

rośliny energetyczne, kadm, ołów,
fitoremediacja, fotosynteza

Szymon RUSINOWSKI, Krzysztof SITKO**, Jacek KRZYŻAK, Dorota CISZEK,
Marta POGRZEBA*

ANALIZA WYBRANYCH PARAMETRÓW FIZJOLOGICZNYCH *MISCANTHUS X GIGANTEUS* ORAZ *SPARTINA PECTINATA* UPRAWIANYCH NA GLEBACH ZANIECZYSZCZONYCH METALAMI CIĘŻKIMI

Obecność metali ciężkich w glebie głównie związana jest z działalnością człowieka. Grunty rolne zanieczyszczone metalami ciężkimi nie nadają się do uprawy na cele żywnościowe, jednakże można wykorzystać je do produkcji biomasy, co promowane jest przez dyrektywy Unii Europejskiej. Uprawa roślin energetycznych takich jak *Spartina pectinata* czy *Miscanthus x giganteus*, może przynieść podwójną korzyść, zarówno poprzez produkcję biomasy, jak i wykorzystaniu jej w procesie oczyszczania gleby (proces fitoremediacji). Celem doświadczenia była ocena wybranych parametrów fizjologicznych *Spartina pectinata* oraz *Miscanthus x giganteus* uprawianych na glebach zanieczyszczonych metalami ciężkimi, poddanych działaniu różnych nawozów. W doświadczeniu analizowano parametry fizyko-chemiczne gleby oraz całkowitą i biodostępną zawartość Cd i Pb. Ponadto określono zawartość Cd i Pb w liściach roślin, wpływ metali na parametry fotosyntezy (A, E, g_s, WUE, F_v/F_m) oraz stężenie chlorofilu. Nawożenie miało wpływ na biodostępność analizowanych pierwiastków, jak i na zdolności do ich akumulacji przez rośliny, a tym samym na parametry fotosyntezy. Nawożenie zwiększało wartości parametrów fotosyntezy u miskanta, jednakże miało negatywny wpływ na te same parametry u spartiny. Zarówno u spartiny, jak i miskanta, obserwowano najwyższe zawartości chlorofilu pod wpływem nawożenia chemicznego. Największe zdolności do pobierania Cd i Pb stwierdzono u miskanta, przy równoczesnym braku wpływu na aparat fotosyntetyczny, co przy jego zdolnościach do większej produkcji biomasy czyni go potencjalnie lepszym gatunkiem do uprawy na terenach zanieczyszczonych metalami ciężkimi.

** Katedra Fizjologii Roślin, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Śląski w Katowicach, ul. Jagiellońska 28, 40–032 Katowice.

* Instytut Ekologii Terenów Uprzemysłowionych w Katowicach, ul. Kossutha 6, 40–844 Katowice, rusinowski@ietu.katowice.pl.

1. WSTĘP

Gleba jest środowiskiem, które może być zanieczyszczone wieloma różnym związkami lub/i toksycznymi pierwiastkami. Zanieczyszczenia te mogą mieć pochodzenie antropogeniczne (huty, kopalnie, pestycydy, rafinerie) lub środowiskowe (erupcje wulkaniczne) [2]. Zanieczyszczenia w glebie stanowią poważny problem, ponieważ pośrednio mogą być szkodliwe dla człowieka wpływając na jakość i ilość produktów rolniczych [24].

Biomasa jest to materia organiczna pochodzenia roślinnego (drzewa, rośliny jednoroczne, rośliny wieloletnie, glony) powstała w wyniku fotosyntezy na drodze konwersji CO₂, wody oraz energii słonecznej w węglowodany, które są głównym składnikiem budującym strukturę tkanek roślinnych [21]. W dobie pogłębiającego się kryzysu klimatycznego i wyczerpywania paliw kopalnianych, wdrażanie każdej technologii, umożliwiającej produkcję czystej energii jest pożądane. Ograniczenie wykorzystania paliw kopalnych na rzecz biomasy, jest jedną z możliwości przeciwstawiania się globalnemu ociepleniu.

Dyrektywa Unii Europejskiej (2009/28/EC) odnosząca się do odnawialnych źródeł energii (RES) dotyczy promowania strategii proekologicznych wśród państw członkowskich [11]. Państwa te zobowiązane są do zwiększania udziału źródeł odnawialnych w gospodarce energetycznej do 20% z końcem 2020 roku. Dyrektywa ta ponadto zawiera informację na temat kategorii terenów, na których produkcja biomasy jest niewskazana - należą do niej głównie tereny bardzo żyzne oraz charakteryzujące się dużą bioróżnorodnością. Tym samym dyrektywa ta pośrednio zaleca uprawę roślin energetycznych na zanieczyszczonych glebach rolniczych oraz gruntach marginalnych niskiej klasy [27].

Uprawa roślin energetycznych na glebach zanieczyszczonych metalami ciężkimi, poza zagospodarowaniem gruntów nienadających się do produkcji rolnej, może również poprzez naturalne ich zdolności do pobierania metali ciężkich przyczyniać się do oczyszczania gleb (proces fitoremediacji) [31]. Fitoremediacja gleb skażonych metalami ciężkimi może przebiegać w dwojaki sposób, zależnie od rodzaju zanieczyszczeń oraz uprawianego gatunku rośliny. Rośliny mogą stabilizować metale ciężkie w obrębie korzeni, tym samym ograniczając ich migrację w głąb struktury gleby, równocześnie chroniąc ją przed erozją. Alternatywnie rośliny mogą być zdolne do ekstrakcji metali ciężkich z gleby, co może być związane z poprawą jej jakości [26]. Rośliny energetyczne nie są hiperakumulatorami, jednakże dzięki swoim naturalnym zdolnościom do produkcji dużych ilości biomasy mogą całościowo ekstrahować większe ilości zanieczyszczeń [22].

Miscanthus x giganteus to wieloletnia trawa rozmnażająca się poprzez kłącza, zdolna do przeprowadzania fotosyntezy typu C₄. Miskant olbrzymi jest triploidalną sterылną hybrydą diploidalnego *Miscanthus sinensis* oraz tetraploidalnego *Miscanthus sacchariflorus* pochodzących z Japonii [34]. Należy do roślin energetycznych drugiej

generacji co oznacza, że plon nie jest wykorzystywany wyłącznie do produkcji bioetanolu i z powodzeniem po wysuszeniu może być wykorzystywany w elektrowniach i elektrociepłowniach jako paliwo. Miskant poza zdolnością do produkcji dużych ilości biomasy posiada jeszcze inne zalety - zdolność do transportu związków mineralnych do kłacza przed zimowaniem, wysoki współczynnik wykorzystania wody, a ponadto jego plon charakteryzuje się bardzo wysoką kalorycznością [30]. Uprawa miskanta w klimacie umiarkowanym wiąże się jednak z szeregiem trudności, takich jak: wysoki koszt założenia plantacji oraz niska przeżywalność sadzonek po pierwszej zimie od założenia plantacji [19].

Spartina preriowa (*Spartina pectinata*), tak jak miskant olbrzymi, jest wieloletnią trawą rozmnażającą się przez kłacza, jednak w przeciwieństwie do miskanta olbrzymiego może również rozmnażać się generatywnie. Ponadto jest rośliną przeprowadzającą fotosyntezę typu C4 [35]. Naturalnie występuje na szerokości geograficznej 61 N, na obszarze Ameryki Północnej. Rośnie najlepiej na terenach podmokłych i wykazuje tolerancję w stosunku do gleb zasadowych. Spartina tak, jak i miskant olbrzymi transportuje związki odżywcze do kłaczy podczas spoczynku zimowego.

Pomimo wielu podobieństw spartina preriowa wytwarza mniej biomasy w porównaniu do miskanta olbrzymiego, średni roczny plon z ha wynosi dla tych gatunków odpowiednio 12 t/ha oraz 25 t/ha [12].

W związku z dużym zapotrzebowaniem na produkcję roślin na cele użytkowe, na całym świecie rolnicy zaczęli stosować różne zabiegi agrotechniczne mające na celu zwiększenie ilości oraz jakości plonu. Najbardziej powszechną metodą poprawiającą jakość plonu jest stosowanie nawożenia chemicznego, którego wykorzystywanie od jego wynalezienia przez Justusa von Liebiga w 1842 r. ciągle wzrasta. Głównym celem nawozów chemicznych aplikowanych w rolnictwie jest zwiększanie przyswajalnych form związków mineralnych podczas rozwoju roślin. Ponadto nawozy mają za zadanie poprawiać parametry fizyko-chemiczne gleby. Najbardziej powszechnym nawożeniem chemicznym jest mieszanka azotu, fosforu i potasu, których proporcja w preparacie zależy od ich zawartości w glebie oraz wymagań pokarmowych uprawianej rośliny [15]. Nawożenie chemiczne ma również wiele skutków ubocznych, gdyż substancje nawozowe stosowane w nadmiarze mogą dostawać się do wód gruntowych lub migrować wraz ze spływem powierzchniowym, co w konsekwencji może prowadzić do eutrofizacji zbiorników wodnych. Alternatywą dla nawozów chemicznych są nawozy biologiczne pochodzenia naturalnego. Stosowanie tego typu nawożenia najczęściej w postaci obornika, nie jest tak wydajne jak nawożenie chemiczne. Ponadto stosowanie obornikaz nieznanego źródła może być ryzykowne w związku z potencjalnym występowaniem w nim patogenów, które mogą stanowić zagrożenie nie tylko dla roślin, ale również dla człowieka [23, 28].

Alternatywę dla chemicznych i organicznych nawozów pochodzenia naturalnego, mogą stanowić nawozy oparte na szczepionkach bakteryjnych, grzybowych lub bakte-

ryjno-grzybowych. Szczepionki tego typu zawierają selekcyjonowane szczepy mikroorganizmów posiadających cechy promujące ilość i jakość plonowania roślin. Najczęściej stosowanymi mikroorganizmami w szczepionkach są symbionty roślin. Tego typu nawożenie nie jest szkodliwe dla środowiska i jest tak samo wydajne jak nawożenie chemiczne [23]. Szczepionka przeważnie składa się z pożywki zawierającej źródło węgla, mikro- i makroelementy oraz inne związki potrzebne do rozwoju mikroorganizmów. Mikroorganizmy wykorzystywane w szczepionkach to efektywne mikroorganizmy (ang. effective microorganisms), które zostały zdefiniowane przez Higa [14], jako mieszanka naturalnie występujących mikroorganizmów, mających korzystny wpływ na środowisko glebowe oraz rośliny. Zalicza się do nich bakterie, grzyby mikroskopowe, promieniowce oraz drożdże, które stosowane są jako szczepionka mająca na celu zmianę różnorodności mikrobiologicznej oraz wpływ na interakcje w systemie gleba-roślina. Organizmy te zaangażowane są głównie w rozkład materii organicznej, co skutkuje zwiększeniem stężeń związków mineralnych wykorzystywanych przez rośliny. Szczepionki mikrobiologiczne mogą również składać się z ryzobakterii promujących wzrost roślin (ang. *Plant Growth-Promotin Rhizobacteria - PGPR*) lub/i arbuskularnych grzybów mikoryzowych (ang. *Arbuscular Mycorrhizal Fungi – AMF*), które również z powodzeniem wykorzystywane są jako indywidualne preparaty [1, 29]. Najbardziej znane szczepionki mikrobiologiczne dostępne na rynku jako preparaty probiotyczne dla roślin, składają się ze szczepów bakterii mlekowych oraz szczepów drożdży, jednakże dokładna przynależność gatunkowa wybranych szczepów jest tajemnicą handlową firm produkujących.

2. CEL I METODYKA BADAŃ

Celem doświadczenia była ocena wybranych parametrów fizjologicznych *Spartina pectinata* oraz *Miscanthus x giganteus* uprawianych na glebach zanieczyszczonych metalami ciężkimi, poddanych działaniu różnych nawozów.

2.1. OPIS TERENU BADAŃ

Eksperyment został przeprowadzony na poligonie doświadczalnym Instytutu Ekologii Terenów Uprzemysłowionych, na obszarze rolniczym, sąsiadującym z terenami poprzemysłowymi (50°20'43.0"N 18°57'19.6"E). Zanieczyszczenie gleby metalami ciężkimi było spowodowane opadem pyłu emitowanego w ubiegłym wieku przez nieistniejącą obecnie hutę cynku i ołowiu „Orzeł Biały”. Na tym terenie wykazano przekroczenie norm stężeń Pb i Cd dla gleb rolniczych według rozporządzenia Ministra Środowiska w sprawie standardów jakości gleby oraz standardów jakości ziemi (D.2002.

r.165 poz.1369). Wszystkie dane zostały zebrane w środku jednego sezonu wegetacyjnego (lipiec 2015). Średni opad i temperatura dla lipca według danych Instytutu Meteorologii i Gospodarki Wodnej (IMGW) wynosiły odpowiednio 65 mm, 20°C.

2.2. PLAN EKSPERYMENTU

Plantacja miskanta olbrzymiego (M) oraz spartiny (S) została założona w maju 2014 roku w trzech wariantach. Na każdym poletku doświadczalnym o wymiarach 4 m x 4 m zostało posadzonych 49 roślin. Pierwsze z poletek (M-K oraz S-K - kontrola) nie zostało poddane żadnemu nawożeniu i było kontrolą dla pozostałych wariantów doświadczenia. Na kolejnych poletkach wprowadzono nawożenie pogłównie komercyjnie dostępnym nawozem chemicznym. Nawóz stosowany był na rośliny w następujących proporcjach poszczególnych składników: M-NPK : N – 70 kg/ha; P – 30 kg/ha; K – 45 kg/ha; S-NPK: N – 80 kg/ha; P – 50 kg/ha; K – 75 kg/ha). Ostatnie z poletek (M-SCZ oraz S-SCZ) zostały poddane traktowaniu komercyjnie dostępną szczepionką mikrobiologiczną (Em Farma, Probiotics Polska). Traktowaniu poddano kłącza miskanta olbrzymiego oraz korzenie sadzonek spartiny przed posadzeniem, ponadto w sezonie wegetacyjnym raz w miesiącu szczepionka była aplikowana dolistnie (maj–październik). Prezentowane dane zostały zebrane z 3 losowo wybranych roślin na każdym z poletek.

2.3. PARAMETRY FIZYKO-CHEMICZNE GLEBY

W glebie wykonano oznaczenie odczynu ($n = 6$) w H_2O oraz przewodności elektrycznej (CPC-551, Elmetron, Polska). Pomiar wilgotności gleby wykonano metodą zaproponowaną przez Wilke [33].

Frację biodostępną Cd i Pb w glebie uzyskano poprzez ekstrakcję w 0,01M $CaCl_2$. Ekstrakcję metali prowadzono na wytrząsarce przez 2 godziny z 5 g suchej gleby w 30 ml 0,01 M $CaCl_2$. Następnie ekstrakt przesączono przez filtr bibułowy o gramaturze 84 g/m². W celu określenia całkowitej zawartości Cd i Pb próbki gleby ($n = 5$) i liści ($n = 5$) zostały poddane mineralizacji przy użyciu mineralizatora mikrofalowego (ETHOS 1, Milestone, Italy), a następnie wykonano oznaczenia przy pomocy płomieniowej spektrometrii absorpcji atomowej (iCE 3500 FAAS, Thermo Scientific).

2.4. WYBRANE FIZJOLOGICZNE PARAMETRY ROŚLIN

2.4.1. POMIAR PARAMETRÓW WYMIANY GAZOWEJ

Na każdej z roślin został wykonany pomiar parametrów wymiany gazowej tj. intensywność fotosyntezy (A), intensywność transpiracji (E) oraz przewodność szparkowa

(g_s). Pomiary zostały wykonane na pierwszym w pełni rozwiniętym liściu pędu (trzeci od góry). Pomiar został powtórzony 3 razy na trzech różnych pędach wybranych roślin (n = 27). Wszystkie pomiary zostały wykonane przy pomocy analizatora gazu w podczerwieni (LCpro⁺, ADC Bioscientific, Wielka Brytania) przy ustalonych parametrach komory pomiarowej (T = 22 °C, PAR = 1500 μmol E x m⁻² s⁻¹). Dodatkowo obliczony został fotosyntetyczny współczynnik wykorzystania wody jako iloraz intensywności fotosyntezy i intensywności transpiracji (WUE) .

2.4.2. POMIAR ZAWARTOŚCI CHLOROFILU

Zawartość chlorofilu zmierzona została przy pomocy chlorofilomierza (CL-01, Hansatech, Wielka Brytania). Pomiary zostały przeprowadzone na pierwszym w pełni rozwiniętym liściu (2 lub 3 od góry). Pomiary wykonane zostały w jednym powtórzeniu na dziesięciu liściach, każdej analizowanej rośliny (n = 20).

2.4.3. POMIAR FLUORESCENCJI CHLOROFILU A

Pomiar fluorescencji chlorofilu wykonany został na pierwszym w pełni rozwiniętym liściu (2 lub 3 od góry), pomiar wykonano na pięciu liściach każdej analizowanej rośliny (n = 15), przy pomocy przenośnego miernika fluorescencji chlorofilu (Pocket PEA, Hansatech Instruments, Wielka Brytania).

2.5. ANALIZA STATYSTYCZNA

Wyniki w pracy przedstawione są jako średnia z pomiaru ± błąd standardowy, istotność różnic pomiędzy wariantami została zweryfikowana przy użyciu testu post-hoc ANOVA, najmniejszych istotnych różnic (*eng. Less significant differences - LSD*) Fisher'a. Wszystkie obliczenia zostały wykonane przy pomocy programu Statistica 10 (Statsoft, USA).

3. WYNIKI BADAŃ I DYSKUSJA

3.1. CHARAKTERYSTYKA GLEBY

W eksperymencie wykazano, że mierzone wartości parametrów gleby tj. wilgotność i przewodność elektryczna nie wykazały istotnych statystycznie różnic pomiędzy poletkami, jednakże na odczyn gleby miał wpływ zarówno gatunek uprawianej rośliny jak

i rodzaj stosowanego nawożenia (tab. 1). Gleba na poletkach z miskantem charakteryzowała się nieznacznie niższym odczynem. Na poletkach z miskantem wykazano obniżenie się odczynu po zastosowaniu nawożenia (M-NPK) o około 5%, w porównaniu do poletka kontrolnego (M-K). Nie wykazano różnic istotnych statystycznie pomiędzy glebą z poletka M-K, a poletka M-SZC. W przypadku poletek ze spartiną niezależnie od wariantu doświadczenia stwierdzono obniżenie się odczynu gleby o około 3,5% w porównaniu do kontroli. Obniżenie odczynu gleby pod wpływem wprowadzenia nawożenia azotowego zostało wcześniej opisane w literaturze przez Czarneckiego i Durlinga [10] oraz przez Belaya i wsp. [6]. Zmiana odczynu związana jest z wykorzystaniem NH_4^+ jako źródła azotu w nawozach chemicznych, co skutkuje zakwaszeniem gleby poprzez jony H^+ [20]. Nieznaczne obniżenie pH na poletku S-SCZ mogło być związane z działalnością mikroorganizmów dostarczonych w szczepionce [17]. Różnice w pH gleby pomiędzy poletkami dwóch gatunków roślin również mogły być związane z mikroflorą korzeni [9].

W trakcie doświadczenia stwierdzono różnice pomiędzy całkowitą zawartością Cd i Pb w glebie (tab 1.) na poletkach z miskantem i spartiną. Pomędzy poletkami na których rosły rośliny tego samego gatunku nie wykazano różnic w zawartościach badanych metali. Różnice w całkowitej zawartości Pb i Cd mogą wynikać z nierównomiernego rozkładu zanieczyszczeń na badanym terenie co jest charakterystyczne dla gleb poddanych działalności hutnictwa metali nieżelaznych. Pomimo różnic w całkowitej zawartości metali w glebie (tab. 1) ich biodostępność jest zbliżona. W obrębie wszystkich analizowanych poletek stężenie biodostępnego Cd oscylowało w granicach 1 mg/kg s.m. gleby, natomiast stężenie Pb w granicach 1,4 mg/kg s.m. Obserwowano niższe zawartości biodostępnego Cd na poletkach M-K oraz M-SZC, co może świadczyć o wpływie nawożenia na zwiększenie biodostępności tego pierwiastka oraz niewątpliwym wpływie odczynu gleby. Wszystkie zawartości ołowiu, poza oznaczonymi w glebie na poletku M-K, nie różniły się pod względem statystycznym. Jenne i wsp. [16] stwierdziła, że mobilność metali ciężkich związana jest z kilkoma czynnikami w glebie, takimi jak odczyn potencjał redox, działalność mikroorganizmów oraz temperatura.

3.2. AKUMULACJA CD I PB W LIŚCIACH

Analiza kumulacji pierwiastków w liściach wykazała, że miskant w większym stopniu jest zdolny do kumulacji Cd i Pb niż spartina (tab. 2). Miskant na poletku kontrolnym (M-K) akumulował 12% więcej Cd i 45% więcej Pb niż spartina rosnąca w podobnych warunkach (S-K).

3.3. WYBRANE PARAMETRY FIZJOLOGICZNE ROŚLIN

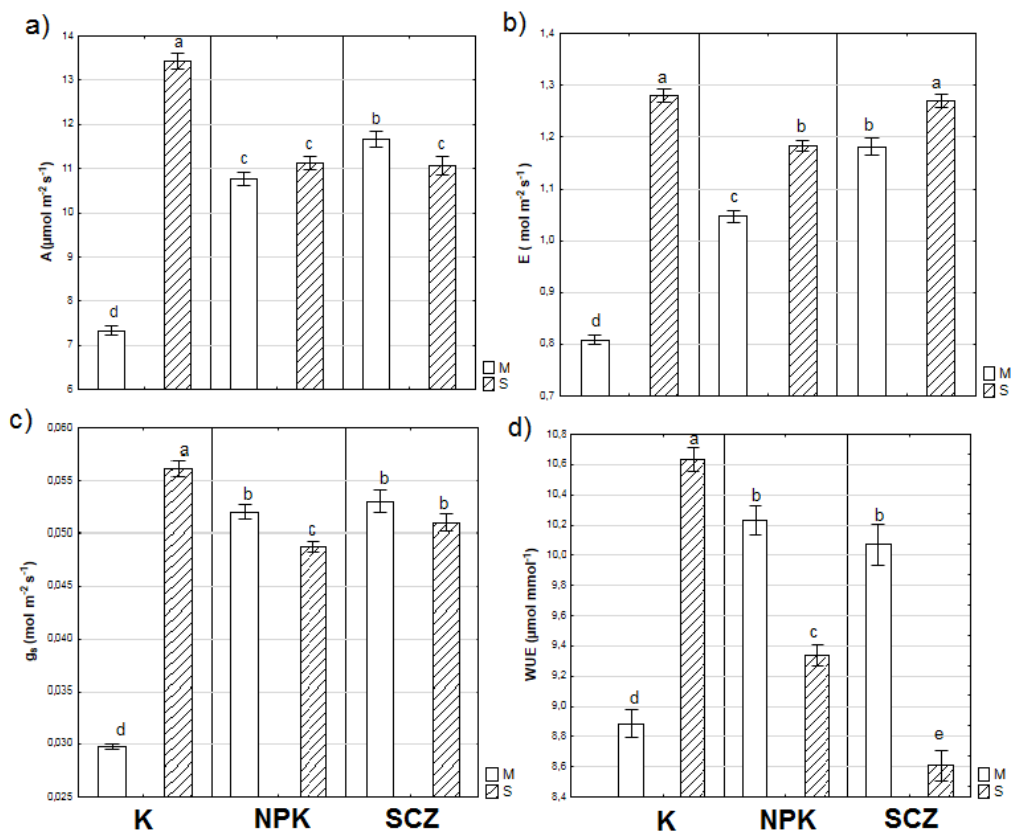
Spartina wykazywała wyższe wartości parametrów intensywności fotosyntezy, intensywności transpiracji, przewodności szparkowej oraz współczynnika wykorzystania wody (rys. 1). Na poletkach kontrolnych były one odpowiednio o 46%, 38%, 45% oraz 17% wyższe w porównaniu do miskanta. W wyniku zastosowania nawozu chemicznego jak i szczepionki dochodziło do obniżenia parametrów wymiany gazowej u *Spartiny* oraz podwyższenia wartości tych samych parametrów u miskanta. W wariantach z roślinami traktowanymi szczepionką mierzone parametry, poza intensywnością transpiracji, były wyższe u miskanta. Taką samą sytuację obserwowano na roślinach traktowanych nawożeniem chemicznym. Intensywność fotosyntezy pod wpływem nawożenia wzrosła u roślin na poletkach M-NPK i M-SCZ, odpowiednio o 47% i 60% w stosunku do kontroli. Natomiast dla *Spartiny* parametr ten uległ obniżeniu o 17% zarówno dla roślin na poletku S-NPK jak i S-SCZ. Najniższa intensywność transpiracji dla miskanta została zmierzona na poletku kontrolnym, w pozostałych wariantach obserwowano wzrost parametru o 29% dla roślin z poletka M-NPK oraz 47% dla roślin z poletka M-SCZ w stosunku do kontroli.

Tabela 1. Charakterystyka wybranych parametrów fizykochemicznych gleby oraz stężenia frakcji biodostępnej i całkowitej Cd i Pb w glebie

Parametry	WARIANTY DOŚWIADCZENIA					
	M-K	M-NPK	M-SCZ	S-K	S-NPK	S-SCZ
Całkowita zawartość Cd i Pb (mg·kg ⁻¹)						
Cd	18,32 ± 0,99a	19,49 ± 0,65a	19,37 ± 0,59a	12,64 ± 0,53b	13,04 ± 0,42b	12,96 ± 0,53b
Pb	429,89 ± 4,27a	466,29 ± 12,35a	441,51 ± 19,41a	282,13 ± 14,69b	287,49 ± 8,57b	278,45 ± 10,11b
Udział biodostępnej frakcji Cd i Pb (mg·kg ⁻¹)						
Cd	0,72 ± 0,06b	1,03 ± 0,03a	0,76 ± 0,07b	1,00 ± 0,09a	1,00 ± 0,07a	1,02 ± 0,02a
Pb	1,17 ± 0,04b	1,38 ± 0,05a	1,36 ± 0,07a	1,38 ± 0,02a	1,45 ± 0,05a	1,49 ± 0,04a
Wybrane parametry fizyko-chemiczne gleby						
Wilgotność (%)	4,54 ± 0,56b	6,06 ± 1,05ab	6,20 ± 1,32ab	8,21 ± 0,61a	6,86 ± 0,63ab	7,11 ± 0,60a
pH	6,97 ± 0,06a	6,72 ± 0,06b	7,07 ± 0,10a	6,66 ± 0,08b	6,45 ± 0,03c	6,40 ± 0,02c
EC (μS)	79,88 ± 7,12a	79,30 ± 5,24a	90,20 ± 8,95a	75,39 ± 1,34a	83,83 ± 2,05a	79,48 ± 0,41a

Tabela 2. Kumulacja Cd i Pb w liściach

	WARIANTY DOŚWIADCZENIA					
	M-K	M-NPK	M-SCZ	S-K	S-NPK	S-SCZ
Cd ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	$5,09 \pm 0,14\text{b}$	$5,10 \pm 0,14\text{b}$	$5,84 \pm 0,30\text{a}$	$4,44 \pm 0,21\text{c}$	$4,97 \pm 0,35\text{b}$	$4,90 \pm 0,25\text{b}$
Pb ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	$75,39 \pm 5,96\text{a}$	$75,55 \pm 2,12\text{a}$	$75,32 \pm 6,07\text{a}$	$41,21 \pm 3,84\text{b}$	$50,20 \pm 4,78\text{b}$	$65,97 \pm 2,76\text{a}$



Rys. 1. Intensywność fotosyntezy (a), Intensywność transpiracji (b), Przewodność szparkowa (c), Współczynnik wykorzystania wody (d)

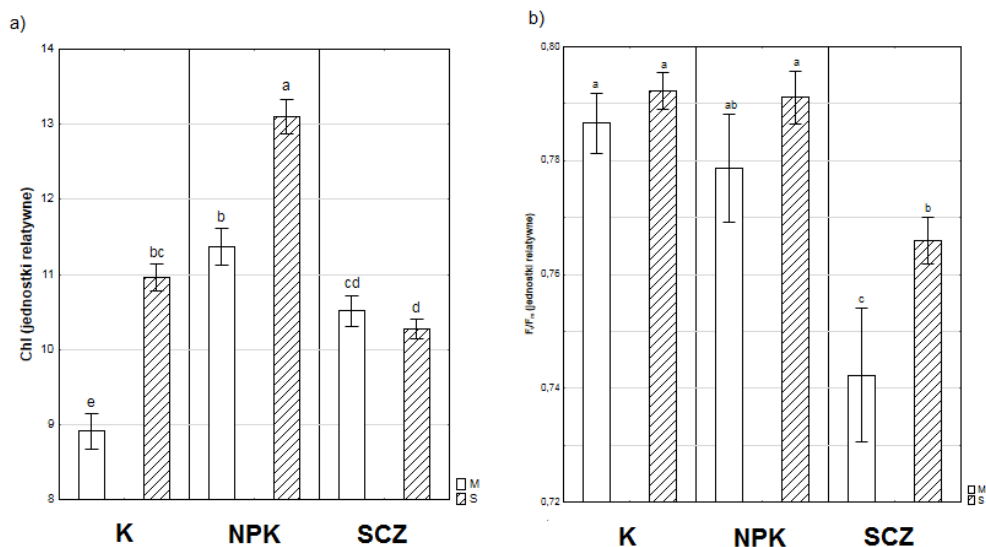
Dla spartiny nie obserwowano różnic pomiędzy wariantem kontrolnym a wariantem S-SCZ, jednakże stwierdzono niewielki (o 7%) spadek intensywności transpiracji dla roślin uprawianych na poletku S-NPK w porównaniu do kontroli. Przewodność szparkowa dla miskanta poddanego traktowaniu wzrosła o 76% w stosunku do kontroli, zarówno dla roślin na poletku M-NPK jak i M-SCZ. Dla spartiny parametr ten uległ obniżeniu pod wpływem nawożenia, o 12% na poletku S-NPK oraz o 9% na poletku S-SCZ. Współczynnik wykorzystania wody przez miskanta wzrósł pod wpływem traktowania nawozami o $1,3 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ w odniesieniu do kontroli, natomiast dla spartiny obserwowano spadek w obrębie tego parametru o $1,3 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ dla roślin na poletku S-NPK oraz o $2,1 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ dla roślin na poletku S-SCZ w odniesieniu do kontroli.

W literaturze udokumentowana jest zarówno zdolność miskanta olbrzymiego [3, 25], jak i spartiny [32, 35] do kumulacji Cd i Pb w liściach, a także podkreślany jest ich potencjał w fitoremediacji innych metali ciężkich [18]. W literaturze brak jednak informacji na temat wpływu wyżej wymienionych pierwiastków na parametry fotosyntezy u tych gatunków roślin. Jednakże istnieją doniesienia dotyczące parametrów wzrostowych, które są częściowo związane z parametrami fotosyntezy [3, 35].

W doświadczeniu obserwowano wyższe stężenie chlorofilu (rys. 2) w liściach spartiny na poletkach kontrolnych (wzrost o 22% w stosunku do kontroli) oraz traktowanych nawozem chemicznym (wzrost o 15% w stosunku do kontroli). Natomiast u roślin traktowanych szczepionką nie obserwowano różnic w stężeniu chlorofilu pomiędzy miskantem a spartiną. Stężenie chlorofilu w liściach miskanta przyjmowało najniższe wartości na poletku kontrolnym a zawartość chlorofilu u roślin na poletkach M-NPK oraz M-SCZ była wyższa odpowiednio o 28% i 18% w porównaniu do kontroli. Stężenie chlorofilu dla spartiny było niższe o 6% w liściach roślin traktowanych szczepionką, natomiast stężenie dla roślin na poletku M-NPK było wyższe o 20% w porównaniu do kontroli. Najwyższe wartości stężenia chlorofilu zarówno dla miskanta jak i dla spartiny obserwowano u rośliny traktowanych nawozem chemicznym, co świadczy o dużym znaczeniu NP w biosyntezie chlorofilu. Potwierdzają to wyniki badań przedstawione przez Bojovicia i Stojanovicia [7]. Parametr F_v/F_m (rys. 2) występuje w literaturze jako wskaźnik „żywności roślin” [13], a obliczany jest na podstawie parametrów mierzonych dla Fotosystemu II (PS II) za pomocą fluorymetru. W badaniach obserwowano brak istotnych różnic we wspomnianym parametrze dla obu gatunków na poletkach kontrolnych oraz traktowanych nawozem chemicznym. Najniższe wartości dla obu roślin parametr F_v/F_m przyjmował na poletkach traktowanych szczepionką. Przepuszczalnie zjawisko to związane jest z uszkodzeniem PS II poprzez toksyczne oddziaływanie jonów ołowiu i kadmu [4, 5, 8]. Nawijając do wyników kumulacji Cd i Pb dla roślin traktowanych szczepionką można przypuszczać, że PS II miskanta jest bardziej wrażliwy na podwyższone stężenie kadmu w liściach, natomiast PS II spartiny na podwyższone stężenie zarówno Pb, jak i Cd w stosunku do roślin rosnących na innych poletkach.

W przedstawionych wynikach dla miskanta, rysuje się znaczący wzrost parametrów fotosyntezy na poletku M-SCZ, gdzie również widoczna jest najwyższa akumulacja Cd

w liściach. Arduini i wsp. [3] wykazali promujący wpływ Cd na wzrost miskanta, kiedy wprowadzany był do pożywki w niskich dawkach. W podobnych doświadczeniach przeprowadzonych na spartynie nie wykazano jednak promującego wpływu kadmu na ilość produkowanej biomasy [35].



Rys 2. Stężenie chlorofilu (a), F_v/F_m (b)

4. WNIOSKI

Przeprowadzone badania pozwoliły na sformułowanie następujących wniosków:

- Wpływ stosowanych nawozów na rośliny jest specyficzny gatunkowo, proces fotosyntezy jest intensywniejszy pod wpływem nawożenia u miskanta, podczas gdy u spartiny obserwowano zjawisko odwrotne,
- Szczepionka mikrobiologiczna wpływa na zwiększenie kumulacji Cd w liściach roślin niezależnie od gatunku,
- Nawożenie NPK w znaczącym stopniu zwiększa zawartość chlorofilu w liściach obu gatunków roślin,
- Miskant olbrzymi w większym stopniu akumuluje Cd i Pb w liściach w porównaniu do spartiny,
- Pomimo większej zawartości Cd i Pb w liściach miskanta olbrzymiego nie wykazano znaczących uszkodzeń w aparacie fotosyntetycznym,
- Większa produkcja biomasy miskanta olbrzymiego w porównaniu do spartiny świadczy o jego większym potencjale fitoremediacyjnym i zdolnościach adaptacyjnych na terenach zanieczyszczonych metalami ciężkimi.

Przedstawione wyniki zostały wykonane w Instytucie Ekologii Terenów Uprzemysłowionych w ramach pracy finansowanej z dotacji Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego oraz projektu „Phyto2Energy”, realizowanego w ramach działań Marie Curie – Skłodowskiej 7 Programu Ramowego UE.

LITERATURA

- [1] ADESEMOYE A.O., TORBERT H.A., KLOEPPER J.W., *Enhanced plant nutrient use efficiency with PGPR and AMF in an integrated nutrient management system*, Canadian Journal of Microbiology, 2008, Vol. 54 No. 10, 876–886.
- [2] ALLOWAY B.J., *The origin of heavy metals in soils* [w:] Heavy metals in soil, pod red. B.J. Alloway, Chapman and Hall, Wielka Brytania 1995, 38–58.
- [3] ARDUINI I., MASONI A., MARIOTTI M., ERCOLI L., *Low cadmium application increase miscanthus growth and cadmium translocation*, Environmental and Experimental Botany, 2004, Vol. 52, No. 2, 89–100.
- [4] AZIZ T., AHMAD B., ASHRAF M., ARIFEEN M. Z.U., NAWAB S., NABI G.A., *Mini Review on Lead (Pb) Toxicity in Plants*, Journal of Biology and Life Science, 2015, Vol. 6, No. 2, 91–101.
- [5] BASZYŃSKI T., *Interference of Cd²⁺ in functioning of the photosynthetic apparatus of higher plants*, Acta Societatis Botanicorum Poloniae, 2014, Vol. 55, No. 2, 291–304.
- [6] BELAY A., CLAASSENS A., WEHNER F.C., *Effect of direct nitrogen and potassium and residual phosphorus fertilizers on soil chemical properties, microbial components and maize yield under long-term crop rotation*, Biology and Fertility of Soils, 2002, Vol. 35, No. 6, 420–427.
- [7] BOJOVIĆ B.M., STOJANOVIĆ J., *Chlorophyll and carotenoid content in wheat cultivars as a function of mineral nutrition*, Archives of Biological Sciences, 2005, Vol. 57 No. 4, 283–290.
- [8] BURZYŃSKI M., KŁOBUS G., *Changes of photosynthetic parameters in cucumber leaves under Cu, Cd, and Pb stress*, Photosynthetica, 2004, Vol. 42, No. 2, 505–510.
- [9] CUTLER N.A., CHAPUT D.L., VAN DER GAST C.J., *Long-term changes in soil microbial communities during primary succession*, Soil Biology and Biochemistry, 2014 Vol. 69, 359–370.
- [10] CZARNECKI S., DÜRING R.A., *Influence of long-term mineral fertilization on metal contents and properties of soil samples taken from different locations in Hesse, Germany*, SOIL, 2015, Vol. 1, No. 1, 23–33.
- [11] Directive 2009/28/EC of the European Parliament and of the Council of 23 April 2009 on the promotion of the use of energy from renewable sources and amending and subsequently repealing Directives 2001/77/EC and 2003/30/EC.
- [12] EL BASSAM N., *Energy crops guide* [w:] Handbook of bioenergy crops, pod red N. El Bassam, Earthscan, Wielka Brytania 2010, 93–399.
- [13] HIDA E.Z., ÇAKO V., BABANI F., KARAJA T., *The Influence of Stress Analyzed By The Emitted Fluorescence Changes*, IOSR Journal of Engineering, 2014, Vol. 4, No.4, 38–43.
- [14] HIGA T., PARR J., *Beneficial and effective microorganisms in a sustainable agriculture and environment*, Technology trends, 1995, Vol. 9, 1–5.
- [15] HIGNETT T.P., *History of chemical fertilizers*, [w:] Fertilizer Manual, pod red. T.P. Hignett, Springer, Holandia 1985, 3–10.
- [16] JENNE E.A., BACCINI P.J., BAULD BRUMMER G.W., CHAU Y.K., FRIMMEL F.H., GAMBLE D.S., KABATA-PENDIAS A., KANE P.F., LECKIE J.O., MULLER G.K., PROSI F.P., TOBSCHALL H.J., *Chemical species in freshwater and terrestrial systems*, [w:] The Importance of chemical “Speciation” in Environmental Processes, pod red. M. Bernhard, F.E. Brickman, P.J. Sadler, Springer-Verlag, Berlin 1984, 121–149.

- [17] JEONG S., MOON H.S., NAM K., KIM J.Y., KIM T.S., *Application of phosphate-solubilizing bacteria for enhancing bioavailability and phytoextraction of cadmium (Cd) from polluted soil*, Chemosphere, 2012, Vol. 88, No. 2, 204–210.
- [18] KORZENIOWSKA J., STANISLAWSKA-GLUBIAK E., *Phytoremediation potential of Miscanthus × giganteus and Spartina pectinata in soil contaminated with heavy metals*, Environmental Science and Pollution Research, 2015, 1–10.
- [19] LEWANDOWSKI I., CLIFTON-BROWN J.C., SCURLOCK J.M.O., HUISMAN W., *Miscanthus: European experience with a novel energy crop*, Biomass and Bioenergy, 2000, Vol. 19, No. 4, 209–227.
- [20] MAGDOFF F., LANYON L., LIEBHARDT B., *Nutrient cycling, transformations, and flows: implications for a more sustainable agriculture*, Advances in agronomy (USA) (1997).
- [21] MCKENDRY P., *Energy production from biomass (part 1): overview of biomass*, Bioresource technology, 2002, Vol. 83, No. 1, 37–46.
- [22] MEERS E., VAN SLYCKEN S., ADRIAENSEN K., RUTTENS A., VANGRONSVELD J., DU LAING G., WITTERS N., THEWYS T., TACK, F.M.G., *The use of bio-energy crops (Zea mays) for 'phytoattenuation' of heavy metals on moderately contaminated soils: a field experiment*, Chemosphere, 2010, Vol. 78, No. 1, 35–41.
- [23] MIRANSARI, M., *Soil microbes and plant fertilization*, Applied microbiology and biotechnology, 2011, Vol. 92, No. 5, 875–885.
- [24] NICHOLSON F.A., SMITH S.R., ALLOWAY B.J., CARLTON-SMITH C., CHAMBERS B.J., *An inventory of heavy metals inputs to agricultural soils in England and Wales*, Science of the total environment, 2003, Vol. 311, No. 1, 205–219.
- [25] POGRZEBA M., KRZYŻAK J., SAS-NOWOSIELSKA A., *Environmental hazards related to Miscanthus x giganteus cultivation on heavy metal contaminated soil*, In E3S Web of Conferences, 2013, Vol. 1, p. 29006, EDP Sciences.
- [26] SALT D.E., BLAYLOCK M., KUMAR N.P., DUSHENKOV V., ENSLEY B. D., CHET I., RASKIN I., *Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants*, Nature biotechnology, 1995, Vol. 13 No. 5, 468–474.
- [27] SCARLAT N., BANJA M., *Possible impact of 2020 bioenergy targets on European Union land use. A scenario-based assessment from national renewable energy action plans proposals*, Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2013, Vol. 18, 595–606.
- [28] STRAUCH D., *Survival of pathogenic micro-organisms and parasites in excreta, manure and sewage sludge*, Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics), 1991, Vol. 10, No. 3, 813–846.
- [29] TAHMATSIDOU V., O'SULLIVAN J., CASSELLS A.C., VOYIATZIS D., PAROUSSI G., *Comparison of AMF and PGPR inoculants for the suppression of Verticillium wilt of strawberry (Fragaria × ananassa cv. Selva)*, Applied Soil Ecology, 2006, Vol. 32, No. 3, 316–324.
- [30] TANG J., DAROCH M., KILIAN A., JEŻOWSKI S., POGRZEBA, M., MOS M. *DArT-based characterisation of genetic diversity in a Miscanthus collection from Poland*, Planta, 2015, Vol. 242, No. 4, 985–996.
- [31] VAN GINNEKEN L., MEERS E., GUISSON R., RUTTENS A., ELST K., TACK F.M., VANGRONSVELD J., DOELS L., DEJONGHE W., *Phytoremediation for heavy metal-contaminated soils combined with bioenergy production*, Journal of Environmental Engineering and Landscape Management, 2007, Vol. 15, No. 4, 227–236.
- [32] WEISS J.D., HONDZO M., SEMMENS M., *Storm water detention ponds: modeling heavy metal removal by plant species and sediments*, Journal of Environmental Engineering, 2006, Vol. 132, No. 9, 1034–1042.
- [33] Wilke B.M., *Determination of chemical and physical soil properties*, [w:] Monitoring and Assessing Soil Bioremediation, Springer, Berlin 2005, 47–95.
- [34] YAN J., CHEN W., LUO F.A.N., MA H., MENG A., LI X., ZHU M., LI S., ZHOU H., ZHUS W., GE S., LI J., SANG T., HAN B., *Variability and adaptability of Miscanthus species evaluated for energy crop domestication*, GCB Bioenergy, 2012, Vol. 4, No. 1, 49–60.

- [35] ZHANG C., GUO J., LEE D.K., ANDERSON E., HUANG H., *Growth responses and accumulation of cadmium in switchgrass (*Panicumvirgatum* L.) and prairie cordgrass (*Spartinapectinata* Link)*, RSC Advances, 2015, Vol. 5, No. 102, 83700–83706.

SELECTED PHYSIOLOGICAL PARAMETERS OF MISCANTHUS X GIGANTEUS AND SPARTINA PECTINATA CULTIVATED ON HEAVY METAL CONTAMINATED SOIL

Presence of heavy metals within the soil usually has anthropogenic origin. Arable soils contaminated with heavy metals are unsuitable for agriculture food production, however there is possibility to use this area for biomass production, what is promoted by European Union. Cultivation of *Spartina pectinata* and/or *Miscanthus x giganteus* can be dually beneficial in biomass production as well as in reclamation purposes in a way of phytoremediation. The aim of study was to assessment of *Spartina pectinata* and *Miscanthus x giganteus* selected physiological parameters when cultivated on heavy metal contaminated soil treated with different fertilizers. During experiment soil physico-chemical characterization, assessment of Cd and Pb total and bioavailable concentration as well as Pb and Cd leaves accumulation was conducted. Additionally, influence of heavy metals on selected photosynthetic parameters (A, E, g_s , WUE, F_v/F_m) and chlorophyll concentration was analyzed. Fertilization had impact on bioavailability of Cd and Pb, also on plant ability to accumulation it within the leaves what was resulting in photosynthesis apparatus affection. Fertilization increase the values of miscanthus photosynthetic parameters, however opposite effect was observed for cordgrass. Both plants had the greatest leaves chlorophyll concentration under NPK treatment. Miscanthus are capable of accumulate higher concentrations of Pb and Cd while absence of damage to photosynthetic apparatus. On the same time it higher capability to biomass production in compare to cordgrass, make this species better solution for biomass production on heavy metal contaminated lands.