

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

## ZMIANY ZAWARTOŚCI PIERWIASTKÓW ŚLADOWYCH W WIERZBACH (*Salix viminalis*) POD WPŁYWEM STYMULACJI ZRZEZÓW ŚWIATŁEM SPÓJNYM

### CHANGES IN THE CONTENTS OF TRACE ELEMENTS IN WILLOWS (*Salix viminalis*) AS RESULT OF STIMULATION OF CUTTINGS WITH COHERENT LIGHT

**Abstrakt:** Szybko rosnące wierzby krzewiaste, jako rośliny pionierskie, stosuje się do zagospodarowania terenów zdegradowanych. Fitoremediacyjne właściwości wierzby są również od wielu lat wykorzystywane w roślinnych oczyszczalniach ścieków. Nowym zastosowaniem wierzby wiciowej jest jej wykorzystanie jako surowca energetycznego. Biomasa można spalać w formie zrębków, brykietów i pelet. Przyspieszenie przyrostu biomasy, zwiększenie odporności na czynniki stresowe oraz możliwość regulacji pobierania pierwiastków śladowych mogłyby podnieść przydatność wierzby w inżynierii środowiska. Prowadzone badania wykazały wiele możliwości zastosowania biotechnologii laserowej w inżynierii środowiska. Interdyscyplinarne doświadczenia potwierdziły, że efektem stosowania naświetlania nasion i sadzonek roślin światłem laserów małej mocy może być przyspieszenie ich wzrostu, zwiększenie odporności na zanieczyszczenia czy zmiana stopnia kumulacji w tkankach niektórych metali, jak np. ołów i kadm. Właściwości te mają znaczenie przy biologicznej rekultywacji skażonych gruntów. Przedstawiony eksperyment miał na celu sprawdzenie różnic w kumulacji pierwiastków śladowych w liściach wierzby wiciowej, których zrzesy przed posadzeniem zostały poddane działaniu monochromatycznego, spójnego światła emitowanego przez lasery małej mocy. Stymulacja światłem miała charakter przerywany, a algorytmy fotostymulacji zostały dobrane na podstawie wcześniejszych doświadczeń. Otrzymane wyniki potwierdziły, że przy zastosowaniu stymulacji laserowej o właściwie dobranych parametrach, można zmienić stężenie pierwiastków śladowych w biomase liści.

**Słowa kluczowe:** fotostymulacja, *Salix viminalis*, pierwiastki śladowe

Szybko rosnące wierzby krzewiaste znalazły wiele zastosowań nie tylko jako materiał plecionkarski, ale również w przemyśle chemicznym czy meblarskim. Popularnym w ostatnich latach zastosowaniem wierzby wiciowej stało się wykorzystanie jej biomasy jako surowca energetycznego, który można spalać w formie zrębek, brykietów i pelet. Wierzby, jako rośliny pionierskie, wykorzystywane także są do zagospodarowania i rewitalizacji terenów zdegradowanych chemicznie i biologicznie, do obsadzania stref ochronnych wokół fabryk i ochrony brzegów zbiorników wodnych. Ze względu na swoje właściwości fitoremediacyjne i duże wykorzystanie składników pokarmowych od wielu lat stosuje się je również w roślinnych oczyszczalniach ścieków i do utylizacji osadów ściekowych [1, 2]. Wszystkie odmiany wierzby, szczególnie z rodzaju *Salix viminalis* var. *gigantea*, charakteryzują się dużymi przyrostami biomasy, a także mają mocno rozbudowany system korzeniowy, który może penetrować glebę nawet do 8÷10 m [3]. W związku z szerokim zainteresowaniem różnego rodzaju użytkowaniem wierzby prowadzone są prace hodowlane w celu uzyskania klonów o najkorzystniejszych cechach.

Polepszenie właściwości wierzby energetycznych poprzez przyspieszenie przyrostu biomasy, zwiększenie odporności na czynniki stresowe oraz możliwość regulacji

<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: jakubiak@agh.edu.pl, sliwka@agh.edu.pl

pobierania pierwiastków śladowych mogłyby podnieść ich przydatność w ochronie środowiska. Zmiany te mogą być możliwe przy zastosowaniu stymulacji zrzezów wierzb przed wysadzeniem przy użyciu monochromatycznego, spójnego światła laserów małych mocy o odpowiednio dobranych parametrach naświetlania. Dotychczas prowadzone interdyscyplinarne badania wykazały wiele możliwości zastosowania biotechnologii laserowej w inżynierii środowiska. Wieloletnie doświadczenia potwierdziły, że efektem stosowania naświetlania nasion i sadzonek roślin światłem laserów może być przyspieszenie ich kiełkowania, wzrostu i ukorzenia, zwiększenie odporności na niedobory wody, niskie temperatury oraz zanieczyszczenia, a także zmiana stopnia kumulacji w tkankach roślin niektórych metali, jak np. ołów i kadm, oraz zwiększenie pobierania biogenów [4-10]. Właściwości te mają ważne znaczenie przy biologicznej rekultywacji skażonych przemysłowo gruntów.

Celem pracy było określenie wpływu stymulacji światłem spójnym laserów małej mocy na akumulację Pb, Cu, Cd i Ni w liściach *Salix viminalis* Sprint, której zrzezy poddano naświetlaniu przed posadzeniem.

### **Materiał i metoda**

Przedstawiona część badań nad wpływem stymulacji światłem laserów małych mocy na różne gatunki wierzb jest kontynuacją wstępnych badań laboratoryjnych prowadzonych jako uprawa hydroponiczna zrzezów wierzb [11]. Doświadczenia przeprowadzono na wierzbie energetycznej, gdyż odmiany przemysłowo-energetyczne pobierają więcej mikroelementów w porównaniu z wikliną plecionkarską, przez co bardziej nadaje się do wykorzystania w celu oczyszczania gleb [12]. W doświadczeniu jako materiału biologicznego użyto odmian wierzby wiciowej *Salix viminalis* Sprint. Jest to odmiana wyhodowana przez pracowników Wydziału Kształtowania Środowiska i Rolnictwa z Katedry Hodowli Roślin i Nasiennictwa Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie i zgłoszona w 2003 roku do „Księgi ochrony wyłącznego prawa do odmiany” w Centralnym Ośrodku Badania Odmian Roślin Uprawnych. *Salix viminalis* Sprint ma proste, liczne pędy i lancetowate liście. Jest odmianą uniwersalną, szczególnie zalecaną dla gleb mineralnych. Wierzby te dają wysoki plon suchej masy drewna, są wolne od chorób i dobrze tolerują szkodniki. Odmiana ta nadaje się do uprawy w dużym zagęszczeniu roślin przy krótkich rotacjach zbioru [13].

Parametry światła (źródło światła, moc, długość fali, czas i sposób naświetlania), którego działaniu zostały poddane zrzezy przed posadzeniem na poletku doświadczalnym, dobrano, korzystając z wyników doświadczeń wstępnych.

Wykorzystane w doświadczeniu lasery emitują bardzo skupioną, równoległą do osi rezonatora wiązkę o bardzo dużej intensywności. Ponadto lasery emitują światło o ściśle określonej długości fali odpowiadającej barwie światła (światło monochromatyczne). Zastosowane w doświadczeniu promieniowanie laserowe jest promieniowaniem optycznym, to jest falą elektromagnetyczną niosącą ze sobą energię. Efekt wywołany fotostymulacją materiału biologicznego związany jest głównie z absorpcją kwantów energii promieniowania przez określone fotoreceptory, którymi mogą być organelle komórkowe czy też związki aktywne biologicznie [14].

Do naświetlenia zrzezów użyto dwóch źródeł światła laserowego: medycznego aplikatora laserowego „Laser D68-1” produkcji Marp Electronic o mocy 20 mW,

emitującego światło pulsacyjne o długości fali  $\lambda = 670$  nm odpowiadającej barwie czerwonej oraz diody laserowej produkcji Changchun New Industries Optoelectronics Tech Co. o mocy 20 mW, emitującej stałe światło o długości fali  $\lambda = 473$  nm odpowiadającej barwie niebieskiej.

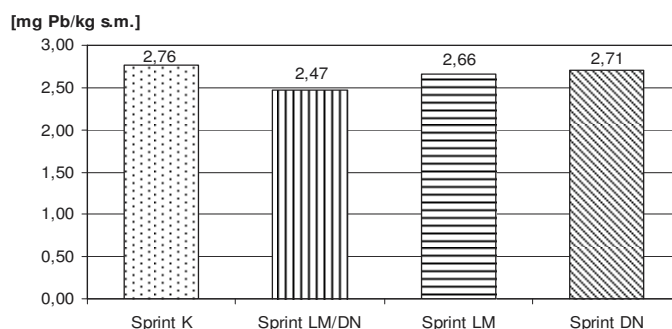
W doświadczeniu użyto 80 zrzesów odmiany *Salix viminalis* Sprint. Zrzesy podzielono na 4 grupy jednakowej liczebności:

- 1) Grupa „Sprint K” - zrzesy niepoddane stymulacji (grupa kontrolna).
- 2) Grupa „Sprint LM/DN” - zrzesy poddane przed posadzeniem stymulacji światłem medycznego aplikatora laserowego (naświetlane 3 razy po 15 sekund) i światłem diody laserowej (naświetlane 3 razy po 15 sekund).
- 3) Grupa „Sprint LM” - zrzesy poddane przed posadzeniem stymulacji światłem medycznego aplikatora laserowego (naświetlane 3 razy po 30 sekund).
- 4) Grupa „Sprint DN” - zrzesy poddane przed posadzeniem stymulacji światłem diody laserowej (naświetlane 3 razy po 30 sekund).

Sztobry wierzb naświetlano z odległości 20 cm w taki sposób, aby wiązka padała na materiał prostopadle. Następnie wysadzono je na terenie doświadczalnym, który stanowiło poletko z glebą o podwyższonym zasoleniu (głina pylasta). Podczas uprawy prowadzono comiesięczne pomiary wzrostu oraz obserwacje rozwoju i kondycji sadzonek. Przed zakończeniem okresu wegetacyjnego zebrano biomasę liści z poszczególnych grup. Liście zostały wysuszone, rozdrobnione w młynku laboratoryjnym i poddane analizie chemicznej. Zawartość ołowiu, miedzi, kadmu i niklu w materiale roślinnym oznaczono po suchej mineralizacji i rozтворzeniu popiołu w  $\text{HNO}_3$  (1:3). Stężenie pierwiastków w uzyskanych ekstraktach oznaczono metodą atomowej spektrometrii emisyjnej z wykorzystaniem palnika indukcyjnie wzbudzonej plazmy (ISP-AES) w aparacie JY 238 ULTRACE Jobin Von Emission.

### Wyniki i ich omówienie

Na podstawie wyników z analizy chemicznej dokonano porównania akumulacji Pb, Cu, Cd i Ni w liściach *Salix viminalis* Sprint pomiędzy grupą nienaświetlanych, kontrolnych wierzb, a grupami doświadczalnymi.

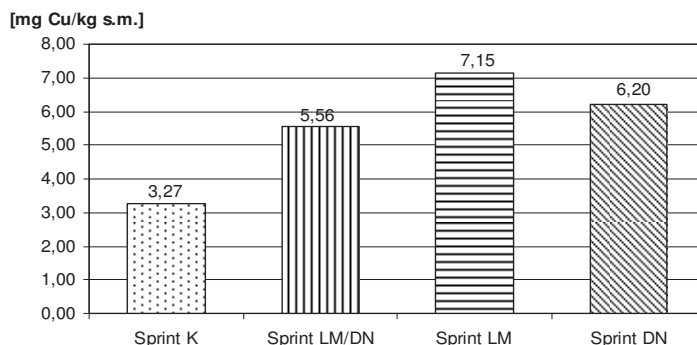


Rys. 1. Porównanie zawartości Pb [mg/kg s.m.] w biomase liści w poszczególnych grupach na koniec pierwszego okresu wegetacyjnego

Fig. 1. Comparison of Pb [mg/kg d.m.] contamination in biomass of leaves in groups after the first growth season

Ołów pobierany jest przez korzenie roślin w sposób bierny, a intensywność jego pobierania zależy zarówno od właściwości roślin, jak też od warunków glebowych. Wraz ze wzrostem zawartości ołowiu w roztworze glebowym rośnie jego stężenie w tkankach roślinnych. Porównując zawartość ołowiu w biomase liści z grupy kontrolnej z grupami doświadczalnymi, nie stwierdzono istotnych różnic (rys. 1). We wszystkich grupach zawartość Pb była zbliżona i mieściła się poniżej przedziału fizjologicznej zawartości ołowiu w liściach roślin o umiarkowanej wrażliwości i tolerancji na nadmiar ( $5\div 10$  mg/kg s.m.) [15].

Zawartość miedzi w roślinach może być bardzo zróżnicowana, gdyż zależy od części rośliny, stadium rozwojowego, odmiany, gatunku oraz stężenia w glebie. Średnia zawartość Cu w nadziemnych częściach roślin waha się od 5 do 20 mg/kg [15]. Zawartość miedzi w biomase liści z grup doświadczalnych mieści się w dolnej granicy przedziału fizjologicznej zawartości Cu. Natomiast zawartość w liściach z grupy kontrolnej jest nieco poniżej tego przedziału. Wszystkie grupy doświadczalne miały około dwukrotnie większą zawartość miedzi w liściach, przy czym największe stężenie 7,15 mg Cu/kg s.m. odnotowano w grupie naświetlanej medycznym aplikatorem laserowym - grupa „Sprint LM” (rys. 2). Podobne wyniki kumulacji miedzi uzyskano we wcześniejszych doświadczeniach prowadzonych na innych odmianach wierzby energetycznych przy zastosowaniu stymulacji światłem lasera argonowego [7, 16].



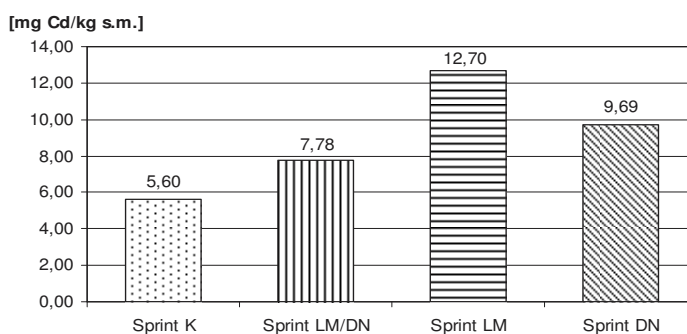
Rys. 2. Porównanie zawartości Cu [mg/kg s.m.] w biomase liści w poszczególnych grupach na koniec pierwszego okresu wegetacyjnego

Fig. 2. Comparison of Cu [mg/kg d.m.] contamination in biomass of leaves in groups after the first growth season

Zawartość kadmu w częściach naziemnych roślin może być bardzo zróżnicowana, jednak stężenia są określane jako fitotoksyczne dla roślin wrażliwych na poziomie  $5\div 10$  mg/kg oraz dla odpornych na poziomie  $10\div 30$  mg/kg [15]. Podobnie jak w przypadku miedzi również zawartość kadmu w liściach wierzby z grup doświadczalnych była większa niż w nienaświetlanej grupie kontrolnej (rys. 3). Najwyższą zawartość, wynoszącą 12,7 mg Cd/kg s.m. (o 127% większą niż w kontroli), odnotowano w biomase liści z grupy naświetlanej medycznym aplikatorem laserowym - grupa „Sprint LM”.

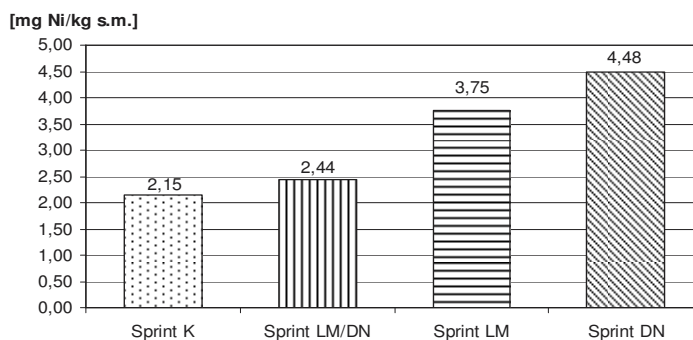
Nikiel jest nie tylko łatwo przyswajany przez rośliny, ale szybko przemieszcza się w roślinach do nadziemnych części. Zawartość niklu w biomase liści z wszystkich grup

była poniżej stężenia toksycznego [15]. Wszystkie grupy doświadczalne miały większe stężenie Ni niż grupa kontrolna, przy czym w grupie „Sprint LM” było ono większe o 74%, a w grupie „Sprint DN” o 108% (rys. 4).



Rys. 3. Porównanie zawartości Cd [mg/kg s.m.] w biomase liści w poszczególnych grupach na koniec pierwszego okresu wegetacyjnego

Fig. 3. Comparison of Cd [mg/kg d.m.] contamination in biomass of leaves in groups after the first growth season



Rys. 4. Porównanie zawartości Ni [mg/kg s.m.] w biomase liści w poszczególnych grupach na koniec pierwszego okresu wegetacyjnego

Fig. 4. Comparison of Ni [mg/kg d.m.] contamination in biomass of leaves in groups after the first growth season

### Podsumowanie

Na podstawie otrzymanych wyników badań stwierdzono widoczne różnice w akumulacji Cu, Cd i Ni w liściach *Salix viminalis* Sprint pomiędzy poszczególnymi badanymi grupami. Różnic takich nie zaobserwowano w przypadku ołowiu. Spośród grup doświadczalnych najmniejszy wzrost akumulacji analizowanych pierwiastków odnotowano w liściach grupy naświetlanej zarówno medycznym aplikatorem laserowym, jak i diodą laserową w trzech sekwencjach po 15 sekund każdym źródłem światła. W grupie stymulowanej światłem emitowanym przez medyczny aplikator laserowy w trzech sekwencjach po 30 sekund odnotowano wzrost zawartości miedzi o 119%, kadmu o 127% i niklu o 74% w porównaniu z grupą nienaświetlaną. Natomiast w grupie eksponowanej

przed posadzeniem na działanie światła diody laserowej, emitującej światło stałe o długości fali odpowiadającej barwie niebieskiej, w trzech sekwencjach po 30 sekund zawartość miedzi wzrosła o 90%, kadmu o 73% i niklu o 108% w porównaniu z kontrolą. Ważne jest to, że wraz ze wzrostem poziomu zawartości Cu, Cd i Ni w biomase liści nie zaobserwowano negatywnego oddziaływania tych pierwiastków na rośliny w postaci nekrozy czy chlorozy.

Ekspozycja zrzesów wierzb na spójne światło o parametrach odpowiednio dobranych do odmiany i klonu może spowodować znaczny wzrost akumulacji tych pierwiastków w biomase. Zwiększona bioakumulacja różnych pierwiastków, w tym także toksycznych metali, ma duże znaczenie w inżynierii środowiska, gdyż zwiększa przydatność wierzb do biologicznego zagospodarowania terenów zdegradowanych, oczyszczania ścieków czy unieszkodliwiania osadów ściekowych [6, 8, 10, 17].

### Podziękowania

Badania wykonane w ramach grantu badawczego KBN 18.18.150.892 (N305 035 32/1398).

### Literatura

- [1] Czyż H. i Dawidowski B.: *Charakterystyka i wykorzystanie biomasy z upraw polowych, jako źródła energii odnawialnej*. Ener. Odnaw., 2005, (1), 3-10.
- [2] Szczukowski S., Tworkowski J., Wiwart M. i Przyborowski J.: *Wiklina (Salix sp.). Uprawa i możliwości wykorzystania*. ART, Olsztyn 1998.
- [3] Dubass J. W.: *Przegląd możliwości wykorzystania biomasy wierzbowej oraz najbliższa przyszłość jej zastosowania*. Ener. Odnaw., 2006, 2-3, 31-36.
- [4] Dobrowolski J.W.: *Perspectives of the application of innovative environmental biotechnology for sustainable development of co-operating regions*. Geomatics and Environmental Engineering, 2007, 1, 77-88.
- [5] Dobrowolski J.W.: *Biotechnologia proekologiczna kluczem do unowocześniania środowiska*. Inż. Środow., 2001, 6, 259-272.
- [6] Dobrowolski J.W., Gowin K., Jakubiak M., Lewicki P., Mazur R., Ślęzak A., Śliwka M. i Zielińska-Loek A.: *Ekotoksykologiczne przesłanki dla profilaktyki środowiskowej zagrożeń dla zdrowia i ochrony bioróżnorodności w relacji do biotechnologii środowiskowej*. Wyd. Inżynierii Środowiska, Politechnika Wroclawska, Wrocław 2008.
- [7] Dobrowolski J.W. i Zielińska A.: *The laser photostimulation of willow cuttings planted alongside main roads and change of concentration of elements in the willow's organs*. [In:] M. Anke et al (eds): *Mangen- und Superelemente*, Jena 2002, 334-340.
- [8] Dobrowolski J.W., Rózanowski B. i Zielińska-Loek A.: *Zastosowanie biostymulacji laserowej w biotechnologii środowiskowej*. Biotechnol. Środow., 1999, 6, 313-320.
- [9] Dobrowolski J.W., Sławiński J., Laszczka A. i Rózanowski B.: *Bioelektronika a nieswoiste skutki biologiczne laserów małej mocy*. Inż. Środow., 1999, 4, 103-113.
- [10] Śliwka M.: *Wykorzystanie biostymulacji laserowej roślin do zwiększenia przyrostu ich biomasy oraz zdolności bioremediacyjnych*. Obieg pierwiastków w przyrodzie. IOŚ, Warszawa 2005.
- [11] Jakubiak M.: *Wykorzystanie biostymulacji laserowej w celu zwiększenia możliwości zastosowania wierzby energetycznej (Salix sp.) do rekultywacji gleb zasolonych*. Obieg pierwiastków w przyrodzie - Monografia tom III. IOŚ, Warszawa 2005.
- [12] Kaniuczak J., Błażej J. i Gąsior J.: *Zawartość pierwiastków śladowych w różnych klonach wikliny*. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln., 2000, 472, 379-385.
- [13] Szczukowski S., Tworkowski J. i Stolarski M.: *Wierzba energetyczna*. Wyd. Plantpress Sp z o.o., Kraków 2004
- [14] Karu T.J.: *Effects of visible radiation on cultured cells*. Photochem. Photobiol., 1990, 52, 1089-1098.
- [15] Kabata-Pendias A. i Pendias H.: *Biogeochemia pierwiastków śladowych*. WN PWN, Warszawa 1999.

- [16] 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., 2001, **11**, 60-65.
- [17] Jakubiak M. i Śliwka M.: *The application of laser biostimulation for more efficient phytoremediation of soil and waste water*. Polish J. Environ. Stud., 2006, **15**, 176-178.

### CHANGES IN THE CONTENTS OF TRACE ELEMENTS IN WILLOWS (*Salix viminalis*) AS RESULT OF STIMULATION OF CUTTINGS WITH COHERENT LIGHT

Department of Geoinformation Photogrammetry and Remote Sensing of Environment, Faculty of Mining  
Surveying and Environmental Engineering, AGH University of Science and Technology

**Abstract:** The fast growing willows are pioneer plants and are often used in land reclamation process. Phytoremediation capabilities of willows have been utilized for many years in the sewage treatment and water purification in hydrobotanical wastewater treatment plants. However, the use of willow as an energy source is a new application. Dry biomass may be burned in the form of chips, briquettes and pellets. The acceleration of the biomass growth, increased resistance to stress factors and the ability to regulate the absorption of trace elements could improve the usefulness of willow in environmental engineering. Laser light applications for biotechnology have been reported in a number of previous research studies in environmental engineering. Interdisciplinary research studies on the application of low intensity laser stimulation of plants seeds and seedlings proved, that effects of photostimulation may increase biomass production and plants resistance to environmental pollutions and unfavorable environmental factors as well as change of trace elements concentration in their tissues eg Pb, Cd. These properties are important for biological reclamation of contaminated industrial lands. The purpose of presented experiment was to validate the possibility of applying photostimulation for changing the accumulation of trace elements in biomass of willow leaves. Willow cuttings, before being planted, were subjected to monochromatic, coherent light emitted by low power lasers. The light stimulation was intermittent, photostimulation algorithms have been selected on the basis of previous experience. The results confirmed that the application of laser stimulation, with the well-chosen parameters, can change the concentration of trace elements in the leaf biomass.

**Keywords:** photostimulation, *Salix viminalis*, trace elements