., 1995. Obliczenia statystyczne. Opis systemu AWAR, Wyd. IUNG, Puławy, R(324): 35–36.

- Gajewska J., Olejnik K., Parzydeł M., Rastawicka M., Szulc W., Borkowski A., 2006. Charakterystyka morfologiczna i fizjologiczna glebowych bakterii utleniających związki siarki. Zesz. Nauk. UP Wroc., Rol. LXXXIX, 546: 65–70.
- Gembarzewski H., Stanisławska-Glubiak E., Korzeniowska J., 2003. Wpływ zakwaszenia gleby na toksyczność cynku dla roślin. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 456: 415–419.
- Kabata-Pendias A., Motowicka-Terelak T., Piotrowska M., Terelak H., Witek T., 1993. Ocena stopnia zanieczyszczenia gleb i roślin metalami ciężkimi i siarką. Ramowe wytyczne dla rolnictwa. Wyd. IUNG, Puławy.
- Kabata-Pendias A., Mukherjee A.B., 2007. Trace elements from soil to human, Springer, Berlin.
- Kabata-Pendias A., Pendias H., 2001. Trace Elements in Soils and Plants, CRC Press, BocaRaton, Fla., USA.
- Kulczycki G., 2004a. Wpływ nawożenia siarką elementarną na zawartość mikroelementów w roślinach i glebach. Część I. Cynk i miedź. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 502: 199–206.
- Kulczycki G., 2004b. Wpływ nawożenia siarką elementarną na zawartość mikroelementów w roślinach i glebach. Część II. Mangan i żelazo. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 502: 207–213.
- Lipiński W., Terelak H., Motowicka-Terelak T., 2003. Propozycja liczb granicznych zawartości siarki siarczanowej w glebach mineralnych na potrzeby doradztwa nawozowego. Roczn. Glebozn., 3: 79–84.
- Mercik S., Stępień W., Matysiak B., 2004. Mobilność i pobieranie miedzi oraz cynku przez rośliny w zależności od właściwości gleb. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 502: 235–245.
- Motowicka-Terelak T., Terelak H., 1998. Udział zasiarzania w zakwaszeniu się gleb. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln., 456: 317–321.
- Podleśna A., 2009. The effect of soil and foliar application of sulfur on the yield and mineral composition of winter oilseed rape plants. Annales UMCS, Sec. E, 64(1): 68.
- Ryant P., 2007. Effect of applications of elemental sulphur on the uptake of copper and zinc by Hybrid Perun (*Loliummultiflorum* LAM. X *Festucapragensia* HUDS.) Ecolog. Chem. Engin., 145–6, 523–531.
- USA National Research Council. Nutrient Requirements of Beef Cattle: 7th Revised Edition, 2000, The National Academies Press.
- Wróbel S., Nowak-Winiarska K. 2011. Interaction of liming and earthworm humus in detoxification of soil contaminated with excess copper. Pol. J. Environ. Stud., 20(6): 1611–1616.

## **EFFECT OF APPLYING SULPHUR TO THE SOIL ON THE CHANGES IN THE CONTENT OF MICROELEMENTS IN PLANTS INTENDED FOR ANIMAL FEED**

### **S u m m a r y**

Fertilizing fields with sulphur may result in an increased accumulation of some microelements in plants as a result of the acidifying effect of sulphur on the soil. An excessively high content of these elements may be harmful both to the plants and to animals that are fed with the plants.

The aim of the study was to examine the extent to which applying sulphur to the soil affected the accumulation of Cu, Zn and Mn in plants and whether the maximum acceptable content for animal feed was exceeded. Two 2-year pot experiments were carried out in which there were three doses of elemental sulphur used (S1=60, S2=80, S3=120 mg S · kg<sup>-1</sup>) and one control group without sulphur (0). The experiments were conducted on sandy soil with two pH levels: pH1 slightly

acidic soil and pH2 neutral soil. The effect of applying sulphur resulted mostly in an increase in the content of Mn and Zn in plants grown in the pH1 soil. There were only slight changes in the concentration of tested elements grown in the pH2 soil. The study shows that after fertilizing the soil with sulphur, caution should be taken in the potential distribution of oat stalks, lupine stalks and maize greens for animal feed because of the possibility of an excessive accumulation of Mn. White mustard can also be dangerous to animal health due to an excessive accumulation of Zn.

**KEY WORDS:** sulfur fertilization, micronutrients, concentration in plants, Cu, Zn, Mn, animal feed

**Edyta Woźniak<sup>1</sup>, Paweł Misiak<sup>1</sup>,  
Bożenna Różycka-Roszak<sup>1</sup>, Zofia Dega-Szafran<sup>2</sup>**

**ODDZIAŁYWANIA CHLORKÓW  
N-ALKOKSYKARBONYLOMETYLO-  
-N-ALKILOPIPERYDINIOWYCH Z BŁONĄ FOSFOLIPIDOWĄ  
INTERACTIONS  
OF N-ALKOXYCARBONYLMETHYL-N-ALKILPIPERIDINIUM  
CHLORIDES WITH PHOSPHOLIPID MEMBRANE**

<sup>1</sup> *Katedra Fizyki i Biofizyki, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu  
Department of Physics and Biophysics, Wrocław University of Environmental and Life  
Sciences*

<sup>2</sup> *Wydział Chemii, Uniwersytet Adama Mickiewicza w Poznaniu  
Faculty of Chemistry, Adam Mickiewicz University in Poznań*

Zbadano oddziaływania wybranej grupy chlorków N-alkoksykarbonylometylo-N-alkilopiperydyniowych z modelową błoną lipidową, przy użyciu metod skaningowej kalorymetrii różnicowej DSC oraz spektroskopii fluorescencyjnej. Badane surfaktanty tworzą dwa szeregi homologiczne. Pierwszy szereg tworzą związki P1, P2, P3 mające jeden łańcuch hydrofobowy z wiązaniem estrowym w pozycji  $\beta$ . Drugi szereg stanowią związki P4, P5 i P6 z dwoma podstawnikami hydrofobowymi przy czwartorzędowym azocie, przy czym P5 i P6 można traktować jako surfaktanty dwułańcuchowe mające długi łańcuch alifatyczny i krótki o strukturze  $-\text{CH}_2\text{COOC}_2\text{H}_5$ . Wyniki badań wskazują na płytszą lokalizację w błonie związków pierwszego szeregu niż analogicznych estrów betainy. Grupa estrowa w pozycji  $\beta$  łańcucha pochodnych piperydyniowych lokuje się prawdopodobnie w rejonie polarnych głów fosfatydylocholiny. Wcześniejsze badania micelizacji wykazały hydrofobowy charakter krótkiego łańcucha związków P5 i P6, jednak w oddziaływaniach z błoną modelową krótki łańcuch wbudowuje się w hydrofobowy rejon dwuwarstwy tylko w przypadku związku P6, o czym świadczy silny wpływ upłynniający tego związku P6 na błonę.

**SŁOWA KLUCZOWE:** surfaktanty, dezynfektanty, herbicydy, czwartorzędowe chlorki amoniowe, błona lipidowa

---

Do cytowania – For citation: Woźniak E., Misiak P., Różycka-Roszak B., Dega-Szafran Z., 2012. Oddziaływania chlorków N-alkoksykarbonylometylo-N-alkilopiperydyniowych z błoną fosfolipidową. Zesz. Nauk. UP Wroc., Rol. CIII, 589: 209–226.

## WSTĘP

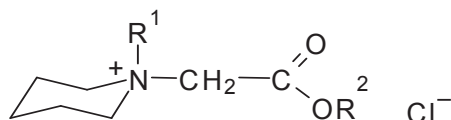
Czwartorzędowe sole amoniowe QAS (ang. *Quaternary Ammonium Salts*) stanowią najliczniejszą grupę wśród kationowych surfaktantów, o ogólnym wzorze  $R_4N^+X^-$ . Stosunkowo łatwa synteza daje bardzo duże możliwości modyfikacji podstawników R, co pozwala kształtować właściwości tych związków w zależności od potrzeb.

Ze względu na różnorodne zastosowania nie ustaje zainteresowanie tą grupą surfaktantów (Zieliński 2001). Ze względu na właściwości użytkowe takie jak: antyelektrostatyczne, antykorozyjne (Bereket, Yurt 2002, Knag i wsp. 2004), bakterio- i grzybobójcze, substancje te są stosowane jako komponenty środków piorących i myjących, antykorozyjnych, środków ochrony drewna budowlanego i preparatów dezynfekcyjnych. Są również powszechnie stosowane jako herbicydy. Pierwszą czwartorzędową solą amoniową stosowaną jako herbicyd był związek o zwyczajowej nazwie paraquat. Jego właściwości odkryto już w 1957 r., a od 1962 r. jest używany w ponad 130 krajach jako wysoce skuteczny herbicyd. Inne stosowane związki to diquat, difenzoquat, chlormequat i mepiquat (Pico i wsp. 2000). Aktywność biobójczą surfaktantów kationowych i możliwości zastosowania ich w charakterze środków dezynfekcyjnych badano już w latach trzydziestych XX w. (Domagk 1935). Dalsze badania mikrobiologiczne przeważnie wykazywały toksyczne właściwości czwartorzędowych soli amoniowych w stosunku do szerokiego spektrum mikroorganizmów, zarówno bakterii, grzybów, glonów, jak i wirusów (Hugo 1982, Sands 1986, Isomaa i wsp. 1986). Z powodu wysokiego powinowactwa do błon biologicznych surfaktanty charakteryzują się niską selektywnością i dlatego mogą również niekorzystnie wpływać na komórki wyższych organizmów.

Surfaktanty kationowe oraz zawierające je preparaty wykazują na ogół wysoką aktywność bakterio- i grzybobójczą, dlatego stosowane są jako środki dezynfekcyjne. Powszechne stosowanie czwartorzędowych soli amoniowych w charakterze dezynfektantów doprowadziło do wyselekcjonowania form mikroorganizmów opornych na te związki, co znacznie obniża skuteczność działania tych związków. Zjawisko oporności mikroorganizmów na stosowane komercyjnie czwartorzędowe sole amoniowe zostało stwierdzone i opisane już w latach osiemdziesiątych XX w. (Heinzel 1988, Russell i wsp. 1986, Sundheim i wsp. 1998). Problem ten stwarza zapotrzebowanie na nowe środki przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze o szerokim zakresie działania. Dlatego pomimo dużej liczby stosowanych surfaktantów aktywnych biologicznie syntetyzuje się wciąż i bada nowe związki (Jia i wsp. 2001, Oblak i wsp. 2001, Massi i wsp. 2003, Shao i wsp. 2004, Demberehnyamba i wsp. 2004, Jiang i wsp. 2005). Badania te mają na celu ustalenie optymalnej struktury surfaktantu kationowego, decydującej o wysokiej aktywności biobójczej.

Mechanizm oddziaływania pomiędzy surfaktantem a żywą komórką nie został do końca wyjaśniony, jednak za główny cel działania tej grupy związków powszechnie uznaje się lipidową dwuwarstwą błony komórkowej. Badania wpływu QAS na modelowe błony fosfolipidowe (liposomy, monowarstwy lipidowe, czarne błony lipidowe) dowiodły, że oddziaływanie z błonami biologicznymi związane jest z wbudowywaniem się łańcuchów hydrofobowych w głąb dwuwarstwy lipidowej i elektrycznymi oddziaływaniami pomiędzy naładowanymi i polarnymi głowami. Właściwości te sugerują, że toksyczne działanie długołańcuchowych QAS jest wynikiem ich zdolności do zaburzania struktury i funkcji błony komórkowej, czego następstwem może być śmierć komórki.

Celem ogólnym podjętej przez nas pracy było wyjaśnienie molekularnego mechanizmu oddziaływania chlorków N-alkoksykarbonylometylo-N-alkilopiperidyniowych (rys. 1, tab. 1) z błoną modelową oraz określenie roli elementów struktury badanych związków w tych oddziaływaniach. Wcześniejsze badania tych związków umożliwiły określenie wpływu poszczególnych elementów struktury związków, tzn. obecności pierścienia piperidyniowego i podstawników alifatycznych o różnej długości przy czwartorzędowym azocie, na ich aktywność biologiczną (Woźniak i wsp. 2004) i właściwości agregacyjne (Różycka-Roszak i wsp. 2008). Dotychczas związki z czwartorzędowym azotem w pierścieniu piperidyniowym nie były stosowane w środkach dezynfekcyjnych, brak też doniesień w literaturze na temat ich oddziaływania z błonami modelowymi. Jednym ze związków celowo wybranych do niniejszych badań był kationowy związek (P4) amfifilowy z grupą piperidyniową nieposiadający dwóch podstawników alifatycznych uważanych za hydrofobowe, który nie tworzy układów micelarnych. Można jednak przypuszczać, że fragment piperidyniowy (zawierający pięć grup metylenowych w pierścieniu) może oddziaływać z błoną fosfolipidową. Surfaktanty zostały również wybrane ze względu na obecność grupy estrowej w pozycji β w jednym z podstawników alifatycznych przy atomie azotu. Grupę estrową w łańcuchu cechuje duża aktywność biologiczna (Fiscaro i wsp. 2005) i zdolność do hydrolizy (Lindstedt i wsp. 1990). Dlatego surfaktanty posiadające ten element struktury nie kumulują się w środowisku.



Rys. 1. Ogólna struktura chemiczna badanych związków  
 Fig. 1. General chemical structure of the studied compounds

Tabela 1  
 Table 1

Struktura i oznaczenia badanych czwartorzędowych chlorków amoniowych  
 The structure of the studied quaternary ammonium chlorides

Symbol		R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	Nazwa związku – Chemical name
P1	1. szereg homologiczny 1st homologous series	CH <sub>3</sub>	C <sub>8</sub> H <sub>17</sub>	chlerek N-(n-oktyloksykarbonylometylo)-N-metylopiperidyniowy N-(n-octyloxycarbonylmethyl)-N-methylpiperidinium chloride
P2		CH <sub>3</sub>	C <sub>10</sub> H <sub>21</sub>	chlerek N-(n-decyloksykarbonylometylo)-N-metylopiperidyniowy N-(n-decyloxycarbonylmethyl)-N-methylpiperidinium chloride
P3		CH <sub>3</sub>	C <sub>12</sub> H <sub>25</sub>	chlerek N-(n-dodecyloksykarbonylometylo)-N-metylopiperidyniowy N-(n-dodecyloxycarbonylmethyl)-N-methylpiperidinium chloride
P4	2. szereg homologiczny 2nd homologous series	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	chlerek N-etoksykarbonylometylo-N-etylopiperidyniowy N-ethoxycarbonylmethyl-N-ethylpiperidinium chloride
P5		C <sub>8</sub> H <sub>17</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	chlerek N-etoksykarbonylometylo-N-(n-oktylo)piperidyniowy N-octyloxycarbonylmethyl-N-ethylpiperidinium chloride
P6		C <sub>12</sub> H <sub>25</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	chlerek N-etoksykarbonylometylo-N-(n-dodecylo)piperidyniowy N-dodecyloxycarbonylmethyl-N-ethylpiperidinium chloride



## MATERIAŁ I METODY

### MATERIAL

Badane chlorki N-alkoksykarbonylometylo-N-alkilopiperdydniowe zsyntetyzowano na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu i opisano w literaturze (Dega-Szafran i wsp. 1999, 2001a, b). Liposomy wielowarstwowe formowano z 1,2-dipalmito-3-glicero-3-fosfatydylocholino (DPPC), Sigma-Aldrich Chemie, Niemcy. W pomiarach fluorescencyjnych zastosowano następujące znaczniki fluorescencyjne:

- DPH (1,6-difenylo-1, 3, 5-heksatrien), Sigma, USA;
- TMA-DPH (1-(4-trimetyloamoniocyfeno)-6-fenylo-1, 3, 5-heksatrien), Sigma, USA;
- NPN (N-fenylo-1-naftyloamina), Sigma, USA.

Zastosowano rozpuszczalniki organiczne klasy cz.d.a. We wszystkich eksperymentach używano wody dwukrotnie destylowanej. Do odparowywania chloroformu używano azotu o czystości 99,9995% (BOC Gazy, Polska).

### METODY

#### Różnicowa kalorymetria skaningowa (DSC)

##### *Przejścia fazowe DPPC*

Różnicowa kalorymetria skaningowa jest metodą umożliwiającą obserwację przejść fazowych modelowej błony fosfolipidowej i pomiar parametrów termodynamicznych związanych z wywołanymi termicznie przejściami fazowymi (zob. np. Koyanova i Caffrey 1998). Fosfolipidy w dwuwarstwie wykazują polimorfizm temperaturowy, czyli ulegają przemianom fazowym wraz ze zmianą temperatury. W dwuwarstwie utworzonej z DPPC, zawierającej powyżej 40% wagowych wody, w wyniku wzrostu temperatury pojawiają się kolejno następujące fazy: faza krystaliczna  $L_C$ , faza żelu  $L_{\beta}$ , faza żelu  $P_{\beta}$ , faza ciekłokrystaliczna  $L_{\alpha}$ . W związku z tym na termogramie uzyskanym w pomiarach DSC można obserwować trzy charakterystyczne piki, odpowiadające przejściom fazowym: podprzejście ( $L_C \rightarrow L_{\beta}$ , temperatura ok. 25°C), przedprzejście ( $L_{\beta} \rightarrow P_{\beta}$ , temperatura ok. 35°C), główne przejście fazowe ( $P_{\beta} \rightarrow L_{\alpha}$ , temperatura ok. 41,3°C).

Zmiany w kształcie piku wywołane obecnością surfaktantu dostarczają informacji o charakterze oddziaływań surfaktantów z fosfolipidami. Pomiar DSC pozwala wyznaczyć następujące wielkości: zmianę entalpii przemiany fazowej ( $\Delta H_m$ ), która jest proporcjonalna do powierzchni pod pikiem; temperaturę przemiany fazowej ( $T_m$ ), odpowiadającą maksimum piku; szerokość połówkową piku ( $\Delta T_{1/2}$ ), która jest miarą kooperatywności przejścia fazowego. Przemiany fazowe błon modelowych utworzonych z jednego rodzaju fosfolipidu są przemianami wysoce kooperatywnymi, tzn. że podlegają im wszystkie cząsteczki lipidu w tym samym czasie.

##### *Przygotowanie próbek*

Próbki do pomiarów DSC stanowiły wielowarstwowe liposomy (MLV) uformowane z DPPC. Błony liposomowe były modyfikowane kolejno badanymi surfaktantami, tak aby dla każdego związku otrzymać serię próbek o różnych stosunkach molowych związku i DPPC. Do roztworu fosfatydylocholino w chloroformie dodawano chloroformowy



roztwór związku o znanym stężeniu. Objętość roztworu była tak dobrana, aby w próbce uzyskać zamierzony stosunek molowy surfaktant:lipid ( $n_x/n_{\text{DPPC}}$ ). Wpływ związków na błony modelowe badano w zakresie stosunków molowych 0,03–0,55. Chloroform odparowywano pod strumieniem azotu, a następnie przez co najmniej 2 godziny suszono próbki pod próżnią. Do powstałego w ten sposób mieszanego filmu DPPC z badanym związkiem dodawano odpowiednią ilość wody. Po tym następowało formowanie liposomów przez intensywne wytrząsanie próbek ogrzanych do temperatury około 60°C. W tak przygotowanych próbkach stężenie DPPC wynosiło 25 mg/ml. Próbkę wzorcową stanowiła czysta lecytyna. Następnie wodną dyspersję DPPC z danym związkiem zamykano szczelnie w aluminiowym naczynku pomiarowym o objętości 40  $\mu\text{l}$ . Pomiarów wykonywano po uprzedniej, pięciodniowej inkubacji próbek w temperaturze około 5°C. Każdą serię przygotowania próbek i pomiarów DSC wykonano co najmniej dwukrotnie. Pomiarów DSC wykonano przy użyciu kalorymetru firmy Mettler Toledo Thermal Analysis System D.S.C. 821<sup>e</sup> z prędkością skanowania 2°C/min. Takie same rezultaty otrzymano przy prędkości 0,5°C/min. Pracą kalorymetru, zbiorem i opracowaniem danych kalorymetrycznych sterowało oprogramowanie STARe v.6.1 firmy Mettler Toledo.

### Spektroskopia fluorescencyjna

#### *Wygaszanie fluorescencji*

Wygaszanie fluorescencji, niezależnie od jego mechanizmu, może zajść wyłącznie w wyniku kontaktu między fluoroforem a wygaszaczem. Dlatego wygaszanie fluorescencji znaczników wbudowanych w określony rejon dwuwarstwy lipidowej przez różne substancje może dostarczać informacji o ich charakterze i lokalizacji w błonie. Użyte znaczniki fluorescencyjne lokują się w różnych rejonach błony fosfolipidowej. DPH lokuje się w hydrofobowym rdzeniu dwuwarstwy lipidowej. TMA-DPH, ponieważ ma budowę amfifilową, lokuje się zarówno w warstwie powierzchniowej, jak i hydrofobowej. NPN jest hydrofobowym związkiem lokującym się w pobliżu regionu estrowo-karbonyłowego łańcuchów acylowych DPPC.

Widma emisyjne DPH i TMA-DPH rejestrowano w zakresie 380–600 nm, zaś widma emisyjne NPN w zakresie 360–580 nm. Stosunek  $F_0/F$  obliczano dla natężenia fluorescencji przy  $\lambda_{\text{max}}$  – długości fali światła odpowiadająca maksimum natężenia fluorescencji, gdzie  $F_0$  – natężenie fluorescencji bez wygaszacza,  $F$  – natężenie fluorescencji w obecności wygaszacza.

#### *Anizotropia fluorescencji*

Anizotropia fluorescencji ( $A$ ) zdefiniowana jest następująco (Lakowicz 1983):

$$A = (I_{\parallel} - I_{\perp}) / (I_{\parallel} + 2I_{\perp}) \quad (1)$$

gdzie:  $I_{\parallel}$  – natężenie światła przechodzącego przez analizator zorientowany równolegle do kierunku polaryzacji światła w wiązce wzbudzającej;  $I_{\perp}$  – natężenie światła przechodzącego przez analizator zorientowany prostopadle do kierunku polaryzacji światła w wiązce wzbudzającej.

W środowisku nieograniczającym ruchliwości znacznika fluorescencyjnego anizotropia jest równa zero. Natomiast w ośrodku ograniczającym ruchliwość znacznika, takim

jak dwuwarstwa lipidowa, anizotropia fluorescencji ma wartość różną od zera. Dlatego stosowanie fluoroforów lokujących się w różnych rejonach dwuwarstwy umożliwia określenie stopnia uporządkowania w różnych obszarach błony.

W przeprowadzonych eksperymentach długość fali emisji ( $\lambda_{em}$ ) DPH wynosiła 452 nm, dla TMA-DPH 430 nm, a dla NPN 420 nm. Anizotropia fluorescencji zgodnie ze wzorem z uwzględnieniem aparaturowego czynnika korekcyjnego ( $G$ ) była liczona przez program sterujący fluorymetrem.

$$A = (I_{\parallel} - GI_{\perp}) / (I_{\parallel} + 2GI_{\perp}) \quad (2)$$

Pomiary metodą spektroskopii fluorescencyjnej przeprowadzono przy użyciu spektrofluorymetru LS 50B firmy Perkin-Elmer, USA. Szerokość szczeliny wejściowej i wyjściowej monochromatora wynosiła 5 nm. Pracą fluorymetru, zbiorem i analizą danych eksperymentalnych sterował program FL WinLab 4.00.02 (Perkin-Elmer, USA).

#### *Przygotowanie próbek*

Do roztworu fosfatydylocholino w chloroformie dodawano chloroformowy roztwór badanego związku o określonym stężeniu, aby uzyskać serię próbek o zamierzonym stosunku molowym surfaktant:lipid w zakresie 0,03–0,55. Następnie chloroform odparowywano pod strumieniem azotu, po czym próbki suszono pod próżnią przez co najmniej dwie godziny. Do powstałego w ten sposób mieszanego filmu lecytyny z badanym związkiem dodawano odpowiednią ilość wody. Następnie formowano liposomy przez sonifikację, dodawano roztwór znacznika fluorescencyjnego i inkubowano w ciemności w temperaturze pokojowej przez około 30 minut.

Roztwory znaczników fluorescencyjnych o stężeniu 1 mM sporządzono w DMSO w przypadku TMA-DPH i NPN, a w tetrahydrofuranie w przypadku DPH. We wszystkich próbkach końcowe stężenie lipidu wynosiło 200  $\mu$ M, a znacznika 5  $\mu$ M. Długość fali wzbudzenia ( $\lambda_{ex}$ ) DPH wynosiła 350 nm, TMA-DPH – 355 nm, a NPN – 330 nm.

#### **Obliczenia modelowe**

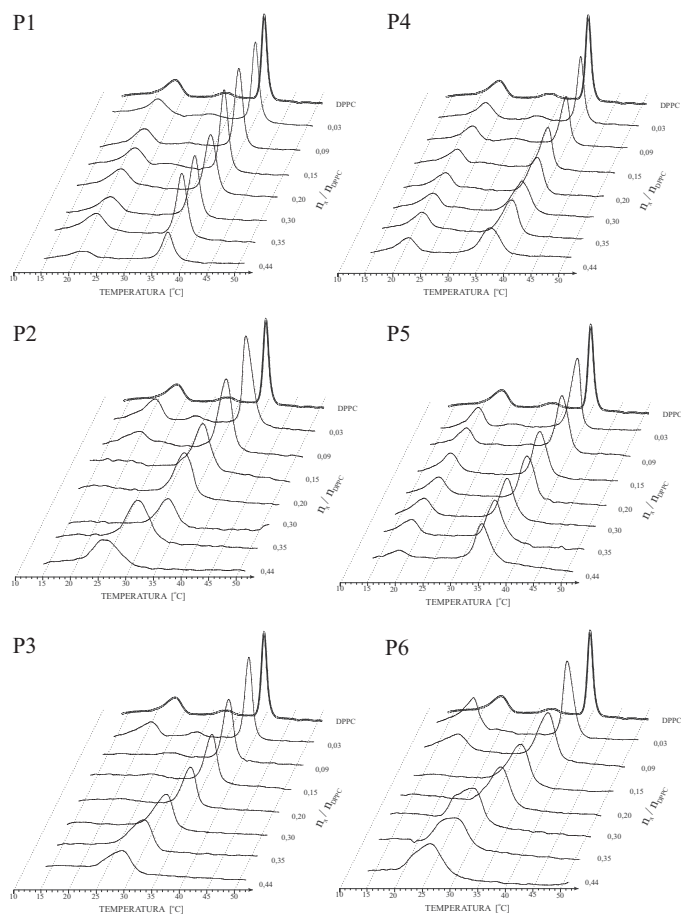
Modele molekuł P6 i DPPC zbudowano za pomocą oprogramowania Materials Studio 6.0 (Accelrys Software Inc., USA). Optymalizację geometrii każdej z molekuł wykonano w module do półempirycznych obliczeń kwantowo chemicznych VAMP przy użyciu modelu PM6. Następnie umieszczono cząsteczkę P6 w otoczeniu sześciu cząsteczek DPPC, modelujących fragment błony lipidowej, w pozycji zbliżonej do proponowanej lokalizacji P6 w błonie. Geometrię takiego układu zoptymalizowano metodą mechaniki molekularnej w module Forcite Plus przy użyciu uniwersalnego pola siłowego COMPASS.

## WYNIKI

#### **Badania kalorymetryczne**

Na rysunku 2 przedstawiono krzywe DSC liposomów modyfikowanych badanymi czwartorzędowymi chlorkami amoniowymi P1–P6. Wszystkie związki powodują przesunięcie piku głównego przejścia fazowego w kierunku niższych temperatur. Jest ono jednak zachowane nawet dla bardzo wysokich stosunków molowych surfaktantu do lipidu. Pod

wpływem badanych związków, wraz ze wzrostem ich stężenia, piki stają się coraz bardziej nieostre, powiększa się znacząco ich szerokość połówkowa  $\Delta T_{1/2}$ . Wzrost szerokości połówkowej towarzyszący wzrostowi stężenia surfaktantu świadczy o tym, że wszystkie badane sole powodują obniżenie kooperatywności głównego przejścia fazowego. Najsilniejszy spadek kooperatywności głównej przemiany fazowej obserwowany jest dla związku P6. Związek ten również w porównaniu z pozostałymi surfaktantami wywiera najsilniejszy wpływ na kształt piku głównej przemiany fazowej. Przy stosunkach molowych  $n_{P6}/n_{DPPC} = 0,3; 0,35$  i  $0,44$  pik staje się wyraźnie asymetryczny. Pozostałe związki wraz ze wzrostem stężenia w błonie powodują poszerzenie piku i przesunięcie go w kierunku niższych temperatur, jednak kształt piku pozostaje raczej symetryczny. Temperatura głównego przejścia fazowego  $T_m$  maleje po dodaniu badanych chlorków. Porównując zmiany  $T_m$  (tab. 2) wywołane przez badane surfaktanty, można stwierdzić, że związek P6 obniża  $T_m$  w największym stopniu. Po niej znaczący wpływ obserwuje się kolejno dla związków P3, P2 i P5. Można zauważyć, że surfaktanty P1 i P4 w najmniejszym stopniu i podobnie obniżają temperaturę głównego przejścia fazowego.



Rys. 2. Termogramy DSC ukazujące wpływ związków P1–P6 na przejścia fazowe DPPC  
 Fig. 2. DSC thermograms showing the influence of compounds P1–P6 on the phase transitions of DPPC membrane

Tabela 2  
Table 2

Wielkości  $T_m$  (°C),  $\Delta H_m$  (kJ·mol<sup>-1</sup>) i  $\Delta T_{1/2}$  (°C)  
dla liposomów DPPC modyfikowanych badanymi związkami  
The values of  $T_m$  (°C),  $\Delta H_m$  (kJ·mol<sup>-1</sup>) and  $\Delta T_{1/2}$  (°C)  
for liposomes of DPPC modified with the studied compounds

$n_x/n_{\text{DPPC}}$		P1	P2	P3	P4	P5	P6
0,03	$T_m$	40,9	39,7	39,4	40,8	39,7	39,1
	$\Delta H_m$	41,9	47,8	46,1	37,3	56,1	39,2
	$\Delta T_{1/2}$	1,5	1,7	1,6	1,4	2,1	2,2
0,09	$T_m$	40,2	37,4	37,7	40,7	39,6	37,4
	$\Delta H_m$	43,0	51,7	59,6	35,8	53,0	36,9
	$\Delta T_{1/2}$	1,8	2,5	2,2	1,9	2,6	3,6
0,15	$T_m$	39,5	35,4	36,3	39,6	37,7	34,0
	$\Delta H_m$	44,4	39,2	45,7	36,4	51,7	35,8
	$\Delta T_{1/2}$	1,8	3,1	2,5	2,3	3,0	4,1
0,20	$T_m$	39,1	34,1	35,5	39,4	37,5	32,9
	$\Delta H_m$	41,9	38,3	45,9	39,4	53,1	35,1
	$\Delta T_{1/2}$	2,1	3,4	2,9	3,1	3,0	4,2
0,30	$T_m$	38,3	33,0	32,7	38,7	35,8	29,7
	$\Delta H_m$	41,7	36,1	45,9	41,4	49,2	39,9
	$\Delta T_{1/2}$	2,3	3,4	3,8	3,2	3,0	6,0
0,35	$T_m$	37,9	32,2	30,4	38,6	35,0	28,6
	$\Delta H_m$	32,6	34,7	43,5	41,9	51,6	39,2
	$\Delta T_{1/2}$	2,4	4,3	4,5	3,3	3,2	6,0
0,44	$T_m$	37,4	31,7	28,5	38,4	34,6	28,5
	$\Delta H_m$	29,5	32,2	32,3	33,4	45,0	38,3
	$\Delta T_{1/2}$	2,5	4,9	4,7	3,5	3,4	6,2

Badane sole wywołują również zmiany entalpii głównego przejścia fazowego. Wszystkie związki powodują znaczne zwiększenie entalpii przy najmniejszym badanym stosunku  $n_x/n_{\text{DPPC}} = 0,03$  (tab. 2). Jedynie związek P5 powoduje wzrost entalpii we wszystkich stosowanych stężeniach. Surfaktant P1 zwiększa entalpię w zakresie wartości stosunków 0,03–0,3, a przy wyższych stężeniach nieznacznie obniża entalpię. Związek P4 przy małych stężeniach praktycznie nie wpływa na entalpię głównej przemiany fazowej, biorąc pod uwagę niepewność pomiaru ( $\pm 1$  kJ/mol, tab. 2), z kolei przy  $n_{\text{P4}}/n_{\text{DPPC}} = 0,2; 0,3$  i  $0,35$  w niewielkim stopniu podwyższa. Natomiast dopiero przy najwyższym zastosowanym stężeniu powoduje nieznaczny spadek wartości entalpii. Związek P2 zwiększa entalpię w zakresie stosunków 0,03–0,2. Przy wyższych stosunkach powoduje niewielkie obniżenie wartości entalpii głównej przemiany fazowej. Surfaktant P3 podwyższa znacząco entalpię w całym zakresie stężeń, z wyjątkiem najwyższego ( $n_x/n_{\text{DPPC}} = 0,44$ ), obserwuje się wtedy niewielki spadek wartości. Wydaje się, że związek P6 w najmniejszym stopniu wpływa na wartość entalpii. Widoczny jest nieznaczny spadek przy niższych stężeniach, a przy wyższych niewielki wzrost.

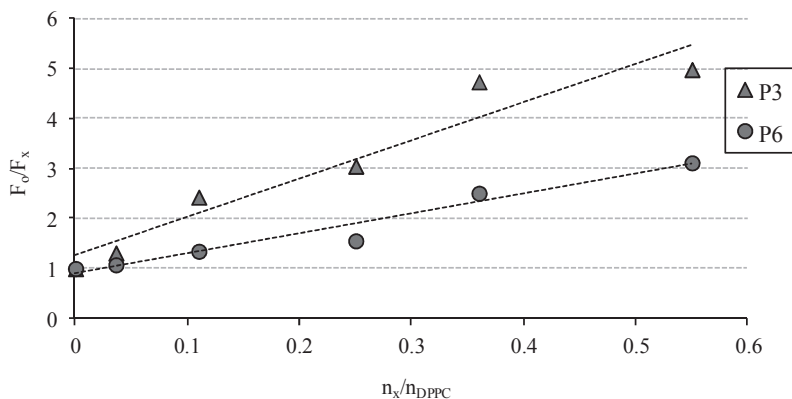
Badane surfaktanty również wywołują zmiany w pozostałych przejściach fazowych DPPC. Przedprzejście zanika już przy niewielkich stężeniach związków w błonie – w przypadku związku P6 już przy najmniejszym użytym stężeniu. Analizując kształt

krzywych DSC dla pozostałych substancji, przedprzejsie można obserwować wyłącznie przy najniższych stężeniach surfaktantów. Pik ten jednak ulega znacznemu poszerzeniu i przesunięciu w rejony niższych temperatur.

Związki P1, P4 i P5 w bardzo niewielkim stopniu wpływają na podprzejsie. Termogramy prezentują pik tej przemiany fazowej w całym zakresie stosowanych stężeń. Piki ulegają jedynie niewielkiemu poszerzeniu i równie nieznacznemu przesunięciu w stronę niższych temperatur wraz ze wzrostem stężenia surfaktantu. Natomiast najszybciej znika pik podprzejsia w przypadku związku P3. Można go tylko obserwować przy najniższym stosunku molowym  $n_3/n_{DPPC} = 0,03$ . Krzywe DSC surfaktantów P2 i P6 prezentują podprzejsie tylko dla  $n_x/n_{DPPC} = 0,03$  i  $0,09$ .

### Badania fluorymetryczne

Badane związki w zakresie stosowanych stężeń nie zmieniają w znaczącym stopniu fluorescencji znacznika NPN wbudowanego w błonę DPPC. Natomiast w przypadku surfaktantów P4 i P5 można obserwować istotny wzrost natężenia fluorescencji DPH. Dla pozostałych związków zmiany natężenia fluorescencji DPH nie przekraczają niepewności pomiaru. Natomiast związki P3 i P6 silnie wygaszają fluorescencję znacznika TMA-DPH. Efekt ten zależy od stężenia surfaktantu w układzie – im większe stężenie związku, tym mniejszy poziom fluorescencji. Wykresy Sterna-Volmera dla omawianych związków przedstawia rysunek 3. Zależność  $F_0/F_x$  od stężenia obu surfaktantów w przybliżeniu ma charakter liniowy. Badane związki nie powodują również istotnych zmian  $\lambda_{max}$  widm wszystkich użytych znaczników fluorescencyjnych.



Rys. 3. Zależność wygaszania fluorescencji TMA-DPH  $F_0/F_x$  od  $n_x/n_{DPPC}$  (wykres Sterna-Volmera) dla związków P3 i P6

Fig. 3. Dependence of the fluorescence quenching of TMA-DPH  $F_0/F_x$  on  $n_x/n_{DPPC}$  (Stern-Volmer graph) for compounds P3 and P6

Pomiar anizotropii, będącej miarą uporządkowania układu, wykonano w odniesieniu do próbki kontrolnej, czyli błony liposomowej DPPC niemodyfikowanej surfaktantami. Wynik został wyrażony jako względna wartość anizotropii według równania 3. W tabelach 3, 4 i 5 prezentowane są względne zmiany procentowe anizotropii fluorescencji DPH, TMA-DPH i NPN.

$$A = A_i/A_k - 1 \quad (3)$$

gdzie:  $A_k$  – pomiar anizotropii dla liposomów z czystej DPPC,  $A_i$  – pomiar anizotropii dla liposomów modyfikowanych surfaktantami.

Tabela 3

Table 3

Procentowa względna zmiana anizotropii fluorescencji DPH ((pomiar – kontrola)/kontrola)  
w zależności od  $n_x/n_{DPPC}$   
Relative change in the fluorescence anisotropy of DPH ((sample – control)/control),  
depending on  $n_x/n_{DPPC}$

$n_x/n_{DPPC}$	P1	P2	P3	P4	P5	P6
0,036	1%	-1%	5%	-2%	2%	4%
0,11	-1%	-5%	6%	-1%	2%	4%
0,25	0%	-4%	5%	-1%	0%	-4%
0,36	-1%	-2%	2%	2%	2%	3%
0,55	-1%	-4%	1%	1%	-1%	1%

Tabela 4

Table 4

Procentowa względna zmiana anizotropii fluorescencji TMA-DPH ((pomiar – kontrola)/kontrola)  
w zależności od  $n_x/n_{DPPC}$   
Relative change in the fluorescence anisotropy of TMA-DPH ((sample – control)/control),  
depending on  $n_x/n_{DPPC}$

$n_x/n_{DPPC}$	P1	P2	P3	P4	P5	P6
0,036	2%	0%	3%	-2%	3%	5%
0,11	0%	-3%	2%	-2%	4%	4%
0,25	0%	-2%	2%	-1%	4%	2%
0,36	-1%	-1%	1%	0%	3%	-1%
0,55	-2%	-3%	0%	0%	0%	-1%

Tabela 5

Table 5

Procentowa względna zmiana anizotropii fluorescencji NPN ((pomiar – kontrola)/kontrola)  
w zależności od  $n_x/n_{DPPC}$   
Relative change in the fluorescence anisotropy of NPN ((sample – control)/control),  
depending on  $n_x/n_{DPPC}$

$n_x/n_{DPPC}$	P1	P2	P3	P4	P5	P6
0,036	-6%	-4%	-18%	-3%	3%	8%
0,11	17%	-16%	-23%	-3%	4%	-22%
0,25	-1%	-12%	-27%	-2%	5%	-25%
0,36	4%	-19%	-30%	-2%	7%	-28%
0,55	-1%	-22%	-23%	4%	2%	-31%

Dodatnia względna wartość  $A$  świadczy o wzroście anizotropii w stosunku do anizotropii próbki kontrolnej (liposomy bez surfaktantów), a zatem informuje o wzroście uporządkowania ośrodka. Świadczy o tym, że błona wykazuje tendencje do usztywnienia. Ujemna wartość oznacza wzrost płynności. Niepewność pomiaru względnej wartości  $A$  nie przekraczała 10%.

Wszystkie związki w zakresie stosowanych stężeń spowodowały zmiany anizotropii DPH i TMA-DPH mieszczące się w granicach niepewności pomiaru. Istotne zmiany anizotropii fluorescencji NPN spowodowane są obecnością w błonie związków P2, P3 i P6. Dla pozostałych związków zmiany te, jak i dla pozostałych znaczników, mieszczą się w granicach niepewności pomiaru.

## DYSKUSJA I WNIOSKI

### Pierwszy szereg homologiczny: związki P1–P3

Z wcześniejszych badań wynikało (Różycka-Roszak i wsp. 2008), że w procesie micelizacji związki P1, P2 i P3, pochodne estrów betainy o wzorze  $(\text{CH}_3)_3\text{N}^+\text{CH}_2\text{COOC}_n\text{H}_{2n+1}\text{Cl}^-$  (V-n) oraz chlorki n-alkilotrimetyloamoniowe ( $\text{C}_n\text{TAC}$ ) z łańcuchem dłuższym o dwie grupy metylenowe niż odpowiednie związki V-n zachowują się podobnie. Dlatego można było przypuszczać, że związki te będą również w podobny sposób oddziaływać z błoną modelową. Tymczasem V-10 wywiera znacznie silniejszy wpływ na przejścia fazowe DPPC niż  $\text{C}_{12}\text{TAC}$ . Związek V-10 likwiduje główne przejście fazowe już przy stosunku molowym 0,1 (Przestalski i wsp. 1986). Natomiast całkowite rozmycie pików w przypadku błony DPPC modyfikowanej  $\text{C}_{12}\text{TAC}$  można obserwować dopiero przy stosunku molowym 0,6 (Różycka-Roszak, Pruchnik 2000a). Związek V-10 różni się od  $\text{C}_{12}\text{TAC}$  jedynie obecnością grupy estrowej w pozycji  $\beta$ . Zatem porównanie wpływu na błonę modelową związków V-10 i  $\text{C}_{12}\text{TAC}$  pozwala wnioskować o lokalizacji grupy estrowej w hydrofobowym rejonie błony. Silnie upłynniające działanie związków betainowych można przypisać obecności grupy estrowej. Może to wskazywać, że grupa karbonylowa związków V-n znajduje się prawdopodobnie w pobliżu grupy karbonylowej fosfatydylocholiny i oddziaływanie odpychające między nimi powodują znaczne rozluźnienie struktury błony. Powyższa lokalizacja grupy estrowej została również zasugerowana na podstawie badań metodą znaczników spinowych EPR (Subczyński i wsp. 1988). Podobny wniosek wynika również z innych badań (Lindstedt i wsp. 1990), na podstawie których zaproponowano lokalizację grupy trimetyloamoniowej związków betainowych w rejonie polarnym błony i jej elektrostatyczne oddziaływanie z grupami fosforanowymi lipidów.

Badane związki piperdydyniowe różnią się od związków V-n jedynie częścią hydrofilową. Jednak ich wpływ na błonę jest znacząco słabszy od odpowiednich estrów betainy. Na przykład V-8 powoduje zanik głównej przemiany fazowej przy stosunku molowym 0,5. Natomiast jego piperdydyniowy odpowiednik (P1) oraz pozostałe związki piperdydyniowe nie powodują zaniku głównej przemiany fazowej w całym zakresie stosowanych stężeń surfaktantu. Może to wskazywać na płytszą lokalizację omawianych surfaktantów w błonie. Duża grupa piperdydyniowa najprawdopodobniej utrudnia głębsze wbudowywanie się surfaktantów w rejon hydrofobowy dwuwarstwy. Przypuszczalnie grupa estrowa soli piperdydyniowych lokuje się w rejonie głów polarnych bądź pozostaje na powierzchni błony fosfolipidowej, o czym może świadczyć wzrost entalpii głównej przemiany fazowej.

Pośród związków piperdydyniowych pierwszego szeregu homologicznego związek P1 wywiera najmniejszy wpływ na temperaturę głównego przejścia fazowego. Związek ten nie zaburza również struktury błony w fazie żelu, o czym świadczy zachowany pik podprzejścia, oraz nie wykazuje wpływu na parametry fluorescencyjne zastosowanych znaczników. Prawdopodobnie P1 nie wbudowuje się w błonę lub wbudowuje się nie-



znacznie, podobnie jak V-6 – związek o łańcuchu krótszym o dwie grupy metylenowe (Przestalski i wsp. 1986).

Surfaktanty P2 i P3, które można traktować jako analogi mające łańcuch alkilowy o tej samej długości co związki V-10 i V-12, obniżają temperaturę głównej przemiany fazowej bardziej niż P1; przy czym P3 silniej niż P2. W przypadku związków beta-inowych było odwrotnie. V-10 silniej upłynniał błonę niż V-12. W fazie żelu obserwowano intensywne wygaszanie fluorescencji TMA-DPH przez związek P3, czemu nie towarzyszyła zmiana anizotropii. Natomiast intensywność fluorescencji DPH oraz anizotropia pozostawały niezmienione, a w przypadku znacznika NPN obserwowano się obniżenie anizotropii, ale bez wygaszania fluorescencji. Anizotropia fluorescencji DPH, znacznika lokującego się w głębokim, hydrofobowym rejonie błony, zależy od molekularnego uporządkowania dwuwarstwy, w którą znacznik jest wbudowany (Kaiser, London 1998). Spadek anizotropii tłumaczy się zazwyczaj zwiększeniem ruchliwości cząsteczek znacznika, co jest wynikiem upłynnienia błony. Jednak P3, pomimo najdłuższego łańcucha hydrofobowego spośród badanych surfaktantów, nie zmienia parametrów fluorescencji DPH. Prawdopodobnie związek ten nie jest dostatecznie głęboko wbudowany w błonę, żeby zmieniać stopień molekularnego uporządkowania hydrofobowego otoczenia DPH. Natomiast wpływ upłynniający, o czym świadczy spadek anizotropii, można obserwować w przypadku NPN, znacznika lokującego się bliżej powierzchni błony niż DPH. Ponieważ natężenie fluorescencji NPN gwałtownie spada w środowisku polarnym, dlatego wydaje się, że P3 nie powoduje dostatecznego rozluźnienia w rejonie polarnych głów błony, co umożliwiłoby na przykład wzmoczoną penetrację wody do wnętrza błony i spowodowało wygaszanie fluorescencji. Podobny wpływ na parametry fluorescencji NPN wykazuje związek P2. Oba surfaktanty również podobnie wpływają na temperaturę głównego przejścia fazowego DPPC. Jednak związek P2, przeciwnie niż P3, nie wygasa fluorescencji TMA-DPH – znacznika, który częściowo lokuje się w strefie polarnej błony. Efekt ten można przypisać proponowanej wcześniej lokalizacji grupy estrowej P3 w rejonie polarnym błony. W związku z tym grupa estrowa może również oddziaływać elektrostatycznie z grupą trimetyloamoniową TMA-DPH i w konsekwencji ułatwia kontakt fluoroforu z wygaszaczem. Dlatego brak wygaszania fluorescencji TMA-DPH przez P2 może również potwierdzać sugerowaną wcześniej płytszą lokalizację grupy estrowej tego związku w błonie. Omawiane surfaktanty nie powodują zmian anizotropii. Przypuszczalnie efekt upłynnienia w hydrofobowym rejonie dwuwarstwy, który obserwuje się w otoczeniu NPN (bliżej polarnej powierzchni błony), może być zniwelowany przez obecność w łańcuchu surfaktantu wiązania estrowego i oddziaływaniami stabilizującymi tej grupy w rejonie polarnym błony.

W obrębie badanej grupy związków piperidyniowych maksimum aktywności ulega przesunięciu w kierunku dłuższego łańcucha w porównaniu z szeregiem homologicznym estrów betainy, co jest zgodne z sugestią o innej lokalizacji w błonie grupy estrowej. Dla związku P3 obserwuje się najsilniejsze oddziaływania w strefie powierzchniowej dwuwarstwy (najsilniejszy wzrost entalpii spośród związków w pierwszej serii homologicznej) oraz w rejonie hydrofobowym (najsilniejszy spadek temperatury głównej przemiany fazowej). Związek ten jest przypuszczalnie najgłębiej wbudowany w błonę, ponieważ ma najdłuższy łańcuch acylowy, a grupa estrowa jest ulokowana w rejonie polarnym, gdzie oddziałuje z głowami polarnymi fosfatydylocholiny.

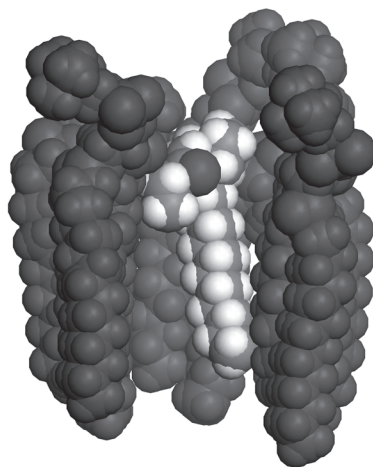


**Drugi szereg homologiczny: związki P4–P6**

Związek P4 nie tworzy micel i prawdopodobnie nie wbudowuje się w dwuwarstwę. Można sądzić że, jego działanie ogranicza do powierzchni błony, o czym może świadczyć wzrost entalpii przy niewielkim wpływie na temperaturę głównej przemiany fazowej.

P5 wywiera istotny wpływ na temperaturę głównej przemiany fazowej, co może sugerować, że wbudowuje się w dwuwarstwę. Natomiast znaczny wzrost entalpii głównej przemiany fazowej może wskazywać na silne oddziaływania w rejonie polarnych głów. Można przypuszczać, że krótki, stały podstawnik ( $-\text{CH}_2\text{COOC}_2\text{H}_5$ ) związku P5 jest ulokowany w rejonie głów polarnych, a ośmiowęglowy n-alkilowy podstawnik  $\text{R}^1$  oddziałuje w rejonie hydrofobowym błony i obniża temperaturę głównej przemiany fazowej w większym stopniu niż P4. Oba omawiane związki zmieniają kooperatywność głównej przemiany fazowej i powodują pewne rozluźnienie struktury dwuwarstwy, o czym może świadczyć wzrost natężenia fluorescencji DPH. Nie zaburzają jednak ogólnej struktury błony w fazie żelu, na co wskazuje zachowane podprzejsie w całym zakresie stosowanych stężeń surfaktantów i brak zmian anizotropii znaczników fluorescencyjnych.

Związek P6 zachowuje się odmiennie niż P4 i P5. P6 obniża entalpię i temperaturę głównej przemiany fazowej znacznie bardziej niż P4 i P5. Ponadto powoduje bardzo silny spadek kooperatywności. Znaczne obniżenie temperatury głównego przejścia fazowego i zanik podprzejsia świadczą o silnym zaburzeniu struktury dwuwarstwy. Związek P6, w przeciwieństwie do P4 i P5, wygasza fluorescencję TMA-DPH i najsilniej obniża anizotropię NPN. Odmienne zachowanie związku P6 niż P4 i P5 może wskazywać na inną lokalizację krótkiego łańcucha ( $-\text{CH}_2\text{COOC}_2\text{H}_5$ ) w błonie. W przypadku P6 ugrupowanie  $-\text{CH}_2\text{COOC}_2\text{H}_5$ , podobnie jak jego dwunastowęglowy n-alkilowy łańcuch, lokuje się w hydrofobowym rejonie błony (rys. 4), inaczej niż w przypadku P4 i P5.



Rys. 4. Proponowana lokalizacja związku P6 w błonie DPPC. Częsteczki DPPC przedstawiono w odcieniu ciemnoszarym, kation związku P6 w odcieniach reprezentujących rodzaj atomu. Ciemnoszary atom w cząsteczce P6 to atom tlenu grupy estrowej krótszego łańcucha. Obraz uzyskany na bazie obliczeń modelowych w programie Materials Studio 6.0

Fig. 4. The proposed localization of the P6 compound in the DPPC membrane. The DPPC molecules are presented in dark grey, the P6 cation in the shades of grey depending on atom type. The dark grey atom in the P6 compound represents the oxygen of the ester group in the short chain. The picture is based on the model computations performed in the Materials Studio 6.0 software

Związek P6 ma długi łańcuch o równoważnej długości co związek P2, należący do pierwszego szeregu homologicznego. Jednak badania micelizacji wykazały (Różycka-Roszak i wsp. 2008), że związek P6 zachowuje się w podobny sposób do P3 a nie do P2. Przypisano to wpływowi krótkiego łańcucha P6. W konsekwencji można było oczekiwać, że P3 i P6 będą również podobnie wpływać na błonę. Okazało się jednak, że P6 wykazuje znacznie większy wpływ na temperaturę i kształt piku głównej przemiany fazowej niż P2 i P3. Wskazuje to, że rola krótkiego łańcucha jest znacznie większa w oddziaływaniu z błonami niż w procesie micelizacji.

Pośród wszystkich badanych związków P6 wywiera najsilniejszy wpływ na błonę modelową, co przejawia się również w kształcie piku głównej przemiany fazowej. Pik staje się wyraźnie zniekształcony przy wyższych stężeniach surfaktantu. Asymetria piku świadczy o separacji faz, która może nastąpić w wyniku częściowej niemieszalności obu składników błony. Podobne efekty obserwowano w oddziaływaniach chlorku N-dodecylo-N,N-dimetylo-N-benzyloamoniowego (DBeAC) z błoną modelową DPPC, które wyjaśniono jako skutek wbudowywania się grupy benzylowej w dwuwarstwę lipidową (Różycka-Roszak, Przyczyna 2003). Zatem podobny wpływ P6 na kształt piku również może potwierdzać lokalizację krótkiego łańcucha w dwuwarstwie, jak zasugerowano wyżej. Testy mikrobiologiczne (Woźniak i wsp. 2004) wykazały najwyższą aktywnością bakterio- i grzybobójczą związku P6. Pozwala to wysunąć hipotezę, że wysoka aktywność w oddziaływaniach z błoną fosfolipidową jest powiązana z wysoką aktywnością biobójczą surfaktantu kationowego. Zatem poznanie mechanizmu oddziaływania z błonami może być pomocne przy projektowaniu struktury molekularnej nowych związków biologicznie czynnych.

Z przeprowadzonych badań wynikają następujące wnioski:

- wpływ dużej grupy piperydyniowej w procesie micelizacji jest znacznie mniejszy niż w oddziaływaniach z błonami modelowymi;
- ugrupowanie  $-\text{CH}_2\text{COOC}_2\text{H}_5$  daje efekt wydłużenia łańcucha o dwie grupy metylenowe; ugrupowanie to zachowuje się podobnie jak grupa benzylova, stąd chlorek N-etoksykarbonylometylo-N-(n-oktylo)piperydyniowy (P5) i chlorek N-etoksykarbonylometylo-N-(n-dodecylo)piperydyniowy (P6) mogą być rozpatrywane jako surfaktanty dwułańcuchowe;
- zastąpienie grupy metylenowej przez grupę estrową w pozycji  $\beta$  w obu łańcuchach nie ma istotnego wpływu na proces micelizacji; natomiast odgrywa istotną rolę w oddziaływaniach z błonami modelowymi;
- grupa piperydyniowa utrudnia głębszą lokalizację związków w błonie DPPC;
- w przypadku dwułańcuchowych surfaktantów (P5 i P6) warunkiem wbudowania się w błonę krótkiego łańcucha jest odpowiednia długość długiego łańcucha (minimum 12 atomów węgla);
- surfaktant wykazujący dużą aktywność biologiczną powinien posiadać niedużą głowę polarną, dwa łańcuchy o różnej długości (długi – co najmniej 12 atomów węgla; krótki – około 4 atomów węgla) i grupę estrową w pozycji  $\beta$  w długim łańcuchu.

## PODZIĘKOWANIA

Autorzy dziękują Instytutowi Inżynierii Rolniczej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu za umożliwienie przeprowadzenia pomiarów kalorymetrycznych DSC.

The use of a DSC microcalorimeter in the Institute of Agricultural Engineering of the Wrocław University of Environmental and Life Sciences is gratefully acknowledged.

Obliczenia wykonano na komputerach Wrocławskiego Centrum Sieciowo-Superkomputerowego (<http://www.wcss.wroc.pl>), grant obliczeniowy nr 2006/1.

Calculations have been carried out in Wrocław Centre for Networking and Supercomputing (<http://www.wcss.wroc.pl>), grant No. 2006/1.

## PIŚMIENNICTWO

- Bereket G., Yurt A., 2002. Inhibition of the corrosion of low carbon steel in acidic solution by selected quaternary ammonium compounds. *Anti-corrosion Methods Mater.*, 49: 210–220.
- Dega-Szafran Z., Dulewicz E., Kosturkiewicz Z., Szafran M., 1999. Conformational analysis of N-methylpiperidine betaine studied by X-ray diffraction, FTIR spectroscopy and ab initio calculations. *J. Mol. Struct.*, 478: 49–55.
- Dega-Szafran Z., Dulewicz E., Kosturkiewicz Z., Szafran M., 2001a. Crystal and molecular structure of N-methylpiperidine betaine hydrobromide. *J. Mol. Struct.*, 605: 319–342.
- Dega-Szafran Z., Dulewicz E., Petryna M., 2001b. Synteza surfaktantów zawierających pierścienie piperidyniowy [w:] *Czwartorzędowe sole amoniowe i obszary ich zastosowania w gospodarce*, red. R. Zieliński, Wyd. ITD, Poznań.
- Demberelnyamba D., Kim K., Choi S., Park S., Lee H., Kim Ch., Yoo I., 2004. Synthesis and antimicrobial properties of imidazolium and pyrrolidinium salts. *Bioorg. Med. Chem.*, 12: 853–857.
- Domagk G., 1935. Eine neue Klasse von Desinfektionsmitteln. *Deutsche Med. Wochenschr.*, 61: 829–832.
- Fisicaro E., Compari C., Duce E., Donofrio G., Różycka-Roszak B., Woźniak E., 2005. Biologically active bisquaternary ammonium chlorides: Physico-chemical properties of long chain amphiphiles and their evaluation as non-viral vectors for gene delivery. *Biochem. Biophys. Acta*, 1722: 224–223.
- Heinzel J.S., 1988. The phenomena of resistance to disinfectants and preservatives [in:] *Industrial biocide*, ed.: Payne, K. R, Critical Report on Applied Chemistry, Wiley, Chichester, vol. 22.
- Hugo W.B., 1982. Disinfection mechanisms [in:] *Principles and practice of disinfection, preservation and sterilization*, ed.: Russel A.D., Hugo W.B., Ayliffe G.A.J., Blackwell Scientific Publications Ltd., Oxford.
- Isomaa B., Hagerstrand H., Paatero G., Engblom A.C., 1986. Permeability alterations and hemolysis induced by amphiphiles in human erythrocytes. *Biochim. Biophys. Acta*, 860: 510–524.
- Jia Z., Shen D., Xu W., 2001. Synthesis and antibacterial activities of quaternary ammonium salts of chitosan. *Carbohydr. Res.*, 333: 1–6.

- Jiang S., Wang L., Yu H., Chen Y., 2005. Preparation of crosslinked polystyrenes with quaternary ammonium and their antibacterial behaviour. *React. Funct. Polym.*, 62: 209–213.
- Kaiser R. D., London E., 1998. Location of diphenylhexatrien (DPH) and its derivatives within membranes: comparison of different fluorescence quenching analyses of membrane depth. *Biochemistry*, 37:8180–8190.
- Knag M., Sjoblom J., Oye G., Gulbrandsen E., 2004. A quartz crystal microbalance study of the adsorption of quaternary ammonium derivatives and cementite. *Colloids Surf. A*, 250: 269–278.
- Koynova R., Caffrey M., 1998. Phases and phase transitions of the phosphatidylcholines. *Biochem. Biophys. Acta*, 1376: 91–145.
- Lakowicz J.R., 1983. Principles of fluorescence spectroscopy. Plenum Press, New York, p. 112.
- Lindstedt M., Allenmark S., Thompson R.A., Edebo L., 1990. Antimicrobial activity of betaine esters, quaternary ammonium amphiphiles which spontaneously hydrolyze into nontoxic components. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 34: 1949–1954.
- Massi L., Guittard F., Geribaldi S., Levy R., Duccini Y., 2003. Antimicrobial properties of highly fluorinated bis-ammonium salts. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 21: 20–26.
- Obląg E., Lachowicz T., Łuczynski J., Witek S., 2001. Comparative studies of the biological activities of lysosomotropic aminoesters and quaternary ammonium salts on the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Cell. Mol. Biol. Lett.*, 6: 871–880.
- Pico Y., Font G., Molto J.C., Manes J., 2000. Solid-phase extraction of quaternary ammonium herbicides. *J. Chromatogr. A*, 885: 251–271.
- Przestalski S., Hendrich A., Witek S., 1986. Influence of some amphiphilic glycine esters on phase transition of dipalmitoylphosphatidylcholine. *Stud. Biophys.*, 116: 19–25.
- Różycka-Roszak B., Misiak P., Woźniak E., Mozrzyk A., Dega-Szafran Z., 2008. Calorimetric and molecular modeling studies of N-alkoxycarbonylmethyl-N-alkyl-piperidinium chlorides. *Colloids Surf. A*, 318: 301–306.
- Różycka-Roszak B., Pruchnik H., 2000. Effect of counterion on the influence of thermotropic phase behaviour of phosphatidylcholine. *Z. Naturforsch.*, 55c: 240–244.
- Różycka-Roszak B., Przyczyna A., 2003. Interaction between N-dodecyl-N, N-dimethyl-N-benzylammonium halides and phosphatidylcholine bilayers-the effect of counterions. *Chem. Phys. Lipids*, 123: 209–221.
- Russel A.D., Hammond S.A., Morgan J.R., 1986. Bacterial resistance to antiseptics and disinfectants. *J. Hosp. Infect.*, 7: 213–225.
- Sands I.A., 1986. Virucidal activity of cetyltrimethylammonium bromide below the critical micelle concentration. *FEMS Microbiol. Lett.*, 36: 261–263.
- Shao H., Meng W., Qing F., 2004. Synthesis and surface antimicrobial activity of a novel perfluorooctylated quaternary ammonium silane coupling agent. *J. Fluor. Chem.*, 125: 721–724.
- Subczyński W.K., Przestalski S., Kuczera J., Podolak M., Hyde J.S., 1988. Effect of some amphiphilic ammonium salts on phase transition and fluidity of some amphiphilic ammonium salts on phase transition and fluidity of phosphatidylcholine membrane: a spin label study. *Stud. Biophys.*, 125: 155–163.
- Sundheim G., Langsrud S., Heir E., Holck A.L., 1998. Bacterial resistance to disinfectants containing quaternary ammonium compounds. *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 41: 235–239.
- Woźniak E., Mozrzyk A., Czarny A., Kocięba M., Różycka-Roszak B., Dega-Szafran Z., Dulewicz E., Petryna M., 2004. Antimicrobial activity of N-alkoxycarbonylmethyl-N-alkyl-piperidinium chlorides. *Z. Naturforsch., C: J. Biosci.*, 59: 782–786.
- Zieliński R. (red.), 2001. Czwartorzędowe sole amoniowe i obszary ich zastosowania w gospodarce. Wyd. Instytutu Technologii Drewna, Poznań.

**INTERACTIONS OF N-ALKOXYCARBONYLMETHYL-N-ALKILPIPERIDI-  
NIUM CHLORIDES WITH PHOSPHOLIPID MEMBRANE****S u m m a r y**

Interactions of a chosen group of N-alkoxycarbonylmethyl-N-alkilpiperidinium chlorides with model lipid membranes were studied using differential scanning calorimetry (DSC) and fluorescence spectroscopy methods. The studied surfactants represent two homological series. The first series was formed by compounds P1, P2 and P3 having one hydrophobic chain with the ester linkage at the  $\beta$  position. The second series was formed by compounds P4, P5 and P6 having two hydrophobic substituents on quaternary nitrogen. Compounds P5 and P6 can be regarded as surfactants with two hydrophobic chains: one long aliphatic chain, and one short with the structure  $\text{CH}_2\text{COOC}_2\text{H}_5$ . The obtained results showed that the compounds belonging to the first homological series entered the membrane closer to its surface than the analogous betaine esters. The ester group in the  $\beta$  position of the chain of piperidinium derivatives is probably located in the region of the polar heads of phosphatidylcholine. An earlier study of micellization indicated the hydrophobic character of the short chain of both the P5 and P6 compounds, but in the interactions with model membranes the short chain entered the hydrophobic region of the bilayer only for P6, which was observed as the strong liquidifying effect of the compound on the membrane.

KEY WORDS: surfactants, disinfectants, herbicides, tertiary ammonium chlorides, lipid membrane



Mariola Wrochna, Anita Fołwalska,  
Arkadiusz Przybysz, Stanisław W. Gawroński

OCENA WPŁYWU DODATKU ŻELAZA NA PARAMETRY  
WZROSTU I JAKOŚĆ KIEŁKÓW WYBRANYCH  
GATUNKÓW ROŚLIN

EVALUATION  
OF GROWTH AND QUALITY PARAMETERS  
OF SPROUTS AFTER THE ADDITION OF IRON

*Samodzielny Zakład Przyrodniczych Podstaw Ogrodnictwa, Szkoła Główna Gospodarstwa  
Wiejskiego w Warszawie*

*Laboratory of Basic Research in Horticulture, Warsaw University of Life Sciences – SGGW*

W pracy badano wpływ dodatku żelaza na kiełkowanie i wzrost siewek: rzodkwi (*Raphanus sativus*), rzodkiewki (*Raphanus sativus* var. *radicula*), kapusty czerwonej (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *rubra*), brokołu (*Brassica oleracea* var. *italica*), gorczycy białej (*Sinapis alba*), fasoli mung (*Vigna radiata*), lucerny (*Medicago sativa*), soczewicy zielonej (*Lens esculenta*) oraz kukurydzy (*Zea mays*). W doświadczeniach zastosowano następujące stężenia żelaza: 0 (kontrola), 3, 6, 12, 18, 24 oraz 36 mg · dm<sup>-3</sup> H<sub>2</sub>O. Nie stwierdzono negatywnego wpływu dodatku żelaza na kiełkowanie nasion i Indeks Pippera, jednak siedmiodniowe siewki zazwyczaj charakteryzowały się obniżonym wigozem.

SŁOWA KLUCZOWE: kiełki roślinne, kiełkowanie, wigor siewek, żelazo

## WSTĘP

Żywność funkcjonalna definiuje produkty spożywcze wpływające korzystnie na organizm ludzki. W definicję tę doskonale wpisują się kiełki z nasion roślin warzywnych. Dotychczas prowadzone badania nad kiełkami wykazały, że zarówno ich skład chemiczny, jak i wartości odżywcze mają znaczący wpływ na poprawę stanu zdrowia i samopoczucie człowieka. Są one cennym źródłem witamin z grupy A, B, kompleksu witamin C, E, H, K

---

Do cytowania – For citation: Wrochna M., Fołwalska A., Przybysz A., Gawroński S.W., 2012. Ocena wpływu dodatku żelaza na parametry wzrostu i jakość kiełków wybranych gatunków roślin. Zesz. Nauk. UP Wroc., Rol. CIII, 589: 227–234.

i PP, licznych aminokwasów, jonów oraz flawonoidów i kwasów fenolowych. Substancje zawarte w świeżych kielkach regulują stężenie glukozy we krwi, obniżając je, redukują poziom złego cholesterolu, przez co zmniejszają ryzyko chorób serca i działają antymiażdżycowo. Enzymy, które występują w kielkach, nie tylko regulują procesy trawienia, ale poprzez występowanie inhibitorów proteinaz przeciwdziałają wirusom i nowotworom (Frias i wsp. 2005, Paśko i wsp. 2009).

Pierwiastkiem, w który kielki mogą być wzbogacone, jest niewątpliwie żelazo (Fe). Mimo iż Fe jest pierwiastkiem niezbędnym do prawidłowego rozwoju organizmów roślinnych, jego podwyższone stężenie w podłożu może wpływać niekorzystnie na kiełkowanie nasion oraz na wzrost i rozwój kielków. Bartakova i wsp. (2001) wykazali, że Fe w stężeniu 0,6 mM obniżało kiełkowanie nasion sałaty siewnej, a w stężeniu 2,0 mM całkowicie hamowało ich kiełkowanie. Autorzy stwierdzili także, że stężenie 0,14 mM Fe powodowało inhibicję wzrostu korzeni (Bartakova i wsp. 2001). Niekorzystny wpływ Fe, w stężeniach wyższych niż  $1 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ , na rozwój siewek trzciny pospolitej wykazali Batty i Younger (2003). Podobne wyniki uzyskali Dhiman i Bhargava (2008), którzy udowodnili, że stężenie  $1 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  Fe stymuluje wzrost korzeni i hypokotylu fasoli złotej, natomiast stężenia wyższe obniżają wartości tych parametrów. Negatywnego wpływu podwyższonych stężeń Fe ( $10\text{--}100 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ ) na kielki rzodkiewki nie wykazali z kolei Hongbo i wsp. (2006). Kielki traktowane Fe cechowały się lepszym wzrostem, wyższym plonem, suchą masą oraz zawartością witaminy C i przyswajalnego Fe. Najskuteczniejsze okazało się zastosowanie Fe w formie FeEDTA oraz stężeniu  $1 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  (Hongbo i wsp. 2006). Li i Zeng-Ming (2009) stwierdzili pozytywny wpływ nawet  $1000 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  Fe na kielki soi.

Praca ta jest częścią większego projektu mającego na celu zbadanie możliwości wzbogacenia kielków w wybrane mikroelementy (cynk, żelazo oraz magnez). Celem niniejszej pracy było określenie wpływu jonów Fe na zdolność i dynamikę kiełkowania oraz wigor kielków pozyskanych z nasion wybranych gatunków roślin.

## MATERIAŁ I METODY

Przedmiotem badań były nasiona oraz siedmiodniowe kielki rzodkwi (*Raphanus sativus*), rzodkiewki (*Raphanus sativus* var. *radicula*), kapusty czerwonej (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *rubra*), brokułu (*Brassica oleracea* var. *italica*), gorczycy białej (*Sinapis alba*), fasoli mung (*Vigna radiata*), lucerny (*Medicago sativa*), soczewicy zielonej (*Lens esculenta*) oraz kukurydzy (*Zea mays*).

Ocenę zdolności kiełkowania oraz średniego czasu kiełkowania jednego nasiona (Indeks Pippera, Pipper 1952) przeprowadzono w biotestach szalkowych w 12 powtórzeniach po 20 nasion każde. Nasiona kiełkowano w obecności roztworów wodnych zawierających: 0 (kontrola), 3, 6, 12, 18, 24 oraz  $36 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  Fe w postaci FeEDTA. Doświadczenia wykonano w termostacie komorowym z płaszczem wodnym, w ciemności, w temperaturze  $23^\circ\text{C}$  oraz wilgotności 85%. Przez 7 dni codziennie zliczano i usuwano kiełkujące nasiona

Wigor siewek badano za pomocą biotestu przeprowadzonego na paskach bibuły w 6 powtórzeniach po 20 kielków, które umieszczano w zlewkach i zalewano 10 ml wody (kontrola) bądź roztworami Fe w stężeniach takich samych, jak w przypadku oceny zdol-



ności kiełkowania. Doświadczenia wykonano w komorze wzrostowej, w temperaturze 23°C, wilgotności 85% oraz fotoperiodzie: dzień/noc 12/12 godzin. Codziennie kontrolowano wilgotność bibuły i w razie potrzeby uzupełniano roztwory. Po 7 dniach mierzono długość korzenia i części nadziemnej siewek.

Wyniki opracowano statystycznie programem Statgraphics 4.1 Plus za pomocą dwuczynnikowej analizy wariancji, istotność różnic wyliczono testem T-Studenta przy poziomie ufności  $\alpha = 0,05$ .

## WYNIKI BADAŃ I DYSKUSJA

Ze względu na duże znaczenie Fe do prawidłowego funkcjonowania organizmu człowieka ważna jest ocena możliwości dostarczania go z produktami roślinnymi, z których przyswajane jest głównie Fe niehemowe (Beard, Han 2009). Wykorzystywane jest ono przede wszystkim do syntezy białek, transportu tlenu-hemoglobiny, białek oraz elektronów (cytochromy). Bierze także udział w magazynowaniu tlenu-mioglobiny, w desaturacji nadtlenku wodoru i kwasów tłuszczowych, w jodowaniu tyrozyny, katabolizmie tryptofanu, detoksykacji związków obcych oraz obronie immunologicznej organizmu (Christine, Swanson 2003).

W badaniach własnych oceniano, jak dodatek Fe na etapie kiełkowania i produkcji kiełków wpłynie na parametry wzrostu uzyskanego produktu. Całkowity czas ekspozycji nasion i kiełków do jonów Fe wynosił 7 dni, ponieważ tyle trwa proces technologiczny kiełków roślinnych. Stwierdzono, że jony Fe miały niewielki, pozytywny wpływ na kiełkowanie nasion (tab. 1, 2). Wyjątek stanowiła soczewica, u której kiełkowanie nieznacznie się zmniejszyło, szczególnie w kombinacji zawierającej Fe w stężeniu  $24 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  (o 2% względem kontroli) oraz kukurydza, u której odnotowano, istotne względem kontroli, obniżenie kiełkowania o około 5% ( $36 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ ). Brak wpływu Fe na zdolność kiełkowania wykazali także Li i Zeng-Ming (2009), którzy oceniali kiełkowanie nasion soi eksponowanych do Fe w formie  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ . Bartakova i wsp. (2001) dowiedli, że Fe obniża kiełkowanie nasion sałaty siewnej, ale dopiero w przypadku ekspozycji do stężeń wyższych niż  $240 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Zielińska-Dawidziak i Twardowski (2008) stwierdzili znaczne zmniejszenie zdolności kiełkowania nasion pszenicy w obecności Fe.

Traktowanie Fe spowodowało u większości badanych gatunków nieznaczne skrócenie średniego czasu kiełkowania jednego nasiona bądź, jak w przypadku fasoli i soczewicy, nie wpływało na ten parametr. Jedynie u kapusty czerwonej i brokułu odnotowano marginalne zwiększenie Indeksu Pippera (maksymalnie do 0,1 dnia) (tab. 1, 2). Krótszym średnim czasem kiełkowania cechowały się również nasiona soi namaczane przez 12 godzin, w temperaturze około 23°C, w pożywce zawierającej  $1000 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  Fe (Li i Zeng-Ming 2009).

Ekspozycja do jonów Fe zmniejszała długości siewek roślin z rodziny *Brassicaceae*, co wynikało głównie ze skrócenia korzeni. Statystycznie istotnie zmniejszała się długość korzenia u brokułu (o 3 cm po potraktowaniu roślin  $36 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  Fe). U roślin z tej rodziny jedynie w przypadku gorczyicy stwierdzono dłuższe siewki po dodaniu Fe (tab. 1). U roślin z rodziny *Fabaceae* wpływ Fe na wigor siewek był zróżnicowany (tab. 2). W większości przypadków odnotowano zmniejszenie długości korzeni. U soczewicy stwierdzono skrócenie zarówno korzeni, jak i hypokotyła, a u fasoli mung wydłużenie

Tabela 1  
Table 1

Wpływ dodatku żelaza na kiełkowanie, Indeks Pippera oraz vigor siewek kielków: rzodkwi (*Raphanus sativus*), rzodkiewki (*Raphanus sativus* var. *radicula*), kapusty ezerwonej (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *rubra*), brokoitu (*Brassica oleracea* var. *italica*), gorczycy białej (*Sinapis alba*)  
Effect of addition of iron on germination, Pipper Index and vigor of seedlings of radish (*Raphanus sativus*), radish (*Raphanus sativus* var. *radicula*), red cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *rubra*), broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) and mustard (*Sinapis alba*), mung bean (*Vigna radiata*), alfalfa (*Medicago sativa*), green lentil (*Lens esculenta*) and maize (*Zea mays*)

Koncentracja żelaza (mg dm <sup>-3</sup> ) Iron concentration	Gatunek – Species																													
	<i>Sinapis alba</i>						<i>Raphanus sativus</i> var. <i>sativus</i>						<i>Raphanus L.</i>						<i>Brassica oleracea</i> var. <i>italica</i>						<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>					
	Kiełkowanie (%)	Indeks Pippera (dni) (days)	Korzeń (cm)	Cz. Nadziemna (cm)	Above Ground Part (cm)	Siewka (cm)	Kiełkowanie (%)	Indeks Pippera (dni) (days)	Korzeń (cm)	Cz. Nadziemna (cm)	Above Ground Part (cm)	Siewka (cm)	Kiełkowanie (%)	Indeks Pippera (dni) (days)	Korzeń (cm)	Cz. Nadziemna (cm)	Above Ground Part (cm)	Siewka (cm)	Kiełkowanie (%)	Indeks Pippera (dni) (days)	Korzeń (cm)	Cz. Nadziemna (cm)	Above Ground Part (cm)	Siewka (cm)	Kiełkowanie (%)	Indeks Pippera (dni) (days)	Korzeń (cm)	Cz. Nadziemna (cm)	Above Ground Part (cm)	Siewka (cm)
0	97,7	1,10	1,77	0,74	2,51	2,51	97,0	1,30	1,53	0,53	2,06	98,7	1,07	5,89	2,66	8,55	98,3	1,15	4,66	1,21	5,87	96,0	2,51	1,64	0,55	2,20	2,20	2,20	2,20	
3	97,7	1,05	1,89	1,08	2,97	2,48	93,0	1,25	2,56	0,92	2,48	99,0	1,06	3,89	2,07	5,96	99,0	1,16	3,81	1,24	5,05	94,3	2,43	0,76	0,55	1,31	1,31	1,31	1,31	
6	97,7	1,05	2,04	1,17	3,21	3,07	96,0	1,30	2,87	1,20	3,07	98,0	1,04	4,27	2,50	6,77	98,0	1,15	2,72	1,43	4,15	95,7	2,38	1,22	0,53	1,75	1,75	1,75	1,75	
12	99,0	1,05	1,85	1,18	3,04	2,88	95,0	1,36	1,77	1,11	2,88	99,3	1,04	4,09	2,88	6,97	98,0	1,17	3,68	1,65	5,34	98,0	2,41	1,23	0,59	1,82	1,82	1,82	1,82	
18	98,3	1,03	1,79	1,18	2,97	3,25	92,7	1,31	1,76	1,49	3,25	99,0	1,08	3,76	2,71	6,47	98,3	1,18	2,25	1,46	3,71	96,7	2,38	0,69	0,38	1,07	1,07	1,07	1,07	
24	97,3	1,03	1,81	1,20	3,01	1,55	95,7	1,29	0,91	0,64	1,55	99,3	1,06	3,21	2,27	5,48	99,3	1,19	2,74	1,58	4,32	97,0	2,39	0,78	0,49	1,27	1,27	1,27	1,27	
36	98,7	1,02	1,48	0,91	2,39	2,56	95,0	1,24	1,73	0,83	2,56	99,0	1,04	3,20	2,08	5,28	99,3	1,21	1,67	1,23	2,90	94,3	2,61	0,56	0,45	1,01	1,01	1,01	1,01	

NIR<sub>q=0,05</sub> kiełkowanie = 1,27; NIR<sub>q=0,05</sub> IP = 0,05; NIR<sub>q=0,05</sub> korzeń = 0,30; NIR<sub>q=0,05</sub> cz. nadziemna = 0,17; NIR<sub>q=0,05</sub> siewka = 0,43  
 LSD<sub>q=0,05</sub> germination = 1,27; LSD<sub>q=0,05</sub> IP = 0,05; LSD<sub>q=0,05</sub> root = 0,30; LSD<sub>q=0,05</sub> above ground part = 0,17; LSD<sub>q=0,05</sub> seedling = 0,43

Tabela 2  
Table 2

Wpływ dodatku żelaza na kiełkowanie, Indeks Pipera oraz wigor siewek kielków: fasoli mung (*Vigna radiata*), lucerny (*Medicago sativa*), soczewicy zielonej (*Lens esculenta*) oraz kukurydzy (*Zea mays*)  
Effect of addition of iron on germination, Pipper Index and vigour of seedlings of mung bean (*Vigna radiata*), alfalfa (*Medicago sativa*), green lentil (*Lens esculenta*) and maize (*Zea mays*)

Koncentracja żelaza (mg dm <sup>-3</sup> )	Gatunek – Species																								
	<i>Vigna radiata</i>						<i>Lens esculenta</i>						<i>Medicago sativa</i>						<i>Zea mays</i>						
	Kiełkowanie (%)	Indeks Pippera (dni) (days)	Korzeń (cm)	Cz. Nadzienna (cm)	Siewka (cm)	Seedling	Kiełkowanie (%)	Indeks Pippera (dni) (days)	Korzeń (cm)	Cz. Nadzienna (cm)	Siewka (cm)	Seedling	Kiełkowanie (%)	Indeks Pippera (dni) (days)	Korzeń (cm)	Cz. Nadzienna (cm)	Siewka (cm)	Seedling	Kiełkowanie (%)	Indeks Pippera (dni) (days)	Korzeń (cm)	Cz. Nadzienna (cm)	Siewka (cm)	Seedling	
0	99,3	1,27	6,66	3,88	10,54	98,7	1,06	4,24	3,85	8,09	94,0	1,28	2,92	0,57	3,49	94,7	2,69	8,55	2,57	11,12	0,29,	0,29,	0,29,	0,29,	0,29,
3	99,3	1,35	6,70	4,56	11,26	98,0	1,06	3,08	2,79	5,87	94,7	1,24	2,80	0,60	3,40	92,3	2,69	9,91	3,45	13,36	0,29,	0,29,	0,29,	0,29,	0,29,
6	100	1,31	6,28	5,67	11,85	97,0	1,08	2,54	2,33	4,87	95,7	1,24	2,43	0,63	3,06	93,3	2,54	8,58	3,13	11,71	0,29,	0,29,	0,29,	0,29,	0,29,
12	99,7	1,31	6,43	3,45	9,88	98,7	1,09	3,10	2,67	5,77	94,0	1,25	1,97	0,84	2,81	89,3	2,72	8,09	3,12	11,21	0,29,	0,29,	0,29,	0,29,	0,29,
18	99,7	1,23	5,90	5,18	11,08	97,3	1,11	2,22	1,93	4,15	94,3	1,15	1,88	0,92	2,80	92,7	2,83	8,37	2,88	11,25	0,29,	0,29,	0,29,	0,29,	0,29,
24	99,0	1,29	6,53	5,97	12,50	96,7	1,07	2,59	3,42	6,01	95,0	1,08	1,80	0,97	2,77	96,0	2,65	7,10	3,30	10,40	0,29,	0,29,	0,29,	0,29,	0,29,
36	99,0	1,29	5,30	5,54	10,84	99,7	1,08	2,39	3,23	5,62	96,3	1,23	1,60	0,94	2,54	89,0	2,59	6,09	3,05	9,14	0,29,	0,29,	0,29,	0,29,	0,29,
NIR - Fe	NIR <sub>0=0,0</sub> kiełkowanie = 1,92; NIR <sub>0=0,05</sub> IP = 007; NIR <sub>0=0,05</sub> korzeń = 0,44; NIR <sub>0=0,05</sub> cz. nadzienna = 0,44; NIR <sub>0=0,05</sub> siewka = 0,80																								
LSD - Fe	LSD <sub>0=0,0</sub> germination = 1,92; LSD <sub>0=0,05</sub> IP = 007; LSD <sub>0=0,05</sub> root = 0,44; LSD <sub>0=0,05</sub> above ground part = 0,44; LSD <sub>0=0,05</sub> seedling = 0,80																								

siewek potraktowanych Fe. Siewki kukurydzy traktowanej Fe były krótsze niż w kontroli w dwóch najwyższych stężeniach (tab. 2). Batty i Younger (2003) wykazali, że Fe w stężeniu wyższym niż  $1 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  hamuje wzrost siewek trzciny pospolitej. Według Dhiman'a i Bhargava'a (2008) negatywny wpływ na rozwój siewek fasoli mung miało Fe zastosowane w stężeniach powyżej  $10 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Autorzy stwierdzili także, że stężenie  $56 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  powodowało inhibicję wzrostu korzeni (Bartakova i wsp. 2001). W przeciwieństwie do wyników uzyskanych w tej pracy Li i Zeng-Ming (2009) stwierdzili, że intensywniejszy wzrost siewek soi możliwy jest nawet w przypadku ich ekspozycji do  $1000 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  Fe. Negatywnego wpływu podwyższonych stężeń Fe na kielki rzodkiewki nie udowodnili także Hongbo i wsp. (2006), którzy jako najkorzystniejsze źródło Fe wskazali zastosowane w tej pracy FeEDTA w stężeniu  $1 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ .

Podsumowując, w przeprowadzonych badaniach nie odnotowano istotnego, negatywnego wpływu dodatku Fe na kiełkowanie nasion i Indeks Pippera, jednak siedmiodniowe siewki zazwyczaj charakteryzowały się obniżonym wigorem. Może to wynikać z faktu, iż siewka jest najbardziej wrażliwym stadium rozwoju roślinny, ponieważ jest to moment przejścia z odżywiania autotroficznego na heterotroficzne. Ma ona również słabo rozwinięty korzeń, który nie zapewnia sprawnego pobierania wody i soli mineralnych. Ponadto Fe, chociaż jest niezbędne do prawidłowego wzrostu i rozwoju roślin, podawane w podwyższonych dawkach w stosunku do potrzeb roślin może wykazywać symptomy toksyczności i wpływać na pogorszenie jakości uzyskanych kiełków (Siwek 2008, Zielińska-Dawidziak i wsp. 2010).

## WNIOSKI

1. Dodatek Fe na etapie kiełkowania nie powodował istotnego wpływu na dynamikę i zdolność kiełkowania nasion.
2. Jony Fe, zwłaszcza w wyższych stężeniach, miały najczęściej niekorzystny wpływ na wzrost siedmiodniowych siewek.

## PIŚMIENNICTWO

- Bartakova I., Kummerova M., Mandl M., Pospisil M., 2001. Phytotoxicity of iron in relation to its solubility conditions and the effect of ionic strength. *Plant and Soil*, 235: 45–51.
- Batty L.C., Younger P. L., 2003. Effects of external iron concentration upon seedling growth and uptake of Fe and phosphate by the common reed, *Phragmites australis* (Cav.) Trin ex. Steudel. *Annals of Botany* 92: 801–806.
- Beard J., Han O., 2009. Systemic iron status. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1790: 584–588.
- Christine A. Swanson P., 2003. Iron intake and regulation: implications for iron deficiency and iron overload. *Alcohol*, 30: 99–102.
- Dhiman, A.K., Bhargava, A.K., 2008. Effect of iron on dark grown seedling of *Vigna radiata* L. cv. K-851. *Progressive Research*, 3 (2): 213–214.

- Frias J., Zieliński H, Piskuła M.K., Kozłowska H., Vidal-Valverde C., 2005. Inositol phosphate content and trypsin inhibitor activity in ready-to-eat cruciferous sprouts. *Food Chemistry* 93: 331–336.
- Hongbo G., Guilin C., Tiejun Z., Guiyun L., 2006. Effect of iron application on growth, yield and quality in radish sprouts. *Acta Horticulturae Sinica*, 33 (5): 1096–1098.
- Li J., Zhen-Ming Ch., 2009. Preparation of iron and zinc enriched nutrition bean sprouts. School of Bioengineering, Xihua University, Chengdu 610039, Chiny.
- Paško P., Bartoň H., Zagrodzki P., Gorinstein S., Fořta M., Zachwieja Z., 2009. Anthocyanins, total polyphenols and antioxidant activity in amaranth and quinoa seeds and sprouts during their growth. *Food Chemistry*, 115: 994–998.
- Pipper H., 1952. *Das Saatgut*. Ed. P. Parey Berlin, Germany.
- Siwek M., 2008. Rośliny w skażonym metalami ciężkimi środowisku przemysłowym. Część I: Pobieranie, transport i toksyczność metali ciężkich (śladowych). *Wiadomości Botaniczne*, 52: 7–22.
- Zielińska-Dawidziak M., Twardowski T., 2008. Zmiany w zawartości wybranych frakcji białka pod wpływem działania jonów żelaza na kiełkujące nasiona soi, lucerny oraz ziarniaki pszenicy. *Metody fizyczne diagnostyki surowców roślinnych i produktów spożywczych*. Red. B. Dobrzański jr. Wyd. Nauk. Fundacji Rozwoju Nauk Agrofizycznych, Lublin: 107–117.
- Zielińska-Dawidziak M., Piasecka-Kwiatkowska D., Twardowski T., 2010. Wpływ jonów Fe<sup>+</sup> działających na kiełkujące nasiona soi, lucerny oraz ziarniaki pszenicy na zawartość skrobi i cukrów redukujących. *Nauka, Przyroda, Technologie*, 4 (2): 1–8.

## EVALUATION OF GROWTH AND QUALITY PARAMETERS OF SPROUTS AFTER THE ADDITION OF IRON

### Summary

This study investigated the effect of adding iron to the germination and growth of seedlings of: radish (*Raphanus sativus* and *Raphanus sativus* var. *radicula*), red cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *rubra*), broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*), mustard (*Sinapis alba*), mung bean (*Vigna radiata*), alfalfa (*Medicago sativa*), green lentil (*Lens esculenta*) and maize (*Zea mays*). In the experiments seedlings were treated with the following iron concentrations: 0 (control), 3, 6, 12, 18, 24 and 36 mg · dm<sup>-3</sup> H<sub>2</sub>O. No adverse effects from the addition of iron on seed germination and Pipper index were recorded, but seven-day seedlings were usually characterized by reduced vigour.

KEY WORDS: sprouts, germination, seedling vigor, iron



**Leszek Kordas, Magdalena Giemza-Mikoda, Marta Jabłońska**

**PLONOWANIE WYBRANYCH ODMIAN SORGA  
W ZALEŻNOŚCI OD TERMINU SIEWU I NAWOŻENIA  
YIELD OF SORGHUM'S VARIETIES DEPENDING  
ON SOWING DATE AND FERTILIZATION**

*Katedra Kształtowania Agroekosystemów i Terenów Zieleni, Uniwersytet Przyrodniczy  
we Wrocławiu*

*Department of Agroecosystems and Green Areas Management, Wrocław University  
of Environmental and Life Sciences*

W trzyczynnikowym doświadczeniu polowym przeprowadzonym w latach 2009–2011 badano wpływ: 2 terminów siewu (I i II dekada maja), 2 dawek nawożenia NPK (100–50–100 i 150–75–150 kg · ha<sup>-1</sup>) i 3 odmian (Sucrosorgo 506, SorhoSupersile, Rona 1) na plonowanie sorga. Przyspieszenie terminu siewu nie wpłynęło korzystnie na wielkość plonów biomasy sorga. Najlepiej plonowała odmiana Sucrosorgo 506, najgorzej odmiana Rona 1.

SŁOWA KLUCZOWE: sorgo, plon biomasy, termin siewu, nawożenie, odmiany

## WSTĘP

Szeroki wachlarz możliwości wykorzystania sorga, na ziarno do celów spożywczych, przemysłowych (spirytus, kasza, mąka, krochmal), pastewnych oraz energetycznych, powoduje wzrost zainteresowania tym gatunkiem również w Polsce (Śliwiński, Brzóska 2006). Nie ma jednak jednoznacznych opinii na temat jego uprawy. Sorgo charakteryzuje się wysokim potencjałem plonotwórczym, niskimi wymaganiami wodnymi, tym samym jest bardziej odporne na suszę, gdyż jego dobrze rozwinięty system korzeniowy może sięgać głęboko w glebę i pobierać wodę z głębszych warstw (Kaczmarek i wsp. 2009). Potencjał ten jednakże może być osiągnięty tylko w sprzyjających warunkach termicznych i przy zachowaniu odpowiedniej agrotechniki.

---

Do cytowania – For citation: Kordas L., Giemza-Mikoda M., Jabłońska M., 2012. Plonowanie wybranych odmian sorga w zależności od terminu siewu i nawożenia. Zesz. Nauk. UP Wroc., Rol. CIII, 589: 235–240.

Ze względu na wyższe wymagania termiczne sorgo powinno być wysiewane ok. 2 tygodnie po siewie kukurydzy (Reed 1976, Śliwiński, Brzóska 2006). Innego zdania jest Hołubowicz-Kliza (2007), która stwierdziła, iż najlepszy termin siewu sorga w warunkach Polski przypada między 20 maja a 10 czerwca, czyli około 30 dni po siewie kukurydzy.

Istotną rolę w kształtowaniu się plonów tej trawy odgrywa nawożenie. Jest to roślina o wymaganiach pokarmowych zbliżonych do kukurydzy, a tylko zapewnienie pełnego pokrycia zapotrzebowania na składniki odżywcze zagwarantuje uzyskanie wysokich i dobrych jakościowo plonów (Fotyma, Fotyma 1998). Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Bydgoszczy zaleca stosowanie nawozów mineralnych w dawkach: N – 13 kg · t<sup>-1</sup> s.m., P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> – 5 kg · t<sup>-1</sup> s.m. i K<sub>2</sub>O – 15 kg · t<sup>-1</sup> s.m. Określenie optymalnych dawek nawozowych niesie ze sobą aspekt ekonomiczny (wyższe plony, mniejsze zużycie kosztownych nawozów), a także ekologiczny (ograniczenie skażenia gleby i wód gruntowych) (Zielewicz, Kozłowski 2008).

Celem badań było określenie dawek nawozowych oraz ustalenie najlepszego terminu wysiewu trzech odmian sorga (*Sucrosorgo 506*, *SorhoSupersile*, *Rona 1*), aby otrzymać najwyższe plony.

## MATERIAŁ I METODY

Podstawą badań było trzyczynnikowe doświadczenie polowe zlokalizowane w Wilczycach pod Wrocławiem (51° 7' 46" N, 17° 9' 17" E) w latach 2009–2011. Zostało ono założone metodą losowanych podbloków, w czterech powtórzeniach na glebie kompleksu żytniego dobrego, zaliczanego do klasy bonitacyjnej IVb. Przed założeniem doświadczenia gleba charakteryzowała się kwaśnym odczynem (pH w KCl–5,2) i zawierała w warstwie ornej 0,70–0,97 g · kg<sup>-1</sup> azotu, 34,0–40,6 mg · kg<sup>-1</sup>, fosforu i 92,5–127,5 mg · kg<sup>-1</sup> potasu. Powierzchnia poletka wynosiła 550 m<sup>2</sup> (5,5 m x 100 m). Pierwszym czynnikiem badawczym były dwa terminy siewu: przyśpieszony w I dekadzie maja i optymalny w III dekadzie. Czynnikiem drugiego rzędu były trzy odmiany sorga: *Sucrosorgo 506*, *SorhoSupersile* i *Rona 1*. Trzecim czynnikiem doświadczenia były dwie dawki nawożenia azotem, fosforem i potasem NPK: 100–50–100 kg · ha<sup>-1</sup> i 150–75–150 kg · ha<sup>-1</sup>. Zabieg chemicznego zwalczania chwastów wykonano herbicydem Lumax 537,5 SE (1,5 l na 200 l wody · ha<sup>-1</sup>) w fazie BBCH 13 sorga. Plon zielonej i suchej masy z jednostki powierzchni obliczono na podstawie masy roślin zielonych oraz wysuszonych, gęstości wysiewu 210 tys. · ha<sup>-1</sup>, obsady i rozstawy rzędów (45 cm). Zbiór roślin przeprowadzono w III dekadzie listopada w fazie BBCH 89 sorga.

## WYNIKI I DYSKUSJA

Sorgo jest gatunkiem bardzo plennym, uzyskuje się z niego bardzo wysoki plon wynoszący od 18 do 25 t s.m. · ha<sup>-1</sup> (Barbanti i wsp. 2006). Z badań nad sorgiem przeprowadzonych w Polsce wynika, że plony suchej masy wahają się od 12,5 do 17 t suchej masy z ha (Machul, Księżak 2004, Sowiński, Liszka-Podkowa 2008).



Analiza plonów świeżej i suchej masy sorga pozwoliła na wskazanie, który z trzech czynników doświadczenia wpłynął znacząco na uzyskanie największych plonów. Wykazano istotny wpływ odmiany oraz współdziałania czynników doświadczenia na plon świeżej masy sorga (tab. 1). Najplenniejszą odmianą było Sucrosorgo 506. Wysiew tej odmiany spowodował udowodnioną statystycznie wyższą plonów sorga o 71,3%, w porównaniu z plonami uzyskanymi z poletek, na których wysiano odmianę Rona 1.

Tabela 1  
Table 1Plon świeżej masy sorga ( $t \cdot ha^{-1}$ )  
Yield of fresh matter of sorghum

Termin siewu Sowing date	Dawki nawozów The dose of fertilizers ( $kg\ NPK \cdot ha^{-1}$ )	Odmiany – Varieties				Średnio Mean
		Sucrosorgo 506	SorhoSupersile	Rona 1	Średnio Mean	
T1	N1	99,2	76,4	50,7	75,5	72,7
	N2	90,4	71,0	48,3	70,0	
	Średnio Mean	94,8	73,7	49,6	–	
T2	N1	82,3	119,5	61,0	87,6	82,0
	N2	98,2	74,8	55,9	76,3	
	Średnio Mean	90,3	97,1	58,5	–	
Średnio Mean	N1	90,8	97,9	55,9	81,5	–
	N2	94,3	72,9	52,2	73,1	
Średnio Mean		92,5	85,4	54,0	–	

NIR<sub>0,05</sub> dla odmian – 12,5LSD<sub>0,05</sub> for varieties – 12,5NIR<sub>0,05</sub> dla terminów – r.n.LSD<sub>0,05</sub> for sowing date – r.n.NIR<sub>0,05</sub> dla nawożenia NPK – r.n.LSD<sub>0,05</sub> for fertilization NPK – r.n.NIR<sub>0,05</sub> dla interakcji OxT – r.n.LSD<sub>0,05</sub> for interaction – r.n.NIR<sub>0,05</sub> dla interakcji OxN – r.n.LSD<sub>0,05</sub> for interaction – r.n.NIR<sub>0,05</sub> dla interakcji TxN – r.n.LSD<sub>0,05</sub> for interaction – r.n.NIR<sub>0,05</sub> dla interakcji OxTxN – 25,1LSD<sub>0,05</sub> for interaction – 25,1

Przyspieszenie terminu siewu nie wpłynęło korzystnie na wielkość plonu. Plon biomasy sorga wysianego w III dekadzie maja był o 12,8% większy, w porównaniu z roślinami wysianymi w terminie przyspieszonym. Nie zostało to jednak udowodnione statystycznie.

Intensyfikacja nawożenia mineralnego nie wpłynęła istotnie na plon biomasy sorga. Można jednak zauważyć, że zwiększenie dawek nawozów NPK spowodowało niewielki spadek plonów. W wyniku zastosowania większej dawki nawożenia plon świe-

żej masy sorga zmniejszył się o 10,3%, w porównaniu z sorgiem nawożonym dawką optymalną. Machul (2008) zaleca stosowanie następujących dawek: 30–60 kg · ha<sup>-1</sup> P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 60–120 kg · ha<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>O oraz 80–120 kg · ha<sup>-1</sup> N. Są to więc dawki porównywalne z optymalną zastosowaną w doświadczeniu. Po zastosowaniu 140 kg N · ha<sup>-1</sup> Buxton i wsp. (1999) uzyskali nieznaczny wzrost plonu (o 0,8 t z ha s.m.). Podobnie Sowiński i Liszka-Podkowa (2008) po podniesieniu dawki azotu do 160 kg · ha<sup>-1</sup> nie uzyskali przyrostu plonu.

Analiza statystyczna potwierdziła istotne zróżnicowanie plonowania sorga pod wpływem współdziałania trzech czynników doświadczenia. Istotnie najwyższe plony uzyskano przy wysiewie odmiany SorhoSupersile w III dekadzie maja, nawożonej optymalną dawką nawozów NPK (119,5 t · ha<sup>-1</sup>). Najgorszym wariantem okazała się uprawa sorga odmiany Rona 1, wysianej w terminie przyspieszonym, nawożonej zwiększoną dawką nawozów mineralnych (48,3 t · ha<sup>-1</sup>).

Plony suchej masy sorga zostały istotnie zróżnicowane na skutek odmian, terminów siewu i współdziałania trzech czynników doświadczenia (tab. 2). Najwyższe plony suchej masy sorga, podobnie jak w przypadku biomasy, uzyskano, wysiewając odmianę Sucrosorgo 506, z której uzyskano istotnie wyższe o 68,7% plony niż po wysianiu odmiany Rona 1.

Tabela 2

Table 2

Plon suchej masy sorga (t · ha<sup>-1</sup>) – Yield of dry matter of sorghum

Termin siewu Sowing date	Dawki nawozów The dose of fertilizers (kg NPK · ha <sup>-1</sup> )	Odmiany – Varieties				Średnio Mean
		Sucrosorgo 506	SorhoSupersile	Rona 1	Średnio Mean	
T1	N1	25,7	14,2	12,3	17,4	17,4
	N2	21,3	17,5	13,7	17,5	
	Średnio Mean	23,5	15,8	13,0	–	
T2	N1	24,2	31,9	16,5	24,2	22,9
	N2	28,0	20,2	16,3	21,5	
	Średnio Mean	26,1	26,1	16,4	–	
Średnio Mean	N1	24,9	23,1	14,4	20,8	–
	N2	24,7	18,9	15,0	19,5	
Średnio Mean		24,8	21,0	14,7	–	

NIR<sub>0,05</sub> dla odmian – 3,5

LSD<sub>0,05</sub> for varieties – 3,5

NIR<sub>0,05</sub> dla terminów – 3,0

LSD<sub>0,05</sub> for sowing date – 3,0

NIR<sub>0,05</sub> dla nawożenia NPK – r.n.

LSD<sub>0,05</sub> for fertilization NPK – r.n.

NIR<sub>0,05</sub> dla interakcji O×T – r.n.

LSD<sub>0,05</sub> for interaction – r.n.

NIR<sub>0,05</sub> dla interakcji O×N – r.n.

LSD<sub>0,05</sub> for interaction – r.n.

NIR<sub>0,05</sub> dla interakcji T×N – r.n.

LSD<sub>0,05</sub> for interaction – r.n.

NIR<sub>0,05</sub> dla interakcji O×T×N – 5,0

LSD<sub>0,05</sub> for interaction – 5,0

Istotny wpływ na plon suchej masy sorga wywarł termin siewu. Wysiew sorga w terminie optymalnym wyraźnie oddziaływał na zwiększenie plonu o 31,6%, w porównaniu z roślinami wysianymi w I dekadzie maja. Potwierdza to Hołubowicz-Kliza (2007), która stwierdziła, że najlepszym terminem siewu sorga jest okres od 20 maja do 10 czerwca i nie należy go przyspieszać. Również Machul (2008) zaznacza, że optymalny termin siewu przypada między 20 maja a 5 czerwca.

Współdziałanie trzech czynników doświadczenia wykazało, że najlepszym wariantem była uprawa odmiany SorhoSupersile, wysianej w terminie optymalnym, nawożonej nawozami NPK w dawkach: 100–50–100 kg · ha<sup>-1</sup>. Natomiast najmniej korzystnym okazał się wysiew odmiany Rona 1, w terminie przyspieszonym, z optymalną dawką nawożenia i zostało to udowodnione statystycznie.

## WNIOSKI

1. Wysiew sorga w dwóch terminach: przyspieszonym i optymalnym różnicuje wielkość plonów. Wysiewając sorgo w III dekadzie maja, plon uzyskanej biomasy był istotnie wyższy w porównaniu z plonem sorga wysianego w terminie przyspieszonym.

2. Dawka nawożenia NPK 100–50–100 kg · ha<sup>-1</sup> spełnia wymagania pokarmowe roślin i nie jest konieczne zwiększanie tej dawki.

3. Najlepiej plonującą odmianą była Sucrosorgo 506, najgorzej Rona 1.

## PIŚMIENNICTWO

- Barbanti L., Grandi S., Vecchi A., Venturi G., 2006. Sweet and fibre sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), energy crops in the frame of environmental protection from excessive nitrogen loads. *Eur. J. Agron.* 25: 30–39.
- Buxton D.R., Anderson I.C., Hallam A., 1999. Performance of sweet and forage sorghum grown continuously, double-cropped with winter rye, or in rotation with soybean and maize. *Agron. J.*, 91: 93–101.
- Fotyła M., Fotyła E., 1998. Dobra praktyka w nawożeniu. Dobre praktyki rolnicze w produkcji rolniczej. Materiały konferencji naukowej, Puławy: 71–93.
- Gosek S., 2007. Sorgo – egzotyczna, afrykańska trawa. IUNG-PIB Puławy: 24–27.
- Hołubowicz-Kliza G., 2007. Uprawa sorga cukrowego w technologii „mix cropping”. IUNG – PIB: 12.
- Kaczmarek S., Matysiak K., Krawczyk R., 2009. Badania nad chemicznym odchwaszczeniem sorga zwyczajnego (*Sorghumvulgare* PERZ.). *Acta Sci. Pol., Agricultura*, 8(1): 27–35.
- Machul M., 2008. A może sorgo? *Kukurydza*, 2: 43–44.
- Machul M., Książak J., 2004. Ocena poziomu plonowania sorga w zależności od sposobu siewu i poziomu nawożenia azotem. Sprawozdanie z badań IUNG Puławy, [www.nk.com/media/92850/sorgo%20iung.pdf](http://www.nk.com/media/92850/sorgo%20iung.pdf)
- Reed C.F., 1976. Information summaries on 1000 economic plants. Typescripts submitted to the USDA: 102–103.
- Śliwiński B.J., Brzóska F., 2006. Historia uprawy sorgo i wartość pokarmowa tej rośliny w uprawie na kiszonkę. *Post. Nauk Rol.*, 1: 25–37.

- Sowiński J., Liszka-Podkowa A., 2008. Wielkość i jakość plonu świeżej i suchej masy kukurydzy (*Zea mays* L.) oraz sorga cukrowego (*SorghumBicolor* (L.) Moench) na glebie lekkiej w zależności od dawki azotu. *Acta. Sci. Pol., Agricultura*, 7: 105–115.
- Zielewicz W., Kozłowski S., 2008. Ograniczenie nawożenia a skład chemiczny sorga cukrowego. *Łąkarstwo w Polsce/ Grassland Science in Poland*, 11, Poznań: 223–235.

## **YIELD OF SORGHUM'S VARIETIES DEPENDING ON SOWING DATE AND FERTILIZATION**

### **S u m m a r y**

The objective of three-factor field experiment conducted in 2009–2011 was to determine the effect of two sowing date (1st and 2nd decade of May), two NPK fertilization rates (100–50–100 and 150–75–150 kg·ha<sup>-1</sup>) and three sorghum varieties (Sucrosorgo 506, SorhoSupersile, Rona 1) on its yielding. The acceleration of sowing did not affect positively sorghum biomass yields. The highest yields were obtained from Sucrosorgo 506 variety while the lowest one from Rona 1 variety.

**KEY WORDS:** sorghum, biomass yield, sowing date, fertilization, varieties

## RECENZENCI – REVIEWERS

- Kazimierz Adamczewski  
Instytut Ochrony Roślin – PIB w Poznaniu
- Jadwiga Anioł-Kwiatkowska  
Uniwersytet Wrocławski
- Andrzej Blecharczyk  
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
- Justyna Chudecka  
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie
- Jacek Czekala  
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
- Krzysztof Domaradzki  
Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa – PIB w Puławach
- Renata Gaj  
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
- Kazimierz Grabowski  
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
- Stefan Grzegorzcyk  
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
- Dariusz Jaskulski  
Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich  
w Bydgoszczy
- Jan Kapeluszy  
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
- Bogdan Klepacki  
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
- Tadeusz Korniak  
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
- Joanna Kostecka  
Uniwersytet Rzeszowski
- Krystian Kubica  
Politechnika Wrocławska

Jan Kuś

Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa – PIB w Puławach

Beata Kuziemska

Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach

Eugeniusz Kuźniewski

Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Aleksandra Łukaszewska

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Marek Marks

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Stefan Martyniuk

Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa – PIB w Puławach

Wiesław Musiał

Uniwersytet Rolniczy im H. Kołłątaja w Krakowie

Walenty Poczta

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Andrzej Radwan

Uniwersytet Rolniczy im H. Kołłątaja w Krakowie

Henryka Rola

Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa – PIB w Puławach

Józef Rola

Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa – PIB w Puławach

Beata Rutkowska

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Jan Siciński

Uniwersytet Łódzki

Janina Skrzyczyńska

Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach

Piotr Sobkowicz

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Zofia Spiak

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Piotr Stypiński

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Barbara Symanowicz

Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach

Paweł Szot

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

---

Wiesław Szulc

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Czesław Ślusarski

Instytut Warzywnictwa im. Emila Chroboczka w Skierniewicach

Stanisław Urban

Uniwersytet Ekonomiczny we Wrocławiu

Maria Wanic

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Marianna Warda

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Marian Wesołowski

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Czesław Wołoszyk

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

Stanisław Wróbel

Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa – PIB w Puławach

Mirosław Wyszowski

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Sławomir Zawisza

Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich w Bydgoszczy