

Katedra Mikrobiologii Rolniczej Akademii Rolniczej w Lublinie

ELŻBIETA WIELGOSZ

*Aktywność biochemiczna w osadach pościekowych
poddanych czteroletniej transformacji roślinnej*

Biochemical Activity in Post-Sewage Deposit Submitted to a Four-Year-Long
Plant Transformation

Rosnące z roku na rok ilości różnego rodzaju odpadów komunalnych i przemysłowych stwarzają konieczność ich utylizacji lub skutecznej neutralizacji. Jak wiadomo, wiele produkowanych przez człowieka odpadów zawiera bardzo szkodliwe dla otoczenia metale ciężkie (2, 12, 14, 19). Szczególnie wrażliwe nawet na niskie stężenia metali ciężkich są niektóre enzymy, które są produktem działalności życiowej mikroflory i mikrofauny, zasiedlające naturalne siedliska przyrodnicze. Wiadomo też, że od aktywności drobnoustrojów zasiedlających środowiska użytkowane rolniczo zależy ich przydatność rolnicza, jest więc rzeczą bardzo ważną aby pod tym względem nie następowały żadne zakłócenia (1, 4-9). Uważa się, że wskaźnikiem urodzajności gleb jest przede wszystkim obecność wystarczających liczebności drobnoustrojów pożytecznych z rolniczego punktu widzenia. Uważa się też, że te same rezultaty, a może nawet dokładniejsze, można osiągnąć oznaczając nie liczebności poszczególnych zespołów drobnoustrojów, ale ich aktywność biochemiczną i enzymatyczną (3, 10, 15, 17, 18, 20). Celem niniejszego opracowania naukowego było zatem zbadanie aktywności biochemicznej i aktywności wybranych enzymów – dehydrogenaz, produkowanych przez drobnoustroje glebowe w osadach pościekowych poddanych czteroletniej transformacji pod uprawą niektórych roślin

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Badania prowadzono na poletkach osadowych założonych przez pracowników naukowych Katedry Szczegółowej Uprawy Roślin AR w Lublinie, zlokalizowanych w Oczyszczalni Ścieków „Hajdów” w Lublinie. Na poletkach tych, założonych na madzie rzecznej, z której usunięto 50 cm warstwę wierzchnią, a na to miejsce wyłożono osad ścieków komunalnych, posadzono następujące rośliny: ślazowiec pensylwański (*Sida hermaphrodita* Rusby), topinambur (*Helianthus tuberosus*) oraz wiklinę koszykarską (*Salix viminalis*). Próbkki do badań biochemicznych i mikrobiologicznych pobierano w określonych terminach spod wymienionych roślin. Wyniki badań mikrobiologicznych zostały opublikowane w odrębnej publikacji naukowej (18).

W niniejszej pracy przedstawiono nasilenie procesu amonifikacji i nitryfikacji, aktywność oddechową mierzoną ilością wydzielonego dwutlenku węgla zgodnie z metodą R ü h l i n g a i wsp. (13) oraz aktywność dehydrogenaz wg metody T h a l m a n n a (16). Aktywność pozostałych enzymów (proteaz, ureazy oraz fosfatazy kwasnej) będzie przedstawiona w odrębnej publikacji.

Nasilenie procesu amonifikacji i nitryfikacji badano w 20 g nawązkach osadu lub gleby, zawierających 0,1% asparaginy w przypadku amonifikacji i 0,1% $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ przy określaniu nitryfikacji. Próbkki inkubowano w temperaturze około 20°C przez 2 dni – amonifikacja i 14 dni – nitryfikacja, po czym mierzono w nich zawartość $\text{N}-\text{NH}_4^+$ metodą nessleryzacji (11) oraz $\text{N}-\text{NO}_3^-$ metodą brucynową (11).

WYNIKI BADAŃ

W tab. 1 i 2 przedstawiono wyniki szczegółowych analiz, przeprowadzonych trzykrotnie w sezonie wegetacyjnym w okresie trzech lat badań. Dane te obrazują nasilenie procesu amonifikacji i nitryfikacji w inkubowanych w stałej temperaturze laboratoryjnej próbkach osadu pobieranego spod poszczególnych roślin doświadczalnych oraz kombinacji kontrolnych (kontrola I i II).

Z danych zamieszczonych w tab. 1 wynika, że w inkubowanych próbkach osadu, niezależnie spod jakiej rośliny został on pobrany, następowały bardzo silne wahania w intensywności amonifikacji. Wydaje się jednak bezsporne, że najsilniejszy proces amonifikacji wystąpił w osadzie kontrolnym (kontrola I), co mogłoby sugerować, że rośliny doświadczalne w jakiś sposób przyczyniły się do spowolnienia tego procesu w środowisku, na którym rosły. Jak się wydaje, najsilniej hamująco na proces amonifikacji w osadzie w okresie trzech lat oddziaływał topinambur, a najslabiej – ślazowiec pensylwański. Być może, zróżnicowane oddziaływanie roślin na zespoły amonifikatorów odegrało tu decydującą rolę, powodując selekcję wśród gatunków amonifikatorów o różnej sile tego procesu.

W tab. 2 przedstawiono szczegółowe wyniki nasilenia procesu nitryfikacji, jaki zachodził w pobranych próbkach osadu spod poszczególnych roślin doświadczalnych i inkubowanych w stałej temperaturze w laboratorium. Z przedstawionych danych liczbowych wynika, że proces ten – obserwowany po 14 dniach – ulegał w

Tab. 1. Okresowe nasilenie amonifikacji oraz wartości średnie, mg N-NH_4^+ w 1 g s. m. osadu lub gleby/2 dniTemporary increase of ammonification and mean values, mg N-NH_4^+ /1 g of dry mass of deposit or soil/2 days

Kombinacje doświadczalne	1996				1997				1998				Średnia trzyletnia
	1 VI	24 VII	4 X	średnia roczna	6 V	14 VII	12 IX	średnia roczna	11 V	13 VII	4 IX	średnia roczna	
Osad pod uprawą:													
• ślázowca pensywałńskiego	184,2	194,2	293,3	224,0	200,9	379,9	220,6	267,1	263,7	102,5	258,6	208,3	245,5
• topinambura	199,3	206,9	139,4	182,0	320,3	242,0	193,6	252,0	219,3	55,6	187,5	154,1	212,1
• wikliny koszykarskiej	205,2	198,1	114,4	172,6	304,7	244,0	255,1	267,9	325,8	171,2	214,7	237,2	237,3
Osad bez obsady roślin (kontrola I)	348,4	308,6	234,5	297,2	524,9	169,1	200,6	298,2	420,3	108,6	192,8	240,5	288,2
Gleba – mada lekka (kontrola II)	198,9	179,7	170,9	184,8	246,2	190,2	234,6	223,7	304,6	69,0	170,5	181,4	196,6

Tab. 2. Okresowe nasilenie nitryfikacji oraz wartości średnie, mg N-NO₃⁻ /l g s. m. osadu lub gleby/14 dniTemporary increase of nitrification and mean values, mg N-NO₃⁻ of dry mass of deposit or soil/14 days

Kombinacje doświadczalne	1996				1997				1998				Średnia trzyletnia
	1 VI	24 VII	4 X	średnia roczna	6 V	14 VII	12 IX	średnia roczna	11V	13 VII	4 IX	średnia roczna	
Osad pod uprawą:													
• ślázowca pensywałńskiego	372,8	111,2	52,8	178,9	130,5	150,9	221,3	167,6	273,6	227,3	121,8	207,6	184,7
• topinambura	113,9	212,1	127,9	151,3	144,5	152,7	133,2	143,5	319,8	125,5	85,6	177,0	157,3
• wikliny koszykarskiej	387,2	238,4	12,7	212,8	151,5	462,1	83,1	232,2	430,5	109,3	95,1	211,6	218,9
Osad bez obsady roślin (kontrola I)	440,5	305,1	60,1	268,6	111,2	300,4	122,7	178,1	209,1	88,9	82,6	126,8	191,2
Gleba – mada lekka (kontrola II)	168,7	192,2	203,0	188,0	142,1	231,1	160,4	177,9	134,1	179,2	32,0	115,1	160,3

Tab. 3. Okresowa aktywność oddechowa oraz wartości średnie, mg CO₂/100 g s. m. osadu lub gleby/24 h
 Temporary respiratory activity and mean values, mg CO₂/100g of deposit or soil/24 hrs

Kombinacje doświadczalne	1995			1996				1997				1998				Średnia 4-letnia
	16 V	9 X	średnia roczna	1 VI	24 VII	4 X	średnia roczna	6 V	14 VII	12 IX	średnia roczna	11 V	13 VII	4 IX	średnia roczna	
Osad pod uprawą:																
• ślázowca pensylwańskiego	312,0	107,0	209,5	186,5	62,5	71,0	106,7	149,0	59,5	18,0	75,5	77,5	78,5	79,0	78,3	117,5
• topinambura	274,5	94,5	184,5	147,0	42,0	55,0	81,3	160,5	34,0	41,0	78,5	71,0	80,0	220,5	123,8	117,3
• wikliny koszykarskiej	173,5	105,5	139,5	121,0	42,0	67,5	76,8	179,5	93,5	33,5	102,2	163,0	106,0	32,5	100,5	104,8
Osad bez obsady roślin (kontrola I)	190,5	66,5	128,5	145,5	47,5	41,5	78,2	167,0	46,5	30,5	81,3	73,5	69,0	32,0	58,2	86,6
Gleba – mada lekka (kontrola II)	34,0	14,5	24,3	31,5	19,0	27,5	26,0	69,0	10,0	11,0	30,0	26,5	22,5	22,0	23,7	26,0

Tab. 4. Okresowa aktywność dehydrogenaz oraz wartości średnie $\mu\text{g TPF/1 g s. m. osadu lub gleby/24 h}$
 Temporary activity of dehydrogenases and mean values, $\mu\text{g TPF/1 g of deposit or soil/24 hrs}$

Kombinacje doświadczalne	1995			1996				1997				1998				Średnia 4-letnia
	16 V	9 X	średnia roczna	1 VI	24 VII	4 X	średnia roczna	6 V	14 VII	12 IX	średnia roczna	11 V	13 VII	4 IX	średnia roczna	
Osad pod uprawą:																
• ślazowca pensylwańskiego	117,3	39,3	78,3	87,1	11,1	44,2	47,5	30,5	11,1	5,9	15,8	4,9	7,0	10,3	7,4	37,3
• topinambura	26,5	39,1	35,3	73,7	7,8	54,1	45,2	10,0	19,3	14,3	14,5	6,7	11,9	37,6	18,7	28,4
• wikliny koszykarskiej	31,5	28,6	27,6	32,3	4,8	38,0	25,0	7,4	19,9	5,3	10,9	4,7	7,5	7,6	6,6	17,5
Osad bez obsady roślin (kontrola I)	24,1	7,6	15,9	27,7	15,1	19,5	20,8	8,0	34,3	4,5	15,6	6,7	11,0	1,8	6,5	14,7
Gleba – mada lekka (kontrola II)	3,0	3,6	3,3	4,5	7,3	8,7	6,8	5,6	5,9	3,1	4,9	1,9	4,7	2,0	2,9	4,5

poszczególnych latach dużemu zróżnicowaniu. Wydaje się, że w porównaniu z osadem kontrolnym (kontrola I) tylko w osadzie pobranym spod wikliny w przekroju trzech lat proces nityfikacji był wyraźnie silniejszy, podczas gdy w osadzie spod ślázowca i topinambura był on niższy niż w osadzie kontrolnym. Wyniki te trudno zinterpretować z uwagi na bardzo specyficzne wymagania środowiskowe bakterii nityfikacyjnych, które jak wiadomo nie tolerują w swoim otoczeniu wolnej substancji organicznej i są wrażliwe na zakwaszenie środowiska, obecność metali ciężkich i ograniczenie w dostępie do tlenu. Być może, także zjawiska sorpcji i innych procesów fizykochemicznych zachodzących w badanych osadach odegrały tu pewną rolę.

W próbkach osadów pobieranych spod poszczególnych roślin doświadczalnych oznaczano także wydzielanie dwutlenku węgla, traktując to jako miernik aktywności oddechowej drobnoustrojów. Wyniki tych pomiarów zestawiono w tab. 3. Jak wynika z tabeli, następowały bardzo silne wahania w ilości wydalonego dwutlenku węgla, tak że trudno doszukać się tu jakiejś prawidłowości. Niemniej widać, że najsilniejsze wydzielanie CO₂ występowało w początkowym okresie badań (rok 1995), po czym stopniowo malało i tylko w osadzie spod wikliny wydzielanie CO₂ uległo wyraźnemu zintensyfikowaniu w r. 1997 przy nieznacznym spadku w końcowym roku oznaczeń tego procesu (1998). Natomiast w osadzie spod ślázowca i topinambura w r. 1997 wydzielanie CO₂ było najniższe, aby w roku następnym nieco wzrosnąć. Z zamieszczonych wartości średnich z czterech lat widać, że uprawiane na osadzie ścieków komunalnych rośliny przyczyniły się do zwiększenia procesów oddechowych w tym środowisku. Jak się wydaje, różnice w oddziaływaniu roślin w poszczególnych latach na procesy oddechowe były prawie identyczne, chociaż wyraźnie wyższe w porównaniu z osadem kontrolnym (bez obsady roślin – kontrola I).

Równoległe z analizami mikrobiologicznymi i biochemicznymi przeprowadzano także oznaczanie aktywności wybranych enzymów w pobieranych próbkach osadu. Wyniki aktywności dehydrogenaz zestawiono w tab. 4, natomiast pozostałych enzymów w odrębnej publikacji naukowej (w przygotowaniu do druku). Z wyników zamieszczonych w tab. 4 widać, że rośliny doświadczalne w różnym stopniu stymulowały aktywność dehydrogenaz. Na przykład w osadzie pod ślázowcem pensylwańskim aktywność tej grupy enzymów była najwyższa w pierwszym roku badań (1995), potem słabła z roku na rok, tak że w końcowym roku moich badań (1998) była ona najniższa. Podobny rozkład aktywności dehydrogenaz zanotowano w osadzie pod wikliną, chociaż na znacznie niższym poziomie. Nieco inaczej układała się aktywność tych enzymów w osadzie pod topinamburem, w którym najwyższa aktywność dehydrogenaz wystąpiła w drugim roku badań (1996), a minimalna – w roku 1997.

WNIOSKI

1. Rośliny doświadczalne przyczyniły się do spowolnienia nasilenia procesu amonifikacji w porównaniu z osadem kontrolnym. Maksimum aktywności tego procesu wystąpiło w drugim roku badań.

2. Niektóre z badanych roślin, a mianowicie ślazier pensylwański i topinambur, spowodowały spowolnienie nasilenia procesu nityfikacji, inne, jak np. wiklina koszykarska, wzmogły jego aktywność.

3. Rośliny doświadczalne w różnym stopniu stymulowały wydzielanie dwutlenku węgla oraz aktywność dehydrogenaz. W początkowym okresie badań zaobserwowano wyższe wydzielanie CO_2 , jak również wyższą aktywność dehydrogenaz niż w okresie późniejszym.

PIŚMIENNICTWO

1. Barabasz W.: Mikrobiologiczne przemiany azotu glebowego. Post. Mikrobiol., 31, 1992.
2. Baran S., Turski R.: Wybrane zagadnienia z utylizacji i unieszkodliwiania odpadów. WAR Lublin 1995.
3. Domżał H., Bielińska J.: Wpływ sposobu pielęgnacji i nawożenia na aktywność enzymatyczną gleby i zawartość mineralnych form azotu. Polish Journal of Soil Science. Soil Chemistry. 1998.
4. Gostkowska K., Wielgosz E.: Nityfikacja w różnych poziomach gleby brunatnej użytkowanej sadowniczo. Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska sectio E, vol. 49, Lublin 1994.
5. Haynes R. J.: Nitrification, Mineral nitrogen in the plant soil system. Academic Press, London 1986.
6. Kobus J.: Biologiczne procesy a kształtowanie żyzności gleby. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., z. 421a, 1995.
7. Kucharski J.: Relacje między aktywnością enzymatyczną a żyznością gleb. Drobnoustroje w środowisku, występowanie, aktywność i znaczenie. AR Kraków 1997.
8. Martyniuk S., Stachyra A., Wróblewska B., Zięba S.: Związki pomiędzy mikrobiologicznymi i enzymatycznymi właściwościami gleby a plonami ziemniaków. Drobnoustroje w środowisku, występowanie, aktywność i znaczenie. AR Kraków, 1997.
9. Mysków W.: Próby wykorzystania wskaźników aktywności mikrobiologicznej do oceny żyzności gleby. Post. Mikrobiol., 20, 1981.
10. Nowak A.: Pomiary oddychania w ocenie wpływu czynników środowiskowych na mikroflorę glebową. Post. Mikrobiol., 25, 1986.
11. Nowosielski O.: Metody oznaczania potrzeb nawożenia. PWRiL, Warszawa 1981.
12. Roszyk E., Roszyk S., Spiak Z.: Wartość nawozowa osadów ściekowych z niektórych oczyszczalni południowo-zachodniej Polski cz. I. Skład chemiczny osadów. Rocz. Glebozn., 38, 1987.
13. Rühling A., Tyler G.: Heavy Metal Pollutions and Decomposition of Spruce Needle Litter. Oikos, 24, 1973.
14. Siuta J.: Przyrodnicze zagospodarowanie osadów ściekowych. PWN, Warszawa 1988.

15. Stevenson I. L.: Dehydrogenase Activity in Soils. Can. J. Microbiol., 5, 1959.
16. Thalmann A.: Zur Metodik der Bestimmung der Dehydrogenase Aktivität in Boden mittels Triphenyltretrazoliumchlorid (TTC), Landwirtschaftliche Forschung, 21, 1968.
17. Wielgosz E.: Aktywność mikrobiologiczna i enzymatyczna w glebie brunatnej pod uprawą ślazuwca pensylwańskiego (*Sida hermaphrodita* Rusby) i topinambura (*Helianthus tuberosus*). Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska sectio E., vol. 54, Lublin 1999.
18. Wielgosz E.: Dynamika rozwoju różnych grup drobnoustrojów w osadach ścieków komunalnych pod obsadą niektórych roślin. Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska sectio E, vol. 55, Lublin 2000.
19. Wielgosz E., Gostkowska K., Świca M.: Wpływ niektórych odpadów organicznych na nityfikację w glebie brunatnej użytkowanej sadowniczo. Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska. sectio E. vol. 52. 1997.
20. Wielgosz E.: Liczebność i niektóre parametry aktywności drobnoustrojów w osadzie ścieków komunalnych pod uprawą różnych roślin. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 437, 1996.

SUMMARY

The studies were conducted for the period of 3-4 years on deposit plots (municipal sewage deposit), where *Sida hermaphrodita* Rusby, *Helianthus tuberosus* and *Salix viminalis* were planted, and on control plots – deposit with no plants and with the soil of light alluvial soil, on which the deposit plot was established.

The biochemical analyses referred to the intensity of ammonification and nitrification processes, intensity of CO₂ release and the activity of dehydrogenases.

The results showed that the experimental plants made the intensity of the ammonification process slower. Some of the examined plants (*Sida hermaphrodita* R. and *Helianthus tuberosus*) inhibited the intensity of the nitrification process, while others (for example *Salix viminalis*) increased its activity. The experimental plants stimulated CO₂ release and the activity of dehydrogenases in varying degrees. In the initial period of the studies higher activity of the examined processes was also observed.