

Krzysztof FRĄCZEK¹, Jacek GRZYB¹ i Maria J. CHMIEL¹

PRZESTRZENNE ZMIANY LICZBY BAKTERII WYSTĘPUJĄCYCH W GLEBIE W OTOCZENIU SKŁADOWISKA KOMUNALNEGO

SPATIAL CHANGES IN THE NUMBER OF SOIL BACTERIA IN THE VICINITY OF MUNICIPAL LANDFILL

Abstrakt: Badania terenowe dotyczące pracy przeprowadzono na obszarze i w otoczeniu składowiska odpadów komunalnych Barycz w Krakowie. Próbkę gleby do badań bakteriologicznych pobierano w każdej porze roku na 17 wytypowanych stanowiskach badawczych. Analizy mikrobiologiczne przeprowadzono metodą seryjnych rozcieńczeń. Obejmowały one określenie ogólnej liczby form wegetatywnych i przetrwalnych bakterii. W przeprowadzonych badaniach wykazano duże zróżnicowanie liczby bakterii w glebach na obszarze składowiska odpadów komunalnych i w bezpośrednim jego otoczeniu. Zaobserwowano, że zmienność sezonowa jest ważnym czynnikiem wpływającym na liczbę bakterii występujących w badanych glebach. Badania potwierdziły również, że deponowane odpady i czynności wykonywane rutynowo w aktualnie użytkowanej części składowiska miały znaczący wpływ na obserwowaną liczbę badanych bakterii. Analiza bakteriologiczna wykazała, że w miarę oddalania się od czynnego sektora znacznie zwiększała się w środowisku glebowym ich liczba.

Słowa kluczowe: bakterie, gleba, składowisko odpadów komunalnych

Wprowadzenie

W ostatnich latach coraz częściej zwraca się uwagę na to, że składowiska odpadów komunalnych, w zależności od sposobu eksploatacji i rodzaju składowanych odpadów, mogą być źródłem licznych skażeń chemicznych i biologicznych otaczającego środowiska. Powodują także zmiany w użytkowaniu sąsiadujących z nimi gruntów i obniżają walory estetyczne krajobrazu [1-3]. W związku z tym eksploatacja takich obiektów wymaga dokonywania badań ich oddziaływania na różne elementy środowiska, jak wody, powietrze, gleby. Środowisko glebowe jako najbardziej aktywna i najwrażliwsza warstwa skorupy ziemskiej zajmuje szczególną pozycję w środowisku przyrodniczym i jest wskaźnikiem jego jakości [1, 4-6], dlatego też celem pracy było stwierdzenie, w jakim stopniu składowisko odpadów komunalnych wpływa na przestrzenne zmiany liczby bakterii występujących w glebie na obszarze i w bezpośrednim jego otoczeniu.

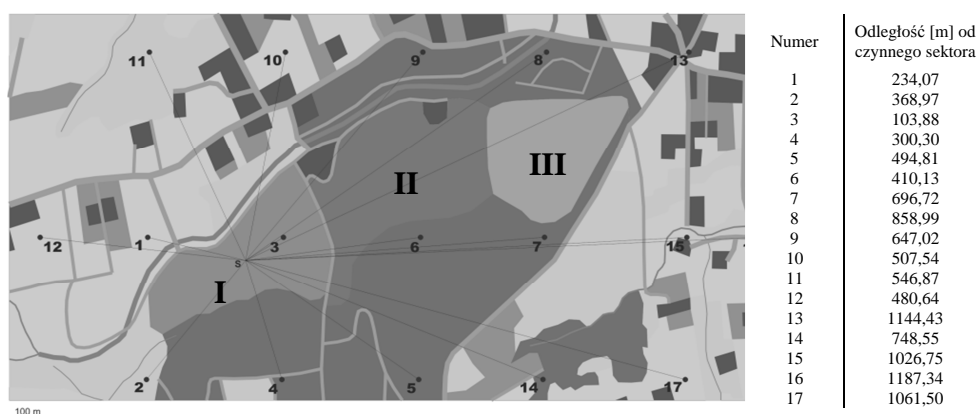
Materiał i metody

Badania dotyczące pracy przeprowadzono na składowisku odpadów komunalnych Barycz w Krakowie oraz w jego otoczeniu. Próbkę gleby do ilościowych badań mikrobiologicznych pobierano na 17 wytypowanych stanowiskach badawczych (3 na terenie składowiska, 14 poza jego obszarem) w cyklu sezonowym: wiosną, latem, jesienią, i zimą 2011/2012. Położenie wybranych stanowisk pomiarowych przedstawiono na rysunku 1.

¹ Katedra Mikrobiologii, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, al. A. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków, tel. 12 662 41 81

* Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole'15, Jarnołtówek, 14-16.10.2015

Analizy mikrobiologiczne przeprowadzono metodą seryjnych rozcieńczeń w laboratorium Katedry Mikrobiologii Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie [7]. Obejmowały określenie ogólnej liczby form vegetatywnych i przetrwalnych bakterii mezofilnych. Po okresie inkubacji w odpowiednich warunkach hodowli (1 dzień (37°C)) przeprowadzono badania ilościowe (na podłożu agar odżywczy MPA). Wszystkie próbki były inkubowane w warunkach tlenowych. Liczbę jtk (jednostek tworzących kolonie) drobnoustrojów oznaczano metodą hodowlaną, przeliczając wynik oznaczenia na jeden gram suchej masy gleby ($\text{jtk} \cdot \text{g}^{-1}$ s.m. gleby). Do przedstawienia rozkładu przestrzennego średnich liczebności bakterii z lat 2011/2012 w układzie: wiosna, lato, jesień, zima, występujących w glebie na terenie i w otoczeniu składowiska, wykorzystano program Surfer w wersji 10.



Objaśnienia: I - sektor użytkowany; II, III - sektory zrekultywowane

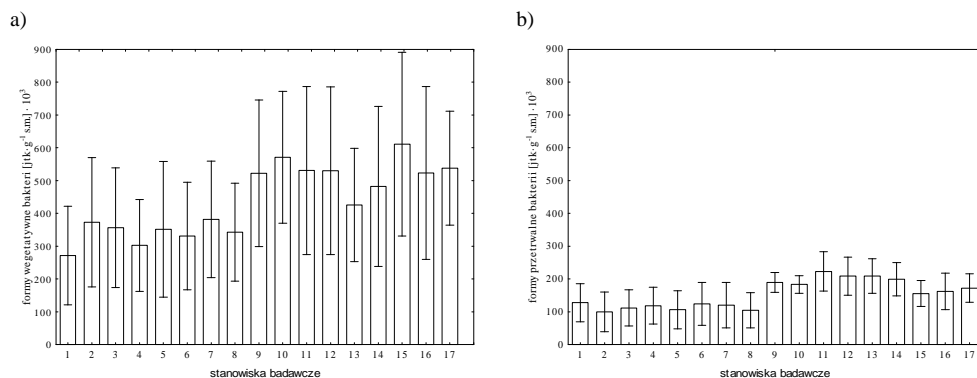
Rys. 1. Lokalizacja stanowisk badawczych na terenie składowiska odpadów komunalnych Barycz w Krakowie oraz w jego otoczeniu

Fig. 1. Location of sampling points at the municipal landfill Barycz in Krakow and its vicinity

Wyniki i dyskusja

Wyniki szczegółowej analizy (rys. 2) wykazały, że ogólna liczba bakterii w glebie na terenie i w otoczeniu składowiska odpadów komunalnych Barycz w Krakowie zmieniała się zarówno w zależności od terminów pobrania próbek gleby do analizy, jak i położenia poszczególnych stanowisk badawczych. Wykazano, że po przeliczeniu na 1 g suchej masy gleby na terenie i w okolicy badanego składowiska liczba bakterii form vegetatywnych zawierała się w przedziale od $3,3 \cdot 10^4$ do $1,1 \cdot 10^6$ jtk, natomiast form przetrwalnych od $7,0 \cdot 10^3$ do $3,2 \cdot 10^5$ jtk. Najwyższą ogólną liczbę form vegetatywnych bakterii odnotowano jesienią 2011 r. na stanowisku badawczym 11, zlokalizowanym w odległości ponad 500 m od miejsca deponowania odpadów, na wysokości użytkowanego sektora, poza terenem składowiska, w kierunku północno-zachodnim, natomiast form przetrwalnych latem 2011 r. na stanowisku 13, które znajdowało się w odległości ponad 1000 m od miejsca składowania odpadów, przed zrekultywowanymi sektorami, poza obrębem składowiska. Innych obserwacji dokonali Przybulewska i in. [2], którzy w przeprowadzonych tego typu

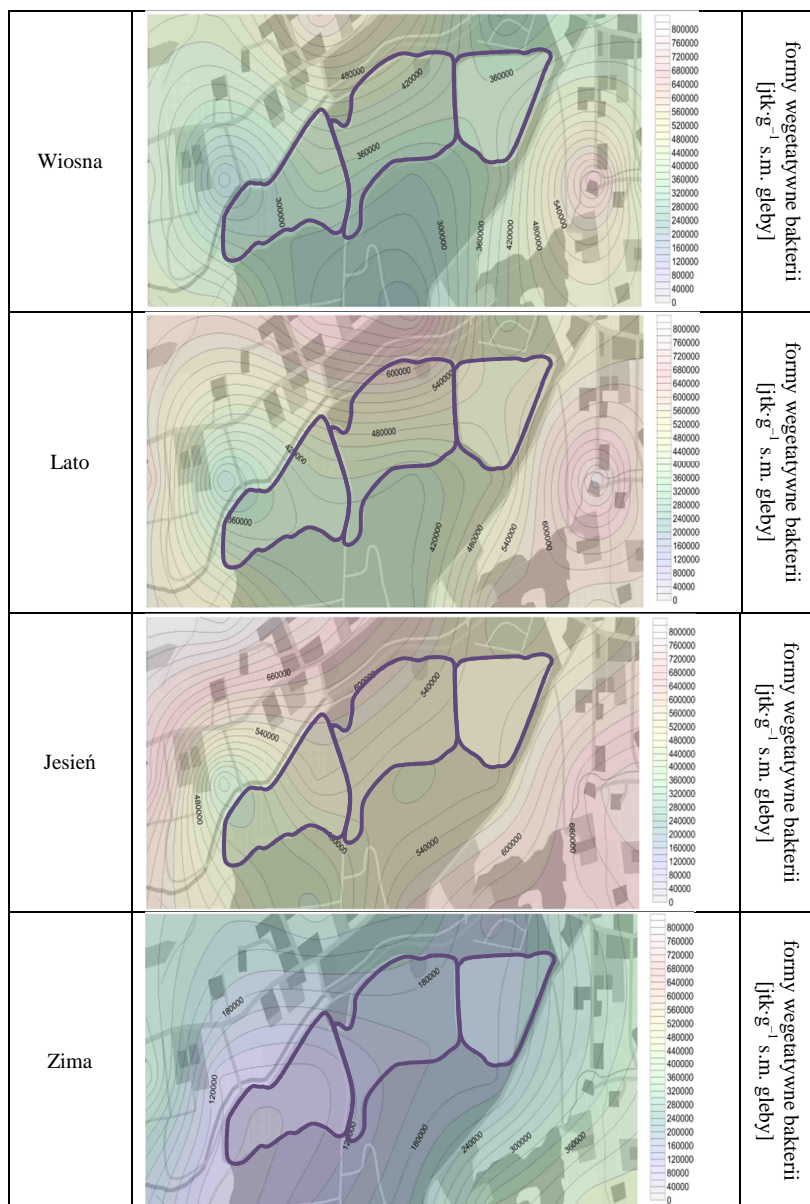
analizach wokół składowiska odpadów komunalnych w Łęczycy k. Stargardu Szczecińskiego wykazali, że liczebności bakterii w powierzchniowej warstwie gleby w otoczeniu składowiska były mniejsze (nawet o 80-90%) wraz ze wzrostem odległości od badanego obiektu. Wydaje się, że jest to zjawisko naturalne, które wynika z faktu, iż nawet najbardziej jednorodna gleba nie jest dla bakterii środowiskiem jednolitym. W glebie wraz z rozwojem tych mikroorganizmów zostają bowiem zużywane odpowiednie dla nich substancje odżywcze, a także gromadzą się produkty przemiany materii i zmienia się pH [8, 9]. Analiza danych wykazała, że średnia liczba form vegetatywnych bakterii pomiędzy badanymi stanowiskami wahała się w przedziale od $2,7 \cdot 10^5$ do $6,1 \cdot 10^5$ jtk \cdot g $^{-1}$ s.m. gleby; liczba form vegetatywnych różniła się znacząco pomiędzy poszczególnymi punktami ($p > 0,05$). Najwyższą średnią liczebność tych drobnoustrojów stwierdzono na stanowisku badawczym 15, położonym przed sektorami, które poddane zostało rekultywacji, poza obszarem składowiska, w kierunku wschodnim, a najniższą na stanowisku 1, zlokalizowanym przed użytkowanym aktualnie sektorem, poza obrębem składowiska, w kierunku zachodnim (rys. 2).



Rys. 2. Liczba form vegetatywnych (a) i przetrwalnych bakterii (b) w badanych glebach na wyznaczonych stanowiskach pomiarowych (wartości średnie; odchylenie standardowe)

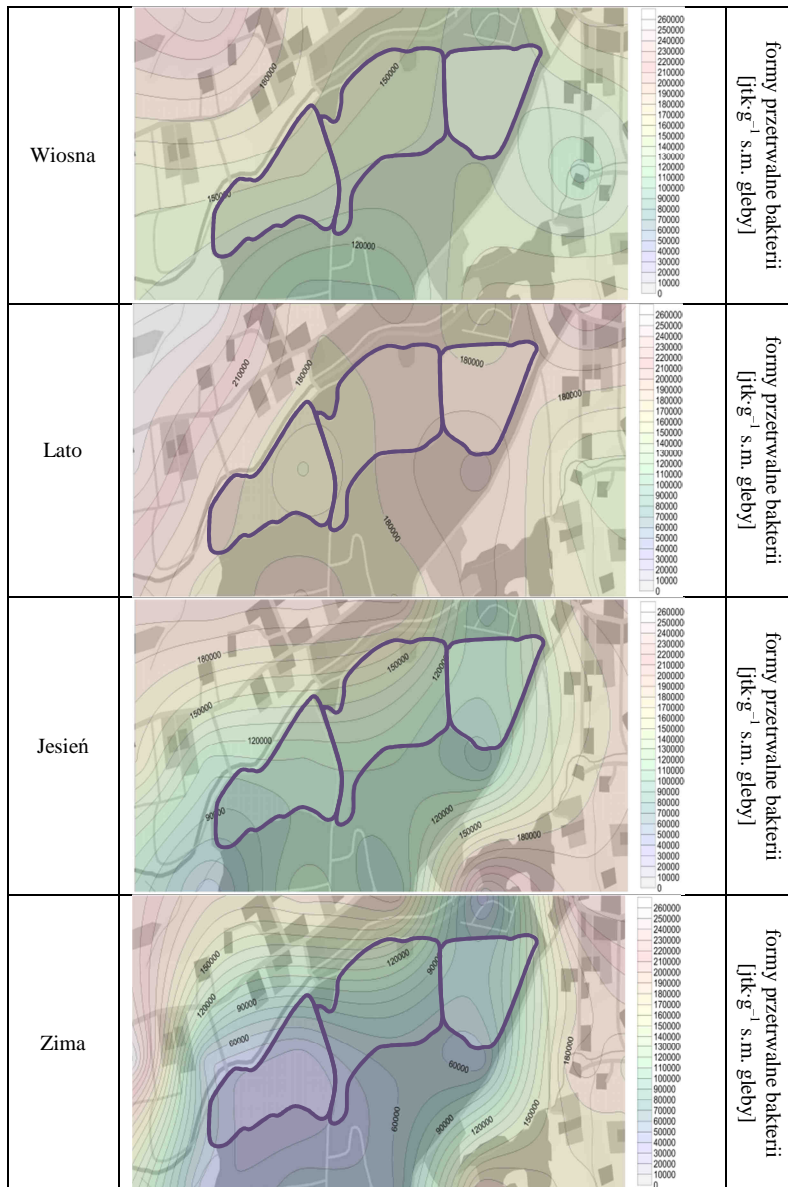
Fig. 2. The number of vegetative forms of bacteria (a) and endospores (b) in the soils depending on sampling point location (mean values; standard deviation)

Na podstawie wyników stwierdzono, że średnia liczba form vegetatywnych bakterii ulegała również zróżnicowaniu w zależności od pory roku. Wyniki przeprowadzonych porównań wykazały, że zarówno wiosną, jak i w okresie lata najwyższą średnią liczbę tych bakterii (odpowiednio $6,7 \cdot 10^5$ i $7,6 \cdot 10^5$ jtk \cdot g $^{-1}$ s.m. gleby) stwierdzono na stanowisku 15, a najniższą (odpowiednio $2,0 \cdot 10^5$ i $2,7 \cdot 10^5$ jtk \cdot g $^{-1}$ s.m. gleby) na stanowisku badawczym 1. W okresie jesieni najwyższą średnią liczbę poniższych bakterii ($8,3 \cdot 10^5$ jtk \cdot g $^{-1}$ s.m. gleby) odnotowano na stanowisku badawczym 11, a najniższą ($3,7 \cdot 10^5$ jtk \cdot g $^{-1}$ s.m. gleby) na stanowisku 1. Natomiast średnia liczba form vegetatywnych bakterii w zimie kształtowała się na poziomie od $7,4 \cdot 10^4$ jtk \cdot g $^{-1}$ s.m. gleby na stanowisku 2, zlokalizowanym poniżej użytkowanego sektora, w kierunku południowo-zachodnim, do $4,3 \cdot 10^5$ jtk \cdot g $^{-1}$ s.m. gleby na stanowisku 17, położonym ponad 1000 m od strefy czynnej, poza obrębem składowiska, w kierunku południowo-wschodnim.



Rys. 3. Rozkład przestrzenny liczebności form wegetatywnych bakterii występujących w glebie na terenie składowiska odpadów komunalnych Barycz w Krakowie oraz w jego otoczeniu w poszczególnych sezonach pomiarowych (wiosna, lato, jesień, zima); zakres 0-833 000; interwał 20 000 (uśredniona liczba $\text{fjk} \cdot \text{g}^{-1}$ s.m. gleby z lat 2011/2012)

Fig. 3. The spatial distribution of the number of vegetative forms of bacteria present in the soils at the municipal landfill Barycz in Krakow and its vicinity depending on measurement season (spring, summer, autumn, winter); range 0-833,000; interval 20,000 (mean number $\text{cfu} \cdot \text{g}^{-1}$ d.m. soils collected in 2011/2012)



Rys. 4. Rozkład przestrzenny liczebności form przetrwalnych bakterii występujących w glebie na terenie składowiska odpadów komunalnych Barycz w Krakowie oraz w jego otoczeniu w poszczególnych sezonach pomiarowych (wiosna, lato, jesień, zima); zakres 0-265 000; interwał 10 000 (uśredniona liczba jtk·g⁻¹ s.m. gleby z lat 2011/2012)

Fig. 4. The spatial distribution of the number of endospore forming bacteria present in the soils at the municipal landfill Barycz in Krakow and its vicinity depending on measurement season (spring, summer, autumn, winter); range 0-265,000; interval 10,000 (mean number cfu·g⁻¹ d.m. soils collected in 2011/2012)

Porównując średnią liczbę form przetrwalnych bakterii w glebach na badanych stanowiskach (rys. 2), zaobserwowano najwyższe różnice pomiędzy stanowiskiem 2 ($100 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$ s.m. gleby) zlokalizowanym poniżej obrębu czynnego sektora a stanowiskiem 11 ($223 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$ s.m. gleby) położonym już powyżej granicy składowiska.

Uzyskane wyniki wykazały, że średnia liczba form przetrwalnych bakterii wiosną wahała się od $1,0 \cdot 10^5$ do $2,3 \cdot 10^5 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$ s.m. gleby, w okresie lata od $1,4 \cdot 10^5$ do $2,5 \cdot 10^5 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$ s.m. gleby, jesienią od $5,2 \cdot 10^4$ do $2,4 \cdot 10^5 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$ s.m. gleby, natomiast zimą od $3,1 \cdot 10^4$ do $2,6 \cdot 10^5 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$ s.m. gleby.

Wykorzystując jako bazową warstwę mapę wektorową rejonu składowiska odpadów w Baryczy, wykonaną na bazie map analogowych, na rysunkach 3 i 4 przedstawiono rozkład przestrzenny występujących w glebie form wegetatywnych i przetrwalnych bakterii w układzie: wiosna, lato, jesień, zima (uśrednione dane z lat 2011/2012).

Przedstawione wyniki wykazują pewną zależność ich występowania w badanych glebach od warunków naturalnych w poszczególnych porach roku oraz miejsca pobrania próbek. Z uzyskanych danych wynika, że uśredniona liczba form wegetatywnych i przetrwalnych bakterii w badanych glebach jest wyraźnie wyższa w okresie jesienno-letnim niż zimowym i w miarę oddalania się od części aktualnie użytkowanej składowiska znacznie zwiększała się ich liczba. Należy podkreślić, że na liczbę występujących bakterii w glebie wpływ ma wiele czynników środowiskowych, a zwłaszcza ich rozwój zależy od jej właściwości fizycznych i chemicznych oraz zasobności w materię organiczną [8-10].

Podsumowanie i wnioski

Wyniki badań przeprowadzonych wykazały duże zróżnicowanie liczebności bakterii w glebach na obszarze i bezpośrednim otoczeniu składowiska odpadów komunalnych. Zaobserwowano, że zmienność sezonowa jest ważnym czynnikiem wpływającym na liczbę bakterii występujących w badanych glebach. Oznacza to, że, oceniając zmiany w mikroflorze gleby w otoczeniu składowiska odpadów komunalnych, należy opierać się na wynikach analiz gromadzonych w różnych porach roku. Badania potwierdziły również, że deponowane odpady i czynności wykonywane rutynowo w części aktualnie użytkowanej składowiska miały znaczący wpływ na obserwowaną liczbę badanych bakterii. Analiza bakteriologiczna wykazała, że w miarę oddalania się od czynnego sektora znacznie zwiększała się w środowisku glebowym ich liczba.

Podziękowania

Praca została sfinansowana ze środków Narodowego Centrum Nauki N N304 308540.

Literatura

- [1] Nowak A, Niedźwiecki E, Friedrich S, Michalcewicz W, Wronkowska H. Badania zmian zachodzących we właściwościach chemicznych i mikroflorze powierzchniowych warstw gleby pod wpływem oddziaływania wysypiska odpadów komunalnych w Sierakowie. W: Barabasz W, redaktor. Drobnoustroje w środowisku. Kraków: Wydawnictwo AR; 1997: 505-525.
- [2] Przybulewska K, Nowak A, Głabowska D. Zmiany w mikroflorze gleby wokół składowiska odpadów komunalnych w Łęczycy k. Stargardu Szczecińskiego. Woda Środ Obsz Wiejskie. 2010;2(30):159-166. <http://yadda.icm.edu.pl/yadda/element/bwmeta1.element.baztech-article-BATC-0004-0020>.

- [3] Frączek K, Grzyb J, Ropek D. Microbiological properties of soil in the area of the municipal waste dump for the Krakow agglomeration. *Ecol Chem Eng A*. 2014;21(3):291-301. DOI: 10.2428/ecea.2014.21(3)23.
- [4] Frączek K. Sezonowe zmiany wskaźników stanu sanitarnego gleby na terenie oraz w rejonie składowiska odpadów komunalnych aglomeracji krakowskiej. *Woda Środ Obsz Wiejskie*. 2010;2(30):49-60. <http://yadda.icm.edu.pl/baztech/element/bwmeta1.element.baztech-article-BATC-0004-0009>.
- [5] Schloter M, Dilly O, Muncha JC. Indicators for evaluating soil quality. *Agricul Ecosyst Environ*. 2003;98(1-3):255-262. DOI: 10.1016/S0167-8809(03)00085-9.
- [6] Hartmann M. Genetic characterization of soil bacterial communities in the DOK long-term agricultural field experiment: influences of management strategies and crops [PhD Thesis]. Zurich: Swiss Federal Institute of Technology Zurich; 2006. DOI: 10.3929/ethz-a-005335472.
- [7] Pepper IL, Gerba CG. *Environmental Microbiology. Lab Manual*. Amsterdam: Elsevier AP; 2004.
- [8] Natywa M, Selwet M, Maciejewski T. Wpływ wybranych czynników agrotechnicznych na liczebność i aktywność drobnoustrojów glebowych. *Fragm Agron*. 2014;31(2):56-63. [http://www.up.poznan.pl/pta/pdf/2014/FA%2031\(2\)%202014%20Natywa.pdf](http://www.up.poznan.pl/pta/pdf/2014/FA%2031(2)%202014%20Natywa.pdf)
- [9] Kieft TL. Size Matters: Dwarf cells in soil and subsurface terrestrial environments. In: Colwell RR, Grimes DJ, editors. *Nonculturable Microorganisms in the Environment*. Washington: ASM Press; 2000; 19-46. DOI: 10.1007/978-1-4757-0271-2_3.
- [10] Six J., Paustian K. Aggregate-associated soil organic matter as an ecosystem property and a measurement tool. *Soil Biol Biochem*. 2014;68:4-9. DOI:10.1016/j.soilbio.2013.06.014.

SPATIAL CHANGES IN THE NUMBER OF SOIL BACTERIA IN THE VICINITY OF MUNICIPAL LANDFILL

Department of Microbiology, University of Agriculture in Krakow

Abstract: Field studies related to the work were carried out in the area and the vicinity of municipal dump landfill Barycz in Krakow. Soil samples for bacteriological analysis were collected at every season of the year from 17 selected sampling points. Microbiological analyzes were carried out by serial dilutions method and included the determination of the total number of vegetative and endospore forms of bacteria. In this study has been demonstrated great differentiation of the bacteria number in the soils of the area and the close vicinity to the municipal landfill. It has been observed that the seasonal variability is an important factor in the number of bacteria present in the soils. The study also confirmed that the deposited waste and routinely performed actions in the part currently operated landfill had a significant impact on the observed number of the tested bacteria. Microbiological analysis showed that with the distance from active sector of dump the number of bacteria in soil significantly increased.

Keywords: bacteria, soil, municipal landfill