

Siebielec Sylwia

Streszczenie rozprawy doktorskiej

**Ocena możliwości wykorzystania mikroorganizmów do poprawy efektywności
wybranych fitotechnologii w remediacji gleb i odpadów zanieczyszczonych metalami**

Słowa kluczowe: bakterie, bioróżnorodność, fitoremediacja, inokulacja, pierwiastki śladowe, składowiska odpadów pohutniczych

Składowiska odpadów pohutniczych oraz gleby skażone takimi pierwiastkami, jak cynk, ołów, kadm i arsen stanowią ważny środowiskowy problem na obszarach o dużym zagęszczeniu przemysłu hutniczego. Jedną z możliwości ograniczania negatywnego wpływu takich obszarów na środowisko i człowieka są działania remediacyjne z wykorzystaniem fitoremediacji. Polegają one na tworzeniu trwałej pokrywy roślinnej, ograniczającej dyspersję metali, co może być oparte na udziale zarówno roślin remediacyjnych, jak i roślinności spontanicznej. Rola mikroorganizmów w zasiedlaniu składowisk odpadów pohutniczych przez rośliny może być również znacząca, co nie zostało jednak w pełni rozpoznane. Bioróżnorodność mikroorganizmów rodzimych jest ponadto niezwykle istotna dla możliwości wyjaśnienia roli bakterii i grzybów w zasiedlaniu tego typu gleb i składowisk oraz jest źródłem szczepów mikroorganizmów przystosowanych do warunków stresowych i potencjalnie wspomagających rośliny.

Celem głównym badań było rozpoznanie roli mikroorganizmów w fitoremediacji gleb i składowisk odpadów pohutniczych zanieczyszczonych metalami (ołów, kadm, cynk, arsen) oraz możliwości ich wykorzystania do zwiększenia efektywności zabiegów fitoremediacyjnych. Do osiągnięcia celu głównego niezbędna była realizacja celów szczegółowych: (1) ocena wieloletniego wpływu fitostabilizacji składowiska odpadów z huty cynku i ołowiu w Piekarach Śląskich na aktywność enzymatyczną i metaboliczną bakterii; (2) identyfikacja i pozyskanie mikroorganizmów potencjalnie przydatnych w fitoremediacji; (3) ocena interakcji pomiędzy różnorodnością i aktywnością mikroorganizmów a rozwojem roślinności spontanicznie zasiedlającej niezrekultywowane składowiska odpadów pohutniczych; (4) ocena możliwości dodatkowego wspomaganie fitoremediacji składowisk odpadów pohutniczych przez zastosowanie odpornych na skażenie pierwiastkami chemicznymi bakterii, wyizolowanych z różnych zanieczyszczonych obiektów. Zakres pracy został

podzielony na trzy zadania badawcze. Każde zadanie odpowiadało poszczególnym celom szczegółowym oraz hipotezom badawczym postawionym w niniejszej dysertacji.

Pierwsze zadanie badawcze obejmowało badania próbek glebowych pochodzących ze składowiska żużli w Piekarach Śląskich, zrehabilitowanego w 1996r. przy wykorzystaniu osadów ściekowych i odpadowego wapna oraz wyselekcjonowanych odmian traw. Dotychczasowy monitoring badanego obiektu wskazywał na to, iż zastosowane metody rekultywacji zapewniają trwałe zagospodarowanie składowiska oraz ograniczenie ryzyka związanego z wtórną emisją zanieczyszczeń. Nie były jednak dostępne dane dotyczące aktywności biologicznej podłoża oraz występowania grup bakterii o funkcjach kluczowych dla odporności ekosystemu zrehabilitowanego składowiska, takich jak bakterie wiążące azot lub biorące udział w przemianach fosforu. Badania udowodniły, iż zastosowana metoda rekultywacji zapewnia trwałość funkcjonowania ekosystemu utworzonego na hałdzie odpadów, charakteryzującego się dużą różnorodnością mikroorganizmów, co dodatkowo wpływa na odporność pokrywy roślinnej na czynniki chemiczne i pogodowe. Aktywność i liczebność różnych grup mikroorganizmów były najwyższe na poletkach, na których zastosowano kombinacje osadu i wapna. Z uwagi na fakt, że zrehabilitowane hałdy nie są regularnie nawożone, kluczowe dla utrzymania roślinności ograniczającej rozprzestrzenianie się zanieczyszczeń są procesy mikrobiologicznego udostępniania azotu. Bakterie z rodzaju *Azotobacter* występowały wyłącznie na poletkach, na których zastosowano osad ściekowy w połączeniu z wapnem. Ponadto łączne zastosowanie osadu ściekowego i wapna zapewniało największą liczebność bakterii amonifikacyjnych. Wykazano również bardzo wyraźny przyrost różnorodności metabolicznej i genetycznej mikrobiomu gleb po zastosowaniu kombinacji osadów i wapna. Z poletek wyizolowano oraz zidentyfikowano bakterie biorące udział w przemianach i wiązaniu azotu oraz solubilizacji fosforu, które potencjalnie posiadają również inne mechanizmy wspomagania rozwoju roślin. Na podstawie uzyskanych danych można wnioskować, że stymulacja różnorodności i aktywności mikrobiologicznej na zrehabilitowanych gruntach jest konieczna dla osiągnięcia efektywności zabiegów.

W drugim zadaniu badawczym przyjęto założenie, że naturalne procesy zarastania składowisk przez rośliny mają duże znaczenie dla możliwości wyjaśnienia roli mikroorganizmów w zasiedlaniu hałd pohutniczych oraz ich interakcji z roślinami w procesach fitoremediacyjnych. W związku z tym, z dwu niezrehabilitowanych składowisk odpadów pohutniczych, znajdujących się w rejonie Piekar Śląskich, pobrano materiał roślinny oraz glebę ryzosferową spod roślin reprezentujących gatunki dominujące w naturalnych procesach zasiedlania. W próbkach glebowych oznaczone zostały właściwości chemiczne oraz ogólna

liczebność bakterii i grzybów oraz liczebność poszczególnych grup bakterii. Do identyfikacji molekularnej bakterii wykorzystano analizę sekwencjonowania następnej generacji (NGS), a różnorodność metaboliczną określono za pomocą metody Biolog®EcoPlates. Dodatkowo przeprowadzono biotest polegający na ocenie poziomu biosorpcji pierwiastków przez mikroorganizmy w strefie korzeniowej roślin. Zadanie wykazało, że udział bakterii dotychczas niesklasyfikowanych w glebie spod roślin był wysoki, szczególnie w odpadzie żużlowym na obszarze kontrolnym bez roślin. Świadczy to o specyficznej strukturze populacji bakterii na składowisku żużli. Procesy zasiedlania składowisk przez rośliny przekształcają mikrobiom gleby w bardziej zbliżony do charakterystycznego dla gleb. Można też zakładać, że interakcja roślin i mikroorganizmów stymuluje procesy wspomaganie rozwoju roślin, podobne do zachodzących w glebach. Actinobacteriota były najliczniejszym typem bakterii, stanowiącym nie mniej niż 25% całkowitej liczebności a spośród rodzajów bakterii najliczniej występowały *Blastococcus*, *Nocardioides* i *Pseudonocardia*. Badania wykazały, że interakcje między roślinami a mikroorganizmami prowadzą do akceleracji aktywności mikroorganizmów i zmian w potencjale wykorzystania różnych substratów węgla. Interakcje te prowadzą również do uruchamiania składników pokarmowych, w tym fosforu, potasu i azotu. Można przypuszczać, że te zjawiska umożliwiają przetrwanie roślinności w tym skażonym chemicznie i ubogim w składniki środowisku. Badania wykazały również istotny statystycznie wkład mikroorganizmów w biologiczne uwstecznianie pierwiastków śladowych.

Trzecie zadanie badawcze obejmowało ocenę efektywności wybranych szczepów bakterii w optymalizacji zabiegów fitostabilizacji odpadów pohutniczych. Zastosowane szczepy bakterii uprzednio wyizolowano ze zrekultywowanego składowiska w Piekarach Śląskich oraz zanieczyszczonych gleb w Hiszpanii. W doświadczeniu wazonowym przetestowano wpływ szczepów bakteryjnych na rozwój traw i rozpuszczalność pierwiastków w odpadzie żużlowym, do którego wprowadzono również powszechnie stosowane w fitostabilizacji dodatki doglebowe (kompost, fosforan wapnia, tlenek żelaza). Wszystkie testowane szczepy poprawiały jako samodzielny zabieg rozwój i plon życicy wielokwiatowej. Były również efektywne w dodatkowym wspomaganie rozwoju roślin na żużlu z dodatkiem kompostu oraz fosforanu wapnia. Badania wykazały, że istnieje możliwość dalszej poprawy skuteczności fitostabilizacji składowisk poprzez zastosowanie wybranych szczepów bakterii. Lepszy rozwój biomasy roślin na składowisku po ich zastosowaniu oznacza w praktyce większą trwałość i efektywność remediacji oraz ograniczenie dyspersji potencjalnie toksycznych pierwiastków ze składowiska.

Podsumowując, wyniki badań skłoniły do opracowania następujących wniosków końcowych:

- (1) Zastosowanie osadów ściekowych i wapna odpadowego w zabiegach remediacyjnych składowisk odpadów pohutniczych trwale odbudowuje aktywność biologiczną podłoża i funkcje gleby związane z aktywnością mikroorganizmów, zapewniając odporny na warunki środowiskowe ekosystem.
- (2) Interakcje pomiędzy mikrobiomem gleby a roślinami zasiedlającymi składowiska odpadów pohutniczych są kluczowe dla przywrócenia aktywności i różnorodności biologicznej oraz zapewnienia warunków dla wzrostu i rozwoju roślin na składowiskach, zarówno w podejściu fitostabilizacyjnym, jak i w naturalnych procesach zasiedlania składowisk przez rośliny.
- (3) Zastosowanie wyselekcjonowanych i odpornych na zanieczyszczenia szczepów bakterii może zwiększać efektywność zabiegów fitostabilizacji wspomaganej, poprzez wspomaganie rozwoju roślin oraz wpływ na biodostępność składników nawozowych i pierwiastków śladowych. Zastosowane zabiegi inokulacji odpadów pohutniczych pozytywnie wpływają na plon roślin w warunkach kontrolowanych, sygnalizując ich znaczny potencjał w optymalizacji procesów fitostabilizacyjnych.