

APARATURA

BADAWCZA I DYDAKTYCZNA

Wpływ metali ciężkich na indeks zieloności liści *Miscanthus x giganteus* Greef i Deu.

MACIEJ BOSIACKI, TOMASZ KLEIBER, BARTOSZ MARKIEWICZ
UNIwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wydział Ogrodnictwa
i Architektury Krajobrazu, Katedra Żywienia Roślin

Słowa kluczowe: metale ciężkie, SPAD, *Miscanthus x giganteus* Greef i Deu.

STRESZCZENIE

Celem przeprowadzonych badań było stwierdzenie wpływu wzrastających dawek metali ciężkich (Cd, Pb, Ni, Cu i Zn) dodanych do dwóch podłoży (gleby mineralnej oraz jej mieszaniny z torfem wysokim) na indeks zieloności liści *Miscanthus x giganteus* Greef i Deu. Oceniono również zależność pomiędzy zawartością badanych metali ciężkich w części nadziemnej *Miscanthus x giganteus* Greef i Deu. a indeksem zieloności liści tego gatunku. W badaniach wykorzystano aparat SPAD 502 (Konica Minolta), za pomocą którego dokonano pomiarów absorpcji światła przez blaszkę liściową (indeks zieloności liści). Najmniejszy indeks zieloności liści uzyskano zarówno w pierwszym, jak i drugim roku wzrostu u roślin rosnących w mieszaninie gleby mineralnej z torfem wysokim, którą zanieczyszczono 600 mgNi·dm⁻³. Stwierdzono zróżnicowane korelacje pomiędzy zawartością metali ciężkich a indeksem zieloności liści. Bardzo wysoką korelację ujemną oraz największy współczynnik determinacji stwierdzono dla niklu (u roślin rosnących w mieszaninie gleby mineralnej z torfem wysokim).

Influence of heavy metals on the leaf greenness index *Miscanthus x giganteus* Greef i Deu.

Keywords: heavy metals, SPAD, *Miscanthus x giganteus* Greef et Deu.

ABSTRACT

The aim of studies was to determine the influence of increasing doses of heavy metals (Cd, Pb, Ni, Cu and Zn) added to two substrates (mineral soil and its mixtures with high peat) on the leaf greenness index of *Miscanthus x giganteus* Greef et Deu. Also it was estimated the relationship between the content of heavy metals investigated in above-ground part of *Miscanthus x giganteus* Greef et Deu. and leaf greenness index of this species. In the studies was used SPAD 502 apparatus (Konica Minolta), which the measurements of light absorption by lamina (leaf greenness index) were made. The smallest leaf greenness index were obtained both in the first and second years of growth in case of plants growing in a mixture of mineral soil with high peat which contaminated 600 mgNi·dm⁻³. It was find differentiated correlations between content of heavy metals and leaf greenness index. Very high negative correlation and the highest value of determination coefficient was found for nickel (in plants growing in a mixture of mineral soil with high peat).

1. WSTĘP

Motorem rozwoju plantacji roślin energetycznych w tym *Miscanthus x giganteus* może stać się fitoekstrakcyjna metoda rekultywacji gleb zanieczyszczonych chemicznie [1].

Fitoekstrakcja ciągła jest tania, opłacalną oraz najbardziej rozpowszechnioną metodą stosowaną do usuwania metali ciężkich z gleby. Efektywność fitoekstrakcji ciągłej zależy od wyboru odpowiedniej rośliny. Gatunki wykorzystywane w tej metodzie muszą akumulować znaczne ilości metali ciężkich w organach nadziemnych. Powinny charakteryzować się dużym plonem biomasy uzyskanym w krótkim czasie, łatwością zbioru, głębokim systemem korzeniowym (pobierającym metale ciężkie nie tylko z poziomu 0-20 cm), odpornością na choroby i niedogodne warunki środowiska (tolerancją na wysokie stężenia metali ciężkich). Do najczęściej wykorzystywanych metod oceny przydatności roślin do fitoekstrakcji metali ciężkich z gleb zalicza się: badanie przyrostu biomasy, długości liści, powierzchni liści i inne pomiary biometryczne. Badania nad określeniem wykorzystania chlorofilometru do oceny odporności roślin na atrazynę w procesie fitoremediacji prowadzili Merecik i in. [2]. Indeks intensywności zabarwienia liści (SPAD – Soil Plant Analysis Development) jest miarą zawartości chlorofilu [3].

Głównym celem przeprowadzonych badań było wykorzystanie chlorofilometru (przyżyciowa ana-

liza zabarwienia liści) w procesie fitoekstrakcji ciągłej metali ciężkich z gleby przez miskanta olbrzymiego. W dwóch latach wzrostu miskanta przy jego uprawie w dwóch podłożach, przy czterech poziomach zawartości Cd, Pb, Ni, Cu i Zn badano wpływ wzrastających dawek metali ciężkich na indeks zieloności liści *Miscanthus x giganteus* Greef i Deu. Oceniono również zależność pomiędzy zawartością badanych metali ciężkich w części nadziemnej *Miscanthus x giganteus* Greef i Deu. a indeksem zieloności liści tego gatunku.

2. MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Doświadczenie wegetacyjne zostało przeprowadzone w nieogrzewanym tunelu foliowym z podnoszonymi bokami o wymiarach 6 x 30 m, na terenie Stacji Doświadczalnej – Marcelin, Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

Sadzonki *Miscanthus x giganteus* wyprodukowano w laboratorium kultur tkankowych Vitroflora. Rośliny zostały posadzone na początku maja w pojemniki bezodpływowe (o pojemności 7 dm³) napełnione wcześniej przygotowanym podłożem. Każda kombinacja składała się z sześciu replikacji. Powtórzenie stanowiła jedna roślina rosnąca w pojemniku bezodpływowym o pojemności 7 dm³.

Fitoremediację metali ciężkich przez miskanta olbrzymiego badano w dwóch latach wzrostu przy jego uprawie w dwóch podłożach, przy czterech poziomach metali. Ponieważ w Polsce domi-

nują gleby lekkie, o małej zawartości substancji organicznej, dlatego taką właśnie glebę wybrano do doświadczenia. Drugim podłożem była mieszanina tej gleby mineralnej z torfem wysokim. Torf wysoki dodano w celu zwiększenia zawartości substancji organicznej w glebie mineralnej.

2.1 Podłoża

- gleba mineralna (norma PTG 2008: piasek słabo gliniasty, zawartość substancji organicznej 0,95%)
- gleba mineralna (psg) z torfem wysokim (1:1 v/v), (zawartość substancji organicznej 10,05%)

2.2 Metale ciężkie (osobno)

- kadm (kontrola, 3, 5 i 10 mg·dm⁻³)
- ołów (kontrola, 250, 1000 i 5000 mg·dm⁻³)
- nikiel (kontrola, 75, 150 i 600 mg·dm⁻³)
- miedź (kontrola, 80, 100 i 500 mg·dm⁻³)
- cynk (kontrola, 300, 1000 i 3000 mg·dm⁻³)

Przed założeniem doświadczenia w glebie mineralnej oznaczono zawartość węgla organicznego (C org.) metodą Tiurina [4]. Próbkę gleby spalono z mieszaniną 0,067-molowego (0,4 normalnego) K₂Cr₂O₇ oraz stężonego H₂SO₄ wykorzystując ciepło jego uwalniania. Dwuchromian potasu ulega redukcji pod wpływem węgla materii organicznej według równania: $2K_2Cr_2O_7 + 8H_2SO_4 + 3C = 2K_2SO_4 + 2Cr_2(SO_4)_3 + 8H_2O + 3CO_2$. Utlenianie zachodzi w obecności katalizatora (np.: Ag₂SO₄ lub HgSO₄), w trakcie podgrzewania próbki przez około 5 minut (od momentu wrzenia). Do zredukowania nadmiaru utleniacza stosuje się 0,1-molowy roztwór soli Mohra, FeSO₄(NH₄)₂SO₄ · 6H₂O. W podłożu stanowiącym mieszaninę gleby mineralnej z torfem wysokim (1:1 v/v) procent substancji organicznej oznaczono poprzez prażenie podłoża, metodą bezpośrednią w wysokiej temperaturze (550°C) w obecności tlenu, pod wpływem której substancja organiczna ulega rozkładowi (wydziela się węgiel w postaci CO₂, wodór w postaci H₂O oraz azot w N₂, inne pierwiastki pozostają w popiele).

Zawartość C org. w piasku słabo gliniastym wynosiła 0,55% (0,95% próchnicy), natomiast procent substancji organicznej w mieszaninie piasku słabo gliniastego i torfu wysokiego (ze strat prażenia) wynosił 10,05%.

W glebie mineralnej oznaczono według Mocka i Drzymały [5] gęstość fazy stałej (właściwą), która wynosiła 2,65 g·cm⁻³ oraz gęstość objętości-

wą 1,62 g·cm⁻³. Porowatość całkowita gleby mineralnej wynosiła 38,87%. Oznaczono również skład granulometryczny gleby mineralnej metodą areometryczną według Prószyńskiego [5], (Tab. 1). Na podstawie procentowego udziału frakcji określono grupę granulometryczną gleby (wg Polskiego Towarzystwa Gleboznawczego). Pojemności wodne (Tabela 2) przy określonych potencjałach wiązania (pF) oznaczono metodą Richardsa [6].

Tabela 1 Skład granulometryczny gleby mineralnej użytej w badaniach

Table 1 Grain size composition of mineral soil used in experiment

Frakcja w (mm)	Zawartość frakcji w (%)	Grupa granulometryczna według normy	
		PTG 1989	PTG 2008
2,0 – 1,0	2	piasek słabo gliniasty	piasek słabo gliniasty
1,0 – 0,5	28		
0,5 – 0,25	20		
0,25 – 0,1	35		
0,1 – 0,05	3		
0,05 – 0,02	5		
0,02 – 0,005	2		
0,005 – 0,002	3		
< 0,002	1		

Tabela 2 Pojemności wodne i zdolności retencyjne gleby mineralnej (psg)

Table 2 Water capacities and water holding capacity of mineral soil

Pojemności wodne przy pF (%vv)						Zdolności retencyjne	
0,0	2,0	2,5	3,7	4,2	4,5	ERU*	PRU**
35,21	25,12	19,0	4,2	3,5	2,04	2,5-3,7	2,5-4,2
						14,8	15,5

* ERU efektywna retencja użyteczna

**PRU potencjalna retencja użyteczna

W badaniach zastosowano torf wysoki firmy Hartmann (torf sfagnowy, mielony, frakcjonowany o odczynie kwaśnym (pH 4,5). Torf ten posiada dużą pojemność wodną, jednocześnie zachowując sprężystą strukturę. Masa 1 dm³ torfu wynosiła 490 gramów.

W celu uzyskania odpowiedniego pH dla uprawy miskanta olbrzymiego została wykonana krzywa neutralizacji dla badanych podłoży. Na jej pod-

stawie ustalono dawkę CaCO_3 , dla utrzymania pH w przedziale 6,5-7,0. Do uregulowania odczynu podłoża (gleba mineralna + torf wysoki) zastosowano $3 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ CaCO_3 . Podłoże, które stanowiła gleba mineralna (psg) nie wymagało regulacji odczynu. Mimo to zastosowano $1 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ CaCO_3 w celu stabilizacji pH w przedziale 6,5-7,0. Po dwóch tygodniach od wapnowania do podłoża wprowadzono składniki pokarmowe oraz badane metale ciężkie.

Nawożenie przedwegetacyjne (w pierwszym roku) makro- i mikroskładnikami zostało ustalone po uwzględnieniu wyjściowych zawartości składników w podłożach, po wapnowaniu doprowadzając do następujących poziomów (w $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$): N 200, P 120, K 250, Mg 100, Fe 50, Mn 20, B 1,5, Mo 1,5, cynk i miedź (według schematu doświadczenia). Wszystkie makro- i mikroskładniki zostały wprowadzone w postaci roztworów stosując odczynniki chemicznie czyste: monofosforan potasu, saletra potasowa, saletra amonowa, saletra magnezowa, siarczan magnezu, siarczan żelaza, siarczan manganawy, molibdenian amonu, borax. W drugim roku prowadzenia badań został wykorzystany taki sam układ doświadczenia jak w roku pierwszym. Po ścięciu roślin, w pierwszym roku prowadzenia doświadczenia, pojemniki z zanieczyszczonymi podłożami, zostały przechowane w tunelu nieogrzewanym do następnego roku wegetacyjnego (drugi rok badań). W drugim roku badań w marcu, przed rozpoczęciem wegetacji zostały pobrane próby podłoża i wykonano analizę chemiczną na zawartość składników pokarmowych. Na jej podstawie zostało opracowane nawożenie składnikami pokarmowymi (doprowadzając zawartości składników pokarmowych do tych samych poziomów, które zastosowano w roku pierwszym prowadzenia doświadczenia). Składniki pokarmowe w podłożach oznaczono, metodą 'Universalną' [7] w roztworze CH_3COOH o stężeniu $0,03 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ oraz potencjometrycznie oznaczono pH w wodzie (stosunek podłoża do wody 1:2) i konduktometrycznie EC ($\text{mS} \cdot \text{cm}^{-1}$), (stosunek podłoża do wody 1:2), [8].

Zastosowano następujące techniki oznaczenia składników pokarmowych:

- N – NH_4 i N – NO_3 destylacyjnie,
- P kolorymetrycznie metodą wanadomolibdową,
- K, Ca i Na metodą fotometrii płomieniowej,
- Mg metodą absorpcji atomowej (AAS),

- Cl i S – SO_4 metodą nefelometryczną.

Metale ciężkie zostały wprowadzone tylko w pierwszym roku badań w postaci odczynników chemicznie czystych (ch.cz.): siarczanu kadmu ($3\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$), octanu ołowiu [$(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$], siarczanu niklu ($\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), siarczanu miedzi (CuSO_4 bezw.) i siarczanu cynku ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$).

W trakcie prowadzenia doświadczenia utrzymywano optymalną wilgotność badanych podłoża, podlewając rośliny wodą wodociągową.

W każdym roku wzrostu *Miscanthus x giganteus* Greef i Deu., 15 września dokonywano pomiaru absorpcji światła przez blaszkę liściową (indeks zieloności liści) za pomocą aparatu SPAD 502 (Konica Minolta). Urządzenie zaopatrzone jest w dwa źródła światła o różnej długości: 650 nm (odpowiadającej maksymalnej absorpcji przez chlorofil a i b) oraz 940 nm (odpowiadającej dalekiej czerwieni, zatrzymywanej przez tkankę liścia). Na podstawie odczytów SPAD można dokonać oceny zawartości chlorofilu w liściach [3], jak również oceniać stan odżywienia roślin. Pomiar wykonano na zdrowych liściach każdej rośliny w trzydziestu powtórzeniach.

W październiku każdego roku badań zbierano rośliny. Zważono świeżą biomasa oraz pobrano próbki materiału roślinnego do analiz. Zebrany materiał roślinny (cała masa nadziemna) został wysuszony w suszarce wyciągowej w temperaturze 105°C przez 48 godzin. Następnie materiał ten został zmielony i w ilości 2,5 g, z każdej próby mineralizowany na mokro w mieszaninie stężonego HNO_3 (ultra czysty) i HClO_4 (cz.d.a.) w stosunku 3:1 [9]. Zawartość kadmu, ołowiu, niklu, miedzi i cynku w materiale roślinnym oznaczono metodą absorpcji atomowej (FAAS) na spektrofotometrze AAS-3 firmy Zeiss. Oznaczono również zawartość badanych metali ciężkich w materiale referencyjnym (*Pseudevernia furfuracea*), certyfikowanym przez IRMM (Institute for Reference Materials and Measurements) w Belgii i porównano z zawartościami uzyskanymi w części nadziemnej miskanta olbrzymiego.

Wyniki pomiaru absorpcji światła przez blaszkę liściową *Miscanthus x giganteus* zostały opracowane statystycznie w programie Statobl – jednoczyniowa analiza wariancji dla doświadczeń czynnikowych ortogonalnych, różnice między średnimi określono przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

3. WYNIKI BADAŃ I DYSKUSJA

Metale ciężkie wpływają na wiele procesów fizjologicznych oraz zmiany wielu biochemicznych związków i wzrost roślin. Zmniejszenie wzrostu roślin traktowanych metalami ciężkimi wykazał Shvetsova [10]. Obniżenie zawartości chlorofilu, kwasu abscysynowego i potencjału wodnego roślin wykazali Rauser i Dumbroff [11], Angelov i in. [12], Bishnoi i in. [13]. Niektóre badania wskazują również na wpływ metali ciężkich na przewodność aparatów szparkowych [11], co bez wątpienia wpływa na proces asymilacji CO₂. Eksperymenty w warunkach kontrolowanych z reguły wskazują na zmniejszenie aktywności fotosyntezy wskutek nadmiaru metali ciężkich [14, 15].

Wpływ metali ciężkich można udowodnić analizując parametry morfologiczne [16], jak również funkcje fizjologiczne, tj. aktywność fotosyntezy czy zawartość chlorofilu [17-19].

Pomiar absorpcji światła przez blaszkę liściową (indeks zieloności liści) za pomocą aparatu SPAD wykorzystywany jest jako szybka i nieinwazyjna metoda pozwalająca na stwierdzenie stanu odżywienia rośliny [20, 21]. Wraz ze wzrostem zawartości chlorofilu w liściach wzrasta absorpcja przez nie światła [22]. Na podstawie odczytów SPAD można dokonać oceny zawartości chlorofilu w liściach [3, 23-25].

W ciągu dwóch lat wzrostu *Miscanthus x giganteus* rosnącego w glebie mineralnej zanieczyszczonej badanymi metalami ciężkimi indeks zielono-

Tabela 3 Wpływ metali ciężkich na SPAD – indeks zieloności liści *Miscanthus x giganteus* rosnącego w glebie mineralnej w pierwszym i drugim roku wzrostu

Table 3 Influence of heavy metals on the SPAD – leaf greenness index *Miscanthus x giganteus* growing in mineral soil in the first and second year of growth

Metal	Dawka metalu mg·dm ⁻³	Rok uprawy							
		I rok				II rok			
		Zakres min. - max.	Rozstęp R	SD	Średnia	Zakres min. - max.	Rozstęp R	SD	Średnia
Cd	kontrola	36,6 – 47,1	10,5	3,9	39,5 a-d	41,2 – 44,2	3,0	1,1	42,6 c-f
	3	39,8 – 42,7	2,9	1,2	41,5 cde	34,1 – 43,9	9,8	3,6	40,4 b-e
	5	37,4 – 53,1	15,7	2,5	44,7 efg	38,9 – 50,0	11,1	3,5	42,1 cde
	10	32,4 – 39,8	7,4	6,0	35,5 a	35,5 – 45,1	9,6	4,1	39,2 a-d
Średnia		40,3 a				41,1 ab			
Pb	kontrola	36,6 – 47,1	10,5	3,9	39,5 a-d	41,2 – 44,2	3,0	1,1	42,6 c-f
	250	39,3 – 42,5	3,2	1,2	41,0 cde	38,6 – 45,8	7,2	2,7	42,9 def
	1000	37,3 – 50,8	13,5	2,0	43,2 def	43,1 – 51,0	7,9	3,3	47,5 g
	5000	35,0 – 41,0	6,0	5,7	38,7 a-d	34,9 – 41,0	6,1	2,5	38,1 abc
Średnia		40,6 a				42,8 b			
Ni	kontrola	36,6 – 47,1	10,5	3,9	39,5 a-d	41,2 – 44,2	3,0	1,1	42,6 c-f
	75	38,5 – 43,1	4,6	1,7	39,9 bcd	35,2 – 43,3	8,1	3,0	39,9 bcd
	150	28,3 – 43,5	15,2	5,0	36,5 ab	39,4 – 49,8	10,4	3,6	46,3 fg
	600	40,5 – 44,6	4,1	1,6	43,1 def	37,4 – 47,5	10,1	3,4	43,0 def
Średnia		39,7 a				42,9 b			
Cu	kontrola	36,6 – 47,1	10,5	3,9	39,5 a-d	41,2 – 44,2	3,0	1,1	42,6 c-f
	80	38,1 – 42,8	4,7	2,1	40,4 bcd	38,7 – 47,1	8,4	2,8	43,0 def
	100	34,6 – 43,1	8,5	2,9	39,6 a-d	38,0 – 45,3	7,3	2,5	40,5 b-e
	500	36,9 – 46,4	9,5	3,3	42,3 c-f	35,4 – 42,8	7,4	2,5	39,2 a-d
Średnia		40,4 a				41,3 ab			
Zn	kontrola	36,6 – 47,1	10,5	3,9	39,5 a-d	41,2 – 42,8	3,0	1,1	42,6 c-f
	300	34,6 – 42,9	8,3	2,7	39,1 a-d	35,1 – 40,3	5,2	1,9	38,0 abc
	1000	37,7 – 47,9	10,2	3,5	41,3 cde	37,1 – 42,8	5,7	1,8	39,8 bcd
	3000	37,5 – 47,7	10,2	3,7	41,8 cde	36,9 – 42,6	5,7	1,9	39,8 bcd
Średnia		40,4 a				40,1 a			
Średnia dla podłoża		40,3 a				41,6 b			

ności liści kształtował się w zakresie od wartości 28,3 do 53,1 (Tabela 3). Niezależnie od wzrastających dawek poszczególnych metali ciężkich wprowadzonych do gleby mineralnej, większą średnią wartość SPAD stwierdzono w drugim roku wzrostu miskanta. Świadczy to o tolerancji tego gatunku na badane stężenia metali ciężkich.

W glebie mineralnej zanieczyszczonej kadmem, w pierwszym roku wzrostu największą wartość SPAD stwierdzono w podłożu, do którego wprowadzono 5 mgCd·dm⁻³, natomiast najmniejszą w podłożu zanieczyszczonym 10 mgCd·dm⁻³. W drugim roku wzrostu nie stwierdzono istotnych zmian w zieloności liści wywołanych wzrastającymi dawkami kadmu wprowadzonymi do gleby mineralnej. Wzrastające dawki ołowiu, miedzi i cynku wpro-

wadzone do gleby mineralnej nie miały istotnego wpływu na indeks zieloności liści w pierwszym roku wzrostu miskanta olbrzymiego. W drugim roku największą wartość SPAD stwierdzono u roślin rosnących w glebie mineralnej zanieczyszczonej 1000 mgPb·dm⁻³. Wzrastające dawki miedzi i cynku nie wpłynęły istotnie na zmianę indeksu zieloności liści miskanta olbrzymiego w drugim roku wzrostu.

Istotne różnice w wartości SPAD stwierdzono u roślin rosnących w glebie mineralnej zanieczyszczonej niklem zarówno w pierwszym, jak i drugim roku wzrostu. W porównaniu do indeksu zieloności liści roślin rosnących w glebie zanieczyszczonej 150 mgNi·dm⁻³ (pierwszy rok wzrostu), większą wartość SPAD stwierdzono u roślin rosnących

Tabela 4 Wpływ metali ciężkich na SPAD – indeks zieloności liści *Miscanthus x giganteus* rosnącego w glebie mineralnej z dodatkiem torfu wysokiego w pierwszym i drugim roku wzrostu

Table 4 Influence of heavy metals on the SPAD – leaf greenness index *Miscanthus x giganteus* growing in mineral soil with an addition of highmoor peat in the first and second year of growth

Metal	Dawka metalu mg·dm ⁻³	Rok uprawy							
		I rok				II rok			
		Zakres min.- max.	Rozstęp R	SD	Średnia	Zakres min. - max.	Rozstęp R	SD	Średnia
Cd	kontrola	30,0 – 36,0	6,0	2,2	33,5 b-e	28,2 – 41,7	13,5	5,5	35,7 b-e
	3	31,2 – 39,2	8,0	2,9	33,9 b-e	30,8 – 41,9	11,1	3,8	36,5 cde
	5	30,0 – 42,7	12,7	4,3	35,1 b-e	31,9 – 38,5	6,6	2,4	35,3 b-e
	10	26,0 – 39,4	13,4	4,8	35,6 b-e	29,4 – 37,5	8,1	3,6	33,3 b-e
Średnia		34,5 b				35,2 b			
Pb	kontrola	30,0 – 36,0	6,0	2,2	33,5 b-e	28,2 - 41,7	13,5	5,5	35,7 b-e
	250	32,1 – 38,1	6,0	2,2	35,3 b-e	27,4 – 32,8	5,4	2,4	30,3 b
	1000	29,5 – 36,6	7,1	2,6	32,8 b-e	29,4 – 38,5	9,1	3,4	33,6 b-e
	5000	21,1 – 38,5	17,4	7,8	32,8 b-e	31,7 – 37,8	6,1	2,2	34,6 b-e
Średnia		33,6 b				33,5 b			
Ni	kontrola	30,0 – 37,0	6,0	2,2	33,5 b-e	28,2 – 41,7	13,5	5,6	35,7 b-e
	75	30,0 – 39,7	9,7	3,4	34,2 b-e	32,6 – 40,1	7,5	3,1	36,6 cde
	150	30,6 – 36,2	5,6	2,1	33,9 b-e	28,4 – 36,6	8,2	3,2	33,3 b-e
	600	4,3 – 19,6	15,3	5,6	10,1 a	4,9 – 13,0	8,1	3,3	10,2 a
Średnia		27,9 a				29,0 a			
Cu	kontrola	30,0 – 37,0	6,0	2,2	33,5 b-e	28,2 – 41,7	13,5	5,5	35,7 b-e
	80	35,1 – 42,3	7,2	2,7	37,8 de	28,5 – 36,2	7,7	3,4	32,1 bcd
	100	30,4 – 40,4	10,0	3,4	34,9 b-e	34,9 – 40,2	5,3	2,4	38,2 e
	500	21,9 – 37,2	15,3	7,3	30,1 b	28,7 – 39,2	10,5	4,0	33,8 b-e
Średnia		34,1 b				35,0 b			
Zn	kontrola	30,0 – 37,0	6,0	2,2	33,5 b-e	28,2 – 41,7	13,5	5,5	35,7 b-e
	300	31,7 – 37,6	5,9	2,3	35,1 b-e	27,9 – 32,8	4,9	1,9	31,0 bc
	1000	26,9 – 35,1	8,2	3,1	32,9 b-e	27,1 – 38,4	11,3	3,6	32,5 b-e
	3000	26,7 – 34,9	8,2	3,1	32,4 bcd	26,9 – 38,2	11,3	3,6	32,5 b-e
Średnia		33,5 b				32,9 b			
Średnia dla podłoża		32,7 a				33,1 a			

w glebie zanieczyszczonej największą dawką tego metalu ($600 \text{ mgNi}\cdot\text{dm}^{-3}$). W drugim roku wzrostu większą wartość SPAD stwierdzono u roślin rosnących w glebie zanieczyszczonej $150 \text{ mgNi}\cdot\text{dm}^{-3}$, w porównaniu do indeksu zieloności liści roślin rosnących w glebie mineralnej, do której wprowadzono $75 \text{ mgNi}\cdot\text{dm}^{-3}$.

Indeks zieloności liści miskanta olbrzymiego rosnącego w mieszaninie gleby mineralnej z torfem wysokim zarówno zanieczyszczonej badanymi metalami ciężkimi i niezanieczyszczonej był mniejszy w porównaniu do wartości stwierdzonych u roślin rosnących w glebie mineralnej. W dwóch latach wzrostu miskanta na tym podłożu indeks zieloności liści kształtował się w zakresie od najniższej wartości 4,3 do największej wartości 42,7 (Tab. 4).

W pierwszym i drugim roku wzrostu miskanta olbrzymiego nie stwierdzono istotnych różnic w wartości SPAD, pod wpływem wzrastających dawek kadmu, ołowiu i cynku wprowadzonych do podłoża stanowiącego mieszaninę gleby mineralnej z torfem wysokim.

U roślin rosnących w podłożu zanieczyszczonej niklem w ilości $600 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ najmniejszy indeks zieloności liści stwierdzono zarówno w pierwszym, i drugim roku wzrostu.

Porównując wpływ wzrastających dawek miedzi, wprowadzonych do podłoża na wartość SPAD, najmniejszą wartość stwierdzono u roślin rosnących w glebie mineralnej z torfem wysokim zanieczyszczonej $500 \text{ mgCu}\cdot\text{dm}^{-3}$, natomiast największą u roślin rosnących w podłożu zanieczyszczonej $80 \text{ mgCu}\cdot\text{dm}^{-3}$. W drugim roku wzrostu najmniejszy indeks zieloności uzyskano u roślin rosnących w podłożu, do którego wprowadzono $80 \text{ mgCu}\cdot\text{dm}^{-3}$, natomiast największy indeks stwierdzono u ro-

ślin rosnących w podłożu zanieczyszczonej $100 \text{ mgCu}\cdot\text{dm}^{-3}$.

Niezależnie od wzrastających dawek metali ciężkich nie stwierdzono istotnych różnic w zazielenieniu liści miskanta olbrzymiego w kolejnych latach wzrostu.

Uzyskane wyniki wartości SPAD oraz zawartości badanych metali ciężkich w biomase nadziemnej miskanta olbrzymiego poddano analizie statystycznej wnioskując przy $\alpha=0,05$. Na podstawie wyznaczonych współczynników korelacji liniowej (metodą Pearsona) określono jej moc według załączonej skali (Tab. 5).

Stwierdzono zróżnicowane korelacje pomiędzy zawartością metali ciężkich a indeksem zieloności liści (Tab. 6). Bardzo wysoką korelację ujemną oraz największy współczynnik determinacji stwierdzono dla niklu (u roślin rosnących w mieszaninie gleby mineralnej z torfem wysokim).

Tabela 5 Klasyfikacja korelacji w zależności od wartości współczynnika korelacji [25]

Table 5 Classification of correlation depended on the values of coefficient of correlation [25]

Współczynnik korelacji	Opis
0	Zmienne nie są skorelowane
$0 < r < 0,1$	Korelacja nikła
$0,1 \leq r < 0,3$	Korelacja słaba
$0,3 \leq r < 0,5$	Korelacja przeciętna
$0,5 \leq r < 0,7$	Korelacja wysoka
$0,7 \leq r < 0,9$	Korelacja bardzo wysoka
$0,9 \leq r < 1$	Korelacja prawie pełna

W literaturze światowej brak jest szczegółowych informacji dotyczących zdolności *Miscanthus x giganteus* do akumulacji metali ciężkich w części nadziemnej oraz tolerancji tego gatunku na wysokie

Tabela 6 Współczynniki korelacji i determinacji pomiędzy odczytem SPAD a zawartością metali ciężkich w liściach *Miscanthus x giganteus*

Table 6 Coefficient of correlation and determination between SPAD reading and heavy metals contents in *Miscanthus x giganteus* leaves

Metal	Podłoże					
	Gleba mineralna			Gleba mineralna + torf wysoki		
	Współczynnik korelacji	Korelacja	Współczynnik determinacji %	Współczynnik korelacji	Korelacja	Współczynnik determinacji %
Cd	(+) 0,35	słaba	12,29	(-) 0,11	słaba	1,15
Pb	(-) 0,21	słaba	4,32	(-) 0,10	nikła	0,96
Ni	(+) 0,34	słaba	11,91	(-) 0,81	bardzo wysoka	66,36
Cu	(+) 0,09	nikła	0,76	(-) 0,42	przeciętna	17,84
Zn	(+) 0,32	słaba	10,23	(-) 0,41	przeciętna	16,69

stężenia metali ciężkich w glebie. Według Bosiackiego (wyniki nie opublikowane) miskant olbrzymi jest gatunkiem zdolnym do pobierania i akumulowania w części nadziemnej kadmu, ołowiu, niklu, miedzi i cynku, ale nie jest hiperakumulatorem tych metali.

Według Kalembasy [26] w popiele *Miscanthus sinensis* Thumb. zawartość poszczególnych metali ciężkich układa się w następujących szeregach malejących wartości: Zn>Cd>Pb>Ni>Cu>Cr.

Jak podaje Kabała i in. (1) na glebach słabo zanieczyszczonych metalami ciężkimi możliwa jest uprawa miskanta i ślazu, pod warunkiem zapewnienia odpowiedniej zasobności w składniki pokarmowe i wodę. Natomiast na glebach średnio i silnie zanieczyszczonych metalami ciężkimi zalecane są wybrane klony wierzby wiciowej.

W porównaniu do drewna wierzby wiciowej słoma miskanta uprawianego na niezanieczyszczonych glebach zawiera większe ilości makroskładników [27] natomiast mniejsze ilości metali ciężkich [28-30]. Niektórzy badacze wykazali wpływ nawożenia na zmiany zawartości poszczególnych metali ciężkich w kolejnych latach wzrostu. Większą zawartość miedzi i cynku w słomie miskanta, w drugim roku wzrostu stwierdzili Krzywy i in. [31], natomiast w trzecim roku wzrostu Iżewska [32] stwierdziła większą zawartość kadmu i niklu oraz mniejszą cynku i ołowiu. W porównaniu do wierzby wiciowej miskant charakteryzuje się mniejszą tolerancją na wysokie stężenia

metali ciężkich i jak podaje Kabała (1) należy dalej testować fitoremediacyjne zdolności poszczególnych odmian miskanta.

4. PODSUMOWANIE

Pomiar absorpcji światła przez blaszkę liściową (indeks zieloności liści) za pomocą aparatu SPAD jest szybką i nieinwazyjną metodą pozwalającą na stwierdzenie stanu odżywienia *Miscanthus x giganteus* rosnącego w glebie mineralnej oraz jej mieszaninie z torfem wysokim, zanieczyszczonej wzrastającymi dawkami kadmu, ołowiu, niklu, miedzi i cynku.

Najmniejszy indeks zieloności liści uzyskano zarówno w pierwszym, jak i drugim roku wzrostu u roślin rosnących w mieszaninie gleby mineralnej z torfem wysokim, którą zanieczyszczono 600 mgNi-dm⁻³.

Stwierdzono zróżnicowane korelacje pomiędzy zawartością metali ciężkich a indeksem zieloności liści. Bardzo wysoką korelację ujemną oraz największy współczynnik determinacji stwierdzono dla niklu (u roślin rosnących w mieszaninie gleby mineralnej z torfem wysokim).

Praca naukowa finansowana ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego, na naukę w latach 2008-2011, numer rejestracyjny projektu badawczego N N305 085535.

LITERATURA

- [1] Kabała C., Karczewska A., Kozak M., Przydatność roślin energetycznych do rekultywacji i zagospodarowywania gleb zdegradowanych. Zesz. Nauk. UP Wroc., Rol., XCVI, 576, 2010, 97-118.
- [2] Merecik R., Cyplik P., Olejnik A., Wykorzystanie chlorofilometru do oceny przydatności roślin w procesie fitoremediacji. Aparatura Badawcza i Dydaktyczna 1, 2009, 80-83.
- [3] Bezdużniak D., Ocena stanu odżywienia pszenicy ozimej azotem na podstawie pomiaru zawartości chlorofilu metodą optyczną (SPAD). IUNiG w Puławach 1997.
- [4] Golcz A., Bosiacki M., Soil Organic Matter. Research Methods In Plant Sciences Vol. 3. Soil Sickness. Narwal S.S., Politycka B., Fengzhi Wu, Sampietro D.A. (red) Studium Press LLC, Huston USA., 2011, 68-78.
- [5] Mocek A., Drzymała S., Geneza, analiza i klasyfikacja gleb. Wyd. UP Poznań, 2010.

- [6] Klute A., Water retention: laboratory methods. In Amer. Soc. of Agron. Monograph No. 9, Revised. Methods of Soil Analysis, Part 1. Physical and Mineralogical Methods, 1986.
- [7] Kozik E., Golcz A., Plant nutrients. Research Methods In Plant Sciences vol. 3. Soil Sickness. Narwal S.S., Politycka B., Fengzhi Wu, Sampietro D.A. (red) Studium Press LLC, Huston USA, 2011, 21-41.
- [8] Golcz A., Soil salinity and acidity. Research Methods In Plant Sciences vol. 3. Soil Sickness. Narwal S.S., Politycka B., Fengzhi Wu, Sampietro D.A. (red) Studium Press LLC, Huston USA., 2011, 43-53.
- [9] Bosiacki M., Roszyk J., Porównanie metod mineralizacji materiału roślinnego na zawartość metali ciężkich. Aparatura Badawcza i Dydaktyczna 4, 2010, 37-41.
- [10] Shvetsova A., Responses of subarctic dwarf shrubs to climate change and air pollution. Annales Universitatis Turkuensis Ser. AII 113, 127, 1998.
- [11] Rauser W.E., Dumbroff E.B., Effects of excess cobalt, nickel and zinc on the water relations of *Phaseolus vulgaris*. Environ. Exp. Bot., 21, 1981, 249-255.
- [12] Angelov M., Tsonev T., Uzunova A., Gaidardjieva K., Cu²⁺ effect upon photosynthesis, chloroplast structure, RNA and protein synthesis of pea plants. Photosynthetica, 28, 1993, 341-350.
- [13] Bishnoi N.R., Sheoran I.S., Singh R., Influence of cadmium and nickel on photosynthesis and water relations in wheat leaves of different insertion level. Photosynthetica, 28, 1993, 473-479 .
- [14] Clijsters H., Van Assche F., Inhibition of photosynthesis by heavy metals. Photosynth. Res., 7, 1985, 31-40.
- [15] Pietrini F., Zacchini M., Iori V., Pietrosanti L., Ferretti M., Massacci A., Spatial distribution of cadmium in leaves and its impact on photosynthesis: examples of different strategies in willow and poplar clones. Plant Biol., 12, 2010, 355-363.
- [16] Hunt R., Plant Growth Analysis. Camelot Press, SouthHampton, 1978.
- [17] Tognetti R., Sebastiani L., Minnocci A., Gas Exchange and foliage characteristics of two poplar clones grown in soil amended with industrial waste. Tree Physiol., 24, 2004, 75-82.
- [18] Borghi M., Tognetti R., Monteforti G., Sebastiani L., Responses of two poplar species (*Populus alba* and *Populus × canadensis*) to high copper concentrations. Environ. Exp. Bot., 62, 2008, 290-299.
- [19] Kleiber T., Golcz A., Krzesiński W., The effect of magnesium nutrition on onion (*Allium cepa* L.). Part I. Yielding and nutrient status. Ecol. Chem. Eng. S, 19(1), 2012, 97-105.
- [20] Gáborčík N., Relationship between contents of chlorophyll (a+b) (SPAD values) and nitrogen of some temperate grasses. Photosynthetica 41(2), 2003, 285-287.
- [21] Rezende Fontes P.C., Ronchi C.P., Critical values of nitrogen indices in tomato plants grown in soil and nutrient solution determined by different statistical procedures. Pesq. Agropec. Bras., Brasília, 37(10), 2002, 1421-1429.
- [22] Nauš J., Prokopová J., Spundová M., SPAD chlorophyll meter reading can be pronouncedly affected by chloroplast movement. Photosynth Res., 105(3), 2010, 265-71.
- [23] Ling Q., Huang W., Jarvis P., Use of a SPAD-502 meter to measure leaf chlorophyll concentration in *Arabidopsis thaliana*. Photosynth Res., 107(2), 2011, 209-14.
- [24] Kleiber T., Markiewicz B., Bosiacki M., Zależność między odczytem SPAD a zawartością składników pokarmowych w liściach pomidora przy zróżnicowanym poziomie żywienia manganem. Aparatura Badawcza i Dydaktyczna, 3, 2012, 65-70.
- [25] Stanisław A. Podstawy statystyki dla prowadzących badania naukowe. Odcinek 21: Analiza korelacji, Medycyna Praktyczna, 10, 2000, 176-181.
- [26] Kalembasa D., Ilość i skład chemiczny popiołu z biomasy roślin energetycznych. Acta Agrophysica, 7 (4), 2006, 909-914.
- [27] Krzywy E., Iżewska A., Jeżowski S., Ocena możliwości wykorzystania komunalnego osadu ściekowego do nawożenia trzciny chińskiej (*Miscanthus sacchariflorus* (Maxim.) Hack.). Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 494, 2003, 225-232.
- [28] Kalembasa D., Malinowska E., Skład chemiczny i plon biomasy wybranych klonów trawy *Miscanthus*. Obieg pierwiastków w przyrodzie. Monografia, tom III, IOŚ, Warszawa 315-320, 2005.
- [29] Kalembasa D., Malinowska E., Contents of cadmium, lead and nickel at different development stages of selected *Miscanthus* genotypes. Ecological Chemistry and Engineering. A, Vol. 16, 4, 2009, 349-356.

- [30] Kalembasa D., Malinowska E., The yield and content of trace elements in biomass of miscanthus sacchariflorus (Maxim.) Hack. and in soil in the third year of a pot experiment. *J. Elementol.*, 14, 4, 2009, 685-691.
- [31] Krzywy E., Iżewska A., Wołoszyk Cz., Pobranie i wykorzystanie mikroelementów w okresie dwóch lat przez trzcinę chińską (*Miscanthus sacchariflorus*) z osadu ściekowego oraz z kompostów wyprodukowanych z osadu ściekowego, *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 2004, 502, 877-885.
- [32] Iżewska A., Zawartość metali ciężkich w *Miscanthus sacchariflorus* jako wskaźnik użyteczności osadów ściekowych i kompostów z osadów. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 512, 2006, 165-171.