

BARBARA MALISZEWSKA-KORDYBACH, BOŻENA SMRECAK

FITOTOKSYCZNE ODDZIAŁYWANIE WIELOPIERŚCIENIOWYCH WĘGLOWODORÓW AROMATYCZNYCH W GLEBACH O ZRÓŻNICOWANYCH WŁAŚCIWOŚCIACH*

Zakład Gleboznawstwa i Ochrony Gruntów IUNG w Puławach

WSTĘP

Obecność nadmiernych ilości trwałych zanieczyszczeń organicznych w glebach może stanowić zagrożenie nie tylko dla zdrowia ludzi (bezpośrednie pobieranie, przechodzenie do łańcucha pokarmowego), ale i dla biotycznych elementów ekosystemu glebowego, w tym także dla roślin [Cousins i in. 1997; Maliszewska-Kordybach 1998; Sims, Overcash 1983; Wild, Jones 1995]. Informacje o fitotoksycznym oddziaływaniu ksenobiotyków w środowisku glebowym są niezbędne przy ocenie ryzyka związanego z zanieczyszczeniem gleby oraz przy ustalaniu tzw. „wartości granicznych” określających limity „bezpiecznych” (nie powodujących skutków ekologicznych) zawartości tych związków w glebie. Ma to szczególne znaczenie w przypadku terenów wykorzystywanych rolniczo, gdzie wysoki poziom zanieczyszczeń może prowadzić do hamowania wzrostu roślin uprawnych i niekorzystnych zmian w plonowaniu.

Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) stanowią grupę związków zaliczanych do tzw. trwałych organicznych zanieczyszczeń (ang. *POPs* – *persistent organic pollutants*). Związki te występują powszechnie we wszystkich elementach środowiska naturalnego, ale większość ich gromadzi się w glebie [Cousins i in. 1997; Maliszewska-Kordybach 1998; Sims, Overcash 1983; Wania, Mackay 1996; Wild, Jones 1995]. O ile jednak problemy trwałości WWA w środowisku glebowym i ich biodegradacji były przedmiotem wielu prac, o tyle informacje na temat oddziaływania tych związków na drobnoustroje glebowe lub na rośliny są bardzo ograniczone.

Przeprowadzone badania miały na celu ocenę reakcji roślin na wpływ WWA z uwzględnieniem zależności fitotoksycznego oddziaływania WWA od właściwości gleby.

*Praca została wykonana w ramach projektu badawczego KBN 6PO4 031 12 .

MATERIAŁY I METODY

Gleby

W badaniach wykorzystano materiał glebowy pobrany z poziomu 0–20 cm gleb użytkowanych rolniczo z terenów nie narażonych bezpośrednio na oddziaływanie źródeł emisji WWA (woj. lubelskie). Wybrano trzy typy gleb o zróżnicowanych właściwościach fizykochemicznych (tab. 1): glebę brunatną (gleba B), rędzinę (gleba R) i czarnoziem (gleba C). Gleba brunatna o składzie granulometrycznym piasku słabo gliniastego charakteryzowała się odczynem kwaśnym ($\text{pH}_{\text{KCl}} = 5,5$) i niską zawartością węgla organicznego ($\text{C}_{\text{org.}} - 0,72\%$). Rędzina, o takim samym składzie granulometrycznym, miała nieco wyższą zawartość substancji organicznych ($\text{C}_{\text{org.}} - 1,04\%$) i odczyn obojętny ($\text{pH}_{\text{KCl}} = 6,9$). Czarnoziem miał również odczyn obojętny ($\text{pH}_{\text{KCl}} = 7,0$), ale skład granulometryczny pyłu ilastego i wysoką zawartość substancji organicznych ($\text{C}_{\text{org.}} - 3,21\%$).

Podstawowe właściwości (pH, zawartość części spławialnych i zawartość substancji organicznej) gleb B i R odpowiadały zaleceniom normy ISO 11269 (*Soil quality – determination of the effects of pollutants on soil flora*) [1995], jedynie w glebie C zawartość części spławialnych oraz zawartość substancji organicznej była nieco powyżej górnego limitu podanego w tej normie.

Rośliny

Do badań wybrano, zgodnie z zaleceniami normy ISO 11269 [1995], sześć roślin (tab. 2): trzy z klasy jednoliściennych: pszenicę (*Triticum vulgare* Vill.), owies (*Avena sativa* L.) i kukurydzę (*Zea mays* L.) oraz trzy z klasy dwuliściennych: pomidor (*Lycopersicon esculentum* Miller), fasolę (*Phaseolus vulgaris* L.) i słonecznik (*Helianthus annuus* L.).

Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne

W badaniach zastosowano cztery węglowodory z grupy WWA: fluoren, antracen, piren i chryzen. Ze względu na fakt, że środowisko glebowe zasadniczo nigdy nie jest zanieczyszczone pojedynczymi związkami z tej grupy [Cousins i in. 1997; Franzle i in. 1995; Jones i in. 1989; Maliszewska-Kordybach 1998; Maliszewska-Kordybach, Smreczak 1998; Sims, Overcash 1983; Wild, Jones 1995], do doświadczeń użyto ich mieszaniny. W badaniach zastosowano cztery poziomy zanieczyszczenia gleby przez WWA:

- 1 mg/kg – odpowiadający ekotoksykologicznemu kryterium zawartości WWA w glebie według propozycji duńskich [Jensen, Folkner-Hansen 1995] oraz granicznej zawartości WWA dla nie zanieczyszczonych gleb użytkowanych rolniczo według propozycji polskiej [Kabata-Pendias i in. 1995];
- 10 mg/kg – odpowiadający granicznej zawartości (ang. *guideline value*) WWA w glebach zabezpieczającej prawidłowy wzrost i jakość roślin według zaleceń niemieckich [Trenck i in. 1994];
- 50 mg/kg – odpowiadający granicznej zawartości (ang. *threshold value*) WWA w glebach na terenach wykorzystywanych jako ogrody i tereny rekreacyjne według zaleceń angielskich [Cousins i in. 1997; Maliszewska-Kordybach 1998];

TABELA 1. Charakterystyka gleb – TABLE 1. Characteristic of the soils

Właściwości gleby Soil properties	Gleby – Soils		
	Gleba brunatna Brown soil	Rędzina Rendzina	Czarnoziem Chernozem
Oznaczenia zastosowane w pracy Symbol used in the work	gleba B	gleba R	gleba C
Skład mechaniczny Texture	piasek słabogliniasty loamy sand	piasek słabogliniasty loamy sand	pył ilasty silty clay loam
Zawartość frakcji Fraction content [%]			
Ø <0,02 mm	15	12	49
Ø <0,002 mm	5	2	15
C _{org} [%]	0,72	1,04	3,21
Zawartość substancji organicznej Organic matter content (OM) [%]	1,25	1,79	5,54
pH _{KCl}	5,5	6,9	7,0
pH _{H₂O}	6,8	7,9	7,9
P ₂ O ₅ [mg/100 g]	16,5	28,2	106,5
K ₂ O [mg/100 g]	15,6	11,6	4,9
Pojemność wilgotnościowa gleby Water holding capacity [%]	26	43	30

100 mg/kg – odpowiadający granicznej zawartości (ang. *guideline value*) WWA w glebach na terenach przemysłowych według zaleceń niemieckich [Trenck i in. 1994].

Roztwór podstawowy WWA przygotowano rozpuszczając odpowiednią ilość każdego z czterech związków w chlorku metylenu (CH₂Cl₂). Roztwór ten przechowywano w temperaturze 4°C.

Testy fitotoksyczności

Badania wpływu WWA na rośliny prowadzono w sposób bardzo zbliżony do metodyki podanej w normie ISO 11269 [1995]. Doświadczenia prowadzono w plastikowych pojemnikach o objętości około 150 ml (średnica górna około 80 mm). Każdy z pojemników zawierał 100 g gleby, do której dodawano mieszaninę czterech WWA (w formie roztworu w chlorku metylenu) w ilościach 1, 10, 50 i 100 mg Σ4WWA na kilogram suchej masy gleby (tj. po 0,25, 2,0, 12,5 i 25 mg/kg każdego związku). Do próbek kontrolnych dodawano chlorek metylenu w ilości odpowiadającej każdej z zastosowanych dawek WWA. W celu zapewnienia równomiernego rozprowadzenia WWA w glebie, odpowiednią objętość roztworu mieszaniny WWA dodawano do każdej próbki oddzielnie, a następnie mieszaninę glebę na wytrząsarce w szklanych butelkach przez okres 20 minut przed przeniesieniem jej do pojemników. Próbkę gleby uwilgotniano do poziomu 60% ppw (pełnej pojemności wodnej) – poziom wilgotności kontrolowano codziennie sprawdzając ciężar kilkunastu wybranych pojemników z każdej kombinacji. Na-

TABELA 2. Charakterystyka roślin –TABLE 2. Characteristic of the plants

Roślina – Plant	Gatunek – Species	Odmiana Variation	Czas doświadczenia Time of the test [dni–days]
Jednoliścienne – Monocotyledonous			
Pszenica – Wheat	<i>Triticum vulgare</i> Vill.	Hena	14
Owies – Oat	<i>Avena sativa</i> L.	Dukat	10
Kukurydza – Maize	<i>Zea mays</i> L.	Gama F ₁	16
Dwuliścienne – Dicotyledonous			
Pomidor – Tomato	<i>Lycopersicon esculentum</i> Miller	Tempo	21
Fasola – Bean	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	Katarzynka	12
Słonecznik – Sunflower	<i>Helianthus annuus</i> L.		14

siona wybranych roślin (5 nasion/pojemnik) wysiewano po 24 godzinach od wprowadzenia WWA do gleby (czas niezbędny na odparowanie rozpuszczalnika).

Testy przeprowadzono w warunkach laboratoryjnych, w temperaturze pokojowej (20–22°C) przy oświetleniu naturalnym trwającym 12–16 godzin/dzień (marzec-maj). Czas trwania doświadczeń z poszczególnymi roślinami podano w tabeli 2.

Razem przetestowano 90 kombinacji (3 gleby × 6 roślin × 4 poziomy WWA) + kontrola (3 gleby × 6 roślin) – każda z kombinacji w czterech powtórzeniach.

Ocenę oddziaływania WWA na rośliny oparto na pomiarach czterech parametrów: długości korzenia pierwotnego (Kd), długości łodygi (Łd), świeżej masy części nadziemnych (SwM) i suchej masy części nadziemnych (SM).

Statystyka

Wyniki przedstawiono jako średnie arytmetyczne wyznaczone dla czterech powtórzeń; brano pod uwagę po trzy rośliny z każdego pojemnika (najniższe i najwyższe dane dla każdego powtórzenia odrzucono). Każda średnia reprezentowała więc 12 roślin (4 × 3).

W celu statystycznej oceny wyników zastosowano metodę analizy wariancji (95% przedziały ufności).

WYNIKI

Wyniki przeprowadzonych badań przedstawiono na rysunkach 1–3. Uzyskane rezultaty wskazują, że ocena wpływu WWA na rośliny w początkowej fazie ich wzrostu zależy od zastosowanego kryterium; części podziemne roślin reagują odmiennie niż części nadziemne (brak korelacji między wartościami Kd/Łd, Kd/SwM i Kd/SM – tab. 3). Z trzech parametrów opisujących części nadziemne, wartości SwM i SM były – ze względu na niewielką masę roślin w początkowym etapie ich rozwoju – najmniej czułym kryterium reakcji roślin na zanieczyszczenie gleby przez WWA. W związku z powyższym dalszą ocenę wyników oparto głównie na wynikach pomiarów długości korzenia i łodygi (wartość Łd była wysoce skorelowana z wartościami SwM i SM).

TABELA 3. Współczynniki korelacji (r) pomiędzy parametrami opisującymi reakcję części nadziemnych i podziemnych roślin na zanieczyszczenie gleby przez WWA

TABLE 3. Correlation coefficients (r) between parameters describing the reaction of the aerial and underground parts of the plants to contamination of the soils with PAHs

Para- metr Para- meter	Pszenica Wheat		Owies Oat		Kurydza Maize		Fasola Bean		Słonecznik Sunflower		Pomidor Tomato	
	Kd	Łd	Kd	Łd	Kd	Łd	Kd	Łd	Kd	Łd	Kd	Łd
Łd	0,54		0,44		0,48		0,66*		0,17		0,62	
SwM	0,44	0,73*	0,34	0,87*	0,55	0,91*	0,57	0,80*	0,08	0,90*	0,68*	0,94*
SM	0,35	0,77*	0,18	0,66*	0,52	0,89*	0,45	0,68*	-0,17	0,69*	0,49	0,83*

*statystycznie istotny na poziomie $p < 0,05$, statistically significant at $p < 0,05$ level

Kd – długość korzenia – root length, Łd – długość łodygi – hypocotyl length, SwM – świeża masa – fresh weight, SM – sucha masa – dry weight.

Stwierdzono, że niższe zawartości WWA w glebie powodowały często efekt stymulacji wzrostu testowanych roślin (rys. 1–3). I tak przy poziomie $\Sigma 4\text{WWA} \leq 10$ mg/kg statystycznie istotną stymulację wzrostu korzenia zaobserwowano w glebie B dla kukurydzy (Kd), fasoli (Kd i Łd) i słonecznika (Łd), w glebie R – dla pszenicy (Kd), kukurydzy (Kd i Łd), fasoli (Łd) i słonecznika (Łd), a w glebie C – tylko dla pszenicy (Kd). W glebie C efekt stymulacji wzrostu korzeni stwierdzono również przy zawartości $\Sigma 4\text{WWA}$ 50 mg/kg – dla części nadziemnych pszenicy i owsa (rys. 1).

Jak wynika z danych przedstawionych na rysunkach 1–3, zanieczyszczenie gleby przez WWA na poziomie ≤ 10 mg/kg nie powodowało istotnego statystycznie zahamowania wzrostu żadnej z badanych roślin poza owsem (Łd) i pomidorem (Łd) w glebie B. Przy poziomie $\Sigma 4\text{WWA}$ 50 mg/kg istotną inhibicję wzrostu zaobserwowano tylko dla części nadziemnych pomidora (we wszystkich trzech glebach). Dalszy wzrost zawartości $\Sigma 4\text{WWA}$ do 100 mg/kg powodował istotne zahamowanie wzrostu wszystkich badanych roślin (poza kukurydzą) w glebie B (Kd: pszenica, pomidor, fasola i słonecznik oraz Łd: pszenica, owies, pomidor). Ta sama zawartość WWA (100 mg/kg) w glebie R hamowała wzrost trzech roślin: pszenicy (Kd), owsa (Kd i Łd) i pomidora (Łd), a w glebie C – tylko dwóch roślin: pszenicy (Łd) i pomidora (Łd).

Na podstawie zależności między poziomem WWA w glebie i zmianami długości korzeni i łodygi roślin (rys. 1–3) wyznaczono na podstawie odpowiedniego równania regresji liniowej – dawki $\Sigma 4\text{WWA}$ powodujące 20-procentową stymulację ($\text{EC}_{20}\text{-S}$) lub inhibicję ($\text{EC}_{20}\text{-I}$) wzrostu badanych roślin. Wybrano wartość EC_{20} zamiast często spotykanej w literaturze wartości EC_{50} [Baund-Grasset i in. 1993; Chaineau i in. 1997; Jensen, Folkner-Hansen 1995], gdyż w badanych zakresie zawartości WWA w glebie (< 100 mg/kg) w większości przypadków nie zaobserwowano tak silnej (50%) reakcji roślin na obecność tych związków. Z drugiej strony normy międzynarodowe [ISO 11269-2 Standard 1995] – na podstawie prowadzonych w szerokim zakresie badań międzylaboratoryjnych – uznają wartość EC_{20} jako wystarczającą do oceny efektu fitotoksycznego wywołanego przez większość badanych związków chemicznych.

Wyznaczone wartości EC_{20} podano w tabeli 4. Dla większości badanych roślin wartości $\text{EC}_{20}\text{-S}$ były poniżej 1 mg/kg, co odpowiada 0,25 mg każdego z węglo-

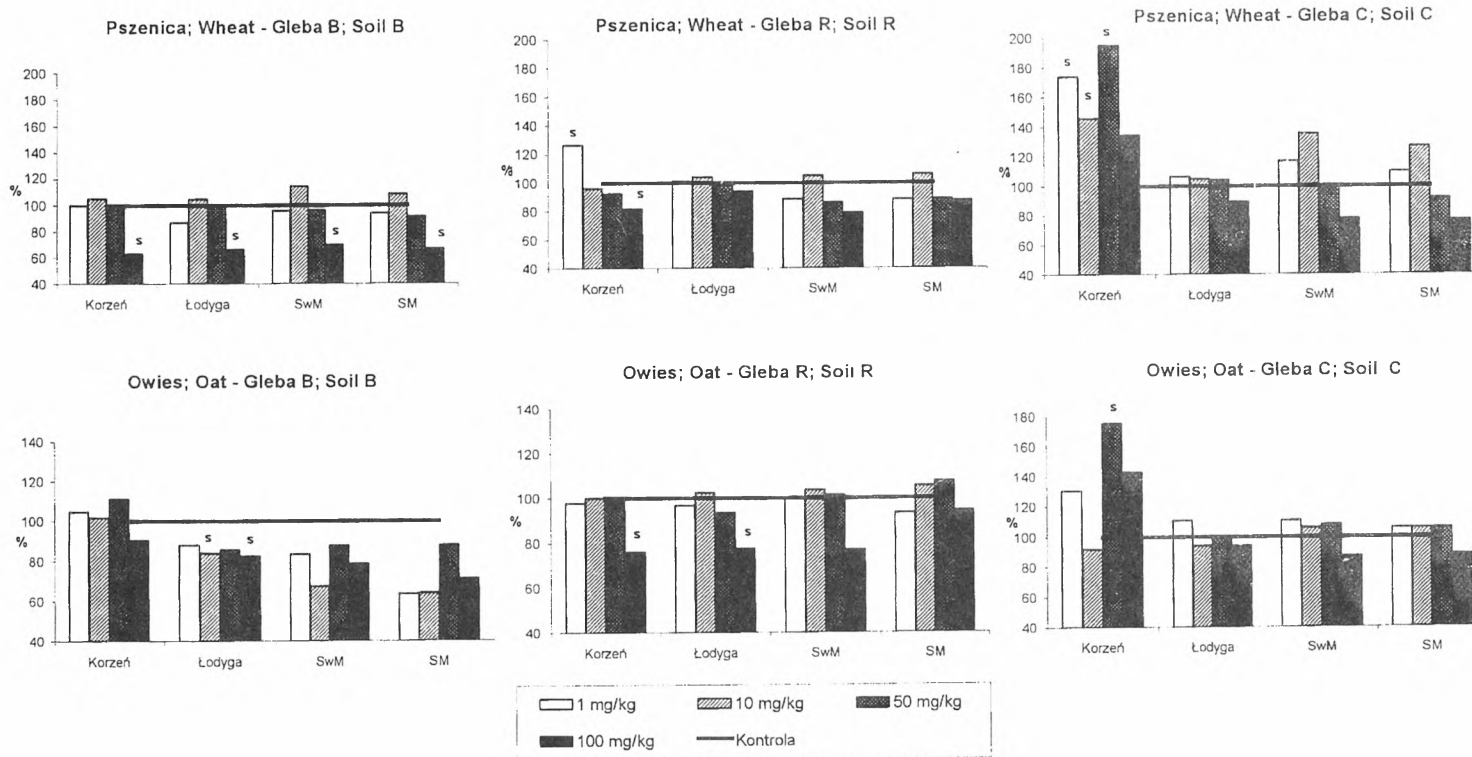
TABELA 4. Wartości EC₂₀ stymulujące lub inhibitujące wzrost roślin
 TABLE 4. EC₂₀ values stimulating or inhibiting the growth of the plants

Gleba Soil	Parametr Parameter	Pszenvica Wheat	Owies Oat	Kukurydza Maize	Pomidor Tomato	Fasola Bean	Słonecznik Sunflower
Stymulacja – Stimulation (EC ₂₀ -S)							
B	Kd	n.o.	n.o.	7	n.o.	9	n.o.
	Łd	n.o.	n.o.	n.o.	n.o.	<1	<1
R	Kd	<1	n.o.	<1	<1	n.o.	54
	Łd	n.o.	n.o.	<1	1	<1	<1
C	Kd	n.o.	n.o.	26	9	<1	n.o.
	Łd	n.o.	n.o.	n.o.	n.o.	n.o.	<1
Inhibicja – Inhibition (EC ₂₀ -I)							
B	Kd	73	(243)	(151)	47	90	5
	Łd	76	(205)	n.o.	22	(110)	(125)
R	Kd	(117)	96	(179)	(146)	(122)	(142)
	Łd	(226)	95	(138)	48	(140)	(440)
C	Kd	n.o.	n.o.	n.o.	(131)	n.o.	97
	Łd	(165)	(237)	n.o.	35	(346)	(878)

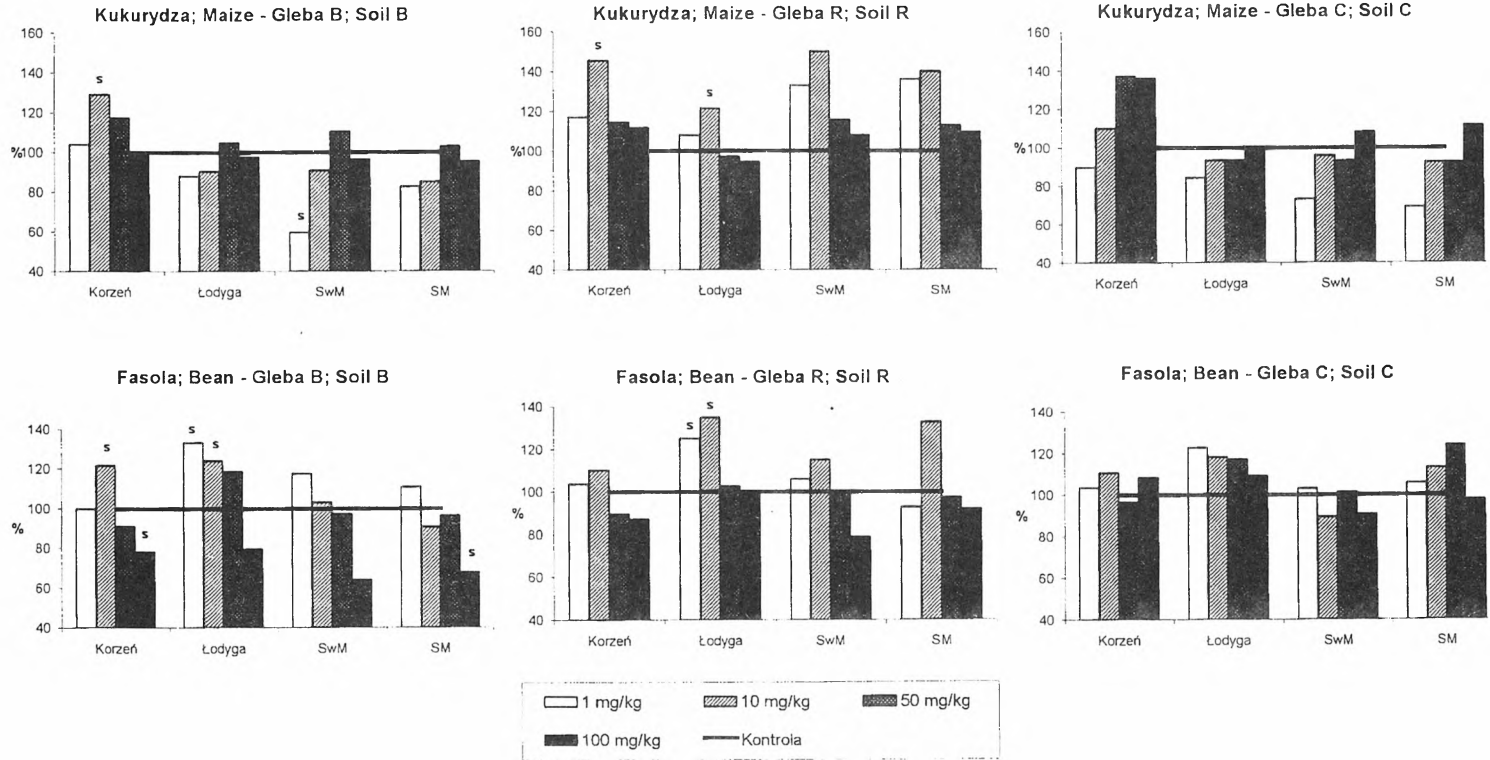
Kd – długość korzenia – root length, Łd – długość łodygi – hypocotyl length; n.o. – nie zaobserwowano istotnej regresji – no observed statistically significant regression trends or effects, w nawiasach wartości ekstrapolowane – in parenthesis extrapolated values

wodorów na kilogram gleby. Wartości EC₂₀-I wahały się w granicach 120–250 mg/kg (30–60 mg/kg każdego z badanych związków).

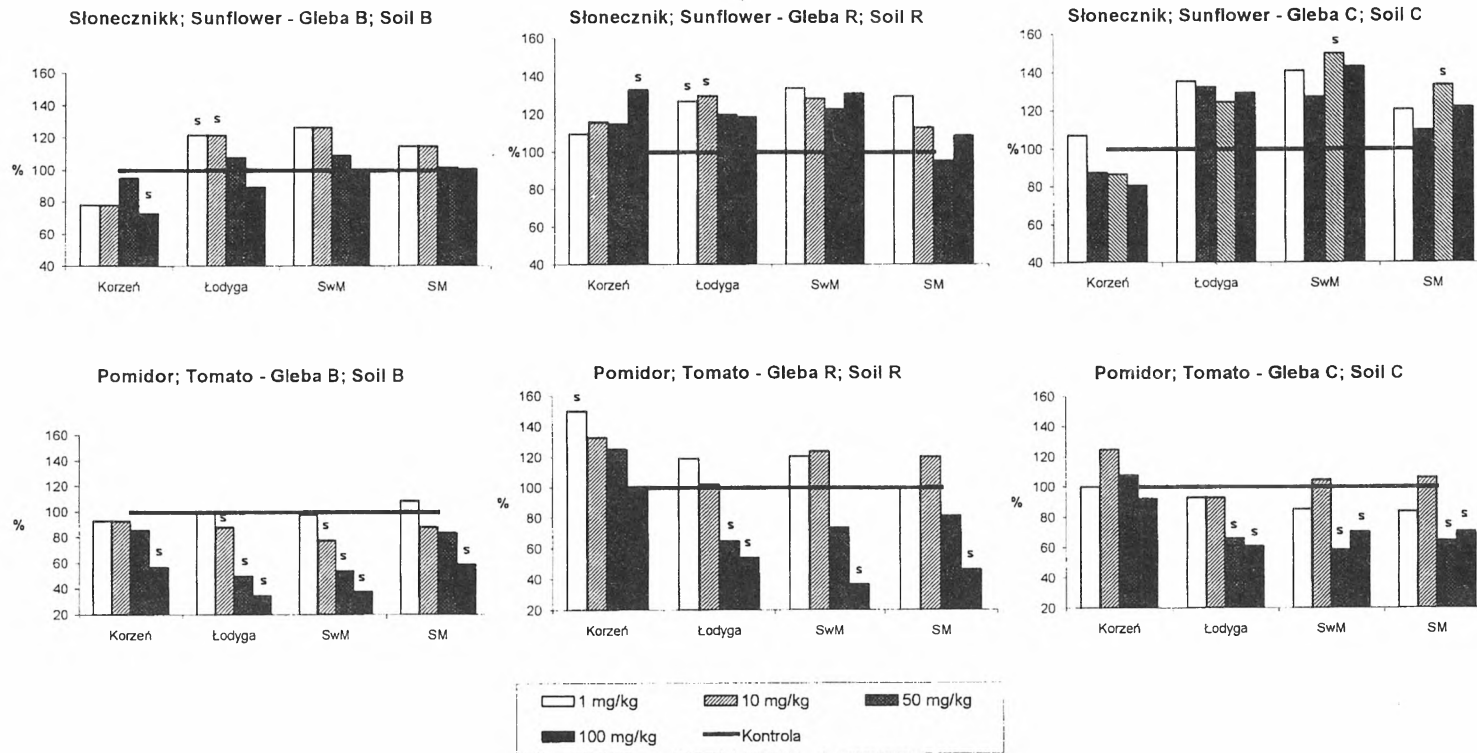
Aktywność fitotoksyczna WWA zależała nie tylko od gatunku rośliny, ale i od właściwości gleby (rys. 1–3). Ponieważ zawartość substancji organicznych jest podstawową cechą materiału glebowego, która decyduje o sorpcji WWA w środowisku glebowym, a więc i ich biodostępności dla roślin [Jensen, Folkner-Hansen 1995; Jones i in. 1989; Maliszewska-Kordybach 1998; Sims, Overcash 1983; Wild, Jones 1995], podjęto próbę ustalenia zależności między zawartością substancji organicznej (OM) w glebie a reakcją roślin na obecność WWA przy poziomie 100 mg/kg (rys. 4). Stwierdzono, że reakcja korzeni roślin na wpływ WWA jest silniej uzależniona od zawartości OM w glebie niż reakcja części nadziemnych. Wysokie współczynniki korelacji między fitotoksycznym oddziaływaniem WWA – ocenianym na podstawie zmian wartości Kd – i zawartością OM w glebach stwierdzono dla pszenicy ($r=0,99$), kukurydzy ($r=0,97$), owsa ($r=0,95$) i fasoli ($r=0,99$). W przypadku części nadziemnych odpowiednie wartości r były niższe, w granicach 0,56–0,85. Przeprowadzona analiza wariancji dla uzyskanych wyników (pomiar długości korzenia – Kd) wykazała, że przy maksymalnej zastosowanej zawartości WWA w glebie (100 mg/kg) fitotoksyczny wpływ tych związków uzależniony jest bardziej od właściwości gleb niż od gatunku rośliny (tab. 5). Średnia wartość Kd (dla 6 badanych roślin) w glebie B wynosiła 77% i była istotnie ($p \leq 0,05$) niższa niż w glebie C (115%). Nie stwierdzono natomiast istotnych różnic między średnimi (dla 3 gleb) wartościami Kd poszczególnych gatunków roślin, aczkolwiek wahały się one w granicach od 83% (pomidor) do 115% (kukurydza).



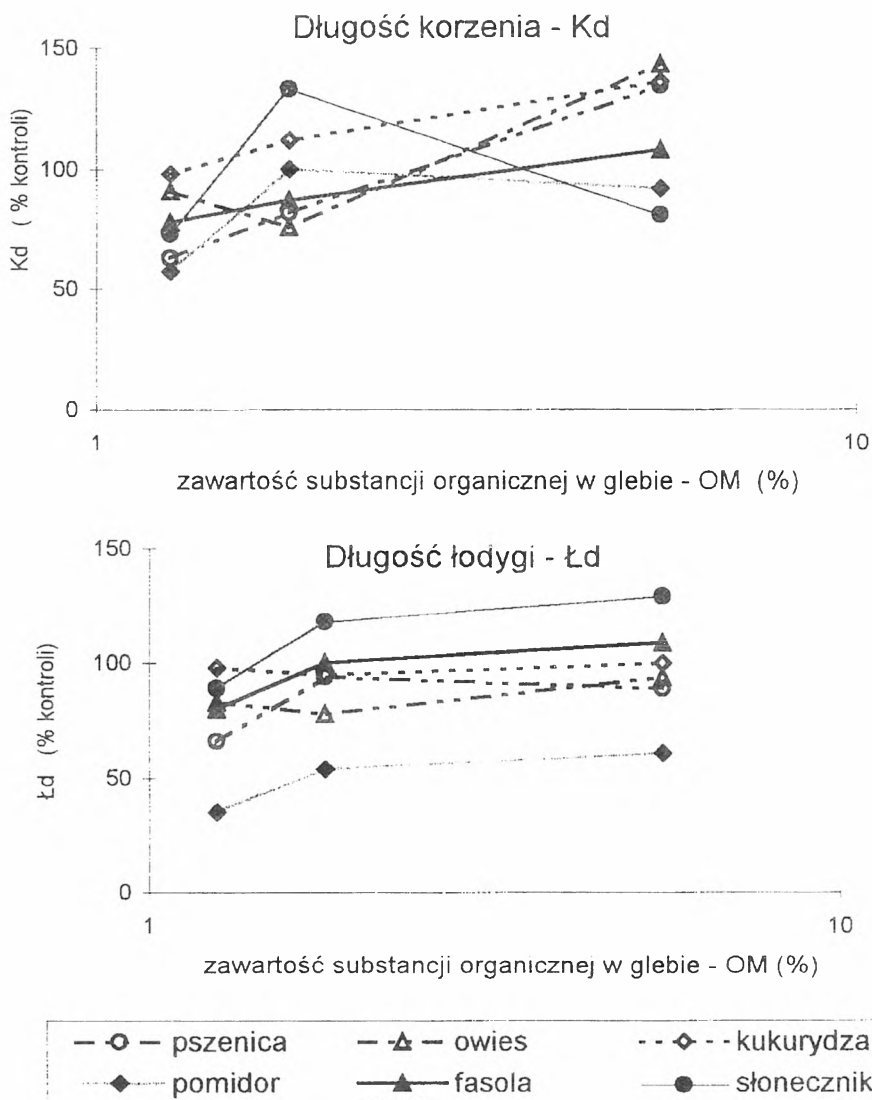
RYSUNEK 1. Wpływ WWA na wzrost pszenicy i owsa – FIGURE 1. The effect of PAHs on growth of wheat and oat



RYSUNEK 2. Wpływ WWA na wzrost kukurydzy i fasoli –FIGURE 2. The effect of PAHs on growth of maize and bean



RYСУNEK 3. Wpływ WWA na wzrost słonecznika i pomidora – FIGURE 3. The effect of PAHs on growth of sunflower and tomato



RYSUNEK 4. Wpływ zawartości substancji organicznej (OM) w glebie na długość korzenia i łodygi roślin w glebie o zawartości WWA 100 mg/kg

FIGURE 4. The effect of soil organic matter content (OM) on the length of the root (Kd) and of the stem (Łd) of the plants in soils polluted with PAHs at the level of 100 mg/kg

DYSKUSJA

Przedstawione wyniki wskazują, że wpływ zanieczyszczenia gleby przez WWA na wzrost roślin uzależniony jest nie tylko od gatunku roślin, ale w bardzo dużym stopniu od właściwości gleby. Stwierdzono również, że wysoka zawartość

TABELA 5. Wyniki analizy wariancji; zależność fitotoksycznego oddziaływania WWA od właściwości gleby i gatunku rośliny (poziom WWA = 100 mg/kg)
 TABLE 5. Analysis of variance: the effect of soil properties and plant species on the phytotoxic activity of PAHs (PAHs level = 100 mg/kg)

Parametr – Parameter	Stopnie swobody Degrees of freedom	Wartość F – F value	Poziom istotności Significance level
Gleba – Soil	2	4.606	0.038
Roślina – Plant	5	0.755	0.602
Efekty – Effects			
Gleby – Soils (n = 6)	Kd*	Rośliny – Plants (n=3)	Kd**
B	77 ^a	pomidor – tomato	83 ^a
R	98 ^{ab}	fasola - bean	91 ^a
C	115 ^b	pszenica – wheat	93 ^a
		słonecznik – sunflower	95 ^a
		owies – oat	103 ^a
		kukurydza – maize	115 ^a

*długość korzenia (średnia arytmetyczna dla 6 badanych roślin) – root length (mean for 6 plants under study)

**długość korzenia (średnia arytmetyczna dla 3 badanych gleb) – root length (mean for 3 soils under study)

WWA w glebie może powodować zarówno zahamowanie, jak i stymulację wzrostu roślin.

Najniższy poziom WWA w glebie, przy którym obserwowano zmiany wzrostu badanych roślin, był poniżej (lub nieznacznie powyżej) 1 mg/kg, tj. wartości spotykanych na terenach rolniczych o niewielkim poziomie zanieczyszczenia przez WWA, zarówno w Polsce [Maliszewska-Kordybach, Smreczak 1998; Maliszewska-Kordybach, Terelak 1998] jak i w innych krajach europejskich [Cousins i in. 1997; Franzle i in. 1995; Jones i in. 1989; Maliszewska-Kordybach 1998; Wild, Jones 1995]. Takie zawartości WWA powodowały w większości przypadków stymulację wzrostu roślin (rys. 1–3, tab. 4). Stymulujący wpływ WWA na wzrost i plon roślin notowano także w innych pracach. Korzystny wpływ WWA na wzrost roślin opisany był już 30 lat temu przez Grafa i Nowaka [1967], którzy stwierdzili, że codzienne podlewanie roztworem benzo(a)pirenu o stężeniu 0,01 mg/l zwiększa plon kalafiorów, ryżu i tytoniu. Kilkanaście lat później El-Fouly [1980] opisał stymulację wzrostu pszenicy, kukurydzy i fasoli rosnących na piasku kwarcowym zawierającym benzo(a)pirenu w ilości 0,005–0,250 mg/kg; najwyższa stymulacja odpowiadała zawartości 0,01–0,05 mg/kg. Podobne wartości podano w pracy Wilda i in. [1992], gdzie stwierdzono stymulację wzrostu marchwi uprawianej w glebie, do której dodano osadu ściekowego zanieczyszczonego przez WWA na poziomie benzo(a)pirenu 0,005–0,06 mg/kg. Smreczak [1998] wykazała, że zanieczyszczenie gleby piaszczystej mieszaniną 3- i 4-pierścieniowych WWA w ilości 1–10 mg/kg (a więc na poziomie podobnym do stosowanego w tej pracy) prowadzi do stymulacji wzrostu korzenia pierwotnego słonecznika, a w przypadku tej samej gleby z dodatkiem kompostu – słonecznika, cebuli i kukurydzy. Kumerova i in. [1995] wykazali, że niskie stężenia (<10 mg/l) WWA mogą intensyfikować wzrost korzeni (do 68%) i hypokotyli (do 16%) sałaty hodowanej przez okres 5 dni w roztworze benzo(a)pirenu.

Stymulujące oddziaływanie ksenobiotyków przy względnie niskich zawartościach w glebie było obserwowane stosunkowo często w badaniach toksyczności [Jensen, Folkner-Hansen 1995; Stebbing 1982]. Zjawisko to nazywane bywa czasami *hormesis* [Stebbing 1982; Jensen, Folkner-Hansen 1995] i tłumaczone specyficzną ewolucją mechanizmu kontroli fizjologicznej w organizmach, w wyniku której obserwuje się nadmierną reakcję na małe odchylenia od normy. Stymulację wzrostu roślin przy niewielkim poziomie zanieczyszczenia gleby ksenobiotykami próbowano również tłumaczyć [Jensen, Folkner-Hansen 1995; Sims, Overcash 1983] przez:

- wzrost dostępności składników odżywczych w glebie spowodowany wiązaniem WWA przez cząstki glebowe,
- wzrost aktywności mikrobiologicznej w wyniku biodegradacji WWA prowadzący do poprawy warunków rozwoju roślin,
- możliwość działania WWA jako aktywatorów wzrostu roślin.

Ekologiczne znaczenie zjawiska *hormesis* jest stale dyskutowane, ale istnieje tendencja, aby zjawisko to uważać za „nie powodujące szkodliwych skutków na poziomie pojedynczych organizmów” [Jensen, Folkner-Hansen 1995]. Niemniej, we wszystkich przypadkach badań ekotoksykologicznych, w których obserwowane jest to zjawisko – tak jak w badaniach przeprowadzonych w tej pracy – „pojęcie dawki nie wywołującej efektu” (ang. *no-effect dose*) lub „najniższej dawki wywołującej efekt” (ang. *lowest effect dose*) stwarza duże problemy [Jensen, Folkner-Hansen 1995].

Hamowanie wzrostu roślin obserwowano przeważnie przy dużo wyższych zawartościach WWA w glebie niż zjawisko stymulacji wzrostu (rys. 1–3, tab. 4). Wartości EC_{20-I} powodujące inhibicję wzrostu roślin (tab. 4) są oparte w wielu przypadkach na ekstrapolacji wyników i w związku z tym winny być traktowane jako orientacyjne. Jednakże przeprowadzone badania wskazują, że dla większości badanych roślin można oczekiwać około 20% redukcji wzrostu przy zawartości ΣWWA w glebie 120–250 mg/kg (tj. około 30–60 mg/kg każdego z węglodorów). Największą odporność na fitotoksyczne oddziaływanie WWA wykazywał słonecznik ($EC_{20-I/\text{Łd}}$ ponad 800 mg/kg), a najmniejszą odporność – pomidor ($EC_{20-I/\text{Łd}}$ w granicach 22–48 mg/kg). Inne stosunkowo niskie wartości EC_{20-I} odpowiadały pszenicy, fasoli i słonecznikowi w glebie B (tab. 4).

Porównanie uzyskanych wyników z rezultatami innych prac dotyczących fitotoksycznego oddziaływania WWA jest trudne ze względu na bardzo zróżnicowane warunki doświadczeń, różnorodność stosowanych roślin i fragmentaryczne dane (informacje dotyczące wpływu WWA na rośliny były uzyskiwane często tylko na marginesie innych badań). Chaineau i in. [1997] udowodnili, że zanieczyszczenie gleby olejem opałowym zawierającym niektóre związki z grupy WWA w istotny sposób wstrzymuje kiełkowanie nasion sałaty, jęczmienia, konicyzny, kukurydzy, fasoli, pszenicy i słonecznika i hamuje wzrost tych roślin. Baund-Grasset i in. [1993] stwierdzili całkowite zahamowanie kiełkowania nasion sałaty, prosa i owsa w glebie zanieczyszczonej mieszaniną 3- i 4-pierścieniowych WWA na poziomie 5 878 mg/kg; wartość EC_{50} dla sałaty wynosiła w tym przypadku 590 mg/kg, a dla owsa – 1 170 mg/kg. Ta sama wartość wyznaczona [Baund-Grasset i in. 1993] na podstawie testu opartego na zmianach długości korzenia owsa była prawie 4-krotnie większa ($EC_{50} = 4\ 300$ mg/kg) i odpowiadała wartości $EC_{50} = 4\ 000$ mg/kg wyznaczonej przez Hunda i Tranunspurgera [1994] dla inhibicji wzrostu (w 49%) owsa uprawianego na glebie zanieczyszczonej przez WWA. W przypadku WWA o mniejszej masie cząsteczkowej dawki szkod-

liwe dla roślin były niższe. Weber i in. [1984] nie zaobserwowali, aby zawartość naftalenu, antracenu lub fenantrenu w glebie na poziomie 10 mg/kg wywierała szkodliwy wpływ na kukurydzę, kostrzewę lub soję, natomiast w badaniach Hulzebosa i in. [1993] (14-dniowy test z sałatą) stwierdzono, że wartość EC_{50} dla acenaftenu wynosi 25 mg/kg, ale dla naftalenu >100 mg/kg. Williams i Wiegert [1971] wykazali, że dodanie do gleby naftalenu na poziomie ok. 175 mg/kg ma wyraźny wpływ negatywny na rośliny. Smreczak [1998] udowodniła, że wprowadzenie do gleby piaszczystej WWA na poziomie 100 mg/kg hamuje wzrost korzenia pierwotnego jęczmienia, kukurydzy i gorczycy. Nie zaobserwowano natomiast [Smreczak 1998], aby ta sama ilość WWA dodana do gleby piaszczystej na początku sezonu vegetacyjnego (i ulegająca następnie w znacznym stopniu degradacji) wpływała na wielkość plonu marchwi i gorczycy uprawianych na tej glebie. W doświadczeniach prowadzonych w roztworach Kumerova i in. [1995] zanotowali istotne (17%) zahamowanie wzrostu korzeni i nieco słabszą inhibicję wzrostu hypokotyli (9%) sałaty rosnącej przez 5 dni w roztworze bezo(a)pirenu o stężeniu 100 mg/l.

Wyniki przedstawione na rysunku 4 wskazują, że fitotoksyczne oddziaływanie WWA uzależnione jest nie tylko od gatunku rośliny, ale i od właściwości gleby, a przed wszystkim od zawartości w niej substancji organicznych. Podczas gdy wysoka maksymalna zawartość WWA (100 mg/kg) hamowała wzrost większości roślin w glebie piaszczystej (gleba B) o niskiej zawartości substancji organicznych (OM = 1,25%), przy tym samym poziomie WWA w wysokopróchnicznym (OM = 5,54%) czarnoziemie (gleba C) obserwowano raczej efekt stymulacji wzrostu. Jak można było oczekiwać, zależność fitotoksycznego oddziaływania WWA od zawartości substancji organicznej w glebie była bardziej widoczna w przypadku korzeni roślin niż łodygi. Najwyższe współczynniki korelacji zanotowano między zawartością OM w glebie i reakcją korzeni roślin na fitotoksyczny wpływ WWA (rys. 4).

Nie-jonowe, hydrofobowe zanieczyszczenia organiczne typu WWA są sorbowane głównie przez frakcję organiczną gleby, a sorpcja WWA jest podstawowym procesem determinującym aktywność i biodostępność tych związków w środowisku glebowym [Cousins i in. 1997; Jensen, Folkner-Hansen 1995; Jones i in. 1989; Maliszewska-Kordybach 1998; Sims, Overcash 1983; Wild, Jones 1995]. Można przypuszczać, że silna sorpcja WWA przez glebę o wysokiej zawartości substancji organicznych zmniejsza dostępność tych związków dla roślin. Stąd zaobserwowana reakcja roślin (stymulacja wzrostu) na wysoką zawartość WWA w czarnoziemie odpowiada zachowaniu się tych roślin w niskopróchnicznej glebie brunatnej o małej zawartości WWA.

Istnienie negatywnej zależności między zawartością substancji humusowych w materiale glebowym a fitotoksycznością WWA zauważono także w badaniach Wetzela i Wernera [1995] mających na celu ocenę poziomu zanieczyszczenia gleb związkami organicznymi przy zastosowaniu biotestów.

PODSUMOWANIE

Wyniki przedstawionych badań wskazują, że jednorazowe zanieczyszczenie gleby przez WWA na poziomie notowanym na terenach rolniczych [Cousins i in. 1997; Franzle i in. 1995; Jones i in. 1989; Maliszewska-Kordybach 1998; Maliszewska-Kordybach, Smreczak 1998; Maliszewska-Kordybach, Terelak 1998], tj.

≤ 1 mg/kg raczej stymuluje niż hamuje wzrost roślin. Brak zaobserwowanej aktywności fitotoksycznej WWA przy zawartości tych związków w glebie ≤ 10 mg/kg wydaje się potwierdzać wytyczne przepisów niemieckich [Trenck i in. 1994], w których poziom WWA w glebie 10 mg/kg uznano za wartość progową dla zapewnienia ochrony roślin (ang. *plant protection level*). Najniższe wartości EC_{20} wyznaczone dla badanej mieszaniny WWA wynosiły około 20 mg/kg, co odpowiada zawartości tych związków w glebach na wysoce zanieczyszczonych terenach przemysłowych [Bradley i in. 1994; Dziewięcka i in. 1993; Maliszewska-Kordybach 1998].

Reakcja roślin na zanieczyszczenie gleby przez WWA była uzależniona nie tylko od gatunku rośliny, ale w silniejszym nawet stopniu od właściwości gleby. W większości przypadków fitotoksyczne oddziaływanie WWA na części podziemne roślin były odwrotnie skorelowane z zawartością substancji organicznej w glebie.

Niewyjaśniony pozostaje dotychczas problem, czy aktywacja wzrostu roślin przy niskich zawartościach WWA w glebie jest szkodliwa dla roślin i czy może powodować ona zmiany w jakości uzyskiwanych plonów.

LITERATURA

- BAUND-GRASSET, F., BAUND-GRASSET, S., SAFFERMAN, S.I., 1993: Evaluation of the bioremediation of a contaminated soil with phytotoxicity tests. *Chemosphere*, 26, 1365–1374.
- BRADLEY, L.J.N., MAGEE, B.H., ALLEN, S.L., 1994: Background levels of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) and selected metals in New England urban soils. *J. Soil Contam.* 3 (4), 349–361.
- CHAIINEAU, C.H., MOREL, J.L., OUDOT, J., 1997: Phytotoxicity and plant uptake of fuel oil hydrocarbons. *J. Environ. Quality*, 26, 1478–1483.
- COUSINS, I.T., KREIBICH, H., HUDSON, L.E., LEAD, W.A., JONES, K., 1997: PAHs in soils: contemporary UK data and evidence for potential contamination problems caused by exposure of samples to laboratory air. *Sci. Total Environ.* 203, 141–156.
- DZIEWIĘCKA, B., ŁUKASIK, K., WCISŁO, E., 1993: Kumulacja wielopierścieniowych węgloworów aromatycznych w glebach w terenie przemysłowym. W "Materiały Dorocznego Zjazdu Naukowego - Chemia Nowych Materiałów", 8–11 wrzesień, Toruń, S-6, P-78.
- EL-FOULY, M.M., 1980: Effect of low concentrations of 3,4-Benzopyrene on growth and N-fraction of seedlings. *Landwirtschaft Forschung*, 33, 108–117.
- FRANZLE, O., KRINITZ, J., SCHMOTZ, W., DELSCHEN, T., LEISNER-SAABER, J., 1995: Harmonisierung der Untersuchungsverfahren und Bewertungsmastäbe für den Bodenschutz mit der Russischen Föderation. Report No UBA-FB 95-048. Texte 60/95. Terytze K. (ed.). Umweltbundesamt, Berlin.
- GRAF, W., NOWAK, W., 1967: Wachstumsförderung bei niederen und höheren Pflanzen durch kanzerogene polyzyklische Aromate *Arch. Hyg.* 150, 513–528.
- HULZEBOS, E.M., ADEMA, D.M., DIRVEN-VAN BREEMEN, E.M., HENZEN, L., VAN DIS, W.A., HERBOLD, H.A., HOEKSTRA, J.A., BAERSELMAN, R., VAN GESTEL, C.A., 1993: Phytotoxicity studies with *Lactuca sativa* in soil and nutrient solution. *Environ. Toxicol. Chemistry*, 12, 1079–1094.
- HUND, K., TRAUNSPURGERE, W., 1994: Ecotox-evaluation strategy for soil bioremediation exemplified for a PAH-contaminated site. *Chemosphere*, 29, 371–390.
- ISO 11269-2 Standard, 1995. Soil quality – Determination of the effects of pollutants on soil flora.
- JENSEN, J., FOLKER-HANSEN, P., 1995: Soil quality criteria for selected organic compounds. Danish Environmental Protection Agency. Working Report No. 47.
- JONES, K.C., STRATFORD, J.A., WATERHOUSE, K.S., VOGT, N.B., 1989: Organic contaminants in Welsh soils: polynuclear aromatic hydrocarbons, *Environ. Sci. Technol.* 23, 540–550.

- KABATA-PENDIAS A., PIOTROWSKA M., MOTOWICKA-TERELAK T., MALISZEWSKA-KORDYBACH B., FILIPIAK K., KRAKOWIAK A., PIETRUCH CZ. 1995: Podstawy oceny chemicznego zanieczyszczenia gleb: metale ciężkie, siarka i WWA. Biblioteka Monitoringu Środowiska. Warszawa, 41 str.
- KUMMEROVA. M., SLOVAK. L., HOLOUBEK, I. 1995: Phytotoxicity studies of benzo(a)pyrene with *Lactuca sativa*. *Toxicol. Environ. Chem.* 51, 197–203
- MALISZEWSKA-KORDYBACH. B. 1999: Persistent organic contaminants in the environment; PAHs as a case study. In: J.C. Block, V.V. Goncharuk and P. Baveye (eds.). Bioavailability of organic xenobiotics in the environment. NATO ASI Series, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht/Boston/London - in press.
- MALISZEWSKA-KORDYBACH, B., SMRECZAK, B. 1998: Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in agricultural soils in the eastern Poland. *Toxicol. Environ. Chem.* 66, 51–56.
- MALISZEWSKA-KORDYBACH, B., TERELAK, H. 1998: Content of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in arable soils in Poland. Preprints of Fourth International Symposium and Exhibition on Environmental Contamination in Central and Eastern Europe. Warsaw, September 15-17. Warsaw, Poland, p.158.
- SIMS. R.C. AND OVERCASH, M.R. 1983: Fate of polynuclear aromatic compounds (PNAs) in soil-plant systems. *Residue Reviews* 88, 1–68.
- SMRECZAK B., 1998: Rozkład niektórych wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych na (WWA) w glebie i ich oddziaływanie na rośliny. Praca doktorska. IUNG, Puławy.
- STEBBING. A.R.D., 1982: Hormesis – the stimulation of growth by low levels of inhibitors. *Sci. Tot. Environ.*, 2, 213–234
- TRENCK, K.T., RUF, J., FLITTNER, M. 1994: Guide values for contaminated sites. *Environ Sci. and Pollut. Res.* 1, 253–261.
- WANIA, F., MACKAY D. 1996: Tracking the distribution of persistent organic pollutants. *Environ. Sci. Technol.*, 30, 190–196.
- WEBER, J.B., DORNEY, J.R., OVERCASH, M.R., 1984: Crop plant growth and uptake of toxic organic pollutants found in sewage sludge: polynuclear aromatics. In: Proceedings of the triangle conference on environmental technology. March 6–8. Duke University, 1–17.
- WETZEL. A., WERNER, D. 1995. Ecotoxicological evaluation of contaminated soil using the legume root nodule symbiosis as effect parameter. *Environ. Toxicol. Water Quality*, 10, 127–133.
- WILD. S.R., BERROW. M.L., MCGRATH, S.P., JONES, K.C. 1992. Polynuclear aromatic hydrocarbons in crops from long-term field experiments amended with sewage sludge. *Environ. Pollution*, 76, 25–32.
- WILD. S.R., JONES. K.C., 1995; Polynuclear aromatic hydrocarbons in the United Kingdom environment: a preliminary source inventory and budget. *Environ. Poll.* 88, 91–108.
- WILLIAMS, J.E., WIEGERT, R.G., 1971; Effects of naphthalene application on a coastal plain broomsedge (*Andropogon*) community. *Pedobiologia*, 11, 58–65

B. Maliszewska-Kordybach, B. Smreczak

PHYTOTOXIC ACTIVITY OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS (PAHs) IN SOILS OF DIFFERENT PROPERTIES

Institute of Soil Science and Plant Cultivation, Puławy

SUMMARY

The aim of this study was to evaluate the phytotoxic activity of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soils of different properties. Three different soils (chernozem, rendzina and brown soil) artificially contaminated with the mixture of four PAH compounds at the levels of $\Sigma 4\text{PAHs}$ of 1, 10, 50 and 100 $\text{mg} \times \text{kg}^{-1}$ were applied in the bioassays study. Six plants were used in the experiments; three from monocotyledonous category (wheat – *Triticum vulgare* Vill., oat – *Avena sativa* L. and maize – *Zea mays* L.) and three from dicotyledonous one (tomato – *Lycopersicon esculentum* Miller, bean – *Phaseolus vulgaris* L. and sunflower – *Helianthus annuus* L.). The results indicated that contamination of the soil with PAHs at the level below 10 $\text{mg} \times \text{kg}^{-1}$ rather stimulated than inhibited the growth of the plants at the early stages of their development. The lowest observed PAH content significantly inhibiting (EC_{20}) the growth of tomato was about 20 mg of $\Sigma 4\text{PAH}$ per kg of soil with the EC_{20} values for other plants being over 100 $\text{mg} \times \text{kg}^{-1}$. At high PAHs levels phytotoxic activity of these compounds is more related to soil properties than to plant species.

Praca wpłynęła do redakcji w listopadzie 1998 r.

Doc. dr hab. Barbara Maliszewska-Kordybach
Zakład Gleboznawstwa i Ochrony Gruntów
Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa
ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy