

**Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu
Wydział Przyrodniczo-Technologiczny
Instytut Nauk o Glebie i Ochrony Środowiska**

Rozprawa doktorska

Mgr inż. Karolina Lewińska

**ROZPUSZCZALNOŚĆ I FITOPRZYSWAJALNOŚĆ
ARSENU W GLEBACH ZANIECZYSZCZONYCH
W PERSPEKTYWIE ICH BIOLOGICZNEJ
REKULTYWACJI**

**Praca wykonana pod kierunkiem
Prof. dr hab. inż. Anny Karczewskiej**

Wrocław 2011

Szczególne podziękowania składam mojej Pani Promotor, za życzliwość i niezmienny optymizm. Za cierpliwość, poświęcony czas, troskę i cenne uwagi. Nie ma takich słów, które potrafiłyby wyrazić moją wdzięczność. To był dla mnie zaszczyt pracować z tak niezwykłą osobą.

Mojej mamie i mężowi dziękuję za pomoc w realizacji moich marzeń. Bez Was nie byłoby mnie tu, gdzie jestem.

Pragnę również podziękować dr. inż. Bernardowi Galce za wszelką pomoc w realizacji doświadczeń. Doktorantom za cudownie spędzony czas i zawsze ciekawe rozmowy, także te o tematyce naukowej. Radzie Miejskiej w Złotym Stoku, a w szczególności Panom J. Tichanowiczowi i E. Salwachowi. Firmie POWIZ Sp. zo.o., a w szczególności Panu Prezesowi R. Gondkowi.

Niniejsza praca została zrealizowana w ramach grantu promotorskiego Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (N N305 320836) oraz grantów Urzędu Marszałkowskiego Województwa Dolnośląskiego współfinansowanych ze środków Unii Europejskiej: „Grant – wsparcie prac badawczych poprzez stypendia naukowe dla doktorantów” i „Przedsiębiorczy doktorant – inwestycja w innowacyjny rozwój regionu”.

SPIS TREŚCI

1. Wstęp i cel pracy	7
2. Problematyka pracy w świetle literatury	10
2.1. Arsen w środowisku	10
2.2 Źródła arsenu w środowisku.....	13
2.3. Oddziaływanie arsenu na organizmy żywe	15
2.3.1. Toksyczność dla ludzi i zwierząt.....	16
2.3.2. Fitoprzyswajalności i fitotoksyczność arsenu	18
2.4. Czynniki decydujące o rozpuszczalności arsenu w glebach	22
2.4.1. Pochodzenie As w glebie	23
2.4.2. Odczyn	23
2.4.3. Warunki oksydo-redukcyjne	25
2.4.4. Minerale z grupy tlenków żelaza	26
2.4.5. Fosfor	27
2.4.6. Materia organiczna.....	29
2.4.7. Zmiana biodostępności arsenu w efekcie „starzenia się” zanieczyszczenia glebie.....	31
2.5. Techniki rekultywacji gleb zanieczyszczonych przez arsen.	32
2.5.1. Strategie rekultywacji.....	32
2.5.2. Metody immobilizacji arsenu w glebie	33
2.5.3. Warunki udanej fitostabilizacji	33
2.5.4. Mikoryza jako czynnik wspomagający biologiczną rekultywację	34
2.6. Zaawansowane metody badania specjacji i bioprzyswajalności arsenu w glebach	35
2.6.1. Metoda sekwencyjnej ekstrakcji arsenu	35
2.6.2. DGT.....	36
2.6.3. Biologiczne metody badania aktywności mikrobiologicznej.....	38
2.7. Historia wydobywania i przetwórstwa rud arsenu w Polsce, ze szczególnym uwzględnieniem Złotego Stoku.....	40
3. Materiał i metody badań.....	45
3.1. Materiał glebowy wykorzystany w doświadczeniach	45
3.2. Doświadczenia inkubacyjne	49
3.2.1. Doświadczenie inkubacyjne 1	50

3.2.2. Doświadczenie inkubacyjne 2.....	52
3.3. Doświadczenia wazonowe	53
3.3.1. Doświadczenie wazonowe I.....	53
3.3.2. Doświadczenie wazonowe II.....	55
3.3.3. Doświadczenie wazonowe III	56
3.4. Analiza materiału roślinnego z doświadczeń wazonowych	57
3.5. Szczegółowe analizy	57
3.5.1. Ekstrakcja sekwencyjna	58
3.5.2. DGT.....	59
3.5.3. Analiza profili fizjologicznych metodą płytek EcoPlate BIOLOG®	62
3.6. Statystyczna interpretacja wyników	63
4. Charakterystyka podstawowych właściwości gleb wykorzystanych w doświadczeniach	64
4.1. Skład granulometryczny.....	64
4.2. Zawartość węgla organicznego i azotu.....	65
4.3. Odczyn i kwasowość hydrolityczna gleb	66
4.4. Zasobność w przyswajalne składniki pokarmowe.....	66
4.5. Właściwości sorpcyjne gleby	67
4.6. Całkowita zawartość arsenu i wybranych metali ciężkich	68
5. Wyniki doświadczeń inkubacyjnych.....	71
5.1. Doświadczenie inkubacyjne 1	72
5.2. Doświadczenie inkubacyjne 2	76
5.3. Podsumowanie wyników doświadczeń inkubacyjnych.....	82
6. Wyniki doświadczeń wazonowych	86
6.1. Doświadczenie wazonowe I	86
6.1.1. Zawartość łatwo rozpuszczalnych i specyficznie związanych form As w glebie.....	86
6.1.2. Wyniki analizy materiału roślinnego	87
6.2. Analiza wyników doświadczenia wazonowego II.	94
6.2.1. Odczyn gleb i wyniki ekstrakcji łatwo rozpuszczalnych form arsenu	94
6.2.2. Analiza materiału roślinnego	97
6.3. Wyniki doświadczenia wazonowego III	102
6.3.1. Wyniki analizy materiału roślinnego z pierwszego zbioru	103
6.3.2. Wyniki analizy materiału roślinnego z drugiego zbioru	106
6.3.3. Zawartość fosforu w wybranych próbkach kłosówki wełnistej	111

6.4. Podsumowanie wyników uzyskanych w ramach doświadczeń wazonowych.....	112
7. Wyniki analiz szczegółowych.....	118
7.1. Ekstrakcja sekwencyjna	118
7.1.1. Ekstrakcja sekwencyjna próbek z doświadczenia inkubacyjnego 2.....	118
7.1.2. Ekstrakcja sekwencyjna próbek z doświadczenia wazonowego I.....	123
7.1.3. Podsumowanie uzyskanych wyników ekstrakcji sekwencyjnej.....	126
7.2. Wyniki analizy DGT	128
7.3. Wyniki analizy mikrobiologicznej na płytkach EcoPlate BIOLOG	131
8. Podsumowanie	138
9. Wnioski	141
Bibliografia	143
Spis tabel:.....	156
Spis rysunków:	157
Spis map:.....	160
Spis schematów:.....	160
Spis zdjęć:	160
Załączniki – tabele i zdjęcia.....	161

1. Wstęp i cel pracy

Arsen - król trucizn, odegrał niezwykle rolę w historii jako skrytobójcza broń nazywana często „poudre de succession”, czyli proszek dziedziczenia. Wykorzystał go rzymski imperator Neron w 55 r. p.n.e. by przejąć władzę, czy Karol Zły, król Nawarry ,gdy próbował usunąć swojego brata Karola VI, króla Francji (Nriagu 2002; Meharg 2005). Arsen pobudzał też wyobraźnię wielu pisarzy, stając się narzędziem zbrodni w powieściach Agathy Christie, czy inspiracją Josepha Kesselringa do napisania sztuki „Arszenik i stare koronki”.

Minerały arsenonośne wydobywane były już przez pierwsze chińskie, greckie czy egipskie cywilizacje. Ok. 3000 lat p.n.e. na terenie Środkowego Wschodu wykorzystywany był do utwardzania brązu, a także jako barwnik. Niektóre przedmioty pochodzące z tamtego okresu zawierają nawet 4% - 5% arsenu (Nriagu 2002; Meharg 2005). Przez setki lat aż do współczesności jego zastosowanie było bardzo szerokie, począwszy od kosmetyków, barwników, środków konserwujących drewno, po broń chemiczną, produkcję półprzewodników, czy jako dodatek wzmacniający stopy metali. Jego popularność w rolnictwie, jako środka ochrony roślin najlepiej prezentuje fragment „Ody na cześć arsenu”, śpiewanej przez rolników w USA i w Europie w pierwszej połowie XX w.:

*“ Spray, farmer, spray with care,
Spray the apple, peach and pear;
Spray for scab, and spray for blight,
Spray, O spray, and do it right (...).*

*Spray your roses, for the slug,
Spray the fat potato bug;
Spray your cantaloupes, spray them thin,
You must fight if you would win. ”*
(Nriagu 2002)

*“Opryskuj rolniku, opryskuj uważnie,
Opryskuj jabłka, brzoskwinie i gruszki;
Opryskuj na parcha i na zarazę,
Opryskuj, opryskuj i rób to dobrze (...).*

*Opryskuj swoje róże, przeciw ślimakom,
Opryskuj larwy stonki ziemniaczanej;
Opryskuj swoje melony, ale rzadko,
Musisz walczyć, jeśli chcesz wygrać.”*

Szerokie stosowanie arsenu pociągało za sobą konsekwencje. Przypadków zatrucia na dużą skalę zanotowano w historii co najmniej kilkadziesiąt. W 1858 roku w Bradford, cukiernik omyłkowo użył do dekoracji wypieków pastylek zawierających arsen, powodując zatrucie ponad 200 osób, z których 17 osób zmarło. W Manchesterze ok. 1900 roku doszło do zatrucia ponad 6000 osób i śmierci 80 z nich, w wyniku spożywania piwa warzonego z glukozą zanieczyszczoną arsenem (Nriagu 2002). Zatrucia w wyniku emisji do powietrza związków arsenu pochodzących z hut miedzi znane są z incydentów w USA, Szwecji, czy Bułgarii (Mandal i Suzuki 2002). Jednak największym obszarem, gdzie - według szacunków - ponad 35 milionów osób narażonych jest na toksyczne oddziaływanie arsenu w wyniku jego wysokiej koncentracji w wodach podziemnych, jest obszar Bangladeszu i Indii. (WHO 2001, Meharg 2005).

W Polsce arsen występuje w środowisku w znacznie większych ilościach tylko lokalnie, w związku z tym nie poświęca się mu wiele uwagi. Wynika to zapewne także z faktu, iż obecnie nie prowadzi się jego eksploatacji ani przetwórstwa. Niemniej jednak arsen współtowarzyszy wielu rudom m.in. miedzi i złota, obecny jest także w węglu kamiennym i brunatnym, a ich wydobycie i przetwórstwo powoduje, że pewne ilości arsenu trafiają do środowiska. Problem niezwykle silnego zanieczyszczenia arsenem występuje zwłaszcza w okolicach Złotego Stoku na Dolnym Śląsku, gdzie przez wieki miasto to funkcjonowało jako prężny ośrodek górnictwa i hutnictwa arsenu, a początkowo także i złota. Intensywne prace nad ulepszeniem procesu wzbogacania rudy w XVIII w. uczyniły Złoty Stok największym ośrodkiem produkcji arseniku na świecie. Zawirowania wojenne, zmiana ustroju, coraz wyższe koszty produkcji związków arsenowych oraz niskie notowania arsenu na rynku światowym po II wojnie światowej, doprowadziły do zamknięcia kopalni w 1962 r. Niestety, mimo znacznej degradacji środowiska i bardzo wysokiej zawartości arsenu w glebach i wodach tego rejonu, obszar ten nigdy nie został poddany rekultywacji.

Tereny Złotego Stoku, zanieczyszczone w wyniku działalności górniczej i przetwórstwa arsenu, powinny zostać w najbliższym czasie poddane rekultywacji. Za cel optymalny zabiegów rekultywacyjnych można by uważać usunięcie nadmiernych zawartości arsenu ze środowiska z zastosowaniem możliwie nieinwazyjnych metod. W świetle literatury wydaje się, że ewentualne próby zastosowania w tym celu metody fitoekstrakcji nie będą miały szans powodzenia, dlatego biologiczna rekultywacja powinna opierać się na skutecznej fitostabilizacji. Zatem wprowadzane rośliny powinny przede wszystkim cechować się wysoką odpornością na niekorzystne warunki przyrodnicze,

posiadać małe wymagania siedliskowe, a przede wszystkim cechować się niskim pobraniem arsenu z gleb terenów zanieczyszczonych.

Arsen jest pierwiastkiem bardzo specyficznym, ponieważ w glebie tworzy głównie formy anionowe, a jego chemizm zbliżony jest do chemizmu fosforu. Fosforu wprowadzony do gleby zanieczyszczonej arsenem może zatem przyczynić się do zwiększonej mobilności arsenu (Fitz i Wenzel 2002). Natomiast związki żelaza, ze względu na swoje właściwości sorpcyjne, uważane są za ważne w sorpcji anionów i immobilizacji As (Bose i Sharma 2002; Matera i in. 2003). Także inne czynniki, jak obecność i rodzaj materii organicznej mogą oddziaływać na rozpuszczalność arsenu i jego pobieranie przez rośliny.

Celem niniejszej pracy było przebadanie wpływu różnych czynników decydujących o rozpuszczalności arsenu w glebach i modyfikujących fitoprzyswajalność tego pierwiastka, a także wybranych gatunków roślin, w perspektywie wykorzystania ich do fitostabilizacji gleb zanieczyszczonych przez przemysł arsenowy.

2. Problematyka pracy w świetle literatury

2.1. Arsen w środowisku

Arsen (As) jest pierwiastkiem półmetalicznym o masie atomowej 74,921 u, należącym do grupy azotowców, w skład której wchodzi także: azot (N), fosfor (P), antymon (Sb) oraz bizmut (Bi). Szacuje się, iż średnia zawartość arsenu w skorupie ziemskiej wynosi 1,8 mg kg⁻¹ (Kabata-Pendias 2011), przy czym jego zawartość jest znacznie zróżnicowana w zależności od rodzaju skały macierzystej. Zdecydowanie wyższe zawartości arsenu notowane są w łupkach, zarówno skał metamorficznych (łupki fyllitowe), jak i osadowych (łupki bitumiczne). Niższe natomiast w piaskach, piaskowcach i wapieniach (tab. 1) (Mandal i Suzuki 2002; Smedley i Kinniburgh 2002; Kabata-Pendias 2011). Arsen jest pierwiastkiem występującym dość powszechnie w środowisku. Wchodzi w skład ponad 200 minerałów, przy czym 60% to arseniany, 20% siarczki i siarczany, a pozostałe 20% obejmuje: arsenki, arseniny, tlenki, krzemiany i arsen elementarny (Mandal i Suzuki 2002; Kabata-Pendias 2011). Do najważniejszych minerałów zawierających arsen zaliczyć można arsenopiryt (FeAsS), realgar (AsS), lelingit (FeAs₂), orpiment (As₂S₃), nikielin (NiAs), kobaltyn (CoAsS). Często arsen współtowarzyszy takim pierwiastkom jak ołów, kadm, srebro, złoto, antymon, fosfor, wolfram, czy molibden (Francesconi i Kuehnelt 2002; Garelick i in., 2008; Kabata-Pendias 2011).

Zawartość arsenu w glebach niezanieczyszczonych jest zróżnicowana i zależy nie tylko od skały macierzystej, z jakiej gleba została wytworzona, ale także od rejonu występowania, klimatu, obecności składników organicznych i nieorganicznych, odczynu, potencjału redoks oraz działalności człowieka (Mandal i Suzuki 2002). Przyjmuje się, że średnia zawartość arsenu w glebach mieści się w przedziale od 5 do 10 mg kg⁻¹ (Smedley i Kinniburgh 2002), przy czym dla gleb Polski zawartości są niższe i kształtują się w przedziale 2-5 mg kg⁻¹ (Kabata-Pendias 1994). Najczęściej najwyższe stężenia notowane są w glebach cięższych, o dużej zawartości frakcji ilastej, a także w glebach organicznych. Potwierdzają to dane dotyczące zawartości arsenu w glebach organicznych Kanady, które zawierają się w przedziale od 1 mg kg⁻¹ do 67 mg kg⁻¹ (Kabata-Pendias 2011, Kabata-Pendias i Pendias 1999).

Tabela 1. Średnie zawartości arsenu w różnych skałach

Rodzaj skały	Zawartość As (mg kg ⁻¹)	Źródło literaturowe
Skorupa ziemna	1,8-2,5	Kabata-Pendias 2011
Skąły magmowe:		
Ultrasadowe	0,03-15,8	Smedley i Kinniburgh 2002
Bazalt	0,18-113	Smedley i Kinniburgh 2002
Gabro	0,06-28,0	Onishi i Sandell w: Smedley i Kinniburgh 2002
Skąły kwaśne	1,0-2,5	Kabata-Pendias 2011
Skąły osadowe:		
Piaskowce	0,5-1,2	Kabata-Pendias 2011
Fosforyty	0,4-188	Boyle i Jonasson w: Smedley i Kinniburgh 2002
Węglanowe	1,0-2,5	Kabata-Pendias 2011
Łupki bitumiczne	100-900	Smedley i Kinniburgh 2002
Skąły metamorficzne:		
Fyllity	0,5-143	Boyle i Jonasson w: Smedley i Kinniburgh 2002
Amfibolity	0,4-45,0	Smedley i Kinniburgh 2002

W środowisku wodnym arsen dobrze się rozpuszcza i w związku z tym występuje powszechnie, jednak jego zawartości nie są wysokie. Dla oceanów średnie zawartości arsenu w wodach mieszczą się w przedziale 0,5-2 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Francesconi i Kuehnelt 2002). W wodach rzek przeciętne stężenie arsenu waha się w przedziale 0,1-0,8 $\mu\text{g L}^{-1}$, przy czym w warunkach zwiększonej aktywności wulkanicznej i na obszarach geotermalnych, koncentracja arsenu wzrasta. Dla przykładu, w Nowej Zelandii oraz zachodniej części Stanów Zjednoczonych, średnie stężenie arsenu w wodach powierzchniowych mieści się w przedziale 10–370 $\mu\text{g L}^{-1}$, ale w rzece Loa, w północnej części Chile, notowano nawet do 21 800 $\mu\text{g L}^{-1}$. Tak wysokie zawartości nie są skutkiem zanieczyszczenia środowiska, ale zaklasyfikowane zostały jako naturalne, wynikające z geochemicznego wzbogacenia obszaru w As (Smedley i Kinniburgh 2002). W przypadku jezior i zbiorników retencyjnych koncentracje As w wodach są zazwyczaj podobne do tych notowanych w rzekach i nie przekraczają $< 1 \mu\text{g L}^{-1}$, jednak, w obszarach geotermalnych, obszarach wydobywania surowców, czy też w rejonach aktywności przemysłowej średnie stężenie As w wodach rośnie nawet powyżej 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Smedley i Kinniburgh 2002).

Osobnym przypadkiem są wody gruntowe i podziemne, które mogą mieć ogromne znaczenie jako wody pitne oraz wykorzystywane w gospodarce. W większości krajów, w tym w Polsce, dopuszczalna zawartość arsenu w wodzie pitnej wynosi $10 \mu\text{g L}^{-1}$ (Rozporządzenie Ministra Zdrowia... Dz. U. Nr 61, poz. 417, z późn. zm.). Jednak w niektórych obszarach na świecie zawartość arsenu w wodzie podziemnej znacznie przekracza $50 \mu\text{g L}^{-1}$. Obszary takie występują w licznych krajach, m.in. Argentynie, Bangladeszu, Chile, Chinach, na Węgrzech, Indiach, Meksyku, Rumunii, na Tajwanie, w Wietnamie, czy w Stanach Zjednoczonych. Również w krajach, na obszarze których występują gorące źródła, stężenie As w wodach podziemnych jest podwyższone. Do krajów tych zaliczamy Japonię, Nową Zelandię, Islandię, Francję, Dominikanę, czy USA. W Bangladeszu koncentracja arsenu w wodach sięga do $2500 \mu\text{g L}^{-1}$, w Wietnamie do $3050 \mu\text{g L}^{-1}$, a w Argentynie nawet do $5300 \mu\text{g L}^{-1}$ (Smedley i Kinniburgh 2002). Na terenie Europy, w Rumunii i na Węgrzech, stężenie As w wodach podziemnych nie przekracza $176 \mu\text{g L}^{-1}$. W większości przypadków, w węgierskich wodach podziemnych występują silnie redukcyjne warunki, które sprzyjają mobilności arsenu (Smedley i Kinniburgh 2002).

Średnie roczne stężenie arsenu w powietrzu jest bardzo zróżnicowane, od $0,007 \text{ ng m}^{-3}$ w okolicach bieguna południowego, do 120 ng m^{-3} nad Japonią (Kabata-Pendias i Pendias 1999). Jak podaje World Health Organization (WHO), typowe średnie stężenie As w powietrzu na terenach wiejskich waha się od $0,2 \text{ ng m}^{-3}$ do $1,5 \text{ ng m}^{-3}$, natomiast dla terenów miejskich poziom tła nie powinien przekraczać 3 ng m^{-3} . Dla obszarów uprzemysłowionych poziom tła ustalono na 50 ng m^{-3} . Często jednak nad terenami miejskimi stężenie As w powietrzu wynosi między 3 a 200 ng m^{-3} , a w pobliżu ośrodków przemysłowych – nawet powyżej 1000 ng m^{-3} (WHO 2001).

Arsen w środowisku występuje najczęściej na czterech stopniach utlenienia: -3 , 0 , $+3$ i $+5$, jednak najpowszechniejsze formy jego występowania to As III i As V. W wodach podziemnych i hydrotermalnych, ze względu na panujące warunki anaerobowe, przeważa As III, występujący najczęściej w postaci H_3AsO_3^0 , H_3AsO_3^- , HAsO_3^{2-} i AsO_3^{3-} . Natomiast w wodach gruntowych i powierzchniowych, w warunkach tlenowych, As V występuje w formie: H_3AsO_4^0 , H_2AsO_4^- , HAsO_4^{2-} i AsO_4^{3-} , przy czym uzależnione jest to od warunków odczynu (Henke i Hutchison 2009). Podobnie jak w wodach, także i w glebach w warunkach dobrego natlenienia arsen występuje w formie As V, tworząc AsO_4^{3-} , który związany jest zwykle z tlenkami i wodorotlenkami glinu, żelaza i manganu oraz z materią organiczną (Matschullat 2000). Ponadto, arsen w warunkach tlenowych może ulec

procesowi mikrobiologicznego metylowania, tworząc kwas monometyloarsonowy (MMAA), dimetyloarsonowy (DMAA) i trimetyloarsonowy (TMAO). Natomiast w warunkach deficytu tlenu arsen może zostać zredukowany do form lotnych i łatwo utlenialnego arsenowodoru (AsH_3) (Matschullat 2000; Mandal i Suzuki 2002). Z wymienionych form występowania arsenu najbardziej toksyczny dla organizmów żywych, najbardziej mobilny i najłatwiej rozpuszczalny jest As III.

2.2 Źródła arsenu w środowisku

Arsen do środowiska przedostaje się zarówno ze źródeł naturalnych, jak i antropogenicznych. Znaczącymi naturalnymi źródłami są wybuchy wulkanów, pożary lasów, niskotemperaturowe parowanie z gleb, parowanie oceanów czy np. procesy erozji i wymywania. Jednak najważniejszymi źródłami zanieczyszczenia środowiska arsenem są źródła antropogeniczne. Spalanie paliw kopalnych, procesy hutnicze, produkcja cementu i szkła, a także szerokie zastosowanie w rolnictwie – m.in. jako składnika środków ochrony roślin oraz jako dodatku do pasz przeznaczonych do skarmiania zwierząt to główne źródła zanieczyszczenia arsenem w środowisku. Roczna emisja arsenu z hut miedzi na świecie wynosi ok. 12 800 Mg rok⁻¹, a ze spalania węgla 6240 Mg rok⁻¹, co stanowi ok. 60 % całkowitej emisji ze źródeł antropogenicznych (Matschullat 2000). Podczas procesu spalania węgla arsen przedostaje się do atmosfery, a następnie w wyniku mokrej lub suchej depozycji trafia do pozostałych elementów środowiska. Do poważnego skażenia środowiska, a przede wszystkim do zatrucia ponad 3000 osób, doszło w południowo-zachodniej części chińskiej prowincji Guizhou. Szacuje się, że ponad 200 tys. osób jest tam narażonych na zatrucie. Przyczyną opisywanej sytuacji był wydobywany w okolicy węgiel, wyjątkowo wzbogacony w arsen, wykorzystywany do ogrzewania domostw, suszenia kukurydzy i ostrej papryki. Zawartość arsenu w pobranych próbkach węgla często przekraczała 1000 mg kg⁻¹, a w kilku z nich zanotowane stężenie przekraczało 32 000 mg As kg⁻¹. Arsen dostawał się do organizmów ludzkich nie tylko poprzez wdychanie pyłów, ale także wraz z pożywieniem. W ostrej papryce chilli znajdowano nawet 70 mg As kg⁻¹, a suszona kukurydza zawierała 3,4 mg As kg⁻¹ (Ding i in. 2001; Liu i in. 2002). Stosowanie herbicydów dostarcza do środowiska przyrodniczego dodatkowo w skali świata 3440 Mg As rok⁻¹, a środki konserwujące drewno, określane skrótem CCA (arsenian chromowy miedzi) dostarczają do ogólnej puli As w środowisku dodatkowo 150 t rok⁻¹ (Matschullat 2000; Bhattacharya i in. 2002, Smedley i Kinniburgh 2002; Garelick i in. 2008). Jak podaje

Dubey i in. (2007), po huraganie Katrina, który przeszedł nad Nowym Orleanem w 2005 r., powstało 12 mln m³ odpadów drewnianych, które zawierały ok. 1740 Mg arsenu, stanowiącego pozostałość po konserwacyjnej ciśnieniowej obróbce drewna. Dużym zagrożeniem dla środowiska są odpady powstające przy produkcji drobiu. W 2000 r. w USA 70% drobiu skarmiano paszami zawierającymi dodatek preparatu Roxarsone, który zawiera związki arsenu. Efektywność jego działania polega na eliminowaniu pasożytów, i poprawie wydajności karmienia, przez co preparat działa stymulująco na rozwój i wzrost masy ptactwa. Jednak w efekcie końcowym prowadzi do wzbogacenia odpadów pochodzących z gospodarstw w arsen, którego koncentracja w pomociu wynosi zwykle od 10 do 50 mg As kg⁻¹. W dalszej kolejności pomiot ptasi wykorzystywany jest jako nawóz, co umożliwia dalszą migrację arsenu do środowiska (Henke i Atwood 2009).

W swej długiej historii arsen wykorzystywany był do morderstw, ludobójstwa, a także jako składnik preparatów stanowiących broń np. do tłumienia rozruchów lub jako fitotoksyczny bojowy środek trujący. Kwas kakodylowy jest organiczną pochodną kwasu arsenowego, który pod postacią soli sodowej (Agent Blue), wykorzystywany był podczas wojny w Wietnamie do niszczenia roślinności trawiastej i liściastej (Nriagu 2002). Do dnia dzisiejszego preparat ten stosowany jest w USA jako desykant, do osuszania roślin bawełny przed zbiorami (Garelick i in. 2008).

Jednak oprócz negatywnego wykorzystywania arsenu, przez wieki służył on do leczenia wielu chorób, m.in. reumatyzmu, malarii, cukrzycy, szkarlatyny, syfilisu, bronchitu, zapalenia płuc, białaczki i innych nowotworów. Hipokrates był jednym z pierwszych, który wskazywał lecznicze właściwości arsenu. Około 430 roku p.n.e. podał przepis na balsam leczący owrzodzenia, wykorzystując w mieszaninie m.in. realgar i orpiment. Zauważył, iż orpiment ma działanie ściągające i żrące, które pozwalają także na usunięcie grzybów z ciała i depilację. Z kolei realgar w mieszaninie ze smołą usuwał zdeformowane paznokcie, a z naftą usuwał wszy. Przyjmowany doustnie w mieszaninie z miodem oczyszczał głos i leczył duszność. Pliniusz Starszy (23-79 n.e.) i Galen (130-200 n.e.) podawali podobne przepisy (Meharg 2005). W Austriackich Alpach, w rejonie Styrii, część ludności celowo zażywała arsen, gdyż uważała, że poprawia on zdrowie, polepsza cerę i poprawia wytrzymałość w czasie wspinaczek w górach. Mieszkańcy tego terenu arsen pozyskiwali z sadzy pochodzącej z wytopienia rudy zawierającej arsen. Stopniowo zwiększali oni dawki As₂O₃, zaczynając od 10 mg As /dzień, by dojść do poziomu 400 mg As/dzień, przy czym śmiertelność była niska. Jednak po odstawieniu arsenu dochodziło do pojawienia się symptomów zatrucia, jak: niestrawność, wymioty,

pieczenie i ból brzucha, bóle w jelitach oraz problemy z oddychaniem (Meharg 2005). Jeszcze pod koniec XIX w. i na początku XX w. wiele środków zawierających arsen było wykorzystywanych w lecznictwie. Do 1940 r. arsfenamina (pod nazwą Salvarsan 606) była głównym lekiem przeznaczonym do walki z syfiszem (zdz. 1) Preparat ten został wynaleziony przez wybitnego chemika i bakteriologa, laureata nagrody Nobla w dziedzinie immunoterapii, Paula Ehrlicha. Zmodyfikowany przez niego Atoxyl (kwas p-aminofenyloarsenowy), stosowany do leczenia śpiączki afrykańskiej wywołanej przez świdrowce, stanowił podstawę do stworzenia Salvarsanu 606. Dziś środek ten został zastąpiony przez mniej toksyczne medykamenty, jednak nadal wykorzystywany jest w leczeniu niektórych typów białaczki (As_2O_3), czy śpiączki afrykańskiej (melasoprol) (Francesconi i Kuehnelt 2002; Stoepler 2004; Henke i Atwood 2009).



Zdjęcie 1. Preparat Salvarsan 606 (źródło: strona poświęcona Paulowi Ehrlichowi)

Ze względu na swoje właściwości fizyczne i chemiczne arsen wykorzystywany jest w przemyśle elektronicznym, do produkcji urządzeń optoelektronicznych, jako dodatek do produkcji półprzewodników, produkcji diod emitujących światło (cyfrowe zegarki), w barwnikach, pirotechnice, w produkcji katalizatorów itp. (Smedley i Kinniburgh 2002; Garelick i in. 2008).

2.3. Oddziaływanie arsenu na organizmy żywe

Szeroko opisane w podrozdziale 3 źródła naturalne i antropogeniczne arsenu powodują, iż stale jesteśmy narażeni na jego oddziaływanie. Jednak to, czy będzie miał on

wpływ i w jakim stopniu na organizmy żywe, zależy od dawki, czasu trwania i drogi narażenia. Arsen w niewielkich dawkach działa leczniczo, a dla organizmów zwierzęcych także stymulująco. Istotnym czynnikiem jest również źródło jego pochodzenia oraz związek chemiczny, w jakim występuje. Toksyczność arsenu może być ostra lub przewlekła.

2.3.1. Toksyczność dla ludzi i zwierząt.

Spośród różnych form arsenu najbardziej toksyczny jest arsenowodór, a następnie arsen nieorganiczny As III i As V, natomiast formy organiczne kwasu monometyloarsonowego (MMA), czy dimetyloarsonowy (DMA) są znacznie mniej toksyczne dla organizmów (Kabata-Pendias i Pendias 1999; Le 2002). Mechanizm toksyczności arsenu polega na blokowaniu grup sulfhydrylowych (-SH) znajdujących się w wielu enzymach, powodując zaburzenia w przebiegu cyklu Krebsa (cykl kwasów trikarboksylowych). Dodatkowo arsen zastępuje molekuły fosforu w syntezie ATP, zaburzając ją i tworząc niestabilne estry arsenianowe (Kabata-Pendias i Pendias 1999; Hall 2002; Stoepler 2004). Biotransformacja nieorganicznego arsenu w organizmie człowieka przebiega w większości w wątrobie i uważana jest za proces detoksykacji. As V ulega redukcji do As III, a następnie ulega przekształceniu w wyniku dołączenia grupy metylowej. Glutathion i ewentualne inne związki tiolowe działają jako czynniki redukujące. W ten sposób arsen przekształca się w kwas mono-(MMA) i di-metyloarsonowy (DMA), które są znacznie mniej toksyczne i łatwiej ulegają usunięciu z organizmu, głównie z moczem (Stoepler 2004).

Wszystkie organizmy żywe zawierają w sobie arsen. Zwierzęta wodne akumulują od 0,005 do 0,3 mg kg⁻¹ (Bowen 1966 w: Mandal, Suzuki 2002). Średnia zawartość As w mięśniach zwierząt domowych nie przekracza 0,02 mg kg⁻¹. Dawka śmiertelna dla zwierząt domowych oscyluje między 1 a 25 mg kg⁻¹. Ból brzucha, wymioty, biegunka, chwiejny chód, hipotermia to typowe symptomy zatrucia u ssaków, a w przypadku ostrego zatrucia dochodzi do martwicy i perforacji żołądka i jelit (Stoepler 2004).

Całkowita zawartość arsenu w ciele człowieka wynosi 3- 4 mg i wzrasta z wiekiem. W większości ludzkich tkanek, z wyjątkiem włosów, paznokci i zębów, gdzie ulega on akumulacji, zawartość arsenu jest mniejsza (WHO 2001). LD₅₀ dla człowieka wynosi od 1 mg kg⁻¹ masy ciała (Dani S. 2010), natomiast dzienna tolerowana dawka (NOAEL) As,

przy której nie obserwuje się toksycznego oddziaływania, wynosi do $0,3 \mu\text{g As kg}^{-1} \text{ dzień}^{-1}$ (Matschullat 2000).

W obszarach narażonych na wysokie stężenie arsenu w środowisku, jak Bangladesz czy Bengal Zachodni, koncentracja w wodach gruntowych przekracza 50 mg As L^{-1} i dochodzi nawet do $1000 \text{ mg As L}^{-1}$. Szacuje się, że tylko w samym Bangladeszu narażonych jest ponad 50 mln ludzi, a spożywanie arsenu wraz z wodą i pożywieniem prowadzi do chronicznego zatrucia tym pierwiastkiem. Jak podaje WHO, $1 \text{ mg As dzień}^{-1}$ w formie nieorganicznej powoduje powstanie ryzyka zachorowania na choroby skóry w przeciągu kilku lat (Kabata-Pendias i Mukherjee 2007).

Do chronicznych objawów zatrucia arsenem należą: różnego rodzaju zmiany skórne, zaburzenia obwodowego układu nerwowego, niedokrwistość i leukopenia, uszkodzenia wątroby, choroby układu krążenia oraz nowotwory. Wiele z tych objawów obserwuje się wśród ludzi zamieszkujących Tajwan, Argentynę, czy Bangladesz, którzy spożywają wodę zanieczyszczoną przez ten pierwiastek. W warunkach długotrwałego pobrania As, pojawiają się charakterystyczne zmiany skórne jak np. przebarwienia o różnym stopniu nasilenia. Charakterystyczne jest ich umiejscowienie na dłoniach i podeszwach stóp. Z czasem zmiany te się uzłośliwiają i prowadzą do nowotworu skóry. W wyniku długotrwałego narażenia na arsen uszkodzeniu ulega także obwodowy układ nerwowy, wątroba i błona śluzowa żołądka. Szczególnie niebezpieczne są zaburzenia w układzie krwiotwórczym, które prowadzą do niedokrwistości i leukopenii, a w konsekwencji także do uszkodzenia mięśnia sercowego i innych naczyń krwionośnych, co skutkuje gangreną kończyn, znaną pod nazwą „Blackfoot disease”- chorobą czarnej stopy. Chorobę tą zaobserwowano po raz pierwszy na Tajwanie, gdzie wystąpiła u ludności spożywającej wodę zanieczyszczoną arsenem (Caussey i Priest 2008). Badania wskazują, iż związki arsenu mają także wpływ mutagenny, poprzez zaburzenie syntezy nukleotydów, niszczenie DNA, a także oddziaływaniem na ekspresję genów, poprzez zwiększoną lub zahamowaną ich transkrypcję. Udowodnione jest także oddziaływanie teratogenne (Mandal i Suzuki 2002; Stoepler 2004).

W przypadku ostrego zatrucia następuje zwężenie przełyku, ból w nadbrzuszu, wymioty i biegunka. Jeśli osoba przeżyje, następuje złuszczące zapalenie skóry i zapalenie nerwu wzrokowego, skurcze mięśni, paraliż i śpiączka. Wdychanie arsenu prowadzi do zapalenia błon śluzowych i perforacji przegrody nosowej, zapalenia spojówek (Stoepler 2004).



Zdjęcie 2. Wpływ arsenu na zdrowie ludzi zamieszkujących tereny Bengalu Zachodniego zdjęcia prof. Surendry Kumar w: Dissanayake i Chandrajith 2009)

W zatruciach arsenem leczenie może pójść dwutorowo: albo zostanie on związany przez grupy tiolowe lub też przyspiesza się usuwanie z organizmu. W pierwszym przypadku wykorzystywane są środki chelatujące jak dimerkaprol (BAL), kwas dimerkaptobursztynowy (DMSA; Chemet®; Succimer) i kwas dimerkapto-propan-sulfonowy (DMPS; Dimaval®). Niestety, kuracja ta nie jest skuteczna we wszystkich przypadkach (Hall 2002; Stoepler 2004).

2.3.2. Fitoprzyswajalności i fitotoksyczność arsenu

Choć z fizjologicznego punktu widzenia arsen nie pełni żadnej korzystnej funkcji w roślinach, to pobierany jest przez każdy gatunek. Liniowa zależność pomiędzy zawartością As w glebie i tkankach roślin świadczyć może o jego pasywnym pobieraniu (Kabata-Pendias 2011). Niektórzy autorzy uważają jednak, iż arsen w małych dawkach działa stymulująco na wzrost plonów roślin, co było obserwowane u *Spratina alterniflora* przy stężeniu As w roztworze w zakresie 0,2- 0,8 mg As L⁻¹, a także w eksperymentach z kukurydzą, ziemniakami, żytem i pszenicą (Carbonell i in. 1998; Gulz i in 2005). Zawartość arsenu w biomase większości gatunków roślin, rosnących na niezanieczyszczonej glebie, jest niska i oscyluje w przedziale od 3 µg kg⁻¹ do 1,5 mg kg⁻¹. Pobranie arsenu w dużej mierze zależy od gatunku rośliny, rodzaju gleby, na jakiej rośnie, odczynu, warunków oksydo-redukcyjnych, od obecności innych pierwiastków np. żelaza, czy fosforu, a także aktywności mikrobiologicznej. Arsen, jako analog fosforu, przechodząc przez wolne przestrzenie w apoplacie korzeniowym, konkuruje o

przyłączenie do nośników znajdujących się w plasmalemmie, które zapewniają transport do cytoplazmy (Czerwiński 1976; Meharg i Hartley-Whitaker 2002; Lambkin i Alloway 2002). Najwyższe zawartości arsenu stwierdzano w starych liściach roślin oraz w korzeniach, a najniższe przypadają na ziarna zbóż (Marin i in. 1993; Kabata-Pendias i Pendias 1999; Bowen 1979 w: Matschullat 2000; Visoottiviseth i in. 2002; Stoepler 2004). Wśród zbóż najwyższe zawartości As notuje się w ziarnie ryżu. Ryż zalewowy (paddy rice) (*Oryza sativa* L.), ze względu na ciągłe uwilgotnienie gleby, rośnie w warunkach redukcyjnych, które w sytuacji zanieczyszczenia arsenem, sprzyjają jego uruchomieniu. Korzenie i słoma ryżu uprawianego w wodach zawierających do 8 mg As L⁻¹ pobrały 197 mg As kg⁻¹, przy czym koncentracja arsenu w poszczególnych częściach roślin układała się kolejno: korzenie > słoma > łuska > ziarno (Abedin i in. 2002).

Stosowanie środków ochrony roślin na bazie arsenu powoduje zwiększone stężenie As w tkankach owoców i warzyw. Zawartość arsenu w roślinach rosnących na zanieczyszczonych glebach przedstawia tabela 2.

Zawartość arsenu w glebie powyżej 200-300 mg kg⁻¹ prowadzi do zwiększenia koncentracji As w roślinie do 1 mg kg⁻¹ św.m. (Matschullat 2000). Dla większości roślin stężenie arsenu w biomasie 5-20 mg kg⁻¹ s.m. uważa się za fitotoksyczne, choć nawet niższe koncentracje As prowadzić mogą do obniżenia plonu (Kabata-Pendias 1994).

Tabela 2. Koncentracja arsenu w wybranych roślinach rosnących na zanieczyszczonych glebach lub w warunkach stosowania pestycydów na bazie związków arsenu.

Roślina / Część rośliny	Koncentracja (mg kg⁻¹ s.m.)	Pochodzenie zanieczyszczenia	Kraj	Źródło
Trawa	> 400	Rejon kopalni i złóż mineralnych	W.Brytania	Kabata-Pendias i Pendias 1999
Bulwy ziemniaka/skóra	1,10	Środki ochrony roślin na bazie As	Kanada	Chrisholm 1972
Rzepa/skóra	1,08	Środki ochrony roślin na bazie As	Kanada	Chrisholm 1972
Drzewa/liście	16-387	Wytwórnia akumulatorów	Kanada	Kabata-Pendias i Pendias 1999
Ryż/ziarno	< 1,2	Uprawa	Japonia	Kabata-Pendias i Pendias 1999
Drzewa/liście	27-2740	Przemysł przetwórstwa metali	Japonia	Linzon i in. 1976 w: Kabata-Pendias 2011
Kłósówka wełnista/ cz.nadz.	0,7-26	Obszar zanieczyszczony przez bojowe środki trujące	Niemcy	Pitten i in. 1999
Świerk czarny/igły	0,02-0,06	Huta niklu, miedzi, kobaltu, platyny	Kanada	Nkongolo i in. 2008
Świerk czarny/gałęzie	0,08-0,30	Huta niklu, miedzi, kobaltu, platyny	Kanada	Nkongolo i in. 2008
Rzodkiewka/liście	120	Rejon kopalni złota	Kanada	Smith i in. 2008
Poziomka/cz. nadz.	5-45	Rejon kopalni złota i arsenu	Polska	Antosiewicz i in. 2008
Paproć/cz.nadz.	4-32	Rejon kopalni złota i arsenu	Polska	Antosiewicz i in. 2008
Wrzos zwyczajny/cz.nadz.	45,5	Rejon kopalni złota i arsenu	Polska	Krysiak 2007
Skrzyp polny/cz.nadz.	6,2-118,4	Rejon kopalni złota i arsenu	Polska	Krysiak 2007
Rajgras wyniosły/cz.nadz.	5,6-7,9	Rejon kopalni złota i arsenu	Polska	Krysiak 2007

Fitotoksyczność arsenu maleje w kolejności: arsenowodór> arsenin> arsenian> mono-azotano-metano-arsonate (MSMA)> kwas kakodylowy, który długo pozostaje fitotoksyczny, w przypadku bezpośredniej aplikacji na liście (Matschullat 2000; Mandal i Suzuki 2002). Wzrastająca koncentracja arsenu powoduje zmniejszenie plonu roślin; obniżenie wagi korzeni, liści i masy 1000 nasion. Z fizjologicznego punktu widzenia następuje więdnienie liści, chloroza lub fioletowe zabarwienie ze względu na wzrost poziomu antocyjanin, nekroza, przebarwienie korzeni i plazmoliza komórek (Paliouris i Hutchinson 1991; Abedin i in. 2002; Kabata-Pendias, Makherjee 2007). Zwiększenie nawożenia fosforem może spowodować wzrost koncentracji arsenu w roztworze glebowym w wyniku procesu wypierania arsenu przez fosfor z kompleksu sorpcyjnego. Ze

względem na podobieństwo jonów arsenu i fosforu (więcej na ten temat w rozdziale 3.5.) arsen wykorzystuje system transportu fosforu i dostaje się do komórek roślinnych. W konsekwencji zastępowania fosforu, powoduje zablokowanie oddychania mitochondrialnego, poprzez blokowanie koenzymu NAD oraz fosforylację oksydacyjną poprzez hamowanie powstawania ATP. Blokuje także wiele enzymów poprzez wysokie powinowactwo do grup tiolowych. Wymienione skutki zastępowania arsenu przez fosfor prowadzą w konsekwencji do wystąpienia zaburzeń w funkcjonowaniu roślin, a nawet ich obumierania (Dembitsky i Rezanka 2003; Patra 2004). Jak podaje Carbonell i in. (1998) wzrost stężenia sodu w roztworze glebowym, np. w związku z zanieczyszczeniem arsenem w postaci soli sodowej, spowodował zmniejszenie pobrania i zawartości potasu w korzeniach roślin, ponieważ wystąpił tu efekt antagonizmu pomiędzy Na i K. Dalsze analizy Carbonell i in. (1998) wykazały, iż w wyniku działania arsenu nieorganicznego, wzrosła koncentracja boru i miedzi w korzeniach, miedzi w częściach nadziemnych oraz magnezu, zarówno w korzeniach, jak i w częściach nadziemnych. Z kolei arsen organiczny w postaci metylo-arsenu mono- i di-sodowego (MSMA i DSMA) powoduje wzrost koncentracji wapnia w częściach nadziemnych roślin, ale hamuje pobranie innych makroskładników. Może mieć to istotne znaczenie w mechanizmach detoksyfikacyjnych (Carbonell i in. 1998).

W przypadku zanieczyszczenia gleb arsenem, podobnie jak w przypadku zanieczyszczenia metalami ciężkimi, rośliny w różny sposób radzą sobie z ich tolerowaniem. Można wyróżnić trzy rodzaje mechanizmów obronnych roślin: 1) eliminowanie - poprzez unikanie lub znaczne ograniczenie pobrania; 2) detoksykację poprzez wydzielenie toksycznych związków w osobnej strukturze lub też wiązanie w ścianach komórkowych oraz 3) biochemiczną detoksykację przy pomocy wyspecjalizowanych szlaków metabolicznych i adaptację enzymatyczną. Rośliny wytwarzają niskomolekularne tiole, jak np. glutation i cysteina, które w drodze enzymatycznej syntezy tworzą fitochelatyny. Polipeptydy te wiążą metale w cytoplazmie podstawowej (cytozolu) i transportują je do wakuoli, pełniących rolę „magazynu odpadów” w komórce (Barry 1986 w: Meharg i Macnair 1992; Clemens 2001; Hartley-Whitaker i in. 2001; Yadav 2010).

Kłosówka wełnista (*Holcus lanatus*), lepnica rozdęta (*Silene vulgaris*), mietlica pospolita (*Agrostis capillaris*), czy wrzos pospolity (*Calluna vulgaris*) mogą tolerować znaczne ilości arsenu w glebie, dzięki czemu zaliczone zostały do odrębnej grupy roślin

tolerancyjnych (Macnair i Cumbes 1987; Paliouris i Hutchinson 1991; Macnair i in. 1992; Meharg i Hartley-Whitaker 2002).

Niektóre rośliny nie tylko tolerują wysokie koncentracje arsenu w glebach, powyżej 1500 mg kg⁻¹, ale pobierają znaczne jego ilości. Gatunki roślin, które potrafią zakumulować powyżej 1000 mg As kg⁻¹ w suchej masie, zaliczyć możemy do grupy hiperakumulatorów tego pierwiastka (Reeves 2006). Paprocie z gatunku *Pteris vittata* posiadają wysoki współczynnik bioakumulacji As, sięgający 193, a koncentracja arsenu w częściach nadziemnych tych paproci sięgać może 2,3 % s.m. (Zhang i in. 2002). Innym gatunkiem paproci zaliczanym do roślin hiperakumulujących arsen jest *Pityrogramma calomelanos*. Analiza próbek tych roślin, zebranych w pobliżu kopalni cyny w Tajlandii, wykazała, że zawartość arsenu sięga nawet 8000 mg kg⁻¹, ale koncentracja As w materiale roślinnym w dużej mierze zależała od odczynu, składu granulometrycznego gleby, a także od zawartości w glebie innych składników, m.in. obecności żelaza. W tym samym rejonie zebrano również próbki paproci *Pteris vittata*, w materiale której koncentracja arsenu sięgała 6000 mg kg⁻¹ (Visoottiviseth i in. 2002).

2.4. Czynniki decydujące o rozpuszczalności arsenu w glebach

Rozpuszczalność arsenu, czyli zdolność do przechodzenia pierwiastka do roztworu glebowego z fazy stałej gleby, zależy od wielu czynników. Pochodzenie zanieczyszczenia, rodzaj gleby, odczyn, potencjał oksydo-redukcyjny oraz obecność materii organicznej i jej właściwości mają wpływ na mobilność arsenu w glebach. Jednak oprócz tych czynników również obecność fosforu, czy związków żelaza, wpływa na stabilność arsenu w glebach (Krysiak i Karczewska, 2007; Lambkin i Alloway, 2003; Szakova i in. 2009). Poznanie czynników wpływających na mobilizację arsenu w glebie, a co za tym idzie, na jego fitoprzyswajalność, ma ogromne znaczenie przy regulacji włączania omawianego pierwiastka do cyklu przyrodniczego. Stanowić może również bazę do opracowania skutecznej metody rekultywacji zanieczyszczonych terenów, ze szczególnym uwzględnieniem metod biologicznych. Dotychczasowe metody rekultywacji bazują na oczyszczaniu mechanicznym lub też fizyko-chemicznym, które są niezwykle kosztownymi metodami, nie tylko w wymiarze ekonomicznym, ale i także przyrodniczym. Zarówno immobilizacja jak i ekstrakcja, czy to chemiczna, czy fitoekstrakcja, opierają się na regulacji czynników determinujących mobilizację arsenu.

Dodatki immobilizujące arsen w glebie ograniczają jego wymywanie i pobranie przez rośliny. Możliwe jest to dzięki różnym procesom: adsorpcji na powierzchni minerałów, okludowaniu w strukturach uwodnionych tlenków, formowaniu stabilnych kompleksów z organicznymi ligandami, strącaniu w postaci soli. Adsorpcja arsenu w glebie jest procesem bardzo złożonym, jednak głównie zachodzi ona na powierzchni koloidów glebowych, składających się z minerałów ilastych, tlenków i wodorotlenków glinu, żelaza i manganu, węglanu wapnia oraz cząstek materii organicznej. Minerały ilaste posiadają ładunek ujemny, przez co sorbuje na swojej powierzchni kationy, natomiast aniony arsenu podlegają procesowi chemisorpcji lub sorpcji wymiennej na powierzchni cząstek, głównie poprzez zastępowanie albo konkurencję z fosforem (McBride 1994; Sadiq 1997). Przebieg tych procesów uzależniony jest od warunków panujących w glebie takich jak: odczyn, potencjał redoks, rodzaju gleby, pojemności kationów wymiennych i inne. Rzadko tylko jeden mechanizm odpowiada za immobilizację składników w glebie (Kumpiene i in. 2008).

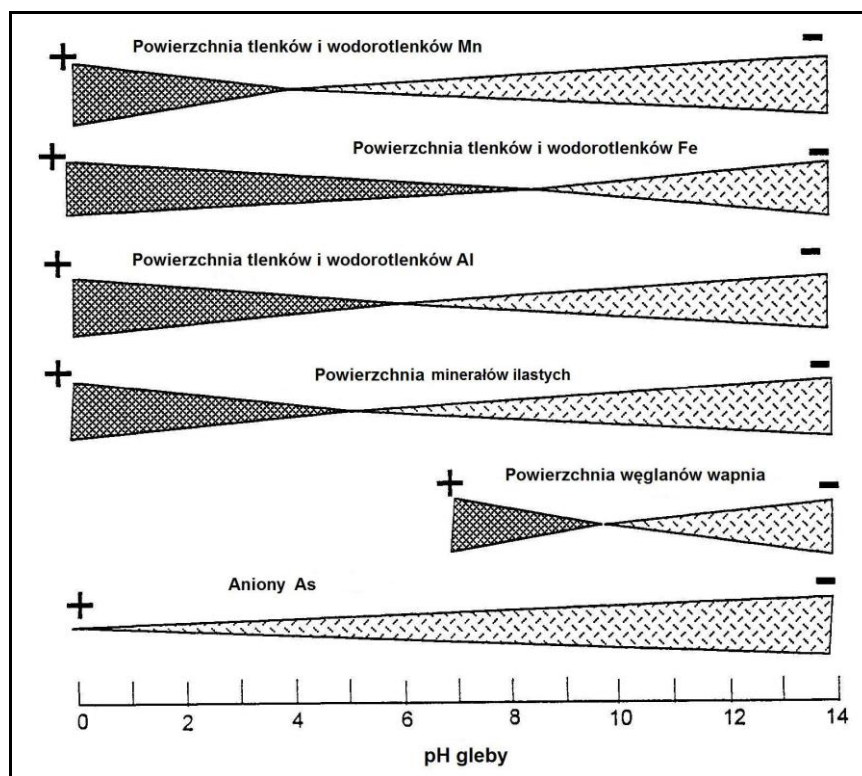
2.4.1. Pochodzenie As w glebie

Pochodzenie arsenu wpływa na jego zachowanie się w glebie. Pierwiastki pochodzenia naturalnego, uwolnione w procesie wietrzenia i innych procesów glebotwórczych są zazwyczaj słabo rozpuszczalne, gdyż związane są w sieciach krystalicznych minerałów pierwotnych i wtórnych (Karczewska 2008). Natomiast pierwiastki uwolnione ze źródeł antropogenicznych zwykle łatwo ulegają mobilizacji, przez co szybciej rozprzestrzeniają się w środowisku. Wynika to z rodzaju związków, jakie tworzą, które są bardziej podatne na działanie czynników takich jak silne kwasy, czy związki chelatujące, które mogą powodować ich rozpuszczenie (Alloway 1995; Karczewska 2002, Karczewska 2008).

2.4.2. Odczyn

Forma występowania arsenu w glebie w dużej mierze zależy również od odczynu. W glebach kwaśnych dominują arseniany żelaza i glinu (AlAsO_4 , FeAsO_4), bardzo słabo rozpuszczalne. Jednak obniżenie wartości pH do poziomu odpowiadającego odczynowi bardzo silnie kwaśnemu ($\text{pH} < 3$) powoduje wzrost rozpuszczalności As w wyniku procesu rozpuszczania amorficznych i krystalicznych form uwodnionych tlenków żelaza (Karczewska i in. 2005; Karczewska 2008). W warunkach odczynu obojętnego i

alkalicznego, szczególnie w glebach o zwiększonej zawartości sodu, tworzy się arsenian sodu, który jest solą łatwo rozpuszczalną. Podobnie arsen wiąże się z wapniem, tworząc arsenian wapnia (Ca_3AsO_4), również łatwo ulegający rozpuszczaniu (McBride 1994; Mandal i Suzuki 2002). Jak podaje McBride (1994), z analizy stałych równowagi reakcji chemicznych wynika, że As V jest silniej sorbowany na tlenkach glinu niż As III. Nie bez znaczenia jest również fakt, iż w warunkach odczynu silnie alkalicznego substancja organiczna ulega częściowo rozpuszczeniu a zasorbowany przez nią arsen ulega uwolnieniu do środowiska glebowego (Karczewska i in. 2005). Niższe pH sprzyja procesowi wymiany ligandów, co w efekcie prowadzi do silniejszej sorpcji As (McBride 1994; Sadiq 1997). W warunkach odczynu od kwaśnego do obojętnego, a nawet lekko zasadowego, tlenki żelaza posiadają ładunek dodatni, co powoduje sorbowanie anionów As, jednak powyżej pH 9 ładunek tlenków żelaza zmienia się na ujemny, co może wpływać na zwiększoną desorpcję As (Pantzar-Kallio i Manninen 1997; Sadiq 1997; Goldberg 2002). Tlenki i wodorotlenki glinu i manganu odgrywają mniejszą rolę w immobilizacji arsenu niż tlenki żelaza, ponieważ już powyżej pH 6 zmienia się ich ładunek, co może zapoczątkować proces desorpcji, aczkolwiek mechanizmy chemisorpcji i sorpcji wymiennej mogą utrzymywać zabsorbowany As na powierzchni tlenków Mn (Sadiq 1997).



Rysunek 1. Kształtowanie się ładunków koloidów glebowych w zależności od odczynu (według Sadiqa 1997, zmodyfikowane przez autorkę)

We wspomnianym już wcześniej doświadczeniu Pansar-Kallio i Manninen (1997) badano wpływ odczynu na uruchamianie arsenu z gleb zanieczyszczonych środkami ochrony drewna typu CCA. W glebie piaszczystej i gliniastej najwięcej arsenu ekstrahowano przy pH 1 i 13, natomiast w glebach próchnicznych - przy pH 13, ze względu na rozpuszczenie kwasów huminowych i uwolnienie arsenu związanego z materią organiczną. W przedziale pH 3-9 nie było znaczącej różnicy w rozpuszczalności As, choć przy pH 7 ilość ekstrahowanego arsenu była najniższa. Ogólnie ilość uwalnianego As III w porównaniu do As V jest zdecydowanie niższa (Pansar-Kallio i Manninen 1997). Al-Abed i in. (2007) w doświadczeniu z glebami pochodzącymi z przemysłu miedziowego, zanieczyszczonymi As, również zauważyli spadek rozpuszczalności arsenu, a także żelaza, w przedziale pH 4-7. Wzrost pH do 11 spowodował zwiększenie rozpuszczalności As i Fe. Podobne wyniki uzyskał też Shaw (2006) w mieszanym materiale piasku i odpadów z kopalni węgla, do której wprowadzono arsen w postaci arsenianu sodu.

W przypadku badania fitoprzyswajalności arsenu, szczególnie w warunkach doświadczalnych, należy brać pod uwagę fakt, iż w strefie korzeniowej roślin (ryzosferze) odczyn gleby może się różnić od badanego w całej masie glebowej. Różnica może sięgać nawet 2 jednostek pH (Marschner 1995). Związane jest to z brakiem równowagi jonowej pomiędzy kationami a anionami i zróżnicowaniem w uwalnianiu jonów wodorowych (H^+) i wodorowęglanowych (HCO_3^-) lub jonów hydroksylowych (OH^-). Aktywność mikrobiologiczna stymuluje wydzielanie przez ryzosferę CO_2 , co prowadzi do powstania kwaśnych jonów (HCO_3^-) i kwasów organicznych. Pobieranie azotanów jest skorelowane z większym wydzielaniem jonów (HCO_3^-), a pobieranie azotu w formie amonowej sprzyja wydzielaniu jonów (H^+), dlatego też nawożenie gleb obojętnych i alkalicznych azotem w formie amonowej powoduje obniżenie pH i wzrost rozpuszczalności fosforanu wapnia oraz innych składników pokarmowych, jak np. żelaza, boru czy cynku, ale i innych metali ciężkich, w tym i arsenu. Zdolność do buforowania gleby ma podstawowe znaczenie dla regulacji zmian pH, między innymi w obrębie strefy korzeniowej roślin (Marschner 1995).

2.4.3. Warunki oksydo-redukcyjne

Warunki oksydo-redukcyjne mają szczególne znaczenie w procesach mobilizacji i immobilizacji arsenu. W warunkach natlenienia, przy potencjale Eh od 500 do 200 mV, przeważa arsenian (As V), stabilny, silnie sorbowany na tlenkach i wodorotlenkach glinu, żelaza i manganu oraz przez materię organiczną. W warstwach gleb wzbogaconych w

żelazo As wytrącać się może w postaci arsenianu żelaza. Przy niższych wartościach Eh, w zakresie 0-100 mV, mobilność arsenu uzależniona jest od rozpuszczalności wodorotlenków Fe (Masscheleyn i in. 1991; Mandal i Suzuki 2002; Bose i Sharma 2002).

Natomiast w warunkach redukcyjnych, przy Eh -200 mV, zarówno arseniany, jak i arseniny przechodzą do roztworu glebowego ze względu na rozpuszczanie tlenków glinu i manganu, a następnie żelaza. Przy dalszym utrzymywaniu warunków beztlenowych, arseniany zostają zredukowane do arseninów, a te z kolei przekształcają się w nierozpuszczalne związki. Tak więc w miarę pogłębiającej się anaerobiozy początkowo mobilność arsenu wzrasta, a następnie zdecydowanie maleje. Oprócz tego w glebie w warunkach deficytu tlenu przebiegają jeszcze inne procesy, jak np. rozkład materii organicznej w procesie fermentacji, co powoduje uwalnianie się siarkowodoru, który w konsekwencji połączenia z arseninami tworzy nierozpuszczalne siarczki, tym bardziej, iż arsen należy do grupy pierwiastków chalkofilnych (McBride 1994; Sadiq 1997; Ascar i in. 2008; Karczevska 2008).

W przypadku organicznych form arsenu, powstałe w warunkach dobrego natlenienia kwasy mono-, di- i tri-metyloarsonowe, w warunkach anaerobiozy mogą ulec redukcji do toksycznego gazu metyloarsinu (Turpeinen i in. 1999; Mandal i Suzuki 2002).

2.4.4. Minerale z grupy tlenków żelaza

Arsen występuje w glebie w formie anionów i w związku z tym podlega specyficznej sorpcji, innej niż w przypadku kationów. Sorbowany jest głównie przez uwodnione tlenki żelaza i glinu, które mają charakter amfoteryczny. Chemisorpcja arsenu zachodzi na minerałach, które posiadają grupę hydroksylową, a są to głównie niekrystaliczne glinokrzemiany, tlenki i wodorotlenki żelaza, glinu i manganu oraz na powierzchni minerałów ilastych (McBride 1994, Zawadzki 1999). Żelazo pod różną postacią było testowane jako dodatek immobilizujący arsen w glebie, wykazując bardzo dobre rezultaty w ograniczaniu jego rozpuszczalności, a nawet jako metoda umożliwiająca usunięcie arsenu z wód (Warren i in. 2003; Lenoble i in. 2005). W doświadczeniu Warrena i in. (2003) dodatek siarczanu żelaza, a także śrutu żelazowego znacznie ograniczał rozpuszczalność arsenu, a także jego pobranie przez testowane rośliny. Lenoble i in. (2005) testowali wpływ krystalicznego i amorficznego fosforanu (III) żelaza na rozpuszczalność arsenu. Zastosowane związki powodowały strącanie arsenu z roztworu, co umożliwia wykorzystanie tych wyników do oczyszczania wód, np. pochodzących z

kopalń, lub do rekultywacji zanieczyszczonych gleb. Sherman i Randall (2003) wyjaśniają silną adsorpcję As III i As V na tlenkach i wodorotlenkach żelaza: słabo krystalicznym ferryhydrylicie, getycie, hematycie i lepidokrokoicie powstawaniem powierzchniowych wewnątrz-sferycznych kompleksów w wyniku wymiany ligandów z grupami hydroksylowymi na powierzchni minerałów.

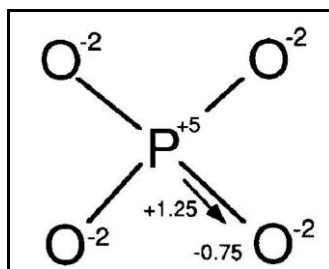
Garcia-Sanchez i in. (2002) badali sorpcję As V na naturalnych i syntetycznych wodorotlenkach żelaza i glinu. Najlepsze rezultaty uzyskano przy pH 4, z wykorzystaniem wypreparowanych wodorotlenków żelaza, ale także i glinu. Wodorotlenki te, dodane do dwóch zanieczyszczonych gleb, pozwoliły na redukcję wodno rozpuszczalnego As nawet o blisko 100%. Podobne wyniki uzyskali Jeong i in. (2007). W doświadczeniu tych autorów z wykorzystaniem substancji pochodzących z zakładów produkcyjnych wytwarzających proszki do natrysków termicznych oraz roztworu arsenianu sodu, najwyższy stopień redukcji rozpuszczalnego arsenu, wynoszący 95%, uzyskano przy pH 6. Tlenki żelaza i gliny są jednak skuteczne w szerszym przedziale pH, między 4 a 7. Naturalnie, lepsze wyniki uzyskiwano do tlenków żelaza, ze względu na ich większą pojemność sorpcyjną.

Również tlenki manganu uważane są za dobre sorbenty arsenu, choć nie tak skuteczne jak tlenki żelaza. W celu zwiększenia pojemności sorpcyjnej manganu tworzy się związki łączące żelazo i mangan. Wyniki badań nad immobilizacją As w glebach przy użyciu tlenków żelazisto-manganowych (FMO) są bardzo obiecujące i efektywne w szerokim przedziale pH od 2 do 8 (Chakravarty i in. 2002; Zhang i in. 2007; Ruiping i in. 2009). Testy przeprowadzone w warunkach laboratoryjnych oraz naturalnych, z wykorzystaniem próbek wody z Zachodniego Bengalu, dały porównywalne wyniki (Chakravarty i in. 2002). Natomiast Ruiping i in. (2009) wykorzystali podwójne tlenki żelazisto-manganowe (FMBO) oraz wodorotlenki żelaza (HFO) i wodorotlenki manganu (HMO) do badań nad usuwaniem arsenu, zarówno As III, jak i As V, z zanieczyszczonych wód. Badania laboratoryjne wykazały, iż najwyższą zdolność do usuwania arsenu wykazują FMBO, w połączeniu z metodami filtracji na złożu piaskowym i ultrafiltracji. Zastosowanie tych metod pozwoliło na redukcję zawartości As w wodzie o około 95%.

2.4.5. Fosfor

Arsen i fosfor należą do grupy azotowców, w której znajdują się także takie pierwiastki jak azot, skąd pochodzi nazwa całej grupy oraz bizmut i antymon. Przynależność arsenu i fosforu do jednej grupy pierwiastków powoduje, iż ich właściwości

chemiczne są bardzo zbliżone. Zarówno arsen, jak i fosfor występują w formach tlenkowych, na + 5 stopniu utlenienia i tworzą aniony. Sorbowane są chemicznie przez tlenki żelaza i glinu oraz niekryształiczne glinokrzemiany. Jednak fosfor jest stabilny w szerszym przedziale potencjału elektrochemicznego oraz w szerszym przedziale odczynu. Jako jeden z grupy anionów, takich jak np. siarczany, azotany jest najsilniej adsorbowany przez tlenki żelaza i często tworzy z nimi nierozpuszczalne związki, bardziej trwałe niż siarczany żelaza, czy arsenin żelaza. Stałe dysocjacji kwasu ortofosforowego H_3PO_4 ($\text{pK}_1=2,12$, $\text{pK}_2=7,20$, $\text{pK}_3=12,40$) są bardzo podobne do stałych dysocjacji kwasu arsenowego ($\text{pK}_1=2,20$, $\text{pK}_2=6,97$, $\text{pK}_3=11,53$), a w warunkach tego samego odczynu w roztworze występują analogiczne rodzaje jonów obu pierwiastków (McBride 1994; Lambkin i Alloway 2002). Ze względu na podobieństwo chemiczne i tworzenie analogicznych jonów, mechanizmy sorpcji arsenu i fosforu na składnikach fazy stałej gleb są takie same. Oba rodzaje jonów sorbowane są na powierzchni tlenków, zastępując OH^+ lub H_2O w pozycji koordynacyjnej metalu w wyniku wymiany ligandów. W ten sposób tworzą się kompleksy proste (McBride 1994; Małecki 1996). Aniony fosforanowe są mniejsze niż aniony arsenianowe i mają większy ładunek, dlatego fosfor wiązany jest silniej niż arsen i dlatego obecność fosforanów w roztworze glebowym może ograniczać adsorpcję arsenianów (Barrow 1974). McBride (1994) tłumaczy to wielkością umownych ładunków cząstkowych (shared charge), zależnych od wartościowości atomu centralnego i liczby przyłączonych atomów tlenu. Rys. 2 obrazuje atom centralny fosforu w otoczeniu atomów tlenu, wraz z przypisanymi im umownymi ładunkami cząstkowymi. Dla fosforu i dla arsenu ładunki te są takie same (+1,25). Im niższa jest wartość ładunków cząstkowych, tym silniejsze są połączenia z tlenkami żelaza i glinokrzemianami. Dlatego fosfor w formie PO_4^{3-} i arsen w formie AsO_4^{3-} są silniej sorbowane niż aniony MoO_4^{2-} , CrO_4^{2-} , czy SeO_4^{2-} . Gdy umowne ładunki cząstkowe są takie same, czynnikiem różnicującym siłę wiązań jest elektroujemność atomu centralnego, decydująca o stopniu polaryzacji wiązań. W przypadku fosforu i arsenu, to fosfor posiada większą elektroujemność (McBride 1994), dlatego fosfor jest silniej sorbowany niż arsen.



Rysunek 2. Schemat dzielenia ładunku atomu fosforu z atomami tlenu (za McBride 1994)

Zapewne dlatego, przy podobnym stężeniu As i P w roztworze glebowym, fosfor jest chętniej sorbowany (Lambkin i Alloway 2002). Jeśli stosunek As: P w roztworze glebowym rośnie, wówczas fosfor zostaje uwolniony z fazy stałej i jego koncentracja w roztworze rośnie. Woolson i in. (1973) tłumaczą to prawem działania mas w warunkach wysokiej koncentracji As w roztworze. Im więcej As wprowadza się do roztworu, tym większa jest jego sorpcja i tym większa jest desorpcja P. Jednak w momencie osiągnięcia maksymalnej desorpcji fosforu, arsen nadal jest sorbowany, co może świadczyć, iż mechanizm sorpcji As polega nie tylko na zastępowaniu jonów P, ale także na wypieraniu innych ligandów z kompleksu sorpcyjnego przez As (Lambkin i Alloway 2003). Z kolei niektórzy autorzy: Caille i in. (2004), Christophersen i in. (2009) dowodzą, iż dodatek fosforu do gleb nie powoduje zwiększonej desorpcji arsenu. Dodatek As V do gleb nie wpływał na zwiększoną desorpcję wodno rozpuszczalnego P, aczkolwiek, ilość wodno rozpuszczalnego arsenu wzrastała wraz ze wzrostem stężenia fosforu. W tym samym doświadczeniu Christophersen i in. (2009) testowali wpływ As i P na wzrost i pobranie obu pierwiastków przez lucernę i jęczmień wykazując, że w obecności arsenu, wzrost roślin został zredukowany. Jednak dodatek fosforu, nawet w niewielkich dawkach, wpływał na zmniejszenie toksycznego działania As na rośliny (Christophersen i in. 2009). Tłumaczone jest to różnymi systemami pobierania fosforu, w zależności od różnego poziomu jonów fosforanowych w roztworze oraz blokowaniem wysoko efektywnego systemu pobierania P. Zablockowanie efektywnego systemu pobierania fosforu jest jedną ze strategii unikania pobierania As (Meharg i MacNair 1990; Christophersen i in. 2009).

2.4.6. Materia organiczna

Rola substancji organicznej w modyfikowaniu mobilności arsenu nie została jeszcze w wystarczający sposób poznana. W środowisku naturalnym między rozpuszczalną materią organiczną a anionami zawierającymi arsen może dochodzić do konkurencji o miejsce w kompleksie sorpcyjnym. Zatem wprowadzenie rozpuszczalnych związków organicznych do gleby może prowadzić do wzrostu potencjalnej biodostępności arsenu (Kalbitz i Wennrich 1998; Bauer i Blodau 2006, Wang i Mulligan 2006), a w szczególności niskocząsteczkowych związków organicznych o charakterze słabych kwasów, takich jak np kwas cytrynowy, kwasy fulwowe, czy kwas szczawiowy (Mohapatra i in. 2005). Mechanizm ten może mieć ogromne znaczenie w przypadku wprowadzania do gleby, w ramach rekultywacji, słabo humifikowanych osadów ściekowych, czy organicznych

nawozów naturalnych takich jak obornik czy gnojowica. Xu i in. (1991) w swoim doświadczeniu wykazali niewielki wpływ kwasów fulwowych na sorpcję As. W eksperymencie tym wykorzystano tlenek glinu, hematyt i kwarc, które zanieczyszczono solami As V, As III oraz MMAA i DMAA. Kwasy fulwowe stosowano we wzrastających stężeniach, osiągając maksymalnie 25 mg L^{-1} , a także kontrolowano odczyn. Najsilniejsze oddziaływanie kwasów fulwowych (Kf) na rozpuszczalność arsenu obserwowano w przedziale pH 4-8 i przy koncentracji kwasów fulwowych równej 25 mg L^{-1} . Dalszy dodatek Kf nie powodował zwiększenia mobilności As V. Przy odczynie silnie kwaśnym (pH 3) i zasadowym (pH 9) zaobserwowano niewielki wpływ obecności kwasów fulwowych na sorpcję arsenu. Z kolei w badaniach Gräfe i in. (2002) dodatek kwasu cytrynowego oraz kwasów fulwowych i huminowych redukował adsorpcję arsenu, jednak na ten proces wpływało wiele czynników, jak rodzaj rozpuszczalnej materii organicznej, stopień utlenienia As i obecność minerałów o zróżnicowanej powierzchni sorpcyjnej. Dodatek kwasu cytrynowego redukował adsorpcję As V na ferryhydrylicie, a pozostałe kwasy nie wywołały żadnego efektu. Adsorpcja As III na ferryhydrylicie w obecności kwasów fulwowych i kwasu cytrynowego ulegała ograniczeniu w dwóch przedziałach pH: od 3-7 i od 7-11, przy czym w przedziale pH 7-11 tylko w obecności kwasu cytrynowego. Z kolei dodatek kwasów huminowych i fulwowych zmniejszał adsorpcję As V na getycie, przy czym kwasy huminowe były skuteczne przy pH 6-9, a fulwowe między 3 a 8. Kwas cytrynowy nie miał wpływu na sorpcję As na getycie. Natomiast desorpcja As III następowała w obecności wszystkich kwasów, przy pH 3 do 8 (Grafe 2001). Mench i in. 2003 w doświadczeniu z glebami zanieczyszczonymi w wyniku wydobywania złota i metali towarzyszących, w tym arsenu, zastosowali dodatki mające na celu immobilizację arsenu: kompost, magnetyt, berginit, śrut stalowy oraz maghemit. Wykazano, że z wyjątkiem dodatku kompostu, wszystkie inne dodatki powodowały redukcję wymywania arsenu. Jednak wprowadzenie kompostu - i do gleby kontrolnej, i do gleb z zastosowanymi innymi dodatkami - gwałtownie zwiększało mobilizację arsenu. Badania przeprowadzone przez Bauera i Blodau (2006) dotyczące wykorzystania rozpuszczalnej materii organicznej dla uruchamiania arsenu z tlenków żelaza, gleb (piaszczystych i gliniastych) i osadów z dna jeziora Trebgast wykazały, że ilość uwalnianego arsenu uzależniona jest od materiału, na którym został on zabsorbowany. Z minerałów preparowanych syntetycznie, np. getytu, procent uwalnianego arsenu w obecności rozpuszczalnej materii organicznej był wyższy, niż z minerałów pochodzenia naturalnego (Bauer i Blodau 2006). Materia organiczna może sorbować arsen. W niektórych warstwach osadów ze studni głębinowych z okręgu

Munshiganj w Bangladeszu, 10-30% arsenu związanych jest z organiczną fazą stałą (Harvey i Swartz 2002). W warunkach redukcyjnych panujących w osadach w delcie rzeki Bengal w Indiach, rozkład materii organicznej w wyniku działalności mikroorganizmów, przyczynia się do rozpuszczania wodorotlenków żelaza. Okłudowany na nich arsen, podobnie jak i arsen związany z materią organiczną, ulega wówczas uwolnieniu (Anawar i in. 2003).

2.4.7. Zmiana biodostępności arsenu w efekcie „starzenia się” zanieczyszczenia glebie

W ostatnich kilkunastu latach zaczęto zwracać uwagę na dynamikę zmian biodostępności arsenu, a także metali ciężkich, w miarę upływu czasu od zanieczyszczenia gleby. Ma to istotny wpływ w ocenie ryzyka narażenia ludzi i zwierząt na toksyczne oddziaływanie wymienionych pierwiastków. Dotychczas przeprowadzone testy z wykorzystaniem gleb sztucznie zanieczyszczonych wskazują na zmniejszanie się udziału łatwo rozpuszczalnego arsenu w glebach wraz z wydłużaniem czasu inkubacji próbek (Fendorf i in. 2004; Tang i in. 2007; Juhasz i in. 2008; Quazi 2010). Jako przyczyny takich zmian w mobilności zanieczyszczeń podaje się zmiany sposobu sorpcji. Początkowo kationy i aniony sorbowane są szybko na powierzchni minerałów ilastych z wykorzystaniem sił elektrostatycznych, natomiast wraz z upływem czasu następuje powolna transformacja zabsorbowanych cząstek i przekształcanie ich w wewnątrz-sferyczne kompleksy. Nastąpić może także powierzchniowa dyfuzja poprzez mikropory znajdujące się na powierzchni amorficznych tlenków żelaza, glinu, manganu (Axe i Trivedi 2002; Fendorf i in. 2004; Tang i in. 2007; Juhasz i in. 2008). Doświadczenia inkubacyjne prowadzone przez Tanga i in. (2007) na pięciu różnych glebach o zawartości $120 \text{ mg As kg}^{-1}$, przez okres od 1 do 120 dni, wskazują na znaczne ograniczenie bioprzyswajalności arsenu wraz z upływem czasu. Ekstrakcja sekwencyjna wykazała, iż udział form łatwo rozpuszczalnych oraz specyficznie związanych As uległ zmniejszeniu w okresie 120 dni, natomiast wzrósł udział arsenu we frakcjach silnie związanych z fazą stałą gleby (Tang i in. 2007). Natomiast w doświadczeniu Fendorfa i in. (2004) z wykorzystaniem dwóch poziomów gleb: A (0-3 cm) i B (3-20 cm), zanieczyszczonych As na poziomie 200 mg kg^{-1} , wykazano, że przez pierwsze 60 dni rozpuszczalność arsenu malała, ale ostatni pomiar, po 400 dniach wskazał niewielki wzrost rozpuszczalności w porównaniu do wartości z dnia 60. Podobne wyniki uzyskali Quazi i in. (2010). Nieco inny

rezultat osiągnął Juhasz i in. (2008) w eksperymencie z dwiema glebami o zawartości 1000 mg As kg⁻¹. Jedna z gleb zawierała znaczne ilości tlenków żelaza, glinu i manganu oraz 14 razy więcej fosforu niż gleba druga. Biodostępność arsenu w glebie pierwszej po 12 miesiącach zmniejszyła się do 24%, a w glebie drugiej - tylko o 8%. Wyniki te wskazują na właściwości gleb jako istotny czynnik w procesie sorpcji i uruchamiania arsenu.

2.5. Techniki rekultywacji gleb zanieczyszczonych przez arsen.

Szacuje się, że w Europie występuje 750 000 miejsc zanieczyszczonych przez różnego rodzaju związki organiczne i nieorganiczne (Mench i in. 2006). W raporcie European Environment Agency (EEA) podano, że ilość lokalnie zanieczyszczonych miejsc w państwach członkowskich UE mieści się w przedziale od 300 000 do 1,5 miliona (EEA 2005). Konieczność rekultywacji gleb zanieczyszczonych wynika nie tylko z zagrożenia dla zdrowia ludzi, ale także z możliwości zanieczyszczenia otaczających ekosystemów i obszarów produkcji rolnej. Wybór najbardziej odpowiedniej techniki remediacji gleb zależy między innymi od koncentracji zanieczyszczeń oraz od ich stanu fizycznego, od typu i uziarnienia gleby, zawartości materii organicznej i od przyjętej strategii dalszego zagospodarowania terenu.

2.5.1. Strategie rekultywacji

Jedną z możliwości rekultywacji gleb zanieczyszczonych jest unieruchomienie pierwiastków toksycznych w glebie, natomiast druga polega na ich usunięciu. W przypadku pierwszej strategii zawsze prowadzi się ją *in-situ*, czyli w miejscu zanieczyszczenia, natomiast w przypadku drugiej - można ją prowadzić w dwojaki sposób: na miejscu (*in-situ*) lub też poza miejscem występowania zanieczyszczenia - *ex situ* (Mench i in. 2006).

Najczęściej stosowane metody rekultywacji gleb zanieczyszczonych to:

- wymiana gruntów,
- utrwalanie, witrifikacja lub stabilizacja zanieczyszczeń za pomocą cementu, gipsu i innych wiążących substancji,
- przykrywanie gruntu skażonego warstwą niezanieczyszczonej, żyznej gleby,
- ekstrakcja i wymywanie zanieczyszczeń przy pomocy substancji zwiększających ich rozpuszczalność,
- separacja faz np. z wykorzystaniem flotacji,

- ekstrakcja par związków tworzących formy lotne np. selenu, rtęci, czy arsenu,
- metody elektrokinetyczne,
- biodegradacja np. zanieczyszczeń substancjami ropopochodnymi (Mench i in. 2000).

Wszystkie te technologie mogą być zasadniczo stosowane do remediacji gleb zanieczyszczonych arsenem, jednak ostateczny wybór metody zależy od pożądanego efektu końcowego, charakteru i stopnia zanieczyszczenia, a także możliwości technicznych i finansowych. Aspekty ochrony środowiska, wymagania prawne oraz opinia społeczna powinny wzajemnie się równoważyć (Mench i in. 2000). Ponieważ metody służące strategii usuwania zanieczyszczeń z gleby są bardzo kosztowne, w większości przypadków powodują powstawanie uciążliwych odpadów, a przede wszystkim prowadzą do degradacji życia biologicznego gleb, bądź też do całkowitego zniszczenia ich struktury, w praktyce uwagę kieruje się w stronę strategii pierwszej, to jest immobilizacji *in situ*.

2.5.2. Metody immobilizacji arsenu w glebie

Metody unieruchamiania zanieczyszczeń są zazwyczaj znacznie prostsze z technologicznego punktu widzenia, a także tańsze i bardziej akceptowane przez społeczeństwo, niż metody prowadzące do usunięcia zanieczyszczeń z gleby. Bazują one głównie na modyfikacji takich właściwości gleb jak odczyn, czy pojemność sorpcyjna. Zazwyczaj stosuje się orkę, następnie wprowadza do gleby chemiczne dodatki immobilizujące, jak wapno, gips, dodatki zwiększające pojemność sorpcyjną, na przykład zeolity lub związki żelaza i manganu, a w końcowym etapie wysiewa się odpowiednio dobraną roślinność. W celu poprawy skuteczności immobilizacji toksycznych pierwiastków stosuje się także nawożenie mineralne i organiczne oraz mieszanie gleb piaszczystych z gliną (tzw. łowanie). Stabilizowanie zanieczyszczeń z wykorzystaniem roślin nosi nazwę fitostabilizacji. Metoda ta zapobiega erozji wietrznej i wodnej poprzez pokrycie powierzchni roślinnością, pozwala na kontrolę mobilności zanieczyszczeń oraz ich pobrania przez rośliny i nie powoduje degradacji życia biologicznego gleby, a nawet, przez odpowiedni dobór gatunków roślin, może pobudzić mikroorganizmy do namnażania.

2.5.3. Warunki udanej fitostabilizacji

Gatunki roślin odpowiednie do fitostabilizacji powinny cechować się szybkim wzrostem, odpornością na niekorzystne warunki panujące w glebie, a zwłaszcza na

działanie substancji toksycznych, ograniczonym pobieraniem zanieczyszczeń, w tym wypadku - arsenu, a także możliwością odnawiania w drodze samosiewu i dobrym stopniem zadarnienia. Niektóre gatunki roślin wykazują dodatkowe właściwości stabilizujące dzięki specyficznym cechom ich ryzosfery i tworzeniu nierozpuszczalnych związków arsenu w korzeniach lub na ich powierzchni. Jako rośliny przydatne w fitostabilizacji wskazano m.in. *Holcus lanatus*, *Agrostis castellani* czy *Cytisus striatus* (Mench i in. 2006). Przy przygotowywaniu gleb do wprowadzenia roślinności należy jednak pamiętać o czynnikach decydujących o mobilności As a także o niebezpieczeństwie wynikającym z obecności nieusuniętego arsenu w glebie. Niezbędna jest stała kontrola właściwości gleb a także udziału form łatwo rozpuszczalnych As w glebach i ich podatności na uruchamianie (Mench i in. 2006; Karczewska 2008).

2.5.4. Mikoryza jako czynnik wspomagający biologiczną rekultywację.

Mikoryza to symbioza istniejąca pomiędzy grzybami korzeniowymi a rośliną. W układzie panującym w glebie, grzyby wspomagają pobieranie składników pokarmowych z gleb przez rośliny jak P, Zn, czy Cu, w szczególności w warunkach ich deficytu lub wówczas, gdy te składniki występują w trudno przyswajalnych formach. Istotne jest również to, iż w przypadku roślin mikoryzowanych, obszar, z którego rośliny te mogą czerpać makro- i mikro-elementy, jest znacznie większy niż bez udziału mikoryzy ze względu na rozrost grzybni grzyba mikoryzowego (González-Chávez i in. 2006). Mamy do czynienia z dwoma podstawowymi typami mikoryzy: endo- i ekto-mikoryzą. Ektomikoryza tworzy grzybnię na powierzchni korzenia i wnika tylko do komórek kory korzenia, tworząc tzw. sieć Hartiga. Zazwyczaj taką symbiozę tworzą grzyby z drzewami strefy umiarkowanej. Endomikoryza jest bardziej skomplikowana, ponieważ grzybnia przenika nie tylko pomiędzy komórkami kory korzenia, ale także wnika do ich środka, rozwijając się na kontakcie ze ścianą komórkową. Symbioza tego typu obejmuje storczyki, mikoryzę erikoidalną i arbuskularną (AM). W dwóch pierwszych przypadkach tworzy się zwój grzybni, a w mikoryzie arbuskularnej, co jest typowe tylko dla tej mikoryzy, tworzą się struktury drzewkowate. Najczęściej spotykana jest AM, która zasiedla ponad 80% gatunków roślin, głównie grzybami z rzędu Glomales. Wprowadzenie mikoryzy niejednokrotnie niezbędne jest do rozwoju życia biologicznego w siedliskach silnie zdegradowanych. Aktywność mikrobiologiczna jest niezwykle ważnym czynnikiem, który może modyfikować rozpuszczalność metali w glebie, np. poprzez strącanie siarczków, czy

uwodnionych tlenków żelaza lub poprzez wiązanie metali przez polisacharydy (Turnau i in. 2002; 2006). Choć w trakcie naturalnej sukcesji takich terenów przez rośliny dojdzie do rozwoju mikoryzy, jednak proces ten jest długotrwały. Dlatego zainteresowano się wprowadzeniem mikoryzy wraz z roślinami, poprzez ich zaszczepianie odpowiednio wyizolowanym i wyhodowanym inokulum. Niezwykle ważny jest odpowiedni dobór gatunku mikoryzy, nie tylko pod kątem udanej symbiozy z roślinami, ale także – dostosowania do środowiska, w jakim ma się ona rozwijać. Gatunek *Glomus mosseae* uważany jest za jeden z niewielu, które są w stanie egzystować w warunkach wysokiej koncentracji metali ciężkich (Turnau i in. 2006). Badania Joner i Leyval (1997) wskazały, że grzyby mikoryzowe gromadzą w swoich strzępkach znaczne ilości kadmu, jednak nie jest on transportowany do części nadziemnych roślin.

Również w przypadku terenów zanieczyszczonych przez arsen rozpoczęto badania nad oceną możliwości zastosowania mikoryzowania do polepszenia wzrostu roślin, a także ograniczenia jego fitotoksyczności. Doświadczenia Ultry i in. (2007), Dong i in. (2008), czy Xu i in. (2008), potwierdzają, iż dodatek szczepionek mikoryzowych, także z dodatkowym nawożeniem gleb fosforem, poprawiły wzrost i rozwój roślin na glebach zawierających 620 mg As kg⁻¹ (Ultra i in. 2006), a nawet 1205 mg As kg⁻¹ (Dong i in. 2008). W warunkach tych potwierdzono także ograniczoną translokację As do części nadziemnych roślin. Uzyskane wyniki wydają się obiecujące, szczególnie w kontekście wykorzystania roślin szczepionych mikoryzą w procesie fitoremediacji.

2.6. Zaawansowane metody badania specjacji i bioprzyswajalności arsenu w glebach

2.6.1. Metoda sekwencyjnej ekstrakcji arsenu

Pierwsze metody ekstrakcji sekwencyjnej przeznaczone były głównie do analizy form kationów w glebie, natomiast ze względu na specyficzne właściwości anionów, takich jak np. arsen, czy selen, nie pozwalały na uzyskanie pełnych wyników podczas ekstrakcji kolejnych form. Z tego względu Wenzel i in. (2001) zaproponowali do specjacji arsenu metodę zmodyfikowaną, opartą na metodyce Chang'a i Jackson'a przeznaczonej dla ekstrakcji sekwencyjnej fosforu. Założenie to wynikało z podobieństwa chemicznego arsenu i fosforu. Przeprowadzone testy na wielu odczynnikach chemicznych wykorzystywanych w procedurach ekstrakcji, pozwoliły na ich optymalny dobór, ograniczając możliwość rozpoczęcia procesu strącania i resorpcji arsenu. Kilka kroków

ekstrakcji oryginalnej uproszczono, gdyż ich efektywność w ekstrakcji arsenu była mała i nie wносиła istotnych informacji (Wenzel i in. 2001). Dla określenia udziału form łatwo rozpuszczalnych wybrano ekstrakcję $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, ponieważ wyodrębniał on w jednym etapie formy bardzo słabo zasorbowane w glebie oraz formy niespecyficznje związane. Dla ekstrakcji form specyficznje zabsorbowanych na powierzchni minerałów zaproponowano $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, ze względu na podobne właściwości fosforu i arsenu. Ponadto, przy równowadze stężeń obu pierwiastków, występuje efekt konkurencji o miejsce w kompleksie sorpcyjnym, a ze względu na mniejszy rozmiar cząstek oraz wyższą gęstość ładunku fosforu, zastępuje on arsen, powodując przechodzenie arsenu do roztworu. Ekstrakcja arsenu związanego z amorficznymi i krystalicznymi tlenkami żelaza i manganu, to dwa kolejne kroki ekstrakcji sekwencyjnej z wykorzystaniem 0,2 M szczawianu amonowego – odpowiednio: bez dodatku oraz w mieszaninie z kwasem askorbinowym. Oba te etapy wymagają przemywania próbki szczawianem amonowym, gdyż pozwala to na odzysk arsenu, który uległ ponownemu zabsorbowaniu. Ostatnia frakcja, rezydualna, oznaczana jest w celu określenia udziału As związanego wewnątrz sieci krystalicznych glinokrzemianów (Wenzel i in. 2001; Karczewska i in. 2005). Wydzielanie poszczególnych frakcji w próbkach gleb pochodzących z obszarów zanieczyszczonych, ma szczególne znaczenie, gdy warunki panujące w danym środowisku mogą ulec zmianie np. w pobliżu rzek. W ten sposób możemy uzyskać informacje, o ile może zmienić się pula mobilnego pierwiastka i w jakim stopniu zwiększy się zagrożenie dla środowiska (Karczewska i in, 2005).

2.6.2. DGT

Metoda DGT (Diffusive Gradients in Thin films) została opracowana przez B. Davisona and H. Zhanga na początku lat 90-tych XX w. Polega ona na pasywnej akumulacji rozpuszczalnych substancji - znajdujących się w środowisku wodnym, glebowym lub osadach - w hydrożelach umieszczonych w urządzeniu pomiarowym. Ze względu na niewielkie rozmiary urządzenia, metodę tę można wykorzystywać do monitoringu lub pomiaru *in situ* zagrożenia związanego z zanieczyszczeniem gleb metalami ciężkimi, a także fosforanami, siarczanami czy radionuklidami. Wykorzystywana jest ona również do specjacji form organicznych i nieorganicznych, badania biodostępności czy przepływu substancji w osadach i glebie (Zhang 2003). Szczegółowy opis urządzenia DGT i

metodykę badań z wykorzystaniem tej metody przedstawiono w dalszej części pracy, w rozdziale 3.5.1.

Szczególnie interesująca wydaje się możliwość wykorzystania tej metody do badań ekotoksykologicznych. Analizy laboratoryjne pozwalają na określenie całkowitej zawartości poszczególnych pierwiastków w środowisku, czy udziału ich form związanych z różnymi komponentami gleby, jak tlenki i wodorotlenki żelaza i glinu czy materia organiczna, mającymi istotne znaczenie w procesach sorpcji pierwiastków w glebie. Mnogość metod ekstrakcji chemicznej świadczy jednak o tym, że stale poszukiwane są metody idealnie naśladujące reakcje organizmów żywych na konkretne warunki panujące w glebie. Wyniki ekstrakcji chemicznych dostarczają cennych informacji o zagrożeniu związanym z obecnością metali ciężkich i arsenu w środowisku, jednak nie uwzględniają zdolności gleby do utrzymywania stałego stężenia pierwiastków w roztworze i uzupełniania z fazy stałej poziomu ich form rozpuszczonych. W procesie pobierania pierwiastków z roztworu glebowego przez rośliny, ich pula w roztworze ulega uszczupleniu, więc równowaga utrzymywana jest dzięki desorpcji z fazy stałej do roztworu. Niektóre rośliny potrafią aktywnie uwalniać z fazy stałej gleb takie pierwiastki jak Fe, Zn, Cu czy P, w warunkach ich niedoboru (Czerwiński 1976; Marschner 1995). Wówczas wydzielają do strefy korzeniowej niskocząsteczkowe kwasy organiczne, związki fenolowe, cukry i aminokwasy. Szczególnie kwasy organiczne, jak cytrynowy i jabłkowy, mają znaczenie przy uwalnianiu trudno rozpuszczalnego fosforu z fosforanów glinu czy żelaza (Marschner 1995). Jednak to, jaka pula danego pierwiastka zostanie uwolniona, zależy w znacznym stopniu od właściwości gleby, m.in. kategorii ciężkości, odczynu oraz zawartości materii organicznej (Koster i in. 2005).

W metodzie DGT, podobnie jak w wyniku pobrania pierwiastków przez rośliny, uzyskuje się lokalne obniżenie stężenia pierwiastka w roztworze glebowym, wskutek czego następuje uzupełnienie puli tego pierwiastka z fazy stałej gleby. W ten sposób DGT mierzy wielkość przepływu strumienia pierwiastka z fazy stałej do roztworu glebowego (Zhang 2003).

Oczywiście, ilość zatrzymanego pierwiastka w żelu akumulującym zależy od jego stężenia w roztworze, współczynnika dyfuzji oraz zdolności do wiązania metalu przez żel DGT (Li i in., 2005). Wielu z autorów uzyskuje pozytywne wyniki wykorzystania metody DGT do określania biodostępności metali ciężkich (Zhang i in. 2001), jednak niektórzy uważają, iż metoda ta nie wnosi żadnych dodatkowych informacji w porównaniu do tych, uzyskiwanych poprzez ekstrakcję (Koster i in. 2005).

2.6.3. Biologiczne metody badania aktywności mikrobiologicznej

Różnorodność biotyczna to termin określający ilość i różnorodność gatunków mikroorganizmów zasiedlających dane środowisko, a także ich wzajemne relacje. Z punktu widzenia funkcjonowania ekosystemu mikroorganizmy stanowią jedno z najważniejszych jego ogniw. Biorą udział w obiegu energii, materii i pierwiastków, wpływają na życie i wzrost roślin, ale także potrafią rozkładać zanieczyszczenia organiczne oraz uczestniczyć w transformacji form zanieczyszczeń nieorganicznych. Oczywiście, niektóre mikroorganizmy same w sobie stanowić mogą pewne zagrożenie dla ekosystemu. Mikroorganizmy patogenne nie tylko hamują rozwój roślin, ale produkują także toksyny.

Wśród metod badań różnorodności mikrobiologicznej wyróżnić możemy trzy grupy metod: biochemiczne, genetyczne i fizjologiczne. Metody biochemiczne nie wymagają hodowli mikroorganizmów i polegają na oznaczaniu estrów metylowych kwasów tłuszczowych (FAME) lub markerów lipidowych (PLFA). Bardziej szczegółowe, ale też bardziej kosztowne, są metody genetyczne, które opierają się na ekstrakcji DNA z gleby poprzez reakcję polimeryzacji łańcucha (PCR). Produkty polimeryzacji wykorzystywane są w dalszej analizie np. z wykorzystaniem metody DGGE-elektroforezy na żelu w warunkach gradientu czynnika denaturującego, czy TGGE-elektroforezy na żelu w warunkach gradientu temperatury. Również metoda hybrydyzacji kwasu nukleinowego (FISH), czy analiza polimorfizmu długości terminalnych fragmentów restrykcyjnych (T-RFLP) stosowane są w badaniu bioróżnorodności mikrobiologicznej. Ilość metod molekularnych opartych na badaniu cech genetycznych mikroorganizmów stale wzrasta i jest to w tej chwili najlepiej rozwijająca się gałąź biologii. Ostatnią z omawianej grupy metod są metody fizjologiczne, do których należą metody badania aktywności enzymatycznej, metoda MicroResp oraz metoda Biolog (Torsvik i Øvreås 2002; Niklińska i in. 2005; Liu i in. 2006).

Metoda BIOLOG służy do oceny struktury mikroorganizmów glebowych i polega na pomiarze t.zw. profili fizjologicznych zespołów, gdzie na podstawie stopnia zużycia różnych substratów można określić funkcjonalność tych zespołów w środowisku (Bucher i Lanyon 2004; Lalor i in. 2007). Metoda została wykorzystana po raz pierwszy przez Garlanda i Millsa (1991) jako test zużycia węgla w obecności różnych substratów przez szczepy bakterii wyizolowane wcześniej z badanych próbek gleby. Od tamtego czasu metoda ta nie uległa zmianom, jedynie zmienił się nieco sposób analizowania wyników. Ekstrakcję mikroorganizmów glebowych wykonuje się przy użyciu różnych roztworów np.

NaCl lub buforu Bis-Tris, a po jednakowym rozcieńczeniu uzyskanych roztworów nanosi się tę samą ilość ekstraktu do dołków znajdujących się na płytce. Płytki z 95 dołkami, wypełnionymi różnymi substratami, posiada barwnik tetrazolinę, który w momencie rozpoczęcia procesu zużywania węgla przez mikroorganizmy i wydzielania metabolitów ulega zabarwieniu na kolor fioletowy, co świadczy o aktywności mikrobiologicznej. Na podstawie pomiaru intensywności zabarwienia i zróżnicowania między poszczególnymi dołkami, można szybko ocenić funkcjonalną bioróżnorodność mikroorganizmów w danym ekosystemie (Garland i Mills 1991; Niklińska i in. 2005). Dla różnych grup mikroorganizmów zaprojektowano różne płytki, które różnią się zestawem wykorzystanych substratów. Płytki GN i GP służą do analizy bakterii gram dodatnich, natomiast do analizy zdolności metabolicznych grzybów stosuje się płytki FF. Substraty wykorzystane w płytkach Eco podzielone są na grupy należące do węglowodanów, kwasów karboksylowych, polimerów, amidów i amin, aminokwasów, związków fosforoorganicznych oraz związków fenolowych. Natomiast w płytkach GP i GN stosuje się także alkohole, związki aromatyczne, związki bromo-organiczne i rybonukleotydy (Niklińska i in. 2005). Zaszczepione płytki podlegają inkubacji, a okresowo mierzona absorbancja zabarwienia podłoża w dołkach pozwala na uzyskanie informacji o stopniu różnorodności siedliska, z którego pobrano próbki gleby. W wyniku zmian w środowisku może dojść do zaburzeń w funkcjonowaniu zespołów mikroorganizmów, a także do zmian w strukturze zespołów, gdzie jedne grupy mikroorganizmów zastępowane są przez inne, bardziej odporne. W tym przypadku określenie funkcjonalnej różnorodności danego zespołu lepiej informuje o kondycji zespołu, niż izolowanie poszczególnych szczepów (Garland 1997; Petterssen i Bååth 2004; Niklińska i in. 2005).

Metoda BIOLOG jest szybka, powtarzalna i dość prosta do wykonania, a pełny obraz aktywności mikrobiologicznej uzyskuje się po 5-6 dniach. Jednak metoda ta ma wady, przede wszystkim występuje problem gęstości inokulum. Mimo stosowania tej samej techniki pozyskiwania inokulum, jego gęstość może się różnić, a to z kolei wpływa na wyniki uzyskiwane na płytkach. Garland (1997) porównując dwie próbki, z których jedna miała dwukrotnie wyższą gęstość inokulum, uzyskiwał inne rezultaty. Aby uniknąć błędów przy analizie metodą płytek BIOLOG, należy wystandaryzować wartości uzyskane z odczytów. W tym celu absorbancję poszczególnych substratów dzieli się przez średnią absorbancję pojedynczego substratu w dołku na płytce (AWCD- Average Well Colour Development), bądź też porównując profile dla płytek o podobnym AWCD. Wykorzystać

też można parametry krzywych opisujących kinetykę powstawania zabarwienia w dołkach (Haack i in. 1995; Garland 1997; Niklińska i in. 2005).

2.7. Historia wydobywania i przetwórstwa rud arsenu w Polsce, ze szczególnym uwzględnieniem Złotego Stoku

Na obszarze Polski rudy arsenu występują tylko w Sudetach, w ich północno-wschodniej części - w rejonie Gór Złotych (Złoty Stok), a także w Rudawach Janowickich (Czarnów, Podgórze) i w południowo-zachodniej części Gór Kaczawskich (Pławna, Klecza, Radomice, Stara Góra, Pilchowice). W ten sposób podzielone są również formacje występowania rud arsenu (Lindner 1987).

Formacja arsenowo-pirytowa ze złotem, występująca w rejonie Gór Kaczawskich, znajduje się w serii łupków sylurskich. Złoże Pławna, eksploatowane XIX w. do 1921 r., składało się z trzech pól rudnych, z których arsen i złoto wydobywano na głębokości 8-18 m.. Zawartość arsenu w rudzie wynosiła ok. 25,5%. Złoże Klecza-Radomice-Pilchowice to głównie żyły kwarcowe o grubości do 1,2 m., w których koncentracja As wynosiła 5-35 %. Eksploatacja na tym terenie prowadzona była krótko, bo od końca XIX w. do 1921 r.

Formacja arsenowo-polimetaliczna obejmuje złoża Czarnów, Podgórze i Miedzianka we wschodniej części Karkonoszy, oraz złoże Stara Góra w Górach Kaczawskich. Złoże Czarnów eksploatowane było od drugiej połowy XVIII w do 1925 r. Wydobywana ruda, w ilości 3000-3500 Mg/rok, przetwarzana była w pobliskiej hucie, co pozwalało na wytwarzanie 140 Mg produktów arsenowych rocznie. Choć w rejonie tym udokumentowane są jeszcze bogate złoża rudy arsenu i cyny, wynoszące ponad 20 tys. Mg, to do dnia dzisiejszego wydobywania nie wznowiono. Z kolei złoże Stara Góra w Radzimowicach należy do złóż hydrotermalnych i występuje w łupkach radzimowickich, wapieniach wojcieszowskich oraz serii zieleńcowo-lupkowej (Lindner 1987; Karczewska i in. 2005). Złoże Stara Góra eksploatowane było od XIII w., a intensywna eksploatacja trwała z przerwami od XV w. do 1820 r. Początkowo prowadzono wydobywanie metodą odkrywkową, którą następnie zastąpiono głębinową. Złoże eksploatowano do głębokości 194 m i wydobyto 180 Mg rudy As, 2000 Mg miedzi metalicznej, 215 kg złota i ok. 4000 kg srebra (Lindner 1987).

Największe jednak znaczenie miała formacja złotonośna z arsenem, żelazem i antymonem w Złotym Stoku. Złoże znajduje się w serii skał metamorficznych, złożonych z łupków łyszczykowych, amfibolitów, gnejsów, marmurów i wapieni dolomitycznych, z

minerałami arsenu takimi jak arsenopiryt, lelingit i skorodyt (Lindner 1987; Kopalnia złota w Złotym Stoku- <http://kopalniazlota.pl>, Urząd Gminy Złoty Stok- <http://www.zlotystok.pl>). Pierwsze prace górnicze na tym terenie prowadzono już około 2000 lat p.n.e., ale zachowane zapisy na temat działalności górniczej pochodzą dopiero z 1273 r., kiedy to książę wrocławski i krakowski Henryk IV Probus pozwolił zakonowi Cystersów w Kamieńcu Ząbkowickim prowadzić poszukiwania górnicze (www.zlotystok.pl). W niedługim czasie rozpoczęto eksploatację złota na zboczu Góry Haniak. Do XV w. prowadzono jedynie wydobywanie złota, dopiero osiedlenie się w Złotym Stoku Hansa Schärffenberg - aptekarza i alchemika, zapoczątkowało rozwój eksploatacji i przetwórstwa arsenu. Po wielu eksperymentach Schärffenberg opracował proces odzyskiwania arseniku z rud arsenowych, co w konsekwencji przyczyniło się do wybudowania huty w 1702 r. i rozpoczęcia produkcji arseniku. Przez okres 150 lat Złoty Stok był największym ośrodkiem produkującym arsenik na świecie. Zawirowania wojenne przerwały dobrą passę ośrodka. W 1848 r. opracowana została tańsza metoda produkcji złota, polegająca na chlorowaniu wyprażonej rudy po produkcji arseniku i wyługowywaniu czystego metalu ze związków chlorkowych. Metodę tę zastosował Wilhelm Güttler, który w 1883 r. wykupił wszystkie tereny górnicze. Własność tę utrzymywali jego spadkobiercy aż do 1945 r. Warto w tym miejscu wspomnieć, iż w 1898 roku, w wyniku zanieczyszczenia wody zaopatrującej miasto, zawierającej 26 mg As L^{-1} , doszło do zatrucia ponad 60 osób. Symptomy obejmowały także występowanie nowotworów skórnych, w wyniku czego nazwano stan chorobowy „chorobą złotostocką” (Reichensteiner Krankheit) (Nriagu 2002). Po wojnie kopalnia wznowiła działalność i prowadziła ją aż do 1962 r., kiedy z przyczyn braku rentowności ją zamknięto. W wyniku naturalnej cyrkulacji wody, której już nie odpompowywano, kopalnia została w krótkim czasie całkowicie zatopiona. W czasie działalności kopalni powstały cztery pola górnicze: Góra Haniak, Góra Krzyżowa, Góra Sołtysia i Góra Biała. Głębokość kopalni sięgała 360 m. Wydrążono 300 km sztolni, szybów i chodników rozmieszczonych aż na 21 poziomach. W okresie eksploatacji z kopalni wydobyto ponad 3 818 000 Mg rudy arsenu i 8885 kg złota.



Rysunek 3. Rozmieszczenie złóż złotoносnych rud i istniejące na nich wyrobiska górnicze (Złota Ścieżka- <http://www.zlotystok.pl/sciezka/indexpl.htm>)

Arszenik sublimowany, zawierający 99% As_2O_3 , produkowany był w hucie w Złotym Stoku z koncentratów uzyskiwanych w procesie grawitacyjnego i flotacyjnego wzbogacania rudy arsenowej, zawierającej 35 - 45% As. Strata w procesie flotacji rud sięgała do 21 % arsenu w niej zawartego. W wyniku prażenia koncentratu w piecu obrotowym, uzyskiwano arsenik surowy, zawierający 88% As_2O_3 . Dopiero po procesie resublimacji, otrzymywano produkt końcowy, czyli arsenik sublimowany (<http://zlotystok.salwach.pl>). Wypałki poarsenowe z pieców obrotowych wykorzystywane były do odzysku złota opisywaną wyżej metodą ługowania chlorem. W tabeli 3 przedstawiono skład chemiczny wypałów oraz koncentratu poflotacyjnego.

Tabela 3. Skład chemiczny wypałów poarsenowych i koncentratu poflotacyjnego (na podstawie <http://zlotystok.salwach.pl>)

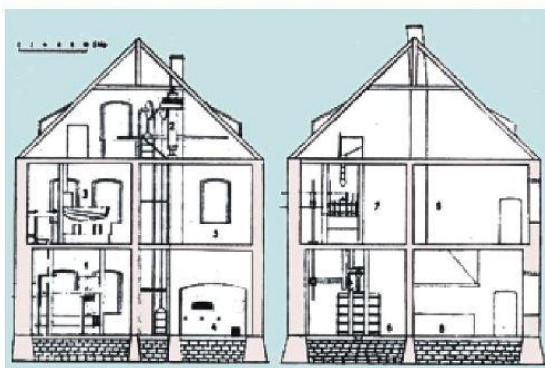
Składnik	Wypały poarsenowe (%)	Koncentrat poflotacyjny (%)
As	1,23	29,35
Fe	77,19 (Fe ₂ O ₃ w tym: Fe ²⁺ do 1%)	33,04
Al ₂ O ₃	4,29	10,48
MgO	4,79	1,7
SiO ₂	9,49	8,18
S	0,51	15,56
CaO	1,23	śladowe
CuO	1,11	1,12
Au	0,003-0,004	-

Odpady z flotacji kierowane były do osadników, na których następowała sedimentacja szlamów. Nadmiar roztworu znad osadów zbierany był i odprowadzany do przepompowni, z czego 20% trafiało do rzeki Trująca, a reszta zawracana była do procesu flotacji (<http://zlotystok.salwach.pl>). Na północ od miasta Złoty Stok znajdują się cztery osadniki zawierające szlasy poflotacyjne pochodzące z zakładu przerobczego Huty Arsenu „Złoty Stok”, z lat 1935-1962. Położone wzdłuż rzeki Trującej, rozciągają się na przestrzeni 1,2 km. Jeden z osadników przeznaczony został na składowisko odpadów komunalnych, drugi na składowisko odpadów niebezpiecznych, należące do Zakładów Chemicznych „Złoty Stok”, natomiast dwa pozostałe porasta roślinność. Zawartość arsenu w odpadach poflotacyjnych waha się między 2% a 2,6 %, natomiast szacowane zasoby złota przekraczają 1000 kg. Z kolei w pobliżu najwyższego osadnika, o wysokości 9,9 m., znaleźć można przewarstwienia wypałów poarsenowych o zawartości złota rzędu 22-40 mg Au kg⁻¹. Na terenie Fabryki Farb występują również żużle pohutnicze, które są pozostałością po wytopie rudy arsenowej w piecach ogniowych, widocznych na zdj. 3 (Tichanowicz, Wojciechowski 1997).

Po zamknięciu kopalni w 1962 roku, działała nadal fabryka prochu, oddział produkujący tworzywa sztuczne, a także kamieniołom. Zakłady Górniczo-Chemiczne „Złoty Stok” nadal przetwarzały arsen w arsenik i związki arsenopochodne oraz wytwarzały pigmenty. Obecnie osadniki poflotacyjne częściowo wykorzystywane są na składowisko odpadów komunalnych oraz na składowisko odpadów niebezpiecznych należące do Zakładów Tworzyw i Farb (przekształcone Zakłady Górniczo-Chemiczne „Złoty Stok”), a pozostałe, nie poddane rekultywacji, uległy częściowej sukcesji (www.zlotystok.pl).



Huta arseniku zbudowana pod koniec XIX wieku na zdjęciach z 1933 roku.



Zdjęcie i przekrój budynku z końca XIX wieku, w nim odzyskiwano złoto z wypalków poarsenowych do 1962 roku.

Zdjęcie 3. Dawne obiekty zakładów arsenowych w złotym Stoku. Zdjęcia archiwalne (Złota Ścieżka- <http://www.zlotystok.pl/sciezka/indexpl.htm>)

3. Materiał i metody badań

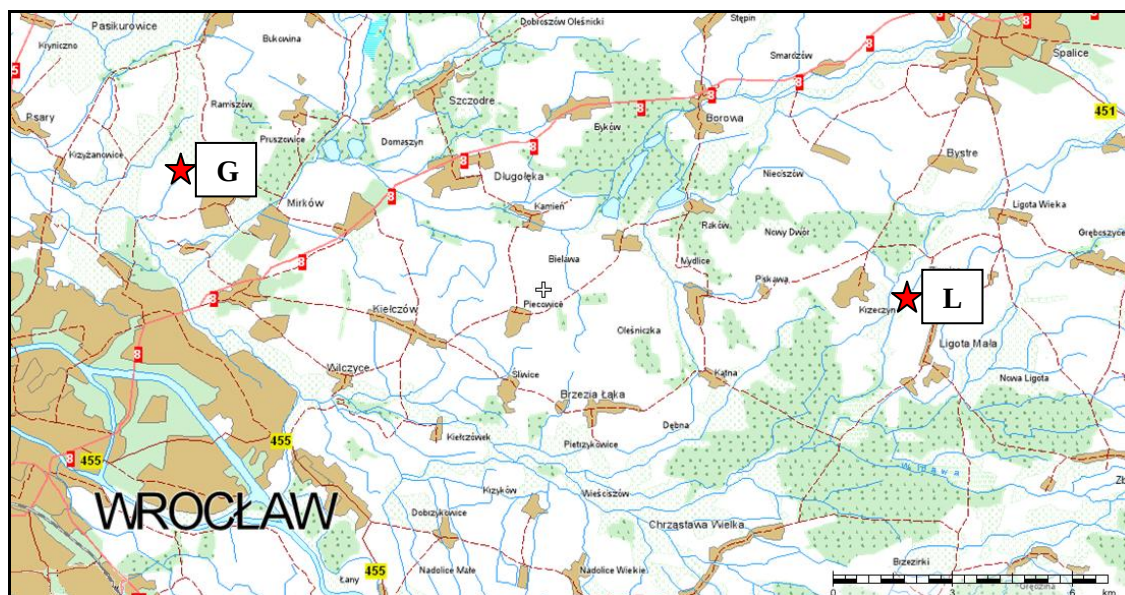
W ramach niniejszej pracy przeprowadzono dwa rodzaje doświadczeń

- doświadczenia inkubacyjne
- doświadczenia wazonowe

Materiał glebowy wykorzystany w powyższych doświadczeniach został poddany analizom podstawowym oraz szczegółowym, służącym głównie określeniu form arsenu oraz ich przemian. Analizowano także materiał roślinny z doświadczeń wazonowych.

3.1. Materiał glebowy wykorzystany w doświadczeniach

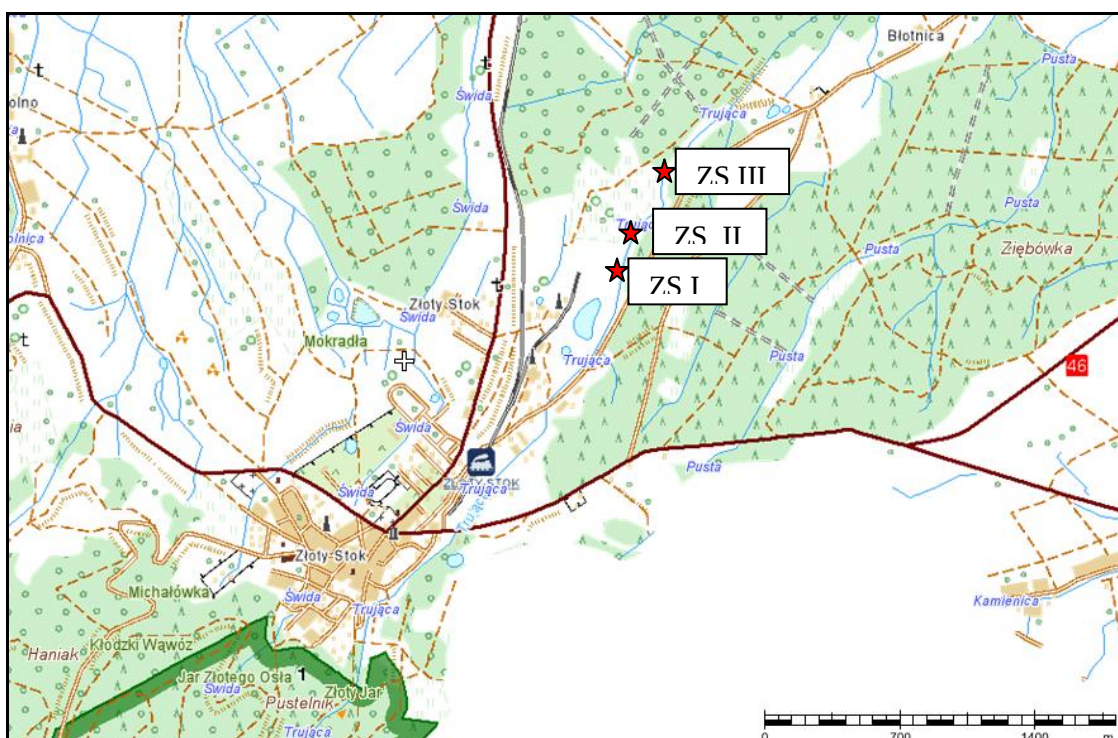
W pierwszym etapie doświadczeń, realizowanym w latach 2008-2009, został wykorzystany materiał glebowy sztucznie zanieczyszczony arsenem, przygotowany w oparciu o materiał pobrany z warstwy ornej z dwóch różnych pól uprawnych położonych na terenie województwa dolnośląskiego: L w okolicy Ligoty Małej (powiat oleśnicki, gmina Oleśnica), i G w Pawłowicach (powiat wrocławski, gmina Wrocław). Gleby zostały wyselekcjonowane tak by reprezentowały dwa różne gatunki: L-gleba lekka (piaszczysta) i G-gleba zwięzlejsza, gliniasta. Lokalizację punktów pobrania materiału glebowego przedstawia poniższa mapa.



Mapa 1. Punkty poboru materiału glebowego z Ligoty Małej (L) i Pawłowic (G)
(źródło: <http://maps.geoportal.gov.pl/webclient>)

W latach 2009-2010 prowadzony był drugi etap doświadczeń, w oparciu o materiał glebowy z rejonu miasta Złoty Stok. Obszar ten został zanieczyszczony w wyniku dawnej

działalności górniczej i przetwórstwa wydobytej rudy arsenu. Historia wydobycia arsenu na tym terenie przedstawiona została w rozdziale 2.7.. Lokalizację obiektów, z których pobrano materiał do doświadczeń, zaplanowano na podstawie wcześniejszych badań prowadzonych przez Krysiak (2007), która wykazała, że punkty usytuowane wzdłuż doliny rzeki Trująca charakteryzują się zmniejszającym się w dół rzeki zanieczyszczeniem arsenem. Materiał glebowy pobrano z obszaru pokrytego roślinnością łąkową w trzech miejscach przedstawionych na mapie nr 2. Miejsca poboru przedstawiono na zdjęciach 1, 2 i 3. W miejscach tych zdjęto darń, a materiał pobrany do doświadczeń pochodził z poziomów mineralnych, z głębokości do 30 cm.



Mapa 2. Punkty poboru próbek gleby w okolicy Złotego Stoku

(źródło: <http://maps.geoportal.gov.pl/webclient>)

Dodatkowo, w roku 2010 do schematu badań dołączono wariant z nowym materiałem glebowym, który otrzymano przez zmieszanie gleby ZS III z materiałem niezanieczyszczonym G. Decyzja ta podyktowana została faktem, iż ze względu na bardzo wysokie koncentracje arsenu w glebach ZS, w doświadczeniu wazonowym II, obserwowano silne efekty fitotoksyczności. Obniżenie stężenia arsenu w glebie miało przynieść poprawę wzrostu roślin. Z punktu widzenia celu pracy zabieg ten odpowiadał wymieszaniu warstwy gleby zanieczyszczonej z nawiezionym materiałem glebowym, nie zanieczyszczonym arsenem.



Zdjęcie 4. Miejsce poboru gleby ZS I (fotografia własna)



Zdjęcie 5. Miejsce poboru ZS II (fotografia własna)



Zdjęcie 6. Miejsce poboru próbki ZS III (fotografia własna)

Materiał glebowy przeznaczony do doświadczeń wysuszono w temperaturze pokojowej, a następnie przesiano przez sito o średnicy oczek 2 mm. Dla uproszczenia terminologii, w dalszej części niniejszej pracy, materiał glebowy będzie określany terminem „gleba”. W celu oznaczenia podstawowych właściwości gleb, wykonano następujące analizy:

- Skład granulometryczny metodą Bouyoucosa w modyfikacji Casagrande’a i Prószyńskiego,
- Odczyn w H_2O i 1 M KCl metodą potencjometryczną,
- Węgiel organiczny metodą Tiurina, a dla porównania także na analizatorze CS-MAT 5500 firmy Ströhlein z detektorem IR,
- Azot całkowity zmodyfikowaną metodą Kjeldahla,
- Kwasowość hydrolityczną metodą Kappena,
- Wymienne kationy zasadowe zmodyfikowaną metodą Pallmana w 1 M octanie amonowym buforowanym do pH 7.0,
- Suma kationów zasadowych metodą Kappena w 0,1 M HCl (w stosunku 1:5),

- Przyswajalne formy fosforu i potasu – w ekstrakcji 0,04 M mleczanem wapnia buforowanym do pH 3.55 - metodą Egnera-Riehma (w stosunku 1:50),
- Przyswajalne formy magnezu – w ekstrakcji 0,0125 M CaCl_2 - metodą Schachtschabela (w stosunku 1:10),
- Całkowite zawartości poszczególnych pierwiastków w glebach oznaczono po mineralizacji próbek w 60% kwasie nadchlorowym (Chempur) metodą otwartej mineralizacji z chłodnicą (w stosunku 1:10). Stężenia pierwiastków w analizie oznaczono: As i Pb - metodą ICP-AES (Varian), a Cu i Zn - metodą AAS (Philips PU 9100X),

Analizie poddano także osady ściekowe oraz obornik, które wykorzystywane były zarówno w doświadczeniu inkubacyjnym 2, jak i w doświadczeniach wazonowych II i III. W materiale organicznym określono:

- Zawartość węgla organicznego na analizatorze CS-MAT 5500 firmy Ströhlein z detektorem IR,
- Azot całkowity zmodyfikowaną metodą Kjeldahla,
- Całkowite zawartości As, Pb, Cu, Zn, Na, K, Ca, Mg, Mn po mineralizacji w 60% kwasie nadchlorowym (Chempur) metodą otwartej mineralizacji z chłodnicą (w stosunku 1:10). Stężenia poszczególnych pierwiastków w analizie oznaczono: As, Pb, Cu, Zn - metodą ICP-AES (Varian), a Mg, Mn metodą AAS (Philips PU 9100X),
- Skład frakcyjny związków próchnicznych z uwzględnieniem form niskocząsteczkowych zmodyfikowaną metodą Tiurina

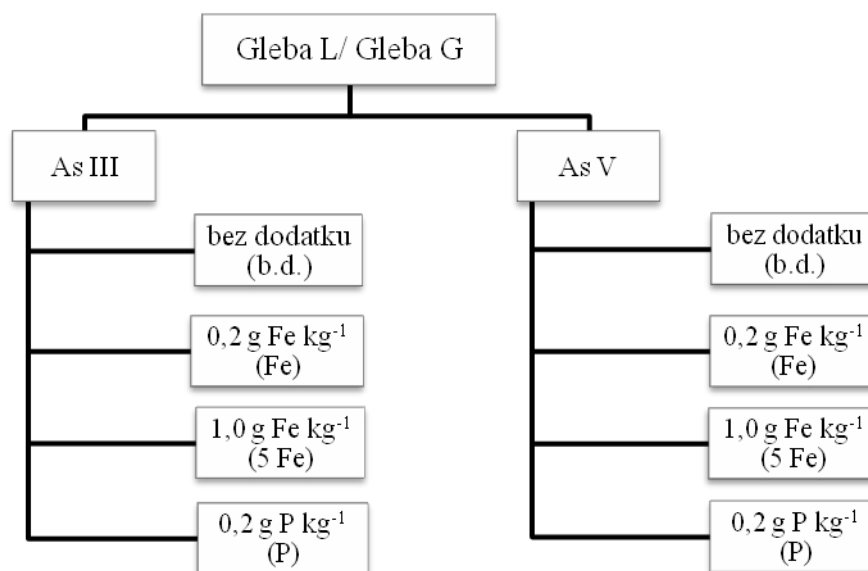
3.2. Doświadczenia inkubacyjne

Testy inkubacyjne miały na celu zbadanie wpływu różnych dodatków mineralnych i organicznych na mobilizację arsenu w glebie. Biorąc pod uwagę informację zawartą w rozdziale 2.4., wiele czynników decyduje o mobilności arsenu w glebach. Z tego względu w doświadczeniach wykorzystano gleby o różnym składzie granulometrycznym i zróżnicowanych właściwościach fizykochemicznych. Do gleb wprowadzano dodatki, które mogą wykazywać działanie mobilizujące lub immobilizujące arsen: fosfor, żelazo, świeże osady ściekowe i obornik. Ponadto część doświadczeń inkubacyjnych prowadzona była w

warunkach zróżnicowanego uwilgotnienia, gdyż wiadomo, że arsen w warunkach redukcyjnych łatwiej przechodzi do roztworu glebowego.

3.2.1. Doświadczenie inkubacyjne 1

Pierwsze testy inkubacyjne prowadzone były w oparciu o gleby pobrane z Ligoty Małej (L) i Pawłowic (G), dobrane ze względu na różną kategorię ciężkości. Do omawianych gleb wprowadzono arsen w postaci roztworu arseninu (III) sodu (POCH S.A.) (As III) i arsenianu (V) sodu (PANREAC Quimica S.A.U.) (As V) w dawce 1000 mg As kg^{-1} . Tak przygotowane gleby pozostawiono na okres 16 dni, by arsen mógł zostać związany w różnych strukturach gleb, co wpływa na jego rozpuszczalność. Doświadczenie obejmowało analizę wpływu dodatku fosforu i żelaza na uruchamianie arsenu z gleb. W tym celu do uprzednio zanieczyszczonych gleb dodano odpowiednio 0,2 g P kg^{-1} , w postaci $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (POCH S.A.), 0,2 g Fe kg^{-1} (POCH S.A.) lub 1 g Fe kg^{-1} w postaci $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ (POCH S.A.). Gleby z dodatkiem żelaza zwapnowano CaCO_3 , w celu neutralizacji odczynu. Określenie „bez dodatków” (b.d.) dotyczy wariantów z glebami zanieczyszczonymi arseninem i arsenianem sodu, bez dodatków Fe i P. Materiał glebowy wraz z dodatkami został bardzo dokładnie wymieszany, a następnie do pojemników naważono po 250 g gleby. Każdy z wariantów realizowany był w trzech powtórzeniach.



Schemat 1. Schemat doświadczenia inkubacyjnego 1

Część doświadczenia prowadzono w stałym uwilgotnieniu, tj w warunkach wilgotności na poziomie 15-20 %, a druga część gleb była naprzemiennie zalewana i

suszona. Zabiegi te miały na celu zróżnicowanie warunków oksydo-redukcyjnych panujących w glebie. Proces inkubacji trwał 3 miesiące. Prowadzony był w temperaturze pokojowej (22°C-24°C). Doświadczenie realizowano w 3 powtórzeniach.

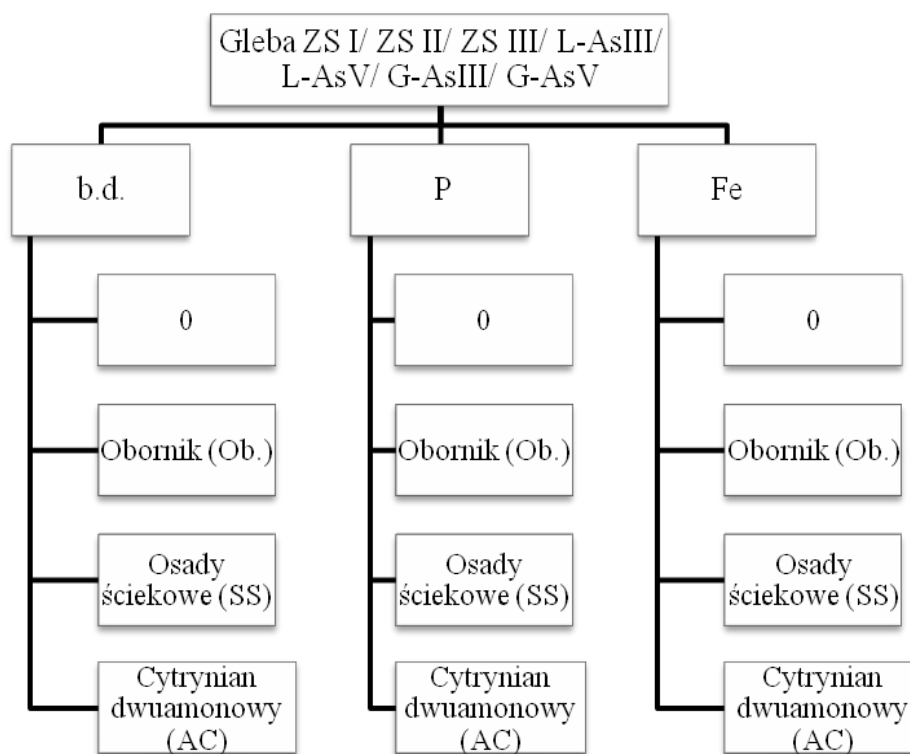


Zdjęcie 7. Doświadczenie inkubacyjne 1 (zdjęcie własne)

Po zakończeniu inkubacji próbki gleb poddano ekstrakcji w 0,05 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (wyrząsanie na wyrząsarce obrotowej w czasie 4 h, w 20°C, stosunek m:v=1:25) w celu określenia udziału form łatwo rozpuszczalnych, oraz 0,05 M $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (wyrząsanie na wyrząsarce obrotowej w czasie 16 h, w 20°C, stosunek m:v=1:25), do oceny udziału form specyficznie związanych z glebą. Odczynniki te i warunki ekstrakcji dobrane zostały na podstawie metodyki ekstrakcji sekwencyjnej wg Wenzla i in. (2001). Metoda ta została szczegółowo opisana w rozdziale 2.6.1, a także 3.5.1. Opisywane wyżej ekstrakcje form łatwo rozpuszczalnych i specyficznie związanych prowadzone były w pojedynczych ekstrakcjach, a nie w ciągu ekstrakcji sekwencyjnej. Jednak w świetle prowadzonych różnych doświadczeń szeroko opisywanych w literaturze (oraz doświadczeń własnych autorki pracy, ilości arsenu ekstrahowane siarczanem amonu są niskie w porównaniu do ilości arsenu ekstrahowanego fosforanem amonu. Można uznać, iż wcześniejsze wyekstrahowanie lub nie z gleby form łatwo rozpuszczalnych nie ma zasadniczego znaczenia dla wyników ekstrakcji gleby roztworem 0,05 M $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, a wyniki uzyskane w pojedynczej ekstrakcji 0,05 M $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ są dobrym wskaźnikiem zawartości form potencjalnie rozpuszczalnych, w tym szczególnie – związanych specyficznie.

3.2.2. Doświadczenie inkubacyjne 2.

Druga część doświadczenia poszerzona została o materiał glebowy ze Złotego Stoku. Gleba ZS I zawierała 5350 mg As kg⁻¹, ZS II 4025 mg As kg⁻¹, a ZS III 3323 mg As kg⁻¹ (tab. 11.). Ze względu na testowanie wpływu dodatku fosforu oraz żelaza na uruchamianie arsenu w badanych glebach, do gleb wprowadzono 0,2 g P kg⁻¹ w postaci (NH₄)H₂PO₄, 0,2 g Fe kg⁻¹ w postaci Fe(NO₃)₃. Z dawki 1,0 g Fe kg⁻¹ zrezygnowano po analizie materiału z pierwszego etapu. Gleby z dodatkiem żelaza zwapnowano. Jako dodatkowe warianty wprowadzono dodatek substancji, które mogą być źródłem łatwo rozpuszczalnych związków organicznych: świeże, nieprzefermentowane osady ściekowe w dawce 33 g s.m. kg⁻¹, obornik bydlęcy w postaci suchego granulatu, w dawce 10 g kg⁻¹ gleby oraz – dla porównania – roztwór 0,2 g kg⁻¹ cytrynianu dwuamonowego (NH₄)₂HC₆H₅O₇ (POCH S.A.). Materiał glebowy wraz z dodatkami został bardzo dokładnie wymieszany, a następnie do pojemników polipropylenowych o pojemności 120 ml z nakrętkami, naważono po 100 g gleby. W części wariantów doświadczenia gleby utrzymywano w stałym uwilgotnieniu na poziomie 15-20% - a w drugiej części-gleby naprzemiennie zalewano i suszono. Proces inkubacji trwał 7 miesięcy. Prowadzony był w temperaturze pokojowej (22°C-24°C). Każdy wariant realizowany był w trzech powtórzeniach.



Schemat 2. Schemat doświadczenia inkubacyjnego 2

Po zakończeniu doświadczenia inkubacyjnego 2 - próbki gleb poddano ekstrakcji w 0,05 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ w celu określenia udziału form łatwo rozpuszczalnych arsenu oraz oznaczono pH, jak w doświadczeniu inkubacyjnym 1.

3.3. Doświadczenia wazonowe

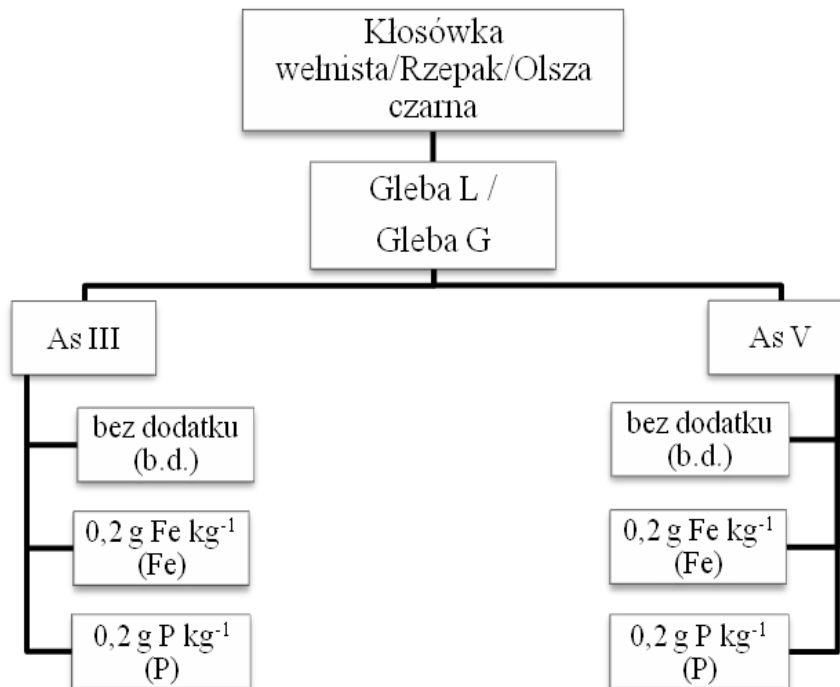
Najistotniejszym elementem pracy doktorskiej było przeprowadzenie doświadczeń wazonowych, których wyniki pozwoliły na ocenę wpływu różnych dodatków, zarówno o działaniu mobilizującym np. fosfor, czy świeże osady ściekowe jak i immobilizującym np. żelazo, czy – według założeń - obornik, na wzrost i pobranie arsenu przez różne gatunki roślin. Istotnym czynnikiem różnicującym było także zastosowanie różnego materiału glebowego o różnym pochodzeniu i odmiennych właściwościach fizyko-chemicznych. Przeprowadzono 3 serie doświadczeń wazonowych, których schematy – modyfikowane zależnie od uzyskanych wyników, różne w każdej serii - zostały przedstawione poniżej (rozdz. 3.3.1-3.3.3).

Po zakończeniu każdego doświadczenia, części nadziemne roślin zbierano, ważono, suszono i poddawano mineralizacji w celu określenia całkowitej zawartości arsenu i obliczenia jego pobrania przez części nadziemne roślin. Szczegółową metodykę analizy materiału roślinnego opisano w rozdziale 3.4. Próbkę glebową poddawano ekstrakcji w 0,05 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (zgodnie z procedurą opisaną w rozdziale 3.5.1) w celu określenia udziału mobilnych form arsenu oraz oznaczono pH. Ponadto w niektórych doświadczeniach oznaczono także formy arsenu potencjalnie rozpuszczalne w pojedynczej ekstrakcji 0,05 M $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$. Dla wybranych wariantów doświadczeń wykonano specyficzne analizy, opisane w rozdziale 3.5.

3.3.1. Doświadczenie wazonowe I

Pod koniec maja 2008 roku założono pierwsze doświadczenie mini-wazonowe. W doświadczeniu tym wykorzystano gleby L i G o różnym składzie granulometrycznym. Do gleb tych wprowadzono arsenin (III) sodu i arsenian (V) sodu w dawce 500 mg As kg^{-1} . Glebę dokładnie wymieszano i odstawiono na okres 16 dni. Zabieg ten miał na celu umożliwienie związania wprowadzonych odczynników z kompleksem sorpcyjnym gleb. Doświadczenie prowadzono zgodnie ze schematem nr 3. Do części gleb wprowadzano: 0,2 g P kg^{-1} , w postaci $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$, oraz 0,2 g Fe kg^{-1} w postaci $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$. Gleby z dodatkiem żelaza zwapnowano CaCO_3 , w dawce 2 g kg^{-1} , celem neutralizacji odczynu.

Wazony przygotowano wysypując na dno drenaż z drobnych kamieni, następnie ułożono warstwę gleby o masie 1 kg, a na zakończenie powierzchnię zasypało czystym, przesianym piaskiem. Każdy wazon wyposażony był w podstawkę. Gleby zasilono jednorazową dawką azotu w ilości 0,1 g N/kg z zastosowaniem NH_4NO_3 . Każdy wariant doświadczenia realizowano w trzech powtórzeniach. Do tak przygotowanych wazonów z glebą wysiano na głębokość 1-2 cm nasiona rzepaku jarego (*Brassica napus*) odmiany Mozart w ilości 10 sztuk, kłosówki wełnistej (*Holcus lanatus* L.) w ilości ok. 0,06 g/wazon, a także posadzono 2-letnie sadzonki olszy czarnej (*Alnus glutinosa* Gaertn.) - 1 sztukę na wazon. Rośliny systematycznie podlewano, utrzymując wilgotność na poziomie 70% całkowitej pojemności wodnej. Co 2-3 tygodnie wykonywano dokumentację fotograficzną doświadczeń oraz opisywano wzrost i rozwój roślin. W trakcie sezonu wegetacyjnego na niektórych roślinach pojawił się mączniak prawdziwy, w związku z tym zastosowano oprysk preparatem Topsin M 500 SC (Nippon Soda). Po okresie 5 miesięcy części nadziemne roślin ścięto, zważono, a następnie umyto, wysuszono i ponownie zważono w celu określenia suchej masy. Przeprowadzono analizy gleb oraz materiału roślinnego opisane w rozdziale 6.1.



Schemat 3. Schemat doświadczenia wazonowego I

3.3.2. Doświadczenie wazonowe II

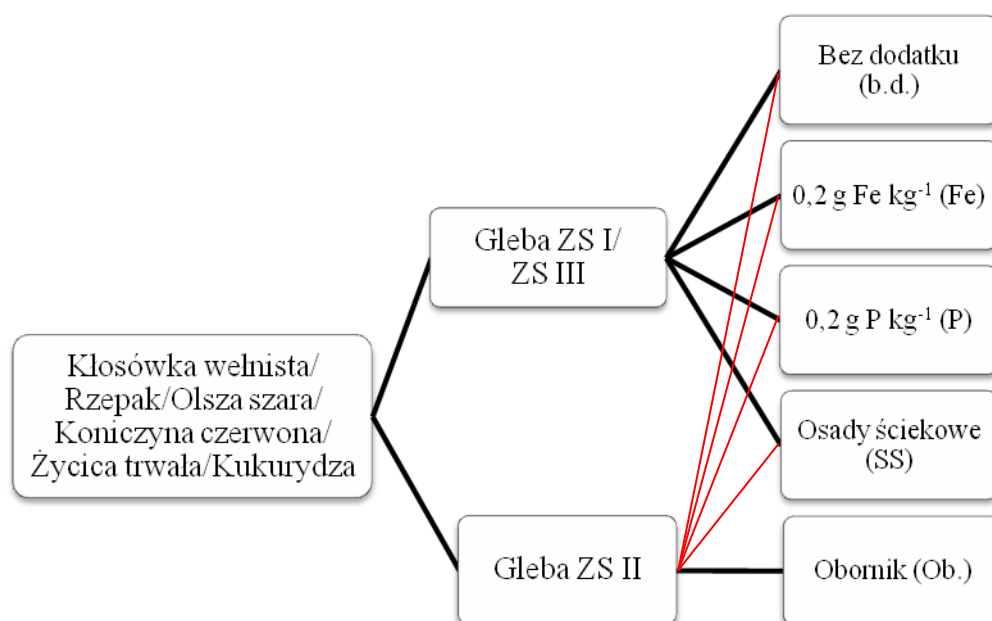
W roku 2009 kontynuowano doświadczenie wazonowe z wykorzystaniem gleb z 2008 r. (L i G), dodatkowo nawożąc te gleby podstawowymi makroelementami: potasem w ilości $0,15 \text{ g K kg}^{-1}$ w postaci KNO_3 i azotem w dawce $0,2 \text{ g N kg}^{-1}$ w formie NH_4NO_3 . W wazonach z dodatkiem żelaza dodatkowe nawożenie azotem zostało pominięte, ze względu na wprowadzony azot w formie azotanu żelaza $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$. Jako rośliny testowe tym razem zastosowano sałatę (*Lactuca L.*), wysianą w ilości 12 sztuk nasion/wazon oraz szpinak olbrzymi (*Spinacia oleacea L.*) w ilości 8 sztuk nasion/wazon. Doświadczenie prowadzono w warunkach szklarniowych przez okres 12 tygodni. Jednak ze względu na słaby wzrost roślin i uzyskaną niską biomasę, oznaczenie arsenu w materiale roślinnym było niemożliwe.

Jednocześnie doświadczenie wazonowe rozszerzono o warianty z wykorzystaniem gleb ZS I, ZS II i ZS III. W poszczególnych wariantach doświadczenia zastosowano różne dodatki, zgodnie ze schematem nr. 4, w następujących dawkach: $0,2 \text{ g P kg}^{-1}$, w postaci $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$ (P); świeże, nieprzefermentowane osady ściekowe (SS) w ilości $33 \text{ g s.m. kg}^{-1}$, obornik bydlęcy (Ob.), w postaci granulatu, w dawce 10 g kg^{-1} , a także $0,2 \text{ g Fe kg}^{-1}$ w postaci $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ (Fe). Gleby z dodatkiem żelaza zwapnowano CaCO_3 w dawce 2 g kg^{-1} , celem neutralizacji odczynu. Wszystkie gleby w poszczególnych wariantach zostały uzupełnione o składniki nawozowe tak, by zrównoważyć dawki azotu i fosforu oraz dodatkowo wprowadzono potas. Schemat dawkowania składników nawozowych przedstawia tabela 4.

Tabela 4. Schemat nawożenia wazonów, w zależności od zastosowanego dodatku

Dodatek do gleby	Nawożenie
bez dodatku (b.d.)	$0,054 \text{ g N kg}^{-1}$ w formie KNO_3 $0,146 \text{ g N kg}^{-1}$ w formie NH_4NO_3 $0,15 \text{ g K kg}^{-1}$ w formie KNO_3
P	$0,054 \text{ g N kg}^{-1}$ w formie KNO_3 $0,056 \text{ g N kg}^{-1}$ w formie NH_4NO_3 $0,15 \text{ g K kg}^{-1}$ w formie KNO_3
Fe	$0,054 \text{ g N kg}^{-1}$ w formie KNO_3 $0,15 \text{ g K kg}^{-1}$ w formie KNO_3
osady ściekowe, obornik	brak dodatkowego nawożenia

Do tak przygotowanych gleb wysiano rośliny: kłosówkę wełnistą (*Holcus lanatus* L.), rzepak (*Brassica napus* L. var. Mozart), koniczynę czerwoną (*Trifolium pratense* L.), życicę trwałą (*Lolium perenne* L.) i kukurydzę (*Zea mays* var. Iman), a także posadzono sadzonki olszy czarnej (*Alnus glutinosa* Gaertn.). Każdy z wariantów realizowano w 3 powtórzeniach. Rośliny systematycznie podlewano, utrzymując wilgotność na poziomie 70% całkowitej pojemności wodnej. Co 2-3 tygodnie wzrost roślin dokumentowano na fotografiach oraz obserwowano i opisywano ich wzrost i rozwój. Po okresie 4 miesięcy, materiał roślinny (części nadziemne) ścięto, zważono, umyto i wysuszono, a następnie ponownie zważono.



Schemat 4. Schemat doświadczenia wazonowego II

3.3.3. Doświadczenie wazonowe III

W 2010 roku kontynuowano doświadczenie wazonowe na glebach ze Złotego Stoku (ZS). W roku tym dołączono nową glebę ZS IV, którą uzyskano poprzez wymieszanie gleby ZS III z glebą G pobraną w Pawłowicach, w proporcji około: 1:10. Zawartość arsenu w tak otrzymanej glebie była znacznie niższa i wynosiła 356 mg As kg⁻¹.

W wazonach z poprzedniego sezonu gleby zostały dokładnie przemieszane przed wysianiem nowych roślin, celem ich spulchnienia i odpowiedniego napowietrzenia. Następnie wysiano rośliny: ponownie kłosówkę wełnistą (*Holcus lanatus* L.), rzepak (*Brassica napus* L. var. Svinto), życicę trwałą (*Lolium perenne* L. var. Nira) i kukurydzę (*Zea mays* var. Iman) oraz posadzono sadzonki olszy czarnej (*Alnus glutinosa* Gaertn.). Ze względu na słaby wzrost koniczyny w poprzednim sezonie wegetacyjnym, w 2010 roku

zamiast koniczyny do doświadczenia włączono pszenicę (*Triticum* L var. Tybałt). Każdy z wariantów doświadczenia realizowano w 3 powtórzeniach. Podobnie jak w poprzednich doświadczeniach wazonowych, rośliny podlewano, dokumentowano ich wzrost i rozwój, a po zakończeniu okresu wegetacyjnego części nadziemne roślin ścięto, umyto, zważono i wysuszono.

3.4. Analiza materiału roślinnego z doświadczeń wazonowych

Po zakończeniu okresu wegetacyjnego, który średnio trwał 3,5 miesiąca, części nadziemne roślin były ścinane i oczyszczane za pomocą wody redestylowanej z resztek gleby i pyłu naniesionego w trakcie wzrostu roślin. Następnie rośliny ważono i suszono w temperaturze pokojowej (22-24 °C). Po osiągnięciu wstępnym wysuszeniu materiału roślinnego, przenoszono go do suszarek i dosuszano w temperaturze 60 °C przez okres ok. 12 h. Po tym czasie materiał roślinny ponownie ważono, by określić suchą masę roślin. Tak przygotowane próbki zmielono w młynku elektrycznym (BOSCH) i poddano mineralizacji w 60% kwasie nadchlorowym (HClO₄ cz.d.a.; Chempur) w otwartych blokach mineralizacyjnych z chłodnicami. Standardowy stosunek naważki materiału roślinnego do kwasu wynosił 0,2 g s.m. : 10 ml kwasu HClO₄, jednak w niektórych przypadkach, gdzie ilość pozyskanego materiału roślinnego nie była wystarczająca, stosowano stosunek 0,1 g s.m. : 10 ml HClO₄. Po zakończeniu mineralizacji, próbkę roztworzano wodą redestylowaną i poddawano analizie na aparacie ICP- AES (Varian) w Centrum Analiz Jakości Środowiska Instytutu Nauk o Glebie i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu; ICP-MS (Elan 9000 DRCe, Perkin-Elmer) w Instytucie Nauk o Glebie na Universität für Bodenkultur w Wiedniu oraz FAAS (PE Analyst 600) w Laboratorium Analiz Środowiskowych DM w Siechnicach. Celem weryfikacji przeprowadzanych analiz wykorzystano materiał referencyjny NCS DC 73348 (Branches Bush and Leaves).

3.5. Szczegółowe analizy

Proces uruchamiania i pobrania arsenu przez rośliny jest złożony. Zależy on zarówno od właściwości gleby, formy arsenu w jakiej występuje, ale także od gatunku roślin. Aktywność mikrobiologiczna, a także skład gatunkowy bakterii mogą wpływać na modyfikację formy arsenu w glebie, a to z kolei na jego pobranie przez rośliny. Problematyka ta została szerzej opisana w rozdziale 2.4.. Dlatego też, aby ocenić udział

form łatwo rozpuszczalnych, które często uważa się za formy „przyswajalne” dla roślin, a także potencjalnie przyswajalnie, możliwe do uruchomienia w wyniku procesów zachodzących w strefie korzeniowej roślin, przeprowadza się różnego rodzaju ekstrakcje związkami chemicznymi. Do oceny aktywności biologicznej służy wiele metod. W rozdziale tym przedstawiono metodykę wykonanych szczegółowych analiz, które miały na celu potwierdzenie wzajemnej zależności aktywności mikrobiologicznej oraz rozpuszczalności arsenu w glebie i jego pobierania przez rośliny.

3.5.1. Ekstrakcja sekwencyjna

W celu określenia umownie zdefiniowanych form As, w różny sposób związanych z poszczególnymi składnikami gleby wykonano analizę specjacji arsenu w glebie metodą ekstrakcji sekwencyjnej. Jest to metoda polegająca na działaniu kolejno różnymi roztworami na tę samą próbkę gleby, w celu wydzielania pierwiastka związanego z poszczególnymi składnikami gleby. Ze względu na specyfikę arsenu oraz jego duże podobieństwo do fosforu, Wenzel i in. (2001) zaproponowali zmodyfikowaną procedurę ekstrakcji przeznaczoną tylko dla arsenu. W tabeli 5 przedstawiono kolejność postępowania i rodzaje wydzielanych frakcji. Szczegóły dotyczące doboru odczynników oraz mechanizmów rozpuszczalności omówiono w rozdziale 2.6.1

Tabela 5. Procedura ekstrakcji sekwencyjnej wg Wenzla i in. (2001)

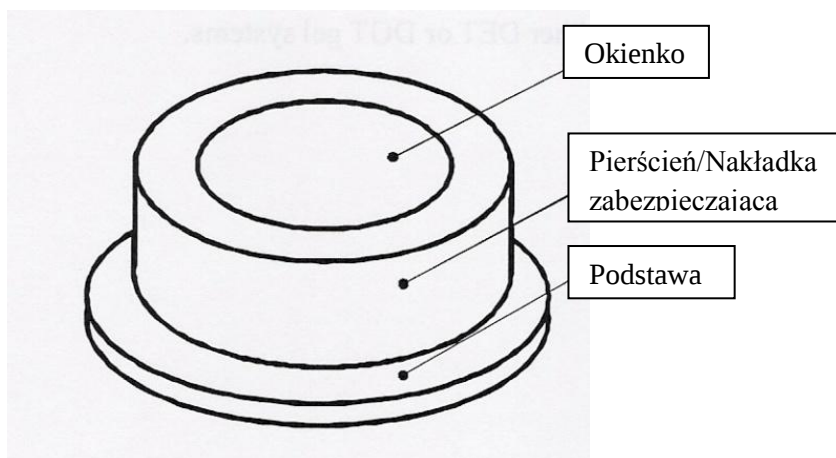
Nr frakcji	Nazwa frakcji	Odczynnik ekstrahujący	Warunki ekstrakcji	Stosunek m:w	Etap przemywania
1	Łatwo rozpuszczalne	0.05 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	wytrząsanie 4 h, 20°C	1:25	-
2	Specyficznie związana	0.05 M $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	wytrząsanie 16 h, 20°C, pH 6.0	1:25	-
3	Związana z amorficznymi FeOx	0,2 M szczawian amonowy;	wytrząsanie 4 h, w ciemności, pH 3.25	1:25	0,2 M szczawian amonowy, 1:12,5 (m:w), wytrząsanie przez 10 min. w ciemności, pH 3.25
4	Związana z krystalicznymi FeOx	0,2 M szczawian amonowy+ 1 M kwas askorbinowy	gotowanie przez 30 min w $96\pm 3^\circ\text{C}$, w świetle, pH 3.25	1:25	0,2 M szczawian amonowy, 1:12,5 (m:w), wytrząsanie przez 10 min. w ciemności, pH 3.25
5	Rezydualna	$\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2^*$	mineralizacja mikrofalowa*	1:50	-

* autorzy dopuszczają zastosowanie innych odczynników i innej metody mineralizacji, pod warunkiem, że ich skuteczność jest porównywalna do metody zaproponowanej

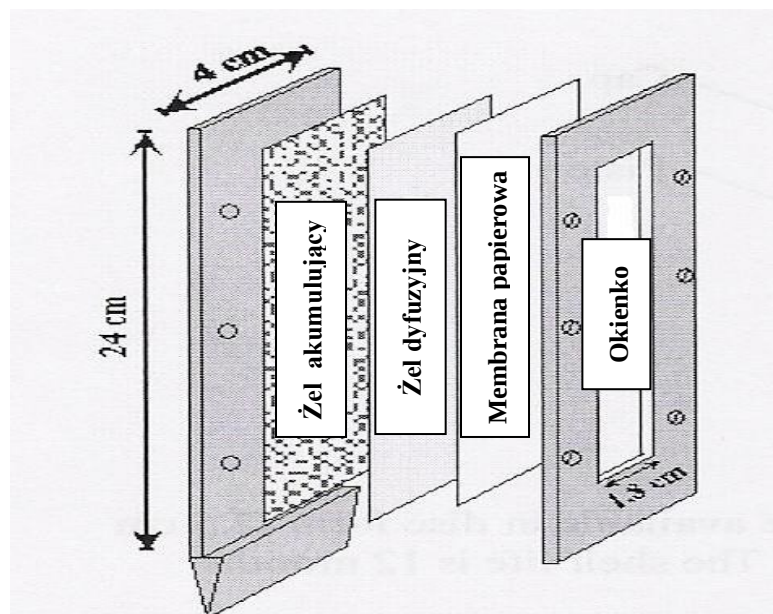
Dla głównego celu pracy, jakim było określenie oddziaływania arsenu na rośliny i na wielkość jego pobrania przez rośliny, najwięcej uwagi w całej pracy poświęcono dwóm pierwszym formom: łatwo rozpuszczalnej i specyficznie związanej, potencjalnie dostępnej dla roślin, które oznaczano w ekstrakcjach pojedynczych opisanych w rozdziale 3.3. Ekstrakcję sekwencyjną przeprowadzono dla wybranych próbek gleby z doświadczenia inkubacyjnego 2 oraz z doświadczeń wazonowych: I, II, III pochodzących spod różnych roślin, ze szczególnym uwzględnieniem kłosówki welnistej. Próbkę dobrano tak, aby reprezentowały warianty bez dodatku, pełniące rolę kontroli, oraz warianty z dodatkami P, SS i Fe. Przeprowadzenie ekstrakcji sekwencyjnej dla wymienionych gleb miało na celu prześledzenie zmian zachodzących pomiędzy poszczególnymi frakcjami w wyniku zastosowania dodatków, a także pod wpływem uprawianej rośliny.

3.5.2. DGT

DGT (diffusive gradients in thin films) jest metodą pomiaru stężeń labilnych form pierwiastków, opartą na gradiencie dyfuzyjnym, zależnym od przebiegu procesów dyfuzji na granicy faz pomiędzy glebą, a odpowiednim hydrożelem. Do pomiaru stężenia labilnych form arsenu obecnych w glebie wykorzystuje się urządzenie zawierające żel akumulujący arsen. Zagadnienie omówiono przedstawiono szczegółowo w rozdziale 2.6.2. Ogólną budowę urządzenia przedstawia rys 4.



Rysunek 4. Ogólna budowa urządzenia DGT
(materiały techniczne <http://www.dgtresearch.com>, 2003, tłumaczone na język polski przez autorkę)



Rysunek 5. Układ warstw w urządzeniu DGT
(materiały techniczne <http://www.dgtresearch.com> 2003, tłumaczone przez autorkę)

Składa się ono z podstawy, na którą nakłada się krążek żelu żywicznego zawierającego tlenki żelaza (Fe-oxide gel), wykazującego zdolność do sorbowania fosforu i arsenu (o grubości 0,4 mm). Krążek ten przykrywa się warstwą żelu dyfuzyjnego (diffusive gel) o grubości 0,82 mm. Aby zabezpieczyć żel przed bezpośrednim kontaktem z glebą, stosuje się membranę papierową. Następnie nakłada się pierścień i nakładkę zabezpieczającą. Całość umieszcza się w plastikowych pojemnikach, zawierających zwilżoną bibułę, by ograniczyć przesychanie hydrożeli (rys.5). Wodą dejonizowaną zwilżono próbki gleby, aż do osiągnięcia 100 % połowej pojemności wodnej. Tak przygotowaną glebę, a także pojemniki z przygotowanymi urządzeniami DGT poddaje się inkubacji w stałej temperaturze 20°C, przez 24 h. Inkubacja ta ma na celu ustabilizowanie warunków fizyko-chemicznych, które uległy zaburzeniu po zwiększeniu uwilgotnienia. Po upływie tego czasu materiał glebowy umieszcza się w okienku nakładki zabezpieczającej (zdj. 8) i poddaje 48 h inkubacji. W tym czasie następuje właściwe oddziaływanie pomiędzy roztworem glebowym, a hydrożelem, co prowadzi do przemieszczania się mobilnego arsenu i jego sorbowania przez żel.



Zdjęcie 8. Urządzenia DGT z nałożonymi próbkami gleby, bezpośrednio przed poddaniem powtórnej inkubacji (zdjęcie własne)

Po zakończeniu inkubacji glebę usuwa się, urządzenie rozkłada, a krążek żelu akumulującego poddaje analizie, aby określić ilość zgromadzonego arsenu. W tym celu krążek poddaje się ekstrakcji 1 ml 1M HNO_3 (cz.d.a., Merck) w 1,5 ml probówce Eppendofa. Po 24 h pobiera się uzyskany roztwór (0,8 ml), rozcieńcza w stosunku 1:5 i oznacza stężenie As.

Analizy labilnych form arsenu w glebach wykonano w Instytucie Nauk o Glebie na Universität für Bodenkultur w Wiedniu – dla wybranych próbek gleb, a mianowicie: G-As (III) i L-As (III) bez dodatku oraz G-As (III) i L-As (III) z dodatkiem fosforu. Stężenia As w uzyskanych roztworach oznaczano na aparacie ICP-MS (Elan 9000 DRCe, Perkin-Elmer). W celu określenia, jaka była koncentracja labilnego arsenu zmierzona dzięki urządzeniu DGT (C_{DGT}), należało wykonać następujące obliczenia, uwzględniające parametry urządzenia oraz zmierzoną koncentrację arsenu w analizie. Do obliczeń zastosowano następujące wzory:

$$C_{DGT} = F \Delta g / D, \text{ gdzie}$$

$$F = M / (tA), \text{ gdzie}$$

$$M = C_e (V_{\text{HNO}_3} + V_{\text{żelu}}) / f_e$$

F- strumień przepływu metalu ($\text{mol cm}^{-2}\text{s}^{-1}$)

M- masa zakumulowanego arsenu (μg),

t - czas inkubacji próbek ($t=48 \text{ h}$)

A - obszar ekspozycji ($A=3,14 \text{ cm}^2$)

Δg – grubość warstwy żelu dyfuzyjnego wraz membraną papierową ($0,8+0,14 \text{ mm}$)

D – współczynnik dyfuzji metalu przez żel ($D=5,27 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2\text{s}^{-1}$)

Ce – zmierzona koncentracja arsenu w analicie, mierzona na aparacie ICP-MS ($\mu\text{g L}^{-1}$)

($V_{\text{HNO}_3}+V_{\text{żelu}}$) – suma objętości dodanego kwasu HNO_3 i żelu akumulującego ($1,15 \text{ ml}$)

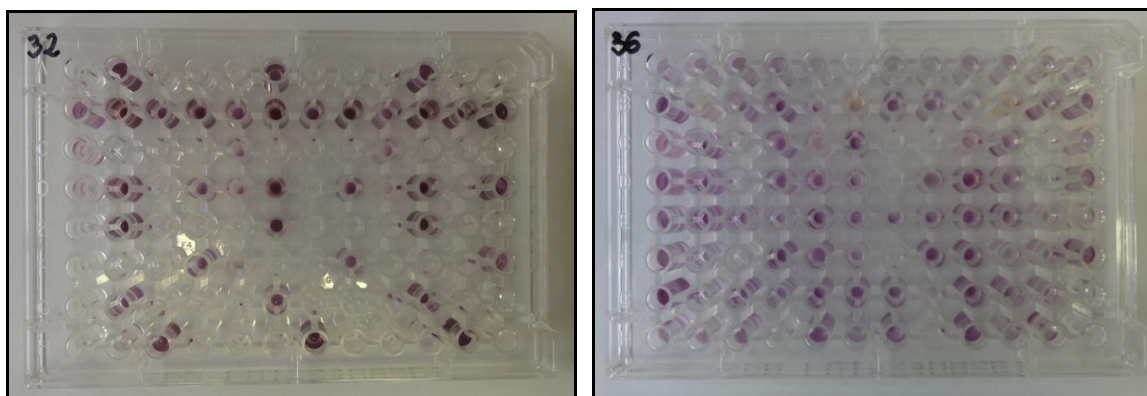
fe – współczynnik wymywania ($0,8$)

C_{DGT} – średnie stężenie labilnego arsenu ($\mu\text{g L}^{-1}$)

3.5.3. Analiza profili fizjologicznych metodą płytek EcoPlate BIOLOG[®]

Płytki do testów mikrobiologicznych BIOLOG[®] (Biolog, Hayward, CA, USA) wykorzystywane są do szybkiej analizy i identyfikacji zespołów mikroorganizmów glebowych. Szczegóły dotyczące teoretycznych podstaw metody BIOLOG[®] zamieszczono w rozdziale 2.6.3.

Płytki EcoPlate wykorzystane w niniejszej pracy zawierały 31 różnych substratów, które można podzielić na grupy: węglowodanów, kwasów karboksylowych, polimerów, amin, aminokwasów, estrów, związków fosforoorganicznych oraz związków fenolowych. Efekt trzech powtórzeń został osiągnięty poprzez trzykrotne kolejne rozlokowanie bloku 31 różnych substratów, co zaobserwować można na zdj. 9 dla płytki 32.



Zdjęcie 9. Płytki EcoPlate Biolog, po zakończeniu testów mikrobiologicznych (zdjęcie własne)

Próbki do analizy mikrobiologicznej pobrano z wybranych wazonów, bezpośrednio po zakończeniu okresu wegetacji roślin z doświadczenia wazonowego III. W tabeli nr 24 przedstawiono wykaz analizowanych próbek. Świeże próbki zważono i określono stopień

ich uwilgotnienia. Po doprowadzeniu ich do 50-60 % maksymalnej pojemności wodnej, pobrano 3 g każdej gleby, zalano 30 ml wyjałowionego roztworu soli fizjologicznej (NaCl 0,9%) w probówkach Falcone 50 ml i wytrząsano przez 1 h. Po zdjęciu probówek z wytrząsarki, ich zawartość odwirowano na wirówce z prędkością 800 obr/min przez okres 5 minut, celem uzyskania klarownego roztworu. Zebrany supernatant przeniesiono do sterylnych probówek Eppendorfa i zamrożono w - 70°C. Inkubację i analizę płytek EcoPlate przeprowadzono w Instytucie Nauk o Środowisku Uniwersytetu Jagiellońskiego. Płytki inkubowano w 22 °C i mierzono intensywność zabarwienia dołków za pomocą spektrofotometru (μ Quant, Bio-Tek Instruments, USA) przy długości fali 590 nm co 12 h. Całkowity czas pomiaru wynosił 130 h, a obliczenia wykonano za pomocą programu KC Junior (Bio-Tek Instruments, USA). Dla uzyskanych wyników obliczono następujące parametry: AWCD (średnia absorbancja pojedynczego dołka na płytce), AAUC (średnia powierzchnia pod krzywą), Rs (liczba zużytych substratów) i H (indeks zróżnicowania gatunkowego). Obliczenie pola powierzchni pod krzywą AAUC jest najlepszym wskaźnikiem pozwalającym na porównanie profili fizjologicznych różnych zespołów mikrobiologicznych.

3.6. Statystyczna interpretacja wyników

Wszystkie doświadczenia i analizy laboratoryjne prowadzone były w trzech powtórzeniach. Obliczenia średnich, odchylenia standardowego (SD) oraz przedziałów ufności (U) dla przyjętego poziomu istotności $\alpha = 0,05$ wykonano przy użyciu arkusza kalkulacyjnego programu Excel 2007 (Microsoft Office). Istotne różnice pomiędzy wariantami poszczególnych doświadczeń określano za pomocą analizy słupków błędów z uwzględnieniem odchylenia standardowego, na poziomie istotności $\alpha=0,05$. Dla wybranych parametrów doświadczeń wykonano obliczenia współczynników korelacji liniowej Pearsona. Istotność korelacji weryfikowano z wykorzystaniem programu Statistica 9.0.

4. Charakterystyka podstawowych właściwości gleb wykorzystanych w doświadczeniach

4.1. Skład granulometryczny

Proporcje pomiędzy poszczególnymi frakcjami glebowymi mają ogromny wpływ na właściwości gleb, a co za tym idzie, także na ich wartość produkcyjną oraz odporność na degradację (Drozd i in. 2008; Zawadzki 1999; Mocek i in. 2000). Duża zawartość frakcji piasku powoduje, że gleba jest bardziej przepuszczalna i przewiewna, ma zmniejszoną retencję wodną i wysokość podsiąku kapilarnego. Z kolei frakcja pyłu znacznie wpływa na właściwości gleby zwiększając pojemność wodną i wysokość podsiąku kapilarnego w piaskach, a w glinach zmniejszając ich zdolność pęcznienia, przylepność i plastyczność. Z drugiej jednak strony, gleby pylaste są bardzo podatne na erozję wietrzną i wodną, a także, w pewnych warunkach utrudniać rozwój strefy korzeniowej roślin. Frakcja ilasta ma duże znaczenie przy ocenie odporności gleb na degradację chemiczną, ze względu na zwiększanie pojemności sorpcyjnej gleb. Jednak w utworach o dużym nagromadzeniu iłu dochodzi do zaburzania stosunków powietrzno-wodnych, co jest zjawiskiem niekorzystnym, szczególnie z punktu widzenia uruchamiania arsenu zabsorbowanego na cząstkach stałych gleby (Zawadzki 1999; Karczewska 2008). W wielu systemach oceny zagrożenia gleb erozją, czy degradacją chemiczną, jednym z najważniejszych kryteriów jest czynnik glebowy, a w szczególności udział podfrakcji iłu koloidalnego.

Wyniki analizy składu granulometrycznego gleb wykorzystanych w niniejszej pracy przedstawiono w tabeli 8.

Gleby wykorzystane do doświadczenia szalkowego 1 i doświadczenia wazonowego 1 zostały wybrane tak, by reprezentowały dwie silnie różniące się grupy granulometryczne. Gleba L, wykazuje skład piasku słabogliniastego, z udziałem frakcji piasku powyżej 85%. Natomiast gleba G określona została jako glina lekka, ze względu na 60% udział frakcji piasku i 20% udział frakcji ilastej.

Gleby wykorzystywane w pozostałych doświadczeniach, pobrane z okolic Złotego Stoku, bądź będące mieszaniną dwóch gleb charakteryzowały się dość zbliżonymi grupami granulometrycznymi. Gleby ZS I i ZS II określono jako materiał glebowy o charakterze pyłu gliniastego. Materiał glebowy ZS III opisano jako glina piaszczysta, przy czym udział procentowy frakcji piasku i pyłu były bardzo zbliżone. Jako glinę piaszczystą również zakwalifikowano materiał glebowy (ZS IV), z przewagą frakcji piasku-79% i 20% frakcji pyłu.

4.2. Zawartość węgla organicznego i azotu

Materia organiczna gleb ma wpływ na właściwości gleb, pojemność sorpcyjną i jej żyzność. Jak już opisano w rozdziale 2.4.6., jest również jednym z najważniejszych czynników decydujących o mobilności arsenu. W glebach podlega ciągłym przemianom, zarówno ilościowym, jak i jakościowym. Substancje humusowe mają dużą powierzchnię właściwą ($800-900 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$) oraz wysoką pojemność wymienną kationów ($150-300 \text{ cmol kg}^{-1}$), a także, ze względu na budowę związków tworzących tę substancję, potrafią tworzyć kompleksy chelatowe z metalami ciężkimi i arsenem. Nie bez znaczenia jest fakt, iż substancje humusowe posiadają zdolność do buforowania w szerokim zakresie pH, co jest niezwykle istotne w glebach zakwaszonych (Zawadzki 1999; Karczewska 2008).

Węgiel organiczny oznaczono dwiema metodami: metodą termiczno-wagową oraz metodą oksydacyjno-miareczkową. Wyniki różnią się nie tylko ze względu na rodzaj badanej próbki, ale także ze względu na wykorzystaną metodę. Różnica pomiędzy wynikami uzyskanymi metodą termiczno-wagową, a metodą oksydacyjno-miareczkową wyniosła ok. 30% - wyższe wartości otrzymano analizując próbki na aparacie CS-MAT 500, w którym próbki podlegały działaniu temperatury 1000°C . Wyniki oznaczeń zamieszczono w tabeli 9.

Najniższą zawartość Corg wynoszącą ok. 1%, oznaczono w glebie L, a nieco wyższe - w glebie G – 1,26% i ZS IV – 1,48%. Natomiast z glebach złotostockich, zawartość węgla organicznego wzrastała w układzie $\text{ZS I} < \text{ZS II} < \text{ZS III}$, przekraczając w tej ostatniej glebie 3%. Silnie shumifikowana materia organiczna nie tylko zwiększa pojemność sorpcyjną kompleksu, ale także tworząc połączenia chelatowe, ogranicza rozpuszczalność As (Balasoiu i in. 2002), dlatego wyższa zawartość procentowa Corg w próbkach ZS niż L i G mogła być prawdopodobnie jednym z czynników wpływających na ograniczenie mobilności arsenu.

Azot całkowity w próbkach gleb oznaczono po analizie zmodyfikowaną metodą Kjeldahla. Uzyskane wyniki mieszczą się w przeciętnych zawartościach podawanych przez Fotymę i Mercika (1995). Najniższą zawartość N która wynosiła 0,06%, oznaczono w glebie G, następnie w glebie L - 0,08%. Gleba ZS IV jako mieszana gleba zawierała 0,13%. Materiał glebowy ze Złotego Stoku, podobnie jak w przypadku Corg posiadał największą zawartość N. W punkcie ZS I ilość azotu wynosiła 0,16% i była najniższa spośród gleb złotostockich, a w punkcie ZS III była najwyższa i wynosiła 0,26%.

Stosunek C:N jest jednym z podstawowych wskaźników wskazujących na natężenie procesów przemian substancji organicznej gleb i dostępności azotu uwalnianego podczas procesu rozkładu szczątków roślinnych (Zawadzki 1999; Mocek 2000). Stosunek zbyt szeroki, powyżej 33:1, albo zbyt wąski, poniżej 17:1, nie jest korzystny. Przy zbyt szerokim C:N mamy do czynienia z osłabieniem procesu mineralizacji substancji organicznej i uwstecznieniem azotu przyswajalnego, natomiast przy wąskim stosunku C:N, ilość uwalnianego azotu jest zbyt duża i następuje jego strata (Zawadzki 1999).

W próbkach materiału glebowego stanowiących obiekty badań w niniejszej pracy, stosunek C:N był zróżnicowany. Najbardziej pożądanym występował w glebach G i ZS I. W pozostałych przypadkach, stosunek ten był węższy, ale mieścił się w wartościach typowych dla gleb ornych naszej strefy klimatycznej. Dostępność azotu jest ważna dla rozwoju roślin szczególnie w warunkach stresu, jakim jest obecność wysokiej koncentracji arsenu, a jego brak ogranicza plonowanie (Czerwiński 1976; Gorlach i Mazur 2002).

4.3. Odczyn i kwasowość hydrolityczna gleb

Odczyn wywiera duży wpływ na rozwój roślin i mikroorganizmów glebowych, właściwości sorpcyjne oraz dostępność różnych składników pokarmowych, ale i także na mobilność metali ciężkich i arsenu. Optimum pH dla większości roślin uprawnych mieści się w przedziale 6,0 - 7,0, natomiast wpływ odczynu na mobilność arsenu został szerzej opisany w rozdziale 2.4.2.

Odczyn gleb określono w materiale glebowym przed włączeniem go do doświadczeń, ale także w trakcie ich trwania. Pierwotnie, gleby L, ZS II i ZS III miały odczyn kwaśny (pH 5,53 w glebie L, 5,52 w ZS II i 5,30 w ZS III), gleby G i ZS IV lekko kwaśny (pH 6,01 i 6,10), a gleba ZS I obojętny (pH 6,50). W świetle zebranej literatury, arsen jest stabilny w przedziale pH 4 - 7 (Al-Abed i in. 2007), a nawet 3 - 9 (Pantsar-Kallio i Manninen 1997). Analizując uzyskane wartości pH stwierdzono, że odczyn badanych próbek gleb zawiera się w podanych przedziałach, w związku z tym mobilność arsenu w tych glebach była w znacznym stopniu ograniczona. Informacje na temat odczynu w glebach w trakcie doświadczeń zostały zawarte w kolejnych rozdziałach niniejszej pracy.

4.4. Zasobność w przyswajalne składniki pokarmowe

Składniki pokarmowe takie jak fosfor, potas, czy magnez mają znaczenie w odżywianiu roślin, a co za tym idzie, wpływają na ich wzrost i rozwój. Na dostępność

pierwiastków pokarmowych mają wpływ właściwości gleby: odczyn, właściwości oksydacyjno-redukcyjne, skład granulometryczny, czy wzajemny stosunek pierwiastków. Niektóre makroelementy oddziałują na siebie antagonistycznie lub powodują wzajemne unieruchomienie np. P i Mn, czy Zn; Mg z Ca i K, a u innych występuje synergizm, np. pomiędzy N i P, czy N i K.

Na podstawie otrzymanych wyników możemy ocenić zasobność w składniki pokarmowe. Zasobność w magnez we wszystkich próbkach była bardzo wysoka. Natomiast zasobność w fosfor i potas była zróżnicowana. Najmniej P i K zawierała gleba L, a średnie wartości uzyskano w glebie ZS IV. Ze względu na wpływ na mobilność i przyswajalność arsenu dla roślin, najważniejszym składnikiem gleb był „fitoprzyswajalny” fosfor, którego zawartość w glebie układała się w kolejności: L (28 mg kg^{-1}) > ZS IV (46 mg kg^{-1}) > ZS III (73 mg kg^{-1}) > G (75 mg kg^{-1}) > ZS II (165 mg kg^{-1}) > ZS I (315 mg kg^{-1}). Fosfor, ze względu na swoje właściwości chemiczne, jest silniej sorbowany niż arsen (McBride 1994), dlatego po wprowadzeniu P, w wyniku zastępowania As w kompleksie sorpcyjnym może dojść do zwiększonego uwalniania As do roztworu glebowego. Takiej reakcji arsenu po wprowadzeniu P oczekiwano przede wszystkim w glebie L, ZS IV i o ile w glebie ZS IV uzyskano taki efekt, o tyle w glebie L - nie zawsze. Szczegółowe wyniki przedstawiono w dalszej części pracy.

4.5. Właściwości sorpcyjne gleby

Zdolność gleby do zatrzymywania i pochłaniania różnych składników, zwana sorpcją, jest najważniejszą właściwością gleby (Zawadzki 1999). Dzięki sorpcji, gleba spełnia funkcję magazynu substancji, zarówno odżywczych, jak i toksycznych, umożliwia blokowanie szkodliwych substancji i zapobiega przedostawaniu się ich do środowiska. Reguluje także odczyn gleby. Zależy ona od wielu czynników, takich jak ilość i rodzaj minerałów ilastych, zawartości i jakości próchnicy, a także odczynu gleby (Mocek 2000).

Suma kationów zasadowych (S) była zróżnicowana. Najniższą wartością S poniżej 10 cmol kg^{-1} , charakteryzowały się gleby L i ZS III,. Wartość S gleby G wynosiła $11,4 \text{ cmol kg}^{-1}$, a pozostałych gleb, czyli ZS I, ZS II i ZS IV - przekraczała 20 cmol kg^{-1} .

Na podstawie sumy kationów zasadowych można ocenić stopień odporności gleb na degradację chemiczną wg Siuty, a na podstawie całkowitej pojemności sorpcyjnej także wg Lityńskiego (Karczewska 2008).

Tabela 6. Ocena aktualnej i potencjalnej odporności gleb wykorzystanych w doświadczeniach

Gleba	S (cmol kg ⁻¹)	T (cmol kg ⁻¹)	Ocena wg Siuty	Ocena wg Lityńskiego
L	7,0	9,4	średnio odporna	bardzo silnie odporna
G	11,4	13,4	odporna	bardzo silnie odporna
ZS I	36,2	37,8	bardzo silnie odporna	bardzo silnie odporna
ZS II	25,6	28,4	bardzo silnie odporna	bardzo silnie odporna
ZS III	8,2	12,6	średnio odporna	bardzo silnie odporna
ZS IV	20,3	26,3	bardzo silnie odporna	bardzo silnie odporna

Analizując ocenę odporności gleb wykorzystanych w doświadczeniu w oparciu o tabelę 6, można stwierdzić iż potencjalnie wszystkie gleby mają bardzo silną odporność na degradację, jednak w ocenie ich aktualnej odporności, gleby L i ZS III mają tylko średnią odporność. Z perspektywy możliwości zastosowania fitostabilizacji do rekultywacji terenów zanieczyszczonych, informacja ta jest istotna, gdyż panujące w glebie warunki fizyko-chemiczne są na tyle stabilne, iż zagrożenie nagłego uruchomienia arsenu powinno być minimalne.

4.6. Całkowita zawartość arsenu i wybranych metali ciężkich

Gleby wyjściowe, wykorzystane w dalszych doświadczeniach poddano analizie na całkowitą zawartość arsenu, a także miedzi, cynku i ołowiu. Wyniki porównano do wartości wskazanych w rozporządzeniu Ministra Środowiska z 2002 r. w sprawie standardów jakości gleby i standardów jakości ziemi (Dz. U. nr 165, poz. 1359) dla gleb grupy B i C. Porównanie dla grupy B ma na celu sprawdzenie ewentualnej możliwości użytkowania gruntów w celach rekreacyjnych - jako łąki i tereny zadrzewione, natomiast grupa C ze względu na długotrwałe użytkowanie, jako tereny przemysłowe, choć obecnie tereny te w większości stanowią nieużytki. Koncentracja arsenu i metali ciężkich w glebach wyjściowych przedstawia tabela 10.

Ocena zawartości arsenu i metali ciężkich w glebie jest istotna, ponieważ kationy i aniony podlegają różnym procesom sorpcji w glebie, które decydują o ich rozpuszczalności. Metale ciężkie jako kationy, podlegają głównie sorpcji wymiennej, natomiast arsen podlega chemisorpcji. Metale ciężkie, a w szczególności miedź są silniej sorbowane przez materię organiczną niż arsen. Jednak najważniejszym czynnikiem decydującym o rozpuszczalności metali ciężkich i arsenu jest odczyn. Dla każdego

pierwiastka wartość pH, przy którym rozpoczyna się zwiększone jego uruchamianie jest inna. Jednak większość metali ciężkich najłatwiej przechodzi do roztworu glebowego w warunkach odczynu kwaśnego. Najsłabszą rozpuszczalność wykazuje ołów między pH 2 - 5, następnie arsen w przedziale pH 1 - 3 i od 9 - 12, miedź od pH 2,5 do 5 i także powyżej 7,5. Cynk wykazuje zwiększoną mobilność już od pH 6,0, by uzyskać maksimum przy pH ok. 2,5 (Kabata-Pendias i Pendias 1999; Karczewska 2008). Tak różna zachowanie w glebie dyktuje późniejszy sposób rekultywacji terenu i nakłada pewne ograniczenia w stosowaniu dodatków zmniejszających rozpuszczalności i fitoprzyswajalność metali ciężkich oraz arsenu.

Koncentracja arsenu w glebach L i G było poniżej $0,018 \text{ mg As kg}^{-1}$ (próg detekcji), natomiast w glebach pobranych z okolic Złotego Stoku wyraźnie zarysowuje się zawartości arsenu, która zmniejszała się wraz z oddalaniem się od emitora i zbiorników poftotacyjnych. Najwyższą zawartością As charakteryzowała się gleba ZS I ($5350 \text{ mg As kg}^{-1}$), a najniższą - ZS III, z zawartością $3323 \text{ mg As kg}^{-1}$. Zawartości te są ekstremalnie wysokie. Stężenie cynku wahało się w przedziale od $16,9 \text{ mg Zn kg}^{-1}$ do $146 \text{ mg Zn kg}^{-1}$, przy czym najniższe wartości stwierdzono w glebie L – $15,6 \text{ mg Zn kg}^{-1}$ i G – $28,2 \text{ mg kg}^{-1}$ oraz ZS IV – $57,0 \text{ mg kg}^{-1}$, a wyższe w glebach ZS: 133 mg kg^{-1} w glebie ZS II, 142 mg kg^{-1} w glebie ZS I i 146 mg kg^{-1} w glebie ZS III. Zawartość ołowiu była wysoka w glebach ZS, z maksymalną koncentracją Pb w glebie ZS III – $410 \text{ mg Pb kg}^{-1}$, a także ZS I – 377 mg kg^{-1} i ZS II – 269 mg kg^{-1} , a niska w glebach L, G i ZS IV od 15 mg Pb kg^{-1} (L) do $47,7 \text{ mg Pb kg}^{-1}$ (ZS IV). Całkowita zawartość miedzi w próbkach gleby rosła od L ($5,10 \text{ mg Cu kg}^{-1}$) < G ($11,1 \text{ mg Cu kg}^{-1}$) < ZS IV ($15,5 \text{ mg Cu kg}^{-1}$) < ZS II = ZS III (48 mg Cu kg^{-1}) < ZS I ($64,3 \text{ mg Cu kg}^{-1}$).

Porównując zawartości analizowanych pierwiastków z wartościami dopuszczalnymi dla gleb z grupy B, zarówno zawartość arsenu, jak i ołowiu w glebach ZS I, ZS II i ZS III nie pozwala na wymienione wyżej użytkowanie, a w przypadku gleby ZS IV, nadmierna koncentracja arsenu limituje wykorzystanie także i tej gleby. Także przy zaklasyfikowaniu gruntów do grupy C, należy podkreślić, że koncentracja As w glebach ZS I, ZS II, ZS III jest zbyt wysoka nawet dla gleb obszarów przemysłowych i przekracza je nawet kilkudziesięciokrotnie. Z punktu widzenia prawa, gleby te należałoby zrehabilitować. W glebie ZS IV również następuje przekroczenie zawartości As dla gleb z grupy C. Ponieważ gleba ZS IV powstała sztucznie, w wyniku zmieszania dwóch różnych gleb, w rzeczywistości tak otrzymana gleba nie spełniałaby warunków skutecznej rekultywacji.

Metale ciężkie i arsen w większych ilościach są fitotoksyczne i stanowią zagrożenie dla środowiska. Reakcja roślin na obecność wysokiej koncentracji pierwiastka jest zróżnicowana i zależy nie tylko od zawartości metalu czy arsenu, ale także od gatunku rośliny, jej fazy rozwojowej, czy obecności innych jonów. Próg toksyczności dla roślin jest różny i dla arsenu wynosi 5-10 mg kg⁻¹ s.m., dla miedzi – 20-100 mg kg⁻¹ s.m., dla ołowiu – 30-300 mg kg⁻¹ s.m., a dla cynku 100 – 400 mg kg⁻¹ s.m. (McBride 1994, Kabata-Pendias i Pendias 1999). W dalszej części pracy omówione zostaną wyniki zawartości arsenu w roślinach.

Bardzo wysokie koncentracje arsenu i innych metali ciężkich w glebach, zbliżone do stwierdzonych w analizowanych glebach, często występują w rejonie kopalń i hut przetwarzających rudy arsenowe, co wynika głównie ze specyfiki złóż, często okruszczonych minerałami polimetalicznymi. Podobnie jak w przypadku analizowanych tu gleb ZS I, ZS II i ZS III, także gleby kilku okręgów wydobywczych w Korei np. Duckum, Dongil, Dongjung, Myoungbong, Songchun (Kim i in. 2005), czy w Hiszpanii-Tharsis, Ríotinto i Huelva (Chopin, Alloway 2007) zawierają wysokie koncentracje arsenu oraz kilku innych pierwiastków, co powoduje, iż dany teren ten uznaje się za silnie zanieczyszczony. Dla przykładu, średnia koncentracja As w glebach rejonu Songchun wynosi 47400 mg kg⁻¹, a Duckum 201 mg kg⁻¹, przy jednoczesnej, bardzo wysokiej koncentracji ołowiu, powyżej 2000 mg kg⁻¹. W konsekwencji, powoduje to zwiększone pobranie metali ciężkich i arsenu przez roślinność porastającą omawiane tereny. Zagadnienie dotyczące pobierania arsenu przez rośliny z gleb badanych w niniejszej pracy zostanie opisane w dalszych rozdziałach.

5. Wyniki doświadczeń inkubacyjnych

W rozdziale 2.4. niniejszej pracy szeroko przedstawiono problem wpływu różnych czynników na mobilizację i immobilizację arsenu w glebach. Doświadczenia inkubacyjne miały na celu dokładne przeanalizowanie wpływu dodatków na uruchamianie i stabilizację arsenu w badanych glebach, także pod wpływem dodatkowego, ale niezwykle istotnego czynnika, jakim były zmienne warunki wilgotnościowe.

Warunki wilgotnościowe wpływają na stosunki powietrzno-wodne panujące w glebie. Przy wysokim potencjale redoks, obecność azotanów nie doprowadza do redukcji żelaza, a w warunkach redukcyjnych, obecność Fe^{3+} , powoduje blokowanie redukcji siarczanów do siarkowodoru. Długotrwałe warunki redukcyjne prowadzą jednak do uwalniania większych ilości zredukowanych związków żelaza i manganu oraz związków zabsorbowanych na nich, które oddziałują toksycznie na rośliny (Zawadzki 1999). Skład gatunkowy mikroorganizmów również ulega zmianie. W warunkach redukcyjnych rozwijają się organizmy z grupy *Methanobacterium*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Aspergillus*, *Penicillium*, które wspomagają redukcję form As V do As III, a następnie metylację As do form organicznych. Równie ważną rolę w zwiększeniu mobilności arsenu w warunkach obniżonego potencjału Eh pełnią zachodzące zmiany chemiczne. Arsen wykazuje duże powinowactwo do siarczków i dlatego w warunkach redukcyjnych ilość łatwo rozpuszczalnego arsenu maleje, prawdopodobnie w wyniku tworzenia nierozpuszczalnych siarczków arsenu (Turpeinen i in. 1999; Turpeinen i in. 2002; Krysiak 2007). W wyniku redukcji manganu i żelaza, dochodzić może do uwalniania zasorbowanego arsenu. W warunkach redukcyjnych dochodzi także do rozkładu materii organicznej, co w konsekwencji powoduje uwolnienie arsenu do roztworu glebowego (Krysiak 2007; Signes-Pastor i in. 2007). Nie bez znaczenia jest odczyn gleb, który ulega zmianie w wyniku obniżania się potencjału redoks. Wpływa on nie tylko na rozpuszczalność arsenu, ale także na aktywność mikroorganizmów, biorących udział w przemianach arsenu (Carbonell-Barrachina i in. 1999).

Zmienne warunki wilgotnościowe występują w glebach położonych w dolnie rzeki Trująca. Podlegając ciągłym zmianom wilgotnościowym, a w szczególności okresowemu zalewaniu, gleby te narażone są na powstawanie niekorzystnych warunków oksydo-redukcyjnych, które w świetle literatury mają istotny wpływ na uruchamianie arsenu.

5.1. Doświadczenie inkubacyjne 1

Szczegółowe wyniki analizy materiału glebowego pochodzącego z doświadczenia inkubacyjnego przedstawia tabela 13.

Zastosowane dodatki fosforu i żelaza do obu gleb L i G wyraźnie oddziaływały na rozpuszczalność arsenu. Wyniki ekstrakcji form łatwo rozpuszczalnych wykazały, iż dodatek fosforu wpływał na zwiększenie udziału łatwo podatnych na mobilizację form As, natomiast dodatek żelaza ograniczał jego podatność na uwalnianie z gleby. Zależności te zaobserwowano w glebie L zarówno w warunkach stałej, jak i zmiennej wilgotności gleb podczas inkubacji, natomiast dla gleby G podobne zachowanie As wyraźniej ujawniło się w próbkach gleb utrzymywanych w warunkach zmiennej wilgotności (rys. 6).

Wpływ warunków wilgotnościowych na mobilizację arsenu jest wyraźnie zauważalny w przypadku gleby L, zarówno jeśli analizuje się dane uzyskane z ekstrakcji form łatwo rozpuszczalnych, jak i specyficznie związanych. Natomiast w przypadku gleby G zróżnicowanie mobilności As, wynikające ze zmiennych warunków wilgotnościowych, zauważalne jest tylko w wybranych wariantach. Najbardziej zauważalny wpływ warunków wilgotnościowych na mobilność arsenu w glebie L stwierdzono w wariantach z dodatkiem P, analizując wyniki udziału łatwo rozpuszczalnych form As. Udział łatwo rozpuszczalnego As w glebie L, AsIII, P, inkubowanej w warunkach przemiennego zawadniania i przesuszania wynosił $215 \text{ mg As kg}^{-1}$, natomiast w tej samej glebie inkubowanej w warunkach stałego uwilgotnienia - był niższy 4,5-krotnie i wynosił $47,9 \text{ mg As kg}^{-1}$. Natomiast w glebie LAsIII, b.d. wystąpiła analogiczna różnica między rozpuszczalnością As w próbkach inkubowanych w zróżnicowanych warunkach wilgotności i była 2-krotnie wyższa między wartością $97,3 \text{ mg As kg}^{-1}$ z gleb o stałym uwilgotnieniu, a $210 \text{ mg As kg}^{-1}$ z gleb okresowo zalewanych (na podstawie form ekstrahowanych siarczanem amonu). Opisane wyniki zostały potwierdzone statystycznie na poziomie $p=95\%$. W glebach zanieczyszczonych L, AsV, różnica w udziale form łatwo rozpuszczalnych As w glebach o stałym i zmiennym uwilgotnieniu sięgała nawet 41%, jednak dla tej obserwacji nie uzyskano potwierdzenia statystycznego ($p=95\%$). Rezultat ten uzyskano w glebie L, AsV z dodatkiem P, gdzie inkubacja w warunkach stałego uwilgotnienia wpłynęła na wyekstrahowanie z gleby $211 \text{ mg As kg}^{-1}$, a zmienne nawadnianie i suszenie - na uzyskanie $355 \text{ mg As kg}^{-1}$ łatwo rozpuszczalnego arsenu. Wynik ekstrakcji form specyficznie związanych As z gleby L, wskazuje, że w wariacie z dodatkiem fosforu, bez względu na formę arsenu, którą zanieczyszczono glebę, wpływ

warunków zmiennego uwilgotnienia jest silniejszy, niż w wariantach z innymi dodatkami (rys. 7, L), co zostało potwierdzone statystycznie na poziomie istotności $\alpha=0,05$. Dodatek Fe i 5Fe spowodował obniżenie ilości ekstrahowanego arsenu. Różnicę istotną statystycznie między dodatkiem żelaza a jego brakiem zaobserwowano w glebie L, AsIII i AsV, przy czym w glebie L, AsIII potwierdzenie istotności różnicy uzyskano tylko w wariancie o zmiennym uwilgotnieniu. W glebie L, AsV w obu wariantach wilgotnościowych uzyskano istotną statystycznie różnicę pomiędzy wariantem z 5Fe a b.d.

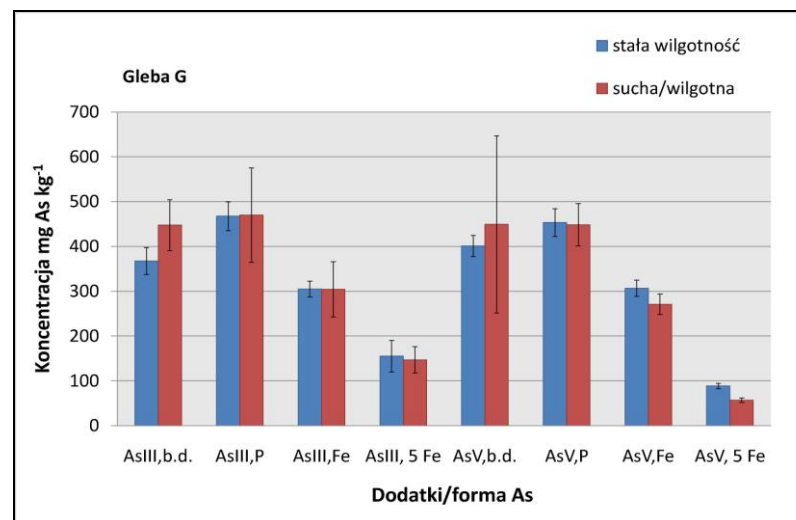
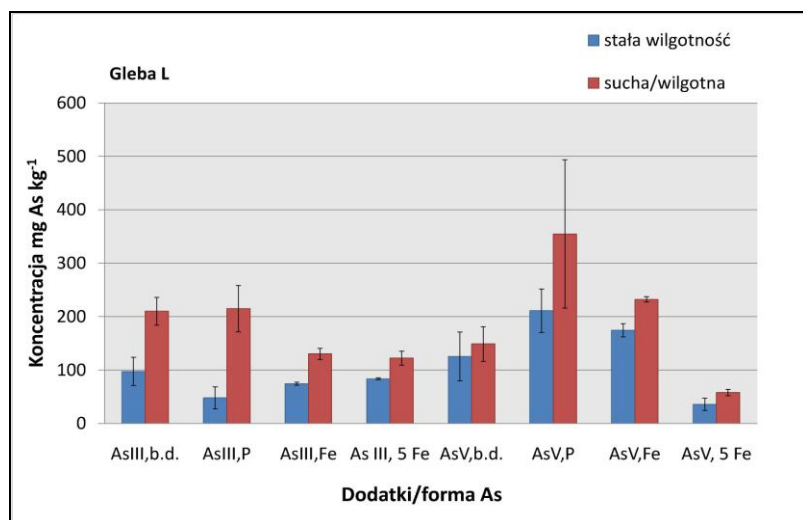
W glebie G opisywane wyżej reakcje na zróżnicowane warunki wilgotnościowe obserwowane były tylko w pojedynczych przypadkach i dotyczyły głównie form łatwo rozpuszczalnych (ekstrahowanych $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) z gleb w wariantach zanieczyszczonych zarówno AsIII, jak i AsV, bez dodatków. Wpływ warunków uwilgotnienia na zawartość form łatwo rozpuszczalnych As w glebie G jednak nie został potwierdzony statystycznie. Ogólną tendencję wpływu zastosowanych dodatków na rozpuszczalność specyficznie związanych form arsenu przedstawiono na rys. 6, G. Warunki wilgotnościowe słabo różnicowały wyniki. Tylko w glebie G-AsV, 5 Fe uzyskano istotną statystycznie różnicę między rozpuszczalnością As w glebie inkubowanej w warunkach stałego i zmiennego uwilgotnienia gleb, większy był udział łatwo rozpuszczalnego arsenu w glebie o stałym uwilgotnieniu – $88,5 \text{ mg As kg}^{-1}$ niż w glebie inkubowanej w warunkach okresowego zalewania $56,8 \text{ mg As kg}^{-1}$.

Dodatek fosforu powodował zwiększoną rozpuszczalność As, ale głównie w wariantach z G, AsV. W glebach z G, AsIII b.d. i z P, zwiększoną mobilność As pod wpływem P obserwowano dla gleb utrzymywanych w warunkach stałej wilgotności, co potwierdzono statystycznie na poziomie istotności $p=95\%$. Natomiast dodatek żelaza, zarówno, mniejszej, jak i większej dawki (warianty Fe i 5Fe) spowodował niewielki spadek uwalnianego arsenu z omawianej gleby.

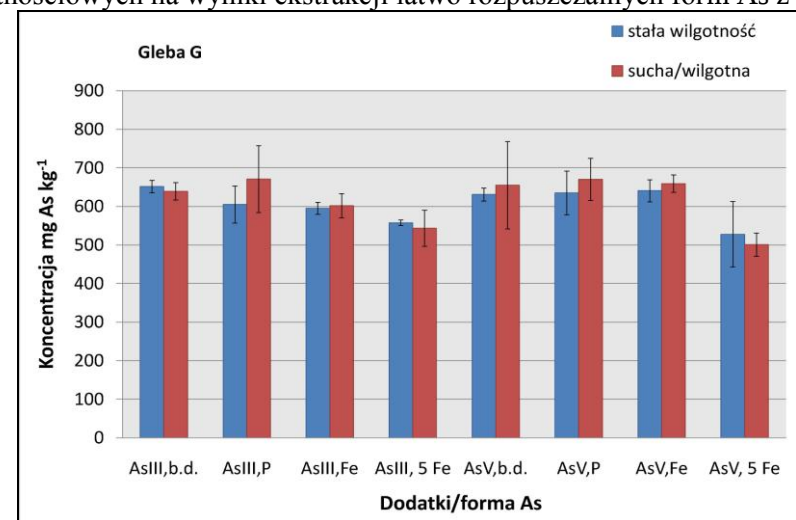
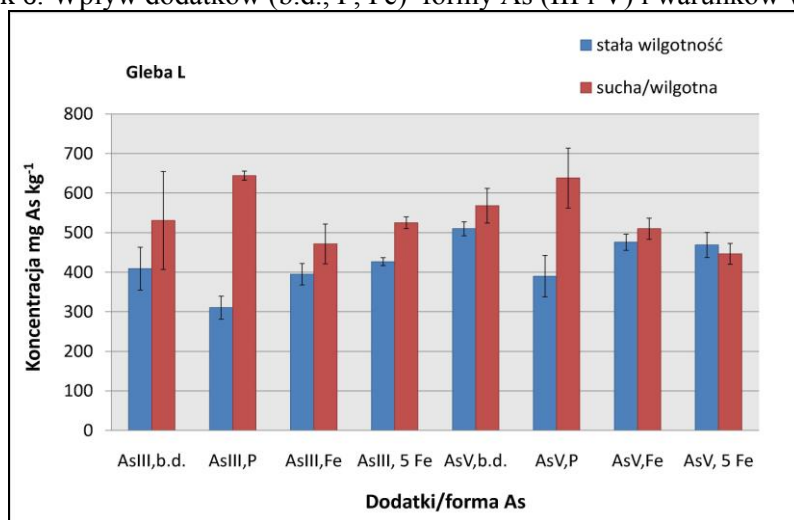
W jednym z wariantów można zauważyć wręcz odwrotną tendencję wpływu przemiennego nawadniania i przesuszania na mobilizację As. W glebie G z dodatkiem żelaza w dawce $1,0 \text{ g Fe kg}^{-1}$ (G,AsV,5Fe), warunki zmiennego uwilgotnienia spowodowały zmniejszenie ilości arsenu przechodzącego do roztworu ekstrakcyjnego, zarówno w odniesieniu do form łatwo rozpuszczalnych, jak i specyficznie związanych.

Porównanie wyników uzyskanych dla gleb L i G, różniących się składem granulometrycznym, wskazuje na istotne różnice w rozpuszczalności As w tych glebach. Wbrew oczekiwaniom, stwierdzono wyższą rozpuszczalność arsenu w glebie G niż w glebie L (rys. 6 i 7). Gleby lekkie, piaszczyste, takie jak np. gleba L, ze względu na

mniejszą pojemność sorpcyjną i zazwyczaj niższą zawartość substancji organicznej, są mniej odporne na degradację. Już niewielkie zmiany warunków fizykochemicznych w takich glebach zazwyczaj wpływają na zwiększone uwalnianie metali ciężkich i arsenu. W glebach cięższych, jak np. gleba G, ze względu na większą pojemność sorpcyjną, jony metali są silniej sorbowane, a w związku z tym ich mobilizacja jest ograniczona. Jednak większy udział całkowitej zawartości As został wyekstrahowany z gleby G, mimo iż do obu gleb wprowadzono taką samą dawkę arsenu, (odpowiadającą 500 mg kg^{-1}), w tym samym czasie. Dalsze rozważania na temat przyczyny większej rozpuszczalności aktualnej i potencjalnej As w glebie cięższej G w porównaniu z glebą lekką L prowadzone będą po omówieniu wyników drugiego doświadczenia inkubacyjnego.



Rysunek 6. Wpływ dodatków (b.d., P, Fe) formy As (III i V) i warunków wilgotnościowych na wyniki ekstrakcji łatwo rozpuszczalnych form As z gleb L i G



Rysunek 7. Wpływ dodatków (b.d., P, Fe), formy As (III i V) i warunków wilgotnościowych na ekstrakcję specyficznie związanych form As

5.2. Doświadczenie inkubacyjne 2

W doświadczeniu inkubacyjnym 2 obok gleb L i G sztucznie zanieczyszczonych arsenem badano także gleby złotostockie: ZS I, ZS II i ZS III. Ilość wariantów zastosowanych w pierwszym doświadczeniu (b.d., P, Fe) została zwiększona o nowe dodatki, które mogą wpływać na mobilność arsenu: osady ściekowe (SS), obornik (Ob.) oraz roztwór cytrynianu dwuamonowego (AC). Ocenę wpływu dodatków, a także zmiennych warunków wilgotnościowych na uruchamianie lub immobilizację arsenu w glebach, oparto tylko na wynikach ekstrakcji form łatwo rozpuszczalnych 0,05 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Z oznaczenia form specyficznie związanych ekstrahowanych 0,05 M $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ zrezygnowano, bo choć w ocenie potencjalnej możliwości uruchomienia arsenu z gleb są one ważne, to dla oceny wpływu zastosowania różnych dodatków oraz warunków wilgotnościowych na mobilność arsenu prowadzonej w ramach opisywanego eksperymentu, najważniejsze było oznaczenie form łatwo rozpuszczalnych. W glebach po inkubacji zmierzono również pH. Wyniki ekstrakcji łatwo rozpuszczalnych form As, a także wartości pH zamieszczono w tabeli 14.

Zastosowane dodatki - SS i Ob., poddano analizie i określono w nich zawartość węgla organicznego, składników pokarmowych oraz metali ciężkich (tabela 10). Wykonano również analizę składu frakcyjnego próchnicy, ze szczególnym uwzględnieniem niskocząsteczkowych kwasów organicznych. Stwierdzono wyższą zawartość węgla organicznego w oborniku – 29%, a nieco niższą w osadach ściekowych – 26%. Zaskakujący wynik otrzymano po analizie azotu. Spodziewano się wysokiej zawartości procentowej w obu dodatkach organicznych, jednak w oborniku wartość ta była zdecydowanie niższa, wynosząca 0,15% w porównaniu do osadów ściekowych, w których uzyskano prawie 5% zawartości N. Obornik (Ob.) posiadał 2-krotnie wyższą koncentrację Mg (1080 mg kg^{-1}) i Mn (110 mg kg^{-1}), 4-krotnie wyższą sodu (1283 mg kg^{-1}) i 10-krotnie wyższą zawartość potasu (1865 mg kg^{-1}) niż SS. Zawartość wapnia była zbliżona. Analiza metali ciężkich i arsenu uwidoczniała wzbogacenie SS w Zn (1055 mg kg^{-1}), Pb ($9,25 \text{ mg kg}^{-1}$) i Cu ($65,0 \text{ mg kg}^{-1}$), ale wykazała, że zawartość arsenu w SS była niższa o połowę od wartości uzyskanej w Ob. ($7,35 \text{ mg kg}^{-1}$). Informacje te istotne są przede wszystkim z punktu widzenia uprawy roślin prowadzonych w ramach doświadczeń wazonowych. Na podstawie tych danych należało się spodziewać lepszego zaopatrzenia roślin w składniki pokarmowe w wariantach z dodatkiem Ob., a to powinno było przełożyć się na ich lepszy wzrost.

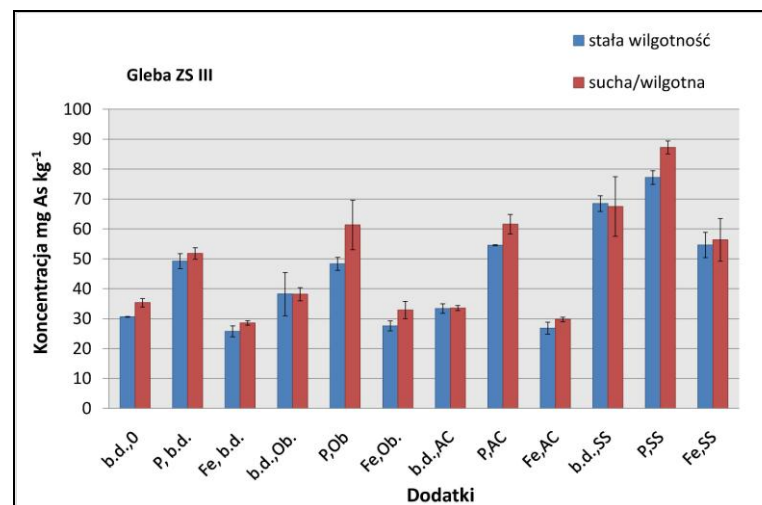
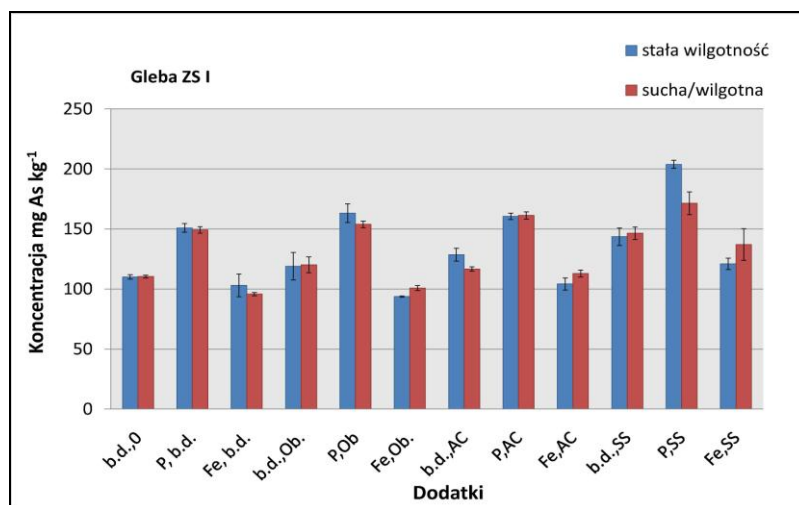
Wyniki analiz materiału roślinnego zebranego z doświadczeń wazonowych przedstawiono w dalszej części pracy.

Wyniki analizy składu frakcyjnego próchnicy w glebach ZS oraz oborniku (Ob.) i osadach ściekowych (SS) zostały przedstawione w tabeli 11. Analiza I frakcji wskazuje w próbkach SS i Ob. na występowanie dużej ilości połączeń z wapniem i niekrzemianowymi formami R_2O_3 , przy czym wyższy udział frakcji I (2,56%) stwierdzono w Ob. niż w SS (1,34 %). Porównanie gleb ZS wskazuje, że najwięcej frakcji I uzyskano z gleby ZS III – 0,23%, a najmniej - z gleby ZS I – 0,07%. Ekstrakcja frakcji II wskazuje na dość duży udział frakcji próchnicy związanej z krzemianowymi formami R_2O_3 , zwłaszcza w SS i Ob. (ok. 10 – 11% węgla), z przewagą kwasów huminowych. Należy zaznaczyć, że w osadach ściekowych uzyskano większy udział kwasów fulwowych (5,3%), niż w oborniku (4%), a mniej humusowych. W kontekście doniesień literaturowych substancje organiczne o większym udziale kwasów fulwowych mogą wpływać na zwiększoną mobilność As. W glebach ZS najniższy udział procentowy frakcji II zaobserwowano w glebie ZS I – 0,9%, a najwyższy w glebie ZS III – 1,2%, również z przewagą kwasów huminowych nad fulwowymi. W próbkach SS i Ob. uzyskano odpowiednio 13% i 16% węgla, który nie podlegał hydrolizie oraz ok. 4% węgla związanego z wapniem.

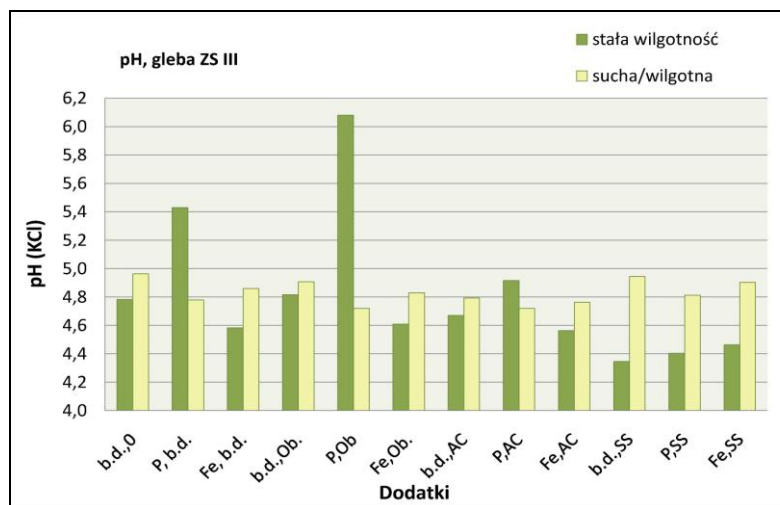
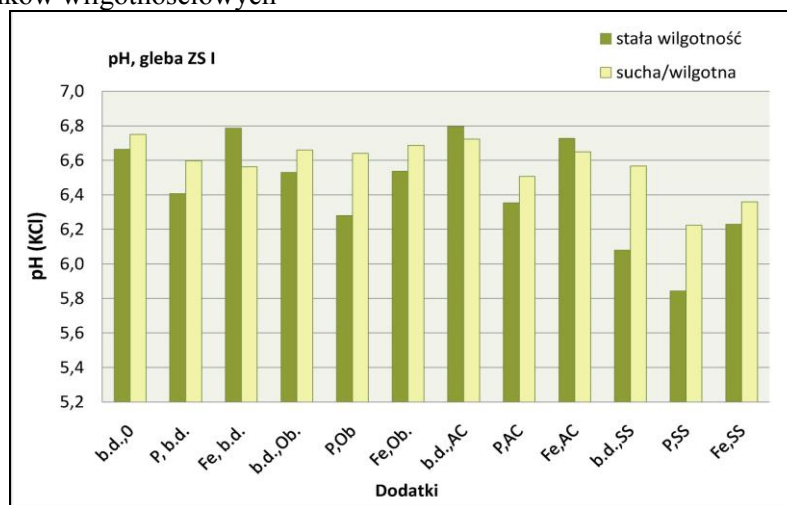
Analizując wyniki inkubacji gleb ZS I, ZS II i ZS III można stwierdzić wpływ zastosowanych dodatków P i Fe na rozpuszczalność arsenu. We wszystkich badanych glebach, zarówno w obecności wprowadzonych dodatków substancji organicznej (obornika (Ob.), cytrynianu dwuamonowego (AC), osadów ściekowych (SS)), czy też w glebach bez dodatku organicznego (0), fosfor powodował zwiększoną rozpuszczalność arsenu, a żelazo wpływało na ograniczenie mobilności As. Zastosowany dodatek Ob., AC i SS wpływał na ilość uwalnianego arsenu w obrębie grupy wariantów, co ilustruje rys. 8. Porównując wyniki uzyskane z gleb w wariantach: b.d., 0, Ob., AC i SS, stwierdzono istotny statystycznie ($p=95\%$) wzrost udziału rozpuszczalnego arsenu we wszystkich glebach ZS po wprowadzeniu SS, oraz w glebie ZS I i ZS II po wprowadzeniu AC, natomiast w glebie ZS III zaobserwowano istotny statystycznie wzrost udziału mobilnego arsenu po wprowadzeniu Ob. Wpływ Ob. i AC na mobilizację arsenu był zbliżony - oba dodatki powodowały niewielki wzrost rozpuszczalności. Ob. od 7% w ZS II do 13% w ZS III, a AC 10% w ZS I do 16% w ZS II (różnice te były istotne statystycznie, $p=95\%$). Wprowadzenie osadów ściekowych SS spowodowało znaczny wzrost udziału łatwo ekstrahowalnych form arsenu: o 25% w

ZS I, 45% w ZS II i 51% w ZS III. Wyniki te zostały potwierdzone statystycznie na poziomie $\alpha=0,05$.

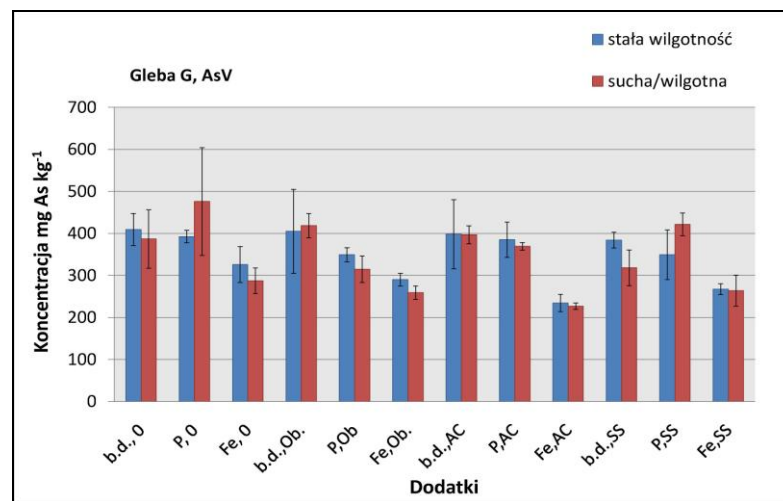
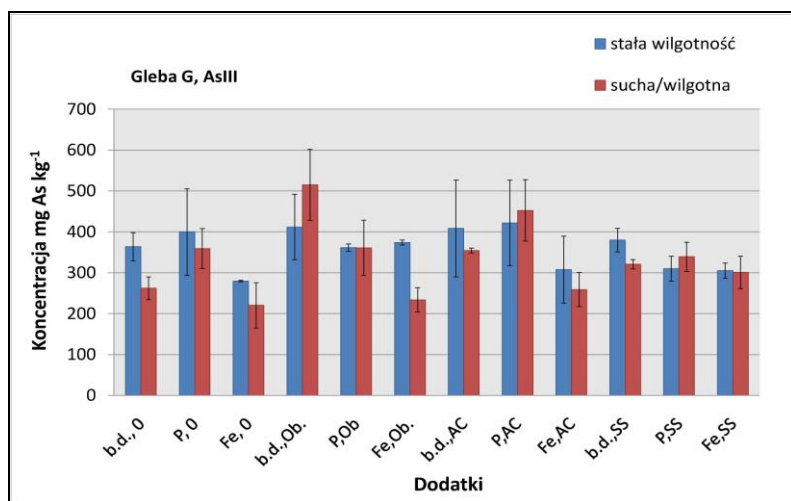
Analiza wariantów, w których wprowadzono dodatki organiczne do gleb jednocześnie traktowanych dodatkami P i Fe dała wyniki nieco odmienne niż w przypadkach wariantów 0 (bez P i Fe). Osady ściekowe wprowadzone do gleb z fosforem powodowały, iż ilość ekstrahowanego As była znacząco wzrastała: w glebie ZS I: ze 151 mg As kg⁻¹ (0) do 204 mg As kg⁻¹ (SS), a w ZS III: z 49,3 mg As kg⁻¹ (0) do 77,2 mg As kg⁻¹ (SS); podane wyniki dotyczą warunków stałego uwilgotnienia. Podobny efekt uzyskano w glebach z zastosowanym dodatkiem żelaza. Generalnie jego wprowadzenie ograniczało mobilność arsenu - bez względu na zastosowany dodatek organiczny, jednak - mimo zachowania działania Fe ograniczającego rozpuszczalność As - ilość łatwo ekstrahowalnego arsenu w glebach z dodatkiem SS była wyższa niż w glebach bez SS. Udział form łatwo rozpuszczalnych As w glebach ZS zmniejszała się w kolejności: ZS I > ZS II > ZS III, co związane jest z całkowitą zawartością arsenu w glebach wyjściowych. Im wyższa zawartość As tym większy udział form łatwo rozpuszczalnych był ekstrahowany. Dodatek osadów ściekowych do gleb bez dodatków organicznych : osadów ściekowych, obornika, a także i cytrynianu, spowodował wzrost rozpuszczalności aktualnej arsenu, w największym stopniu w glebie ZS II, osiągając ok. 3 % całkowitej zawartości As, od wartości 125 mg kg⁻¹ do 136 mg kg⁻¹. Udział procentowy form łatwo rozpuszczalnych As w stosunku do całkowitej zawartości As w glebie mieścił się w przedziale od 0,8 % w glebie ZS III, Fe,0 do 4,7% w glebie ZS II,P,SS (w wariantach o stałym uwilgotnieniu). W zmiennym uwilgotnieniu wyniki zawartości łatwo rozpuszczalnych form As albo były bardzo zbliżone do przedstawionych wyżej albo niższe od tych uzyskanych w warunkach stałego uwilgotnienia. Niespełna pięcioprocentowy udział form łatwo rozpuszczalnych As nie wydaje się dużym zagrożeniem, ale należy podkreślić, że tej wartości odpowiadają bezwzględne zawartości łatwo rozpuszczalnego As w glebach rzędu ok. 200 mg kg⁻¹, co wskazuje na duże zagrożenie dla organizmów żywych i środowiska. Matschullat (2000) podaje, że już zawartość całkowita As w glebie rzędu 200-300 mg kg⁻¹ As prowadzi do zwiększenia zawartości As w roślinach nawet do 1 mg As g⁻¹ św.m.. Łatwo rozpuszczalny arsen może łatwo przedostać się do wody pitnej powodując zatrucie ludności tak jak to miało miejsce i w Złotym Stoku (Nriagu 2002), czy np. Chile, USA, Meksyku, czy w Indiach (Mandal i Suzuki 2002; Henke 2009).



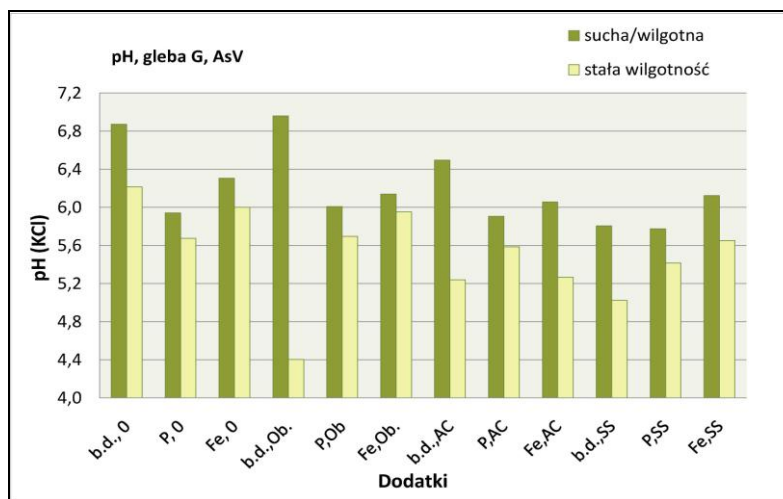
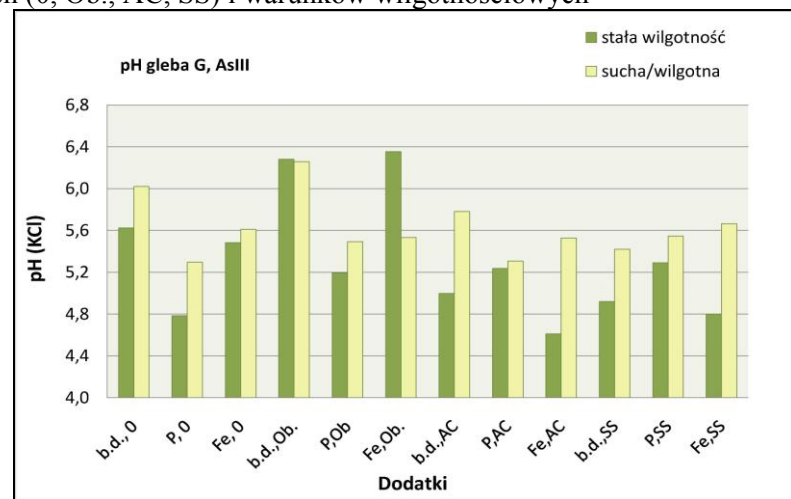
Rysunek 8. Rozpuszczalność arsenu w glebach ZS I i ZS III, w zależności od zastosowanych dodatków (b.d., P, Fe) oraz dodatków organicznych (0, Ob., AC, SS) i warunków wilgotnościowych



Rysunek 9. Średnie wartości pH gleby ZS I i ZS III, w zależności od zastosowanych dodatków (b.d., P, Fe) oraz dodatków organicznych (0, Ob., AC, SS) i warunków wilgotnościowych



Rysunek 10. Rozpuszczalność arsenu w glebie (G) zanieczyszczonej AsIII i AsV, w zależności od zastosowanych dodatków (b.d., P, Fe) oraz dodatków organicznych (0, Ob., AC, SS) i warunków wilgotnościowych



Rysunek 11. Średnie wartości pH gleby (G) zanieczyszczonej AsIII i AsV, w zależności od zastosowanych dodatków (b.d., P, Fe) oraz dodatków organicznych (0, Ob., AC, SS) i warunków wilgotnościowych

Wyniki ekstrakcji łatwo rozpuszczalnego As z gleb L i G w drugiej serii inkubacji były tak zróżnicowane, iż trudno jednoznacznie wskazać tendencje wynikające z wpływu zastosowanych dodatków, czy wpływu warunków wilgotnościowych. Tylko w wariancie 0 dla gleby G, AsIII w zmiennych warunkach wilgotnościowych potwierdzono statystycznie istotny ($p=95\%$) wpływ dodatku fosforu na zwiększone uwalnianie As. W pozostałych próbkach albo taka tendencja nie została potwierdzona statystycznie albo uzyskano inny efekt działania fosforu na mobilność arsenu, np. brak wpływu lub zmniejszenie ilości uwolnionego As. Zaobserwowano również immobilizujące działanie żelaza wobec As w glebie G (rys. 8), ale w przypadku gleby L, AsV podobny efekt nie został potwierdzony. Nie można także potwierdzić zwiększonej rozpuszczalności arsenu w glebach G i L-AsV w wyniku dodania osadów ściekowych. Jedynie w glebie L, AsIII zaobserwowano zwiększoną rozpuszczalność As pod wpływem SS, ale potwierdzenie statystyczne tej obserwacji uzyskano tylko w wariancie b.d. w stałym uwilgotnieniu. Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzić można jednak, iż w wariantach G, AsIII, b.d. w zmiennym uwilgotnieniu; G, AsIII, Fe i L, AsV, P w stałym uwilgotnieniu oraz L, AsIII, b.d., dodanie obornika do inkubowanych gleb spowodowało istotny wzrost rozpuszczalności arsenu ($p=95\%$).

Rozpatrując wpływ warunków wilgotnościowych na rozpuszczalność arsenu we wszystkich glebach doświadczenia, trudno dopatrzeć się jednej tendencji. O ile w doświadczeniu inkubacyjnym 1 warunki naprzemiennego nawadniania i przesuszania wpływały na wzrost rozpuszczalności arsenu we wszystkich wariantach, o tyle w doświadczeniu inkubacyjnym 2 nie uzyskano takiego rezultatu. Oczywiście w kilkunastu próbkach uzyskano taki efekt a różnice w rozpuszczalności As w glebach inkubowanych w różnych warunkach uwilgotnienia zostały potwierdzone statystycznie na poziomie istotności $p=95\%$, np. w glebie ZS III: b.d.,0; Fe,0; P,Ob., P,AC; Fe,Ac; P,SS. Natomiast nie wyróżniono jednoznacznie czynnika: rodzaju dodatku lub wartości pH, który pozwoliłby na określenie warunków, w których zmienne uwilgotnienie gleby powoduje zwiększoną rozpuszczalność As.

Na rys. 9 i 11 przedstawiono zmiany wartości pH gleb po inkubacji w zależności od wariantu i zastosowanych dodatków. Analizując wartości pH w glebach ZS I, ZS II, ZS III i L, AsIII można stwierdzić, iż wprowadzenie dodatków do gleb utrzymywanych w warunkach zmiennego uwilgotnienia nie powodowało istotnych zmian odczynu. Natomiast większe zmiany pH zaobserwowano w warunkach stałego uwilgotnienia, co dla większości próbek zostało potwierdzone statystycznie. Jedynie w glebach: L, AsV, G, AsIII i G, AsV

takiej zależności nie stwierdzono. Uzyskane wyniki wskazują, że zmiany pH nie były głównym czynnikiem wpływającym na zmiany rozpuszczalności As. W części gleb dodatek P faktycznie wpływał i na obniżenie pH i na zwiększoną rozpuszczalność As, ale w innych wariantach, gdzie następował wzrost mobilizacji As, spadek pH nie został zaobserwowany. Ponadto, przeprowadzone wapnowanie gleb z dodatkiem żelaza przyniosło pozytywny rezultat i wartości pH tych gleb nie były istotnie różne od pH gleb w wariantach bez dodatku.

Udział form As łatwo rozpuszczalnych, ekstrahowanych z gleb L i G b.d., stanowił odpowiednio do ok. 26% i 49% całkowitej zawartości arsenu w glebach. Podobnie jak w pierwszym doświadczeniu inkubacyjnym, większą podatność na mobilizację arsenu stwierdzono nie w przypadku gleby lekkiej, ale tej zwięźlejszej, o bogatszym kompleksie sorpcyjnym.

5.3. Podsumowanie wyników doświadczeń inkubacyjnych

Analizując wyniki uzyskane z doświadczeń inkubacyjnych 1 i 2 można stwierdzić, iż dodatek fosforu wpływa na mobilizację arsenu, co potwierdzono dla obu gleb doświadczenia 1, a także - doświadczenia 2, z wyjątkiem rezultatów uzyskanych w glebie L, gdzie taki efekt wystąpił tylko w dwóch wariantach. Potwierdzenie statystyczne tej zależności na poziomie istotności $p=95\%$ uzyskano w przypadku gleb ZS I, ZS II i ZS III. W glebach L i G wyniki istotne statystycznie stwierdzono w pojedynczych wariantach - w próbkach G, AsIII utrzymywanej w stałym uwilgotnieniu (dośw. inkubacyjne 1), oraz w próbkach G, AsIII z AC i 0 i G, AsV z SS w zmiennym uwilgotnieniu (dośw. inkubacyjne 2). Mobilizujący efekt fosforu wobec As uzyskali także w swoim doświadczeniu Hartley i in. (2009). Dodatek $4000 \text{ mg P kg}^{-1}$ do gleb zawierających ponad $1300 \text{ mg As kg}^{-1}$, spowodował tam 13-krotny wzrost ilości uwalnianego As. W doświadczeniach inkubacyjnych 1 i 2, przeprowadzonych w niniejszej pracy, stosowano znacznie niższe dawki P, nawet 20-krotnie niższe niż w doświadczeniu Hartley'a i in. (2009), dlatego też wpływ dodatku fosforu na zwiększoną rozpuszczalność arsenu nie był tak duży, uzyskano maksymalnie 2,5-krotny wzrost mobilności As. Również doświadczenie Cao i in. (2003) dowodzi, że dodatek fosforu wzmacnia rozpuszczalność arsenu. Do gleby sztucznie zanieczyszczonej arsenianem sodu, zawierającej $126 \text{ mg As kg}^{-1}$, i do gleby zanieczyszczonej w wyniku stosowania środków ochrony drewna CCA, zawierającej $135 \text{ mg As kg}^{-1}$, wprowadzono fosfor w dawce 15 g P kg^{-1} , by uruchamiając arsen, ułatwić jego

pobieranie przez paproć hiperakumulującą *Pteris vittata* L. i przyspieszyć proces oczyszczania gleb. Większy efekt mobilizacji arsenu uzyskano w glebie sztucznie zanieczyszczonej, co jest zgodne z wynikami uzyskanymi przez autorkę niniejszej pracy w doświadczeniach inkubacyjnych 1 i 2. Natomiast w glebach zanieczyszczonych CCA, oddziaływanie fosforu na rozpuszczalność As było słabsze nawet niż oddziaływanie ustabilizowanych osadów ściekowych (Cao i in. 2003).

We wszystkich wariantach obu doświadczeń uzyskano efekt ograniczenia mobilności arsenu w wyniku zastosowania żelaza. Wyniki te są zgodne z uzyskiwanymi przez innych autorów. W doświadczeniu Hartleya i in. (2004), dodatek różnych związków żelaza, jak np. getytu, śrutu z żelaza, czy siarczanu żelaza powodował zmniejszenie ilości rozpuszczalnego arsenu. Najlepsze efekty ograniczające wymywanie arsenu Hartley i in. (2004) uzyskali w połączeniu siarczanu żelaza z wapnem. Wynika to z faktu, iż w wyniku działania soli, następuje obniżenie pH, co może wpływać na zwiększone uwalnianie As. Podobne wyniki uzyskał także Warren i in. (2003), który stosował dodatki żelaza, w różnych postaciach wraz z wapnem, aby zapobiec zakwaszeniu testowanych gleb. W wyniku wprowadzenia żelaza do gleb, następowało zmniejszenie ilości arsenu przechodzącego do roztworu ekstrakcyjnego. Efekt sorbowania arsenu przez tlenki żelaza w glebach jest szeroko opisywany w literaturze m.in. przez Livesey i Huang 1981; Sadiq 1997; Bose i Sharma 2002; García-Sánchez i in. 2002, Matera i in. 2003; Sherman i Randal 2003; Seidel i in. 2005.

W doświadczeniu 1 nie testowano wpływu obornika, cytrynianu dwuamonowego oraz świeżych osadów ściekowych na ekstrahowalność arsenu, dlatego wnioski dotyczące wpływu tych dodatków na rozpuszczalność As w glebach oparte zostały na wynikach doświadczenia 2. W przypadku gleb złotostockich (ZS) wykazano mobilizujący wpływ osadów ściekowych na rozpuszczalność As. Natomiast w większości wariantów gleb sztucznie zanieczyszczonych AsIII i AsV jedynie dodatek obornika wpływał na uruchomienie arsenu. Jak pokazują badania innych autorów, wprowadzona do gleby materia organiczna może konkurować z arsenem o miejsce w procesie sorpcji na tlenkach żelaza (Redman i in. 2002). W opisywanym już wyżej doświadczeniu Cao i in. (2003) dodatek kompostu z odpadów i ustabilizowanych osadów ściekowych miał największy wpływ na uruchamianie arsenu z gleb (Cao i in. 2003). Doświadczenia Grafe i in. (2001 i 2002) na getycie i ferryhydrylicie pokazują, jak substancje organiczne oddziałują na sorpcję arsenu w różnych przedziałach pH. Kwasy huminowe pochodzące z torfu i kwasy fulwowe powodowały zmniejszanie adsorpcji arsenu na getycie, a kwas cytrynowy nie

niał żadnego wpływu. Natomiast dodanie kwasu cytrynowego do ferryhydrytu spowodowało zmniejszenie sorpcji AsV, a adsorpcja AsIII była mniejsza przy wykorzystaniu i kwasu cytrynowego i kwasów fulwowych. Również doświadczenie Hartleya i in. (2010) wskazuje na mobilizujące działanie materii organicznej wobec As. Autorzy tłumaczyli ten efekt wzrostem zawartości w glebie dostępnego fosforu w wyniku zastosowania materii organicznej, który z kolei w połączeniu ze wzrostem zawartości niskocząsteczkowej substancji organicznej, zwiększył mobilność As. Doświadczenia Wang i Mulligan (2009) wskazują na mobilizujące działanie kwasów huminowych i uwalnianie arsenu z odpadów pochodzących z wydobycia Zn i Pb, zawierających ponad 2180 mg As kg⁻¹. Po wprowadzeniu 0,1% kwasów huminowych (pH 11), nastąpił wzrost rozpuszczalności arsenu i metali ciężkich co autorzy tłumaczyli powstawaniem wodnych kompleksów żelazo-humian i ograniczeniem sorpcji pierwiastków, poprzez zahamowanie procesu tworzenia wodorotlenków żelaza (Wang i Mulligan 2009).

W doświadczeniu 1 zmienne warunki wilgotnościowe miały wyraźny wpływ na zwiększenie rozpuszczalności As, natomiast w doświadczeniu 2, nie wystąpił taki efekt, a wręcz przeciwnie, w niektórych wariantach to warunki stałego uwilgotnienia powodowały zwiększone uwalnianie arsenu do roztworu. Prawdopodobna przyczyna tak odmiennych wyników w obu inkubacjach może tkwić w kilku, równolegle toczących się procesach. Z jednej strony, być może w glebach utrzymywanych w warunkach zmiennego uwilgotnienia wystąpił silniejszy efekt starzenia się gleb, ze względu na różnicę w czasie prowadzenia doświadczeń – 1, przez okres 3 miesięcy, 2 – przez okres 7 miesięcy. Wyniki uzyskane przez Fendorf i in. (2004), Tanga i in. (2007), Juhasz i in. (2008) i Quazi (2010) wskazują na zmniejszanie się rozpuszczalności arsenu wraz z upływem czasu. Z drugiej zaś strony, być może okresy między zalewaniem gleb a ich przesuszaniem były zbyt długie, co nie pozwoliło na wytworzenie się specyficznych warunków wpływających na zwiększenie mobilności arsenu. Natomiast wzrost rozpuszczalności As w wariancie o stałym uwilgotnieniu w doświadczeniu inkubacyjnym 2 mógł być związany z rozwinięciem się warunków redukcyjnych. Ponieważ potencjał elektrochemiczny nie był mierzony w żadnym z doświadczeń, powyższa próba wyjaśnienia odmiennych rezultatów uzyskanych w doświadczeniu inkubacyjnym 1 i 2 jest oparta tylko na podstawie doniesień literaturowych szerzej przedstawionych w rozdziale 2.4.. W wielu doświadczeniach, prowadzonych przez różnych autorów w różnych warunkach natlenienia, rozpuszczalność arsenu rosła wraz z pogłębianiem anaerobiozy i powstaniem warunków redukcyjnych (McBride 1994; Sadiq 1997; Ascar i in. 2008; Karczewska 2008). Natomiast w warunkach

natlenienia gleby, mobilność arsenu malała (Quazi i in. 2010; Frohne i in. 2011). Podobne warunki do tych panujących w doświadczeniach inkubacyjnych występują naturalnie w uprawie ryżu. Okres nawadniania, w trakcie trwania pory suszy powoduje, iż arsen znajdujący się w wodzie wykorzystywanej do irygacji pól, odkładany jest wierzchnich warstwach gleby. Łatwiej pobierany jest także przez ryż, ponieważ panujące warunki redukcyjne wpływają na zwiększoną rozpuszczalność arsenu. W czasie pory monsunowej, zakumulowany arsen zostaje w pewnym stopniu wymyty z gleb przez zwiększone opady, w związku z czym następuje zmniejszenie jego koncentracji. Jest to szczególnie istotne z punktu uprawy ryżu, które w wyniku toksycznego oddziaływania arsenu wykazują anomalia w morfologii i fizjologii. Jednak najważniejszym problemem jest pobranie arsenu i jego akumulacja w roślinach, co ma znaczenia zwłaszcza dla ludności zamieszkującej tereny Azji Południowej, gdzie ryż stanowi podstawę żywienia (Marin i in. 1993; Rahman i in. 2008; Dittmar i in. 2010; Stroud i in. 2011).

W obu doświadczeniach inkubacyjnych potwierdzono zwiększone uwalnianie arsenu z gleby G, charakteryzującej się cięższym składem frakcyjnym, niż z gleby lżejszej L, o przewadze frakcji piasku. Nie jest to zgodne z ogólną wiedzą na temat wpływu podstawowych właściwości gleb na ruchliwość pierwiastków. Podobnych wyników nie przedstawiano w żadnych dostępnych doniesieniach literaturowych. Oczekiwano, że w glebie lżejszej L, charakteryzującej się niższą pojemnością kompleksyjnego, niższą zawartością węgla organicznego i niższym pH, rozpuszczalność arsenu będzie większa niż w glebie G o cięższym składzie granulometrycznym, większej pojemności sorpcyjnej, większym procentowym udziale węgla organicznego i wyższym pH (tab. 9). Uzyskany wynik był jednak odwrotny - w obu seriach inkubacji. Efekt taki można prawdopodobnie tłumaczyć lokalnymi spadkami potencjału redox i powstaniem warunków anaerobiozy, sprzyjających redukcji tlenków żelaza i uwalnianiu As, co szerzej opisano w rozdziale 2.4.. Mogło to w konsekwencji doprowadzić do wzrostu mobilności arsenu. W glebie P, zwięźlejszej, o znacznej zawartości frakcji iłu (20%), panują sprzyjające warunki do tworzenia się takich lokalnych ośrodków spadku potencjału redox. W glebie o dużej zawartości frakcji piasku, ze względu na dużą przewiewność, taka sytuacja prawdopodobnie nie zaistniała. Ponieważ nie wykonywano pomiarów potencjału redox, opisane wyżej wyjaśnienie wyższej podatności arsenu na ekstrakcję arsenu z gleby G w porównaniu z glebą L, jest tylko hipotezą, która wymagałaby potwierdzenia w bardziej szczegółowych badaniach.

6. Wyniki doświadczeń wazonowych

Doświadczenia wazonowe miały na celu ocenę wpływu zastosowanych dodatków mineralnych i organicznych na rozpuszczalność i fitoprzyswajalność arsenu przez różne gatunki roślin, w perspektywie zastosowania ich do rekultywacji terenów zdegradowanych. W prowadzonych doświadczeniach oceniano wzrost i rozwój roślin oraz pobranie arsenu. Na podstawie uzyskanych wyników określano również współczynnik bioakumulacji WB, który może stanowić jeden z wskaźników decydujących o dalszym sposobie zagospodarowania terenów. W kontekście zaproponowanej fitostabilizacji, należy dobierać rośliny o najniższym współczynniku bioakumulacji.

6.1. Doświadczenie wazonowe I

6.1.1. Zawartość łatwo rozpuszczalnych i specyficznie związanych form As w glebie

Szczegółowe wyniki analiz zawartości w glebach form łatwo rozpuszczalnych As, ekstrahowanych siarczanem amonu, oraz form As specyficznie związanych, ekstrahowanych fosforanem amonu, zamieszczono w tabeli 15 oraz na rys. 16.

W glebie G, b.d., udział form As podatnych na ekstrakcję siarczanem amonu sięgał średnio 15% całkowitej zawartości arsenu, a w glebie L, b.d. – 8,8%. Dodatek fosforu do gleb spowodował wzrost zawartości rozpuszczalnych form arsenu, natomiast wprowadzenie żelaza - jej zmniejszenie. Maksymalną wartość, wynoszącą 96,1 mg As kg⁻¹ (19% całkowitej zawartości As w glebie) uzyskano dla wariantu G-AsIII-P. Natomiast najniższą, równą 2 mg As kg⁻¹ (0,4% całkowitej zawartości) - dla L-AsV-Fe. Ekstrakcja form arsenu specyficznie związanych z gleb bez dodatków wskazuje, iż blisko 60% całkowitej zawartości As jest potencjalnie dostępna dla roślin w glebie G, przy czym maksymalną wartość, równą 224 mg kg⁻¹, uzyskano dla wariantu G-AsIII. W glebie L zawartość specyficznie związanych form As sięgała 38% zawartości całkowitej, co odpowiadało 140 mg kg⁻¹ w glebie L-AsV. W obu opisywanych przypadkach maksymalne ilości form ekstrahowanych fosforanem amonu stwierdzono w glebach, na których uprawiano kłosówkę wełnistą. Analizując wyniki obu ekstrakcji, zarówno siarczanem amonu, jak i fosforanem amonu (rys.16), zaobserwowano, iż arsen był łatwiej uruchamiany z gleby G, niż z gleby L. Podobne wyniki uzyskano w doświadczeniach inkubacyjnych, o których pisano w poprzednim rozdziale.

Wyniki ekstrakcji form łatwo rozpuszczalnych As z gleb L i G pobranych po zakończeniu doświadczenia wazonowego I wskazują na immobilizujący efekt żelaza, co zostało potwierdzone statystycznie, na poziomie istotności $p=95\%$ (rys. 16). W porównaniu do wariantu bez dodatku, następowało ograniczenie ilości arsenu łatwo rozpuszczalnego nawet o 99%, przy czym efekt ten był znacznie silniejszy w przypadku gleb zanieczyszczonych związkami arsenu pięciwartościowego AsV niż w przypadku zastosowania AsIII. W glebie G dodatek żelaza zmniejszył ilość specyficznie związanego As. Natomiast w glebie L, za wyjątkiem wariantu L-AsV z doświadczenia z rzepakiem, z próbek z dodatkiem Fe wyekstrahowano wyższe ilości specyficznie związanego As, w porównaniu do gleb bez dodatku. Największą różnicę stwierdzono w glebie L-AsIII z doświadczenia z kłosówką wełnistą, gdzie pod wpływem dodatku Fe nastąpił wzrost ilości As ekstrahowanego fosforanem amonu o 29%. Jednak różnice w udziale form specyficznie związanych w różnych wariantach doświadczeń z glebą L nie były istotne statystycznie.

Dodatek fosforu do gleb L i G powodował wzrost mobilności arsenu, odzwierciedlony wzrostem udziału jego form łatwo rozpuszczalnych o $1,8 \text{ mg kg}^{-1}$ - 15 mg kg^{-1} (średnio dla każdej z gleb), z maksymalną różnicą wynoszącą $43,3 \text{ mg kg}^{-1}$ w wariantcie G-AsIII, co w stosunku do wariantów bez dodatku oznaczało wzrost średnio o 5-29% (maksymalnie, dla pojedynczych powtórzeń - do 45%). Natomiast ekstrakcja form specyficznie związanych wskazuje, że po wprowadzeniu fosforu zmniejszyła się ilość uwalnianego As. Statystycznie jednak zostało to potwierdzone tylko dla gleby L, zanieczyszczonej AsV, zarówno w próbkach spod rzepaku, jak i spod kłosówki wełnistej. W tych wariantach stwierdzono maksymalny spadek ilości specyficznie związanego arsenu pod wpływem dodatku P - odpowiednio o 36% i 47% w stosunku do wariantów bez dodatku.

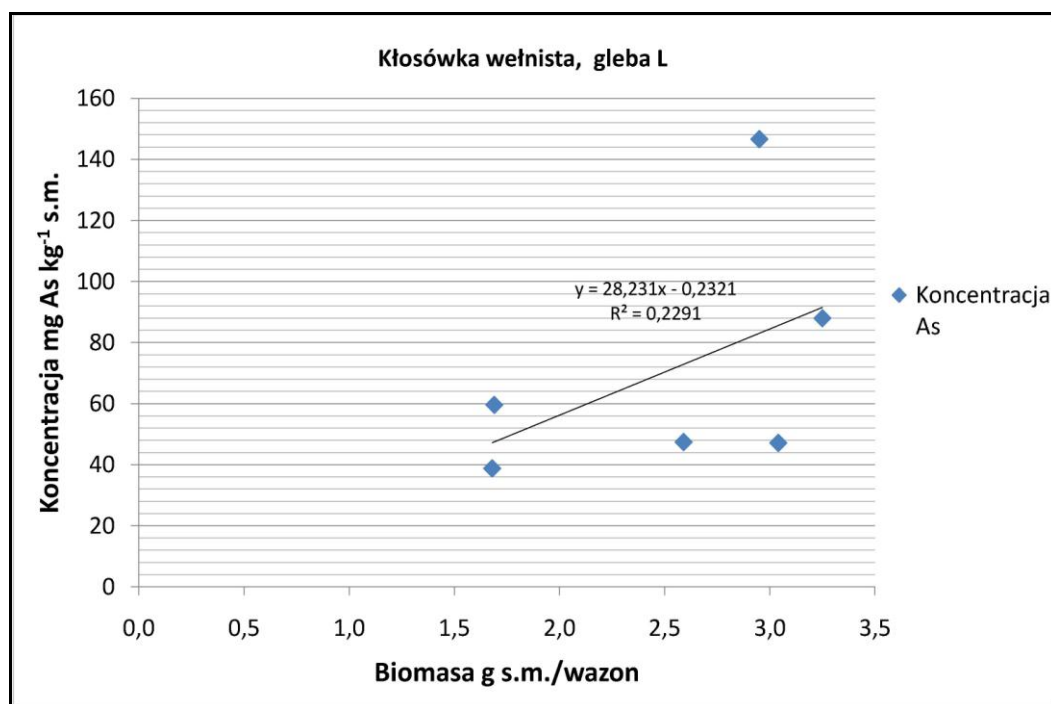
Na podstawie analizy odczynu gleb, wykonanej wybiórczo dla wariantów z dodatkiem żelaza, przeprowadzono korygujące wapnowanie, a kontrola odczynu przed kolejnym sezonem wegetacyjnym potwierdziła wzrost pH do odczynu lekko kwaśnego i obojętnego.

6.1.2. Wyniki analizy materiału roślinnego

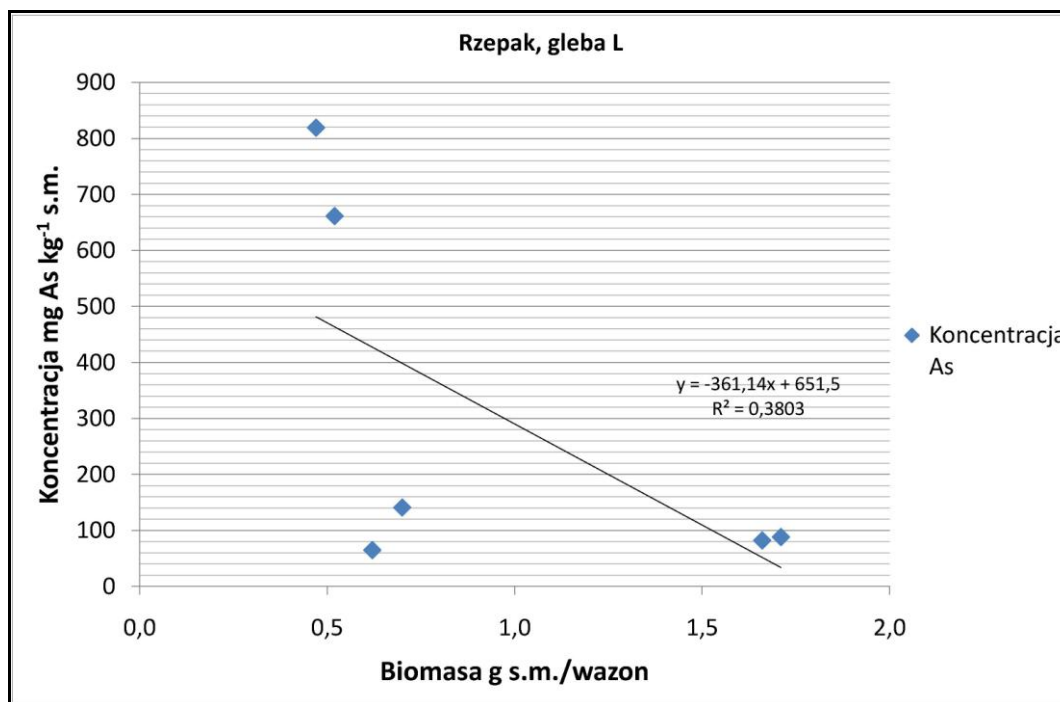
Materiał roślinny w doświadczeniu wazonowym I pozyskano tylko z wariantów bez dodatków oraz z dodatkiem fosforu. W wariantach z dodatkiem Fe rośliny nie wykiełkowały. Kontrolny pomiar pH wykazał, że w glebach tych panował odczyn kwaśny, w związku z czym gleby zwapnowano. Oczekiwano, iż zmiana pH na wyższe pozwoli na wzrost roślin. Pomimo redukcji zakwaszenia, ponowny wysiew roślin nie przyniósł skutku.

Nie uzyskano także materiału roślinnego z olszy czarnej. Mimo systematycznego podlewania, sadzonki drzew obumarły. Prawdopodobnie był to efekt reakcji stresowej roślin na zmianę otoczenia, połączoną z toksycznym oddziaływaniem wysokiej koncentracji arsenu, który zaburzył procesy fizjologiczne, prowadząc do zamierania roślin. Zawartość arsenu w częściach nadziemnych roślin, które nie obumarły, ich biomasę, współczynnik bioakumulacji oraz wielkość pobrania As przedstawiono w tabeli 16.

Wzrost i rozwój roślin był zróżnicowany, nawet między powtórzeniami. Tylko w nielicznych wariantach obserwowano niewielkie objawy chlorozy. Dodatek fosforu spowodował pogorszenie kondycji rzepaku, co zobrazowano na zdjęciach 10-15. Obliczona zależność między zawartością As w glebie z dodatkiem P, a biomasą rzepaku przedstawiona na rys. 13 wskazuje, że wzrost koncentracji arsenu powodował zmniejszenie biomasy. Potwierdzają to także wyniki pomiaru suchej masy roślin, która była wyższa w wariantach bez dodatku niż z dodatkiem P. Jednak bez względu na wariant doświadczenia, zaobserwowano efekt fitotoksycznego oddziaływania arsenu na rzepak (zdj. 16 i 17). Wyniki odmienne uzyskano dla kłosówki wełnistej. Dodatek fosforu pozytywnie wpłynął na wzrost roślin tego gatunku. Potwierdzają to wyniki uzyskanej biomasy, dokumentacja fotograficzna (zdj. 18 - 23) oraz obliczony współczynnik korelacji Pearsona (rys. 12)



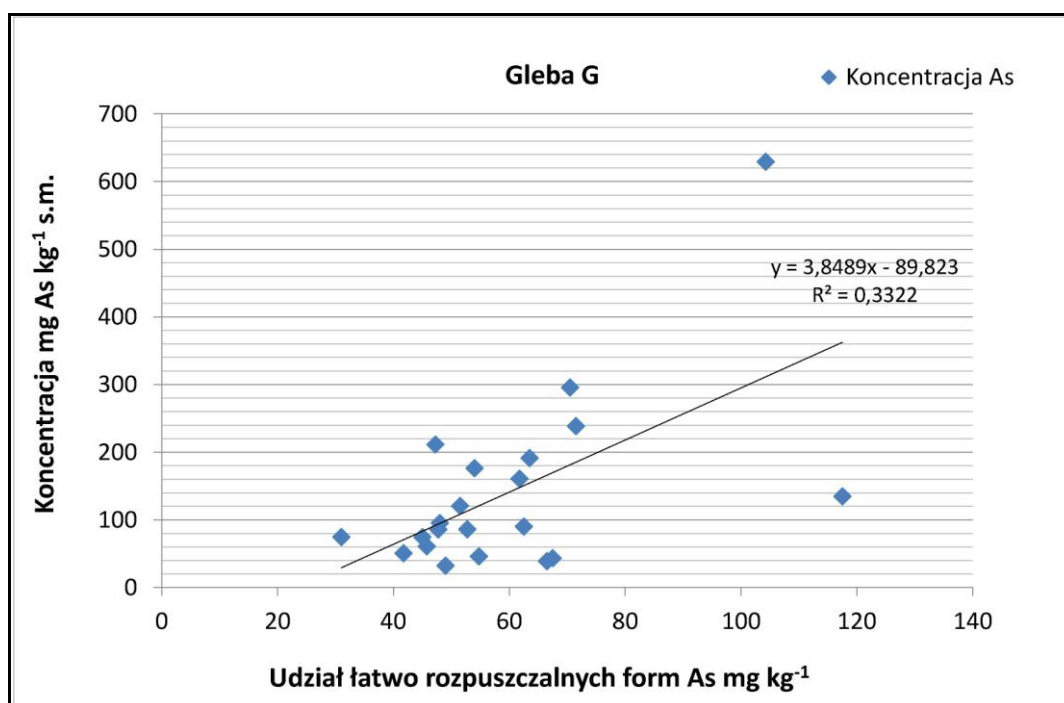
Rysunek 12. Zależność między koncentracją As w kłosówce wełnistej z doświadczenia I na glebie L, As III i L, AsV z dodatkiem P a biomasą nadziemnych części roślin



Rysunek 13. Zależność między koncentracją As w rzepaku z doświadczenia I na glebie L, As III i L, AsV z dodatkiem P a biomasa nadziemnych części roślin

Koncentracja arsenu w nadziemnych częściach roślin była zróżnicowana, jednak w większości wariantów dodatek fosforu spowodował wzrost zawartości As w częściach nadziemnych roślin (rys.17). Ze względu na duże zróżnicowanie między powtórzeniami w obrębie tego samego wariantu, w doświadczeniu uzyskano duże wartości odchylenia standardowego SD (a tym samym - przedziałów ufności). Dlatego tylko dla rzepaku rosnącego na glebach G, AsIII i L, AsV uzyskano potwierdzenie statystyczne istotności różnic między wariantami bez dodatku i z dodatkiem fosforu, na poziomie istotności $\alpha=0,05$. Wzrost zawartości arsenu o 17- 65% w roślinach z wariantów z dodatkiem P w porównaniu do wariantów bez dodatków stwierdzono jedynie w dwóch przypadkach: L, AsIII - dla rzepaku oraz G, AsIII - dla kłosówki wełnistej. Należy podkreślić, że w obu tych przypadkach koncentracja arsenu w materiale roślinnym była niezwykle wysoka i przekraczała $600 \text{ mg As kg}^{-1} \text{ s.m.}$, co odpowiadało nawet 8-krotnemu wzrostowi koncentracji arsenu w roślinach w porównaniu do wariantów bez dodatku P. W przypadku kłosówki możemy też mówić o bardzo dużym pobraniu (wynosie) As z gleby, przekraczającym $812 \text{ } \mu\text{g As/wazon}$. Taką samą reakcję kłosówki wełnistej na skrajnie wysokie stężenie As w roztworze glebowym, polegającą na bardzo intensywnym pobieraniu As przez rośliny, opisywali Quaghebeur i Rengel (2003). W ich doświadczeniu klony kłosówki wełnistej nie posiadające zwiększonej tolerancji na wysoką koncentrację As w glebach, zawierały w częściach nadziemnych znacznie więcej arsenu, nawet do

ponad 1600 mg kg^{-1} (Quaghebeur i Rengel 2003). Rośliny, aby chronić się przed toksycznym oddziaływaniem arsenu, wytwarzają fitochelatyny, które tworząc kompleksy z arsenem, obniżają jego toksyczność (Hartley-Whitaker i in. 2001). Być może przyczyną niekontrolowanego pobierania As przez kłosówkę w opisywanych wyżej wariantach było swoiste „przełamanie” tych barier obronnych roślin. W częściach nadziemnych kłosówki wełnistej zebranej z gleby G zanieczyszczonej AsV stwierdzono wyższe stężenie arsenu w wariantcie b.d., niż z dodatkiem P (choć różnica ta nie była istotna statystycznie). Efekt taki można tłumaczyć „rozcieńczeniem” As w większej biomase. Pod wpływem dodatku fosforu wzrosła koncentracja As dostępnego dla roślin i wzrosło pobranie As, jednocześnie jednak fosfor wpłynął stymulująco na wzrost roślin.



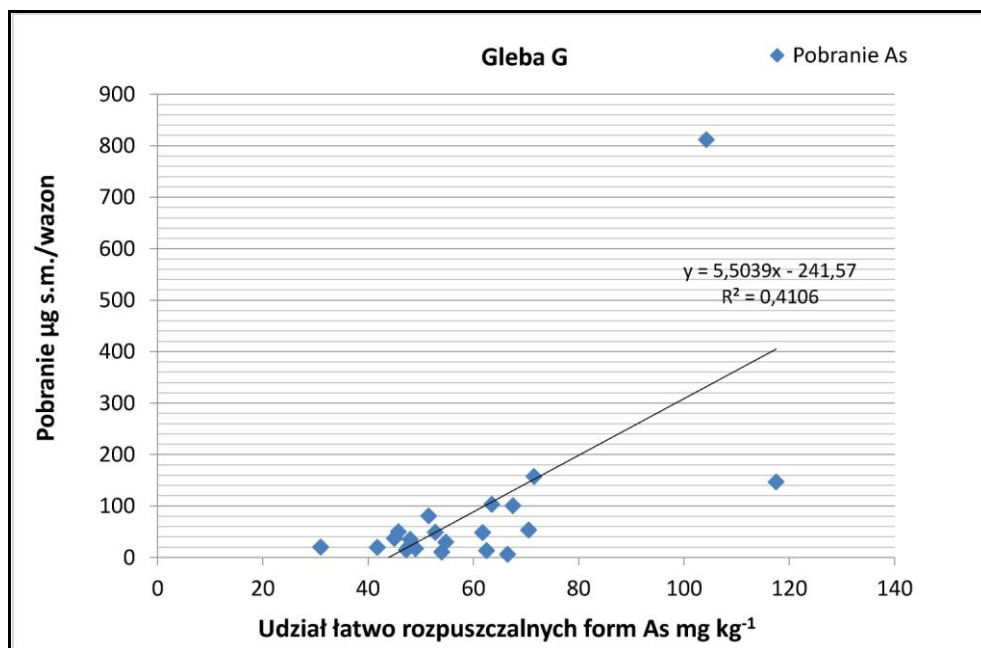
Rysunek 14. Zależność między udziałem łatwo rozpuszczalnych form arsenu w glebie G, w doświadczeniu I, a koncentracją As w nadziemnych częściach roślin

Analizując zawartość arsenu w materiale roślinnym zebranym z gleb nie zawierających dodatków, stwierdzono, że koncentracja arsenu w roślinach uprawianych na glebie G jest wyższa niż w roślinach z gleb L. W biomase rzepaku uprawianego na glebie G zanieczyszczonej AsV i AsIII stwierdzono koncentracje As wynoszące odpowiednio $138,4 \text{ mg As kg}^{-1} \text{ s.m.}$ i $72,1 \text{ mg As kg}^{-1} \text{ s.m.}$, a na glebie L - $27,3 \text{ mg As kg}^{-1} \text{ s.m.}$ AsV i $64,4 \text{ mg As kg}^{-1} \text{ s.m.}$ AsIII. W dalszej części pracy, dla uproszczenia, dane dotyczące materiału roślinnego będą podawane w jednostce mg kg^{-1} , która zawsze odniesiona jest do suchej masy. Natomiast części nadziemne kłosówki wełnistej rosnącej na glebie G

zanieczyszczonych AsV i AsIII zawierały odpowiednio 143,1 mg As kg⁻¹ i 42,3 mg As kg⁻¹, a na glebie L zdecydowanie mniej, bo 39,9 mg As kg⁻¹ (w wariantach As V) oraz 32,5 mg As kg⁻¹ (AsIII). Analiza wyników doświadczenia dla wariantów z dodatkiem fosforu pod kątem zróżnicowania zawartości As w roślinach oraz pobrania arsenu przez rośliny - w zależności od gleby, na której rosły - była utrudniona ze względu na bardzo duży rozrzut wyników między 3 powtórzeniami i fakt, że dominujący wpływ na średnie dla opisywanych wyżej wariantów, miały wyniki z pojedynczych wazonów, w których koncentracje arsenu były niezwykle wysokie i wynosiły 267,8 mg As kg⁻¹ dla kłosówki i 540,6 mg As kg⁻¹ dla rzepaku. Jednak nawet odrzucając te warianty, również otrzymujemy wynik wskazujący na zwiększone pobranie arsenu z gleb G w porównaniu do gleb L. Wyniki uzyskane z analizy roślin zebranych z gleby G są zbieżne z wynikami testów ekstrakcji łatwo rozpuszczalnych form As, które również wykazywały zwiększoną mobilność arsenu w glebach G w porównaniu z L. Zapewne też z tego względu koncentracja As w roślinach pochodzących z wariantów realizowanych na glebie G była wyższa niż na glebie L.

Ekstrakcja form łatwo rozpuszczalnych As wskazywała na zwiększoną rozpuszczalność arsenu w wariantach z dodatkiem fosforu. Obliczony współczynnik korelacji (istotny na poziomie $\alpha=0,05$) wskazuje, że wzrost udziału form łatwo rozpuszczalnych As w glebie G (np. pod wpływem dodatku P) przekładał się na zwiększoną koncentrację As w biomasie roślin uprawianych na tej glebie G ($R=0,576$) (rys 14). Natomiast dla gleby L takiej korelacji nie stwierdzono.

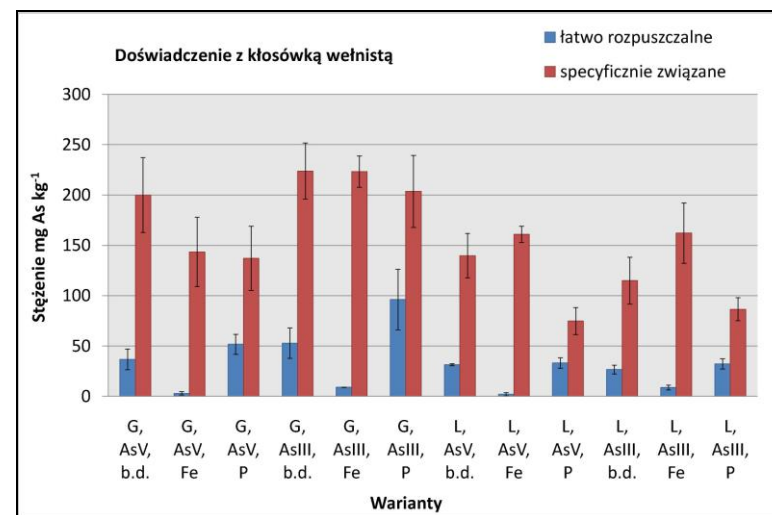
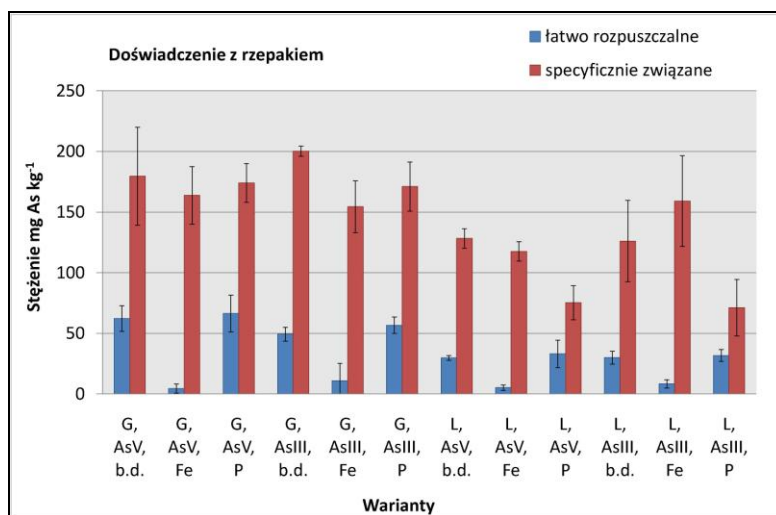
Wykresy obrazujące zależność między udziałem form rozpuszczalnych As w glebie G a koncentracją As w nadziemnych częściach roślin (rys. 14) oraz pobraniem As (rys. 15) wyraźnie pokazują rosnący charakter obu zależności, a jednocześnie ilustrują, że w pojedynczych przypadkach koncentracja As w częściach nadziemnych roślin i wielkość pobrania As znacząco odbiegały od pozostałych wyników, co prawdopodobnie ilustruje fakt przełamania bariery obronnej roślin. Na wykresach przedstawiono obie rośliny, gdyż pobranie przez nie arsenu było podobne w porównywalnych warunkach wzrostu.



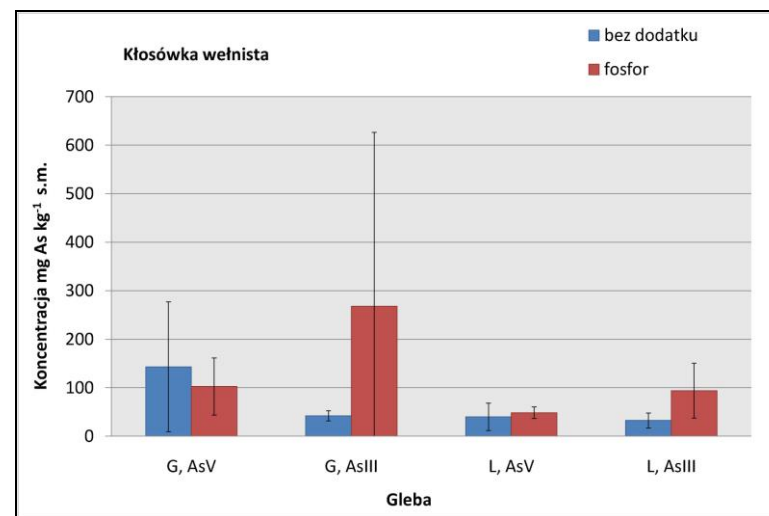
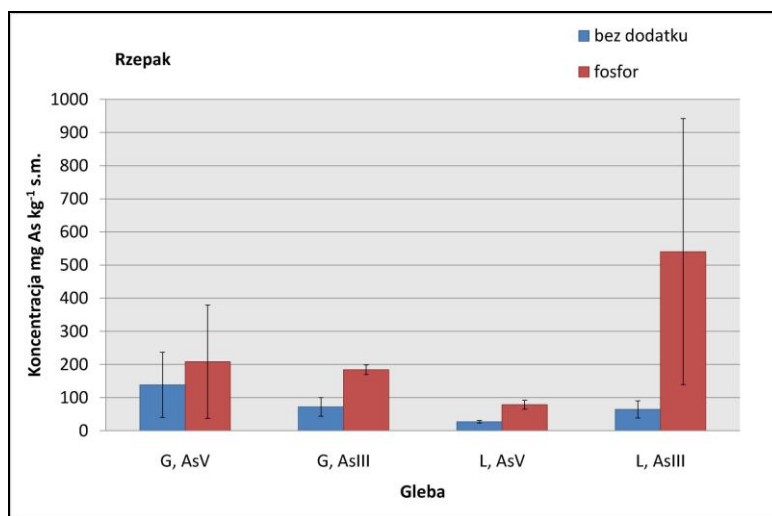
Rysunek 15. Zależność między udziałem łatwo rozpuszczalnych form arsenu w doświadczeniu z glebą G a jego pobraniem przez rośliny

Dla każdego wariantu doświadczenia określono wielkość pobrania As z gleby przez rośliny, w przeliczeniu na wazon. We wszystkich roślinach, za wyjątkiem rzepaku rosnącego na glebie G-AsV, pobranie As było wyższe z gleb z dodatkiem fosforu niż z gleb bez dodatków. Średnie pobranie As z gleby G przez rzepak wahało się w przedziale od 34,2 µg/wazon do 73,4 µg/wazon, a przez kłosówkę wełnistą od 17,5 µg/wazon do 322 µg/wazon. Natomiast z gleby L rzepak pobrał As w ilości od 14 µg/wazon do 276 µg/wazon, a kłosówka wełnista od 22 µg/wazon do 281 µg/wazon. Dla gleby G stwierdzono istnienie dodatniej korelacji ($p=0,01$) między udziałem form łatwo rozpuszczalnego As w glebie a pobraniem As przez rośliny (rys. 15). W przypadku gleby L takiej korelacji nie stwierdzono.

Współczynnik bioakumulacji arsenu dla poszczególnych wariantów, obliczony na podstawie ilorazu średniego stężenia w roślinie i średniego stężenia w glebie, wskazuje na zwiększoną kumulację arsenu w wyniku wprowadzenia fosforu (tab. 16). Na podstawie przedziałów podanych przez Warren i in. (2003), gdzie wartość od 0,001 - 0,01 uważa się za brak bioakumulacji; 0,01-0,1 jako słaby; 0,1-1 jako średni, a najwyższy zawiera się w przedziale od 1 do 10, współczynnik ten jest średni dla obu roślin. W przypadku kłosówki wełnistej rosnącej na glebie G-AsIII, L-AsIII i V bez dodatku wynosił on od 0,07 do 0,09 a rzepaku na glebie L-AsV bez dodatków – 0,06 i określono zdolność do bioakumulacji arsenu jako słabą. W pozostałych wariantach współczynnik bioakumulacji jest średni i wynosi 0,1-1,08, z maksymalną kumulacją w rzepaku rosnącym na glebie L-AsIII, P.



Rysunek 16. Udział łatwo rozpuszczalnych i specyficznie związanych form As w glebach w doświadczeniu wazonowym I



Rysunek 17. Koncentracja arsenu w nadziemnych częściach roślin w zależności od rodzaju gleby oraz dodatku fosforu w doświadczeniu wazonowym I

6.2. Analiza wyników doświadczenia wazonowego II.

6.2.1. Odczyn gleb i wyniki ekstrakcji łatwo rozpuszczalnych form arsenu

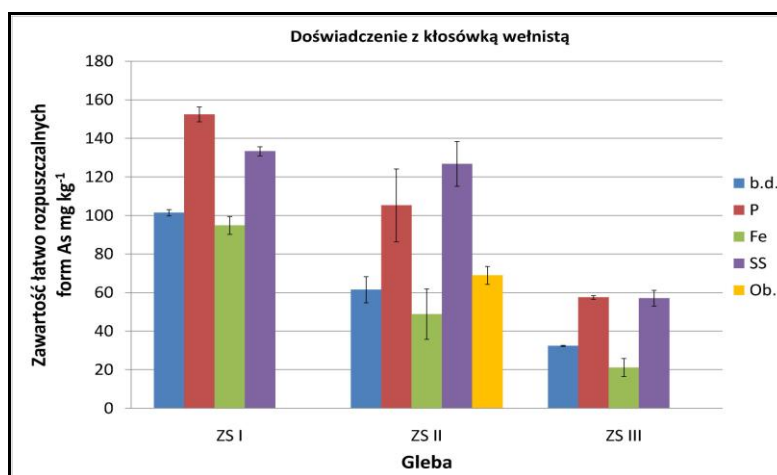
Odczyn gleby ZS I we wszystkich wariantach doświadczenia był lekko kwaśny lub obojętny, odczyn gleb ZS II mieścił się w przedziale od kwaśnego do obojętnego, natomiast odczyn gleb ZS III - był kwaśny lub lekko kwaśny. Szczegółowe wyniki pomiaru pH zamieszczono w tabeli 17. Dodatek osadów ściekowych do gleby ZS I spowodował niewielki spadek pH, w porównaniu do gleby bez dodatku. W pozostałych glebach wystąpiła odwrotna zależność: wprowadzenie SS spowodowało niewielki wzrost pH. We wszystkich glebach – w wariantach z dodatkiem żelaza wartości pH były nieco wyższe, maksymalnie o 1,5 jednostki w glebie G-AsV, niż w pozostałych wariantach, co wynikało z uprzedniego wapnowania gleb.

Analizując wyniki ekstrakcji łatwo rozpuszczalnych form arsenu z gleb pobranych spod różnych gatunków roślin, zaobserwowano zależność pomiędzy rodzajem wprowadzonych do gleby dodatków a ilością uwalnianego As. Dodatek fosforu spowodował wzrost mobilności arsenu we wszystkich glebach, co zostało potwierdzone statystycznie, przy poziomie istotności $p=95\%$ (rys. 18 i 19). Najwyższe zawartości łatwo rozpuszczalnego As w glebach z dodatkiem P otrzymano w glebie ZS I, na której uprawiano kukurydzę, uzyskując 158 mg kg^{-1} , co stanowiło ok. 3% całkowitej zawartości arsenu. Wprowadzenie fosforu do gleby ZS II powodowało wzrost rozpuszczalności arsenu do maksymalnie 138 mg kg^{-1} w wariantcie z rzepakiem, co stanowiło 3,4% całkowitej zawartości As, a w glebie ZS III z rzepakiem maksymalnie wyekstrahowano $63,2 \text{ mg kg}^{-1}$, co odpowiada 1,9% całkowitej zawartości As w glebie.

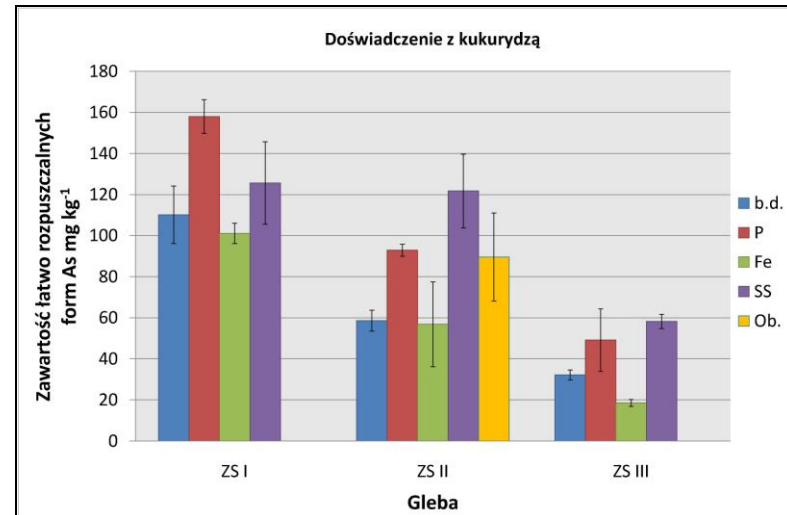
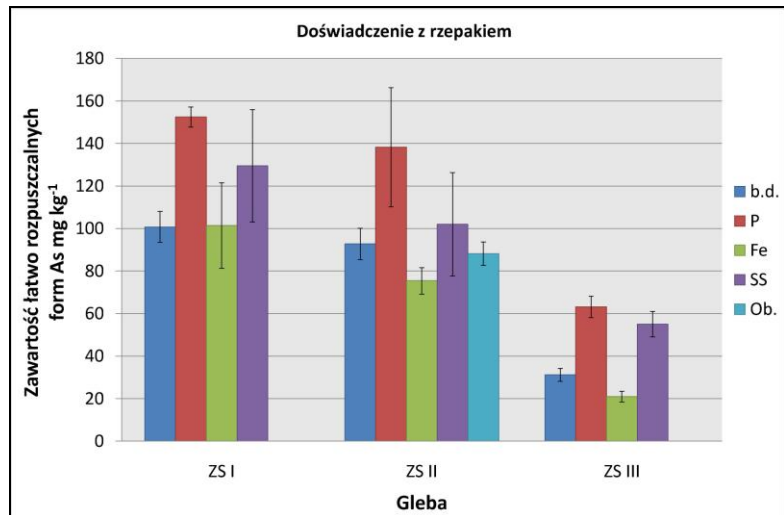
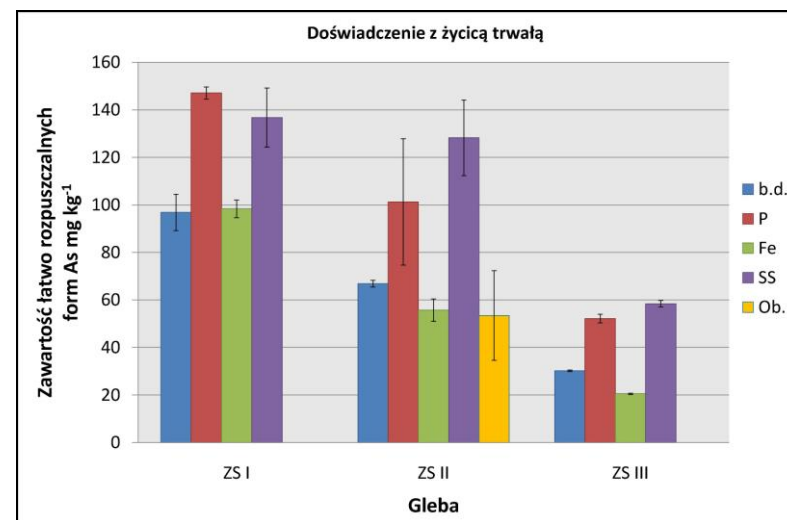
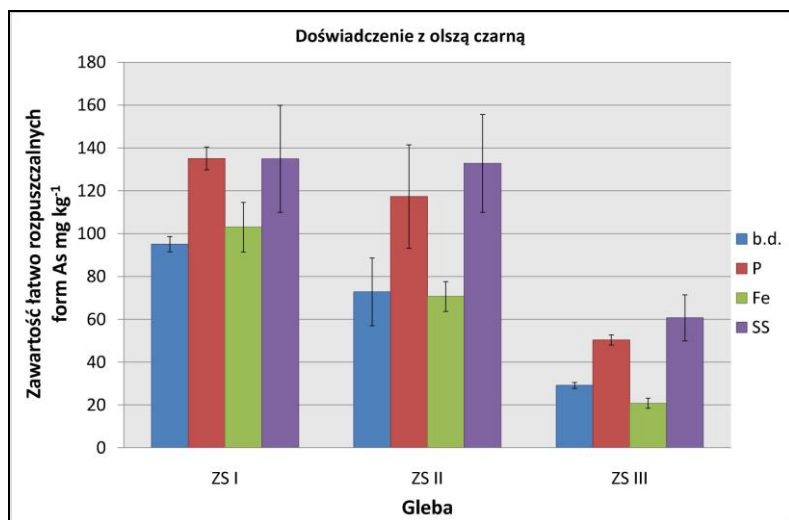
Dodatek osadów ściekowych również wpływał mobilizująco na arsen, zwiększając jego rozpuszczalność we wszystkich glebach, bez względu na uprawianą roślinę. Zostało to potwierdzone statystycznie, przy poziomie istotności $\alpha=0,05$, dla wszystkich wariantów doświadczenia z wyjątkiem wariantu z kukurydzą uprawianą na glebie ZS I i rzepakiem na glebie ZS II. Maksymalną zawartość łatwo rozpuszczalnych form As w glebie ZS I, wynoszącą 144 mg kg^{-1} , to jest 2,7% całkowitej zawartości As, uzyskano w wariantcie z koniczyzną czerwoną. W glebach ZS II i ZS III najwięcej łatwo rozpuszczalnego arsenu stwierdzono w uprawie olszy czarnej – odpowiednio: 133 mg kg^{-1} (3,3% całkowitej zawartości As) i $60,7 \text{ mg kg}^{-1}$ (1,8%).

Zastosowanie żelaza przyniosło oczekiwany skutek, powodując zmniejszenie ilości łatwo rozpuszczalnego arsenu w porównaniu do wariantów bez dodatku. Imobilizujący wpływ żelaza wobec arsenu uzyskano w większości wariantów, jednak tylko dla części wyników zależność ta była istotna statystycznie ($p=95\%$). Statystyczne potwierdzenie wpływu dodatku Fe na zmniejszenie rozpuszczalności As uzyskano w wariantach z kłóśką wełnistą uprawianą na glebie ZS I i ZS III, życicą trwałą na glebach (ZS II i III), kukurydzą – ZS III, rzepakiem - (ZS II i III), olszą czarną - ZS III i koniczyną czerwoną - ZS II. W dwóch przypadkach udział łatwo rozpuszczalnych form As w glebach z dodatkiem żelaza był wyższy (jednak statystycznie nieistotnie) w porównaniu do gleb bez dodatku; dotyczyło to gleby ZS I z życicą trwałą i olszą. Najlepszy efekt ograniczenia rozpuszczalności As w wyniku wprowadzenia żelaza uzyskano w glebie ZS III, na której rosła kukurydza, uzyskując redukcję zawartości łatwo ekstrahowalnego arsenu w glebie o 42% w stosunku do wariantu bez dodatku. W wariantach: ZS II-koniczyna oraz ZS III-kłóśka wełnista, życica trwała, rzepak i olsza otrzymano po zastosowaniu żelaza redukcję rozpuszczalności As rzędu 30-35%. Przytoczone tu różnice są istotnie statystycznie.

Obornik zastosowany został tylko na glebie ZS II. Uzyskane wyniki ilustrujące wpływ obornika na rozpuszczalność i fitoprzyswajalność As w tej glebie są bardzo zróżnicowane i niejednoznaczne. W wariantach z kłóśką wełnistą i kukurydzą stwierdzono zwiększoną podatność na mobilizację arsenu pod wpływem obornika, a udział łatwo rozpuszczalnych form As wzrósł o odpowiednio 11% i 35%. Tylko w wariantcie z kukurydzą zależność ta była istotna statystycznie. Natomiast w wariantach z życicą trwałą, koniczyną czerwoną i rzepakiem stwierdzono nieistotnie statystycznie ograniczenie udziału mobilnych form As w glebie - odpowiednio o 20%, 11% i 5%.



Rysunek 18. Udział łatwo rozpuszczalnych form arsenu w glebach pobranych spod kłóśki wełnistej w zależności od zastosowanego dodatku – w doświadczeniu wazonowym II

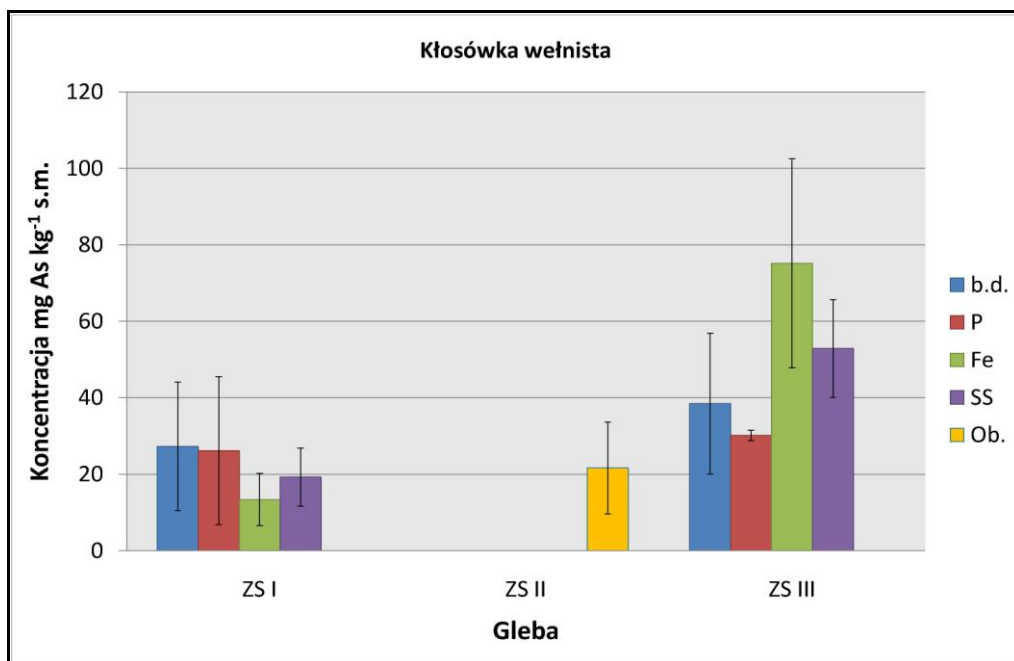


Rysunek 19. Udział łatwo rozpuszczalnych form arsenu w zależności od zastosowanego dodatku i gatunku rośliny uprawianej na glebach – w doświadczeniu wazonowym II

6.2.2. Analiza materiału roślinnego

Wzrost roślin w doświadczeniu wazonowym II, realizowanym na glebach ZS, był zróżnicowany (zdj. 24 - 33) i w niektórych wariantach nie udało się pozyskać biomasy do dalszych badań. Początkowo, tuż po wykiełkowaniu roślin, ich części nadziemne były zielone i nie wykazywały cech patologicznych. Jednak wraz z upływem czasu nastąpiło zahamowanie wzrostu, brunatnienie oraz w efekcie końcowym zamieranie części roślin. W niektórych wariantach, np. z życicą trwałą, czy koniczyną czerwoną, nie zaobserwowano nawet kiełkowania roślin. Również część sadzonek olszy czarnej obumarła, zwłaszcza rosnących na glebie ZS I i ZS II. Opisane objawy roślin są charakterystyczne przy toksycznym oddziaływaniu arsenu. Dla niektórych wariantów nie udało się uzyskać wystarczającej ilości materiału roślinnego z 3 powtórzeń, w związku z tym nie było możliwości wykonania obliczeń statystycznych. Z tego też względu wyciąganie ogólnych wniosków było utrudnione. Szczegółowe dane dotyczące koncentracji arsenu w nadziemnych częściach roślin, ich biomasy, pobrania As oraz wartości obliczonego współczynnika bioakumulacji zamieszczono w tabeli 18.

Kłosówka wełnista na glebie ZS I rosła we wszystkich wariantach, przy czym najwyższą biomasę, równą 1,6 g/wazon, uzyskano z gleb nawożonych osadami ściekowymi. W wariantach tych koncentracja As w nadziemnych częściach kłosówki średnio wynosiła $19,3 \text{ mg kg}^{-1}$ i była niższa niż w wariantcie bez dodatku. Najniższą koncentrację arsenu w kłosówce, wynoszącą $13,4 \text{ mg As kg}^{-1}$, stwierdzono w wariantach z dodatkiem żelaza. Dodatek fosforu istotnie wpłynął na wzrost koncentracji arsenu w biomasie (do wartości $26,2 \text{ mg kg}^{-1}$). Wzrost kłosówki wełnistej na glebie ZS II był bardzo słaby, dlatego też materiał roślinny zebrano tylko z gleb z osadami ściekowymi (z jednego powtórzenia) i obornikiem (z trzech powtórzeń). Większą biomasę oraz koncentrację As uzyskano z wazonu z osadami ściekowymi - 2,6 g/wazon, niż z obornikiem - 0,6 g/wazon, a odpowiednie zawartości As w biomasie roślin wynosiły $84,3 \text{ mg kg}^{-1}$ oraz $21,6 \text{ mg kg}^{-1}$ (średnia z 3 wazonów). W rozdziale 4. przedstawiono wyniki szczegółowych analiz osadów ściekowych i obornika. Zawartość składników pokarmowych była znacznie wyższa w oborniku niż w osadach ściekowych, jednak osady ściekowe zawierały znacznie więcej azotu, co mogło być przyczyną lepszego wzrostu roślin w glebach z dodatkiem SS.



Rysunek 20. Zawartość arsenu w kłosówce wełnistej w wybranych wariantach doświadczenia wazonowego II

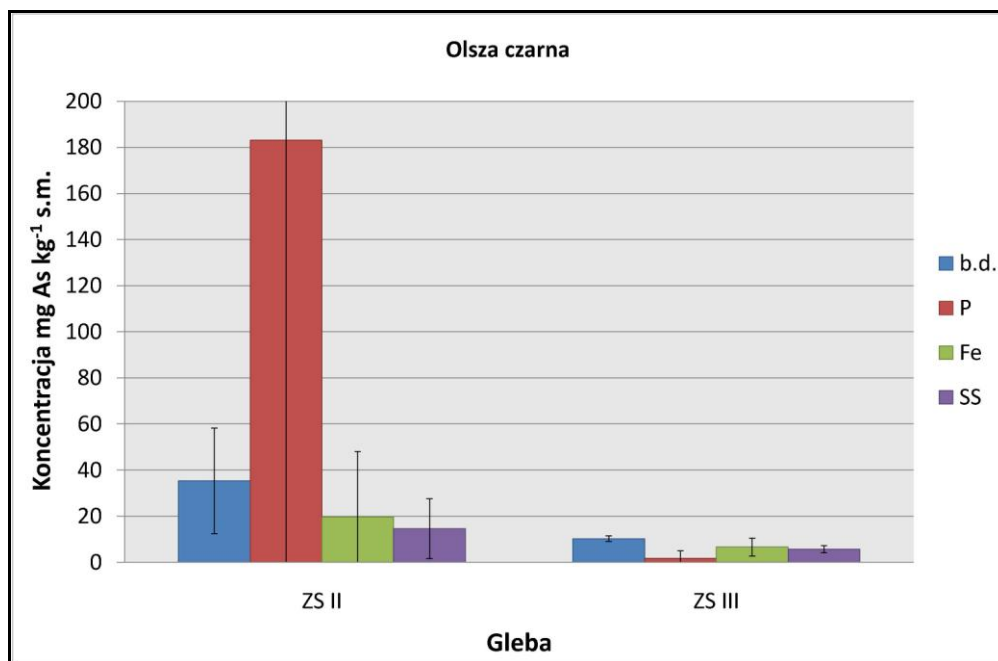
Kondycja kłosówki rosnącej na glebie ZS III była lepsza niż rosnącej na glebie ZS II, dlatego też pozyskano materiał roślinny ze wszystkich wariantów. Najwyższą biomasa nadziemnych części roślin (średnio 1,7 g/wazon) uzyskano w wariacie z dodatkiem P natomiast najniższą - w wariacie z dodatkiem żelaza - 0,3 g/wazon. Najwyższą zawartością As, wynoszącą 75,2 mg kg⁻¹, charakteryzowała się kłosówka z gleby z dodatkiem Fe, a najniższą - 30,2 mg kg⁻¹ - z gleby z dodatkiem P (rys.20).

Wzrost życicy trwałej był lepszy na glebie ZS I niż na pozostałych glebach, jednak z gleb z dodatkiem fosforu nie udało się uzyskać biomasy potrzebnej do dalszych analiz. Najwyższe stężenie As w częściach nadziemnych życicy, wynoszące średnio 75,3 mg kg⁻¹, uzyskano w wariacie bez dodatku, natomiast niższe - w wariantach z dodatkiem Fe i SS, odpowiednio 39,3 mg kg⁻¹ i 30,9 mg kg⁻¹. Największą masę części nadziemnych zebrano z wariantu z SS - 1,2 g/wazon. Natomiast z gleby ZS II zebrano jedynie rośliny rosnące w pojedynczych wazonach – w wariantach z P, Fe i SS. Najwyższą biomasa - 0,45 g/wazon i zarazem najwyższą koncentrację arsenu w życicy rosnącej na glebie ZS II, równą 25,8 mg kg⁻¹, uzyskano w wariacie z osadami ściekowymi SS. Najniższą koncentrację As w życicy, wynoszącą zaledwie 7,3 mg kg⁻¹, zaobserwowano w glebie ZS II z dodatkiem fosforu. Życica trwała uprawiana na glebie ZS III rosła bardzo słabo, z tego względu pozyskano materiał roślinny tylko z gleb z dodatkiem osadów ściekowych. Koncentracja arsenu w pobranym materiale roślinnym wynosiła tu 27,5 mg kg⁻¹.

Koniczynę czerwoną posiano tylko na glebach ZS I i ZS II, jednak jej bardzo słaby wzrost pozwolił na zebranie jedynie roślin rosnących na glebie ZS I bez dodatku oraz z dodatkiem Fe i SS. Największe stężenie arsenu w biomacie koniczyny cz. wynosiło 104,6 mg kg⁻¹ i stwierdzono je w wariancie z osadami ściekowymi, natomiast najniższe - w wariancie bez dodatku - 73,9 mg kg⁻¹.

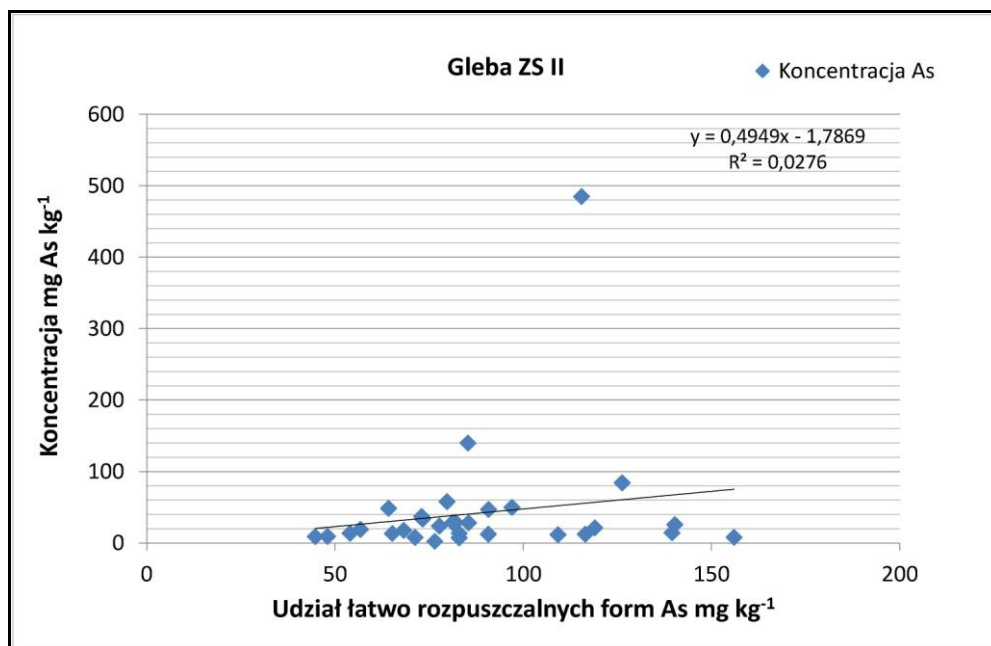
Kukurydza najlepiej rosła na glebach z dodatkiem żelaza i osadów ściekowych i w tych wariantach otrzymano największą masę części nadziemnych. Maksymalnie uzyskano 1,82 g/wazon z gleby ZS I z dodatkiem żelaza oraz 1,1 g/wazon z gleby ZS I i ZS III z osadami ściekowymi. Pobranie arsenu z gleby ZS I uzależnione było od zastosowanego dodatku. Koncentracja As w biomacie kukurydzy w wariancie z dodatkiem fosforu wynosiła 256 mg kg⁻¹, przy czym wartość ta uzyskana została w oparciu o tylko jedno powtórzenie. Kukurydza w wariancie z osadami ściekowymi zawierała As w ilości 44,6 mg kg⁻¹. Najniższe stężenie As w kukurydzy, wynoszące 2,3 mg kg⁻¹, uzyskano w wariancie z dodatkiem Fe. Podobne zależności uzyskano w glebie ZS II z maksymalną koncentracją 47 mg kg⁻¹ w wariancie z P (1 powtórzenie) i 32,7 mg kg⁻¹ po zastosowaniu obornika. W kukurydzy rosnącej na ZS III maksymalną koncentrację As, wynoszącą 30 mg kg⁻¹, uzyskano w jednym z powtórzeń wariantu z SS. Znaczną zawartość As w biomacie kukurydzy (22,5 mg kg⁻¹) stwierdzono też w wariancie z dodatkiem P. Dodatek żelaza ograniczył pobranie arsenu przez kukurydzę do wartości tak niskich, że w dwóch powtórzeniach uzyskano stężenia As w biomacie poniżej progu detekcji zastosowanej metody ICP-AES.

Najlepszy wzrost rzepaku uzyskano na glebie ZS III. Z gleby ZS I otrzymano materiał roślinny tylko z wariantu z osadami ściekowymi i z jednego wazonu z dodatkiem P. Średnie stężenie As w roślinach wynosiło w wymienionych wariantach odpowiednio 130 mg kg⁻¹ i 33,3 mg kg⁻¹. W przypadku gleby ZS II wprowadzenie osadów ściekowych wpłynęło korzystnie na wzrost roślin, co spowodowało, że możliwe było zebranie rzepaku z jednego wazonu. Stężenie As w biomacie tego rzepaku wynosiło 140 mg As kg⁻¹. Z pozostałych wazonów nie udało się pozyskać wystarczającej ilości materiału potrzebnego do analiz. Na glebie ZS III bez dodatków rzepak nie urósł. Na wzrost roślin najlepiej wpływał dodatek SS, a koncentracja arsenu w biomacie roślin była w wariancie z SS najniższa w porównaniu do pozostałych dodatków. Natomiast najwyższą zawartość As, równą 44,9 mg kg⁻¹, stwierdzono w glebie z dodatkiem P.



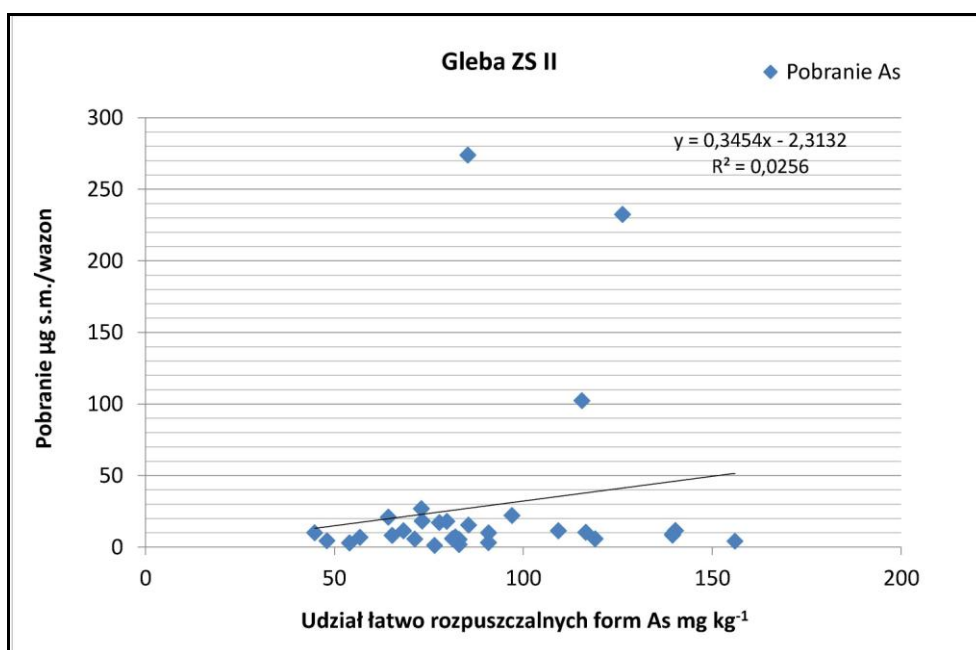
Rysunek 21. Zawartość arsenu w materiale roślinnym olszy czarnej w wybranych wariantach – w doświadczeniu wazonowym II

Olsza czarna rosła na glebie ZS I bardzo słabo. Materiał roślinny zebrano tylko z gleb bez dodatku i z dodatkiem Fe, jednak tylko w jednym powtórzeniu. W wariantcie z dodatkiem żelaza stężenie As w biomase roślin było ponad 2-krotnie większe niż gleby wariantcie bez dodatku i wynosiło 154 mg kg^{-1} . Wzrost sadzonek olszy na glebie ZS II i ZS III był zdecydowanie lepszy i uzyskano materiał roślinny ze wszystkich wariantów. Na obu tych glebach najwyższą biomasę olszy uzyskano w wariantach z dodatkiem Fe. Natomiast najwyższą koncentracją As charakteryzowały się rośliny z gleby ZS II z dodatkiem fosforu, które średnio zawierały 183 mg kg^{-1} (rys. 21). Jednak odwrotną zależności stwierdzono dla olszy rosnącej na glebie ZS III. Najwięcej As zawierały części nadziemne olszy w wariantcie bez dodatku - $10,3 \text{ mg kg}^{-1}$, a najmniej - z dodatkiem P, średnio zaledwie $1,7 \text{ mg kg}^{-1}$.



Rysunek 22. Zależność między udziałem form łatwo rozpuszczalnych w glebie ZS II doświadczenia wazonowego II a koncentracją As w roślinach

Obliczony współczynnik korelacji wykazał brak zależności pomiędzy koncentracją arsenu w roślinach a udziałem rozpuszczalnych form As w glebach w doświadczeniu wazonowym II (rys. 22). Wykresy (rys. 22 i 23) wyraźnie pokazują, że w pojedynczych przypadkach koncentracja As w częściach nadziemnych roślin i wielkość pobrania As znacząco odbiegały od większości wyników, co – podobnie jak w doświadczeniu I - ilustruje fakt przełamania bariery obronnej roślin.



Rysunek 23. Zależność między udziałem form łatwo rozpuszczalnych w glebie ZS II doświadczenia wazonowego II a pobraniem As przez rośliny

Wielkość pobrania arsenu z gleb przez rośliny była bardzo zróżnicowana. Uśredniając wyniki dla wszystkich roślin stwierdzono, iż najwyższym wynosem As charakteryzowały się rośliny rosnące na glebie ZS I, które pobrały As w ilości średnio 30 $\mu\text{g/wazon}$, następnie – rośliny na glebie ZS II (29 $\mu\text{g/wazon}$), a najmniejszy wynos As stwierdzono na glebie ZS III – 11,9 $\mu\text{g/wazon}$. W niektórych wariantach np. z kłosówką wełnistą na glebie ZS I zaobserwowano wzrost pobrania As z gleby z dodatkiem P – 27,6 $\mu\text{g/wazon}$ i SS – 30,5 $\mu\text{g/wazon}$, w porównaniu do pobrania As z gleby b.d. – 5,5 $\mu\text{g/wazon}$, przy czym wzrost ten potwierdzono statystycznie dla wariantu z SS. Podobny efekt osadów ściekowych uzyskano w przypadku życicy trwałej na glebie ZS I, oraz rzepaku na glebie ZS III, jednak stwierdzone różnice nie były istotne statystycznie. Maksymalne pobranie As z gleb (274 $\mu\text{g/wazon}$) stwierdzono w przypadku rzepaku zebranego z gleby ZS II w wariancie z wprowadzonymi osadami ściekowymi. Nieco mniej arsenu, bo 232 $\mu\text{g/wazon}$, pobrała kłosówka wełnista z gleby ZS II, również wpływem wariancie z dodatkiem SS. Natomiast dodatek żelaza do gleby ZS I, na której rosła koniczyna czerwona wpłynął na pobranie 107 $\mu\text{g As/wazon}$.

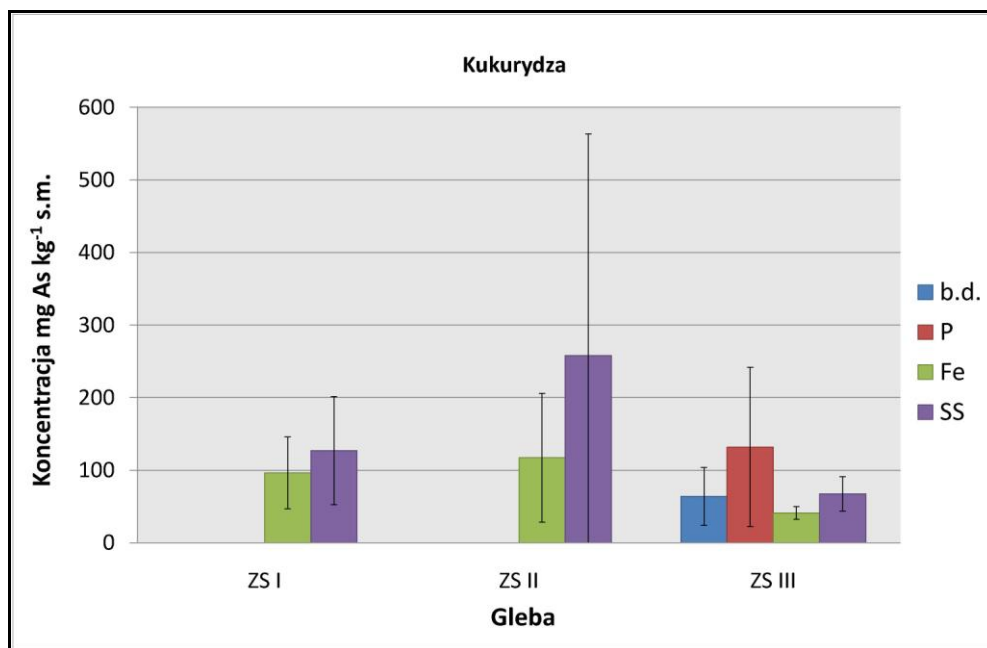
Współczynnik bioakumulacji arsenu WB obliczony dla wszystkich badanych roślin w tym doświadczeniu wskazuje na brak lub słabe zdolności do bioakumulacji arsenu. Średnio WB zawierał się w przedziale od 0,002 do 0,023, przy czym dla gleby ZS I wynosił od 0,004 do 0,021, dla gleby ZS II od 0,005 do 0,023, a dla ZS III od 0,002 do 0,014. Wyższe wartości współczynnika akumulacji zaobserwowano dla koniczyny czerwonej rosnącej na glebie ZS I – średnio 0,016, a także dla kukurydzy na glebie ZS I – średnio 0,012, rzepaku na ZS I – średnio 0,020, oraz olszy na ZS I – średnio 0,021. Najwyższą średnią wartość współczynnika bioakumulacji arsenu (0,023) uzyskano dla życicy trwałej zebranej z gleby ZS II.

6.3. Wyniki doświadczenia wazonowego III

W doświadczeniu tym materiał roślinny wysiewany i zbierany był dwukrotnie: raz pod koniec lipca a drugi raz na początku października. Na podstawie analizy roślin z obu zbiorów zaprezentowano wyniki pobrania arsenu. Dodatkowo, w niektórych próbkach materiału roślinnego pochodzącego z drugiego zbioru oznaczono zawartość fosforu.

6.3.1. Wyniki analizy materiału roślinnego z pierwszego zbioru

Z gleby ZS I, na której wysiano kłosówkę wełnistą, życicę trwałą, koniczynę czerwoną, kukurydzę i rzepak, pozyskano tylko materiał roślinny kukurydzy, po jednym powtórzeniu z wariantów bez dodatku i z dodatkiem fosforu, z dwóch powtórzeń - z wariantów z dodatkiem Fe, i z trzech powtórzeń - z wariantów z osadami ściekowymi (których wprowadzenie pozytywnie wpłynęło na wzrost roślin). U części roślin zauważono szybkie brunatnienie, a także charakterystyczne lekko fioletowe zabarwienie, świadczące o wysokiej koncentracji arsenu (Paliouris i Hutchinson 1991; Abedin i in. 2002; Kabata-Pendias, Makherjee 2007). Wzrost kukurydzy na glebie ZS II był również słaby, udało się zebrać materiał roślinny tylko z wariantów z dodatkiem Fe i SS, w ilości odpowiednio 0,2 g/wazon i 0,16 g/wazon. Natomiast na glebie ZS III kukurydza rosła zdecydowanie lepiej, co pozwoliło na uzyskanie biomasy ze wszystkich wariantów. W tym przypadku również wystąpiło lekko fioletowe zabarwienie liści. W związku ze słabym wzrostem kukurydzy na dwóch pierwszych glebach, przeprowadzenie analizy statystycznej możliwe było tylko dla materiału uzyskanego z gleby ZS III. Analiza statystyczna nie potwierdziła istotnego wpływu zastosowanego dodatku na zawartość As w kukurydzy (rys. 24). Zarysowała się jednak tendencja potwierdzająca obserwacje z wcześniejszych doświadczeń, to jest zwiększona koncentracja arsenu w biomacie w wariantach z dodatkiem fosforu a także osadów ściekowych w porównaniu z glebą bez dodatków, oraz zmniejszona koncentracja As w wariantach z dodatkiem Fe (rys. 24). Średnia zawartość As w kukurydzy z gleby ZS III z dodatkiem P wynosiła 132 mg kg^{-1} i była dwukrotnie wyższa niż w wariacie bez dodatku, a średnia zawartość As w biomacie kukurydzy w wariacie z Fe wyniosła $41,2 \text{ mg kg}^{-1}$.



Rysunek 24. Zawartość arsenu w kukurydzy z doświadczenia wazonowego III (I zbiór)

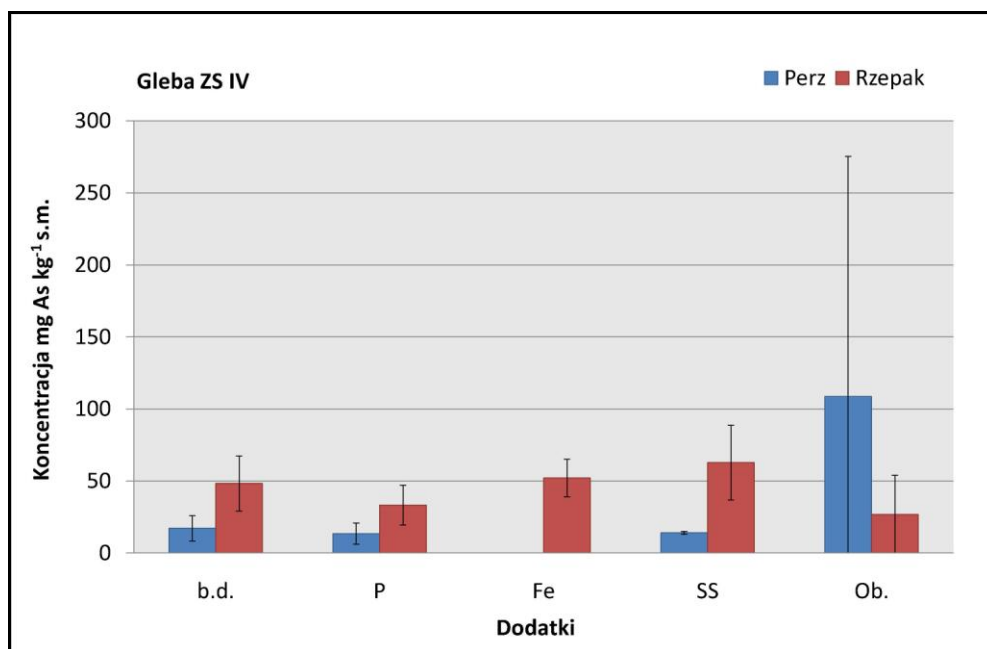
Dla kukurydzy pozyskanej z gleb ZS I i ZS II przeprowadzono tylko porównanie pomiędzy wariantami z dodatkiem Fe i SS, uzyskując za każdym razem zbieżne wyniki (rys. 24). Koncentracja As w roślinach w wariantach z dodatkiem osadów ściekowych SS była nawet dwukrotnie wyższa w porównaniu z wariantami z dodatkiem żelaza. W przypadku doświadczenia prowadzonego na glebie ZS II wartości te wynosiły odpowiednio: 258 i 117 mg kg⁻¹.

Rzepak uzyskano tylko z wariantów z glebą ZS II z dodatkiem SS, a także z jednego wazonu z dodatkiem P. Część roślin wytworzyła kwiatostany, a także zaczątki łuszczyń. Dodatek fosforu spowodował wzrost koncentracji As w rzepaku na poziomie 453 mg kg⁻¹, a średnia zawartość arsenu po wprowadzeniu SS wynosiła w rzepaku 188 mg kg⁻¹.

Na glebie ZS IV, o zawartości As znacznie niższej niż w glebach ZS I, ZS II i ZS III, posiano kłosówkę wełnistą oraz rzepak. W wyniku obecności w glebie nasion lub rozłogów perzu, doszło do całkowitego zasiedlenia perzem wazonów z wysianą kłosówką, a ze względu na szybki wzrost perz zagłuszył słabszą kłosówkę wełnistą. Części nadziemne perzu zebrano jednak do analiz, by ocenić pobranie arsenu. Biomasa perzu była bardzo wysoka; w wariantach z osadami ściekowymi ponad 10 g/wazon, natomiast biomasa części nadziemnych rzepaku z tym samym dodatkiem (SS) sięgała 9 g/wazon.

Zawartość arsenu w perzu była niska, jedynie po wprowadzeniu obornika otrzymano ponad 6-krotny wzrost koncentracji As – do średniej wartości 188 mg kg⁻¹. W pozostałych wariantach koncentracja arsenu w biomacie perzu wahała się średnio między 13,4 mg kg⁻¹

(+P) a 17,2 mg kg⁻¹ (b.d.). Koncentracja arsenu w rzepaku również nie była wysoka, ale wyższa niż w przypadku perzu. Wpływ dodatków do gleby na zawartość As w częściach nadziemnych perzu nie został potwierdzony statystycznie.



Rysunek 25. Zawartość arsenu w perzu i rzepaku zebranych z gleby ZS IV

Pobranie arsenu przez kukurydzę z gleby ZS I wynosiło od 11,4 µg/wazon w wariancie z Fe do 63 µg/wazon - w wariancie z dodatkiem SS. Również z gleby ZS II z dodatkiem żelaza kukurydza pobrała najmniej arsenu (17,9 µg/wazon), a dodatek osadów ściekowych wpłynął na największy wynos As z plonem – na poziomie 41,4 µg/wazon. Natomiast w przypadku gleby ZS III kukurydza pobrała najmniej arsenu w wariancie b.d., średnio 13,5 µg/wazon, a najwięcej - z gleby z SS (średnio 67,9 µg/wazon). Dodatek osadów ściekowych wpłynął na bardzo silny wzrost pobrania As przez rzepak, a wynos As wyniósł tu średnio 588 µg/wazon. Jednak najwyższym pobraniem arsenu z gleb charakteryzował się perz rosnący na glebie ZS IV z Ob., który pobrał As w ilości 1531 µg/wazon. Wartość ta była najwyższą, jaką uzyskano w doświadczeniach wazonowych.

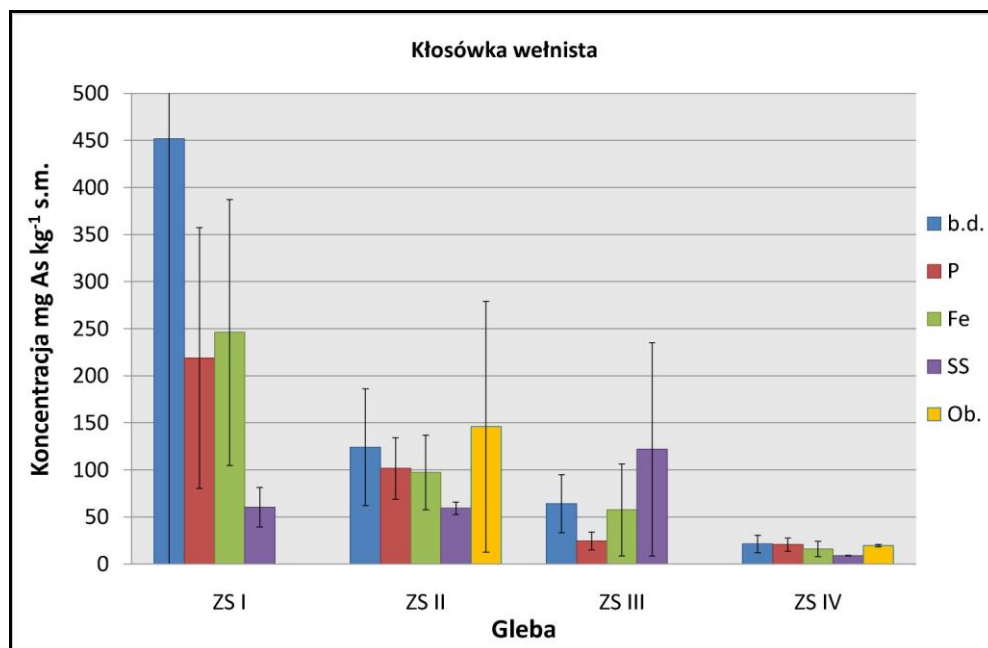
Współczynnik bioakumulacji arsenu w tym doświadczeniu wynosił od 0,012 do 0,305, ze średnią równą 0,069, co ponownie wskazuje na słaby stopień pobrania arsenu przez rośliny, jedynie w kilku wariantach: rzepaku rosnącego na glebie ZS III z dodatkiem fosforu oraz perzu na glebie ZS IV z dodatkiem obornika, a także rzepaku uprawianego na glebie ZS IV z dodatkiem fosforu i osadów ściekowych, wskaźnik pobrania arsenu był średni i zawierał się w przedziale 0,136-0,305.

Przyczyną słabego wzrostu roślin w tym doświadczeniu, oprócz wysokiej koncentracji arsenu w glebach, mogły być także niekorzystne warunki pogodowe, a w szczególności bardzo wysokie temperatury w okresie pomiędzy majem a lipcem 2010, które w miesiącu lipcu, przez okres ok. 3 tygodni przekraczały 30°C. Rośliny osłabione w wyniku toksycznego oddziaływania arsenu, narażone na dodatkowy stres związany z wysoką temperaturą, obumierały. Te same warunki pogodowe nie spowodowały jednak zamierania roślin uprawianych w równoległym doświadczeniu (tu nie prezentowanym), na glebach niezanieczyszczonych.

6.3.2. Wyniki analizy materiału roślinnego z drugiego zbioru

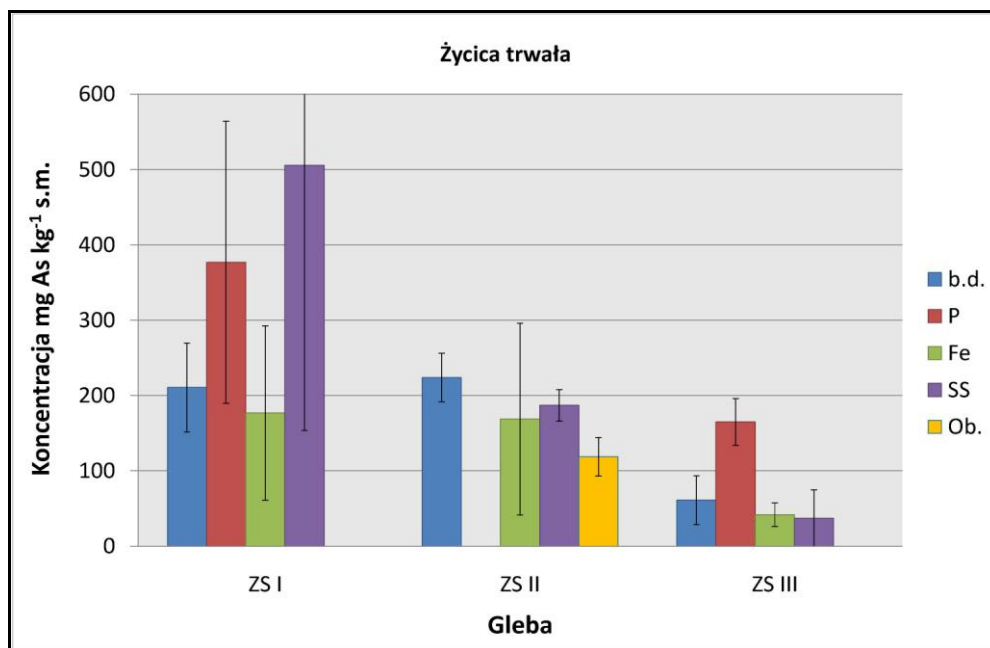
Rozwój roślin wysianych w drugim terminie oraz ich kondycja była lepsza (zdz. 34-52), niż w terminie wczesno-letnim, co pozwoliło na uzyskanie biomasy niezbędnej do przeprowadzenia analiz.

Materiał roślinny kłósówki uzyskano ze wszystkich gleb i wariantów. Koncentracja arsenu w nadziemnej masie roślin była zróżnicowana (rys. 26). Maksymalna uzyskana biomasa kłósówki wynosiła 3,76 g/wazon z gleby ZS IV i 3,59 g/wazon z gleby ZS III po wprowadzeniu osadów ściekowych. Rośliny zebrane z gleby ZS I i ZS IV bez dodatków wykazywały wyższą koncentrację arsenu niż rośliny rosnące na glebach z dodatkami. Natomiast kłósówka zebrana z gleby ZS II z dodatkiem obornika oraz z gleby ZS III z dodatkiem osadów ściekowych zawierała więcej As niż w pozostałych wariantach uprawianych na tych glebach. Maksymalne stężenie arsenu wynoszące 452 mg kg⁻¹ otrzymano w materiale roślinnym kłósówki z gleby ZS I b.d., wysokie koncentracje As w kłósówce stwierdzono też w wariantach z dodatkiem P - 219 mg kg⁻¹ i z dodatkiem Fe - 246 mg kg⁻¹. Rośliny rosnące na pozostałych glebach zawierały niższe koncentracje arsenu, przy czym maksymalne zawartości As dla kłósówki rosnącej na poszczególnych glebach były następujące: 146 mg kg⁻¹ - na glebie ZS II z dodatkiem obornika, 122 mg As kg⁻¹ - na glebie ZS III z dodatkiem SS, oraz 21,3 mg kg⁻¹ – na glebie ZS IV bez dodatku. Wykonana analiza statystyczna na poziomie istotności $\alpha=0,05$ potwierdziła negatywny wpływ dodatku fosforu na koncentrację As w kłósówce rosnącej na glebie ZS III., co ilustruje rys. 26. Ponadto potwierdzono statystycznie, że koncentracja arsenu w roślinach rosnących na glebie ZS IV, do której wprowadzono osady ściekowe, była niższa niż w glebie kontrolnej, bez dodatku. Pozostałe różnice między wariantami (rys.26) nie zostały potwierdzone statystycznie.



Rysunek 26. Zawartość arsenu w kłosówce wełnistej

Życicę trwałą wysiano na glebach ZS (I, II i III) i w większości przypadków zebrano materiał roślinny do dalszych analiz. Jedynie na glebie ZS II z dodatkiem fosforu wzrost roślin był niezadawalający. Największą biomasę roślin zebrano z wazonów z glebą ZS III z dodatkiem fosforu, uzyskując 1,12 g/wazon. Na glebach ZS I i ZS II najwyższą masę życicy otrzymano w wariancie z dodatkiem żelaza, odpowiednio 0,37 g/wazon i 0,47 g/wazon. Najniższą masę nadziemną życicy, wynoszącą 0,19 g/wazon, uzyskano na glebie ZS I z dodatkiem fosforu. Najwyższe koncentracje arsenu w materiale życicy rosnącej na glebie ZS I stwierdzono w wariantach z dodatkiem SS (średnio 506 mg kg⁻¹) oraz z dodatkiem fosforu (377 mg kg⁻¹), a najniższe – w wariantach z dodatkiem żelaza - 177 mg kg⁻¹. Wartości te wskazują, iż dodatek fosforu i osadów ściekowych może powodować zwiększoną koncentrację arsenu, natomiast odwrotny skutek przynosi wprowadzanie żelaza do gleb, wpływając na jego zmniejszoną zawartość. Wyniki te poddano analizie statystycznej, jednak ze względu na zbyt duży rozrzut pomiędzy powtórzeniami, nie udało się uzyskać potwierdzenia wyciągniętych wniosków na poziomie istotności p=95%.



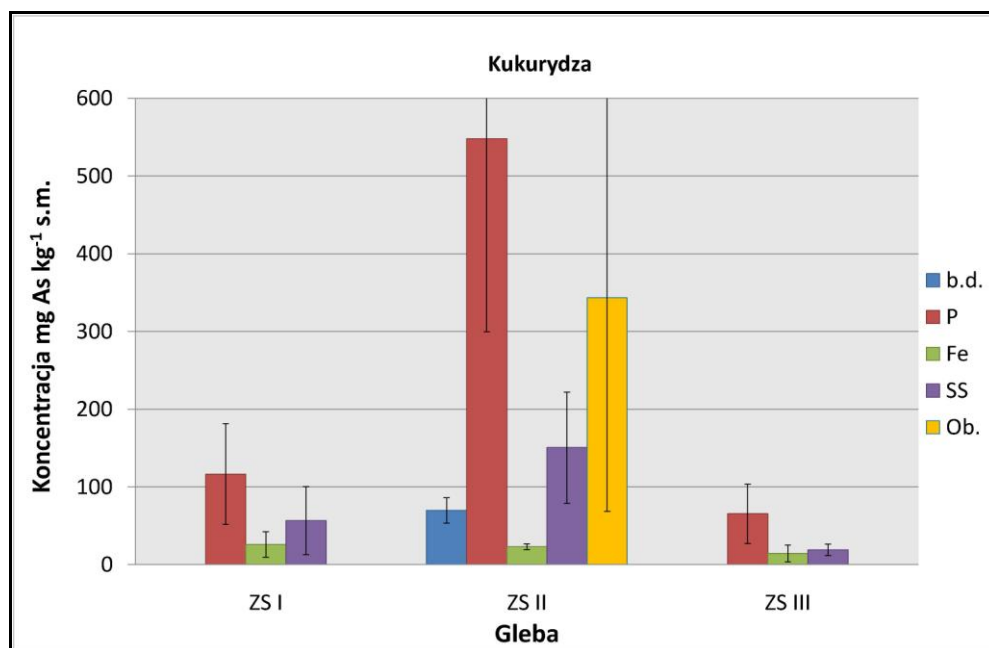
Rysunek 27. Zawartość arsenu w materiale roślinnym życicy trwałej

Na glebie ZS II najwyższe stężenie As w materiale życicy uzyskano w wariancie bez dodatku - 224 mg kg^{-1} , natomiast dodatki w niewielkim stopniu różnicowały koncentrację As w biomase roślin (rys. 27). Najniższą zawartość As w życicy uzyskano w wariancie z dodatkiem Ob. (119 mg kg^{-1}), a najwyższą - z dodatkiem SS (187 mg kg^{-1}). Wartość 165 mg kg^{-1} otrzymano w materiale życicy trwałej zebranej z gleby ZS III z dodatkiem fosforu i było to maksymalne stężenie oznaczone w roślinach zebranych z gleby ZS III. Analiza statystyczna pozwoliła na potwierdzenie wpływu dodatku fosforu na zwiększoną zawartość arsenu, na poziomie istotności $\alpha=0,05$. Dodatek Fe i SS do gleby spowodował zmniejszenie średnich koncentracji As w materiale życicy w stosunku do wariantu bez dodatku o odpowiednio 32% i 39%, różnice te nie są jednak istotne statystycznie.

Pszenica zastąpiła w doświadczeniu wazonowym III wykorzystywaną wcześniej koniczynę czerwoną, jednak jej wzrost był słaby i w niektórych przypadkach (ZS II - b.d. i Ob.) zawartość arsenu w materiale roślinnym oznaczano dla próbki łączonej z trzech powtórzeń. Największą masę części nadziemnych pszenicy na glebie ZS I uzyskano w wariancie z dodatkiem SS ($0,4 \text{ g/wazon}$), a najniższą – w wariancie bez dodatku - $0,17 \text{ g/wazon}$. Ze względu na słaby wzrost roślin na glebie ZS II, aby uzyskać biomasę do analizy zawartości As, zebrany materiał roślinny z trzech powtórzeń połączono, otrzymując $0,19 \text{ g s.m.}$ b.d. i $0,23 \text{ g s.m.}$ z gleby z dodatkiem SS. Średnia biomasa z gleb z dodatkiem Fe wynosiła $0,31 \text{ g/wazon}$. Najwyższą koncentrację As w biomase pszenicy rosnącej na glebie ZS I uzyskano w wariancie z dodatkiem Fe - 74 mg kg^{-1} , a najniższą - z

SS - 15,3 mg kg⁻¹. Maksymalną zawartość As równą 120 mg kg⁻¹ otrzymano w materiale roślinnym zebranym z gleby b.d., a najniższą - z gleby do której wprowadzono obornik- 38,5 mg kg⁻¹.

Na wzrost kukurydzy, podobnie jak innych, wcześniej opisywanych roślin, najlepszy wpływ miały dodatki osadów ściekowych, żelaza, a także obornika (zdj. 42-44). W tych wariantach uzyskano wyższą biomasę części nadziemnych niż w innych przypadkach. W wariancie ZS I+SS otrzymano średnio 0,68 g/wazon, z dodatkiem Fe-0,77 g/wazon. Natomiast najslabiej rosły rośliny na glebie z dodatkiem P, dając plon 0,21g/wazon. Podobne wyniki uzyskano na pozostałych glebach (tabela 20).



Rysunek 28. Zawartość arsenu w kukurydzy z drugiego zbioru doświadczenia wazonowego III

Najwyższą zawartość arsenu otrzymano w biomasie kukurydzy pochodzącej z gleby ZS I bez dodatku - średnio 1441 mg kg⁻¹. Wynik ten jest tak wysoki, iż nie został zamieszczony na przedstawionym wyżej rys. 28. Nie są znane przyczyny tak wysokiej koncentracji arsenu w materiale kukurydzy z tego doświadczenia, ponieważ jednak rośliny były myte przed wysuszeniem, można przypuszczać iż doszło raczej do faktycznego pobrania tak dużej ilości As wskutek przełamania bariery odporności roślin, a nie jest to efekt osadzenia się na powierzchni roślin cząstek gleby zawierającej arsen. Nie można też wykluczyć błędu pomiarowego, jednakże w innym powtórzeniu również uzyskano wysoką zawartość arsenu - 573 mg kg⁻¹, co stanowi jednak 1/3 podanej wyżej wartości. W pozostałych wariantach, najwyższe zawartości As w roślinach uzyskano z gleby ZS II. Dodatek P, podobnie jak SS i Ob., do tej gleby wpłynął na zwiększoną koncentrację As w

kukurydzy, a zawartość As w biomase roślin wyniosła odpowiednio 548 mg kg⁻¹, 151 mg kg⁻¹ i 343 mg kg⁻¹. Wpływ dodatku fosforu na zwiększoną koncentrację As w porównaniu do wariantów bez dodatku, z dodatkiem Fe i SS, potwierdzono statystycznie na poziomie istotności $\alpha=0,05$. Najniższą zawartość arsenu w biomase roślin, 23,3 mg kg⁻¹, otrzymano z gleby wariantu z dodatkiem Fe. Materiał roślinny z gleby ZS I i ZS III otrzymano z wariantów z dodatkiem P, Fe i SS. Wśród wymienionych dodatków, fosfor wpływał na zwiększoną zawartość As w kukurydzy na obu glebach i w porównaniu do koncentracji As uzyskanej z gleb z dodatkiem Fe różnica ta została potwierdzona statystycznie.

Wzrost rzepaku był słaby na glebach ZS I i ZS III, a na glebie ZS II rozwinęły się tylko pojedyncze rośliny. Najlepszą kondycję wykazywał rzepak rosnący na glebie ZS IV, co zapewne wynikało z najniższej zawartości As w glebie. Również rodzaj zastosowanego dodatku miał wpływ na uzyskaną biomasę części nadziemnych roślin. Osady ściekowe poprawiały rozwój roślin, co w konsekwencji skutkowało otrzymaniem największej masy, przy czym 3,94 g/wazon uzyskano z gleby ZS IV, a np. z gleby ZS I tylko 0,56 g/wazon. Pozostałe dodatki wprowadzone do gleb ZS I, ZS II i ZS III słabo wpływały na wzrost roślin, powodując, że w niektórych przypadkach połączono biomasę roślin uzyskaną z 3 wazonów w jedną próbkę reprezentującą dany wariant. Tak uczyniono dla roślin zebranych z gleby ZS I b.d. i ZS I, P; ZS II – b.d. i z Ob.; ZS III, Fe. Z gleby ZS II z dodatkiem żelaza i osadów ściekowych nie pozyskano plonu. Szczegółowe wyniki zamieszczono w tabeli 20, kol. 6. Koncentracja arsenu w rzepaku zebranego z gleby ZS I i ZS III była najwyższa w wariantach z Fe, odpowiednio 208 mg kg⁻¹ i 545 mg kg⁻¹. Rośliny rosnące na glebie ZS I bez dodatku zawierały 112 mg kg⁻¹, a zdecydowanie mniej, bo 51,5 mg kg⁻¹ po wprowadzeniu osadów ściekowych. W glebie ZS II najwyższą koncentrację oznaczono w rzepaku z wariantu bez dodatku - 334 mg kg⁻¹, a najniższą z dodatkiem P - 156 mg kg⁻¹. W materiale roślinnym zebranym z gleby ZS III + P zawartość arsenu była prawie 3-krotnie wyższa niż z SS. W większości próbek roślin uzyskanych z gleby ZS IV koncentracja arsenu była tak niska, iż nie przekraczała progu detekcji (0,018 mg kg⁻¹). Pojedyncze próbki wskazują, iż dodatek żelaza spowodował nieoczekiwany wzrost zawartości arsenu w roślinach, do wartości 17 mg kg⁻¹, ale w wariantach bez dodatku uzyskano niewiele mniej, bo 16 mg kg⁻¹. Najniższą koncentrację charakteryzowały się rośliny w wariantach z dodatkiem fosforu. Przyczyną niższej koncentracji As w roślinach pod wpływem dodatku P mogło być zwiększone pobranie fosforu, co zasugerowano w podrozdziale 6.3.3.

Obliczony współczynnik korelacji między udziałem form łatwo rozpuszczalnych w glebach i koncentracją As w roślinach wykazał brak takiej zależności.

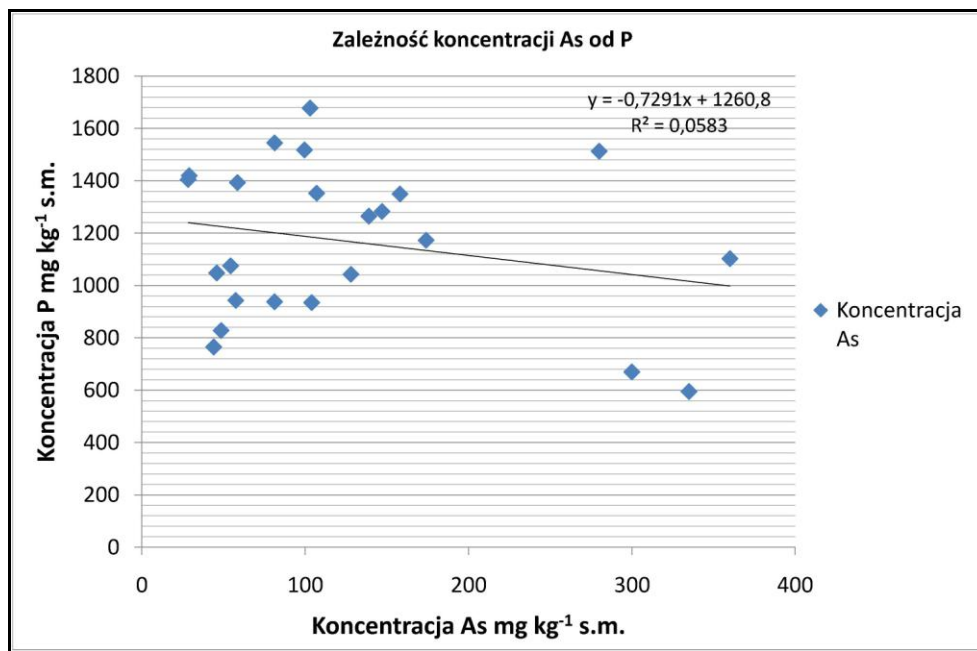
Najwyższym pobraniem charakteryzowała się kłosówka wełnista zebrana z gleby ZS I, z maksymalnym wznosem 395 $\mu\text{g/wazon}$ (średnia z 3 wazonów) po wprowadzeniu P. W wariancie bez dodatku również uzyskano wysokie pobranie As – średnio 322 $\mu\text{g/wazon}$, natomiast najniższe pobranie As stwierdzono w wariancie z dodatkiem żelaza – 132 $\mu\text{g/wazon}$. Spośród pozostałych roślin wykorzystanych w doświadczeniu wazonowym III, pszenica pobrała najmniej arsenu, bo średnio 6,2 $\mu\text{g/wazon}$ z gleby ZS I bez dodatku i 14,6 $\mu\text{g/wazon}$ z dodatkiem Fe.

6.3.3. Zawartość fosforu w wybranych próbkach kłosówki wełnistej

W tabeli 18 przedstawiono zawartość fosforu w częściach nadziemnych kłosówki wełnistej z drugiego zbioru w doświadczeniu wazonowym III, w zestawieniu z zawartością pobranego arsenu. Porównując wyniki uzyskane dla roślin rosnących na glebie kontrolnej, niezanieczyszczonej, z roślinami pochodzącymi z doświadczenia zauważyć można wyższą koncentrację fosforu w roślinach kontrolnych.

Rośliny zebrane z gleby ZS I posiadały różną koncentrację fosforu w zależności od zastosowanego dodatku do gleby. Najwyższą zawartość fosforu, 1230 mg kg^{-1} (średnia z 3 powtórzeń), co było zgodne z oczekiwaniami, uzyskano w wariancie z dodatkiem fosforu. Najniższą, wynoszącą 733 mg kg^{-1} (średnia z trzech powtórzeń), stwierdzono natomiast w wariancie z dodatkiem żelaza. Zawartość P w biomasie kłosówki w wariantach bez dodatku i z dodatkiem SS wynosiła odpowiednio 1007 mg kg^{-1} i 1048 mg kg^{-1} . W materiale roślinnym zebranym z gleby ZS II najwyższe koncentracje P występowały w roślinach z gleb z dodatkiem fosforu, żelaza, a także obornika, między 1475 mg kg^{-1} a 1678 mg kg^{-1} . Najniższe - z dodatkiem osadów ściekowych - 943 mg kg^{-1} , oraz bez dodatku, ok. 1160 mg kg^{-1} . Podobne wyniki uzyskano dla gleby ZS III. Należy podkreślić, iż w stosunku do roślin kontrolnych, ilość pobranego fosforu była mniejsza w roślinach pochodzących z gleb zanieczyszczonych arsenem. Na rys. 29. przedstawiono zależność między koncentracją arsenu a koncentracją fosforu w roślinach. Chociaż wartość współczynnika korelacji $R^2=0,058$ jest niska, a zależność nie jest istotna statystycznie, to uwidoczniał się wpływ większej zawartości arsenu na zmniejszającą się zawartość fosforu w roślinach. Taka zależność tłumaczona jest pobieraniem arsenu z wykorzystaniem systemu transportu fosforu (Macnair i Cumbes 1987). Porównując zawartość fosforu w roślinach kontrolnych w stosunku do ilości w roślinach uprawianych na glebach zanieczyszczonych arsenem, zaobserwowano wyraźne obniżenie zawartości fosforu w

roślinach pod wpływem obecności As. Podobny rezultat uzyskali też Pigna i in. (2009). Tu i Ma (2003) otrzymali w doświadczeniu z *Pteris vittata*, gdzie wzrost koncentracji fosforu w roztworze przekładał się na zmniejszenie pobrania arsenu. Tao i in. (2006) uzyskali efekt odwrotny w doświadczeniu z pszenicą rosnącą w trzech różnych glebach pochodzących z rejonów przemysłowych i zanieczyszczonych As. Wzrastająca koncentracja fosforu powodowała zwiększającą się koncentrację arsenu w roślinach.



Rysunek 29. Zależność między koncentracją As i P w wybranych wariantach doświadczenia wazonowego III

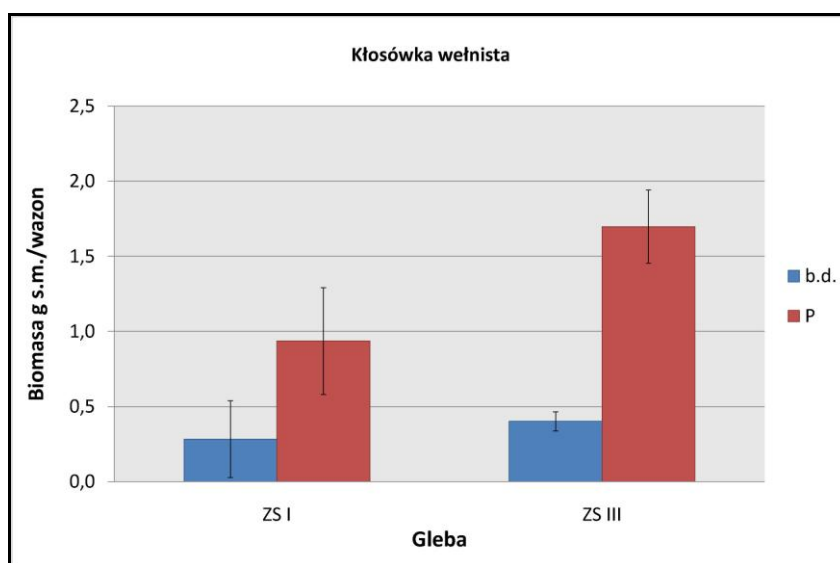
6.4. Podsumowanie wyników uzyskanych w ramach doświadczeń wazonowych

Ekstrakcje form łatwo rozpuszczalnych As dla gleb z doświadczenia wazonowego I i II wskazują na immobilizujący wpływ żelaza wobec arsenu, ograniczając jego rozpuszczalność. Wyniki te są zbieżne z rezultatami doświadczeń inkubacyjnych, w których również stwierdzono, że zastosowanie żelaza wpływa na zmniejszenie ilości arsenu ekstrahowalnego siarczanem amonu. Podobne wyniki, potwierdzające wpływ żelaza na zmniejszenie mobilności As, uzyskali Boisson i in. (1999), Mench i in. (2000), Bose i Sharma (2002), Warren i in. (2003), Hartley i in. (2004), Subacz i in. (2007), Cui i in. (2010). W doświadczeniu wazonowym I nie udało się uzyskać plonu roślin rosnących na glebach z dodatkiem żelaza, nawet po neutralizacji odczynu gleb. Natomiast na podstawie materiału roślinnego zebranego z doświadczenia wazonowego II i III można było ocenić wpływ dodatku żelaza na pobranie arsenu. Kłosówka wełnista generalnie

pobierała mniej arsenu po wprowadzeniu żelaza do gleby, choć w doświadczeniu wazonowym II uzyskano efekt odwrotny. Podobnie zachowała się łąka czarna, pobierając mniej As z gleby ZS II i ZS III, a więcej z gleby ZS I z dodatkiem Fe, niż bez dodatku. Koncentracja As w żyłcy była niższa we wszystkich wariantach obu doświadczeń wazonowych II i III z dodatkiem Fe niż b.d., podobnie jak i koncentracja As w kukurydzy. Pszenica pobrała więcej arsenu z gleby ZS II z gleb z żelazem, a mniej z gleby ZS I. Natomiast rzepak zebrany w ramach doświadczenia wazonowego II z gleby ZS III pobrał mniej arsenu pod wpływem dodatku żelaza, jednak w następnym roku, w materiale roślinnym z doświadczenia wazonowego III zawartość As była wyższa, niż w glebach bez dodatku. Rezultat zmniejszenia mobilności arsenu w glebach po wprowadzeniu żelaza w postaci siarczanu żelaza uzyskał Warren i in. (2003), choć i w jego doświadczeniu z niektórymi roślinami, np. burakiem, szpinakiem, czy ziemniakami, dochodziło do zwiększonego pobrania arsenu mimo zastosowania dodatku żelaza. Natomiast wyniki uzyskane dla żyłcy trwałej przez Hartley i Lepp (2008) z zastosowaniem różnych dodatków zawierających żelazo oraz wapno do gleb otrzymali znaczną redukcję pobrania arsenu z zanieczyszczonych gleb.

Dodatek fosforu powodował zwiększone uwalnianie łatwo przyswajalnych form arsenu, co zostało potwierdzone w ekstrakcjach z gleb uzyskanych z doświadczenia wazonowego I i II. Podobny rezultat uzyskali Peryea i Kammereck (1997), Smith i in. (2002), Cao i in. (2003), Tao i in. (2006), Cui i in. (2010). Efektem zwiększonego udziału form łatwo rozpuszczalnych As w wyniku wprowadzenia do gleb fosforu była zwiększona koncentracja arsenu w roślinach z doświadczenia wazonowego I. W doświadczeniu II - mimo iż uzyskano istotny wzrost rozpuszczalności arsenu pod wpływem fosforu - nie zawsze przekładało się to na zwiększoną zawartość As w roślinach. Zwiększoną koncentrację pod wpływem obecności fosforu uzyskano tylko w wybranych wariantach, np. z rzepakiem na glebie ZS III, czy łąką czarną na glebie ZS II, ale już materiał kłosówki wełnistej zebranej z gleb dodatkiem P posiadał niższą zawartość As, niż w np. z gleb bez dodatku. Zawartość arsenu była zróżnicowana między gatunkami roślin, ale także w obrębie tego samego gatunku, uprawianego na różnych glebach. Koncentracja arsenu w biomase kłosówki z gleb z dodatkiem P była niższa niż z gleb bez dodatku, podobnie jak w rzepaku z gleby ZS IV. Również perz, który zastąpił kłosówkę na tej glebie, charakteryzował się niższą koncentracją As z wariantu z dodatkiem P, niż bez dodatku. Jednak rzepak uprawiany na glebie ZS III, P uzyskany z obu zbiorów, cechował się wyższą zawartością arsenu. Kukurydza z pierwszego i drugiego plonu również wykazywała

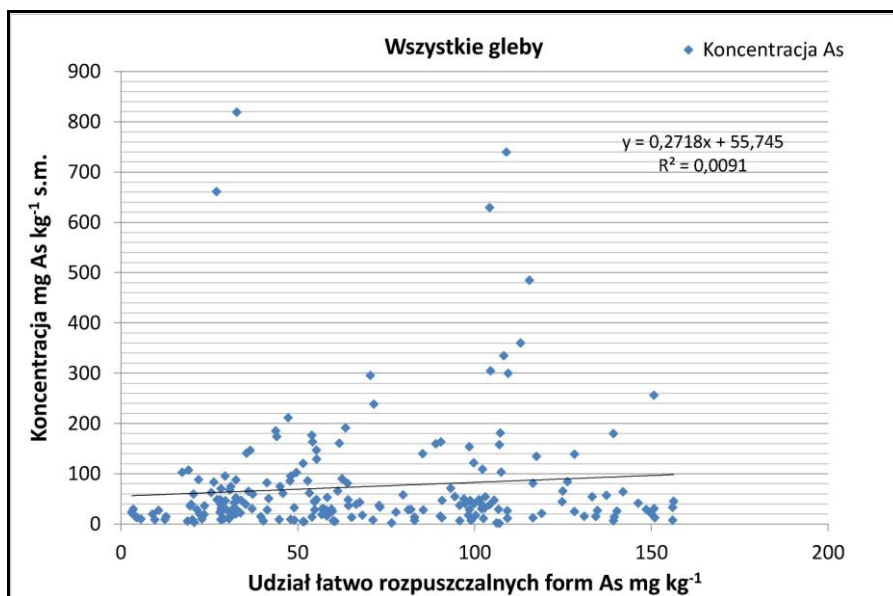
zwiększoną zawartość As w wariantach z dodatkiem fosforu. Materiał roślinny zycicy uzyskano tylko z drugiego zbioru. Jego analiza wskazała wyższe stężenie As w wariantcie z dodatkiem P. Christophersen i in. (2009) wskazują, że dodatek fosforu może wpływać na poprawę wzrostu roślin narażonych na toksyczne działanie arsenu. Jedynie w doświadczeniu wazonowym I uzyskano efekt poprawy wzrostu kłosówki wełnistej w obecności P (zdj. 17-22), jednak w przypadku rzepaku nie zaobserwowano już takiego efektu (zdj. 10-15). Analiza statystyczna wyników uzyskanych z doświadczenia wazonowego II (zdj. 24-33) wskazuje że biomasa roślin kłosówki wełnistej jest istotnie wyższa w wariantach z dodatkiem P niż bez dodatku (rys.30). Nie uzyskano jednak takiego efektu w doświadczeniu wazonowym III (zdj. 34-37), choć w 3 wariantach z fosforem uzyskano większą biomase, jednak zależność ta nie została potwierdzona statystycznie. Tao i in. (2006) w doświadczeniu z pszenicą uzyskał efekt zwiększonej koncentracji arsenu pod wpływem dodatku fosforu. Również Quaghebeur i Rengel (2003) otrzymali wyższe zawartości arsenu w kłosówce wełnistej pod wpływem większej ilości (10-krotnie wyższej od najniższej dawki-10 μM) fosforu, uzyskanymi takiego efektu nie uzyskano w niniejszej pracy. Jednak w testach z paprocią chińską (*Pteris vittata* L) Fayiga i Ma (2006) uzyskały niewielki spadek pobrania arsenu w wyniku wprowadzenia do gleby mielonych fosforytów. Natomiast Pigna i in. (2009) zauważyli zmniejszone pobieranie arsenu przez części nadziemne i ziarno pszenicy w obecności fosforu. Różnorodność wyników uzyskanych przez autorkę niniejszej pracy, a także we wskazanych doniesieniach literaturowych wskazują na skomplikowany związek pomiędzy pobieraniem fosforu i arsenu przez rośliny.



Rysunek 30. Wpływ dodatku fosforu na biomase kłosówki wełnistej w doświadczeniu wazonowym II

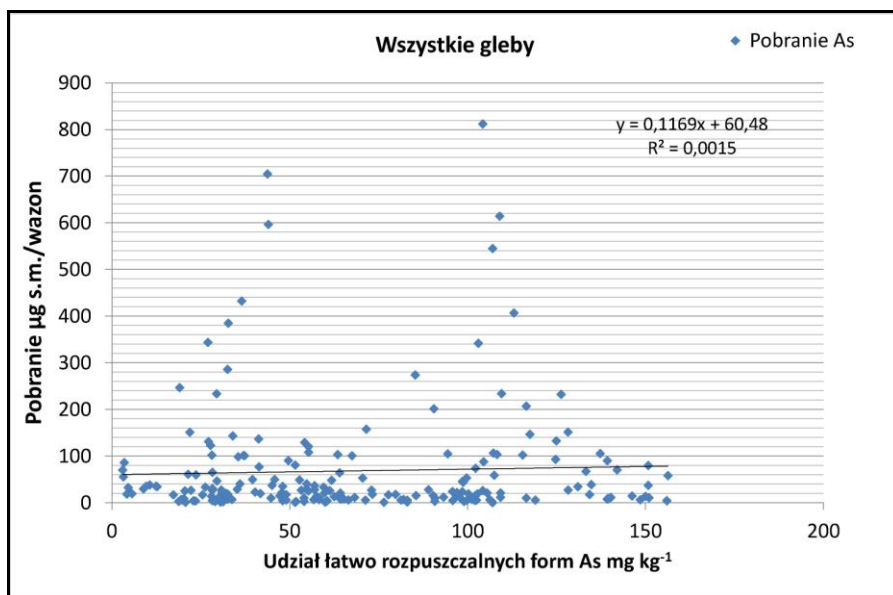
Dodatek osadów ściekowych powodował wzrost rozpuszczalności arsenu w porównaniu do wariantów bez dodatku. Jednak nie przekładało się to na negatywny wzrost roślin i zwiększone pobranie przez nie arsenu. We wszystkich wariantach dodatek osadów ściekowych powodował poprawę kondycji roślin i osiąganie większej biomasy, niż w przypadku pozostałych dodatków. Podobne wyniki otrzymali Cao i in. (2003), Mench i in. (2003), Bauer i Blodau (2006), Gadepalle i in. (2008), Tandy i in. (2009). Pobranie arsenu z gleb z dodatkiem SS było zróżnicowane i rzadko wynik uzyskany w doświadczeniu wazonowym II był zgodny z wynikiem doświadczenia wazonowego III., Dodatek SS powodował niekiedy wzrost, a niekiedy spadek pobrania As przez rośliny w porównaniu z wariantami bez dodatku. Podobny wynik otrzymała Gadepalle i in. (2008) po zastosowaniu różnych dawek kompostu (osady ściekowe zmieszane z odpadami zielonymi), przy czym wzrost koncentracji arsenu w życicy trwałej (do ok. 10 mg kg⁻¹) był najwyższy przy średniej dawce kompostu, a nie przy maksymalnej. W niniejszej pracy otrzymano większe koncentracje As w biomase życicy, sięgające nawet 506 mg kg⁻¹, choć całkowita zawartość arsenu w glebach była znacznie niższa od tej podawanej przez Gadepalle i in. (2008). W doświadczeniach Yadava i in. (2009) osady ściekowe z przemysłu mleczarskiego wykorzystano w doświadczeniu z jatrofą przeczyszczającą (*Jatropha curcas*) na glebie sztucznie zanieczyszczonej, zawierającej do 500 mg kg⁻¹, a także inne metale ciężkie. Wzrastająca koncentracja arsenu w glebie wpływała na słabszy wzrost jatrofy, ale także na jednoczesny wzrost zawartości arsenu w częściach nadziemnych roślin. Zastosowanie dawki 50 Mg ha⁻¹ osadów wpłynęło jednak na zmniejszanie zawartości arsenu w roślinach (Yadav i in. 2009).

Wprowadzenie obornika miało zróżnicowany skutek - w części gleb wystąpił wzrost rozpuszczalności arsenu, w części - jego immobilizacja. Wzrost roślin był słabszy w wariantach z obornikiem niż w wariantach z dodatkiem osadów ściekowych. Natomiast pobranie arsenu przez rośliny było zróżnicowane, w przeważającej jednak ilości próbek następował zmniejszenie pobrania As. Podobne wyniki uzyskali Yao i in. (2009), którzy po zastosowaniu obornika pochodzącego od trzody chlewnej oraz kurcząt w uprawie amarantusa (*Amaranthus tricolor* Linn) i wilca wodnego (*Ipomoea aquatica* Forsk) generalnie uzyskali znaczną poprawę wzrostu obu roślin, choć w nielicznych przypadkach następował spadek biomasy. Jednocześnie osiągnęli ograniczenie pobrania As przez amarantus, ale w materiale roślinnym wilca wodnego nastąpił wzrost koncentracji arsenu. Pozytywny rezultat zastosowania osadów ściekowych na wzrost roślin i ograniczenie pobrania As uzyskali z kolei Tandy i in. (2009).



Rysunek 31. Zależność między udziałem form łatwo rozpuszczalnych w glebach ze wszystkich doświadczeń a koncentracją As w roślinach

Analizując zależność koncentracji arsenu w roślinach z doświadczeń wazonowych od udziału form łatwo rozpuszczalnych nie stwierdzono istnienia statystycznie istotnej korelacji między tymi parametrami. Niemniej jednak rys. 31, ilustrujący opisywaną zależność, wskazuje, że w bardzo niewielkim stopniu ilość rozpuszczalnego As wpływa na wzrost zawartości As w częściach nadziemnych roślin. Rys. 31 i 32 ilustrują też wyraźnie, że w kilkunastu próbkach koncentracja As w roślinach i wynos As znacząco odbiegały od większości wyników, co prawdopodobnie tłumaczyć można faktem przełamania bariery obronnej roślin.



Rysunek 32. Zależność między udziałem form łatwo rozpuszczalnych w glebach ze wszystkich doświadczeń a pobraniem As przez rośliny

Tabela 7. Współczynniki korelacji liniowej Pearsona między zawartością łatwo rozpuszczalnych form As w glebach (mg kg⁻¹) a koncentracją As w nadziemnych częściach roślin (mg kg⁻¹) – K oraz wielkością pobrania As (µg wazon⁻¹) – W, w glebach i roślinach dośw. I, II

Gleba	Wartość współczynnika korelacji R	
	K	W
Wszystkie gleby i wszystkie warianty doświadczeń wazonowych	0,095	0,039
G	0,576 ***	0,641 ***
L	0,008	0,204
ZS I	-0,084	-0,081
ZS II	0,013	0,071
ZS III	-0,058	-0,016
ZS IV	-0,335	-0,418

K - zależność między udziałem form łatwo rozpuszczalnych a koncentracją w roślinach

W- zależność między udziałem form łatwo rozpuszczalnych a pobraniem przez rośliny

*** na poziomie p=0,001

Przedstawione w tabeli współczynniki korelacji dla zależności K wskazują na dodatnią korelację między udziałem łatwo rozpuszczalnych form arsenu a koncentracją w roślinach rosnących na glebach G, L i ZS II, wynikała zależność istotną statystycznie (na poziomie $p < 0,1$) otrzymano tylko dla roślin z doświadczenia wazonowego I z glebą G. Także współczynnik korelacji dla zależności W był najwyższy, a korelacja statystycznie istotna, jedynie dla gleby G z doświadczenia wazonowego I.

Wyniki ekstrakcji łatwo rozpuszczalnych form arsenu nie zawsze odzwierciedlają zwiększone pobranie As przez rośliny. Współczynniki korelacji obliczone dla różnych gleb i roślin z przeprowadzonych doświadczeń wazonowych nie pozwalają na jednoznaczne stwierdzenie w jakim stopniu ilość ekstrahowanego arsenu, uznawana jako łatwo przyswajalna, rzeczywiście jest pobierana przez rośliny i kumulowana w ich częściach nadziemnych.

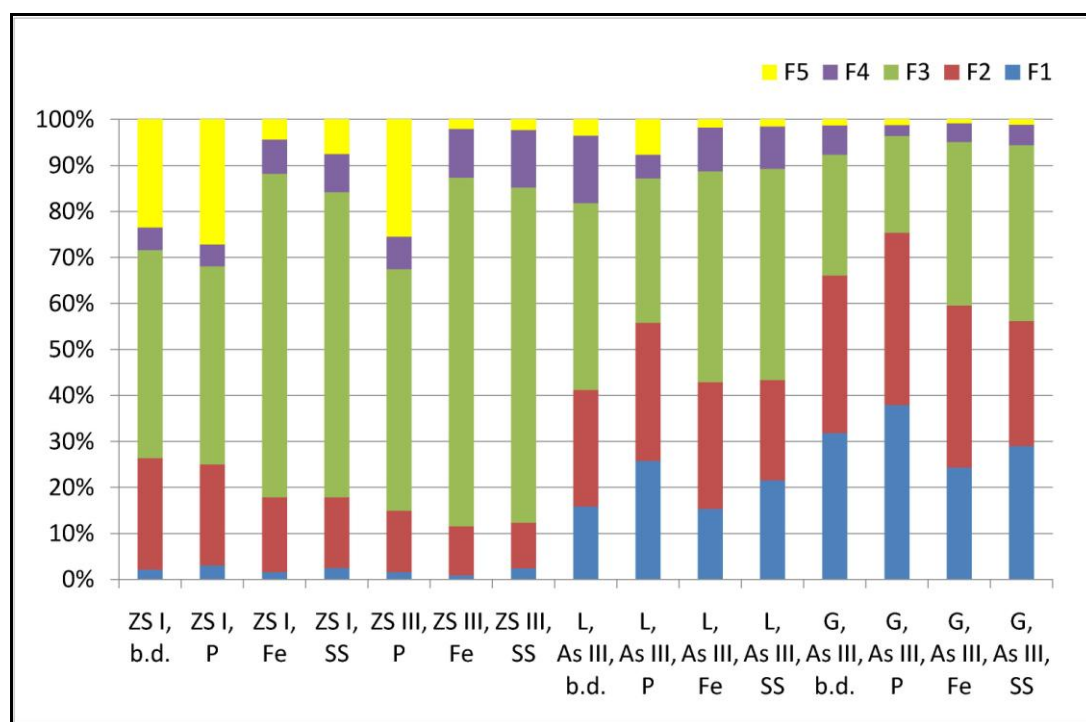
7. Wyniki analiz szczegółowych

7.1. Ekstrakcja sekwencyjna

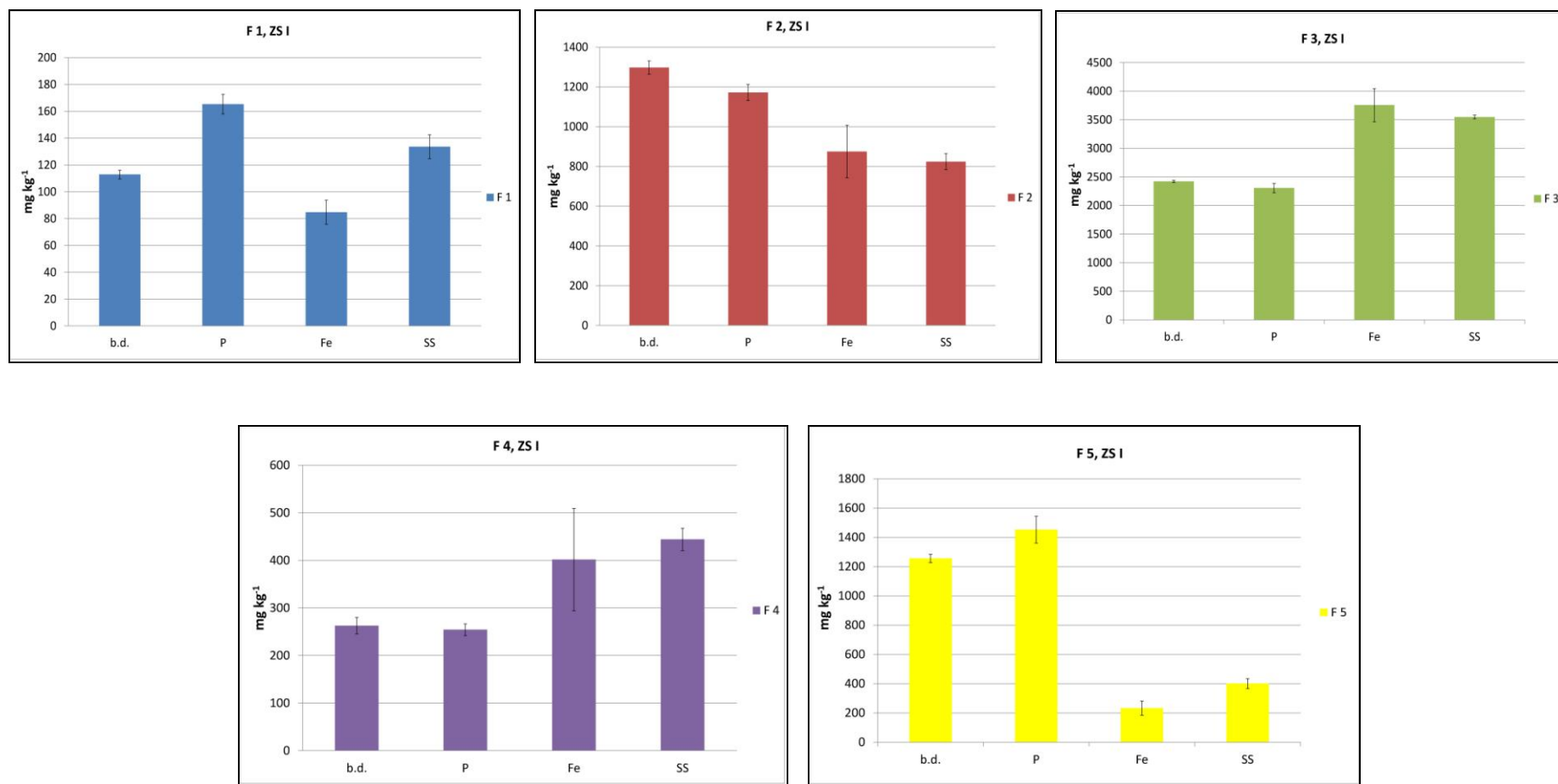
Ekstrakcję sekwencyjną arsenu w próbkach gleby przeprowadzono metodą zaproponowaną przez Wenzla i in. (2001), jako specyficzną dla tego pierwiastka. Przeprowadzono analizę dla wybranych próbek z doświadczenia inkubacyjnego 2 oraz doświadczenia wazonowego I.

7.1.1. Ekstrakcja sekwencyjna próbek z doświadczenia inkubacyjnego 2

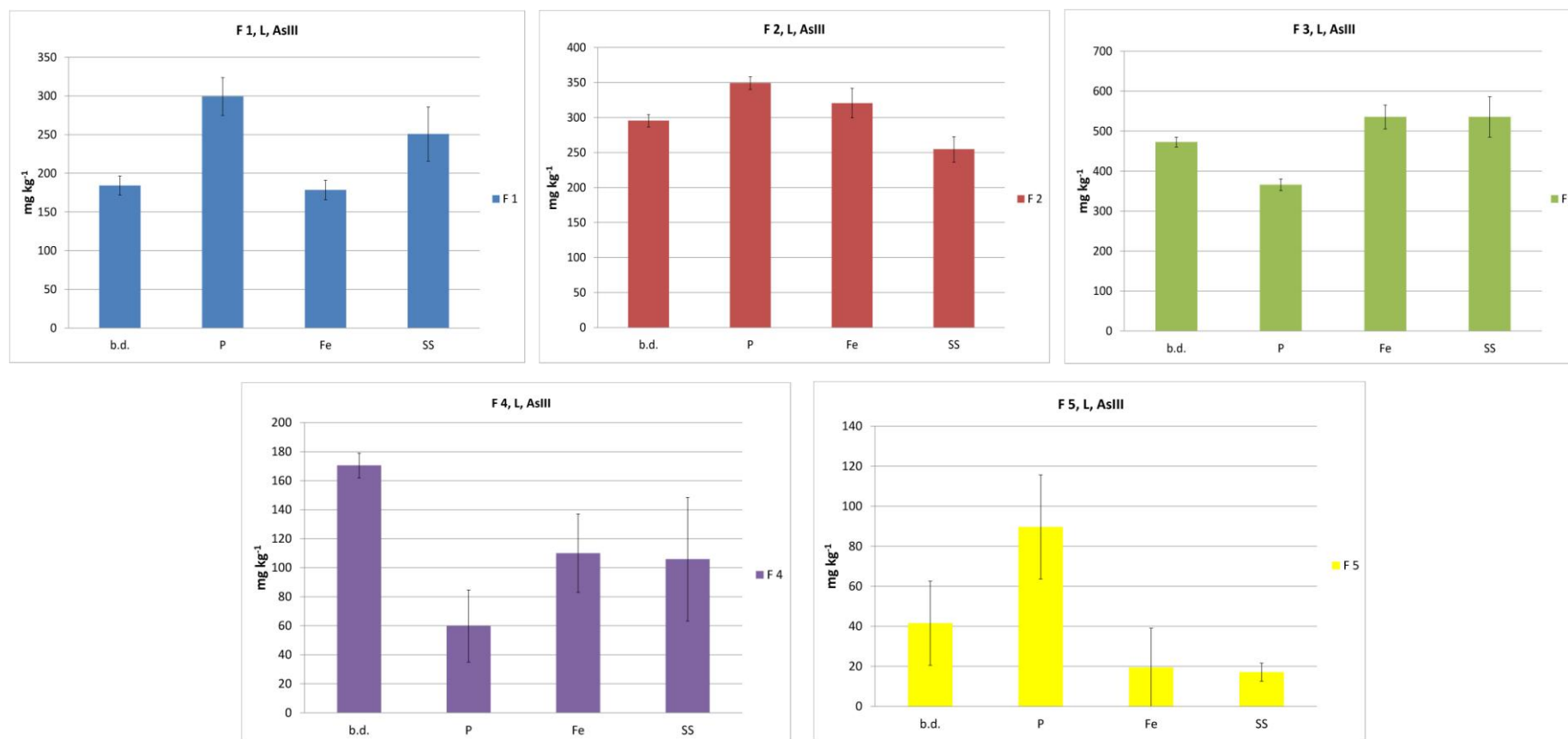
Badanie specjacji As w próbkach z doświadczenia inkubacyjnego 2 przeprowadzono dla gleb ZS I, ZS III oraz L, As III i G, As III – w wariantach kontrolnych (bez dodatków) oraz z dodatkiem fosforu, żelaza i osadów ściekowych. Szczegółowe wyniki specjacji przedstawiono w tabeli 22 oraz na rysunku 33. Uzyskane wyniki wskazują zasadniczą różnicę pomiędzy udziałami procentowymi poszczególnych frakcji w próbkach ze Złotego Stoku i w próbkach sztucznie zanieczyszczanych (Rys. 33).



Rysunek 33. Specjacja As w glebach z doświadczenia inkubacyjnego 2 – na podstawie wyników sekwencyjnej ekstrakcji metodą Wenzla i in. (2001)



Rysunek 34. Zawartość arsenu w poszczególnych frakcjach w glebie ZS I, po zakończeniu doświadczenia inkubacyjnego 2. Analiza statystyczna na poziomie istotności $\alpha=0,05$



Rysunek 35. Zawartość arsenu w poszczególnych frakcjach w glebie L, AsIII po zakończeniu doświadczenia inkubacyjnego 2. Analiza statystyczna na poziomie istotności $\alpha=0,05$

Udział form łatwo rozpuszczalnych (F1) był większy w próbkach L, As III i G, As III niż w próbkach ZS I i ZS III. W glebie ZS I wynosił on od 1,8% do 3%, a w ZS III od 0,9% do 2,1%. W glebie L, AsIII udział frakcji F1 wynosił od 14,6% - 27,7%, a w glebie G, As III od 22,6% do 40,7%. Najwyższe wartości 27,7% (L, AsIII) i 40,7% (G, AsIII) otrzymano w wariancie z dodatkiem fosforu, przy czym potwierdzono istotność różnicy między glebą z dodatkiem fosforu, a bez dodatku tylko dla gleby L, AsIII (rys. 35). Najniższe zawartości As we frakcji łatwo rozpuszczalnej otrzymano w wariantach z dodatkiem żelaza (odpowiednio 14,6% i 22,6%), jednak różnicy między dodatkiem żelaza a jego brakiem nie udało się potwierdzić statystycznie. Dodatek osadów ściekowych zwiększał udział frakcji F1 w stosunku do próbek gleb bez dodatku, ale różnicę tę potwierdzono statystycznie na poziomie $p=95\%$ tylko dla gleb ZS I, ZS III i L, AsIII. Zawartość arsenu we frakcji F1 była wyższa w glebie G niż w glebie L, co zostało potwierdzone też we wcześniejszych analizach (rozdz. 5). Natomiast w glebach ZS I i ZS III udział arsenu we frakcji F1 wahał się w przedziale od 0,9% do 3,4%. W wariantach z dodatkiem żelaza był istotnie niższy (1,8% w ZS I i 0,9% w ZS III) niż w wariantach bez dodatku, co zostało potwierdzone statystycznie. Natomiast najwyższe wartości As we frakcji F1 stwierdzono w glebie ZS I z dodatkiem P (3,0%), oraz w glebie ZS III - z dodatkiem SS (2,1%), a udziały te były istotnie statystycznie ($p=95\%$) wyższe niż w glebach bez dodatków.

Udział form As specyficznie związanych (F2) w badanych glebach był wyższy niż udział form łatwo rozpuszczalnych, szczególnie w glebach ZS. Najniższą zawartość procentową frakcji F2 uzyskano w glebie ZS III z osadami ściekowymi - 8,7%, a najwyższą - w glebie ZS I bez dodatku. Istotnie niższy udział form specyficznie związanych występował w glebach z dodatkiem żelaza w porównaniu z glebami bez dodatku. Analiza frakcji F3 wskazuje, iż w wariancie z dodatkiem Fe następował wzrost udziału As w tej frakcji, zatem można twierdzić, że dodatek żelaza powoduje zmniejszeniu udziału As we frakcji specyficznie związanej F2 na rzecz frakcji F3, co oznacza, że następuje silne wiązanie form As i jego okludowanie w tworzących się amorficznych tlenkach żelaza (rys. 33).

W glebach L i G, sztucznie zanieczyszczanych solami arsenu, udział procentowy As we frakcji F2 był zbliżony do frakcji F1 w glebie G, a w glebie L wyższy. Największy udział frakcja ta miała w glebie G z dodatkiem fosforu - 37,9%, a w glebie L - z również z dodatkiem fosforu (30,5%). Uzyskano potwierdzenie statystyczne różnic w wymienionych glebach z P w porównaniu do gleb bez dodatku. Natomiast istotnie statystycznie najniższą zawartość As we frakcji F2 stwierdzono w wariancie z osadami ściekowymi w glebie L (rys. 35) i G.

Fracja 3 (F3) odzwierciedla udział form As związanych z amorficznymi tlenkami żelaza. Wyniki ekstrakcji wskazują, że we wszystkich analizowanych próbkach gleb frakcja ta była dominująca. Maksymalny udział As we frakcji F3 uzyskano w glebie ZS I z dodatkiem żelaza, gdzie 80,7 % stanowiły formy arsenu związane z tą frakcją. Różnica między glebą ZS I z żelazem, a bez dodatku została potwierdzona w potwierdzona w analizie statystycznej. W analogicznym wariancie (z dodatkiem Fe), w glebie ZS III udział frakcji F3 był podobnie wysoki i wyniósł 76,9%. Niższy udział form As związanych z amorficznymi tlenkami żelaza uzyskano w pozostałych glebach ZS, przy czym najniższe zaobserwowano w glebie ZS I bez dodatku i z dodatkiem fosforu – odpowiednio 45,5% i 42,6%. W glebach L największy udział frakcji F3 (43,4% - 50,4%) stwierdzono w glebach z dodatkiem osadów ściekowych oraz z dodatkiem żelaza (43,5%-47,9%), co zostało potwierdzone w analizie statystycznej. Natomiast w obu glebach potwierdzono, że w wariantach z dodatkiem P udział procentowy As we frakcji F3 jest istotnie niższy niż w wariantach bez dodatku (i wynosi odpowiednio dla gleb L i G: 30,2% i 19,1%). Wskazuje to, że dodatek P do gleby wpływa na desorpcję arsenu związanego specyficznie (F2), a nie z frakcją związaną z amorficznymi tlenkami żelaza.

Udział procentowy form arsenu związanego z krystalicznymi tlenkami żelaza był niski i wahał się w przedziale 4,7% - 10,9% w glebach ZS i od 2,3% do 14,1% w glebach L i G z arseninem sodu (AsIII). W glebach złotostockich największą zawartość frakcji F4 stwierdzono w wariantach z dodatkiem żelaza i osadów ściekowych otrzymując potwierdzenie statystycznie na poziomie istotności $\alpha=0,05$ w stosunku do gleb bez dodatku. W glebie ZS I było to odpowiednio 8,5% i 8,7%, a w glebie ZS III 10,8% i 10,9%. Najniższą procentową zawartość frakcji F4 uzyskano w glebach bez dodatku i z dodatkiem fosforu (4,7-4,9%) w glebie ZS I i 7,1% w glebie ZS III. Z gleby L we frakcji F4 wyekstrahowano maksymalnie 14,1% As, a z gleby G – 6,5% arsenu (w wariancie bez dodatku). Natomiast najniższy udział form arsenu związanego z krystalicznymi tlenkami Fe (F4) stwierdzono w glebach z dodatkiem fosforu, co potwierdziła analiza statystyczna. W glebie L było to 4,4%, a w G 2,3%. Może to wskazywać, że i ta frakcja arsenu, podobnie jak F3, ulega zubożeniu w glebie w wyniku wprowadzenia fosforanów.

Ostatnia z ekstrahowanych frakcji, to frakcja rezydualna (F5), w której arsen jest najsilniej związany. Zgodnie z oczekiwaniami, udział form As związanych z tą frakcją był wyższy w glebach ZS niż w glebach L i G. W przypadku gleby ZS I uzyskano najwyższą zawartość As we frakcji F5 w wariancie z dodatkiem P (26,8%), a najniższą – w wariancie z dodatkiem Fe (5%). Różnice te zostały potwierdzone statystycznie, na poziomie istotności $p=95\%$. Porównując wyniki zawartości As we frakcji F5 dla wariantów z P i Fe oraz wyniki

analizy frakcji F4 można stwierdzić, iż dodatek fosforu wpływa na zwiększenie udziału rezydualnego As, natomiast wprowadzenie Fe do gleb wpływa na jego przechodzenie do frakcji F3 i F4. W przypadku gleby ZS III najniższy udział frakcji F5 stwierdzono w wariancie z SS. W glebie L udział frakcji F5 wahał się w przedziale od 1,5% do 7,7% z minimum w glebach z dodatkiem SS i maksimum – w wariancie z P, przy czym różnice udziału As we frakcji F 5 między tymi wariantami nie są istotne statystycznie. Z gleby G wyekstrahowano tylko od 0,9% do 1,3%, z maksymalnym udziałem frakcji rezydualnej w glebach bez dodatku, a najmniejszym w glebie z dodatkiem żelaza, jednak różnice między tymi wariantami nie są istotne statystycznie.

Sumując dwie pierwsze frakcje (F1+F2) stwierdzono, że w glebie G prawie 65% arsenu związanego z fazą stałą gleby może ulec uruchomieniu w wyniku już niewielkich zmian w środowisku. W glebie L ilość arsenu potencjalnie stwarzającego zagrożenie stanowi ok. 46%. Mniejsze zagrożenie występuje w glebach (ZS), jednak średnio 22,6% w glebie ZS I i 12,5% w ZS III to nadal wartości wysokie, które w wyniku procesów desorpcji potencjalnie mogą przedostać się do wód gruntowych.

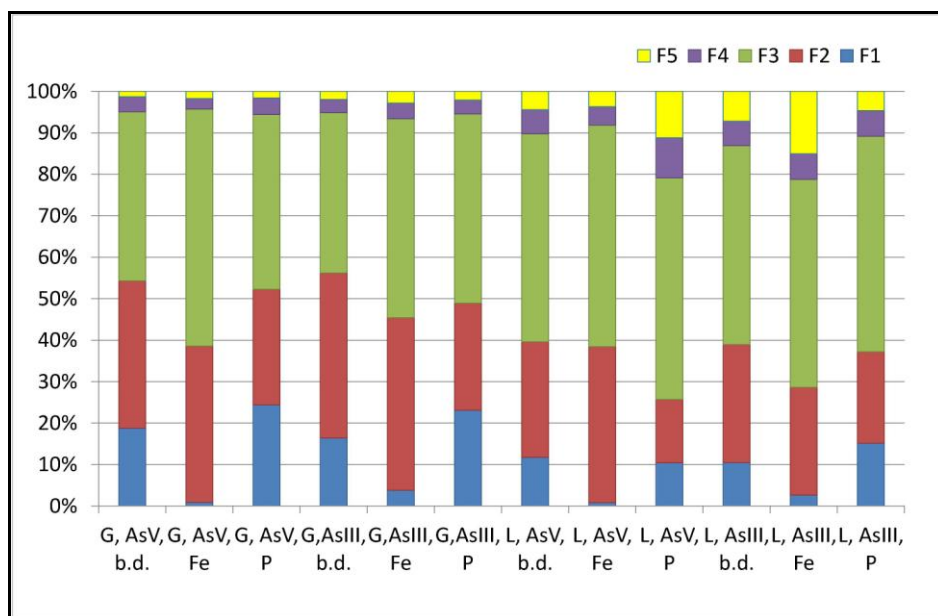
Dla uzyskanych wyników sekwencyjnej ekstrakcji policzono odzysk As, czyli wartość wyrażoną w procentach, otrzymaną z ilorazu sumy As we wszystkich frakcjach i całkowitej jego zawartości. Odzysk informuje o poprawności przeprowadzonej ekstrakcji sekwencyjnej i jej wydajności. Średni odzysk As wyniósł 99,5% (tabela 22), co należy uznać za wartość wysoce zadawalającą, choć w poszczególnych próbkach wartości odzysku znacznie się różniły i zawierały się w przedziale od 81% do 123%.

7.1.2. Ekstrakcja sekwencyjna próbek z doświadczenia wazonowego I

Próbki pochodziły ze wszystkich wariantów doświadczenia wazonowego I, zarówno z gleb bez dodatku, jak i z dodatkiem P i Fe. Wyniki szczegółowe specjacji As przedstawiono w tabeli 23, a procentowy udział poszczególnych frakcji na rys. 36 i 37. Ze względu na brak wystarczającej liczby powtórzeń, na wykresach przedstawiono wartości średnie, natomiast nie wykonano analizy istotności różnic między udziałami poszczególnych frakcji w różnych wariantach doświadczenia.

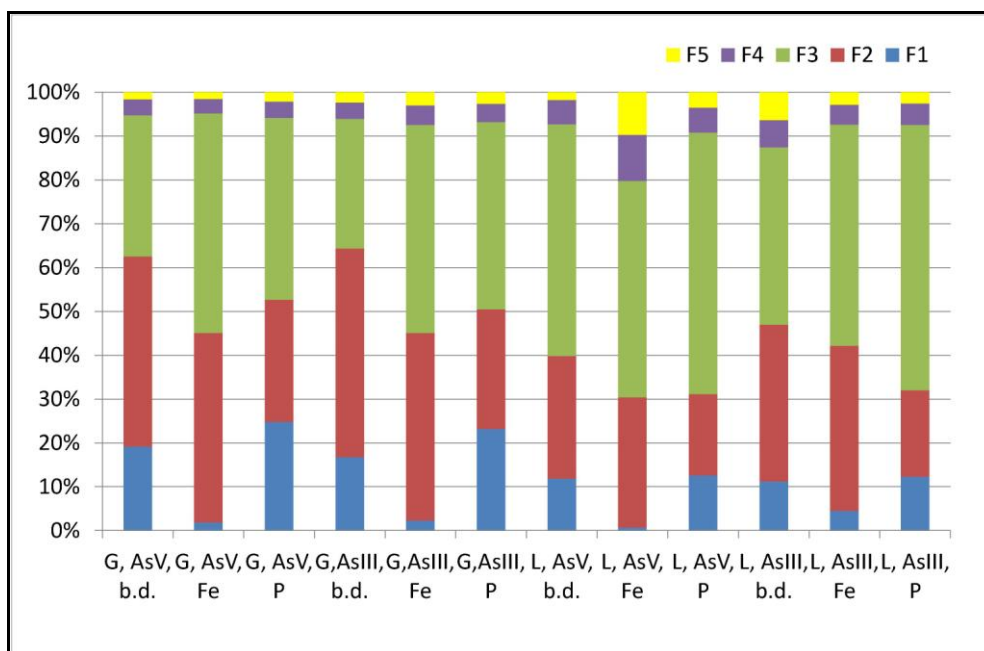
Uśredni udział form łatwo rozpuszczalnych As (F1) był większy w glebie G niż w glebie L. W obu glebach zaobserwować można, iż najniższy udział frakcji F1, zawierający się w przedziale 0,9-3,8% w przypadku gleby G oraz 0,7-4,5% w glebie L, oznaczano w wariantach z dodatkiem Fe, a najwyższy: 23-24,8% dla G i 10,4-15,1% dla L – w wariantach z dodatkiem P, podobnie jak w doświadczeniu inkubacyjnym. Porównanie wyników specjacji próbek z

Zawartość procentowa form As specyficznie związanych (F2) była w glebach G i L, podobnie jak to stwierdzono w doświadczeniach inkubacyjnych, wyższa niż zawartość frakcji F1 i osiągała wartość nawet 47,6% w wariancie G-AsIII, b.d. w doświadczeniu z rzepakiem. Udział frakcji F2 w glebie G mieścił się w przedziale od 25,8% do 47,6%, a w glebie L od 15,4% do 37,6%. Najniższy udział procentowy form As specyficznie związanych w glebie G (w granicach 25,8-27,9%), stwierdzono w wariantach z dodatkiem fosforu. W glebie L najwyższe wartości zaobserwowano w wariantach z dodatkiem żelaza (26-37,6%), za wyjątkiem gleby L, AsIII z doświadczenia z kłosówką wełnistą. Porównując wyniki specjacji As w doświadczeniu wazonowym I i w doświadczeniu inkubacyjnym 2, można stwierdzić, że w obu przypadkach potwierdzono najwyższy udział frakcji F2 w glebie G, AsIII, Fe. Zaobserwowano też niższe zawartości As we frakcji F2 w próbkach z dodatkiem P, zarówno w glebie G, jak i L, w przeciwieństwie do wyników uzyskanych z gleb doświadczenia inkubacyjnego 2.



124

Udział procentowy frakcji F4 przekraczał 10% tylko w dwóch przypadkach, obu w glebie L. Przeciętna zawartość frakcji F4 w glebie G zawierała się w granicach od 2,6% do 4,5%, a w glebie L od 4,5% do 10%. Suma frakcji F3 i F4 pozwoliła na stwierdzenie, iż w glebie L średnio ponad 58% całkowitej zawartości arsenu jest silnie związana z tlenkami żelaza (lub okludowana w tych tlenkach), a w glebie G wartość ta wynosi około 47%. Porównując uzyskane wyniki do rezultatów ekstrakcji sekwencyjnej próbek inkubowanych zaobserwowano, że otrzymana suma frakcji F3 i F4 jest znacznie wyższa w doświadczeniu wazonowym I niż inkubacyjnym 2, średnio o 20% w glebie L i 23% w glebie G. Być może można to przypisać postępującej krystalizacji i stabilizacji tlenków żelaza w glebach w warunkach doświadczenia wazonowego.



Udział form rezydualnych As (F5) zazwyczaj stanowi niewielki procent całkowitej zawartości As w glebach (Karczewska i in. 2005; Krysiak 2007). Także w badanych próbkach gleb udział ten był niewielki i średnio wynosił 4 %, jednakże w 2 wariantach stwierdzono ponad 10% udział As we frakcji rezydualnej. Te wyższe wartości dotyczyły gleby L: 15% (z dodatkiem Fe) i 11% (z dodatkiem P) w doświadczeniu z kłosówką wełnistą.

Suma dwóch pierwszych frakcji F1+F2 uwidoczniła, iż średni udział form As potencjalnie rozpuszczalnych we wszystkich glebach waha się w przedziale od 34% do 51,8%. Uzyskane wyniki wskazują, iż wyższe wartości dotyczą gleby G, szczególnie w wariantach, w których arsen wprowadzono do gleby w formie As III. Ogólnie najwyższą wartość udziału procentowego frakcji F1 i F2 uzyskano w przypadku gleby G-As III – 51,8%, natomiast najniższą - dla gleby L-As V (34,2%).

Odzysk As w tej serii ekstrakcji średnio wynosił 130%, co jest wartością dość wysoką, a w poszczególnych próbkach wahał się w granicy od 98,7% do 161%. Nie znaleziono źródła systematycznego błędu, który mógł spowodować zawyżenie wyników udziału As w którejś z analizowanych frakcji, dlatego też wynik tej serii można traktować jedynie jako orientacyjne.

7.1.3. Podsumowanie uzyskanych wyników ekstrakcji sekwencyjnej

Wyniki ekstrakcji sekwencyjnej z doświadczenia inkubacyjnego 2 uwidoczniły różnicę pomiędzy próbkami gleb pochodzącymi z rejonu wydobywania i przetwórstwa rud arsenonośnych (ZS I i III), a glebami, do których arsen wprowadzono z wykorzystaniem odczynników chemicznych (L i G). Różnicę tę najlepiej obrazuje udział frakcji rozpuszczalnej (F1) oraz specyficznie związanej (F2), które w glebach sztucznie zanieczyszczonych był wyższy niż w glebach ZS, a suma obu frakcji stanowiła nawet 60% całkowitej zawartości As. Analizy próbek z doświadczenia wazonowego 1 z tymi samymi glebami potwierdzają bardzo wysoki udział frakcji F1 i F2 (łącznie 52% całkowitej zawartości arsenu). Tak duża zawartość w glebie frakcji potencjalnie rozpuszczalnych mogłaby stwarzać ogromne zagrożenie dla środowiska, w tym dla wód gruntowych, ale należy podkreślić, że ten materiał glebowy przygotowano w laboratorium i takie gleby nie występują w środowisku. Należy zwrócić uwagę, iż udział frakcji 1 był większy w glebie G, niż z glebie L, co sprzeczne jest z ogólną wiedzą na temat wpływu pojemności sorpcyjnej gleb na zatrzymywanie metali ciężkich i arsenu. Wyniki te potwierdziły także wcześniej wykonane analizy opisane szerzej w rozdziale 5.2. W doświadczeniu z dwiema różnymi glebami zanieczyszczonymi arsenianem sodu Juhasz i in. (2008) otrzymali z ekstrakcji 2 pierwszych frakcji nawet 70-80% całkowitej zawartości As. Uziarnienie gleb wykorzystanych w ich doświadczeniu było zbliżone do gleb G i L użytych w niniejszej pracy, jednak wyniki ekstrakcji frakcji F1 i F2 były zgoła odmienne. Wyższe udziały form łatwo rozpuszczalnych Juhasz i in. (2008) uzyskali w glebie lżejszej o podobnym uziarnieniu do gleby L, a niższe – w glebie zwięźlejszej, odpowiadającej składem granulometrycznym G. Wątek większej rozpuszczalności As w glebie G niż L dyskutowano już w rozdziale 5.2.

Udział procentowy As we frakcji 3, 4 i 5 w glebach ZS był większy niż w dwóch pierwszych frakcjach, niemniej jednak suma dwóch pierwszych frakcji (F1+F2) stanowiła ok. 20% całkowitej zawartości arsenu, czyli ok. 1000 mg As kg⁻¹. Również Taggart i in. (2004), uzyskali do ok. 20% udziału frakcji F1 i F2 analizując materiał glebowy z doliny rzeki, wzdłuż której rozlały się odpady poflotacyjne.

Zastosowane dodatki – zarówno w doświadczeniu inkubacyjnym 2, jak i w doświadczeniu wazonowym - miały w głównej mierze wpływ na udział arsenu we frakcjach F1 i F2, niemniej jednak wyraźny wpływ dodatku fosforu na udział form ekstrahowanych z frakcji F5 zaobserwowano w doświadczeniu inkubacyjnym 2. Natomiast w glebach z doświadczenia wazonowego dodatek P wpływał na zwiększony udział As w frakcji F4. Być może przyczyną większego udziału As we frakcji 5 pod wpływem dodatku P można upatrywać w procesie strącania, który w obecności np. jonów wapnia mógł połączyć się w nierozpuszczalny fosforan wapnia. Jest to tym bardziej prawdopodobne, iż w części gleb doświadczenia inkubacyjnego odczyn był obojętny lub lekko kwaśny. Choć dla odmiany, w próbkach z gleby ZS III, gdzie również zaistniała wspomniana zależność, pH wynosiło 5,4. W przeważającej ilości próbek dominującą frakcją arsenu była frakcja F3 związana z amorficznymi tlenkami żelaza. Wielu autorów potwierdza dominujący udział tej formy As w glebach (Wenzel i in. 2001; Fitz i Wenzel 2002; Taggart i in. 2004; Karczewska i in. 2005; Krysiak 2007; Tang i in. 2007). Wyjątek stanowiły próbki gleby G z doświadczenia wazonowego I, gdzie dominowały frakcje F1 i F2.

Udział procentowy frakcji F4 był bardzo zróżnicowany i nie ustalono żadnej tendencji. Różnice istotne statystycznie uzyskano między wariantem b.d., a Fe i SS w glebie ZS I i L, AsIII, tyle tylko, że w glebie ZS I ilość arsenu związana z frakcją 4 była wyższa, a w glebie L, AsIII niższa. Natomiast udział procentowy frakcji F5 był większy w próbkach z gleb (ZS), często powyżej 10%, a nawet 20%.

Porównując wyniki ekstrakcji sekwencyjnej dla próbki G, AsIII z doświadczenia inkubacyjnego 2 i wazonowego I uzyskano nieco odmienny rezultat w poszczególnych frakcjach. Udział frakcji F1 był wyższy w glebie z doświadczenia inkubacyjnego 2, dwukrotnie w glebie b.d., a nawet 8-krotnie w glebie z Fe, a niższy w glebie z doświadczenia wazonowego I. W glebach z obu doświadczeń, najwyższy udział procentowy łatwo rozpuszczalnego arsenu wyekstrahowano z wariantu z P. Natomiast udział frakcji 2 wskazuje, że jej ilość była porównywalna do ilości uzyskanej we frakcji 1 w próbkach inkubowanych, przy czym więcej As otrzymano z gleb z dodatkiem P, a znacznie wyższe wyniki F2 uzyskano w glebach z doświadczenia wazonowego I. W doświadczeniu tym w glebach z

dodatkiem P ilość uwalnianego As związanego z frakcją 2 była niższa w stosunku do gleb z dodatkiem Fe i b.d. Otrzymane wyniki dla dwóch pierwszych frakcji w doświadczeniu inkubacyjnym i wazonowym sugerują, że przyczyną mniejszej ilości łatwo rozpuszczalnego arsenu w doświadczeniu wazonowym mogła być obecność roślin.

We frakcji 3 wyższe wyniki As stwierdzono w glebach z doświadczenia wazonowego. W glebach z obu doświadczeń uzyskano większy udział frakcji 3 w próbkach z dodatkiem Fe, a w glebie z doświadczenia wazonowego także z dodatkiem P. Wyniki ekstrakcji frakcji 3 z gleb z dodatkiem żelaza wskazują, iż arsen ulega wiązaniu z amorficznymi tlenkami żelaza. Natomiast większy udział frakcji 3 w glebach z dodatkiem P pochodzących z doświadczenia wazonowego jest następstwem niższej jego zawartości we frakcji 2.

Analizując udział frakcji 4 i 5 w glebach z obu doświadczeń otrzymujemy zbliżone wyniki, sięgające do 7% - 8 %. Zatem w glebie G, AsIII pochodzącej z doświadczenia inkubacyjnego 2 i wazonowego I najwięcej arsenu związanego jest z frakcją 1, 2 i 3.

7.2. Wyniki analizy DGT

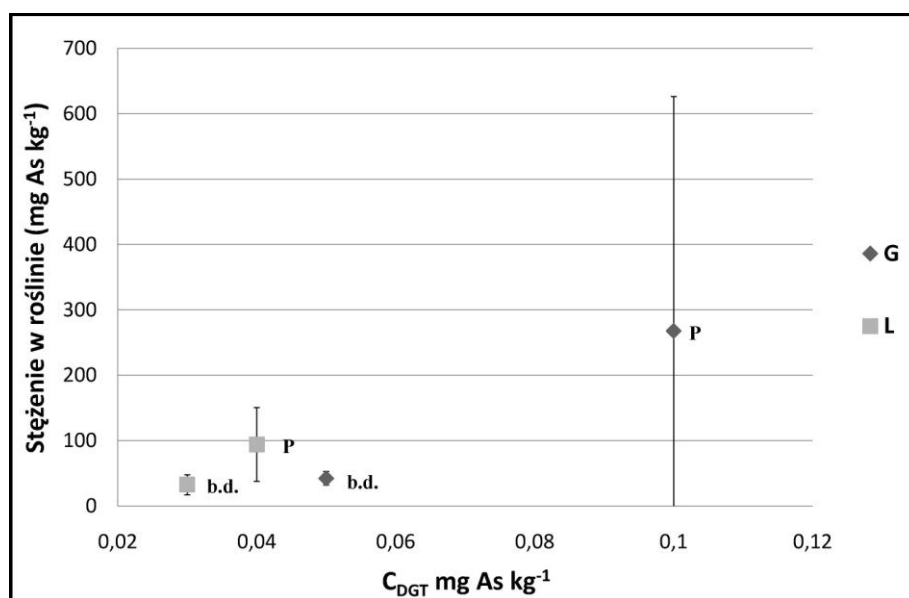
Analizę DGT przeprowadzono w 2 próbkach gleby G i 2 próbkach gleby L z doświadczenia wazonowego I. Oznaczone wartości C_{DGT} porównano z zawartością arsenu w roślinach oraz udziałem form łatwo rozpuszczalnych w analizowanych glebach. Wszystkie oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach. Szczegółowe wyniki zamieszczono w tabeli 24.

Wyniki uzyskane w powtórzeniach były zbliżone, co wskazuje na poprawnie wykonaną analizę. Średnie stężenie labilnego arsenu na granicy faz (C_{DGT}), oznaczone metodą DGT, było zróżnicowane i wyższe w glebie G niż L. Otrzymano średnio dwa razy wyższe wartości C_{DGT} w wariantach z dodatkiem fosforu w porównaniu do gleb bez dodatku. Dla gleby G bez dodatku uzyskano wartość C_{DGT} równą $0,05 \text{ mg L}^{-1}$, a z dodatkiem P- $0,1 \text{ mg L}^{-1}$. Natomiast dla gleby L odpowiednie wartości C_{DGT} wynosiły: $0,03 \text{ mg L}^{-1}$ i $0,04 \text{ mg L}^{-1}$. Rezultat ten odpowiada wynikom uzyskanym z ekstrakcji łatwo rozpuszczalnych form As. Zwiększoną mobilność arsenu zaobserwowano w wariantach z dodatkiem fosforu, co zostało potwierdzone statystycznie na poziomie istotności $\alpha=0,05$. Dodatek fosforu zwiększył rozpuszczalność As średnio o 45% w glebie G i o 18% w glebie L. Ogólna ilość łatwo ekstrahowalnego arsenu była niższa w glebie L.

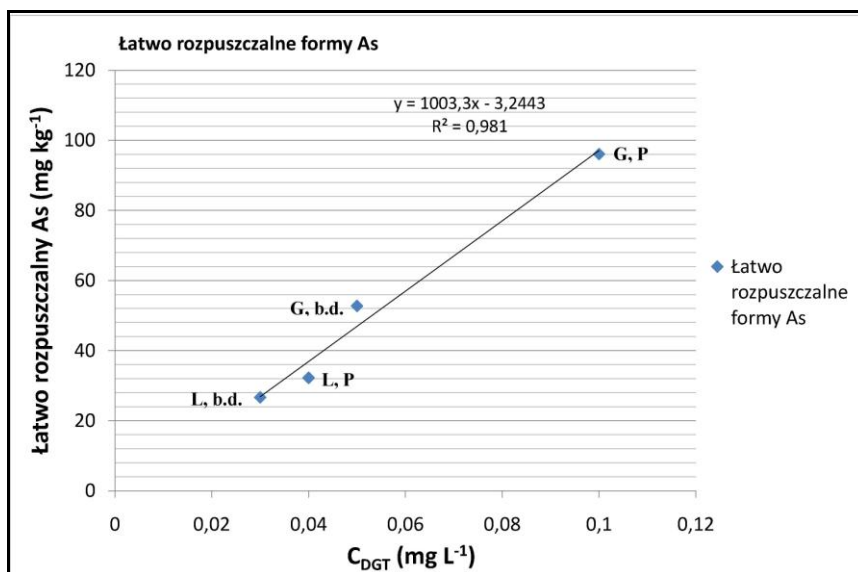
Urządzenie DGT, podobnie jak rośliny, powoduje lokalne zmniejszenie stężenia pierwiastka w roztworze glebowym, wskutek czego następuje uzupełnienie puli tego pierwiastka z fazy stałej gleby. W celu prawidłowej interpretacji danych uzyskanych z analizy

DGT otrzymane wyniki porównano z rezultatem doświadczenia wazonowego I. Średnia biomasa części nadziemnych kłosówki wełnistej mieściła się w przedziale od 0,85 g s.m./wazon do 2,93 g s.m./wazon w wariantach z dodatkiem fosforu, a w wariantach bez dodatku na obu glebach biomasa wynosiło średnio 1,1 g s.m./wazon. Stężenia As w nadziemnych częściach roślin również były wyższe na glebach z dodatkiem fosforu w porównaniu do roślin rosnących na glebach bez tego dodatku. Średnia zawartość As w roślinach z wazonów bez dodatku P wynosiła 42,3 mg kg⁻¹ s.m. na glebie G i 32,5 mg kg⁻¹ s.m. na glebie L. Natomiast w wariantach z dodatkiem P średnia zawartość As w roślinach uprawianych na glebie G wynosiła 268 mg kg⁻¹ s.m., a na glebie L: 94,0 mg kg⁻¹ s.m..

Wzajemną zależność średniego stężenia labilnego As na granicy faz (C_{DGT}), oznaczonego metodą DGT, stężenia As w biomacie roślin oraz stężenia łatwo ekstrahowalnego As w glebach przedstawiono na rysunkach 38 i 39. Zestawienie wyników analizy materiału roślinnego i stężenia C_{DGT} (rys. 28), wskazuje, iż dodatek P do gleby G lub L powoduje wzrost stężenia As w biomacie kłosówki wełnistej i jednocześnie wzrost oznaczonego stężenia C_{DGT} . Jednak efekt ten obserwuje się tylko wówczas, gdy analizowana jest każda z gleb z osobna. Nie udało się potwierdzić jednoznacznej liniowej zależności stężeń As w biomacie kłosówki i stężeń C_{DGT} w przypadku, gdy zestawiane są wyniki dla różnych gleb (rys. 38).



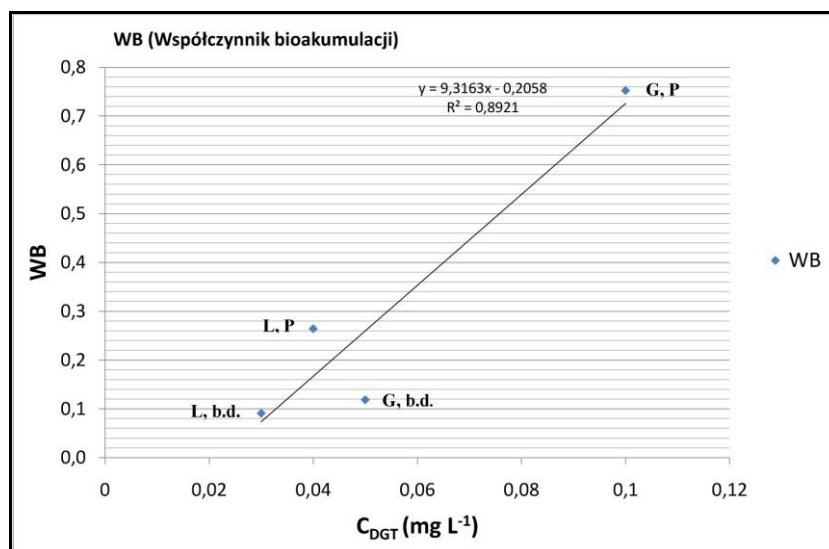
Rysunek 38. Zależność między wartościami C_{DGT} a stężeniem arsenu w częściach nadziemnych kłosówki wełnistej



Rysunek 39. Zależność między wartościami CDGT a wynikami ekstrakcji łatwo rozpuszczalnych form As

Wartości C_{DGT} zestawiono również z wartościami współczynnika bioakumulacji arsenu WB. Wyższy współczynnik WB uzyskano w wariantach z dodatkiem fosforu, co jest następstwem wyższych koncentracji As w roślinach. Zestawienie wartości średniego stężenia labilnego As na granicy faz (C_{DGT}) z wartościami WB przedstawiono na rys. 30. W tym wypadku otrzymano zależność rosnącą, zbliżoną do liniowej ($R^2=0,8921$)

Porównując stężenia arsenu C_{DGT} z wynikami ekstrakcji łatwo rozpuszczalnych form tego pierwiastka (rys. 39), również uzyskano zależność rosnącą, zbliżoną do liniowej ($R^2=0,981$), pomiędzy tymi parametrami. Opisywana zależność jest bardzo silna i w praktyce, dla oceny potencjalnej fitoakumulacji arsenu można skomplikowaną i kosztowną metodę DGT zastąpić prostą i znacznie tańszą ekstrakcją form łatwo rozpuszczalnych.



Rysunek 40. Zależność pomiędzy wartościami CDGT a współczynnikiem bioakumulacji arsenu WB

Porównując wyniki uzyskane z analizy DGT z zawartością arsenu w roślinach nie otrzymano zależności liniowej. Podobny rezultat otrzymali Koster i in. (2005), którzy testowali kilka odczynników służących do ekstrakcji przyswajalnych form cynku oraz porównywali wyniki DGT z faktycznym pobraniem Zn przez rośliny: sałatę, łubin i życicę trwałą, a także przez równonogi. W doświadczeniu tych autorów również nie udało się potwierdzić jednoznacznej zależności pomiędzy wartościami efektywnego stężenia Zn oznaczonego metodą DGT, a pobraniem Zn z gleby przez rośliny i równonogi.

Brak dobrej korelacji pomiędzy wynikami uzyskanymi metodą ekstrakcji form łatwo rozpuszczalnych arsenu oraz wynikami DGT, a rzeczywistym pobraniem As przez rośliny, może wynikać z faktu, że przy odpowiednio wysokich stężeniach toksycznego pierwiastka w glebie przestają działać mechanizmy tolerancji i detoksykacji, warunkujące proporcjonalną zależność pobrania przez rośliny od stężenia w roztworze glebowym, co omówiono już wcześniej, w rozdziale 8. Chociaż układ DGT niejako naśladuje warunki panujące w strefie korzeniowej roślin, czyli lokalnie obniża koncentrację danego pierwiastka w roztworze glebowym (w wyniku sorpcji w warstwie żelu), wymuszając jednocześnie ponowne jego uzupełnienie z fazy stałej gleby, to jednak nie może w pełni odtworzyć innych, specyficznych, mechanizmów biorących udział w pobraniu danego pierwiastka przez rośliny.

Warto na koniec wspomnieć, iż koszt zakupu zestawów DGT i wykonania analiz jest nieporównywalnie wyższy od kosztów standardowo przyjętych testów ekstrakcji. Tymczasem prosta ekstrakcja np. z wykorzystaniem $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ daje wyniki, które dobrze korelują z wynikami DGT, a jest tańsza i szybsza.

7.3. Wyniki analizy mikrobiologicznej na płytkach EcoPlate BIOLOG

Próbki glebowe do analiz pobrano z doświadczenia wazonowego III. Reprezentowały one gleby, do których wprowadzono różne dodatki i na których rosły różne rośliny. Spis gatunków roślin oraz gleb, dla których wykonano analizy, a także szczegółowe wyniki analiz zamieszczono w tabelach 25 i 26. Dla uzyskanych odczytów obliczono wartość AWCD (z ang. Average Well Color Development) oznaczającą średnią absorbancję pojedynczego dołka na płytce i na tej podstawie ustalono kinetykę powstawania zabarwienia. W większości próbek powstawanie zabarwienia było opóźnione w czasie i następowało dopiero po 63 h inkubacji próbek, choć np. w glebie spod olszy ZS III z dodatkiem żelaza oraz w glebie ZS II spod kłosówki wełnistej z dodatkiem P, wzrost aktywności mikroorganizmów nastąpił już po 26 h. W wariantcie z glebą ZS II bez dodatku spod kłosówki wełnistej wzrost absorbancji nastąpił już w 17 h po zaszczepieniu płytek, ale aż do 6 odczytu, po 73 h, był on bardzo

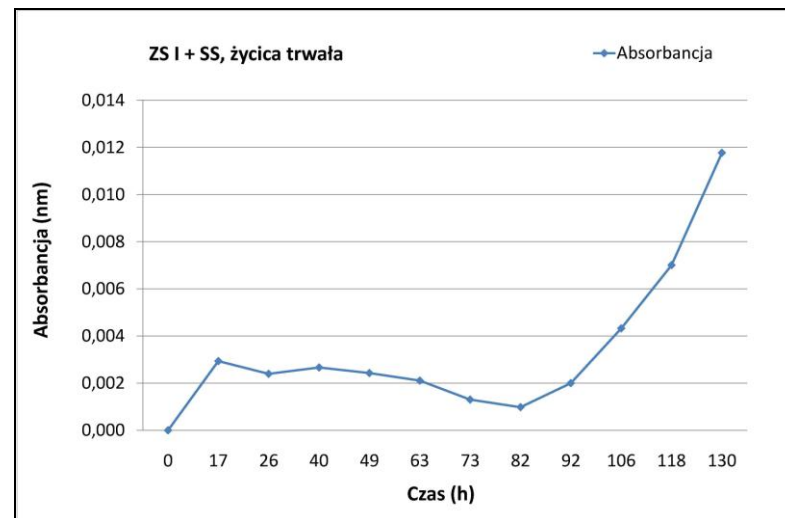
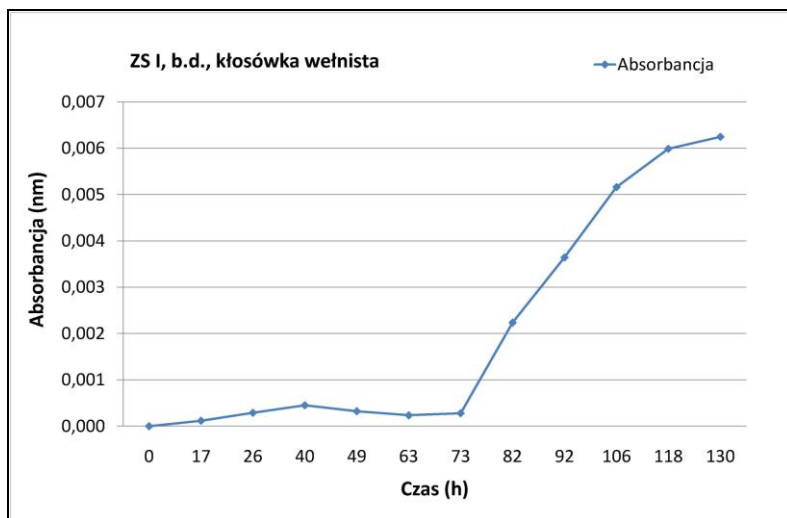
niewielki. Dopiero po tym czasie nastąpił gwałtowny wzrost aktywności mikroorganizmów. Niektóre wyniki AWCD wskazują na pewne zaburzenia podczas powstawania zabarwienia np. w próbce z gleby ZS I spod życicy trwałej z wprowadzonymi osadami ściekowymi widoczny jest wzrost absorbancji już po 17 h inkubacji próbek, jednak w kolejnych godzinach następował spadek absorbancji i dopiero w 83 h nastąpił gwałtowny wzrost zużycia substratów (rys.41 b). Dla wybranych próbek przedstawiono zależność pomiędzy wartością absorbancji a czasem reakcji mikroorganizmów w danej próbce (rys. 41-44).

AAUC (z ang. Average Area Under the Curve), czyli średnie pole powierzchni pod krzywą, jest dobrym wskaźnikiem ogólnej aktywności mikrobiologicznej. W celu zminimalizowania wpływu gęstości inokulum, wyniki uzyskane dla poszczególnych substratów podzielono przez średnie pole pod krzywą AAUC dla danej płytki. AAUC obliczono po 92 h i 130 h inkubowania próbek. W wyniku uszkodzenia 4 płytek (22A, 24B, 27B i 28A) w trakcie trwania analiz w 106 h, AAUC policzono dla nich z okresu 92 h. Zależność pomiędzy rodzajem wprowadzonego dodatku do gleb ZS I i ZS II a aktywnością mikrobiologiczną jest tak zróżnicowana, że trudno jest wskazać jakiejkolwiek tendencje. Należy zaznaczyć, że największe wartości AAUC obliczone dla gleby ZS I i równe 6,60, uzyskano z doświadczenia z kłósówką wełnistą z dodatkiem P, a dla gleby ZS II – 6,24 – w wariancie z dodatkiem SS, również spod kłósówki. Natomiast w próbkach pochodzących z gleb ZS III i IV średnie pole powierzchni pod krzywą było wyższe niż w glebach ZS I i ZS II, przy czym zauważono zależność pomiędzy rodzajem wprowadzonego dodatku, a aktywnością mikrobiologiczną określaną za pomocą AAUC. Najmniejsze pole powierzchni, równe 1,09, uzyskano dla gleby ZS III z dodatkiem P z doświadczenia z kłósówką wełnistą. Stosunkowo niską wartość AAUC, wynoszącą 5,68, uzyskano też dla gleby ZS IV, również z doświadczenia z kłósówką. Natomiast w wariantach z dodatkiem Fe i SS wartości AAUC były wyższe, uzyskując w doświadczeniach z kłósówką wełnistą najwyższą wartość 11,61 dla gleby ZS III z dodatkiem SS (rys. 41 a). Spośród wszystkich próbek największą aktywność mikrobiologiczną zarejestrowano w glebie ZS III z doświadczenia z olszą czarną po wprowadzeniu Fe, gdzie wartość AAUC była równa 41,18. Natomiast w glebach z doświadczenia z kukurydzą pole powierzchni pod krzywą było najwyższe (równe 6,13) w przypadku gleby ZS II b.d., a najniższe - w przypadku gleb ZS I, Fe (1,53) i ZS I, b.d. (1,7). Dodatek SS do gleby ZS III wpłynął na zwiększenie aktywności biologicznej, w porównaniu do wariantów b.d. i z dodatkiem P (rys. 45 b).

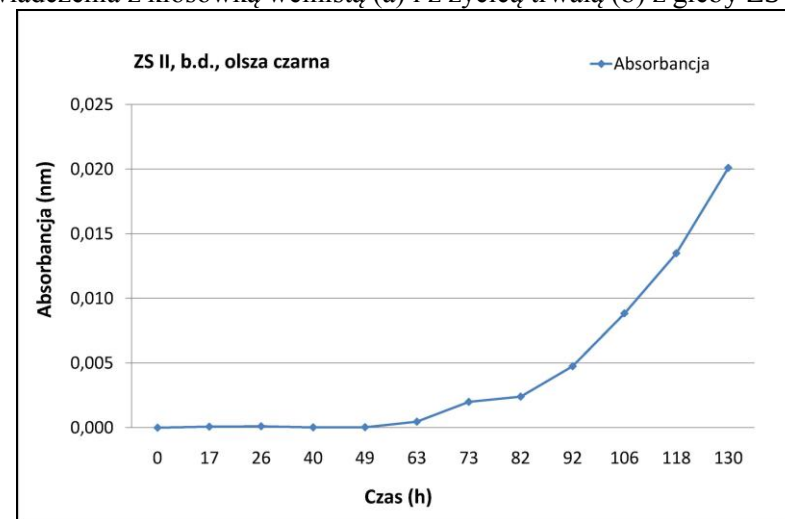
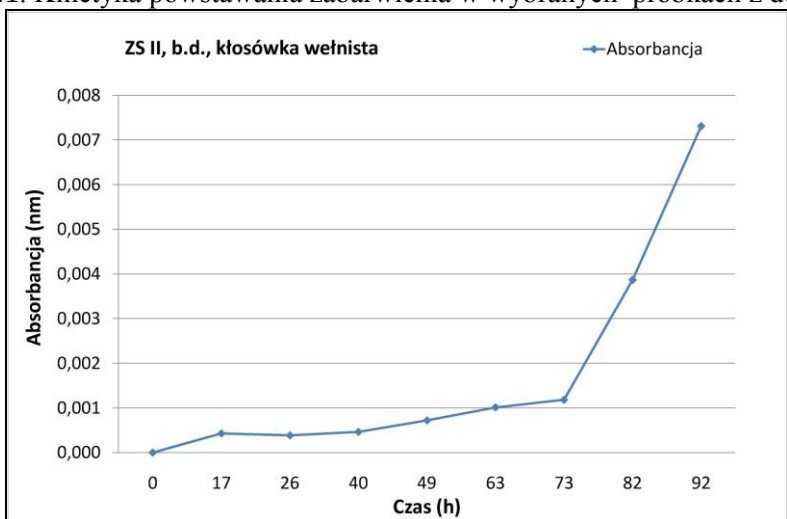
Na podstawie uzyskanych wyników obliczono wartości wskaźnika H' , bazującego na indeksie Shannona-Wiener'a, charakteryzującego różnorodność funkcjonalną

mikroorganizmów oraz wartości wskaźnika R_s (z ang. substrate richness) oznaczającego ilość zużytych substratów na płytce w trakcie jej inkubacji. Uwidoczniła się zależność pomiędzy H' i R_s obliczonymi w 130 h pomiaru. Im niższa wartość H' , tym niższa wartość R_s . Najwyższe wartości H' stwierdzono w glebach ZS III i ZS IV, a wartość maksymalną, wynoszącą 3,01, uzyskano w wariancie z dodatkiem osadów ściekowych dla gleby ZS IV spod kłosówki wełnistej. Najniższy wskaźnik H' , równy 0,54, został osiągnięty w glebie ZS III spod kłosówki bez dodatku (rys. 46 a). Indeks różnorodności funkcjonalnej w glebie ZS I wahał się w przedziale od 0,73 (kłosówka w., bez dodatku) do 2,60 (życica trwała z SS); w glebie ZS II najniższą wartość H' (1,82) stwierdzono w wariancie spod olszy czarnej b.d., a najwyższą – równą 2,82 – w wariancie spod kłosówki z dodatkiem SS. Dla gleby ZS III wartości H' mieściły się w przedziale od 0,54 (kłosówka w., b.d.) do 2,94 (kłosówka w., SS), a dla gleby ZS IV przedział wartości H' był niewielki, (2,6-3,01), a wartość średnia (2,83) była najwyższa spośród wszystkich badanych gleb. W glebach z doświadczenia z kukurydzą uzyskano niewielkie zróżnicowanie H' pod wpływem prowadzonych dodatków, co przedstawiono na rys. 42.

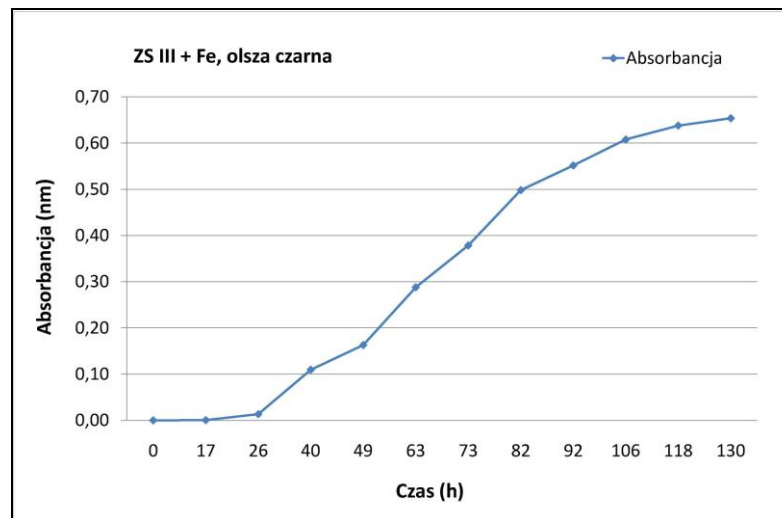
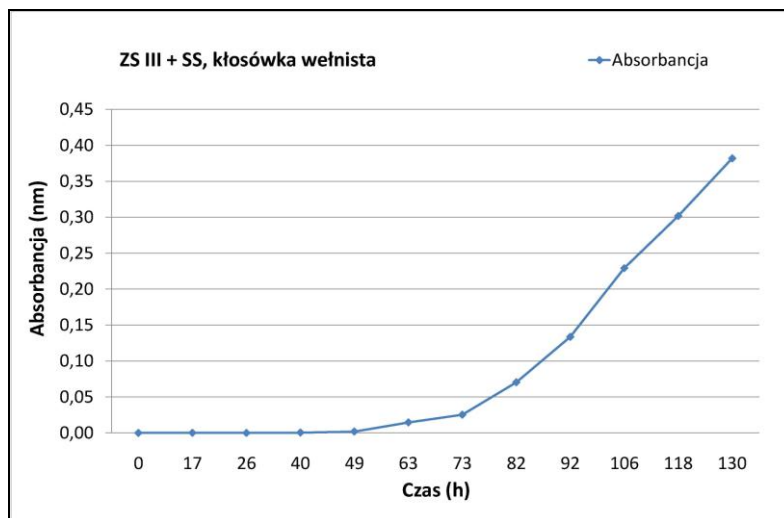
Również wskaźnik R_s był najwyższy w przypadku gleby ZS IV, a najniższy - dla gleby ZS I. Tylko w trzech wariantach mikroorganizmy wykorzystały 30 substratów z 31 dostępnych: ZS II,P i ZS III,P spod kukurydzy, oraz ZS IV, SS spod kłosówki wełnistej. W pozostałych glebach zużycie substratów było niższe, z minimum stwierdzonym dla gleby ZS I b.d. uzyskanej z doświadczenia z kłosówką wełnistą oraz dla gleby ZS I, P z doświadczenia z życicą trwałą, w których bakterie wykorzystały tylko 13 różnych substratów.



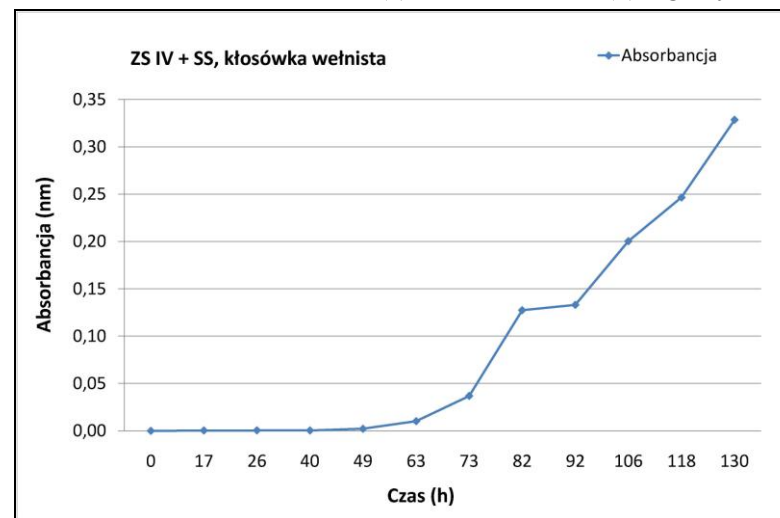
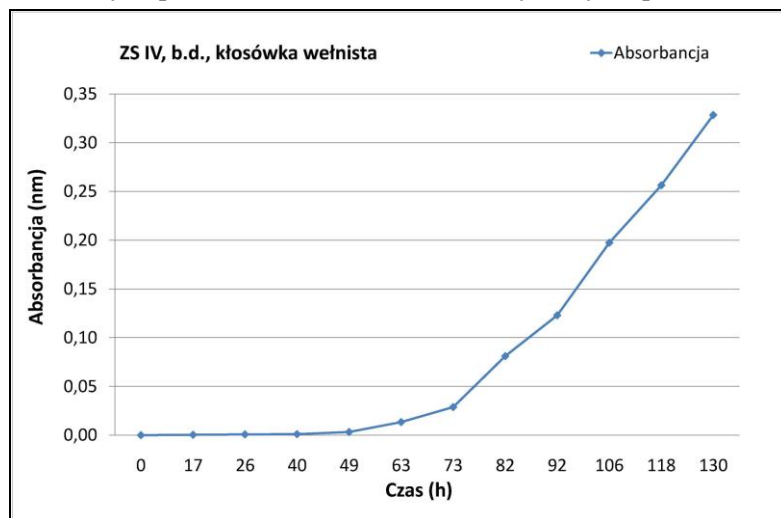
Rysunek 41. Kinetyka powstawania zabarwienia w wybranych próbkach z doświadczenia z kłosówką wełnistą (a) i z życicą trwałą (b) z gleby ZS I



Rysunek 42. Kinetyka powstawania zabarwienia w wybranych próbkach z doświadczenia z kłosówką wełnistą (a) i z olszą czarną (b) z gleby ZS II



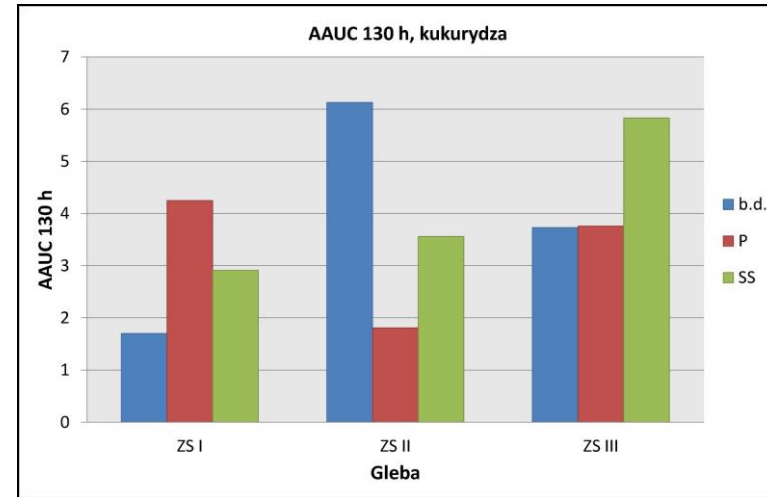
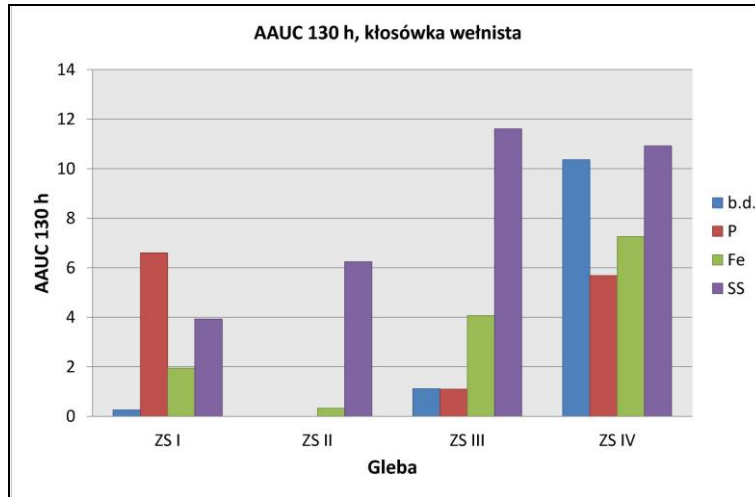
Rysunek 43. Kinetyka powstawania zabarwienia w wybranych próbkach z doświadczenia z kłosówką wełnistą (a) i z olszą czarną (b) z gleby ZS III



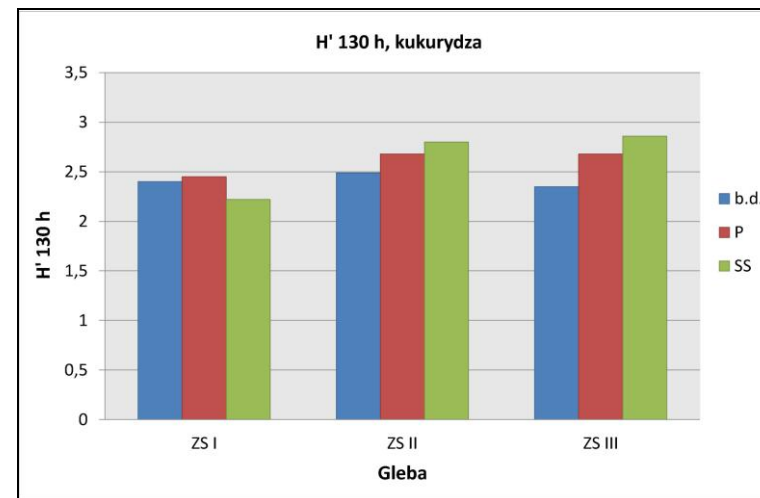
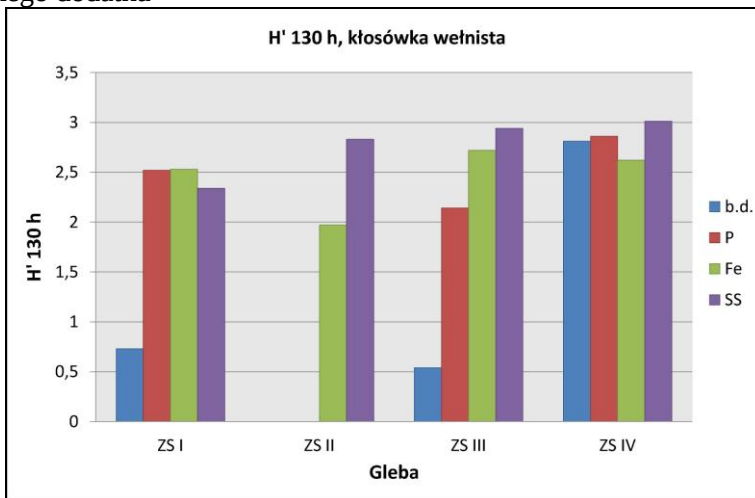
Rysunek 44. Kinetyka powstawania zabarwienia w wybranych próbkach z doświadczenia z kłosówką wełnistą z gleby ZS IV

Dla wszystkich gleb obliczono procent zużycia poszczególnych substratów, które zostały podzielone na 8 grup reprezentujących: węglowodany (CH), aminokwasy (AA), kwasy karboksylowe (CA), polimery (PO), estry (E), związki fenolowe (Fen), związki fosforoorganiczne (Fosf.) i aminy (AM) oraz stosunek CH:AA. W przeważającej ilości próbek dominującą grupą substratów były węglowodany. Natomiast w próbkach ZS I, SS (spod życicy trwałej); ZS II, Fe (spod kłosówki); ZS II, SS (spod kukurydzy); ZS III b.d. (spod olszy) oraz ZS IV, Fe (spod kłosówki) zaobserwowano najwyższe zużycie aminokwasów. Największe wykorzystanie polimerów stwierdzono w próbkach ZS I, b.d. z doświadczenia z kłosówką, ZS II, P z kukurydzą oraz ZS III, b.d. z olszą. Tylko w jednej próbce zużycie estrów przeważało nad wykorzystaniem pozostałych substratów; dotyczyło to gleby ZS I z dodatkiem Fe z doświadczenia z życicą trwałą.

Uzyskane wyniki, choć czasem niejednoznaczne, wskazują, iż największą aktywnością i różnorodnością mikrobiologiczną cechuje się gleba ZS IV, dla której obliczone wartości AAUC, H' i R_s są najwyższe. Nieco niższe wyniki uzyskano dla gleby ZS III, a najniższą bioróżnorodność mikrobiologiczną oraz aktywność stwierdzono w glebie ZS I, co niewątpliwie związane było z najwyższą całkowitą zawartością arsenu. Podobną wrażliwość bakterii na wysokie koncentracje metali ciężkich zaobserwowali – w oparciu o testy na płytkach EcoPlate - Stefanowicz i in. (2008) w glebach zanieczyszczonych przez huty miedzi, cynku, niklu i ołowiu. Natomiast badania z wykorzystaniem płytek EcoPlate dla arsenu są rzadkie, choć wykonywali je np. Garau i in. (2011) badając wpływ odpadów z przerobu boksytu na rozpuszczalność arsenu, a także na aktywność mikrobiologiczną, otrzymując pozytywny wynik w postaci wzrostu aktywności biologicznej gleb pod wpływem wprowadzonych dodatków.



Rysunek 45. Średnie pole powierzchni pod krzywą (AAUC) w glebach z doświadczenia z kłosówką wełnistą (a) i kukurydzą (b), w zależności od zastosowanego dodatku



Rysunek 46. Różnorodność funkcjonalna mikroorganizmów (H') w glebach z doświadczenia z kłosówką wełnistą (a) i kukurydzą (b), w zależności od zastosowanego dodatku

8. Podsumowanie

W ramach niniejszej pracy przeprowadzono doświadczenia inkubacyjne i wazonowe oraz badania specjacji arsenu i jego fitoprzyswajalności. Materiał glebowy wykorzystany w wymienionych doświadczeniach znacznie się od siebie różnił, zarówno pochodzeniem, właściwościami fizykochemicznymi, jak i zawartością arsenu. Koncentracja arsenu wahała się od 335 mg kg^{-1} w glebach sztucznie zanieczyszczonych arsenianem (V) i arseninem (III) sodu do 5350 mg kg^{-1} w glebach pozyskanych z rejonu Złotego Stoku, dawnego ośrodka wydobywania i przetwórstwa rud arsenonośnych. Przez wieki miasto oraz jego okolice uległy znacznej degradacji geomorfologicznej, ale przede wszystkim chemicznej, co przejawia się w ekstremalnie silnym zanieczyszczeniu gleb. Mając na uwadze perspektywę biologicznej rekultywacji omawianego terenu, podjęto próbę oceny wpływu zastosowanych dodatków mineralnych i organicznych na rozpuszczalność i fitoprzyswajalność arsenu, z wykorzystaniem wybranych gatunków roślin. Dodatki te zostały wyselekcjonowane na podstawie literatury ze szczególnym uwzględnieniem tych, które mogą wpłynąć na mobilność arsenu, jak fosfor, nieprzefermentowane osady ściekowe czy cytryniany amonu, oraz tych czynników, które zwykle ograniczają jego rozpuszczalność, jak żelazo czy obornik. Ponadto, w doświadczeniach inkubacyjnych testowano zróżnicowane warunki wilgotnościowe, w których prowadzona była inkubacja, w celu oceny wpływu okresowego zalewania gleb na mobilność arsenu. Ten element był o tyle istotny, iż zmiana warunków oksydacyjno-redukcyjnych jest - w świetle literatury - ważnym czynnikiem wpływającym na rozpuszczalność badanego pierwiastka.

Rozpuszczalność arsenu, określana w testach ekstrakcji roztworem siarczanym amonowym, była w glebach sztucznie zanieczyszczonych znacznie wyższa niż w glebach złotostockich. Związane jest to z pochodzeniem i czasem zalegania zanieczyszczenia oraz procesami zachodzącymi w glebach. Odmienność form arsenu w glebach sztucznie zanieczyszczonych oraz glebach z rejonu Złotego Stoku potwierdzona została w testach ekstrakcji sekwencyjnej, na podstawie której stwierdzono, że w glebach inkubowanych z dodatkiem arseninu lub arsenianu sodu, arsen jest obecny głównie w potencjalnie mobilnych frakcjach F1 i F2, których udział stanowi 41–66%. Natomiast w glebach złotostockich arsen był głównie związany z frakcjami F3 i F4, czyli z amorficznymi i krystalicznymi tlenkami żelaza, które łącznie zawierały 66–74% arsenu zgromadzonego w glebach. Niemniej jednak arsen w obu badanych grupach gleb wpływał w istotny sposób na wzrost i rozwój roślin, a także na aktywność mikrobiologiczną gleb. Efekty

toksycznego oddziaływania na różne gatunki roślin były zauważalne we wszystkich doświadczeniach wazonowych, co skutkowało osłabionym wzrostem roślin, występowaniem chloroz i nekroz, a także nawet całkowitym brakiem wzrostu i obumieraniem roślin. Testy aktywności mikrobiologicznej na płytkach Biolog potwierdziły, że w glebach o najwyższej zawartości arsenu aktywność mikrobiologiczna była najniższa.

Zastosowane dodatki w różny sposób wpływały na zachowanie się arsenu w glebie, ale i na wzrost roślin. Wprowadzenie dodatku fosforu wpłynęło na zwiększenie rozpuszczalności arsenu w glebach, co potwierdziły testy pojedynczej ekstrakcji próbek gleb z doświadczeń wazonowych i inkubacyjnych oraz sekwencyjna ekstrakcja próbek gleby z doświadczenia inkubacyjnego 2 i wazonowego I. Natomiast zwiększona rozpuszczalność arsenu pod wpływem fosforu nie zawsze przekładała się na zwiększone pobranie As przez rośliny. Niestety, nie ustalono żadnej zależności między wystąpieniem efektu zmniejszonego pobrania arsenu przez rośliny z gleb z dodatkiem P a innymi czynnikami, np. gatunkiem rośliny, czy właściwościami gleby, na której rosła. Dodatek żelaza wpłynął na znaczne ograniczenie udziału w glebach frakcji arsenu łatwo rozpuszczalnego i jego przechodzenie do frakcji F3 i F4. W perspektywie rekultywacji terenów zanieczyszczonych As wskazane jest zastosowanie dodatkowego wzbogacenia gleb w związki rozpuszczalnego żelaza lub odpadowy materiał bogaty w żelazo, należy jednak kontrolować odczyn gleb, gdyż większe dawki rozpuszczalnych soli żelaza, hydrolizujących kwaśnie, mogą wpływać na obniżenie pH. Należy także kontrolować stosunki powietrzno-wodne panujące w glebach, ponieważ w skrajnie redukcyjnych warunkach mogą następować procesy redukcyjne prowadzące do destrukcji tlenków żelaza i możliwego uwalniania As (czego nie badano w niniejszej pracy, choć wyniki doświadczeń inkubacyjnych z glebą L mogą wskazywać na znaczenie tego mechanizmu). Natomiast obserwacja wzrostu i rozwoju roślin na glebach z wprowadzonym żelazem nie uwidoczniły znaczącej poprawy ich kondycji. Spośród zastosowanych dodatków najbardziej korzystny wpływ na stymulację wzrostu roślin zaobserwowano po wprowadzeniu do gleb osadów ściekowych. Niemniej jednak testy ekstrakcji form łatwo rozpuszczalnych arsenu wykazały wzrost rozpuszczalności arsenu w glebach z tym dodatkiem. Natomiast wyniki uzyskane z doświadczeń z obornikiem były bardzo niejednoznaczne.

Uzyskane wyniki pobrania arsenu przez rośliny były bardzo zróżnicowane. Obliczony współczynnik bioakumulacji dla różnych gatunków roślin i różnych gleb mieścił się w

szerokim zakresie: 0,001 do 1,08, co odpowiada słabemu do średniego kumulowania arsenu przez rośliny. Mając na uwadze zastosowanie roślin do fitostabilizacji wynik ten jest dobrym rezultatem, ale należałoby zrezygnować ze stosowania takich roślin jak koniczyna czerwona, rzepak i kukurydza, których współczynnik bioakumulacji zazwyczaj był najwyższy, na rzecz innych gatunków, jak kłósówka wełnista, o niższym współczynniku bioakumulacji. Średnia koncentracja arsenu w nadziemnych częściach wszystkich roślin pochodzących z doświadczeń wazonowych wynosiła ok. 99 mg kg⁻¹ i była znacząco wyższa od wartości przeciętnych, występujących na glebach niezanieczyszczonych, ale porównywalna do opisywanych w literaturze dla terenów silnie zanieczyszczonych. Próba poszukiwania korelacji między zawartością arsenu w roślinach a udziałem form łatwo rozpuszczalnych arsenu w glebie, które powszechnie uważa się za łatwo przyswajalne dla roślin, nie potwierdziła istnienia takiej, statystycznie istotnej, korelacji i jedynie w przypadku jednej gleby (lekkiej, sztucznie zanieczyszczonej arsenem) wystąpiła silna zależność między koncentracją arsenu w roślinach, a udziałem form łatwo rozpuszczalnych arsenu w glebie.

Podsumowując uzyskane wyniki można stwierdzić, że wpływ różnych testowanych dodatków na mobilność arsenu w glebach oraz jego specjację został dobrze rozpoznany, jednak wyniki badań nad wpływem tych dodatków na pobranie arsenu przez rośliny nie były jednoznaczne. Dlatego badania nad wpływem różnych dodatków, a zwłaszcza żelaza oraz substancji organicznych, takich jak osady ściekowe czy obornik, na wzrost roślin i pobranie przez nie arsenu powinny być kontynuowane.

9. Wnioski

1. Przeprowadzone badania wykazały, że pochodzenie arsenu w glebach, jest – obok właściwości gleb – bardzo ważnym czynnikiem decydującym o rozpuszczalności tego pierwiastka. Rozpuszczalność arsenu w glebach sztucznie zanieczyszczonych była zdecydowanie wyższa niż w glebach ze Złotego Stoku. Udział łatwo rozpuszczalnych form As w glebach złotostockich sięgał kilku procent natomiast w glebach zanieczyszczonych arsenianem (V) i arseninem (III) sodu - nawet do 30%.
2. Doświadczenia inkubacyjne i wazonowe służące porównaniu mobilności arsenu w sztucznie zanieczyszczonych glebach o zróżnicowanym składzie granulometrycznym wykazały, że rozpuszczalność i fitoprzyswajalność tego pierwiastka może być znacząco większa w glebach zwięźlejszych niż w glebach piaszczystych, co jest dowodem na złożoność czynników wpływających na zachowanie arsenu w glebach.
3. Bardzo wysoka zawartość arsenu w badanych glebach, zwłaszcza tych z rejonu Złotego Stoku, niewątpliwie była główną przyczyną wystąpienia symptomów fitotoksyczności w roślinach i obniżenia aktywności mikrobiologicznej gleb.
4. Wprowadzenie fosforu do gleb przyczyniło się do znacznego wzrostu udziału łatwo rozpuszczalnych form As w większości wariantów doświadczeń. Nie we wszystkich jednak przypadkach zwiększona mobilność arsenu w glebie przełożyła się na wzrost koncentracji arsenu w roślinach oraz zwiększone jego pobranie z gleby.
5. Analiza form łatwo rozpuszczalnych arsenu w glebach wykazała immobilizujący efekt dodatku żelaza wobec arsenu. Ekstrakcja sekwencyjna wskazała, że w wyniku wprowadzenia do gleby soli żelaza następuje silne związane As głównie z amorficznymi, ale też i krystalicznymi tlenkami żelaza, co ogranicza jego rozpuszczalność. Nie wykazano jednak zależności między dodatkiem żelaza do gleb a lepszą kondycją roślin w doświadczeniach wazonowych pod wpływem Fe, natomiast w większości przypadków uzyskano niższą koncentrację As w materiale roślinnym.

6. Zdecydowaną poprawę wzrostu roślin uzyskano po wprowadzeniu do gleb świeżych osadów ściekowych, choć analiza łatwo rozpuszczalnych form As uwidoczniła wzrost rozpuszczalności As w glebach w wyniku wprowadzenia osadów w większości wariantów doświadczeń. Efekt ten w niektórych wariantach doświadczenia przełożył się na istotny statystycznie wzrost koncentracji arsenu w roślinach i zwiększone jego pobranie, ale w niektórych wariantach uzyskano efekt odwrotny.
7. Wpływ obornika na rozpuszczalność arsenu w glebach i jego pobranie przez rośliny był bardzo zróżnicowany. Taki niejednoznaczny wynik doświadczeń poświęconych ocenie wpływu obornika, a także osadów ściekowych na rozpuszczalność arsenu i jego fitoprzyswajalność powinien stanowić przesłankę do podjęcia dalszych badań nad tym zagadnieniem, ważnym z punktu widzenia praktyki przyszłych zabiegów rekultywacyjnych.
8. Przeprowadzone doświadczenia wazonowe wskazują, iż w glebach silnie zanieczyszczonych przyswajalność arsenu dla roślin można zaklasyfikować jako niską lub średnią, co jest czynnikiem korzystnym dla projektowanych procesów fitostabilizacji. W perspektywie biologicznej rekultywacji terenów zanieczyszczonych arsenem należy brać pod uwagę przede wszystkim te gatunki, które wykazują słabą akumulację arsenu. Spośród testowanych roślin należy rozważyć głównie wykorzystanie kłosówki wełnistej, życicy trwałej, pszenicy oraz olszy czarnej.

Bibliografia

1. Abedin Md.J, Cotter-Howells J., Meharg A.A. 2002. Arsenic uptake and accumulation in rice (*Oryza sativa* L.) irrigated with contaminated water. *Plant Soil* 240: 311-319.
2. Al-Abed S., Jegadeesan G., Purandar J., Allen D. 2007. Arsenic release from iron rich mineral processing waste: influence of pH and redox potential. *Chemosphere* 66: 775-782.
3. Alloway B.J. (red.) 1995. Heavy metals in soils. 2nd ed. Blackie, Glasgow. s. 384.
4. Anawar H.M., Akai J., Komaki K., Terao H., Yoshioka T., Ishizuka T., Safiullah S., Kato K. 2003. Geochemical occurrence of arsenic in groundwater of Bangladesh: source and mobilization processes. *J. Geochem. Explor.* 77: 109-131.
5. Antosiewicz D.M., Escude-Duran C., Wierzbowska E., Skłodowska A. 2008. Indigenous plant species with the potential for phytoremediation of Arsenic and metals contaminated soil. *Water Air Soil Pollut.* 193: 197-210.
6. Ascar L., Ahumada I., Richter P. 2008. Influence of redox potential (Eh) on the availability of arsenic species in soils and soils amended with biosolid. *Chemosphere* 72: 1548-1552.
7. Axe L., Trivedi P. 2002. Intraparticle surface diffusion of metal contaminants and their attenuation in microporous amorphous Al, Fe, and Mn oxides. *J. Colloid Interf. Sci* 247: 259-265.
8. Balasoiu C.F., Zagury G.J., Deschenes L. 2001. Partitioning and speciation of chromium, copper, and arsenic in CCA-contaminated soils: influence of soil composition. *Sci. Total Environ.* 280: 239-255.
9. Barrow N.J. 1974. On the displacement of adsorption anions from soil: 2. Displacement of phosphate by arsenate. *Soil Sci.* 117 (1): 28-33.
10. Bauer M., Blodau C. 2006. Mobilization of arsenic by dissolved organic matter from iron oxides, soils and sediments. *Sci. Total Environ.* 354: 179-190.
11. Bhattacharya P., Mukherjee A.B., Jacks G., Nordqvist S. 2002. Metal contamination at wood preservation site: characterisation and experimental studies on remediation. *Sci. Total Environ.* 290: 165-180

12. Boisson J., Mench M., Vangronsveld J., Ruttens A., Kopponen P., De Koe T. 1999. Immobilization of trace metals and arsenic by different soil additives: Evaluation by means of chemical extractions. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 30: 365-387.
13. Bose P., Sharma A. 2002. Role of iron in controlling speciation and mobilization of arsenic in subsurface environment. *Water research* 36: 4916-4926.
14. Bucher A.E., Lanyon L.E. 2005. Evaluating soil management with microbial community-level physiological profiles. *Appl. Soil. Ecol.* 29:59-71.
15. Caille N., Swanwick S., Zhao F.J., MaGrath S.P. 2004. Arsenic hyperaccumulation by *Pteris vittata* from arsenic contaminated soils and the effect of liming and phosphate fertilization. *Environ. Pollut.* 132: 113-120.
16. Carbonell A., Aarabi M.A., DeLaune R.D. Gambrell R.P., Patrick W.H.J. 1998 Arsenic in wetland vegetation: Availability, phytotoxicity, uptake and effects on plant growth and nutrition. *Sci. Total Environ.* 217: 189-199.
17. Carbonell-Barrachina A.A., Jugsujinda A., Burlo F., Delaune R.D., Patrick Jr. W.H. 1999. Arsenic chemistry in municipal sewage sludge as affected by redox potential and pH. *Wat. Res.* 34(1): 216-244.
18. Cao X., Ma L.Q., Shiralipour A. 2003. Effect of compost and phosphate amendments on arsenic mobility in soils and arsenic uptake by the hyperaccumulator, *Pteris vittata* L. *Environ. Pollut.* 126: 157-167.
19. Caussy D., Priest N.D. 2008. Introduction to arsenic contamination and health risk assessment with special reference to Bangladesh w D.M. Whitacre. *Review of contamination environmental contamination and toxicology. Arsenic pollution and remediation: an international perspective.* Springer Science. LCC. 197: 1-14
20. Chakravarty S., Dureja V., Bhattacharyya G., Maity S., Bhattacharjee S. 2002. Removal of arsenic from groundwater using low cost ferruginous manganese ore. *Water Research* 36: 625-632.
21. Chopin E.I.B., Alloway B.J. 2007. Distribution and mobility of trace elements in soils and vegetation around the mining and smelting areas of Tharsis, Riotinto and Huelva, Iberian Pyrite Belt, SW Spain. *Water Air Soil Pollut.* 182:245-261.
22. Chrisholm D. 1972. Lead, arsenic and copper content of crops grown on lead arsenate-treated and untreated soils. *Can. J. Plant Sci.* 52: 583-588.
23. Christiphersen H.M., Smith S.E., Pope S., Smith F.A. 2009. No evidence for competition between arsenate and phosphate for uptake from soil by medic or barley. *Environ. Int.* 35 (3): 485-490.

24. Clemens S. 2001. Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. *Planta* 212: 475-486.
25. Cui Y., Du X., Weng L., Van Riemsdijk W.H. 2010. Assessment of in situ immobilization of lead (Pb) and arsenic (As) in contaminated soils with phosphate and iron: Solubility and bioaccessibility. *Water, Air Soil Pollut.* 213: 95-104.
26. Czerwiński W. 1976. *Fizjologia roślin*. PWN Warszawa. s. 605.
27. Dani S.U. 2010. Arsenic for the fool: an exponential connection. *Sci. Total Environ.* 408: 1842-1846.
28. Dembitsky V.M., Rezanka T. 2003. Natural occurrence of arsenic compounds in plants, lichens, fungi, algal species, and microorganisms. *Plant Sci.* 165: 1177-1192.
29. Ding Z., Zheng B., Long J., Belkin H.E., Finkelman R.B., Chen Ch., Zhou D., Zhou Y. 2001. Geological and geochemical characteristics of high arsenic coals from endemic arsenosis areas in southwestern Guizhou Province, China. *Appl Geochem* 16: 1353-1360.
30. Dissanayake C.B., Chandrajith R. 2009. Medical geology of arsenic: Introduction to medical geology. Erlangen earth conferences series. Springer-Verlag Berlin Heidelberg s.157-189.
31. Dittmar J., Voegelin A., Roberts L.C., Hug S.J., Saha G.C., Ali M.A., Badruzzaman B.M., Kretzschmar R. 2010. Arsenic accumulation in a paddy field in Bangladesh: Seasonal dynamics and trends over a three-year monitoring period. *Environ. Sci. Technol.* 44 (8): 2925-2931.
32. Dong Y., Zhu Y.-G., Smith F.A., Wang Y., Chen B. 2008. Arbuscular mycorrhiza enhanced arsenic resistance of both white clover (*Trifolium repens* Linn.) and ryegrass (*Lolium perenne* L.) plants in an arsenic-contaminated soil. *Environ. Pollut.* 155: 174-181.
33. Drozd J., Licznar M., Licznar S.E., Weber J. 1998. *Gleboznawstwo z elementami mineralogii i petrografii*. Wyd. II. Wydawnictwo AR Wrocław. s. 210.
34. Dubey B, Solo-Gabriele H.M, Townsend T.G. 2007. Quantities of arsenic-treated wood in demolition debris generated by hurricane Katrina. *Environ. Sci. Technol.* 41 (5): 1533-1536.
35. Ehrlich P. <http://paul-ehrlich.de/Research/research.htm>
36. European Environment Agency. 2005. Sustainable use and management of natural resources. <http://www.eea.europa.eu/publications>

37. Fendorf S., La Force M.J., Li G. 2004. Temporal changes in soil partitioning and bioaccessibility of Arsenic, chromium and lead. *J. Environ. Qual.* 33: 2049-2055.
38. Fitz W.J., Wenzel W.W. 2002. Arsenic transformations in the soil-rhizosphere-plant system: Fundamentals and potential application to phytoremediation. *J. Biotechnol.* 99: 259-278.
39. Fotyma M., Mercik S. 1995. *Chemia rolna*. Wyd. Drugie. PWN Warszawa. s. 356.
40. Francesconi K. A., Kuehnelt D. 2002. Arsenic compounds in the environment w: Frankenberger W.T. (red.) *Environmental chemistry of arsenic*. Marcel Dekker s. 391.
41. Frohne T., Rinklebe J., Diaz-Bone R.A., Du Laing G. 2011. Controlled variation of redox conditions in a floodplain soil: Impact on metal mobilization and biomethylation of arsenic and antimony. *Geoderma* 160: 414-424.
42. Gadepalle V.P., Ouki S.K., van Herwijnen R., Hutchings. 2008. Effects of amended compost on mobility and uptake of arsenic by rye grass in contaminated soil. *Chemosphere* 72: 1056-1061.
43. Garau G., Silvetti M., Deiana S., Deiana P., Castaldi P. 2011. Long-term influence of red mud on As mobility and soil physic-chemical and microbial parameters in a polluted sub-acidic soil. *J. Hazard. Mater.* 185: 1241-1248.
44. Garcia-Sanchez A., Alvarez-Ayuso E., Rodriguez-Martin F. 2002. Sorption of As V by some oxyhydroxides and clay minerals. Application to its immobilization in two polluted mining soils. *Clay Minerals* 37 (1): 187-194.
45. Garelick H., Jones H., Dybowska A., Valsami-Jones E. 2008. Arsenic polluted sources w: Whitacre D.M. (red.) *Reviews of Environmental Contamination Volume* 197. Springer Science LCC. s. 194.
46. Garland J.L. Mills A.L. 1991. Classification and charakterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization. *Appl. Environ. Microbiol.* 57 (8): 2351-2359.
47. Garland J.L. 1997. Analysis and interpretation of community-level physiological profiles in microbial ecology. *FEMS Microbiol. Eco.* 24: 289-300.
48. Goldberg S. 2002. Competitive adsorption of arsenate and arsenite on oxides and clay minerals. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 66: 413-421.
49. González -Chávez M.C., Vanronsveld J., Colpaert J, Leyval C. 2006. Arbuscular micorrhizal fungi and heavy metals: tolerance mechanisms and potential use in

- bioremediation w: Prasad M.N.V i in. (red.) Trace elements in the environment. Biogeochemistry, biotechnology and bioremediation. CRC Press. s. 706.
50. Gorlach E., Mazur T. 2002. Chemia rolna. PWN Warszawa. s. 347.
 51. Grafe M., Eick M.J., Grossl P.R. 2001. Adsorption of arsenate (V) and arsenite (III) on goethite in the presence and absence of dissolved organic carbon. Soil Sci. Soc. Am J. 65: 1680-1687.
 52. Gräfe M., Eick M.J., Grossl P.R., Saunders A.M. 2002. Adsorption of arsenate and arsenite of ferrihydrite in the presence and absence of dissolved organic carbon. J. Environ. Qual. 31: 1115-1123.
 53. Gulz P.A., Gupta S.K., Schulin R. 2005. Arsenic accumulation of common plants from contaminated soils. Plant Soil 272: 337-347.
 54. Haack S.K., Garchow H., Klug M.J., Forney L.J. 1995. Analysis of factors affecting the accuracy, reproducibility, and interpretation of microbial community carbon source utilization patterns. Appl. Environ. Microbil. 61 (4): 1458-1468.
 55. Hall A.H. 2002. Review article. Chronic arsenic poisoning. Toxicol. Letters 128: 69-72.
 56. Hartley W., Edwards R., Lepp N.W. 2004. Arsenic and heavy metal mobility in iron oxide-amended contraminated soils as evaluated by short- and long-term leaching tests. Environ. Pollut. 131:495-504.
 57. Hartley W., Lepp N.W. 2008. Effect of in situ soil amendments on arsenic uptake in successive harvests of ryegrass (*Lolium perenne* cv Elka) grown in amended As-polluted soils. Environ Pollut. 156: 1030-1040.
 58. Hartley W., Dickinson N.M., Clemente R., French Ch., Pearce T.G., Sparke S., Lepp N.W. 2009. Arsenic stability and mobilization in soil at an amenity grassland overlying chemical waste (St. Helens, UK). Environ. Pollut. 157: 847-856.
 59. Hartley W., Dickinson N.M., Riby P., Leese E, Morton J., Lepp N.W. 2010. Arsenic mobility and speciation in a contaminated urban soil are affected by different methods of green waste compost application. Environ. Pollut. 158: 3560-3570.
 60. Hartley-Whitaker J., Ainsworth G., Vooijs R., Ten Bookum W., Schat H. Meharg A.A. 2001. Phytochelatins are involved in differential arsenate tolerance in *Holcus lanatus* L.. Plant Physiol. 126: 299-306.
 61. Harvey C.F., Swartz C.H. 2002. Arsenic mobility and groundwater extraction in Bangladesh. Science 298: 1602 – 1606.

62. Henke K.R., Hutchison A. 2009. Arsenic chemistry w: Henke K.R. (red.) Arsenic environmental chemistry, health treats and waste treatment. Wiley and Sons. s. 569.
63. Henke K.R., Atwood D.A. 2009. Arsenic in human history and modern societies w: Henke K.R. (red.) Arsenic environmental chemistry, health treats and waste treatment. Wiley and Sons. s. 569.
64. Jeong Y., Fan M., Singh S., Chuang Ch.-L., Saha B., van Leeuwen J.H. 2007. Evaluation of iron oxide and aluminium oxide as potential arsenic (V) adsorbents. Chem. Engieen. Process. 46: 1030-1039.
65. Juhasz A.L., Smith E., Weber J., Naidu R., Rees M., Rofe A., Kuchel T., Sansom L. 2008. Effect of soil ageing on in vivo arsenic bioavailability in two dissimilar soils. Chemosphere 71: 2180-2186.
66. Kabata-Pendias A. 1994. Biogeochemia arsenu i seleniu. Arsen i selen w środowisku-problemy ekologiczne i metodyczne. KN PAN „Człowiek i Środowisko” 8: 9-16.
67. Kabata-Pendias A. Pendias H. 1999. Biogeochemia pierwiastków śladowych. WN PWN Warszawa. s. 385
68. Kabata-Pendias A. Makherjee A.B. 2007. Trace elements from soil to human. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. s. 550.
69. Kabata-Pendias A. 2011. Trace Elements in soils and plants. CRC Press Taylor & Francis Group s. 520.
70. Kalbitz K., Wennrich R. 1998. Mobilization of heavy metals and arsenic in polluted wetland soils and its dependence in dissolved organic matter. Sci. Total Environ. 209: 27-39.
71. Karczewska A. 2002. Metale ciężkie w glebach zanieczyszczonych emisjami hut miedzi-formy i rozpuszczalność. Wydawnictwo AR Wrocław. s. 159.
72. Karczewska A., Bogda A., Gałka B., Krajewski J. 2005. Ocena zagrożenia środowiska przyrodniczego w rejonie oddziaływania złoża rud polimetalicznych Żeleźniak (Wojcieszów-Góry Kaczawskie). Wydawnictwo AR Wrocław. s. 261.
73. Karczewska A. 2008. Ochrona gleb i rekultywacja terenów zdegradowanych. UWP Wrocław. s. 414.
74. Kim J-Y., Kim K-W, Ahn J.S., Ko I., Lee Ch-H. 2005. Investigation and risk assessment modeling of As and other heavy metals contamination around five abandoned metal mines in Korea. Environ. Geochem. Health 27: 193-203.
75. Kopalnia Złota w Złotym Stoku- <http://kopalniazlota.pl/index.php/main>

76. Koster M., Reijnders L., van Oost N.R., Peijnenburg W.J.G.M. 2005. Comparison of the method of diffusive gels in thin films with conventional extraction techniques for evaluating zing accumulation in plants and isopods. *Environ. Pollut.* 133: 103-116.
77. Krysiak A., Karczewska A. 2007. Arsenic extractability in soils in the areas of former arsenic mining and smelting SW Poland. *Sci. Total Environ.* 379: 190-200.
78. Krysiak A. 2007. Mobilność arsenu w środowisku glebowym na przykładzie rejonu eksploatacji złóż polimetalicznych w Żłotym Stoku. Rozprawa doktorska IGiOŚR, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, maszynopis.
79. Kumpiene J., Lagerkvist A., Maurice Ch. 2008. Stabilization of As, Cr, Cu, Pb and Zn in soil using amendments- A review. *Waste Manag.* 28: 215-225.
80. Lalor B.M., Cookson W.R., Murphy D.V. 2007. Comparison of two methods that assess soil community level physiological profiles in a forest ecosystem. *Soil Biol. Biochem.* 39: 454-462.
81. Lambkin D.C., Alloway B.J. 2002. Arsenate-induced phosphate release from soils and its effect on plant phosphorus. *Water, Air, Soil Pollut.* 144: 41-56.
82. Le Ch. 2002. Arsenic speciation in the environment and humans w: Frankenberger W.T. (red.) *Environmental chemistry of arsenic*. Marcel Dekker s. 391.
83. Lenoble V., Laclautre Ch., Deluchat V., Serpaud B., Bollinger J.-C. 2005. Arsenic removal by adsorption on iron (III) phosphate. *J. Hazard. Mat.* B123: 262-268.
84. Li W., Zhao H., Teasdale P.R., John R., Wang F. 2005. Metal speciation measurement by diffusive gradients in thin films technique with different binding phases. *Anal. Chim. Acta* 533: 193-202.
85. Lindner M. 1987. Rudy arsenu w Osika R. (red.) *Budowa geologiczna Polski. Tom IV. Złoża surowców mineralnych*. Wydawnictwo Geologiczne. s. 720.
86. Liu J., Zheng B., Aposhian H.V., Zhou Y. Chen M.L., Zhang A, Waalkes M.P. 2002. Chronic arsenic poisoning from burning high-arsenic-containing coal in Guizhou, China. *Environ Health Perspect* 110 (2): 119-122.
87. Liu B.-R., Jia G.-M., Chen J., Wang G. 2006. A rewiev of methods for studying microbial diversity in soils. *Pedosphere* 16 (1): 18-24.
88. Livesey N.T., Huang P.M. 1981. Adsorption of arsenate by soils ant its relation to selected chemical properties and anions. *Soil Sci.* 131 (2): 88-94.
89. Macnair M.R., Cumbes Q. 1987. Evidence that arsenic tolerance in *Holcus lanatus* L. is caused by an altered phosphate uptake system. *New Phytol.* 107: 387-394.

90. Macnair M.R., Cumbes Q.J., Meharg A.A. 1992. The genetics of arsenate tolerance in Yorkshire fog, *Holcus lanatus* L. *Heredity* 69: 325-335.
91. Mandal B.K., Suzuki K.T. 2002. Arsenic round the world: a review. *Talanta* 58: 201-235.
92. Marin A.R., Masscheleyn, Patrick W.H. 1993. Soil redox-pH stability of arsenic species and its influence on arsenic uptake by rice. *Plant Soil* 152: 245-253.
93. Marschner H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. Academic Press 2 ed. s. 889.
94. Masscheleyn P.H., Delaune R.D. Patrick W.H. 1991. Effect of redox potential and pH on arsenic speciation and solubility in a contaminated soil. *Environ. Sci. Technol.* 25: 1414-1419.
95. Matera V., Le Hécho I., Laboudique A., Thomas P., Tellier S., Astruc M. 2003. A methodological approach for the identification of arsenic bearing phases in polluted soils. *Environ. Pollut.* 126: 51-64.
96. Matschullat J. 2000. Arsenic in the geosphere – a review. *Sci. Total Environ* 249: 297-312.
97. McBride M.B. 1994. Environmental chemistry in soils. Oxford University Press. s. 406.
98. Meharg A.A., Macnair M.R. 1992. Genetic correlation between arsenate tolerance and the rate of influx of arsenate and phosphate in *Holcus lanatus* L. *Heredity* 69: 336-341.
99. Meharg A.A., Hartley-Whitaker J. 2002. Arsenic uptake and metabolism in arsenic resistant and nonresistant plant species. *New Phytol.* 154: 29-43.
100. Meharg A.A. 2005. *Venomous Earth*. Macmillanscience. s. 192
101. Małecki A. (red.) 1996. *Obliczenia w chemii ogólnej część I: Podstawy teoretyczne*. Skrypt uczelniany. Wydawnictwo AGH Kraków. s. 204.
102. Mench M., Vangronsveld J., Clijsters H, Lepp N., Edwards R. 2000. In situ metal immobilization and phytostabilization of contaminated soils w: Terry N., Bañuelos G.S. (red.) *Phytoremediation of contaminated soil and water*. CRC Press. s. 378.
103. Mench M., Bussière S., Boisson J., Castaing E., Vangronsveld J., Ruttens A., De Koe T., Bleeker P., Assunção A., Manceau A. 2003. Progress in remediation and revegetation of the barren Jales gold mine spoil after *in situ* treatments. *Plan Soil* 249: 187-202.

104. Mench M., Vangronsveld J., Lepp N., Bleeker P., Ruttens A., Geebelen W. 2006. Phytostabilisation of metal-contaminated sites w: Morel J.L. i in. (red.) Phytoremediation of metal-contaminated soils. Springer. .346.
105. Mocek A., Drzymała S., Maszner P. 2000. Geneza, analiza i klasyfikacja gleb. Wydawnictwo AR Poznań. s. 414
106. Mohapatra D., Singh P., Zhang W., Pullammanappallil P. 2005. The effect of citrate, oxalate, acetate, silicate and phosphate on stability of synthetic arsenic-loaded ferrihydrite and Al-ferrihydrite. J. Hazard. Mat. 124 (B): 95-100.
107. Niklińska M., Chodak., Laskowski R. 2005. Ekologiczne metody oceny skutków zanieczyszczenia gleb. Art-Tekst Kraków. s. 89.
108. Nkongolo K.K., Vaillancourt A., Dobrzeńska S., Mohes M., Beckett P. 2008. Metal content in soil and Black Spruce (*Picea mariana*) trees in the Sudbury Region (Ontario, Canada): low concentration of arsenic, cadmium, and nickel detected near smelter sources. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 80: 107-111.
109. Nriagu J.O. 2002. Arsenic poisoning through the ages w: Frankenberger W.T. (red.) Environmental chemistry of arsenic. Marcel Dekker s. 391.
110. Ultra V.U. Jr., Tanaka S., Sakurai K., Iwasaki K. 2007. Effects of arbuscular mycorrhiza and phosphorus application on arsenic toxicity in sunflower (*Helianthus annuus* L.) and the transformation of arsenic in the rhizosphere. Plant Soil 290: 29-41.
111. Urząd Gminy Złoty Stok- <http://www.zlotystok.pl>
112. Paliouris G, Hutchinson T.C. 1991. Arsenic, cobalt and nickel tolerances in two populations of *Silene vulgaris* (Moench) Garcke from Ontario, Canada. New Phytol. 117: 449-459.
113. Pansar-Kallio M, Manninen P.K.G. 1997. Speciation of mobile arsenic in soil samples as a function of pH. Sci. Total Environ. 204: 193-200.
114. Patra M., Bhowmik N., Bandopadhyay B., Sharma A. 2004. Comparison of Merkury, lead and Arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance. Environ. Exp. Bot. 52: 199-223.
115. Peryea F.J., Kammereck R. 1997. Phosphate-enhanced movement of arsenic out of lead arsenate-contaminated topsoil and through uncontaminated subsoil. Water, Air, Soil Pollut. 93: 243-254.

116. Pettersson M., Bååth E. 2004. Effects of the properties of the bacterial community of pH adaptation during recolonisation of humus soil. *Soil Biol. Biochem.* 36: 1383-1388.
117. Pitten F.-A., Müller G., König P., Schmidt D., Thurow K., Kramer A. 1999. Risk assessment of a former military base contaminated with organoarsenic-based warfare agents: uptake of arsenic by terrestrial plants. *Sci. Total Environ.* 226: 237-245.
118. Polskie Towarzystwo Gleboznawcze. 2008. Klasyfikacja uziarnienia gleb i utworów mineralnych. <http://www.ptg.sggw.pl/index.htm>
119. Quazi S., Sarkar D., Datta R. 2010. Effect of soil aging on arsenic fractionation and bioaccessibility in inorganic arsenical pesticide contaminated soils. *Appl. Geochem.* 25: 1422-1430.
120. Rahman M.A., Hasegawa H., Rahman M.M., Miah M.A.M., Tasmin A. 2008. Straighthead disease of rice (*Oryza sativa* L.) induced by arsenic toxicity. *Environ. Exp. Botany* 62: 54-59.
121. Ravenscroft P., Brammer H, Richards K. 2009. Arsenic pollution: a global synthesis. Willey-Blackwell. Chichester, United Kingdom.
122. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 29 marca 2007 r. w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi. Dz. U. Nr 61, poz. 417, z późn. zm.
123. Redman A.D., Macalady D.L., Ahmann D. 2002. Natural organic matter affects arsenic speciation and sorption onto hematite. *Environ. Sci. Technol.* 36 (13): 2889-2896.
124. Reeves R.D. 2006. Hyperaccumulation of trace elements by plants w Morel J.L. i in. (red.) *Phytoremediation of metal-contaminated soils*. Springer. s. 346.
125. Ruiping L., Lihua S., Jiuhui Q., Guibai L. 2009. Arsenic removal through adsorption, sand filtration and ultrafiltration: In situ precipitated ferric and manganese binary oxides as adsorbents. *Desalination* 249: 1233-1237.
126. Sadiq M. 1997. Arsenic chemistry in soils: an overview of thermodynamic predictions and field observations. *Water, Air, Soil Pollut.* 93: 117-136.
127. Sherman D.M., Randall S.R. 2003. Surface complexation of arsenic (V) to iron (hydr)oxides: structural mechanism from ab initio molecular geometries and EXAFS spectroscopy. *Gechim. Cosmochim. Acta* 67 (22): 4223-4230.
128. Shaw D. 2006. Mobility of arsenic in saturated, laboratory test sediments under varying pH conditions. *Eng. Geol.* 85: 158-164

129. Signes-Pastor A., Burló F., Mitra K., Barbonell-Barrachina A.A. 2007. Arsenic biogeochemistry as affected by phosphorus fertilizer addition, redox potential and pH in a west Bengal (India) soil. *Geoderma* 137: 504-510.
130. Smedley P.L., Kinniburgh D.G. 2002. A review of the source, behavior and distribution of arsenic in natural waters. *Appl. Geochem.* 17: 517-568.
131. Smith P.G., Koch I., Reimer K.J. 2008. Uptake, transport and transformation of arsenate in radishes (*Raphanus sativus*). *Sci. Total Environ.* 390: 188-197.
132. Smith E., Naidu R., Alston A.M. 2002. Chemistry of inorganic arsenic in soils: II. Effect of phosphorus, sodium and calcium on arsenic sorption. *J. Environ. Qual.* 31: 557-563.
133. Stefanowicz A.M., Niklińska M., Laskowski R. 2008. Metals affect soil biological and fungal functional diversity differently. *Environ. Toxic. Chem.* 27 (3): 591-598.
134. Stoepler M. 2004. Arsenic w: Merian E., Anke M., Ihnat M, Stoepler M. Elements and their compounds in the environment. Occurrence, analysis and biological relevance. 2nd ed. Wiley-VCH Verlag. s. 1773.
135. Stroud J.L., Norton G.J., Islam M.R., Dasgupta T., White R.P., Price A.H., Meharg A.A., McGrath S.P., Zhao F.-J. 2011. The dynamics of arsenic in four paddy fields in the Bengal delta. *Environ. Pollut.* 159: 947-953.
136. Subacz J.L., Barnett M.O., Jardine P.M., Stewart M.A. 2007. Decreasing arsenic bioaccessibility/bioavailability in soils with iron amendments. *J. Environ. Sci. Health* 42A (9): 1317-1329.
137. Száková J., Tlustoš P., Goessler W., Frková Z., Najmanová J. 2009. Mobility of arsenic and its compounds in soil and soil solution: The effect of soil pretreatment and extraction methods. *J. Haz. Mat.* 172: 1244-1251.
138. Tandy S., Healey J.R., Nason M.A., Williamson J.C., Jones D.L. 2009. Remediation of metal polluted mine soil with compost: Co-composting versus incorporation. *Environ. Pollut.* 157 (2): 690-697.
139. Taggart M.A., Carlisle M., Pain D.J., Williams R., Osborn D., Joyson A., Meharg A.A. 2004. The distribution of arsenic in soils affected by the Aznacóllar mine spill, SW Spain. *Sci. Total Environ.* 323: 137-152.
140. Tang X.-Y., Zhu Y.-G., Shan X.-Q., McLaren R., Duan J. 2007. The ageing effect on the bioaccessibility and fractionation of arsenic in soils from China. *Chemosphere* 66: 1183-1190.

141. Tao Y., Zhang S., Jian W., Yuan Ch., Shan X-q. 2006. Effects of oxalate and phosphate on the release of arsenic from contaminated soils and arsenic accumulation in wheat. *Chemosphere* 65: 1281-1287.
142. Tichanowicz J., Wojciechowski A. 1997. Osadniki złotośnych szlamów arsenowych w Żółym Stoku w: Muszer A. (red.) *Metale szlachetne w NE części Masywu Czeskiego i w obszarach przyległych. Geneza, występowanie, perspektywy*. Wydawnictwo ING UW, Wrocław. s. 146.
143. Tu S. Ma L.Q. 2003. Interactive effects of pH, Arsenic and phosphorus on uptake of As and P and growth of the Arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. under hydroponic conditions. *Environ. Exp. Botany* 50: 243-251.
144. Turnau K., Jurkiewicz A., Grzybowska B. 2002. Rola mikoryzy w bioremediacji terenów zanieczyszczonych. *Kosmos* 51 (2): 185-194.
145. Turnau K., Jurkiewicz A., Lingua G., Barea J.M., Gianinazzi-Pearson V. 2006. Role of arbuscular mycorrhiza and associated microorganisms in phytoremediation of heavy metal-polluted sites w: Prasad M.N.V i in. (red.) *Trace elements in the environment. Biogeochemistry, biotechnology and bioremediation*. CRC Press. s. 706.
146. Turpeinen R., Pansar-Kallio M., Häggblom M., Kairesalo T. 1999. Influence of microbes on the mobilization, toxicity and biomethylation of arsenic in soil. *Sci. Total Environ.* 236: 173-180.
147. Turpeinen R., Pansar-Kallio M., Kairesalo T. 2002. Role of microbes in controlling the speciation of arsenic and production of arsines in contaminated soils. *Sci. Total Environ.* 285: 133-145.
148. Torsvik V., Øvreås L. 2002. Microbial diversity of function in soil: from genes to ecosystem. *Curr. Op. Microbiol.* 5 (3): 240-245.
149. Visoottiviseth P., Francesconi K., Sridokchan W. 2002. The potential of Thai indigenous plant species for the phytoremediation of arsenic contaminated land. *Environ. Pollut.* 118: 453-461.
150. Wang S., Mulligan C.N. 2006. Effect of natural organic matter on arsenic release from soils and sediments into groundwater. *Environ. Geochem. Health* 28: 197-214.
151. Wang S., Mulligan C.N. 2009. Enhanced mobilization of arsenic and heavy metals from mine tailings by humic acid. *Chemosphere* 74: 274-279.

152. Warren G.P., Alloway B.J., Lepp N.W., Singh B., Bocheureau F.J.M., Penny C. 2003. Field trails to assess the uptake of Arsenic by vegetables from contaminated soils and soil remediation with iron oxides. *Sci. Tot. Environ.* 311: 19-33.
153. Wenzel WW, Kirchbaumer N, Prochaska T, Stingeder G, Lombi E, Adriano DC. 2001. Arsenic fractionation in soils using improved sequential extraction procedure. *Anal. Chim. Acta* 436:309-32.
154. Winter M. 2011. The University of Sheffield <http://www.webelements.com/arsenic/>
155. Woolson E.A. 1973. Arsenic phytotoxicity and uptake in six vegetable crops. *Weed Sci.* 21 (6): 524-527.
156. World Health Organization. 2001. Environmental Health Criteria 224. Arsenic and arsenic compounds. World Health Organization. Geneva. s. 512
157. Xu H., Allard B., Grimvall A. 1991. Effects of acidification and natural organic materials on the mobility of arsenic in the environment. *Water, Air, Soil Pollut.* 57-58: 269-278.
158. Xu P., Christie P., Liu Y., Zhang J., Li X. 2008. The arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* can enhance arsenic tolerance *Medicago truncatula* by increasing plant phosphorus status and restricting arsenate uptake. *Environ. Pollut.* 156: 215-220.
159. Yadav S.K. 2010. Heavy metals toxicity in plants: An overview on the role of glutathione and phytochelatins in heavy metal stress tolerance of plants. *South African J. Botany* 76: 167-179.
160. Zawadzki S. (red.). 1999. *Gleboznawstwo*. Wyd IV. PWRiL. s. 560.
161. Zhang G.-S., Qu J.-H., Liu H.-J., Liu R.-P., Li G.-T. 2007. Removal mechanism of As (III) by a Novel Fe-Mn binary oxide adsorbent:oxidation and sorption. *Environ. Sci. Technol.* 41 (13): 4613-4619.
162. Zhang, H., Zhao, F., Sun, B., Davison, W., McGrath, S.P., 2001. A new method to measure effective soil solution concentration predicts copper availability to plants. *Environ. Sci. Tech.* 35: 2602–2607.
163. Zhang W., Cai Y, Tu C., Ma L.Q. 2002. Arsenic speciation and distribution in an arsenic hyperaccumulation plant. *Sci. Total Environ.* 300: 167-177.
164. Zhang H. 2003. Materiały techniczne: <http://www.dgtresearch.com/>.
165. <http://zlotystok.salwach.pl/>

Spis tabel:

Tabela 1. Średnie zawartości arsenu w różnych skałach	11
Tabela 2. Koncentracja arsenu w wybranych roślinach rosnących na zanieczyszczonych glebach lub w warunkach stosowania pestycydów na bazie związków arsenu.....	20
Tabela 3. Skład chemiczny wypałów poarsenowych i koncentratu poflotacyjnego	43
Tabela 4. Schemat nawożenia wazonów, w zależności od zastosowanego dodatku.....	55
Tabela 5. Procedura ekstrakcji sekwencyjnej wg Wenzla i in. (2001)	58
Tabela 6. Ocena aktualnej i potencjalnej odporności gleb wykorzystanych w doświadczeniach	68
Tabela 7. Współczynniki korelacji liniowej Pearsona między zawartością łatwo rozpuszczalnych form As w glebach (mg kg ⁻¹) a koncentracją As w nadziemnych częściach roślin (mg kg ⁻¹) – K oraz wielkością pobrania As (μg wazon ⁻¹) –W, w glebach i roślinach dośw. I, II	117
Tabela 8. Skład granulometryczny gleb	162
Tabela 9. Podstawowe właściwości gleb pobranych do doświadczeń	163
Tabela 10. Całkowita zawartość arsenu, cynku, ołowiu i miedzi w glebach pobranych do doświadczeń.....	164
Tabela 11. Zawartość węgla organicznego, składników pokarmowych oraz metali ciężkich w osadach ściekowych i oborniku wykorzystanych w doświadczeniach.....	164
Tabela 12. Skład frakcyjny próchnicy w glebach ZS I, ZS II i ZS III oraz osadach ściekowych i oborniku	165
Tabela 13. Wyniki doświadczenia inkubacyjnego 1	166
Tabela 14. Wyniki doświadczenia inkubacyjnego 2	170
Tabela 15. Udział form łatwo rozpuszczalnych i specyficznie związanych As w glebach po zakończeniu doświadczenia wazonowego I.	189
Tabela 16. Zawartość arsenu w częściach nadziemnych roślin oraz biomasa roślin zebranych z doświadczenia wazonowego I	192
Tabela 17. Łatwo rozpuszczalne formy arsenu oraz odczyn gleb po zakończeniu doświadczenia wazonowego II	194
Tabela 18. Zawartość arsenu w częściach nadziemnych roślin oraz biomasa roślin zebranych z doświadczenia wazonowego II.....	203
Tabela 19. Zawartość arsenu w częściach nadziemnych roślin oraz biomasa roślin zebranych z doświadczenia wazonowego III.....	208

Tabela 20. Zawartość arsenu w częściach nadziemnych roślin zebranych z drugiego zbioru doświadczenia wazonowego III.....	211
Tabela 21. Zawartość fosforu w częściach nadziemnych roślin w wybranych wariantach doświadczenia wazonowego III.....	218
Tabela 22. Wyniki sekwencyjnej ekstrakcji As w próbkach gleb z doświadczenia inkubacyjnego 2.....	219
Tabela 23. Wyniki sekwencyjnej ekstrakcji As w próbkach gleb z doświadczenia wazonowego I.....	221
Tabela 24. Wyniki analizy DGT w zestawieniu z wynikami charakteryzującymi przyswajalność As uzyskanych innymi metodami	222
Tabela 25. Wyniki analizy mikrobiologicznej metodą BIOLOG.....	223
Tabela 26. Stopień zużycia substratów z poszczególnych grup w testach BIOLOG po 130 h inkubacji próbek	224

Spis rysunków:

Rysunek 1. Kształtowanie się ładunków koloidów glebowych w zależności do odczynu (według Sadiq 1997, zmodyfikowane przez autorkę).....	24
Rysunek 2. Schemat dzielenia ładunku atomu fosforu z atomami tlenu (za McBride 1994)	28
Rysunek 3. Rozmieszczenie złóż złotonośnych rud i istniejące na nich wyrobiska górnicze (Złota Ścieżka- http://www.zlotystok.pl/sciezka/indexpl.htm)	42
Rysunek 4. Ogólna budowa urządzenia DGT	59
Rysunek 5. Układ warstw w urządzenia DGT.....	60
Rysunek 6. Wpływ dodatków (b.d., P, Fe) formy As (III i V) i warunków wilgotnościowych na wyniki ekstrakcji łatwo rozpuszczalnych form As z gleb L i G.....	75
Rysunek 7. Wpływ dodatków (b.d., P, Fe), formy As (III i V) i warunków wilgotnościowych na ekstrakcję specyficznie związanych form As	75
Rysunek 8. Rozpuszczalność arsenu w glebach ZS I i ZS III, w zależności od zastosowanych dodatków (b.d., P, Fe) oraz dodatków organicznych (0, Ob., AC, SS) i warunków wilgotnościowych	79

Rysunek 9. Średnie wartości pH gleby ZS I i ZS III, w zależności od zastosowanych dodatków (b.d., P, Fe) oraz dodatków organicznych (0, Ob., AC, SS) i warunków wilgotnościowych	79
Rysunek 10. Rozpuszczalność arsenu w glebie (G) zanieczyszczonej AsIII i AsV, w zależności od zastosowanych dodatków (b.d., P, Fe) oraz dodatków organicznych (0, Ob., AC, SS) i warunków wilgotnościowych.....	80
Rysunek 11. Średnie wartości pH gleby (G) zanieczyszczonej AsIII i AsV, w zależności od zastosowanych dodatków (b.d., P, Fe) oraz dodatków organicznych (0, Ob., AC, SS) i warunków wilgotnościowych	80
Rysunek 12. Zależność między koncentracją As w kłosówce wełnistej z doświadczenia I na glebie L,As III i L, AsV z dodatkiem P a biomasa nadziemnych części roślin.....	88
Rysunek 13. Zależność między koncentracją As w rzepaku z doświadczenia I na glebie L,As III i L, AsV z dodatkiem P a biomasa nadziemnych części roślin	89
Rysunek 14. Zależność między udziałem łatwo rozpuszczalnych form arsenu w glebie G, w doświadczeniu I, a koncentracją As w nadziemnych częściach roślin	90
Rysunek 15. Zależność między udziałem łatwo rozpuszczalnych form arsenu w doświadczeniu z glebą G a jego pobraniem przez rośliny	92
Rysunek 16. Udział łatwo rozpuszczalnych i specyficznie związanych form As w glebach w doświadczeniu wazonowym I.....	93
Rysunek 17. Koncentracja arsenu w nadziemnych częściach roślin w zależności od rodzaju gleby oraz dodatku fosforu w doświadczeniu wazonowym I.....	93
Rysunek 18. Udział łatwo rozpuszczalnych form arsenu w glebach pobranych spod kłosówki wełnistej w zależności od zastosowanego dodatku – w doświadczeniu wazonowym II	95
Rysunek 19. Udział łatwo rozpuszczalnych form arsenu w zależności od zastosowanego dodatku i gatunku rośliny uprawianej na glebach – w doświadczeniu wazonowym II.....	96
Rysunek 20. Zawartość arsenu w kłosówce wełnistej w wybranych wariantach doświadczenia wazonowego II	98
Rysunek 21. Zawartość arsenu w materiale roślinnym olszy czarnej w wybranych wariantach – w doświadczeniu wazonowym II	100
Rysunek 22. Zależność między udziałem form łatwo rozpuszczalnych w glebie ZS II doświadczenia wazonowego II a koncentracją As w roślinach	101
Rysunek 23. Zależność między udziałem form łatwo rozpuszczalnych w glebie ZS II doświadczenia wazonowego II a pobraniem As przez rośliny	101

Rysunek 24. Zawartość arsenu w kukurydzy z doświadczenia wazonowego III (I zbiór)	104
Rysunek 25. Zawartość arsenu w perzu i rzepaku zebranych z gleby ZS IV	105
Rysunek 26. Zawartość arsenu w kłosówce wełnistej	107
Rysunek 27. Zawartość arsenu w materiale roślinnym życicy trwałej	108
Rysunek 28. Zawartość arsenu w kukurydzy z drugiego zbioru doświadczenia wazonowego III	109
Rysunek 29. Zależność między koncentracją As i P w wybranych wariantach doświadczenia wazonowego III	112
Rysunek 30. Wpływ dodatku fosforu na biomasę kłosówki wełnistej	114
Rysunek 31. Zależność między udziałem form łatwo rozpuszczalnych	116
Rysunek 32. Zależność między udziałem form łatwo rozpuszczalnych w glebach ze wszystkich doświadczeń a pobraniem As przez rośliny	116
Rysunek 33. Specjacja As w glebach z doświadczenia inkubacyjnego 2 – na podstawie wyników sekwencyjnej ekstrakcji metodą Wenzla i in. (2001)	118
Rysunek 34. Zawartość arsenu w poszczególnych frakcjach w glebie ZS I, po zakończeniu doświadczenia inkubacyjnego 2. Analiza statystyczna na poziomie istotności $\alpha=0,05$	119
Rysunek 35. Zawartość arsenu w poszczególnych frakcjach w glebie L, AsIII po zakończeniu doświadczenia inkubacyjnego 2. Analiza statystyczna na poziomie istotności $\alpha=0,05$	120
Rysunek 36. Specjacja As w glebach z doświadczenia wazonowego I z doświadczenia z kłosówką wełnistą – na podstawie wyników sekwencyjnej ekstrakcji metodą Wenzla i in. (2001)	124
Rysunek 37. Specjacja As w glebach z doświadczenia wazonowego I w doświadczeniu z rzepakiem – na podstawie wyników sekwencyjnej ekstrakcji metodą Wenzla i in. (2001)	125
Rysunek 38. Zależność między wartościami CDGT a stężeniem arsenu w częściach nadziemnych kłosówki wełnistej	129
Rysunek 39. Zależność między wartościami CDGT a wynikami ekstrakcji łatwo rozpuszczalnych form As	130
Rysunek 40. Zależność pomiędzy wartościami CDGT a współczynnikiem bioakumulacji arsenu WB	130
Rysunek 41. Kinetyka powstawania zabarwienia w wybranych próbkach z doświadczenia z kłosówką wełnistą (a) i z życicą trwałą (b) z gleby ZS I	134

Rysunek 42. Kinetyka powstawania zabarwienia w wybranych próbkach z doświadczenia z kłóśówką wełnistą (a) i z olszą czarną (b) z gleby ZS II	134
Rysunek 43. Kinetyka powstawania zabarwienia w wybranych próbkach z doświadczenia z kłóśówką wełnistą (a) i z olszą czarną (b) z gleby ZS III	135
Rysunek 44. Kinetyka powstawania zabarwienia w wybranych próbkach z doświadczenia z kłóśówką wełnistą z gleby ZS IV	135
Rysunek 45. Średnie pole powierzchni pod krzywą (AAUC) w glebach z doświadczenia z kłóśówką wełnistą (a) i kukurydzą (b), w zależności od zastosowanego dodatku	137
Rysunek 46. Różnorodność funkcjonalna mikroorganizmów (H') w glebach z doświadczenia z kłóśówką wełnistą (a) i kukurydzą (b), w zależności od zastosowanego dodatku.....	137

Spis map:

Mapa 1. Punkty poboru materiału glebowego z Ligoty Małej (L) i Pawłowic (G)

(źródło:<http://maps.geoportal.gov.pl/webclient>)

Mapa 2. Punkty poboru próbek gleby w okolicy Złotego Stoku

Spis schematów:

Schemat 1. Schemat doświadczenia inkubacyjnego 1

Schemat 2. Schemat doświadczenia inkubacyjnego 2

Schemat 3. Schemat doświadczenia wazonowego I

Schemat 4. Schemat doświadczenia wazonowego II

Spis zdjęć:

Zdjęcie 1. Preparat Salvarsan 606 (źródło: strona poświęcona Paulowi Ehrlichowi

Zdjęcie 2. Wpływ arsenu na zdrowie ludzi zamieszkujących tereny Bengalu Zachodniego
(zdjęcia prof. Surendry Kumar w: Dissanayake i Chandrajith 2009)

Zdjęcie 3. Dawne obiekty zakładów arsenowych w złotym Stoku. Zdjęcia archiwalne
(Złota Ścieżka- <http://www.zlotystok.pl/sciezka/indexpl.htm>)

Zdjęcie 4. Miejsce poboru gleby ZS I (fotografia własna)

Zdjęcie 5. Miejsce poboru ZS II (fotografia własna)

Zdjęcie 6. Miejsce poboru próbki ZS III (fotografia własna)

Zdjęcie 7. Doświadczenie inkubacyjne 1 (zdjęcie własne)

Zdjęcie 8. Urządzenia DGT z nałożonymi próbkami gleby, bezpośrednio przed poddaniem powtórnej inkubacji (zdjęcie własne)

Zdjęcie 9. Płytki EcoPlate Biolog, po zakończeniu testów mikrobiologicznych (zdjęcie własne)

Zdjęcie 10 – 51. Zdjęcia roślin z doświadczeń wazonowych

Załączniki – tabele i zdjęcia

Tabela 8. Skład granulometryczny gleb

Gleba	Udział procentowy frakcji granulometrycznych o średnicach (mm)									Grupa granulometryczna wg PTG 2008
	2,0-1,0	1,0-0,5	0,5-0,25	0,25-0,1	0,1-0,05	0,05-0,02	0,02-0,006	0,006-0,002	<0,002	
Ligota Mała (L)	7	11	26	31	11	4	4	0	6	ps
Pawłowice (G)	2	7	17	24	10	4	12	4	20	gl
Złoty Stok I (ZS I)	x	3	5	5	16	30	28	9	4	pyg
Złoty Stok II (ZS II)	x	8	10	8	14	24	23	9	4	pyg
Złoty Stok III (ZS III)	x	9	18	5	15	18	21	9	5	gp
Złoty Stok IV (ZS IV)	0	1	12	46	20	10	8	2	1	gp

Tabela 9. Podstawowe właściwości gleb pobranych do doświadczeń

Parametr		Jednostka	Gleba					
			L	G	ZS I	ZS II	ZS III	ZS IV
1		2	3	4	5	6	7	8
Corg		(%)	0,8	0,91	1,83	2,1	2,32	1,07
Corg*		(%)	1,11	1,26	2,66	2,76	3,23	1,48
pH (KCl)		-	5,53	6,01	6,50	5,52	5,30	6,10
pH (H ₂ O)		-	6,12	6,75	7,30	5,74	6,10	6,70
Formy przyswajalne	P	(mg kg ⁻¹)	28	75	315	165	73	46
	K	(mg kg ⁻¹)	10	68	44	98	64	116
	Mg	(mg kg ⁻¹)	80	200	130	130	133	130
Suma kationów zasadowych (S)		(cmol·kg ⁻¹)	7,00	11,4	36,2	25,6	8,20	20,3
Kwasowość hydrolityczna (Kh)		(cmol·kg ⁻¹)	2,40	2,00	1,60	2,80	4,40	6,00
Całkowita pojemność sorpcyjna (T)		(cmol·kg ⁻¹)	9,40	13,4	37,8	28,4	12,6	26,3
Azot ogólny		(%)	0,08	0,06	0,16	0,19	0,26	0,13
Stosunek C:N		-	14:1	21:1	17:1	15:1	12:1	11:1

*CS-MAT 5500

Tabela 10. Całkowita zawartość arsenu, cynku, ołowiu i miedzi w glebach pobranych do doświadczeń

Parametr	Jednostka	Gleba					
		L	G	ZS I	ZS II	ZS III	ZS IV
1	2	3	4	5	6	7	8
As	(mg kg ⁻¹)	<p.d.*	<p.d.	5350	4025	3323	356
Zn	(mg kg ⁻¹)	16,9	28,2	142	133	146	57,0
Pb	(mg kg ⁻¹)	15,0	21,3	377	269	410	47,7
Cu	(mg kg ⁻¹)	5,10	11,1	64,3	48,2	48,5	15,5

* p.d. próg detekcji (0,018 mg kg⁻¹)

Tabela 11. Zawartość węgla organicznego, składników pokarmowych oraz metali ciężkich w osadach ściekowych i oborniku wykorzystanych w doświadczeniach

Dodatek	Corg* (%)	N (%)	Na (mg kg ⁻¹)	K (mg kg ⁻¹)	Ca (mg kg ⁻¹)	Mg (mg kg ⁻¹)	Mn (mg kg ⁻¹)	As (mg kg ⁻¹)	Zn (mg kg ⁻¹)	Pb (mg kg ⁻¹)	Cu (mg kg ⁻¹)
Osady ściekowe	33,5	4,94	312	190	2390	500	49,8	3,20	1055	9,25	65,0
Obornik	33,5	0,15	1283	1865	3300	1080	110	7,35	126	0,00	36,5

*CS MAT-5500

Tabela 12. Skład frakcyjny próchnicy w glebach ZS I, ZS II i ZS III oraz osadach ściekowych i oborniku

Próbka	C org* (%)	Frakcja I a (%)	II Frakcja (%)				III Frakcja (%)				C niehyd. (%)	IV Frakcja (%)				C związane z Ca (%)
			C wydź	Ckh	Ckf	Ckh/Ckf	C wydź	Ckh	Ckf	Ckh/Ckf		C wydź	Ckh	Ckf	Ckh/Ckf	
ZS I	2,21	0,07	0,90	0,57	0,34	1,71	0,12	0,07	0,05	1,62	1,10	0,33	0,11	0,22	0,49	0,47
ZS II	2,07	0,12	1,03	0,58	0,45	1,29	0,14	0,08	0,06	1,36	0,78	0,58	0,21	0,37	0,57	0,36
ZS III	2,82	0,23	1,20	0,72	0,48	1,50	0,12	0,07	0,05	1,52	1,28	0,81	0,36	0,45	0,77	0,36
SS	26,1	1,34	11,18	5,87	5,31	1,11	-	-	-	-	13,6	3,99	1,60	2,40	0,67	4,00
Ob.	29,2	2,56	10,05	6,02	4,02	1,49	-	-	-	-	16,6	3,01	1,51	1,50	1,01	4,50

* Metodą Tiurina

Tabela 13. Wyniki doświadczenia inkubacyjnego 1

Nr. próbki	Rodzaj gleby	Forma As	Zastosowany dodatek	Warunki wilgotnościowe	Łatwo rozpuszczalne formy As				Specyficznie związane formy As			
					Ekstrahowane (NH ₄) ₂ SO ₄				Ekstrahowane NH ₄ H ₂ PO ₄			
					(mg As kg ⁻¹)				(mg As kg ⁻¹)			
					powtórzenia	średnia	SD	ufność	powtórzenia	średnia	SD	ufność
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	L	III	b.d.	stała wilgotność	70,4	97,3	23,4	26,4	355,0	409	47,7	54,0
2					108,5				445,0			
3					112,9				427,5			
4			b.d.	sucha/wilgotna	234,7	210	23,1	26,1	632,5	531	109	123,8
5					206,7				545,0			
6					188,9				415,0			
7			P	stała wilgotność	38,3	47,9	18,4	20,8	317,5	311	25,7	29,0
8					36,3				282,5			
9					69,1				332,5			
10			P	sucha/wilgotna	204,4	215	38,2	43,2	632,5	644	10,1	11,4
11					257,5				650,0			
12					183,4				650,0			
13			Fe	stała wilgotność	74,3	74,4	2,6	2,9	405,0	395	24,1	27,3
14					77,0				367,5			
15					71,9				412,5			
16			Fe	sucha/wilgotna	120,2	130	9,3	10,5	522,5	472	44,5	50,3
17					138,3				440,0			
18					132,6				452,5			
19			5 Fe	stała wilgotność	83,3	83,5	1,5	1,7	427,5	427	8,8	9,9
20					82,1				417,5			
21					85,0				435,0			
22			5 Fe	sucha/wilgotna	120,2	122	11,6	13,1	520,0	525	13,2	15,0
23					112,0				515,0			

Tabela 13 c.d.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
24	L	III	5 Fe	sucha/wilgotna	134,9				540,0			
25	L	V	b.d.	stała wilgotność	113,1	125	40,4	45,7	492,5	510	15,6	17,7
26					92,7				522,5			
27					170,6				515,0			
28			b.d.	sucha/wilgotna	115,9	149	28,6	32,4	607,5	568	38,8	43,9
29					165,0				530,0			
30					165,9				567,5			
31			P	stała wilgotność	187,3	211	36,0	40,7	355,0	390	46,3	52,4
32					193,5				372,5			
33					252,5				442,5			
34			P	sucha/wilgotna	410,0	355	122,7	138,9	627,5	638	66,9	75,7
35					214,0				577,5			
36					440,0				710,0			
37			Fe	stała wilgotność	182,8	175	11,0	12,5	460,0	476	17,7	20,1
38					178,8				495,0			
39					162,0				472,5			
40			Fe	sucha/wilgotna	235,5	232	4,4	5,0	507,5	510	23,8	27,0
41					227,3				487,5			
42					234,0				535,0			
43			5 Fe	stała wilgotność	43,3	35,6	10,0	11,3	490,0	469	27,9	31,5
44					24,3				437,5			
45					39,3				480,0			
46			5 Fe	sucha/wilgotna	59,0	57,9	5,2	5,9	427,5	446,7	23,2	26,3
47					62,5				472,5			
48					52,3				440,0			
49	G	III	b.d.	stała wilgotność	357,5	368	26,5	29,9	667,5	652	14,2	16,1
50					347,5				640,0			
51					397,5				647,5			

Tabela 13 c.d.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
52	G	III	b.d.	sucha/wilgotna	447,5	448	50,0	56,6	620,0	639	20,1	22,7
53					397,5				637,5			
54					497,5				660,0			
55			P	stała wilgotność	487,5	468	28,4	32,1	565,0	605	42,7	48,3
56					435,0				650,0			
57					480,0				600,0			
58			P	sucha/wilgotna	525,0	470	93,1	105	755,0	671	76,7	86,7
59					362,5				652,5			
60					522,5				605,0			
61			Fe	stała wilgotność	287,5	305	15,6	17,7	580,0	595	13,9	15,8
62					317,5				597,5			
63					310,0				607,5			
64			Fe	sucha/wilgotna	260,0	304	54,4	61,6	572,5	602	27,7	31,3
65					287,5				627,5			
66					365,0				605,0			
67			5 Fe	stała wilgotność	129,3	155	31,1	35,2	565,0	558	6,6	7,5
68					189,5				552,5			
69					146,0				555,0			
70			5 Fe	sucha/wilgotna	117,0	147	26,0	29,4	512,5	543	41,1	46,5
71					159,8				527,5			
72					164,0				590,0			
73		V	b.d.	stała wilgotność	387,5	401	21,0	23,7	615,0	631	15,1	17,1
74					425,0				632,5			
75					390,0				645,0			
76			b.d.	sucha/wilgotna	302,5	449,2	174,7	198	540,0	655,0	99,9	113
77					402,5				705,0			
78					642,5				720,0			

Tabela 13 c.d.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
79	G	V	P	stała wilgotność	475,0	453	27,4	31,0	692,5	635	49,9	56,5
80					422,5				602,5			
81					462,5				610,0			
82			P	sucha/wilgotna	442,5	448	41,6	47,0	617,5	670	48,3	54,6
83					492,5				712,5			
84					410,0				680,0			
85			Fe	stała wilgotność	325,0	307	16,1	18,2	637,5	641	25,2	28,5
86					300,0				617,5			
87					295,0				667,5			
88			Fe	sucha/wilgotna	267,5	271	20,2	22,9	680,0	659	20,1	22,7
89					252,5				640,0			
90					292,5				657,5			
91			5 Fe	stała wilgotność	94,0	88,5	5,1	5,7	555,0	528	75,1	85,0
92					87,5				585,0			
93					84,0				442,5			
94			5 Fe	sucha/wilgotna	55,8	56,8	4,5	5,1	477,5	501	26,7	30,2
95					53,0				495,0			
96					61,8				530,0			

Tabela 14. Wyniki doświadczenia inkubacyjnego 2

Nr próbki	Gleba	Wariant	Warunki wilgotnościowe	Zastosowany dodatek	Łatwo rozpuszczalne formy As				Odczyn	
					Ekstrahowane (NH ₄) ₂ SO ₄					
					(mg As kg ⁻¹)					
					powtórzenia	średnia	SD	ufność	średnia	SD
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	ZS I	b.d.	stała wilgotność	0	108,3	110	1,7	1,9	6,66	0,04
1A					111,5					
1B					110,5					
2		P	stała wilgotność	0	147,3	151	3,2	3,6	6,41	0,12
2A					152,3					
2B					153,3					
3		Fe	stała wilgotność	0	109,5	103	8,4	9,5	6,79	0,04
3A					106,2					
3B					93,6					
4		b.d.	sucha/wilgotna	0	111,5	110	0,9	1,1	6,75	0,08
4A					110,0					
4B					109,8					
5		P	sucha/wilgotna	0	151,8	149	2,4	2,7	6,60	0,04
5A					149,0					
5B					147,0					
6		Fe	sucha/wilgotna	0	96,8	95,8	1,1	1,3	6,56	0,03
6A					94,5					
6B					96,0					
7		b.d.	stała wilgotność	Ob.	130,5	119	10,1	11,4	6,53	0,01
7A					111,8					
7B					114,8					

Tabela 14. c.d.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
8	ZS I	P	stała wilgotność	Ob.	171,0	163	6,9	7,8	6,28	0,04
8A					160,8					
8B					158,0					
9		Fe	stała wilgotność	Ob.	93,3	93,8	0,5	0,6	6,54	0,03
9A					94,3					
9B					93,8					
10		bez dodatku	sucha/wilgotna	Ob.	113,5	120	5,8	6,6	6,66	0,05
10A					124,0					
10B					123,0					
11		P	sucha/wilgotna	Ob.	151,8	154	2,4	2,7	6,64	0,04
11A					153,3					
11B					156,5					
12		Fe	sucha/wilgotna	Ob.	102,3	101	1,8	2,1	6,69	0,06
12A					98,8					
12B					101,5					
13		bez dodatku	stała wilgotność	AC	125,8	129	4,7	5,3	6,80	0,05
13A					126,0					
13B					134,0					
14		P	stała wilgotność	AC	159,8	161	2,4	2,7	6,35	0,04
14A					163,3					
14B					158,8					
15		Fe	stała wilgotność	AC	99,8	104	4,5	5,1	6,73	0,03
15A					104,3					
15B					108,8					
16		bez dodatku	sucha/wilgotna	AC	115,3	117	1,7	1,9	6,72	0,03
16A					118,5					
16B					116,3					

Tabela 14. c.d.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
17	ZS I	P	sucha/wilgotna	AC	159,5	161	2,6	3,0	6,51	0,08
17A					164,3					
17B					160,0					
18		Fe	sucha/wilgotna	AC	114,5	113	2,5	2,9	6,65	0,01
18A					110,0					
18B					114,3					
19		bez dodatku	stała wilgotność	Ob.	144,1	144	6,5	7,3	6,08	0,08
19A					136,9					
19B					149,9					
20		P	stała wilgotność	Ob.	204,0	204	3,0	3,4	5,84	0,06
20A					206,8					
20B					200,8					
21		Fe	stała wilgotność	Ob.	123,4	121	4,1	4,7	6,23	0,05
21A					123,3					
21B					116,2					
22		bez dodatku	sucha/wilgotna	Ob.	150,8	147	4,5	5,1	6,57	0,04
22A					141,8					
22B					147,0					
23		P	sucha/wilgotna	Ob.	162,5	171	8,3	9,4	6,22	0,09
23A					172,8					
23B					179,0					
24		Fe	sucha/wilgotna	Ob.	125,8	137	11,6	13,2	6,36	0,02
24A					149,0					
24B					136,5					
28	ZS II	bez dodatku	sucha/wilgotna	0	67,5	68,5	1,7	2,0	5,79	0,05
28A					70,5					
28B					67,5					

Tabela 14. c.d.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
29	ZS II	P	sucha/wilgotna	0	102,3	120	22,0	24,8	5,86	0,09
29A					144,5					
29B					113,0					
30		Fe	sucha/wilgotna	0	68,8	69,3	1,9	2,2	5,89	0,03
30A					71,5					
30B					67,8					
34		bez dodatku	sucha/wilgotna	Ob.	67,5	73,3	5,6	6,4	6,09	0,14
34A					73,5					
34B					78,8					
35		P	sucha/wilgotna	Ob.	114,5	111	5,6	6,3	5,89	0,05
35A					113,3					
35B					104,3					
36		Fe	sucha/wilgotna	Ob.	66,3	67,8	1,5	1,7	5,77	0,05
36A					67,8					
36B					69,3					
38		P	stała wilgotność	AC	127,5	123	3,6	4,1	5,46	0,05
38A					120,8					
38B					122,0					
39		Fe	stała wilgotność	AC	78,8	77,7	1,3	1,5	5,54	0,05
39A					78,0					
39B					76,3					
40		bez dodatku	sucha/wilgotna	AC	80,0	81,6	2,5	2,9	5,96	0,02
40A					80,3					
40B					84,5					
41		P	sucha/wilgotna	AC	112,3	115	2,3	2,6	5,77	0,10
41A					115,3					
41B					116,8					

Tabela 14. c.d.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
42	ZS II	Fe	sucha/wilgotna	AC	69,8	65,8	4,6	5,2	5,79	0,06
42A					67,0					
42B					60,8					
43		bez dodatku	stała wilgotność	SS	125,3	131	5,4	6,2	4,99	0,04
43A					131,4					
43B					136,1					
44		P	stała wilgotność	SS	184,3	190	6,1	6,9	4,96	0,02
44A					196,5					
44B					189,8					
45		Fe	stała wilgotność	SS	112,4	109	8,1	9,2	5,01	0,03
45A					114,7					
45B					99,6					
46		bez dodatku	sucha/wilgotna	SS	116,5	121	3,7	4,2	5,75	0,05
46A					123,5					
46B					122,0					
47		P	sucha/wilgotna	SS	138,8	139	1,8	2,1	5,47	0,05
47A					141,5					
47B					138,0					
48		Fe	sucha/wilgotna	SS	109,0	110	6,0	6,8	5,56	0,06
48A					104,3					
48B					116,3					
49	ZS III	bez dodatku	stała wilgotność	0	30,7	30,6	0,1	0,1	4,78	0,03
49A					30,5					
49B					30,7					
50		P	stała wilgotność	0	51,8	49,3	2,2	2,5	5,43	0,03
50A					47,5					
50B					48,5					

Tabela 14. c.d.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
51	ZS III	Fe	stała wilgotność	0	25,2	25,8	1,6	1,8	4,58	0,03
51A					27,6					
51B					24,5					
52		bez dodatku	sucha/wilgotna	0	35,5	35,3	1,3	1,4	4,96	0,04
52A					34,0					
52B					36,5					
53		P	sucha/wilgotna	0	50,0	51,8	1,7	1,9	4,78	0,04
53A					53,3					
53B					52,3					
54		Fe	sucha/wilgotna	0	28,0	28,6	0,6	0,7	4,86	0,04
54A					28,5					
54B					29,3					
55		bez dodatku	stała wilgotność	Ob.	45,5	38,3	6,4	7,2	4,82	0,06
55A					35,8					
55B					33,5					
56		P	stała wilgotność	Ob.	50,3	48,3	1,9	2,1	6,08	0,08
56A					46,5					
56B					48,3					
57		Fe	stała wilgotność	Ob.	29,3	27,6	1,5	1,7	4,61	0,02
57A					26,5					
57B					27,0					
58		bez dodatku	sucha/wilgotna	Ob.	36,0	38,2	1,9	2,2	4,91	0,05
58A					39,8					
58B					38,8					
59		P	sucha/wilgotna	Ob.	68,0	61,3	7,3	8,3	4,72	0,02
59A					62,5					
59B					53,5					

Tabela 14. c.d.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
60	ZS III	Fe	sucha/wilgotna	Ob.	35,8	32,9	2,6	2,9	4,83	0,06
60A					32,3					
60B					30,8					
61		bez dodatku	stała wilgotność	AC	32,8	33,4	1,4	1,6	4,67	0,03
61A					32,5					
61B					35,0					
62		P	stała wilgotność	AC	54,8	54,6	0,1	0,2	4,92	0,11
62A					54,5					
62B					54,5					
63		Fe	stała wilgotność	AC	28,0	26,9	1,8	2,0	4,56	0,02
63A					24,8					
63B					27,8					
64		bez dodatku	sucha/wilgotna	AC	34,0	33,6	0,7	0,8	4,79	0,04
64A					32,8					
64B					34,0					
65		P	sucha/wilgotna	AC	58,3	61,6	2,9	3,3	4,72	0,07
65A					63,5					
65B					63,0					
66		Fe	sucha/wilgotna	AC	29,5	29,8	0,7	0,7	4,76	0,03
66A					30,5					
66B					29,3					
67		bez dodatku	stała wilgotność	SS	69,9	68,5	2,3	2,6	4,35	0,06
67A					69,7					
67B					65,8					
68		P	stała wilgotność	SS	76,3	77,2	2,0	2,3	4,40	0,09
68A					79,5					
68B					75,8					

Tabela 14. c.d.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
69	ZS III	Fe	stała wilgotność	SS	51,0	54,6	3,8	4,3	4,46	0,08
69A					58,5					
69B					54,4					
70		bez dodatku	sucha/wilgotna	SS	66,5	67,5	8,8	9,9	4,94	0,14
70A					76,8					
70B					59,3					
71		P	sucha/wilgotna	SS	85,3	87,3	1,9	2,1	4,81	0,08
71A					89,0					
71B					87,5					
72		Fe	sucha/wilgotna	SS	61,3	56,3	6,3	7,1	4,90	0,07
72A					49,3					
72B					58,5					
73	L, As III	bez dodatku	stała wilgotność	0	156,1	161	7,6	8,6	5,62	0,04
73A					169,4					
73B					156,4					
74		P	stała wilgotność	0	194,0	226	55,8	63,1	6,53	0,01
74A					290,0					
74B					192,8					
75		Fe	stała wilgotność	0	162,6	150	11,0	12,5	5,36	0,11
75A					143,2					
75B					143,9					
76		bez dodatku	sucha/wilgotna	0	185,3	177	7,1	8,1	5,65	0,06
76A					175,0					
76B					171,5					
77		P	sucha/wilgotna	0	193,0	170	25,3	28,7	5,06	0,07
77A					175,0					
77B					143,0					

Tabela 14. c.d.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
78	L, As III	Fe	sucha/wilgotna	0	138,0	150	15,3	17,3	5,32	0,09
78A					144,0					
78B					167,0					
79		bez dodatku	stała wilgotność	Ob.	246,3	245	10,2	11,5	5,43	0,03
79A					255,0					
79B					234,8					
80		P	stała wilgotność	Ob.	218,3	228	24,2	27,4	6,66	0,04
80A					209,3					
80B					255,0					
81		Fe	stała wilgotność	Ob.	158,5	189	28,6	32,3	5,27	0,06
81A					194,0					
81B					215,0					
82		bez dodatku	sucha/wilgotna	Ob.	290,0	294	7,2	8,2	5,91	0,11
82A					302,5					
82B					290,0					
83		P	sucha/wilgotna	Ob.	190,3	173	15,5	17,5	5,01	0,08
83A					165,5					
83B					161,8					
84		Fe	sucha/wilgotna	Ob.	161,8	188	22,9	25,9	5,45	0,05
84A					200,3					
84B					202,5					
85		bez dodatku	stała wilgotność	AC	231,3	206	40,3	45,6	5,19	0,05
85A					227,8					
85B					159,8					
86		P	stała wilgotność	AC	214,0	188	41,6	47,0	4,92	0,11
86A					140,0					
86B					209,8					

Tabela 14. c.d.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
87	L, As III	Fe	stała wilgotność	AC	159,3	171	13,0	14,7	5,70	0,07
87A					167,5					
87B					184,8					
88		bez dodatku	sucha/wilgotna	AC	178,5	192	17,4	19,7	5,62	0,10
88A					211,5					
88B					185,5					
89		P	sucha/wilgotna	AC	220,0	198	25,6	28,9	4,77	0,09
89A					170,0					
89B					204,2					
90		Fe	sucha/wilgotna	AC	189,3	179	9,1	10,3	5,17	0,07
90A					175,5					
90B					172,0					
91		bez dodatku	stała wilgotność	SS	174,5	210	30,7	34,8	4,92	0,13
91A					228,1					
91B					227,3					
92		P	stała wilgotność	SS	257,5	212	48,4	54,7	4,91	0,04
92A					217,5					
92B					161,3					
93		Fe	stała wilgotność	SS	198,4	216	48,7	55,1	5,14	0,14
93A					178,8					
93B					271,2					
94		bez dodatku	sucha/wilgotna	SS	163,0	177	18,8	21,3	5,14	0,02
94A					198,0					
94B					168,5					
95		P	sucha/wilgotna	SS	161,0	158	7,2	8,1	4,97	0,03
95A					150,0					
95B					163,5					

Tabela 14. c.d.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
96	L, As III	Fe	sucha/wilgotna	SS	159,5	154	5,1	5,7	5,14	0,14
96A					153,0					
96B					149,5					
97	L, As V	bez dodatku	stała wilgotność	0	247,3	254	10,0	11,3	6,00	0,04
97A					248,3					
97B					265,0					
98		P	stała wilgotność	0	231,8	238	24,6	27,8	5,94	0,06
98A					217,0					
98B					265,0					
99		Fe	stała wilgotność	0	184,0	187	4,8	5,4	5,69	0,08
99A					192,0					
99B					183,5					
100		bez dodatku	sucha/wilgotna	0	163,3	177	19,5	22,0	6,13	0,07
100A					199,0					
100B					167,8					
101		P	sucha/wilgotna	0	198,3	181	15,2	17,2	5,58	0,11
101A					172,5					
101B					171,5					
102		Fe	sucha/wilgotna	0	166,5	145	18,8	21,2	5,94	0,09
102A					139,3					
102B					130,5					
103		bez dodatku	stała wilgotność	Ob.	188,5	231	39,0	44,1	5,94	0,06
103A					240,0					
103B					265,0					
104		P	stała wilgotność	Ob.	302,5	290	11,5	13,0	6,41	0,12
104A					287,5					
104B					280,0					

Tabela 14. c.d.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
105	L, As V	Fe	stała wilgotność	Ob.	180,5	186	19,8	22,4	5,46	0,05
105A					207,5					
105B					169,0					
106		bez dodatku	sucha/wilgotna	Ob.	164,8	202	32,1	36,3	6,42	0,13
106A					216,0					
106B					223,8					
107		P	sucha/wilgotna	Ob.	169,5	181	21,0	23,8	5,95	0,07
107A					205,5					
107B					168,8					
108		Fe	sucha/wilgotna	Ob.	160,8	147	13,0	14,7	6,00	0,02
108A					134,8					
108B					146,8					
109		bez dodatku	stała wilgotność	AC	206,0	222	24,0	27,2	6,54	0,03
109A					210,8					
109B					249,8					
110		P	stała wilgotność	AC	221,5	209	17,5	19,8	5,24	0,01
110A					189,0					
110B					216,5					
111		Fe	stała wilgotność	AC	141,5	152	9,6	10,9	4,91	0,04
111A					153,8					
111B					160,5					
112		bez dodatku	sucha/wilgotna	AC	241,3	213	24,7	28,0	6,30	0,17
112A					201,8					
112B					195,8					
113		P	sucha/wilgotna	AC	202,8	193	8,3	9,4	5,66	0,15
113A					186,8					
113B					190,8					

Tabela 14. c.d.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
114	L, As V	Fe	sucha/wilgotna	AC	143,8	141	10,1	11,4	5,95	0,06
114A					129,5					
114B					149,0					
115		bez dodatku	stała wilgotność	SS	224,5	227	27,1	30,6	4,97	0,15
115A					255,0					
115B					201,0					
116		P	stała wilgotność	SS	177,5	165	11,3	12,8	5,00	0,07
116A					155,3					
116B					162,8					
117		Fe	stała wilgotność	SS	204,8	185	30,5	34,5	5,35	0,13
117A					150,0					
117B					200,5					
118		bez dodatku	sucha/wilgotna	SS	202,3	197	4,6	5,2	5,38	0,09
118A					194,8					
118B					194,0					
119		P	sucha/wilgotna	SS	151,3	170	20,8	23,6	5,40	0,04
119A					165,5					
119B					192,3					
120		Fe	sucha/wilgotna	SS	170,3	167	3,9	4,4	5,49	0,15
120A					167,3					
120B					162,5					
121	G, As III	bez dodatku	stała wilgotność	0	334,6	364	30,5	34,5	5,62	0,03
121A					395,4					
121B					360,6					
122		P	stała wilgotność	0	315,0	400	93,4	105,7	4,78	0,03
122A					385,0					
122B					500,0					

Tabela 14. c.d.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
123	G, As III	Fe	stała wilgotność	0	280,0	280	1,6	1,8	5,48	0,01
123A					280,8					
123B					277,7					
124		bez dodatku	sucha/wilgotna	0	234,0	262	24,4	27,6	6,02	0,07
124A					277,5					
124B					275,0					
125		P	sucha/wilgotna	0	345,0	359	43,0	48,7	5,30	0,01
125A					407,5					
125B					325,0					
126		Fe	sucha/wilgotna	0	262,5	220	48,7	55,1	5,61	0,16
126A					231,3					
126B					167,0					
127		bez dodatku	stała wilgotność	Ob.	380,0	412	70,5	79,8	6,28	0,04
127A					362,5					
127B					492,5					
128		P	stała wilgotność	Ob.	365,0	362	8,0	9,1	5,19	0,05
128A					352,5					
128B					367,5					
129		Fe	stała wilgotność	Ob.	370,0	374	5,2	5,9	6,35	0,04
129A					372,5					
129B					380,0					
130		bez dodatku	sucha/wilgotna	Ob.	570,0	515	76,6	86,7	6,26	0,18
130A					547,5					
130B					427,5					
131		P	sucha/wilgotna	Ob.	312,5	361	59,7	67,5	5,49	0,16
131A					342,5					
131B					427,5					

Tabela 14. c.d.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
132	G, As III	Fe	sucha/wilgotna	Ob.	205,3	234	26,4	29,9	5,53	0,04
132A					238,0					
132B					257,5					
133		bez dodatku	stała wilgotność	AC	377,5	408	104,7	118,5	5,00	0,07
133A					322,5					
133B					525,0					
134		P	stała wilgotność	AC	357,5	422	92,3	104,5	5,24	0,09
134A					380,0					
134B					527,5					
135		Fe	stała wilgotność	AC	370,0	308	72,3	81,8	4,61	0,02
135A					228,5					
135B					325,0					
136		bez dodatku	sucha/wilgotna	AC	350,0	354	5,2	5,9	5,78	0,02
136A					360,0					
136B					352,5					
137		P	sucha/wilgotna	AC	395,0	453	66,3	75,0	5,31	0,04
137A					437,5					
137B					525,0					
138		Fe	sucha/wilgotna	AC	216,8	259	36,6	41,4	5,53	0,07
138A					282,5					
138B					277,5					
139		bez dodatku	stała wilgotność	SS	390,6	380	25,7	29,1	4,92	0,13
139A					350,6					
139B					398,5					
140		P	stała wilgotność	SS	340,0	310	27,0	30,6	5,29	0,31
140A					302,5					
140B					287,5					

Tabela 14. c.d.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
141	G, As III	Fe	stała wilgotność	SS	302,8	305	16,4	18,6	4,80	0,21
141A					322,9					
141B					290,4					
142		bez dodatku	sucha/wilgotna	SS	310,0	321	10,1	11,4	5,42	0,08
142A					330,0					
142B					322,5					
143		P	sucha/wilgotna	SS	340,0	339	31,3	35,4	5,55	0,06
143A					370,0					
143B					307,5					
144		Fe	sucha/wilgotna	SS	297,5	301	35,1	39,7	5,66	0,16
144A					337,5					
144B					267,5					
145	G, As V	bez dodatku	stała wilgotność	0	442,5	409	33,8	38,2	6,22	0,04
145A					375,0					
145B					410,0					
146		P	stała wilgotność	0	407,5	393	13,2	15,0	5,68	0,02
146A					387,5					
146B					382,5					
147		Fe	stała wilgotność	0	342,5	326	37,9	42,8	6,00	0,09
147A					352,5					
147B					282,5					
148		bez dodatku	sucha/wilgotna	0	407,5	387	61,5	69,5	6,87	0,06
148A					435,0					
148B					317,5					
149		P	sucha/wilgotna	0	352,5	476	113,2	128,1	5,94	0,09
149A					500,0					
149B					575,0					

Tabela 14. c.d.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
150	G, As V	Fe	sucha/wilgotna	0	295,0	288	27,0	30,6	6,31	0,24
150A					310,0					
150B					257,5					
151		bez dodatku	stała wilgotność	Ob.	437,5	405	88,4	100,0	4,40	0,09
151A					472,5					
151B					305,0					
152		P	stała wilgotność	Ob.	332,5	349	14,6	16,6	5,70	0,07
152A					355,0					
152B					360,0					
153		Fe	stała wilgotność	Ob.	275,0	290	13,2	15,0	5,95	0,16
153A					300,0					
153B					295,0					
154		bez dodatku	sucha/wilgotna	Ob.	400,0	418	25,5	28,9	6,96	0,06
154A					447,5					
154B					407,5					
155		P	sucha/wilgotna	Ob.	320,0	315	27,8	31,5	6,01	0,09
155A					340,0					
155B					285,0					
156		Fe	sucha/wilgotna	Ob.	275,0	259	13,9	15,7	6,14	0,10
156A					249,8					
156B					252,5					
157		bez dodatku	stała wilgotność	AC	335,0	398	72,6	82,1	5,24	0,01
157A					477,5					
157B					382,5					
158		P	stała wilgotność	AC	417,5	385	36,8	41,7	5,59	0,06
158A					345,0					
158B					392,5					

Tabela 14. c.d.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
159	G, As V	Fe	stała wilgotność	AC	214,5	234	18,1	20,5	5,27	0,06
159A					250,0					
159B					238,5					
160		bez dodatku	sucha/wilgotna	AC	405,0	397	18,9	21,4	6,50	0,04
160A					375,0					
160B					410,0					
161		P	sucha/wilgotna	AC	375,0	369	8,0	9,1	5,91	0,22
161A					360,0					
161B					372,5					
162		Fe	sucha/wilgotna	AC	221,5	227	6,7	7,6	6,06	0,06
162A					225,3					
162B					234,5					
163		bez dodatku	stała wilgotność	SS	380,0	384	16,6	18,8	5,02	0,16
163A					402,5					
163B					370,0					
164		P	stała wilgotność	SS	332,5	349	52,0	58,9	5,42	0,20
164A					307,5					
164B					407,5					
165		Fe	stała wilgotność	SS	270,0	268	11,5	13,0	5,65	0,06
165A					277,5					
165B					255,0					
166		bez dodatku	sucha/wilgotna	SS	357,5	318	37,6	42,6	5,81	0,06
166A					282,5					
166B					315,0					
167		P	sucha/wilgotna	SS	395,0	422	23,6	26,7	5,78	0,10
167A					430,0					
167B					440,0					

Tabela 14. c.d.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
168	G, As V	Fe	sucha/wilgotna	SS	280,0	264	32,6	36,9	6,12	0,21
168A					226,3					
168B					285,0					

Tabela 15. Udział form łatwo rozpuszczalnych i specyficznie związanych As w glebach po zakończeniu doświadczenia wazonowego I.

Nr. wazonu	Gleba	Forma As	Zastosowany dodatek	Roślina	Łatwo rozpuszczalne formy As				Specyficznie związane formy As			
					Ekstrahowane (NH ₄) ₂ SO ₄				Ekstrahowane NH ₄ H ₂ PO ₄			
					(mg As kg ⁻¹)				(mg As kg ⁻¹)			
					powtórzenia	średnia	SD	ufność	mg As kg ⁻¹	średnia	SD	ufność
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	G	V	b.d.	rzepak	62,5	62,3	9,4	10,6	138,8	180	35,7	40,4
2					52,8				204,8			
3					71,5				195,3			
4			Fe	rzepak	3,5	4,6	3,3	3,7	156,5	163,8	21,1	23,9
5					8,3				187,5			
6					2,0				147,3			
7			P	rzepak	51,5	66,4	13,4	15,1	175,0	174	14,1	16,0
8					70,5				159,5			
9					77,3				187,8			
10			b.d.	kłosówka	47,3	36,8	9,1	10,3	164,8	200	32,8	37,2
11					31,0				229,8			
12					32,0				205,5			
13			Fe	kłosówka	3,9	2,9	1,4	1,6	146,0	143	30,5	34,5
14					3,6				172,5			
15					1,3				111,8			
16			P	kłosówka	47,8	51,8	8,7	9,9	106,0	137	28,2	31,9
17					45,8				144,3			
18					61,8				161,0			
25		III	b.d.	rzepak	48,0	49,3	5,0	5,7	199,5	200	3,7	4,2
26					45,0				197,0			
27					54,8				204,3			

Tabela 15. c.d.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
28	G	III	Fe	rzepak	25,0	10,9	12,7	14,4	143,3	154	18,9	21,4
29					0,4				143,8			
30					7,4				176,3			
31			P	rzepak	63,5	56,7	6,0	6,8	183,5	171	18,0	20,3
32					52,5				179,3			
33					54,0				150,5			
34			b.d.	kłosówka	41,8	52,8	13,3	15,0	197,5	224	24,7	27,9
35					49,0				246,5			
36					67,5				227,3			
37			Fe	kłosówka	8,9	9,0	0,1	0,1	213,8	223	13,7	15,5
38					9,1				217,0			
39					9,1				239,0			
40			P	kłosówka	104,3	96,1	26,5	29,9	238,8	204	31,6	35,7
41					117,5				194,8			
42					66,5				177,5			
49	L	V	b.d.	rzepak	28,0	29,8	1,8	2,0	120,5	128	7,1	8,0
50					29,8				130,3			
51					31,5				134,3			
52			Fe	rzepak	4,2	5,2	2,0	2,2	120,8	118	7,1	8,0
53					4,0				109,5			
54					7,5				122,5			
55			P	rzepak	21,9	33,1	10,0	11,3	61,3	75,3	12,4	14,0
56					41,3				80,3			
57					36,0				84,5			
58			b.d.	kłosówka	30,8	31,4	0,9	1,1	127,3	140	19,6	22,2
59					31,0				162,3			
60					32,5				129,5			

Tabela 15. c.d.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
61	L	V	Fe	kłosówka	1,6	2,0	1,3	1,5	162,0	161	7,1	8,0
62					3,5				153,5			
63					1,0				167,5			
64			P	kłosówka	28,3	33,2	4,6	5,2	87,5	74,8	11,9	13,4
65					34,0				64,0			
66					37,3				72,8			
73		III	b.d.	rzepak	35,3	29,9	4,7	5,3	113,3	126	29,7	33,6
74					26,3				105,0			
75					28,3				160,0			
76			Fe	rzepak	11,7	8,3	3,0	3,4	187,3	159	33,0	37,4
77					6,0				122,8			
78					7,4				167,3			
79			P	rzepak	32,8	31,8	4,3	4,9	59,0	71,3	20,6	23,3
80					27,0				59,8			
81					35,5				95,0			
82			b.d.	kłosówka	29,5	26,7	3,9	4,4	122,5	115	20,6	23,3
83					28,3				130,8			
84					22,3				91,8			
85			Fe	kłosówka	6,4	8,8	2,1	2,4	144,8	162	26,5	30,0
86					9,5				149,3			
87					10,5				192,8			
88			P	kłosówka	36,5	32,3	4,4	5,0	98,0	86,5	10,1	11,4
89					32,5				82,3			
90					27,8				79,3			

Tabela 16. Zawartość arsenu w częściach nadziemnych roślin oraz biomasa roślin zebranych z doświadczenia wazonowego I

Nr. wazonu	Gleba	Forma As	Zastosowany dodatek	Gatunek roślin	Biomasa roślin	Koncentracja As w suchej masie roślin				Wynos As z plonem	Współczynnik bioakumulacji WB
						powtórzenia	średnia	SD	ufność		
					(g s.m. wazon ⁻¹)	(mg As kg ⁻¹)				(µg/wazon)	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	G	V	b.d.	Rzepak	0,15	90,3	138	87,0	98,4	13,5	0,28
2					0,57	86,1				49,1	
3					0,66	239				158	
7			P	Rzepak	0,67	121	208	124	172	80,9	0,42
8					0,18	296				53,2	
10			b.d.	Kłosówka	0,07	212	143	96,7	134	14,8	0,29
11					0,27	74,8				20,2	
16			P	Kłosówka	0,25	85,8	103	52,0	58,9	21,4	0,21
17					0,82	61,0				50,1	
18					0,30	161				48,3	
25		III	b.d.	Rzepak	0,37	95,4	72,1	24,7	27,9	35,3	0,14
26					0,50	74,6				37,3	
27					0,65	46,2				30,0	
31			P	Rzepak	0,54	191	184	10,5	14,5	103	0,37
33					0,06	177				10,6	
34			b.d.	Kłosówka	0,39	50,7	42,3	9,15	10,4	19,8	0,09
35					0,54	32,6				17,6	
36					2,31	43,6				101	
40			P	Kłosówka	1,29	630	268	317	359	812	0,54
41					1,09	135				147	
42					0,16	39,2				6,27	

Tabela 16. c.d.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
49	L	V	b.d.	Rzepak	0,60	23,48	27,3	3,28	3,71	14,1	0,06
50					0,32	29,29				9,37	
51					0,64	29,03				18,6	
55			P	Rzepak	1,71	88,39	78,7	12,1	13,7	151	0,16
56					1,66	82,43				137	
57					0,62	65,17				40,4	
58			b.d.	Kłosówka	0,40	68,24	39,9	24,9	28,1	27,3	0,08
59					1,08	21,59				23,3	
60					0,50	30,03				15,0	
64			P	Kłosówka	1,68	38,82	48,5	10,5	11,8	65,2	0,1
65					3,04	47,16				143	
66					1,69	59,60				101	
73		III	b.d.	Rzepak	0,74	39,20	64,3	22,8	25,8	29,0	0,13
74					0,40	83,49				33,4	
75					0,38	70,36				26,7	
79			P	Rzepak	0,47	819,2	541	355	402	385	1,08
80					0,52	661,4				344	
81					0,70	141,2				98,8	
82			b.d.	Kłosówka	1,00	46,70	32,5	13,5	15,3	46,7	0,07
83					1,00	30,88				30,9	
84					1,35	19,82				26,8	
88			P	Kłosówka	2,95	146,7	94,0	49,9	56,4	433	0,2
89					3,25	88,01				286	
90					2,59	47,46				123	

Tabela 17. Łatwo rozpuszczalne formy arsenu oraz odczyn gleb po zakończeniu doświadczenia wazonowego II

Nr. wazonu	Gleba	Roślina	Zastosowany dodatek	Łatwo rozpuszczalne formy As				Odczyn	
				Ekstrahowane (NH ₄) ₂ SO ₄					
				(mg As kg ⁻¹)					
				powtórzenia	średnia	SD	ufność	średnia	SD
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	ZS I	kłosówka	b.d.	103	101	1,44	1,63	6,8	0,03
1A				102					
1B				99,8					
2		kłosówka	P	151	152	3,39	3,83	6,5	0,05
2A				150					
2B				156					
3		kłosówka	Fe	95,8	94,8	4,09	4,63	6,9	0,06
3A				98,3					
3B				90,3					
4		kłosówka	SS	135	133	2,04	2,30	6,2	0,05
4A				134					
4B				131					
5		kłosówka	b.d.	99,0	104	4,55	5,15	6,4	0,05
5A				107					
5B				107					
6		życica trwała	b.d.	101	96,8	6,80	7,70	6,5	0,02
6A				100					
6B				89,0					
7		życica trwała	P	149	147	2,24	2,54	6,4	0,03
7A				148					
7B				145					

Tabela 17. c.d.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
8	ZS I	życica trwała	Fe	97,3	98,3	3,26	3,69	6,9	0,06
8A				95,8					
8B				102					
9		życica trwała	SS	139	137	11,0	12,4	6,1	0,02
9A				146					
9B				125					
10		koniczyna czerwona	b.d.	106	104	1,76	1,99	6,4	0,04
10A				104					
10B				102					
11		koniczyna czerwona	P	77,8	129	45,0	50,9	6,4	0,03
11A				161					
11B				149					
12		koniczyna czerwona	Fe	103	105	2,27	2,57	7,0	0,06
12A				106					
12B				107					
13		koniczyna czerwona	SS	144	144	4,63	5,23	6,3	0,13
13A				149					
13B				139					
14		kukurydza	b.d.	123	110	12,4	14,0	6,6	0,14
14A				109					
14B				98,3					
15		kukurydza	P	165	158	7,25	8,20	6,5	0,03
15A				151					
15B				158					
16		kukurydza	Fe	106	101	4,40	4,98	6,9	0,06
16A				98,5					

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
16B	ZS I	kukurydza	Fe	98,8					
17		kukurydza	SS	107	126	17,8	20,1	6,2	0,14
17A				128					
17B				142					
18		rzepak	b.d.	93,5	101	6,39	7,23	6,6	0,03
18A				103					
18B				106					
19		rzepak	P	154	152	4,20	4,76	6,5	0,04
19A				156					
19B				148					
20		rzepak	Fe	105	101	1,44	20,1	6,9	0,12
20A				106					
20B				107					
21		rzepak	SS	133	130	23,4	26,4	6,2	0,10
21A				151					
21B				105					
22		olsza	b.d.	98,0	95,1	3,15	3,56	6,5	0,09
22A				95,5					
22B				91,8					
23		olsza	P	139	135	4,69	5,31	6,5	0,05
23A				136					
23B				130					
24		olsza	Fe	98,5	103	10,27	11,6	7,0	0,08
24A				115					
24B				95,8					
25		olsza	SS	149	135	22,1	25,0	6,3	0,09
25A				146					

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
25B	ZS I	olsza		110					
26		olsza	b.d.	93,3	101	8,26	9,35	6,5	0,04
26A				101					
26B				110					
27	ZS II	kłosówka	b.d.	57,3	61,5	5,97	6,75	5,4	0,06
27A				58,8					
27B				68,3					
28		kłosówka	P	123	105	16,72	18,9	5,4	0,12
28A				89,5					
28B				104					
29		kłosówka	Fe	59,5	48,8	11,6	13,1	6,6	0,10
29A				50,5					
29B				36,5					
30		kłosówka	SS	137	127	10,3	11,6	5,6	0,08
30A				126					
30B				117					
31		kłosówka	Ob.	65,3	68,9	4,04	4,57	5,9	0,12
31A				68,3					
31B				73,3					
32		kłosówka	b.d.	71,5	70,5	1,32	1,50	5,6	0,12
32A				69,0					
32B				71,0					
33		życica trwała	b.d.	68,3	66,8	1,23	1,40	5,5	0,05
33A				66,3					
33B				66,0					
34		życica trwała	P	83,0	101	23,5	26,6	5,6	0,17
34A				128					

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
34B	ZS II	życica trwała		93,0					
35		życica trwała	Fe	60,5	55,8	4,16	4,71	6,4	0,32
35A				54,0					
35B				52,8					
36		życica trwała	SS	132	128,3	14,1	15,9	5,7	0,04
36A				140					
36B				113					
37		życica trwała	Ob.	72,3	53,5	16,7	18,9	5,7	0,18
37A				48,0					
37B				40,3					
38		koniczyna czerwona	b.d.	66,8	63,8	2,60	2,94	5,5	0,05
38A				62,3					
38B				62,3					
39		koniczyna czerwona	P	98,0	105	20,48	23,2	5,3	0,08
39A				128					
39B				88,5					
40		koniczyna czerwona	Fe	44,8	44,3	1,56	1,77	6,5	0,23
40A				45,5					
40B				42,5					
41		koniczyna czerwona	SS	136	129	6,39	7,23	5,9	0,08
41A				129					
41B				123					
42		koniczyna czerwona	Ob.	58,0	57,1	1,01	1,14	5,6	0,12
42A				57,3					
42B				56,0					
43		kukurydza	b.d.	56,3	58,6	4,48	5,07	5,3	0,07
43A				63,8					

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
43B	ZS II	kukurydza		55,8					
44		kukurydza	P	95,8	92,9	2,57	2,90	5,3	0,10
44A				90,8					
44B				92,3					
45		kukurydza	Fe	77,8	56,8	18,2	20,6	6,6	0,12
45A				48,0					
45B				44,8					
46		kukurydza	SS	117	122	15,8	17,9	5,6	0,06
46A				140					
46B				109					
47		kukurydza	Ob.	110	89,6	19	21,5	6,2	0,05
47A				85,5					
47B				73,0					
48		rzepak	b.d.	98	92,8	6,49	7,35	6,3	0,06
48A				94,8					
48B				85,5					
49		rzepak	P	111	138	24,7	28,0	6,1	0,10
49A				160					
49B				144					
50		rzepak	Fe	81	75,4	5,50	6,23	6,7	0,17
50A				75,3					
50B				70					
51		rzepak	SS	85,3	102	21,50	24,3	5,6	0,05
51A				94,5					
51B				126					
52		rzepak	Ob.	93,5	88,2	4,86	5,50	6,1	0,02
52A				87,0					

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
52B	ZS II	rzepak		84,0					
53		olsza	b.d.	56,8	72,8	14,0	15,8	6,0	0,07
53A				79,8					
53B				82,0					
54				140					
54A		olsza	P	116	117	21,3	24,1	5,8	0,08
54B				97,0					
55				64,3					
55A		olsza	Fe	71,3	70,7	6,15	6,95	6,6	0,23
55B				76,5					
56		olsza	SS	156	133	20,2	22,9	5,3	0,22
56A				119					
56B				124					
57		olsza	b.d.	83,0	85,0	5,06	5,72	5,9	0,06
57A				90,8					
57B				81,3					
58	ZS III	kłosówka	b.d.	32,5	32,3	0,29	0,33	5,0	0,06
58A				32					
58B				32,5					
59		kłosówka	P	57,0	57,5	0,87	0,98	4,9	0,06
59A				57,0					
59B				58,5					
60		kłosówka	Fe	20,5	21,1	4,13	4,68	6,2	0,25
60A				25,5					
60B				17,3					
61		kłosówka	SS	54,8	57,1	3,62	4,09	5,3	0,04
61A				55,3					

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
61B	ZS III	kłosówka		61,3					
62		kłosówka	b.d.	30,5	31,0	0,43	0,49	4,8	0,07
62A				31,3					
62B				31,3					
63		życica trwała	b.d.	30,0	30,2	0,29	0,33	5,0	0,02
63A				30,0					
63B				30,5					
64		życica trwała	P	51,0	52,2	1,61	1,82	5,0	0,03
64A				54,0					
64B				51,5					
65		życica trwała	Fe	20,7	20,5	0,22	0,24	6,0	0,09
65A				20,3					
65B				20,6					
66		życica trwała	SS	57,5	58,4	1,18	1,34	5,6	0,05
66A				59,8					
66B				58,0					
67		kukurydza	b.d.	33,8	32,2	2,13	2,41	4,9	0,09
67A				29,8					
67B				33,0					
68		kukurydza	P	57,8	49,2	13,38	15,14	4,7	0,08
68A				56,0					
68B				33,8					
69		kukurydza	Fe	20,2	18,6	1,48	1,68	5,9	0,08
69A				18,2					
69B				17,3					
70		kukurydza	SS	60,5	58,3	3,07	3,48	5,7	0,14
70A				59,5					

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
71	ZS III	rzepak	b.d.	29,5	31,2	2,69	3,04	5,1	0,10
71A				34,3					
71B				29,8					
72		rzepak	P	64,3	63,2	4,45	5,04	5,0	0,15
72A				58,3					
72B				67,0					
73		rzepak	Fe	19,8	20,9	2,23	2,52	5,7	0,38
73A				23,5					
73B				19,5					
74		rzepak	SS	49,0	55,1	5,27	5,96	5,6	0,02
74A				58,0					
74B				58,3					
75		olsza	b.d.	28,8	29,2	1,18	1,34	4,9	0,06
75A				28,3					
75B				30,5					
76		olsza	P	48,0	50,4	2,10	2,37	4,8	0,04
76A				51,8					
76B				51,5					
77		olsza	Fe	22,9	20,8	2,05	2,32	5,9	0,31
77A				20,7					
77B				18,8					
78		olsza	SS	70,5	60,7	9,52	10,77	5,0	0,33
78A				60,0					
78B				51,5					
79		olsza	b.d.	32,3	31,3	1,95	2,21	4,9	0,05
79A				29,0					
79B				32,5					

Tabela 18. Zawartość arsenu w częściach nadziemnych roślin oraz biomasa roślin zebranych z doświadczenia wazonowego II

Nr. wazonu	Gleba	Zastosowany dodatek	Roślina	Biomasa roślin	Koncentracja w suchej masie roślin				Wynos As z plonem	Współczynnik bioakumulacji
					powtórzenia	średnia	SD	ufność		
				(g s.m. kg ⁻¹)	(mg As kg ⁻¹)				(µg/wazon)	
1	2	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	ZS I	b.d.	Kłosówka w.	0,54	11,1	27,3	14,8	16,8	6,03	0,005
1A				0,17	30,5				5,22	
1B				0,13	40,3				5,39	
2		P	Kłosówka w.	0,86	12,5	26,2	17,1	19,4	10,7	0,005
2A				0,67	20,6				13,8	
2B				1,28	45,4				58,2	
3		Fe	Kłosówka w.	0,78	6,50	13,4	6,0	6,8	5,09	0,003
3A				0,43	17,8				7,60	
3B				0,98	15,9				15,6	
4		SS	Kłosówka w.	1,45	27,0	19,3	6,7	7,6	39,2	0,004
4A				1,17	15,1				17,7	
4B				2,21	15,6				34,5	
5		b.d.	Kłosówka w.	0,41	7,25	12,7	14,6	16,5	2,94	0,002
5A				0,22	1,63				0,35	
5B				0,12	29,3				3,54	
6		b.d.	Życica	0,15	48,5	75,3	74,8	84,6	7,42	0,014
6A				1,11	17,5				19,4	
6B				0,18	160				28,1	
8		Fe	Życica	0,37	41,0	39,3	1,8	2,0	15,0	0,007
8A				0,64	37,5				24,1	
8B				0,37	39,3				14,6	
9		SS	Życica	1,23	6,50	30,9	21,2	24,0	7,96	0,006
9A				0,35	41,6				14,4	

1	2	4	5	6	7	8	9	10	11	12
9B	ZS I	SS	Życica	2,09	44,6				93,0	
10A		b.d.	Koniczyna	0,67	38,6	73,9	49,9		26,0	0,014
10B				0,68	109				73,8	
12		Fe	Koniczyna	0,61	31,5	86,7	82,3	93,1	19,1	0,016
12A				0,45	47,4				21,3	
12B				0,59	181				107	
13A		SS	Koniczyna	0,22	29,1	104,6	106,7		6,41	0,039
13B				0,50	180				90,4	
14A		b.d.	Kukurydza	0,80	26,6	-	-	-	21,3	0,005
15A		P	Kukurydza	0,31	256	-	-	-	80,0	0,048
16		Fe	Kukurydza	2,92	2,25	26,0	22,5	25,4	6,58	0,005
16A				1,58	28,9				45,7	
16B				0,94	46,9				44,0	
17A		SS	Kukurydza	1,09	24,9	44,6	27,8	38,6	27,2	0,008
17B				1,10	64,3				70,6	
19A		P	Rzepak	0,14	33,3	-	-	-	4,59	0,006
21		SS	Rzepak	1,23	54,5	130,1	151,9	171,9	67,2	0,024
21A				1,22	30,8				37,4	
21B				0,29	305				87,8	
24		Fe	Olsza czarna	0,15	154	-	-	-	23,7	0,029
26		b.d.	Olsza czarna	0,17	71,3	-	-	-	12,0	0,013
30A	ZS II	SS	Kłosówka w.	2,76	84,3	-	-	-	232	0,021
31		Ob.	Kłosówka w.	0,61	13,5	21,6	10,6	12,0	8,21	0,005
31A				0,64	17,8				11,4	
31B				0,54	33,6				18,3	
34		P	Życica	0,24	7,25	-	-	-	1,76	0,002
35A		Fe	Życica	0,21	13,8	-	-	-	2,94	0,003

Tabela 18. c.d.

1	2	4	5	6	7	8	9	10	11	12
36A	ZS II	SS	Życica	0,45	25,8	-	-	-	11,6	0,006
44A		P	Kukurydza	0,21	47,0				9,96	0,012
44B				0,12	<p.d.					-
45		Fe	Kukurydza	0,72	23,9	14,1	8,5	9,6	17,2	0,006
45A				0,47	9,38				4,43	0,002
45B				1,12	9,00				10,1	
46		SS	Kukurydza	0,84	12,4	12,8	1,4	1,6	10,3	0,003
46A				0,59	14,4				8,41	
46B				0,99	11,6				11,5	
47A		Ob.	Kukurydza	0,55	28,3	32,7	6,3	7,1	15,4	0,017
47B				0,73	37,1				26,9	
51		SS	Rzepak	1,96	140	-	-	-	274	0,035
53		b.d.	Olsza czarna	0,36	19,0	35,3	20,3	22,9	6,84	0,009
53A				0,31	58,0				18,0	
53B				0,25	29,0				7,19	
54		P	Olsza czarna	0,64	14,4	183,1	262,0	296,5	9,21	0,045
54A				0,21	485				102	
54B				0,44	50,0				22,1	
55		Fe	Olsza czarna	0,43	48,5	19,6	25,2	28,5	21,0	0,005
55A				0,71	8,00				5,71	
55B				0,51	2,38				1,20	
56		SS	Olsza czarna	0,52	8,00	14,6	9,4	13,0	4,18	0,007
56A				0,27	21,3				5,80	
57		b.d.	Olsza czarna	0,40	13,6	18,2	9,0	10,2	5,46	0,005
57A				0,26	12,4				3,17	
57B				0,21	28,5				5,96	
58	ZS III	b.d.	Kłosówka w.	0,37	20,5	38,5	16,3	18,4	7,59	0,012
58A				0,47	42,8				20,2	

1	2	4	5	6	7	8	9	10	11	12
58B	ZS III	b.d.	Kłosówka w.	0,36	52,3				18,9	
59		P	Kłosówka w.	1,24	29,5	30,2	1,0	1,3	36,6	0,018
59A				0,91	30,9				28,1	
60				0,43	59,8				25,5	
60A		Fe	Kłosówka w.	0,27	62,8	75,2	24,2	27,3	17,1	0,023
60B				0,17	103				17,0	
61				0,63	44,3				27,8	
61A		SS	Kłosówka w.	0,52	48,8	52,9	11,3	12,8	25,3	0,016
61B				0,40	65,6				26,1	
62				0,14	12,8				1,79	
62A		b.d.	Kłosówka w.	0,16	15,5	14,1	1,9	2,7	2,54	0,004
66				0,47	29,5				14,0	
66A		SS	Życica trwała	0,84	25,1	27,5	2,2	2,5	21,2	0,008
66B				0,40	27,9				11,2	
67A		b.d.	Kukurydza	0,25	<p.d.	-	-	-	-	-
68B		P	Kukurydza	0,32	22,5	-	-	-	7,13	0,007
69		Fe	Kukurydza	1,02	8,75	2,9	5,1	5,7	8,92	0,003
69A				1,35	-				-	
69B				1,20	-				-	
70		SS	Kukurydza	0,73	5,63	21,5	13,7	15,5	4,11	0,006
70A				1,12	30,0				33,5	
70B				1,42	28,8				40,7	
72		P	Rzepak	0,21	36,8	44,9	11,5	13,0	7,57	0,014
72A				0,13	53,0				6,94	
73		Fe	Rzepak	0,15	39,3	31,5	10,7	14,9	5,89	0,009
73A				0,20	19,3				3,89	
73B				0,19	36,0				6,84	
74		SS	Rzepak	0,75	8,00				5,99	0,002

1	2	4	5	6	7	8	9	10	11	12
74A	ZS III	SS	Rzepak	0,76	<p.d.	8,1	8,1	9,2		
74B				0,68	16,3				11,0	
75		b.d.	Olsza czarna	0,47	11,3	10,3	1,1	1,2	5,23	0,003
75A				0,54	9,13				4,90	
75B				0,52	10,4				5,42	
76		P	Olsza czarna	0,47	<p.d.	1,7	3,0	3,3	0,00	0,002
76A				0,52	5,13				2,66	
76B				0,16	<p.d.					
77		Fe	Olsza czarna	0,42	10,3	6,6	3,4	3,9	4,31	0,002
77A				0,34	3,50				1,19	
77B				0,52	6,00				3,09	
78		SS	Olsza czarna	0,23	<p.d.	5,7	1,1	1,6	0,00	0,001
78A				0,22	6,50				1,45	
78B				0,25	4,88				1,21	
79		b.d.	Olsza czarna	0,63	<p.d.	-	-	-		-
79A				0,27	10,6				2,83	0,003

Tabela 19. Zawartość arsenu w częściach nadziemnych roślin oraz biomasa roślin zebranych z doświadczenia wazonowego III

Nr. wazonu	Gleba	Zastosowany dodatek	Roślina	Biomasa roślin (g s.m. kg ⁻¹)	Koncentracja w suchej masie roślin				Wynos As z plonem (µg/wazon)	Współczynnik bioakumulacji
					powtórzenia	średnia	SD	ufność		
					(mg As kg ⁻¹)					
1	2	4	5	6	7	8	9	10	11	12
14	ZS I	b.d.	Kukurydza	0,20	131,0	-	-	-	26,2	0,024
15B		P	Kukurydza	0,09	274,9	-	-	-	24,7	0,051
16		Fe	Kukurydza	0,16	71,0	96,3	35,7	49,5	11,4	0,018
16B				0,06	121,5				19,4	
17		SS	Kukurydza	0,16	66,3	127,0	65,8	74,5	41,1	0,024
17A				0,62	197,0				63,0	
17B				0,32	117,8				21,2	
45	ZS II	Fe	Kukurydza	0,18	204,5	117,3	78,3	88,6	24,5	0,029
45A				0,12	53,3				19,2	
45B				0,36	94,0				17,9	
46A		SS	Kukurydza	0,10	414,0	258,1	220,5	305,6	41,4	0,064
46B				0,23	102,3				23,5	
58B	ZS III	b.d.	Nostrzyk żółty	0,77	<p.d.	-	-	-	-	-
64B		P	Nostrzyk żółty	0,72	47,8	-	-	-	34,4	0,014
67		b.d.	Kukurydza	0,15	24,6	64,0	35,3	40,0	3,69	0,019
67A				0,31	74,3				23,0	
67B				0,15	93,0				14,0	
68A		P	Kukurydza	0,15	188,0	132,0	79,2	110	28,2	0,040
68B				0,12	76,0				9,12	
69		Fe	Kukurydza	0,48	32,8	41,2	7,7	8,7	15,7	0,012
69A				0,49	47,8				23,4	
69B				0,66	43,0				28,4	
70		SS	Kukurydza	0,75	91,3				68,4	

1	2	4	5	6	7	8	9	10	11	12
70A	ZS III	SS	Kukurydza	1,69	52,3	67,4	20,9	23,6	88,3	0,020
70B				0,8	58,8				47,0	
72B		P	Rzepak	0,13	453,0	-	-	-	58,9	0,136
74		SS	Rzepak	1,77	97,5	187,7	78,1	88,4	173	0,056
74A				3,52	234,8				826	
74B				3,32	230,8				766	
101	ZS IV	b.d.	Perz	0,7	18,0	17,2	7,78	8,81	12,6	0,048
101A				2,49	24,5				61,0	
101B				1,87	9,0				16,8	
102		P	Perz	3,78	7,3	13,4	6,55	7,41	27,4	0,038
102A				5,26	12,8				67,1	
102B				0,69	20,3				14,0	
103		Fe	Perz	4,37	<p.d.	-	-	-	-	0,022
103A				5,12	<p.d.				-	
103B				1,4	7,8				10,9	
104		SS	Perz	10,23	<p.d.	14,0	0,71	0,98	-	0,039
104A				10,29	13,5				139	
104B				12,67	14,5				184	
105		Ob.	Perz	9,89	23,8	108,8	120	167	235	0,305
105A				6,17	<p.d.				-	
105B				7,9	193,8				1531	
106		b.d.	Rzepak	4,4	34,3	48,3	16,9	19,1	151	0,136
106A				1,93	67,0				129	
106B				5,05	43,5				220	
107		P	Rzepak	4,63	24,0	33,3	12,1	13,7	111	0,093
107A				6,48	28,8				186	
107B				4,2	47,0				197	
108		Fe	Rzepak	1,21	24,0				49,3	

Tabela 19. c.d.

1	2	4	5	6	7	8	9	10	11	12
108A		Fe	Rzepak	2,66	63,8	52,1	11,5	13,0	170	0,146
108B				3,9	51,8				202	
109A	ZS IV	SS	Rzepak	9,12	76,0	62,8	18,7	26,0	693	0,176
109B				9,01	49,5				446	
110		Ob.	Rzepak	3,16	18,0	26,7	24,2	27,4	56,9	0,075
110A				3,12	54,0				168	
110B				5,07	8,0				40,6	

Tabela 20. Zawartość arsenu w częściach nadziemnych roślin zebranych z drugiego zbioru doświadczenia wazonowego III

Nr. wazonu	Gleba	Zastosowany dodatek	Roślina	Biomasa roślin	Koncentracja w suchej masie roślin				Wynos As z plonem	Współczynnik bioakumulacji
					powtórzenia	średnia	SD	ufność		
				(g s.m. kg ⁻¹)	(mg As kg ⁻¹)				(µg/wazon)	
1	2	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	ZS I	b.d.	Kłosówka	0,83	740	452	408	565	614	0,084
1A				1,23	164				202	
2		P	Kłosówka	1,09	139	219	122	139	152	0,041
2A				1,13	360				407	
2B				3,45	158				545	
3		Fe	Kłosówka	0,78	300	246	125	141	234	0,046
3A				0,31	335				104	
3B				0,57	104				59,0	
4		SS	Kłosówka	0,67	45,8	60,4	18,5	21,0	30,7	0,011
4A				6,30	54,3				342	
4B				2,55	81,3				207	
5		b.d.	Kłosówka	0,25	133	184	49,4	55,9	33,2	0,034
5A				0,55	187				103	
5B				0,78	232				181	
6		b.d.	Życica	0,32	189	211	52,1	59,0	60,6	0,039
6A				0,22	270				59,4	
6B				0,46	173				79,4	
7A		P	Życica	0,28	473	377	135	187	132	0,070
7B				0,10	281				28,1	
8		Fe	Życica	0,34	121	177	102	116	41,1	0,033
8A				0,56	115				64,3	
8B				0,20	295				59,0	
9		SS	Życica	0,24	723				173	

1	2	4	5	6	7	8	9	10	11	12
9A	ZS I	SS	Życica	0,28	645	506	311	352	181	0,095
9B				0,29	149				43,3	
10		b.d.	Pszenica	0,20	61,8	37,1	23,9	27,1	12,4	0,007
10A				0,22	14,0				3,08	
10B				0,09	35,5				3,20	
11,11A, 11B		P	Pszenica	0,16	85,6	-	-	-	0,0	0,016
12		Fe	Pszenica	0,28	29,8	74,0	95,4	108,0	8,33	0,014
12A				0,29	8,8				2,54	
12B				0,18	184				33,0	
13		SS	Pszenica	0,26	15,3	-	-	-	3,97	0,003
13A				0,41	<p.d.				-	
13B				0,52	<pd				-	
14		b.d.	Kukurydza	0,26	573	1441	1229	1703	149	0,269
14A				0,37	<p.d.				-	
14B				0,10	2310				219	
15		P	Kukurydza	0,27	63,0	117	57,4	64,9	17,0	0,022
15A				0,23	177				40,7	
15B				0,13	110				14,2	
16		Fe	Kukurydza	0,72	18,5	26,0	14,5	16,4	13,3	0,005
16A				0,58	16,8				9,72	
16B				1,00	42,8				42,8	
17		SS	Kukurydza	0,91	29,3	56,6	38,7	43,8	26,6	0,011
17A				0,67	<p.d.				-	
17B				0,46	84,0				38,6	
19,19A, 19B		P	Rzepak	0,12	112	-	-	-	3,35	0,021
20,20A, 20B		Fe	Rzepak	0,13	208	-	-	-	4,16	0,039

Tabela 20. c.d.

1	2	4	5	6	7	8	9	10	11	12
21	ZS I	SS	Rzepak	0,60	58,5	51,5	6,24	7,07	35,1	0,010
21A				0,88	46,5				40,9	
21B				0,19	49,5				9,41	
27	ZS II	b.d.	Kłosówka	0,43	61,8	124	54,7	61,9	26,8	0,031
27A				0,82	147				121	
27B				0,79	164				129	
28		P	Kłosówka	0,44	122	102	28,8	32,6	53,3	0,025
28A				0,79	81,3				64,2	
28B				0,93	<pd.				-	
29		Fe	Kłosówka	0,88	103	97,3	34,9	39,5	90,3	0,024
29A				0,84	129				109	
29B				0,72	60,0				43,2	
30		SS	Kłosówka	1,83	57,5	59,3	5,72	6,48	105	0,015
30A				2,02	65,8				133	
30B				1,92	54,8				105	
31		Ob.	Kłosówka	1,65	280	146	118	133	462	0,036
31A				0,58	58,5				34,0	
31B				0,47	99,5				46,8	
32		b.d.	Kłosówka	0,51	128	114	25,0	28,3	64,6	0,028
32A				0,53	85,3				45,2	
32B				0,24	130				31,1	
33		b.d.	Życica	0,19	244	224	28,5	32,2	46,4	0,056
33A				0,23	204				46,9	
35		Fe	Życica	0,39	290	169	113	127	113	0,042
35A				0,50	149				74,2	
35B				0,51	67,5				34,4	
36		SS	Życica	0,21	176	187	15,0	20,8	36,5	0,046

Tabela 20. c.d.

1	2	4	5	6	7	8	9	10	11	12
36B	ZS II	SS	Życica	0,21	198				41,5	
37		Ob.	Życica	0,41	100	119	22,6	25,5	41,0	0,029
37A				0,26	144				37,4	
37B				0,48	112				53,5	
38,38A, 38B		b.d.	Pszenica	0,19	120	-	-	-	22,8	0,030
40		Fe	Pszenica	0,29	25,3	41,6	23,2	32,1	7,32	0,010
40A				0,33	58,0				19,1	
42,42A, 42B		Ob.	Pszenica	0,23	38,5				8,9	0,010
43		b.d.	Kukurydza	0,21	86,5	69,8	14,5	16,4	18,2	0,017
43A				0,40	60,8				24,3	
43B				0,27	62,0				16,7	
44		P	Kukurydza	0,16	795	548	219	248	127	0,136
44A				0,20	473				94,5	
44B				0,18	376				67,8	
45		Fe	Kukurydza	0,83	21,0	23,3	3,18	3,60	17,4	0,006
45A				0,98	25,5				25,0	
45B				0,55	<p.d.				-	
46		SS	Kukurydza	0,39	129	151	63,3	71,6	50,4	0,037
46A				0,36	222				79,8	
46B				0,39	101				39,3	
47		Ob.	Kukurydza	0,19	373	343	243	275	70,8	0,085
47A				0,29	87,3				25,3	
47B				0,21	570				120	
48,48A, 48B		b.d.	Rzepak	0,12	334	-	-	-	10,0	0,083
49		P	Rzepak	0,21	156	-	-	-	9,35	0,039
52,52A, 52B		Ob	Rzepak	0,22	242				7,25	0,060

Tabela 20. c.d.

1	2	4	5	6	7	8	9	10	11	12
58	ZS III	b.d.	Kłosówka	2,11	48,5	64,2	27,1	30,7	102	0,019
58A				2,70	48,5				131	
58B				2,45	95,5				234	
59		P	Kłosówka	2,73	28,3	24,6	8,38	9,48	77,1	0,007
59A				3,33	30,5				102	
59B				3,34	15,0				50,1	
60		Fe	Kłosówka	1,64	36,5	57,6	43,2	48,9	59,9	0,017
60A				2,10	29,0				60,9	
60B				2,30	107				247	
61		SS	Kłosówka	3,43	174	122	100	113	597	0,037
61A				3,54	6,50				23,0	
61B				3,80	186				705	
62		b.d.	Kłosówka	2,23	44,0	48,5	11,2	12,7	-	0,015
62A				2,15	40,3				86,7	
62B				2,63	61,3				161	
63		b.d.	Życica	0,87	45,5	61,3	28,6	32,4	39,6	0,018
63A				0,65	44,0				28,6	
63B				0,67	94,3				63,1	
64		P	Życica	0,73	-	165	27,6	31,2	-	0,050
64A				1,49	185				275	
64B				1,13	146				164	
65		Fe	Życica	0,37	57,8	41,8	13,8	15,6	21,4	0,013
65A				0,89	34,0				30,3	
65B				0,81	33,8				27,3	
66		SS	Życica	0,88	23,5	37,1	33,3	37,7	20,7	0,011
66A				0,63	12,8				8,03	
66B				0,34	75,0				25,5	

Tabela 20. c.d.

1	2	4	5	6	7	8	9	10	11	12
67	ZS III	b.d.	Kukurydza	1,14	<pd.	-	-	-	-	-
67A				0,67	<pd.				-	
67B				1,09	<pd.				-	
68		P	Kukurydza	0,36	41,5	65,5	33,9	38,4	14,9	0,020
68A				0,27	89,5				24,2	
68B				1,10	<pd.				-	
69		Fe	Kukurydza	1,06	<pd.	14,5	9,55	10,8	-	0,004
69A				0,91	7,8				7,05	
69B				0,99	21,3				21,0	
70		SS	Kukurydza	1,18	12,0	19,1	6,58	7,44	14,2	0,006
70A				1,23	20,3				24,9	
70B				0,87	25,0				21,8	
71		b.d.	Rzepak	0,06	-	-	-	-	-	-
72		P	Rzepak	0,34	40,0	51,4	16,09	22,29	13,6	0,015
72B				0,29	62,8				18,2	
73,73A, 73B		Fe	Rzepak	0,10	545	-	-	-	5,45	0,164
74		SS	Rzepak	2,17	13,8	16,1	7,29	8,24	29,8	0,005
74A				2,15	24,3				52,1	
74B				1,89	10,3				19,4	
101	ZS IV	b.d.	Kłosówka	2,89	29,8	21,3	8,26	9,34	86,0	0,060
101A				2,46	13,3				32,6	
101B				2,64	21,0				55,4	
102		P	Kłosówka	2,30	15,0	20,7	6,18	6,99	34,5	0,058
102A				1,40	27,3				38,2	
102B				1,51	19,8				29,8	

Tabela 20. c.d.

1	2	4	5	6	7	8	9	10	11	12
103	ZS IV	Fe	Kłosówka	1,34	14,0	16,0	7,21	8,16	18,8	0,045
103A				1,96	10,0				19,6	
103B				2,92	24,0				70,1	
104		SS	Kłosówka	4,03	8,8	9,00	0,35	0,40	35,3	0,025
104A				3,40	<p.d.				-	
104B				3,86	9,3				35,7	
105		Ob.	Kłosówka	1,28	20,3	19,8	1,09	1,23	25,9	0,055
105A				1,92	18,5				35,5	
105B				1,62	20,5				33,2	
106		b.d.	Rzepak	1,47	16,0	16,0	-	-	23,5	0,045
106A				0,90	<pd.				-	
106B				1,20	<pd.				-	
107		P	Rzepak	1,17	8,3	8,63	0,53	0,60	9,65	0,024
107A				1,20	9,0				10,8	
107B				0,90	<pd.				-	
108		Fe	Rzepak	0,07	-	17,0	-	-	-	0,048
108A				0,93	<pd.				-	
108B				1,34	17,0				22,8	
109A		SS	Rzepak	3,85	<pd.	-	-	-	-	-
109B				4,03	<p.d.				-	
110		Ob.	Rzepak	0,94	<p.d.	-	-	-	-	-
110A				0,86	<pd.				-	
110B				1,42	<pd.				-	

Tabela 21. Zawartość fosforu w częściach nadziemnych roślin w wybranych wariantach doświadczenia wazonowego III

Nr. wazonu	Gleba	Zastosowany dodatek	Koncentracja P w s.m. roślin
			(mg P kg ⁻¹)
1	2	4	5
2	ZS I	P	1265
2A		P	1103
2B		P	1350
3		Fe	670
3A		Fe	595
3B		Fe	935
4A		SS	1048
5B		b.d.	1075
5A		b.d.	938
27A		b.d.	1283
28A	ZS II	P	1545
29		Fe	1678
30		SS	943
31		Ob.	1513
31A		Ob.	1393
31B		Ob.	1518
32		b.d.	1043
58		b.d.	828
59	ZS III	P	1405
60A		Fe	1420
60B		Fe	1353
61		SS	1173
62		b.d.	765
K10	Kontrolna	b.d.	1993
K11		b.d.	2093
K12		b.d.	1910

Tabela 22. Wyniki sekwencyjnej ekstrakcji As w próbkach gleb z doświadczenia inkubacyjnego 2

Nr. wazonu	Gleba	Zastosowany dodatek	Calkowita zawartość arsenu	Zawartość arsenu w poszczególnych frakcjach					Udział procentowy poszczególnych frakcji w stosunku do całk. zaw. As					Odzysk As w wyniku ekstrakcji
				(mg As kg ⁻¹)					(%)					
			(mg As kg ⁻¹)	F1	F2	F3	F4	F5	F1	F2	F3	F4	F5	
1	2	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1	ZS I	b.d.	5350	116	1283	2443	245	1268	2,2	24,0	45,7	4,6	23,7	100
1A				112	1283	2425	271	1278	2,1	24,0	45,3	5,1	23,9	100
1B				112	1348	2438	276	1243	2,1	25,2	45,6	5,2	23,2	101
2		P		162	1186	2325	256	1340	3,0	22,2	43,5	4,8	25,0	98,5
2A				164	1168	2400	249	1527	3,1	21,8	44,9	4,6	28,5	103
2B				164	1118	2113	248	1437	3,1	20,9	39,5	4,6	26,9	94,9
3		Fe		99,1	1110	4219	551	324	1,9	20,7	78,9	10,3	6,0	118
3A				94,7	908	4969	359	232	1,8	17,0	92,9	6,7	4,3	123
3B				96,4	978	3769	461	244	1,8	18,3	70,4	8,6	4,6	104
19		SS		142	833	3544	465	381	2,7	15,6	66,2	8,7	7,1	100
19A				136	878	3619	458	397	2,5	16,4	67,6	8,6	7,4	103
19B				140	873	3975	469	482	2,6	16,3	74,3	8,8	9,0	111
50	ZS III	P	3323	53,5	461	1825	236	789	1,6	13,9	54,9	7,1	23,7	101
50A				53,3	433	1688	239	823	1,6	13,0	50,8	7,2	24,8	97,4
50B				53,8	441	1738	235	934	1,6	13,3	52,3	7,1	28,1	102
51		Fe		32,8	363	2400	375	67,4	1,0	10,9	72,2	11,3	2,0	97,4
51A				29,1	365	2644	366	72,0	0,9	11,0	79,6	11,0	2,2	105
51B				29,8	353	2625	332	67,5	0,9	10,6	79,0	10,0	2,0	103
67		SS		71,3	285	2100	386	70,5	2,1	8,6	63,2	11,6	2,1	87,7
67A				70,2	293	2100	350	57,5	2,1	8,8	63,2	10,5	1,7	86,4
67B				68,3	288	2156	354	68,0	2,1	8,7	64,9	10,6	2,0	88,3

Tabela 22. c.d.

1	2	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
73	L, As III	b.d.	335	161	283	429	164	44,7	13,8	24,3	36,9	14,1	3,8	92,9
73A				198	298	493	176	21,0	17,0	25,6	42,4	15,1	1,8	102
73B				172	270	439	151	52,0	14,8	23,2	37,7	13,0	4,5	93,1
74		P		245	308	330	74,5	59,0	21,1	26,5	28,4	6,4	5,1	87,4
74A				290	318	316	41,9	79,0	24,9	27,4	27,2	3,6	6,8	89,8
74B				239	276	299	38,6	92,0	20,6	23,7	25,7	3,3	7,9	81,1
75		Fe		139	253	458	91,1	15,3	12,0	21,7	39,3	7,8	1,3	82,1
75A				166	295	478	126	35,1	14,2	25,3	41,1	10,8	3,0	94,5
75B				165	295	469	73,9	2,2	14,1	25,3	40,3	6,3	0,2	86,3
91		SS		197	220	510	72,8	11,4	16,9	18,9	43,8	6,3	1,0	86,9
91A				229	228	489	142	20,1	19,6	19,5	42,0	12,2	1,7	95,2
91B				251	238	444	74,3	15,0	21,6	20,5	38,2	6,4	1,3	87,9
121	G, As III	b.d.		402	423	341	67,5	14,8	34,5	36,3	29,3	5,8	1,3	107
121A				410	410	304	49,1	8,1	35,2	35,2	26,1	4,2	0,7	102
121B				313	378	283	110	22,1	26,9	32,4	24,3	9,4	1,9	94,9
122		P		410	426	251	22,1	14,0	35,2	36,6	21,6	1,9	1,2	96,5
122A				420	431	248	29,0	18,0	36,1	37,0	21,3	2,5	1,5	98,4
122B				448	406	210	29,6	7,0	38,4	34,9	18,0	2,5	0,6	94,5
123		Fe		293	443	489	54,8	14,5	25,2	38,0	42,0	4,7	1,2	111
123A				333	470	504	48,8	8,8	28,6	40,4	43,3	4,2	0,8	117
123B				283	405	334	46,9	7,7	24,3	34,8	28,7	4,0	0,7	92,4
139		SS		306	293	409	58,1	15,7	26,3	25,1	35,1	5,0	1,3	92,9
139A				377	358	501	52,9	13,0	32,4	30,7	43,0	4,5	1,1	112
139B				396	363	516	52,1	14,2	34,0	31,1	44,3	4,5	1,2	115

Tabela 23. Wyniki sekwencyjnej ekstrakcji As w próbkach gleb z doświadczenia wazonowego I

Nr. wazonu	Gleba	Roślina	Zastosowany dodatek	Całkowita zawartość arsenu (mg As kg ⁻¹)	Zawartość arsenu w poszczególnych frakcjach (mg As kg ⁻¹)					Udział procentowy poszczególnych frakcji w stosunku do całk. zaw. As (%)					Wydajność ekstrakcji (%)
					F1	F2	F3	F4	F5	F1	F2	F3	F4	F5	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
2	G, As (V)	rzepak	b.d.	335	69,9	159	117	13,4	5,87	20,9	47,4	35,1	4,01	1,75	109
5			Fe	335	6,85	157	182	12,1	5,55	2,04	46,9	54,3	3,61	1,66	109
9			P	335	87,1	98	146	13,1	7,46	26,0	29,2	43,6	3,91	2,23	105
11		kłosówka	b.d.	335	67,6	128	147	13,0	4,71	20,2	38,1	43,8	3,89	1,41	107
14			Fe	335	4,11	176	266	12,0	7,90	1,23	52,4	79,3	3,58	2,36	139
18			P	335	116	132	200	18,9	7,63	34,6	39,6	59,7	5,64	2,28	142
27	G, As(III)	rzepak	b.d.	335	68,1	193	120	15,1	9,43	20,3	57,6	35,8	4,50	2,82	121
30			Fe	335	10,2	192	213	20,1	13,4	3,04	57,4	63,5	6,00	4,00	134
31			P	335	112	132	206	19,9	12,7	33,3	39,3	61,4	5,93	3,79	144
35		kłosówka	b.d.	335	84,0	204	198	16,3	9,85	25,1	60,9	59,1	4,87	2,94	153
39			Fe	335	18,7	206	237	18,8	14,0	5,60	61,5	70,8	5,60	4,18	148
41			P	335	123	138	244	17,6	11,3	36,8	41,2	72,8	5,25	3,36	159
51	L, As (V)	rzepak	b.d.	335	50,9	120	227	23,8	7,73	15,2	35,9	67,9	7,10	2,31	128
52			Fe	335	3,65	156	260	55,3	51,0	1,09	46,6	77,6	16,5	15,2	157
56			P	335	41,6	61,5	197	18,9	11,7	12,4	18,4	58,9	5,63	3,48	98,7
59		kłosówka	b.d.	335	40,7	96,6	174	20,3	15,3	12,2	28,8	51,9	6,05	4,58	104
62			Fe	335	3,48	164	233	19,4	16,0	1,04	48,8	69,4	5,79	4,77	130
66			P	335	56,1	81,9	287	52,3	59,8	16,7	24,4	85,6	15,6	17,9	160
75	L, As(III)	rzepak	b.d.	335	44,6	142	161	24,7	25,4	13,3	42,5	47,9	7,37	7,59	119
76			Fe	335	19,1	160	215	19,0	12,3	5,70	47,8	64,1	5,69	3,67	127
81			P	335	55,5	88,7	273	22,1	11,6	16,6	26,5	81,5	6,60	3,46	135
83		kłosówka	b.d.	335	47,9	130	219	26,9	32,7	14,3	38,7	65,3	8,02	9,76	136
87			Fe	335	14,2	140	270	33,4	80,8	4,25	41,8	80,6	9,98	24,1	161
88			P	335	52,7	76,9	181	21,6	16,1	15,7	23,0	54,1	6,46	4,82	104

Tabela 24. Wyniki analizy DGT w zestawieniu z wynikami charakteryzującymi przyswajalność As uzyskanych innymi metodami

Nr. wazonu	Gleba	Roślina	Doda- tek	Całkowita zawartość As w glebie (mg kg ⁻¹)	C _E				F1	F2	C _{DGT}	Średnia zaw. w roślinach (mg kg ⁻¹)
					powtó- rzenia	średnia	SD	ufność				
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	16
35	G-As (III)	kłosówka wełnista	b.d.	356	1010	981	26,1	29,6	85,5	187	0,05	42,3
35					971						0,05	
35					961						0,05	
41	G-As (III)		P		2148	2045	107	121	123	138	0,10	268
41					1934						0,09	
41					2054						0,10	
83	L-As (III)		b.d.		527	538	10,7	12,2	47,9	130	0,02	32,5
83					549						0,03	
83					538						0,03	
88	L-As (III)		P		908	919	16,5	22,9	52,7	76,9	0,04	94,0
88					931						0,04	

F1 - arsen łatwo rozpuszczalny, ekstrahowany 0,05 M siarczanem amonu

F2 – specyficznie związane formy arsenu, ekstrahowane 0,05 M fosforanem amonu

Tabela 25. Wyniki analizy mikrobiologicznej metodą BIOLOG

Wazon	Gleba	Roślina	Dodatek	AAUC 92 h	AAUC 130 h	H' 92 h	H' 130 h	R _s
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1A	ZS I	kłosówka	b.d.	0,06	0,26	0,19	0,73	13 (18)
2A		kłosówka	P	1,12	6,60	1,97	2,52	27 (4)
3B		kłosówka	Fe	0,19	1,94	0,45	2,53	24 (7)
4B		kłosówka	SS	0,59	3,93	0,31	2,34	23 (8)
6		życica	b.d.	0,38	2,18	1,41	1,88	21 (10)
7B		życica	P	0,09	0,95	0,34	1,40	13 (18)
8A		życica	Fe	0,28	0,86	0,02	2,08	21 (10)
9		życica	SS	0,18	0,41	2,95	2,60	28 (3)
14		kukurydza	b.d.	0,01	1,7	2,25	2,40	22 (9)
15A		kukurydza	P	0,58	4,25	2,35	2,45	28 (3)
16		kukurydza	Fe	0,31	1,53	0,04	1,89	17 (14)
17A		kukurydza	SS	0,56	2,91	1,78	2,22	21 (10)
22A		olsza	b.d.	0,56	-	1,03	-	-
24B		olsza	Fe	0,27	-	0,17	-	-
27B	ZS II	kłosówka	b.d.	0,12	-	0,34	-	-
28A		kłosówka	P	0,45	-	1,24	-	-
29A		kłosówka	Fe	0,03	0,33	0,48	1,97	16 (15)
30B		kłosówka	SS	1,07	6,24	2,75	2,83	29 (2)
43		kukurydza	b.d.	0,84	6,13	2,05	2,49	25 (6)
44		kukurydza	P	0,36	1,81	2,79	2,68	30 (1)
46		kukurydza	SS	0,41	3,56	0,09	2,80	29 (2)
55A		olsza	Fe	0,16	0,88	2,72	2,63	26 (5)
57B		olsza	b.d.	0,08	0,51	0,27	1,82	16 (15)
58	ZS III	kłosówka	b.d.	0,23	1,11	0,27	0,54	15 (16)
59		kłosówka	P	0,11	1,09	0,28	2,14	20 (11)
60B		kłosówka	Fe	0,45	4,07	2,42	2,72	27 (4)
61		kłosówka	SS	1,78	11,61	2,27	2,94	30 (1)
67		kukurydza	b.d.	0,70	3,73	1,57	2,35	27 (4)
68		kukurydza	P	0,63	3,76	2,73	2,68	30 (1)
70A		kukurydza	SS	0,94	5,83	2,66	2,86	25 (6)
75		olsza	b.d.	0,35	2,12	1,59	2,08	27 (4)
77A		olsza	Fe	17,84	41,18	2,35	2,46	26 (5)
101	ZS IV	kłosówka	b.d.	1,88	10,36	2,44	2,81	28 (3)
102B		kłosówka	P	0,74	5,68	2,31	2,86	28 (3)
103		kłosówka	Fe	1,09	7,26	2,27	2,62	26 (5)
104B		kłosówka	SS	2,46	10,92	2,89	3,01	30 (1)

Tabela 26. Stopień zużycia substratów z poszczególnych grup w testach BIOLOG po 130 h inkubacji próbek

Nr. wazonu	Gleba	Roślina	Dodatek	CH	AA	CA	PO	E	Fen.	Fosf.	AM	CH/AA
				(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1A	ZS I	kłosówka	b.d.	11,0	0,46	0,71	87,5	0,00	0,00	0,23	0,12	23,7
2A		kłosówka	P	37,0	29,4	9,30	14,6	4,47	0,02	3,82	1,38	1,26
3B		kłosówka	Fe	38,5	11,9	23,3	14,3	6,31	3,14	2,45	0,07	3,22
4B		kłosówka	SS	46,6	5,30	5,96	24,1	3,94	0,04	11,2	2,83	8,79
6		życica	b.d.	50,3	10,9	7,34	19,6	7,80	0,00	0,07	3,97	4,62
7B		życica	P	45,7	10,5	5,60	38,1	0,00	0,00	0,12	0,02	4,35
8A		życica	Fe	6,25	3,36	25,9	12,8	39,5	5,06	3,20	3,92	1,86
9		życica	SS	21,5	35,3	24,2	10,9	0,06	1,91	1,48	4,73	0,61
14		kukurydza	b.d.	32,3	23,3	17,3	10,6	14,4	0,00	0,22	1,86	1,39
15A		kukurydza	P	11,7	15,6	26,6	8,99	29,6	0,13	1,04	6,27	0,75
16		kukurydza	Fe	44,8	6,19	20,1	7,95	15,0	0,00	0,00	5,90	7,24
17A		kukurydza	SS	10,4	28,5	18,0	3,76	25,1	0,00	10,0	4,30	0,36
29A	ZS II	kłosówka	Fe	35,5	40,8	15,5	1,25	0,40	6,46	0,00	0,00	0,87
30B		kłosówka	SS	42,0	12,0	19,2	12,2	2,47	0,00	9,27	2,93	3,51
43		kukurydza	b.d.	50,6	19,9	9,90	9,12	6,78	0,66	0,11	2,92	2,53
44		kukurydza	P	17,9	20,3	20,3	21,6	4,69	0,49	1,05	13,62	0,88
46		kukurydza	SS	23,8	33,0	14,6	14,4	7,79	0,46	1,38	4,58	0,72
55A		olsza	Fe	41,5	12,7	3,89	19,3	8,07	0,51	6,06	7,99	3,27
57B		olsza	b.d.	36,0	24,7	0,93	38,1	0,00	0,00	0,10	0,21	1,46
58	ZS III	kłosówka	b.d.	83,9	14,6	0,03	0,92	0,08	0,00	0,19	0,30	5,74
59		kłosówka	P	42,8	10,4	1,59	38,4	4,32	0,16	2,04	0,29	4,10
60B		kłosówka	Fe	21,5	21,4	14,9	16,9	13,3	3,01	0,68	8,34	1,01

Tabela 26. c.d.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
61	ZS III	kłosówka	SS	29,8	26,6	17,3	16,7	4,32	0,11	4,81	0,33	1,12
67		kukurydza	b.d.	52,5	10,3	4,6	23,2	3,97	2,86	0,38	2,16	5,11
68		kukurydza	P	50,9	17,5	4,81	16,9	3,75	0,48	1,43	4,18	2,91
70A		kukurydza	SS	39,2	17,7	4,17	26,2	0,68	6,41	0,92	4,75	2,22
75		olsza	b.d.	5,66	36,8	24,5	25,0	4,27	0,11	0,06	3,54	0,15
77A		olsza	Fe	47,2	18,7	17,4	2,70	4,19	0,07	9,48	0,34	2,52
101	ZS IV	kłosówka	b.d.	41,2	19,2	10,2	15,8	6,12	0,02	5,90	1,60	2,15
102B		kłosówka	P	27,5	24,9	12,8	22,4	5,45	0,32	4,55	2,07	1,10
103		kłosówka	Fe	8,83	34,1	15,5	18,4	8,09	0,02	3,99	11,0	0,26
104B		kłosówka	SS	32,9	17,2	20,4	19,1	3,40	0,14	6,21	0,64	1,91

Doświadczenie wazonowe I



Zdj.10. (G) As (V) b.d.



Zdj. 11. (G) As (V)+P



Zdj. 12. (G) As (III) b.d.



Zdj. 13. (G) As (III)+P



Zdj. 14. (L) As (III) b.d.



Zdj. 15.(L) As (III)+P



Zdj. 16. Efekt toksycznego działania As

Doświadczenie wazonowe I



Zdj.17. Fitotoksyczne działanie As na rzepaku



Zdj. 18. (G) As (V) b.d.



Zdj. 19. (G) As (V)+P



Zdj. 20. (L) As (V) b.d.



Zdj. 21. (L) As (V)+P

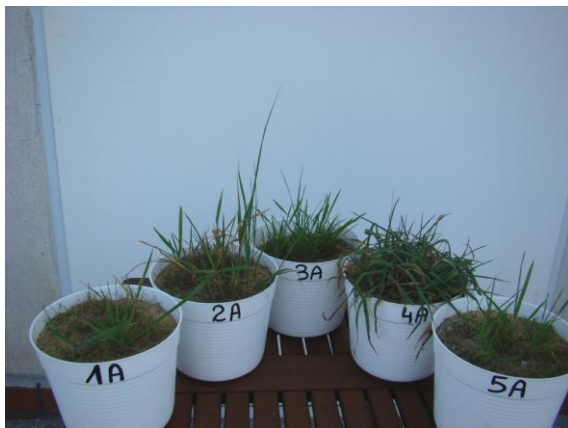


Zdj. 22. (L) As (III) b.d.



Zdj. 23. (L) As (III)+P

Doświadczenie wazonowe II



Zdj. 24. Kłosówka wełnista (gleba ZS I)



Zdj. 25. Życica trwała (gleba ZS I)



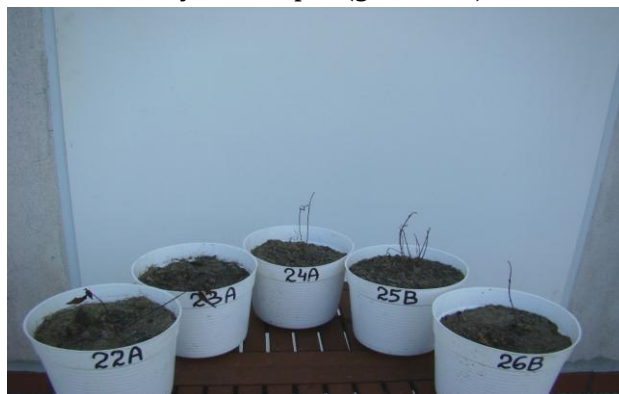
Zdj. 26. Koniczyna czerwona (gleba ZS I)



Zdj. 27. Kukurydza (gleba ZS I)



Zdj. 28. Rzepak (gleba ZS I)

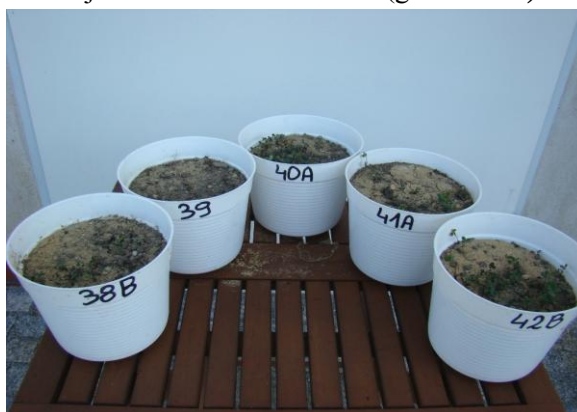


Zdj. 29. Olsza czarna w doświadczeniu na glebie ZS I

Doświadczenie wazonowe II



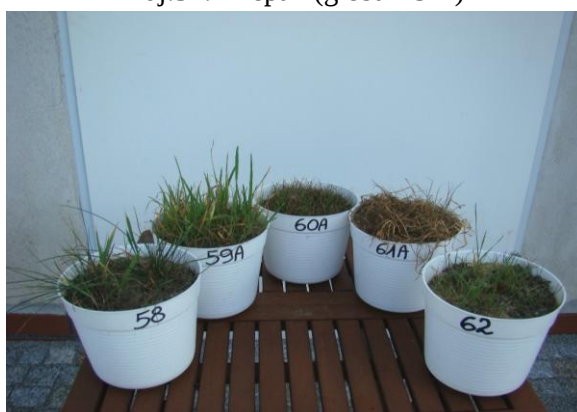
Zdj. 30. Kłosówka wełnista (gleba ZS II)



Zdj. 31. Koniczyna czerwona (ZS II)



Zdj.32. Rzepak (gleba ZS II)



Zdj. 33 Kłosówka wełnista (gleba ZS III)

Doświadczenie wazonowe III



Zdj. 34. Kłosówka wełnista (ZS I)



Zdj. 35. Kłosówka wełnista (ZS II)



Zdj. 36. Kłosówka wełnista (ZS III)



Zdj. 37. Kłosówka wełnista (ZS IV)



Zdj. 38. Życica trwała (ZS II)



Zdj. 39. Życica trwała (ZS III)



Zdj. 40. Pszenica (ZS I)



Zdj. 41. Pszenica (ZS II)



Zdj. 42. Kukurydza (ZS I)



Zdj. 43. Kukurydza (ZS II)



Zdj. 44. Kukurydza (ZS III)



Zdj. 45. Rzepak (ZS I)



Zdj. 46. Rzepak (ZS II)



Zdj. 47. Rzepak (ZS III)



Zdj. 48. Rzepak (ZS IV)



Zdj. 49. Fitotoksyczność na rzepaku (ZS I)



Zdj. 50. Olsza czarna (ZS IV)



Zdj. 51. Olsza czarna (ZS II)