

Małgorzata ŚLIWKA<sup>1</sup> i Mateusz JAKUBIAK<sup>1</sup>

## ZASTOSOWANIE STYMULACJI LASEROWEJ HYDROFITÓW W CELU ZWIĘKSZENIA FITOREMEDIACJI PIERWIASTKÓW BIOGENNYCH

### APPLICATION OF LASER STIMULATION OF SOME HYDROPHYTES SPECIES FOR MORE EFFICIENT BIOGENIC ELEMENTS PHYTOREMEDIATION

**Abstrakt:** Fitoremediacja jest metodą oczyszczania m.in. wód powierzchniowych, gruntowych oraz gleb, w której wykorzystuje się zdolności różnych gatunków roślin do usuwania, stabilizowania i unieszkodliwiania zanieczyszczeń. Pewne gatunki hydrofitów, które posiadają wysoką zdolność do usuwania pierwiastków biogennych, są wykorzystywane w hydrobotanicznych oczyszczalniach ścieków. Celem przeprowadzonych doświadczeń była próba zwiększenia skuteczności hydrofitowej oczyszczalni ścieków poprzez stymulację rzęsy drobnej (*Lemna minor*) i kosaćca żółtego (*Iris pseudoacorus*) z użyciem diod laserowych ( $\lambda = 660$  nm,  $\lambda = 473$  nm) oraz lasera argonowego ( $\lambda = 514$  nm). Grupy roślin doświadczalnych poddano ekspozycji na działanie światła spójnego, stosując różne algorytmy naświetlania w zależności od rodzaju użytego źródła światła, długości fali, mocy oraz czasu i sposobu naświetlania. Uzyskane wyniki potwierdziły znaczny wpływ światła laserowego na przyspieszenie podziału komórek, co w rezultacie prowadziło do zwiększenia przyrostu biomasy oraz pośrednio do szybszego wychwytu pierwiastków biogennych, będących główną przyczyną eutrofizacji wód. Dodatkowo zaobserwowano wydłużenie wegetacji roślin w grupach o optymalnych parametrach naświetlania.

**Słowa kluczowe:** stymulacja laserowa, fitoremediacja, hydrofity, pierwiastki biogenne, eutrofizacja

Eutrofizacja to wzrost trofii spowodowany zwiększeniem zawartości związków biogennych w zbiornikach wodnych. Ważnym źródłem zanieczyszczenia wód związkami azotu i fosforu są ścieki bytowo-gospodarcze, dzikie wysypiska śmieci, niezabezpieczone szamba, nawozy rolnicze infiltrujące do wód gruntowych oraz tzw. „spływy powierzchniowe”. Dopływ znacznego ładunku biogenów powoduje zaburzenie równowagi w ekosystemie wodnym i często przekroczenie produkcji pierwotnej w zbiorniku. Pewnym rozwiązaniem, prowadzącym do poprawy jakości wód i ograniczenia powstawania zanieczyszczeń biogennych „u źródła”, są małe przydomowe oczyszczalnie ścieków, wykorzystujące zdolności bioremediacyjne roślin.

Technologie oczyszczania środowiska z fitoremediacją to technologie tanie, skuteczne, proste w obsłudze i przede wszystkim proekologiczne. Skuteczność oczyszczania często jednak uzależniona jest od długości okresu wegetacyjnego, wrażliwości roślin na zbyt duże stężenia zanieczyszczeń oraz wolnego przyrostu biomasy. Próby zwiększenia efektywności fitoremediacji głównie polegają na doświadczeniach z zakresu inżynierii genetycznej, zabiegach agrotechnicznych lub wykorzystaniu nietoksycznych związków chelatujących (Rozporządzenie KE nr 1670/2007 z dnia 19 lutego 2007 r.).

Proekologiczne zastosowanie biotechnologii laserowej do optymalizacji naturalnych procesów zachodzących w środowisku, m.in. do: usuwania zanieczyszczeń ze ścieków i gruntów oraz rekultywacji gleb zdegradowanych i zagospodarowania osadów

<sup>1</sup> Katedra Geoinformacji, Fotogrametrii i Teledetekcji Środowiska, Wydział Geodezji Górniczej i Inżynierii Środowiska, Akademia Górniczo-Hutnicza, ul. Kawiory 26A, 30-059 Kraków, tel. 12 617 47 39, email: sliwka@agh.edu.pl

ściekowych zaproponował w latach siedemdziesiątych dwudziestego wieku Dobrowolski [1-4].

Zastosowanie odpowiedniej fotostymulacji laserowej roślin może przyczynić się do zwiększenia ich odporności na niskie temperatury. Tego rodzaju biostymulacja może tym samym wydłużyć czas pracy oczyszczalni oraz zwiększyć przyrost biomasy w porównaniu z grupami roślin kontrolnych. Interesującym zagadnieniem jest również wpływ biostymulacji na zdolność roślin do przyswajania różnych pierwiastków. Na podstawie wieloletnich prac doświadczalnych stwierdzono, że dobrane odpowiednio parametry naświetlania mogą powodować, w zależności od użytych algorytmów, zahamowanie bądź wzrost kumulacji pierwiastków w tkankach roślin [5-7].

### **Materiał i metoda**

Jako materiał doświadczalny wybrano rzęsę drobną (*Lemna minor* L.), dodatkowo przeprowadzone zostały doświadczenia wstępne z wykorzystaniem kosaćca żółtego (*Iris pseudoacorus* L.). Są to gatunki roślin wykorzystywane w hydrofitowych przydomowych oraz komunalnych oczyszczalniach ścieków. Szczególną uwagę zwrócono przede wszystkim na rzęsę drobną, która charakteryzuje się bardzo wysoką zdolnością do usuwania biogenów.

Poszczególne grupy roślin doświadczalnych zostały poddane ekspozycji na światło lasera argonowego oraz diody laserowej, emitujących światło o długości fali odpowiadającej barwie czerwonej i niebieskiej.

Parametry źródeł światła spolaryzowanego użytych w doświadczeniach:

- dioda laserowa, emitująca światło o długości fali odpowiadającej barwie czerwonej ( $\lambda = 660$  nm) o mocy 20 mW,
- dioda laserowa, produkcji Changchun New Industries Optoelectronics Tech Co., emitująca światło o długości fali odpowiadającej barwie niebieskiej ( $\lambda = 473$  nm) o mocy 20 mW,
- laser argonowy Ar typu ILA-120 produkcji Carl Zeiss Jena, emitujący światło o długości fali odpowiadającej barwie seledynowej ( $\lambda = 514$  nm) o mocy 21 mW.

Parametry stymulacji laserowej zostały dobrane na drodze doświadczalnej, oddzielnie dla każdego z wybranych gatunków roślin. Zastosowano różne algorytmy naświetlania, różnicując: rodzaj diody laserowej, czas naświetlania oraz stosując sposób naświetlania: ciągły lub przerywany. Rośliny naświetlano z odległości 20 cm wiązką padającą na materiał prostopadle. Optymalne parametry biostymulacji laserowej testowanych roślin dobrano na drodze doświadczeń wstępnych przeprowadzonych w warunkach laboratoryjnych, a następnie prowadzono doświadczenia w warunkach polowych.

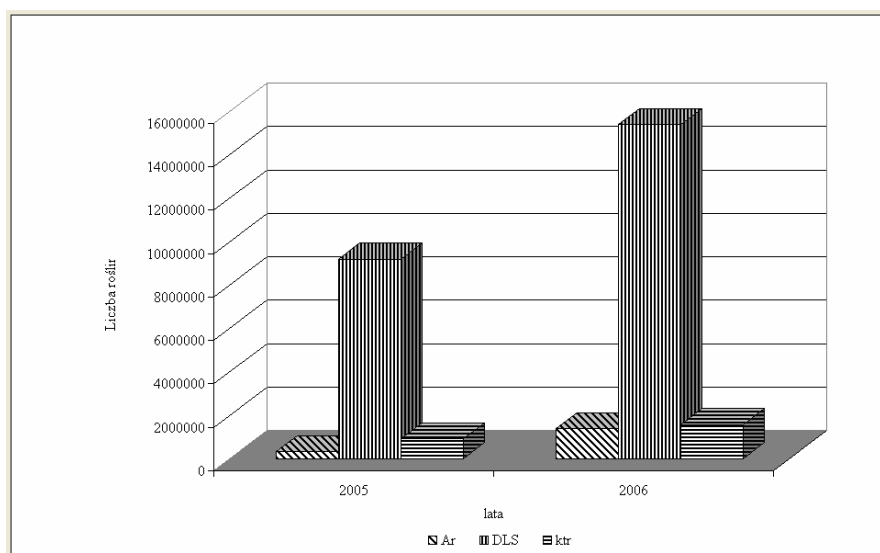
Przygotowano trzy stawy doświadczalne, w których umieszczono grupy doświadczalne o jednakowej wyjściowej liczbie roślin. Dwie grupy roślin zostały naświetlone według optymalnych algorytmów dobranych w warunkach laboratoryjnych, jedną grupę roślin pozostawiono nienaświetloną jako grupę kontrolną.

Pod koniec kolejnych okresów wegetacyjnych zważono świeżą masę roślin za pomocą wagi laboratoryjnej. Do pomiaru przyrostu biomasy rzęsy wykorzystano także zestaw składający się z mikroskopu Nikon Eclipse e6000 z modułem do wizualizacji i przetwarzania obrazów mikroskopowych, aparatu cyfrowego Nikon Coolpix 995 oraz programu do analizy obrazu Aphelion, wersja 3. Na koniec każdego z okresów

wegetacyjnych określono zawartość pierwiastków biogennych: azotu (N) i fosforu (P) w biomacie roślin metodą atomowej spektrometrii absorpcyjnej ASA.

### Wyniki i dyskusja

Na podstawie przeprowadzonych doświadczeń stwierdzono, że stymulacja laserowa (o odpowiednio dobranych parametrach) wybranych gatunków roślin, powoduje istotny statystycznie przyrost biomasy. Optymalne parametry stymulacji laserowej rzęsy drobnej uzyskano dla diody laserowej o długości fali  $\lambda = 660$  nm i mocy 20 mW i czasu naświetlania 3 razy 3 sekundy (rys. 1), otrzymując pod koniec pierwszego okresu wegetacyjnego ponad 300% większy przyrost biomasy w porównaniu z grupą kontrolną dla najbardziej optymalnego algorytmu naświetlania. Znaczne zwiększenie przyrostu biomasy miało miejsce również w kolejnych latach prowadzenia eksperymentu bez konieczności ponownego naświetlania materiału.



Rys. 1. Porównanie przyrostu biomasy rzęsy drobnej (*Lemna minor*) w grupach doświadczalnych, lata 2005-2006 (Ar - rośliny naświetlone laserem argonowym, DLS - rośliny naświetlone diodą laserową o długości fali  $\lambda = 660$  nm, ktr. - grupa kontrolna)

Fig. 1. Comparison of duckweed biomass increase in experimental groups, years 2005-2006 (ktr - control group, Ar - plants irradiated with an argon laser  $\lambda = 514$  nm, DLS - plants irradiated with a laser diode  $\lambda = 660$  nm)

Grupa roślin naświetlonych diodą laserową charakteryzowała się dużą odpornością na spadek temperatury oraz wykazywała wyższą przeżywalność w kolejnych latach prowadzenia doświadczenia. Większa odporność na niską temperaturę roślin naświetlanych diodą laserową została potwierdzona także oceną ilości ich biomasy po rozmarznięciu stawu. Stwierdzono znaczną różnicę w kondycji roślin z poszczególnych grup doświadczalnych hodowanych w takich samych warunkach. Największą powierzchnię liści

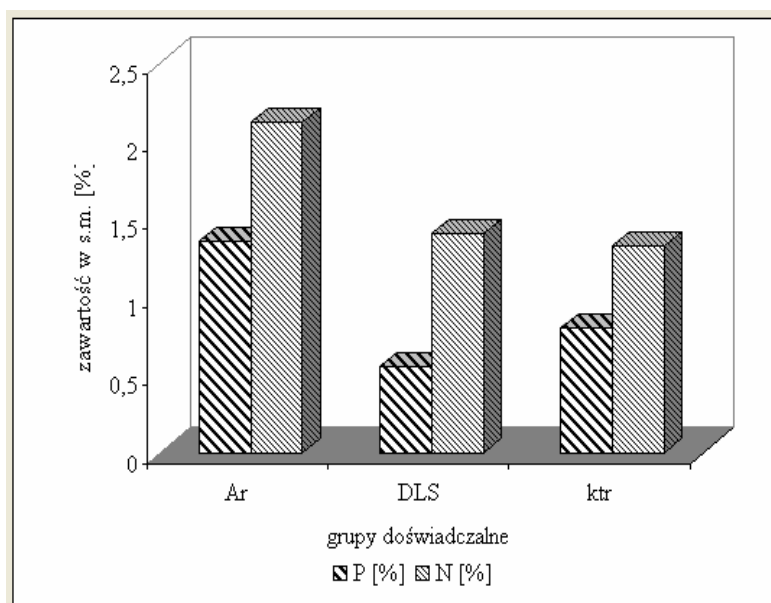
w przeliczeniu na jedną roślinę otrzymano dla grupy naświetlanej laserem argonowym, emitującym światło o długości fali  $\lambda = 514$  nm i czasie naświetlania 3 razy 3 sekundy.

Największy, istotnie statystycznie, przyrost biomasy kosaćca żółtego (*Iris pseudoacorus*) otrzymano dla grupy roślin naświetlanych laserem argonowym o czasie ekspozycji 3 razy 30 sekund.

Na podstawie przeprowadzonej analizy chemicznej materiału roślinnego stwierdzono dwukrotnie zwiększoną zawartość azotu i fosforu w biomase rzęsy po jej naświetleniu laserem argonowym w stosunku do grupy kontrolnej. Grupa naświetlana diodą laserową ( $\lambda = 660$  nm) również wykazała się większą zawartością tych pierwiastków w biomase w porównaniu z grupą roślin nienaświetlonych (rys. rys. 2 i 3).

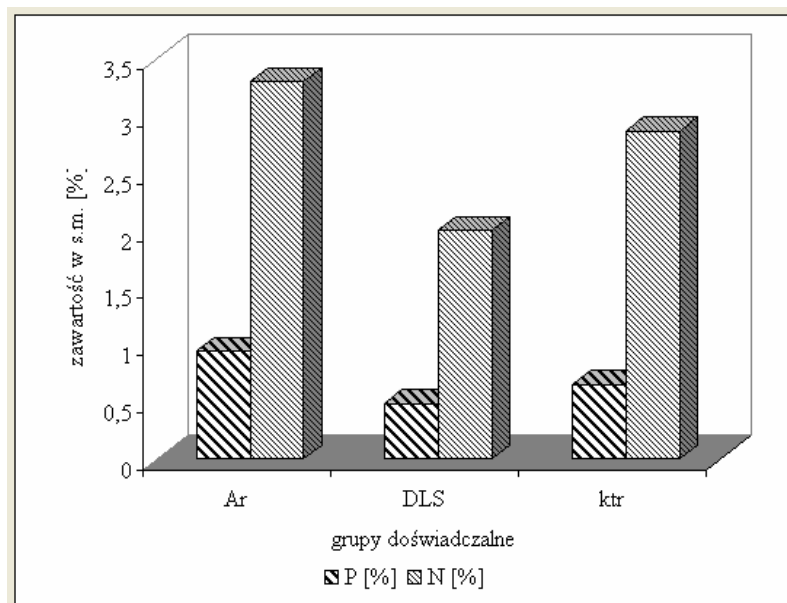
W przypadku kosaćca żółtego w biomase liści nie stwierdzono tego typu różnic w zawartości pierwiastków biogenych.

Różnice w zdolności do pobierania ze ścieków biogenów wynikać mogą ze swoistych cech obu gatunków wybranych hydrofitów. Rzęsa drobna (*Lemna minor*) charakteryzuje się szybkim wzrostem oraz podwyższoną zdolnością do akumulacji pierwiastków biogenych w porównaniu z innymi hydrofitami w przeliczeniu na jednostkę suchej masy [6]. Stwierdzono zależność między stopniem kumulacji pierwiastków biogenych w tkankach tej rośliny wraz ze wzrostem żyzności wody, co świadczy o dużych zdolnościach akumulacyjnych (luxury uptake) i adaptacyjnych rzęsy [8].



Rys. 2. Porównanie zawartości N, P w biomase rzęsy drobnej (*Lemna minor*) w poszczególnych grupach doświadczalnych w 2006 roku (ktr - grupa kontrolna, Ar - grupa naświetlona laserem argonowym  $\lambda = 514$  nm, DLS - grupa naświetlona diodą laserową  $\lambda = 660$  nm)

Fig. 2. Comparison of biogenic elements concentration in dry mass of duckweed (*Lemna minor*) in experimental groups in 2006 (ktr - control group, Ar - plants irradiated with an argon laser  $\lambda = 514$  nm, DLS - plants irradiated with a laser diode  $\lambda = 660$  nm)



Rys. 3. Porównanie zawartości N, P w biomacie rzęsy drobnej (*Lemna minor*) w poszczególnych grupach doświadczalnych w 2007 roku (ktr - grupa kontrolna, Ar - grupa naświetlona laserem argonowym  $\lambda = 514$  nm, DLS - grupa naświetlona diodą laserową  $\lambda = 660$  nm)

Fig. 3. Comparison of biogenic elements concentration in dry mass of duckweed (*Lemna minor*) in experimental groups in 2007 (ktr - control group, Ar - plants irradiated with an argon laser  $\lambda = 514$  nm, DLS - plants irradiated with a laser diode  $\lambda = 660$  nm)

W przypadku kosańca żółtego w biomacie liści nie stwierdzono tego typu różnic w zawartości pierwiastków biogennych u roślin z poszczególnych grup doświadczalnych.

### Podsumowanie

Właściwy dobór parametrów biostymulacji powinien prowadzić do zwiększenia pobierania biogenów z oczyszczanych ścieków, nie tylko w wyniku przyspieszenia przyrostu biomasy, ale także jako następstwo kumulacji tych pierwiastków w przeliczeniu na jednostkę suchej masy. Zdolność niektórych gatunków roślin do fitoremediacji zanieczyszczeń uzależniona jest od ich genotypu oraz pewnych właściwości fizykochemicznych środowiska. Metoda biostymulacji laserowej umożliwia optymalne wykorzystanie potencjalnych zdolności roślin (optymalnej ekspresji fenotypowej), szczególnie w środowisku skażonym ksenobiotykami, gdzie zaobserwowano największe różnice między grupami doświadczalnymi [4]. Stwierdzony wpływ stymulacji laserowej na stopień kumulacji niektórych ksenobiotyków w biomacie roślin dostarcza przesłanek naukowych do opracowania optymalnych algorytmów tej fotostymulacji [9-11]. Celem biostymulacji może być m.in. wzrost fitoakumulacji na przykład dla skutecznego oczyszczania ścieków przy zastosowaniu oczyszczalni roślinnych, korzeniowo-roślinnych oraz unieszkodliwiania odpadów i osadów ściekowych jako obecnie rozwijanych kierunków inżynierii środowiska.

Otrzymane wyniki badań potwierdzają przydatność zastosowania stymulacji laserowej roślin w celu przyspieszenia wzrostu oraz zwiększenia ich zdolności do fitoremediacji zanieczyszczeń.

Świadczy o tym między innymi:

- stwierdzony, istotny statystycznie, przyrost biomasy roślin doświadczalnych w porównaniu z grupami kontrolnymi,
- zaobserwowany wzrost odporności roślin na niekorzystne czynniki środowiskowe: spadek temperatury, zanieczyszczenia (objawy nekrozy i chlorozy),
- stwierdzony wzrost zawartości pierwiastków biogennych w biomasie rzęsy drobnej, dla grupy o optymalnych parametrach naświetlania, co może być wykorzystane w oczyszczalniach dla bardziej skutecznego zapobiegania procesowi eutrofizacji wód powierzchniowych,
- stwierdzony spadek kumulacji metali Pb, Zn, Ni, Cd w biomasie rzęsy drobnej (*Lemna minor*), co może obniżyć ryzyko wystąpienia efektu [12, 13],
- trwałość efektu biostymulacji bez konieczności ponownego ich naświetlania.

Dodatkowo, w wyniku doświadczeń wstępnych stwierdzono, że dioda laserowa emitująca światło o długości fali  $\lambda = 473$  nm powoduje podobny efekt biostymulacji jak laser argonowy  $\lambda = 514$  nm, co może mieć istotny wpływ na obniżenie kosztów wdrożenia technologii.

### Podziękowanie

Badania zostały sfinansowane ze środków na badania statutowe Wydziału Geodezji Górniczej i Inżynierii Środowiska Akademii Górniczo-Hutniczej w Krakowie, numer 1.11.150.949 na rok 2009 oraz środków KBN, numer grantu badawczego: 1T09D08230.

### Literatura

- [1] Dobrowolski J.W., Sławiński J., Laszczka A. i Różanowski B.: *Bioelektronika a nieswoiste skutki biologiczne laserów małej mocy*. Inż. Środow. Wyd. AGH, Kraków 1999, **4**, 103-113.
- [2] Dobrowolski J.W.: *Perspectives of application of laser biotechnology in management of the natural environment*. Polish J. Environ. Stud., (Suppl. I.), Wyd. Hard. Olsztyn 2001, **10**, 7-12.
- [3] Dobrowolski J.W.: *Biotechnologia proekologiczna kluczem do unowocześniania środowiska*. Inż. Środow. Wyd. AGH, Kraków 2001, **6**, 259-271
- [4] Dobrowolski J.W., Różanowski B. i Zielińska-Loek A.: *Zastosowanie biostymulacji laserowej w biotechnologii środowiskowej*. Biotechnologia Środowiskowa. Wrocław 1999, 313-320.
- [5] Dobrowolski J. W., Wąchalewski T., Smyk B., Barabasz W. i Różycki E.: *Experiments on the influence of laser light on some biological elements of natural environment*. Environ. Manage. Health, 1997, **8**(4), 136-141.
- [6] Landolt E. i Kandeler R.: *The family of Lemnaceae - a monographic study*. Biosystematic investigations In the family of duckweeds (*Lemnaceae*). Vol. 4. Zurich 1987.
- [7] Zielińska-Loek A.: *The perspectives of reduction of health hazard of consumers by use of laser photostimulation of plants for management of regions of main roads*. Polish J. Environ. Stud. (Suppl. I.), Wyd. Hard. Olsztyn 2001, **11**, 60-65.
- [8] Kufel L. i Brynda C.: *Wykorzystanie rzęsy wodnej (*Lemna Minor* L.) w oczyszczaniu ścieków bytowych*. Biotechnologia Środowiskowa. Politechnika Śląska, Gliwice 1995.
- [9] Dobrowolski J.W. Różanowski B. i Zielińska A.: *The influence of low power lasers light of some trace elements in plants*. Biol. Bull. of Poznań, 1996, **33**, 20.
- [10] Dobrowolski J.W. i Różanowski B.: *The influence of laser light on accumulation of selected macro-, trace- and ultra elements by some plants*. Menegen und Spurenelemente. Friedrich-Schiller-Universitat, Jena 1998, 147-156.

- [11] Śliwka M.: *Wykorzystanie biostymulacji laserowej roślin do zwiększenia przyrostu ich biomasy oraz zdolności bioremediacyjnych. Obieg pierwiastków w przyrodzie*. Instytut Ochrony Środowiska, Warszawa 2005, **3**, 637-640
- [12] Jakubiak M. i Śliwka M.: *The application of laser biostimulation for more efficient phytoremediation of soil and waste water*. Polish J. Environ. Stud. Wyd. Hard, Olsztyn 2006, **15**, 176-178.
- [13] Śliwka M.: *Wpływ stymulacji laserowej na zwiększenie przyrostu biomasy oraz zdolności bioremediacyjnych roślin wykorzystywanych w hydrofitowych oczyszczalniach ścieków*. Ochr. Środow. Zasob. Natur. Instytut Ochrony Środowiska. Warszawa 2007, **33**, 103-107.

### APPLICATION OF LASER STIMULATION OF SOME HYDROPHYTES SPECIES FOR MORE EFFICIENT BIOGENIC ELEMENTS PHYTOREMEDIATION

Faculty of Mining Surveying and Environmental Engineering, AGH University of Science and Technology

**Abstract:** Phytoremediation is a bioremediation process that uses various plants species to remove, stabilize, transfer or destroy pollutants in water and soil. Some species of hydrophytes have capability to remove biogenic elements from contaminated water and therefore are used for water treatment. The aim of experiment was an attempt to increase the efficiency of hydrobotanical sewage treatment plant by the stimulation of the duckweed (*Lemna minor*) and yellow iris (*Iris pseudoacorus*) with laser diodes ( $\lambda = 660$  nm,  $\lambda = 473$  nm) and the argon laser ( $\lambda = 514$  nm). The experimental samples were exposed to different parameters of laser stimulation: the type of diode, wavelength, time and power of radiation. The results of experiments showed that photostimulation by laser light significantly speeds up cell divisions and causes a significant growth of biomass driving to quicker and more efficient uptake of biogenic elements (N, P) contained in sewage, slowing down the process of eutrophication. The beneficial influence of photostimulation was extension of the vegetation season of plants.

**Keywords:** laser stimulation, phytoremediation, hydrophytes, biogenic elements, eutrofication