

ZAŁĄCZNIK 2

AUTOREFERAT

**DOTYCZĄCY DZIAŁALNOŚCI NAUKOWO-BADAWCZEJ
W JĘZYKU POLSKIM**

**Wykorzystanie parametrów aktywności mikroorganizmów glebowych
w ocenie stanu gleby rekultywowanej odpadami**

dr Jolanta Joniec

*Katedra Mikrobiologii Środowiskowej
Wydział Agrobiotechnologii
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie*

Spis treści

1. Dane personalne.....	3
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej	3
3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych	3
4. Wskazanie osiągnięcia* wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016r. poz. 1311).....	4
a) Tytuł osiągnięcia naukowego - cykl publikacji powiązanych tematycznie	4
b) Wykaz publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego	4
5. Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania	5
Wprowadzenie	5
Cel badań	10
Opis modelu doświadczalnego oraz metod użytych w badaniach.....	11
Omówienie wyników	115
6. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych.....	27
7. Syntetyczne zestawienie dorobku naukowego	42

1. Dane personalne

Imię i nazwisko: Jolanta Zofia Joniec

Miejsce pracy: Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Agrobiotechnologii, Katedra Mikrobiologii Środowiskowej

Dane kontaktowe: tel.: 81 524 81 11

e-mail: jolanta.joniec@up.lublin.pl

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej

26.01.2005 r. - stopień **doktora nauk rolniczych w zakresie agronomii**, specjalność: **mikrobiologia rolnicza**, Wydział Rolniczy, Akademia Rolnicza w Lublinie

Tytuł rozprawy doktorskiej: „*Badania nad rozwojem mikroorganizmów i ich aktywnością w glebie pod uprawą wikliny użyźnionej osadem ściekowym.*”

Promotor: prof. dr hab. Jadwiga Furczak

Recenzenci: prof. dr hab. Teresa Kornilowicz-Kowalska,
prof. dr hab. Aleksandra Sawicka

11.06.1996 r. - tytuł magistra biologii, Uniwersytet Marii Curie Skłodowskiej w Lublinie, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi

Tytuł pracy magisterskiej „*Rośliny kwiatowe zbiorowisk leśnych Poleskiego Parku Narodowego.*”

Promotor: prof. dr hab. Bożenna Czarnecka

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

1.04.2019 r. – obecnie – adiunkt, Katedra Mikrobiologii Środowiskowej, Wydział Agrobiotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie.

1.10.2015 r. – 31.03.2019 r. – asystent, Katedra Mikrobiologii Środowiskowej, Wydział Agrobiotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie.

1.10.2010 r. – 30.09.2013 r. – adiunkt, Katedra Inżynierii Środowiska, Wydział Zamiejscowy Nauk o Społeczeństwie w Stalowej Woli, Katolicki Uniwersytet Lubelski.

1.03.2005 r. – 30.09.2010 r. - adiunkt, Katedra Mikrobiologii Rolniczej, Wydział Agrobiotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie.

1.02.1999 r. – 28.02.2005 r. – **asystent**, Katedra Mikrobiologii Rolniczej, Wydział Rolniczy, Akademia Rolnicza w Lublinie.

22.01.1997 r. – 31.01.1999 r. - **starszy technik**, Katedra Mikrobiologii Rolniczej, Wydział Rolniczy, Akademia Rolnicza w Lublinie.

4. Wskazanie osiągnięcia* wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016r. poz. 1311).

a) Tytuł osiągnięcia naukowego - cykl publikacji powiązanych tematycznie:

„Wykorzystanie parametrów aktywności mikroorganizmów glebowych w ocenie stanu gleby rekultywowanej odpadami”

b) Wykaz publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego

Badania zaprezentowane jako osiągnięcie naukowe, realizowałam w Katedrze Mikrobiologii Środowiskowej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, w większości w ramach projektu badawczego pt. „Ocena skuteczności rekultywacji gleby zdegradowanej przy wykorzystaniu wskaźników biologicznych”, N N305349239, finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki, w latach 2010-2013, w którym byłam głównym wykonawcą. Wyniki zostały opublikowane w formie 5 publikacji, które przedkładałam jako podstawę ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego. Tematyka badań zaprezentowana w cyklu publikacji koncentruje się wokół problemów o zasięgu ogólnoswiatowym tj. degradacji i rekultywacji gleb, możliwości zagospodarowania różnych odpadów oraz monitorowania stanu gleb.

B.1. Joniec J., 2013: Microbiological transformations of N, S and P in degraded soil subjected to one-year remediation with various wastes. *Pol. J. Soil Sci.*, 46, 61-75.

(MNiSW - 4 pkt.)

B.2. Joniec J., Furczak J., Kwiatkowska E., 2015: Application of biological indicators for estimation of remediation of soil degraded by sulphur industry. *Ecol. Chem. Eng. S*, 22, 269-283. <https://doi.org/10.1515/eces-2015-0016>

(MNiSW - 15 pkt., IF₂₀₁₅ = 0,553)

B.3. Joniec J., Frąc M., 2017: Microbial functional diversity and enzymatic activity of soil degraded by sulphur mining reclaimed with various waste. *Int. Agrophys.*, 31, 465-473. <https://doi.org/10.1515/intag-2016-0078>

(MNiSW - 25 pkt., IF₂₀₁₇ = 1,242)

B.4. Joniec J., 2018: Enzymatic activity as an indicator of regeneration processes in degraded soil reclaimed with various types of waste. *Int. J. Environ. Sci. Technol.*, 15, 2241–2252.

<https://doi.org/10.1007/s13762-017-1602-x>

(MNiSW - 30 pkt., IF₂₀₁₇ = 2,037)

B.5. Joniec J., 2019: Indicators of microbial activity in the assessment of soil condition subjected to several years of reclamation. *Ecol. Indic.*, 98, 686–693.

<https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.11.055>

(MNiSW - 35 pkt., IF₂₀₁₇ = 3,983)

Liczba punktów według MNiSW za publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego: 109. Całkowity IF z roku opublikowania publikacji wskazanych jako osiągnięcie naukowe według listy JCR: 7,815.

Udział habilitantki w powstawaniu ww. prac, ich wykaz, kopie oraz oświadczenia współautorów dotyczące ich wkładu w powstawanie prac zostały przedstawiony w Załączniku 4.

** W przypadku publikacji, dla których nie określono punktacji i IF wskazano wartości z roku poprzedniego*

5. Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

Wprowadzenie

Gleba jest jednym z najważniejszych zasobów przyrody i stanowi podstawę funkcjonowania ekosystemów lądowych. Pełni szereg ważnych funkcji, m.in. umożliwia produkcję pierwotną biomasy oraz obieg węgla i innych pierwiastków, ma wpływ na mikro- i makroklimat oraz kształtuje bioróżnorodność. Procesy glebotwórcze prowadzące do ukształtowania się zasobnych w próchnicę, żyznych gleb trwają tysiące lat. Ukształtowana w ich wyniku gleba charakteryzuje się swoistą homeostazą, dzięki takim procesom jak filtracja, buforowanie czy transformacja związków chemicznych w tym zanieczyszczeń. Różnego rodzaju antropopresja jaką wywiera człowiek na środowisko glebowe prowadzi do zakłócenia a nawet całkowitego zniszczenia tej równowagi co zajmuje często zaledwie kilkanaście czy kilkadziesiąt lat. Efektem jest spadek wartości użytkowej gleby i wyeliminowanie jej z użytkowania

rolniczego. Gleba posiada zdolności do odtwarzania swoich zasobów, głównie dzięki licznej i różnorodnej mikrobiocie. Jest to jednak proces długotrwały, a jego przebieg i efekt zależy od rodzaju i stopnia degradacji.

Przykładem silnej, negatywnej ingerencji jaką wywiera człowiek na środowisko glebowe jest przemysł wydobywczy siarki. Zjawisko to silnie zaznaczyło się w na obszarze byłej kopalni siarki Jeziórko (Polska, woj. podkarpackie). Złóża siarki na tym terenie należą do jednych z największych na świecie (Piaseczno-Machów-Jeziórk-Jamnica). W latach 1967-2001 w kopalni Jeziórko wydobyto ponad 74 mln Mg siarki metodą otworową Frasha. Jest to metoda wytopu podziemnego, w której siarkę wydobywa się za pomocą gorącej wody wprowadzanej pod ciśnieniem (Likus-Cieślik i in., 2017; Siwik-Ziomek i in., 2018). Górnictwo otworowe siarki oparte na tej metodzie spowodowało głęboką degradację gleby dotyczącą wielu jej aspektów, w konsekwencji prowadzącą do zachwiania równowagi biologicznej a nawet zamierania życia biologicznego. Ze względu na skalę degradacji tereny te są trudne do rekultywacji. W trakcie wydobywania płynnej kopaliny dochodziło do silnego zanieczyszczenia powierzchni ziemi siarką, która podlegała utlenieniu do kwasu siarkowego. Zjawisko to skutkowało silnym zakwaszeniem co w konsekwencji spowodowało radykalne zmiany środowiska glebowego tj. zachwianie równowagi biologicznej, destrukcję kompleksu sorpcyjnego, wzrost stężenia jonów Al^{3+} w roztworze glebowym oraz uwstecznienie innych pierwiastków. Zmiany te pozbawiły glebę właściwości użytkowych. Podczas wydobywania siarki dochodziło do odkształceń powierzchni terenu tj. powstawanie nieregularnych niecek osiadania, które następnie uległy zawodnieniu. Wysoka temperatura tłoczona pod ciśnieniem pary wodnej oddziaływała destrukcyjnie na życie biologiczne gleby oraz przyczyniała się do licznych erupcji zasiarczonej wody podziemnej.

Tak silna i wieloczynnikowa ingerencja w środowisko glebowe wymaga podjęcia różnorodnych działań naprawczych, głównie usunięcia skupisk siarki, zneutralizowanie bardzo kwaśnego odczynu ziemi i zlikwidowanie zastoisk wody powierzchniowej oraz trwałego przywrócenia równowagi biologicznej w zdegradowanej glebie. Rekultywacja terenów poeksploatacyjnych w górnictwie siarkowym jest zadaniem złożonym i trudnym (Maciak, 2003; Kozak, 2007).

Jednym ze sposobów rekultywacji tak zdegradowanego środowiska glebowego jest stosowanie różnych odpadów, powstających w wyniku działalności bytowej i gospodarczej

człowieka. Minimalizacja wytwarzania odpadów przy jednoczesnej maksymalizacji ich wtórnego wykorzystania jest dzisiaj jednym z priorytetowych warunków rozwoju cywilizacji. Odpady powinny wracać do środowiska glebowego w celu zachowania jego funkcji biologicznych i produkcyjnych, zwłaszcza do ukształtowania gleby i szaty roślinnej na gruntach zdegradowanych (Siuta i Żukowski, 2008). Na terenie byłej kopalni siarki Jeziórko podjęto próby rekultywacji gruntu przy użyciu takich odpadów jak: osad ściekowy, wełna mineralna i wapno poflotacyjne.

Osady ściekowe są nieodłącznym elementem oczyszczania ścieków. Nieprawidłowe postępowanie z tymi odpadami tj. składowanie prowadzi do przenikania zanieczyszczeń w nich zawartych do gleby, wód gruntowych i atmosfery co stanowi wtórne zagrożenie dla środowiska. Właściwe wykorzystanie osadów ściekowych np. do celów przyrodniczych przynosi wymierne korzyści. Powszechnie znane jest korzystne oddziaływanie osadów ściekowych na właściwości fizyczne, fizykochemiczne, chemiczne i biologiczne gleb. Wysoka zawartość materii organicznej oraz składników pokarmowych przyswajalnych przez rośliny powoduje, że osady posiadają cenne walory nawozowe, próchnicotwórcze i plonotwórcze. Korzystny wpływ osadów ściekowych na życie biologiczne środowiska glebowego związany jest z szerokim, pozytywnym oddziaływaniem tych odpadów na materię organiczną, zawartość składników pokarmowych, porowatość gleby, gęstość objętościową, strukturę agregatową oraz pojemność wodną (Singh i Agrawal, 2008). Zdaniem Drab i in. (2004) przyrodnicze użytkowanie osadów ściekowych jest efektywną metodą ich unieszkodliwiania, gdyż gwarantuje obieg materii w przyrodzie utrzymując dodatni bilans substancji organicznej oraz przyczynia się do poprawy agrochemicznych właściwości gleb.

Wełna mineralna, która jest produktem naturalnym wytwarzanym ze skał magmowych, jest najpopularniejszym podłożem wykorzystywanym w produkcji ogrodniczej. Po zakończeniu cyklu produkcyjnego stanowi uciążliwy odpad poprodukcyjny upraw pod osłonami. Zagospodarowanie dużych ilości tego odpadu ($150-200 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1} \text{ rok}^{-1}$) stanowi poważne wyzwanie. Odpad ten charakteryzuje się korzystnymi właściwościami sorpcyjnymi, a w szczególności dużą zawartością kationów zasadowych i ich wysyceniem, niską kwasowością hydrolityczną oraz dużą zdolnością zatrzymywania wody (Baran i in., 2008). Wełna mineralna posiada dużą zawartością magnezu, wapnia i znaczną azotu, a także fosforu i potasu w formie o dużej przyswajalności (Baran i in., 2011b).

Wapno poflotacyjne powstaje w wyniku flotacji rud siarki i zawiera w swoim składzie około 40% CaO i około 25% wody i znaczne ilości siarki (Baran i in., 2011a). Używane jest do neutralizacji kwaśnego odczynu gleb zakwaszonych. Wśród gleb Polski duży udział stanowią gleby słabe i zakwaszone co jest uznane za przeszkodę w rozwoju sektora rolniczego i obszarów wiejskich. Stosowanie wapna poflotacyjnego jest więc szczególnie zasadne w rekultywacji gleb zakwaszonych.

Przyrodnicze wykorzystanie tych odpadów do celów rekultywacyjnych gleb pozwala na włączenie w obieg dużych ilości nagromadzonych i unieruchomionych w nich biogenów, głównie węgla, azotu i fosforu. Za procesy mineralizacji, humifikacji oraz detoksykacji zachodzące w środowisku glebowym odpowiedzialne są mikroorganizmy glebowe. Bakterie i grzyby zasiedlające glebę mają więc wpływ na jej zdrowotność i żyzność. Zdaniem Cavigelli i Robertson (2000) skład jakościowo-ilościowy mikrobiocenozy glebowych pełni bardzo ważną rolę w przebiegu wielu procesów biologicznych, a jego zmiany rzutują na prawidłowe funkcjonowanie ekosystemów. Mikroorganizmy zasiedlające środowisko glebowe nie tylko kształtują je, ale również wykazują dużą wrażliwość nawet na niewielkie zmiany zachodzące w glebie. Zmiany w ich różnorodności, rozwoju oraz aktywności biochemicznej i enzymatycznej są powszechnie uznawane za czułe wskaźniki stanu gleb. Z literatury przedmiotu wynika, że parametry aktywności mikroorganizmów mogą służyć do monitorowania żyzności gleb, procesów degradacji jak i procesów rewitalizacyjnych środowiska glebowego. Biorąc pod uwagę heterogeny charakter gleb i różnorodność funkcji jakie pełnią należy wziąć pod uwagę, że wnioskowanie o jakości środowiska glebowego na podstawie pomiaru pojedynczych jego właściwości jest niewystarczające. W celu uzyskania pełniejszej odpowiedzi na pytanie o to w jakim stanie znajduje się gleba, badane są różne aspekty aktywności mikroorganizmów tj. liczebność i różnorodność bakterii i grzybów, nasilenie przeprowadzanych przez nie procesów biochemicznych czy aktywność enzymatyczna.

Jedną z metod oznaczania liczebności drobnoustrojów w glebie jest metoda płytkowa. Metoda ta dostarcza cennych informacji na temat intensywności rozwoju bakterii i grzybów w glebie (Joniec i in., 2015; Majewska i Jaroszuk-Ściseł, 2017; Güsewell i Gessner, 2009; Whitelaw-Wecker i in., 2007). Metoda ta posiada jednak pewne mankamenty. Liczebność oznaczana tą metodą może być niedoszacowana ponieważ tylko pewna część drobnoustrojów jest zdolna do wzrostu na podłożach sztucznych (Hill i in., 2000; Taylor i in., 2002). Taylor i in.

(2002) wskazują, metodę w oparciu o ekstrahowane z gleby DNA jako bardziej miarodajną. Badania Wolińskiej i in. (2013) wykazały dodatnie korelacje zawartości DNA z aktywnością dehydrogenaz i liczebnością drobnoustrojów.

Istotną cechą populacji mikroorganizmów glebowych obok liczebności jest bioróżnorodność. Parametrem, który dostarcza cennych informacji z zakresu różnorodności funkcjonalnej jest ocena profilu poziomu metabolicznego populacji (CLPP – *community level physiological profiles*). Badania funkcjonalnej różnorodności zespołów mikroorganizmów glebowych z wykorzystaniem płytek ECO są stosowane do oceny wpływu różnorodnej antropopresji jaką wywiera człowiek na środowisko glebowe, w tym osadów ściekowych (Frąc i in., 2012; Oszust i in., 2015; Ros i in., 2006). Jest to szybka metoda skriningu, która dostarcza informacji o różnicach w różnorodności populacji mikroorganizmów glebowych w poszczególnych wariantach doświadczenia.

W wyniku przemian biochemicznych węglowej i azotowej materii, przeprowadzanych przez mikroorganizmy w glebie powstają różne końcowe produkty m.in. CO₂, N-NO₃ i N-NH₄. Pomiar ich stężenia pozwala na ocenę intensywności takich procesów jak oddychanie, mineralizacja celulozy, amonifikacja czy nityfikacja. Głównymi producentami CO₂ w glebie są drobnoustroje heterotroficzne, odpowiedzialne za mineralizację węglowej materii organicznej, dlatego natężenie jego wydzielania uznano za jeden z biowskaźników informujących o stanie środowiska glebowego (Bastida i in., 2008; Płaza i in., 2010; Kuzyacov, 2006; Joniec i in., 2015). Pomiar stężenia N-NO₃ i N-NH₄ wydzielanych z gleby dostarcza cennych informacji o przemianach w glebie, ważnego z punktu widzenia żywienia roślin biogenu jakim jest azot. Amonifikacja i nityfikacja to procesy, który są przeprowadzane przez mikroorganizmy glebowe, stąd stężenie produktów będących wynikiem tych przemian służy do oceny aktywności tych drobnoustrojów (Joniec i in., 2012; Jezierska-Tys i in., 2012).

Mikroorganizmy glebowe przeprowadzają procesy związane z rozkładem resztek roślinnych i zwierzęcych. Uczestniczą w procesach detoksykacji oraz odnowy środowiska glebowego. Większość tych procesów ma charakter enzymatyczny. Dlatego aktywności enzymatyczne są powszechnie uznawane za czułe wskaźniki wcześniej informujące o dynamice przemian materii organicznej, krążeniu składników pokarmowych, a także o stresie i procesach odbudowy zachodzących w glebie (Nannipieri i in., 2002; Burns i in., 2013). Z punktu widzenia funkcjonowania gleb najistotniejszą rolę pełnią hydrolazy i oksydoreduktazy. Aktywność

dehydrogenaz jest cennym biowskaźnikiem ze względu na to, że jest charakterystyczna tylko dla żywych komórek, podczas gdy inne enzymy mogą pozostawać aktywne poza komórką oraz po jej obumarciu. Wielokrotnie posługiwano się aktywnością enzymatyczną gleb w celu oceny stanu środowiska glebowego, poddawanego różnorodnej antropopresji, w tym nawożeniem odpadami typu osady ściekowe czy węgla mineralna, wapno poflotacyjne bądź kompostami na bazie osadów (Cele i in., 2016; Furczak i Joniec, 2007; Joniec i in., 2015; Frąc i in., 2012; Nicolas i in., 2012; Zaborowska i in., 2016). Prezentowane w cyklu publikacji badania wpisują się w aktualne trendy w badaniach nad enzymatyką gleb, których jednym z zadań zdaniem Burnsa i in. (2013) jest poszukiwanie odpowiedzi na pytanie o możliwość wykorzystania aktywności enzymatycznej jako wskaźnika żyzności i zdrowotności gleb oraz oczyszczania i rewitalizacji zdegradowanego środowiska.

Cel badań

Celem zaprezentowanych w cyklu publikacji prac była kompleksowa ocena aktywności mikroorganizmów w glebie rekultywowanej odpadami, przy użyciu zestawu tradycyjnych testów (liczebność i aktywność biochemiczna i enzymatyczna) w połączeniu z nowoczesnymi testami (analiza CLPP, pomiar stężenia DNA).

Zasadniczy cel był realizowany poprzez:

1. Określenie kierunku, intensywności i trwałości zmian w aktywności mikrobiologicznej, biochemicznej i enzymatycznej oraz w różnorodności funkcjonalnej i stężeniu DNA w rekultywowanej glebie.
2. Określenie wzajemnych zależności pomiędzy badanymi parametrami aktywności mikroorganizmów glebowych oraz właściwościami chemicznymi, fizycznymi i fizykochemicznymi gleby.
3. Oszacowanie możliwości zasiedlenia gleby przez mikroorganizmy wprowadzone z odpadami i ich udziału w procesach rewitalizacji gleby.
4. Wykazanie, które grupy mikroorganizmów są najbardziej aktywne w przemianach odpadowej materii w glebie.
5. Zweryfikowanie przydatności użytych wskaźników mikrobiologicznych w monitorowaniu gleb rekultywowanych odpadami.

6. Oszacowanie w jakim stopniu zastosowane do rekultywacji odpady są bezpieczne dla środowisko tj. czy nie przyczyniają się do pogłębienia degradacji i w konsekwencji nie oddziałują negatywnie na środowisko glebowe.
7. Wskazanie najefektywniejszego zabiegu rekultywacji, który przyczynił się do poprawy aktywności mikroorganizmów w glebie.

Prezentowane badania dostarczają cennych informacji z zakresu monitorowania stanu gleb rekultywowanych odpadami. Mogą być pomocne przy podejmowaniu decyzji związanych ze sposobami rekultywacji oraz zagospodarowaniem odpadów. Biorąc pod uwagę stan gleb w Polsce tj. zakwaszenie i deficyt materii organicznej badania te mogą również być przydatne w odniesieniu do gleb użytkowanych rolniczo (głównie w kontekście upraw roślin przemysłowych).

Opis modelu doświadczalnego oraz metod użytych w badaniach

Model doświadczenia

Doświadczenie rekultywacyjne założono na terenie byłej kopalni siarki „Jeziórko” w województwie podkarpackim (N50°33'09", E21°46'40"). Doświadczenie zlokalizowano na utworze bezglebowym charakteryzującym się składem granulometrycznym piasku słabogliniastego, silnym zakwaszeniem, słabymi właściwościami sorpcyjnymi i niską zawartością Corg. i N ogółem. W kopalni „Jeziórko” siarka wydobywana była metodą Frasha, czyli wytapiania otworowego. W poszczególnych wariantach doświadczenia do zdegradowanej gleby wprowadzono różne środki rekultywujące: wapno poflotacyjne; osad ściekowy, wełnę mineralną oraz zastosowano nawożenie mineralne NPK. Wapno zastosowano w ilości 100 t ha⁻¹, osad ściekowy rozprowadzono w 20 cm warstwie gleby w ilości 100 t ha⁻¹. Wełnę mineralną zastosowano w dwóch wariantach, tj. w postaci 5 cm wkładki na głębokości 50 cm oraz w dawce 500 m³ ha⁻¹, rozmieszanej w warstwie gleby 0-20 cm. Nawóz mineralny NPK wniósł do zdegradowanej gleby N, P, K w ilościach 80, 40 i 60 kg ha⁻¹. Tak przygotowane poletka obsiano następną mieszanką traw o składzie: *Festuca pratensis* Huds.- 41%, *Festuca rubra* L.- 19,2%, *Lolium perenne* L.- 14,7%, *Lolium multiflorum* Lam.- 12,4%, *Dactylis glomerata* L.- 6,5%, and *Trifolium pratense* L.- 6%. Kontrolę doświadczenia stanowił grunt bez usprawnień.

Schemat doświadczenia:

1. Grunt bez usprawnień (kontrola)

2. Grunt + wapno + NPK
3. Grunt + wapno + osad ściekowy
4. Grunt + osad ściekowy
5. Grunt + wełna 5 cm 50 cm^{-1} + wapno + NPK
6. Grunt + wełna 5 cm 50 cm^{-1} + wapno + osad ściekowy
7. Grunt + wełna $500 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ + wapno + NPK
8. Grunt + wełna $500 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ + wapno + osad ściekowy

Metody badań

A. Liczebność mikroorganizmów

Liczebność poszczególnych grup bakterii i grzybów oznaczano metodą płytkową (Foght i Aislabie, 2005). Hodowle mikroorganizmów prowadzono w temperaturze 28 °C. Wyniki przedstawiono w postaci jtk kg^{-1} s.m. gleby. Liczebność bakterii celulolitycznych oznaczano metodą miana. Najbardziej prawdopodobną liczbę tych bakterii odczytano z tablic McCrady'ego. W celu oznaczenia aktywności mikrobiologicznej w zdegradowanej glebie oznaczano:

- 1) ogólną liczbę bakterii oligotroficznych (o małych wymaganiach pokarmowych) na pożywce z wyciągiem glebowym i K_2HPO_4 ,
- 2) ogólną liczbę bakterii koptotroficznych (o dużych wymaganiach pokarmowych) na pożywce Bunta i Roviry (1955),
- 3) ogólną liczbę grzybów strzępkowych na pożywce Martina (1959),
- 4) liczebność bakterii celulolitycznych na podłożu płynnym wg Pochon i Tardieux (1962),
- 5) liczebność grzybów celulolitycznych na agarze mineralnym, przykrytym krążkiem bibuły Whatmana,
- 6) liczebność bakterii i grzybów lipolitycznych na pożywce z trójmaślanem (Burbianka i in., 1971). Po inkubacji zliczano kolonie, wokół których widoczne były klarowne strefy świadczące o rozłożeniu trójmaślanu przez drobnoustroje,
- 7) liczebność bakterii i grzybów proteolitycznych na podłożu żelatynowym Frazier (Rodina 1968). Po inkubacji zliczano kolonie, wokół których widoczne były klarowne strefy świadczące o rozłożeniu białka przez drobnoustroje.

W przypadku grzybów do pożywki dodawano antybiotyki w ilości zalecanej przez Martina (1950).

B. Aktywność biochemiczna

Oznaczeniami objęto również procesy biochemiczne przeprowadzane przez drobnoustroje glebowe. W celu poznania aktywności biochemicznej posłużono się następującymi metodami:

- 1) aktywność oddechową oznaczano w 20-gramowych naważkach gleby po dodaniu 1% glukozy. Ilość wydzielonego CO_2 oznaczano metodą miareczkowania wg Rühlinga i Tylera (1973) Aktywność przedstawiono w postaci: $\text{mg C-CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ s.m. gleby d}^{-1}$
- 2) intensywność mineralizacji celulozy określano w 25-gramowych naważkach gleby po dodaniu 0,5% sproszkowanej celulozy. Ilość wydzielanego CO_2 oznaczano metodą miareczkowania wg. Rühlinga i Tylera (1973). Aktywność przedstawiono w postaci: $\text{mg C-CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ s.m. gleby } 20\text{d}^{-1}$
- 3) nasilenie procesu amonifikacji w 25-gramowych naważkach gleby zawierających 0,1% asparaginy. Po 3 dniach inkubacji jony amonowe ekstrahowano i określano ich zawartość metodą Nesslerera (Nowosielski, 1974), Aktywność przedstawiono w postaci: $\text{mg N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1} \text{ s.m. gleby } 3\text{d}^{-1}$
- 4) nasilenie procesu nitryfikacji w 25-gramowych naważkach gleby zawierających 0,1% fosforanu jednoamonowego. Po 7 dniach inkubacji jony azotanowe ekstrahowano i mierzono ich poziom metodą brucynową (Nowosielski, 1974). Aktywność przedstawiono w postaci: $\text{mg N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1} \text{ s.m. gleby } 7 \text{ d}^{-1}$

C. Aktywność enzymatyczna

Aktywność mikroorganizmów w glebie związana jest z wydzielaniem przez nie enzymów. Najistotniejszymi dla funkcjonowania środowiska glebowego są enzymy należące do grupy oksydoreduktaz i hydrolaz. Dlatego w analizowanej glebie oznaczano aktywność:

- 1) dehydrogenaz metodą Thalmanna (1968) w 5-gramowych naważkach gleby z użyciem TTC jako substratu. Aktywność przedstawiono w postaci: $\text{mg TPF kg}^{-1} \text{ s.m. gleby } \text{d}^{-1}$,
- 2) katalazy metodą Johnson i Temple (1964). Aktywność oznaczano w 2-gramowych naważkach gleby używając H_2O_2 jako substratu. Aktywność przedstawiono w postaci: $\text{mmol H}_2\text{O}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ s.m. gleby } \text{min}^{-1}$

- 3) β -glukozydazy metodą Elvazi i Tabatabai (1988), w 1-gramowych naważkach gleby z PNG jako substratem. Aktywność przedstawiono w postaci: $\text{mg PNP kg}^{-1} \text{ s.m. gleby h}^{-1}$
- 4) lipazy metodą Pokornej (1964), w modyfikacji Kuhnert-Finkernagela i Kandelera (1996) w 1-gramowych naważkach gleby z dodatkiem trójmaślanu jako substratu. Aktywność przedstawiono w postaci: jednostka aktywności $\text{g}^{-1} \text{ s.m. gleby}$
- 5) proteazy metodą Ladda i Butlera (1972) w 2-gramowych naważkach gleby z dodatkiem kazeiny jako substratu. Aktywność przedstawiono w postaci: $\text{mg tyrozyny kg}^{-1} \text{ s.m. gleby h}^{-1}$
- 6) ureazy metodą Zantua i Bremnera (1975) w 10-gramowych naważkach gleby z mocznikiem jako substratem. Aktywność przedstawiono w postaci: $\text{mg N-NH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ s.m. gleby } 18\text{h}^{-1}$
- 7) fosfatazy kwaśnej i zasadowej metodą Tabatabai i Bremnera (1969) w 1-gramowych naważkach gleby z użyciem PNPNa jako substratu. Aktywność przedstawiono w postaci: $\text{mg PNP kg}^{-1} \text{ s.m. gleby h}^{-1}$
- 8) arylosulfatazy metodą Tabatabai i Bremnera (1970) w 1-gramowych naważkach gleby z PNS jako substratem. Aktywność przedstawiono w postaci: $\text{mg PNP kg}^{-1} \text{ s.m. gleby h}^{-1}$
- 9) hydrolityczną fluoresceiny FDA metodą Schnurer i Rosswall (1982) w 1-gramowych naważkach gleby z dodatkiem fluoresceiny FDA jako substratu. Aktywność przedstawiono w postaci: $\text{mg fluoresceiny kg}^{-1} \text{ s.m. gleby h}^{-1}$

D. Pomiar stężenia DNA

Pomiar stężenia DNA wykonano w 0,5-gramowych naważkach gleby przy użyciu FastDNA® SPIN Kit (MP Biomedicals, Solon, OH, USA) postępując zgodnie z protokołem producenta. Ilość DNA oznaczano spektrofotometrycznie (NanoDrop 2000/2000c Thermo Scientific, West Palm Beach, FL, USA) przy długości fali $\lambda = 260 \text{ nm}$. Stężenie DNA przedstawiono w postaci: $\mu\text{g g}^{-1} \text{ s.m. gleby}$.

E. Analiza profilu metabolicznego populacji

Analiza profilu metabolicznego z wykorzystaniem metody Biolog Eco Plates. Metoda ta oparta jest na analizie wykorzystywania przez mikroorganizmy glebowe 31 różnych substratów węglowych, przydzielonych do pięciu grup (aminy i amidy, aminokwasy, węglowodany, kwasy karboksylowe i polimery). Do badań wykorzystano płytki BIOLOG ECO o 96 dołkach zawierających w trzech powtórzeniach 31 różnych substratów węglowych, z użyciem wody jako kontrolni. Fiolet tetrazolinowy, który jest wskaźnikiem zmiany barwy ulega redukcji w przypadku gdy mikroorganizmy utleniają dany substrat (Insam, 1997; Insam i Goberna, 2004; Pohland i Owen, 2009). Profil metaboliczny określano w 1-gramowych naważkach gleby, które po dodaniu wody demineralizowanej mieszano w temperaturze 20 °C i inkubowano w temperaturze 4 °C. Następnie przenoszono po 120 µl zawiesiny glebowej na płytki Eco i inkubowano w temperaturze 27°C przez 216 godzin. W czasie inkubacji co 24 godziny, mierzono na czytniku mikropłetek (Biolog, USA) absorbancję, przy długości fali $\lambda = 590$ nm. Na podstawie uzyskanych danych oznaczano średnią absorbancję (AWCD – Average Well Colour Development) i wskaźnik różnorodności (R – Richness).

Opis sposobu pobierania i przechowywania materiału glebowego, terminów poboru prób oraz zastosowanych metod statystycznych zamieszczono w poszczególnych publikacjach.

Omówienie wyników

Aktywność mikroorganizmów czynnych w przemianach głównych biogenów tj. węgla, azotu, siarki i fosforu w początkowym okresie rekultywacji gleby odpadami [B.1; B.2]

Różnorodne formy degradacji gleb związanych z górnictwem otworowym siarki zmuszają do poszukiwania odpowiednich parametrów pozwalających na ocenę zarówno stopnia degradacji jak i na dobranie najlepszego sposobu ich rekultywacji. Podjęte badania miały wskazać, które materiały odpadowe (osad ściekowy, wełna mineralna, wapno poflotacyjne) mogą przywrócić prawidłowe relacje w obrębie mikrobiocenozy gleby zdegradowanej przez górnictwo siarki.

Badania zaprezentowane w publikacjach **B.1** i **B.2** przedstawiają wpływ zastosowanych do celów rekultywacyjnych odpadów na liczebność bakterii i grzybów oraz ich aktywność biochemiczną i enzymatyczną w pierwszym roku rekultywacji. Przeanalizowano użyte wskaźniki pod kątem ich przydatności w monitorowaniu zmian jakie zachodzą w glebie w początkowym okresie jej

rekultywacji. W badaniach oszacowano możliwość zasiedlenia gleby przez drobnoustroje wprowadzone z odpadami. Badania miały również na celu wskazanie najkorzystniejszego dla mikroorganizmów wariantu rekultywacji.

Wszystkie zastosowane warianty rekultywacji wpłynęły w pierwszym roku, pozytywnie na liczebność bakterii proteolitycznych [B.1], oligotroficznych, makrotroficznych, celulolitycznych i lipolitycznych [B.2]. Rozwój badanych grup grzybów tj. proteolitycznych [B.1], nitkowatych, lipolitycznych i celulolitycznych [B.2] również podlegał istotnej stymulacji, ale tylko w obiektach z osadem ściekowym. Miało to związek z poprawą warunków bytowania tych drobnoustrojów. Odnotowano równoległe wzrost zawartości Corg., Nog., pojemności sorpcyjnej, odczynu i wilgotności. Potwierdzają to również uzyskane dodatnie korelacje liczby bakterii i grzybów rozkładających białko z zawartością Corg, Nog. i wilgotnością [B.1] oraz analogiczne korelacje prawie wszystkich badanych grup bakterii i grzybów badanych w publikacji B.2 z Corg. i wilgotnością oraz wybranych grup tych mikroorganizmów z Nog., odczynem i pojemnością sorpcyjną. Prawdopodobnie również mikroorganizmy, które zostały wniesione wraz z odpadami (głównie z osadem ściekowym) mogły w początkowych terminach funkcjonować w środowisku glebowym. Zastosowane odpady (szczególnie osad ściekowy) charakteryzowały się liczną mikroflorą.

Stymulacji rozwoju badanych grup mikroorganizmów towarzyszyła zwiększona aktywność biochemiczna i enzymatyczna. Odnotowano dodatnie korelacje analizowanych parametrów biochemicznych i enzymatycznych z Corg i Nog. (wyj. lipaza i arylosulfataza) i wilgotnością (wyj. arylosulfataza i fosfataza zasadowa) oraz nityfikacji z pojemnością sorpcyjną.

Procesy związane z transformacją węgla tj. aktywność oddechowa i mineralizacja celulozy były we wszystkich obiektach z odpadami istotnie wyższe w porównaniu do obiektu kontrolnego [B.2]. Podobną tendencję stwierdzono w przypadku enzymów które katalizują przemiany związków azotowych i fosforowych tj. arylosulfatazy i fosfatazy zasadowej [B.1]. Mikrobiologiczne procesy związane z krążeniem azotu tj. nityfikacja i amonifikacja wykazywały istotne nasilenie w obiektach z osadem ściekowym [B.1]. W przypadku amonifikacji efekt ten zaznaczył się w obiektach z osadem ściekowym i osadem zastosowanym łącznie z wapnem. Dla rozwoju bakterii i grzybów proteolitycznych oraz nasilenia nityfikacji korzystniejsze okazało się zastosowanie wełny mineralnej w formie wkładki ($5\text{cm } 50\text{cm}^{-1}$),

natomiast dla aktywności arylosulfatazy i fosfatazy zasadowej wymieszanie jej z gruntem ($500 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$) [B.1]. Rozprowadzenie tego odpadu w glebie okazało się również korzystniejsze dla większości parametrów aktywności mikrobiologicznej związanej z przemianami węgla [B.2]. Aktywność biochemiczna i enzymatyczna mogła być w początkowym okresie kształtowana przez enzymy zewnątrzkomórkowe oraz produkty przemian (amonifikacji i nityfikacji) dostarczone wraz z odpadami. Szczególnie osad ściekowy wykazał wysoką aktywność biochemiczną i enzymatyczną.

Analiza statystyczna zmian okresowych omawianych parametrów mikrobiologicznych, biochemicznych i enzymatycznych wykazała istotne wahania sezonowe. Dla większości tych aktywności najwyższe wartości odnotowano wiosną, a najniższe jesienią.

Uzyskane wyniki dotyczące początkowego okresu rekultywacji wskazują na pobudzenie życia biologicznego w rekultywowanej glebie, szczególnie wyraźnie zaznaczające się w obiektach z osadem ściekowym.

Wpływ kilkuletniej rekultywacji odpadami na zawartość DNA oraz aktywność mikroorganizmów transformujących związki węgla w glebie [B.5].

Procesy rewitalizacyjne zachodzące w glebach zdegradowanych są procesami złożonymi i wymagają długiego okresu czasu. Za przemiany odpadowej materii wprowadzanej do środowiska glebowego odpowiedzialne są mikroorganizmy glebowe. Ze względu na możliwość powstawania szkodliwych produktów transformacji odpadowej materii wskazane jest monitorowanie aktywności mikrobiologicznej gleby rekultywowanej nie tylko w początkowym okresie, ale również w kolejnych latach.

Badania zaprezentowane w pracy B.5 stanowią kontynuację badań przedstawionych w pracy B.2 dotyczących początkowego okresu rekultywacji. W tych badaniach [B.5] posłużono się wskaźnikami związanymi z cyklem krążenia węgla oznaczając: liczebność bakterii oligotroficznych, celulolitycznych i lipolitycznych, grzybów nitkowatych, celulolitycznych i lipolitycznych, aktywność oddechową, nasilenie procesu mineralizacji celulozy, aktywność lipazy oraz stężenie DNA w celu oceny następczego wpływu zastosowanych odpadów na środowisko glebowe. Podjęto próbę weryfikacji przydatności użytych w pracy wskaźników, w monitorowaniu stanu środowiska glebowego w kolejnych latach i ocenie skuteczności podjętych zabiegów rekultywacyjnych.

Uzyskane wyniki wskazują na utrzymujący się w 2-gim i 3-cim roku wpływ zastosowanych odpadów na wszystkie analizowane parametry aktywności drobnoustrojów związanych z transformacją związków węgla [B.5]. Kierunek i natężenie tych zmian zależne były od rodzaju odpadu, jego formy oraz czasu oddziaływania tj. terminu badań.

Liczebność badanych grup bakterii podlegała na ogół istotnej stymulacji w większości obiektów, szczególnie wyraźnie widocznej w obiektach z osadem ściekowym. Rozwój grzybów był istotnie pobudzany jedynie w niektórych obiektach z osadem ściekowym, a w pozostałych obiektach tj. z wapnem i NPK oraz z wapnem, NPK i wełną wprowadzoną na dwa sposoby podlegał hamowaniu. Efekt ten był związany z wyższym odczynem gleby w obiektach z wapnem.

Istotny wpływ zastosowanych odpadów na nasilenie procesów biochemicznych był jednoznaczny tzn. wszystkie zastosowane zabiegi rekultywacyjne wpłynęły stymulująco na aktywność oddechową i tempo mineralizacji celulozy. Oddziaływanie odpadów na aktywność lipazy oraz stężenie DNA było w ciągu dwóch lat trwania badań najslabiej ukierunkowane. Największe wartości parametry te osiągnęły w obiektach z osadem ściekowym.

Wzrost analizowanych aktywności mikrobiologicznych, biochemicznych i enzymatycznych był wyraźnie widoczny w obiektach z osadem ściekowym zastosowanym oddzielnie lub łącznie z innymi odpadami. Dla większości parametrów korzystniejsze było zastosowanie osadu ściekowego łącznie z wapnem niż samego osadu, oraz wprowadzenie wełny mineralnej w formie 5 cm wkładki niż przez wymieszanie jej z gruntem.

Liczebność bakterii i grzybów oraz aktywność oddechowa i nasilenie procesu mineralizacji celulozy, podlegały istotnym zmianom, a więc okazały się przydatne w monitorowaniu stanu gruntu rekultywowanego zastosowanymi odpadami. Duże wahania jakim podlegały badane aktywności w ciągu dwóch lat sugerują, że procesy odnowy zachodzące w rekultywowanym gruncie nie zostały jeszcze zakończone.

Stwierdzono liczne dodatnie korelacje w obrębie analizowanych parametrów mikrobiologicznych i biochemicznych oraz pomiędzy nimi. Odnotowano dodatnie i ujemne korelacje (przeważnie $p < 0,001$ i $p < 0,01$) pomiędzy badanymi parametrami aktywności drobnoustrojów a zawartością Corg, Nog, pojemnością sorpcyjną, wilgotnością i odczynem. Uzyskane korelacje wskazują, że do nasilenia procesów oddechowych w głównej mierze przyczyniły się bakterie. W procesie rozkładu celulozy swój istotny udział miały zarówno bakterie jak i grzyby celulolityczne. Aktywność lipazy była w głównej mierze kształtowana przez grzyby.

Analizując korelacje stężenia DNA z liczebnościami bakterii oligotroficznych i lipolitycznych oraz grzybami nitkowatymi i lipolitycznymi, należy podkreślić prawidłowy dobór wskaźników. Pomimo że zdaniem innych autorów tylko pewna część drobnoustrojów jest zdolna do wzrostu na podłożach sztucznych (Hill i in., 2000; Taylor i in., 2002) metoda płytkowa oznaczania liczebności drobnoustrojów okazała się przydatna do oceny wpływu zastosowanych odpadów.

Ocena profilu metabolicznego i aktywności β -glukozydazy w glebie, w okresie trzech lat trwania rekultywacji [B.3]

Prawidłowy poziom aktywności populacji mikroorganizmów glebowych jest wypadkową nie tylko ich liczebności, ale również bioróżnorodności. Badania zaprezentowane w pracy **B.3** podjęto aby określić zmiany w różnorodności metabolicznej mikroorganizmów na przestrzeni 3 lat oddziaływania na glebę odpadów. W tym celu dokonano oceny profilu metabolicznego gleby (CLPP) przy użyciu systemu BIOLOG i płytek EcoPlate. Przeanalizowano poszczególne warianty rekultywacji w celu wskazania wariantu, najkorzystniejszego dla różnorodności metabolicznej gleby. Ze względu na zalecanie stosowania techniki CLPP wraz z innymi technikami badawczymi np. aktywnością enzymatyczną równolegle przeanalizowano kierunek, nasilenie i trwałość zmian w aktywności β -glukozydazy.

Uzyskane wyniki wykazały istotne zmiany w ogólnej aktywności metabolicznej (wskaźnik AWCD) i różnorodności funkcjonalnej (wskaźnik R) rekultywowanej gleby. Obydwa wskaźniki charakteryzowały się pewną dynamiką zmian w zależności od terminu badań oraz zastosowanego wariantu rekultywacyjnego.

W początkowym okresie wprowadzenie osadu ściekowego przyczyniło się do wzrostu wartości AWCD oraz R. Jednak w miarę upływu czasu pozytywne oddziaływanie tego odpadu zanikło, a nawet przeszło w niekorzystne. Natomiast pozytywny wpływ wełny mineralnej zastosowanej łącznie z wapnem utrzymywał się na ogół w ciągu całego okresu badań. Jedynie wprowadzenie do zdegradowanego gruntu osadu ściekowego łącznie z wapnem oraz wełną mineralną wymieszaną z glebą, w żadnym terminie nie wpłynęło w istotny sposób na wielkość analizowanych parametrów.

Podsumowując, spośród zastosowanych do celów rekultywacyjnych odpadów pozytywny wpływ na potencjał kataboliczny i różnorodność funkcjonalną populacji mikroorganizmów wywarło

jedynie wapno oraz wełna mineralna wprowadzona zarówno w formie wkładki jak i wymieszana z glebą.

Dane z zakresu intensyfikacji rozwoju mikroorganizmów na płytkach Biolog ECO podczas 216 godzin inkubacji wykazały, że wraz z wydłużaniem się czasu inkubacji wzrastała również liczba wykorzystywanych substratów (R). We wszystkich obiektach wyraźny wzrost wskaźnika R odnotowano po upływie 48 godzin. Liczba wykorzystywanych substratów była najwyższa w glebie rekultywowanej wapnem łącznie z wełną zastosowaną na dwa sposoby. W pozostałych obiektach z odpadami wartość tego parametru kształtowała się na niższym poziomie, zbliżonym do gleby kontrolnej.

Analizując wyniki dotyczące profilu metabolicznego wykorzystywania poszczególnych grup substratów należy stwierdzić, że w niektórych obiektach stwierdzono różnice w wykorzystaniu substratów w stosunku do gleby kontrolnej. W początkowym okresie odnotowano na ogół mniejsze zużycie amin i amidów, a większą aktywność kataboliczną w stosunku do aminokwasów oraz kwasów karboksylowych i ketonowych. Po upływie 3 lat zaznaczył się większy % wykorzystania amin i amidów oraz mniejszy % zużycia węglowodanów.

Analiza wyników badań nad uzdolnieniami mikroorganizmów z poszczególnych kombinacji do wykorzystania pojedynczych substratów z danej kategorii związków wykazały, że najintensywniej i najczęściej wykorzystywanym źródłem C zarówno w początkowym jak i końcowym okresie badań były pirogronian metylu (C1) należący do węglowodanów oraz L-seryna (C27) z grupy aminokwasów. Analiza skupień dla poszczególnych obiektów doświadczalnych w oparciu o ich profil metaboliczny wykazała, że biorąc pod uwagę uzdolnienia kataboliczne drobnoustrojów w poszczególnych obiektach i terminach w stosunku do 31 różnych substratów węglowych, obiekty te można podzielić na 3 grupy. Przy czym należy zaznaczyć, że uzdolnienia kataboliczne drobnoustrojów charakteryzowały się pewną dynamiką zmian w zależności od rodzaju zastosowanego do rekultywacji odpadu oraz czasu jego oddziaływania. Analiza profilu metabolicznego mikroorganizmów glebowych w czasie wskazuje, że jednorazowe wprowadzenie odpadów nie skutkowało wytworzeniem się trwałego, stabilnego profilu metabolicznego w rekultywowanym gruncie.

Wyniki informujące o aktywności β -glukozydazy dowiodły, że wprowadzone do zdegradowanego gruntu odpady spowodowały istotne zmiany również w tej aktywności. Zmiany

te zależne były od rodzaju zastosowanych odpadów oraz czasu ich oddziaływania na środowisko glebowe. W I roku trwania doświadczenia wprowadzone odpady w większości obiektów spowodowały wzrost aktywności β -glukozydazy. Jedynie zastosowanie w celach rekultywacyjnych wełny mineralnej w formie wkładki 5 cm 50 cm⁻¹, okazało się niekorzystne i spowodowało spadek tego parametru. Wraz z upływem czasu negatywny wpływ zastosowanych odpadów nasilił się. Pozytywny wpływ utrzymywał się natomiast jedynie w obiektach z osadem ściekowym.

Wyniki dotyczące średnich z całego okresu badań tj. z 3 lat dla poszczególnych obiektów wykazały, że najkorzystniejszym dla tej aktywności enzymatycznej był osad ściekowy zastosowany oddzielnie oraz łącznie z innymi odpadami. Zastosowanie wariantów rekultywacji w oparciu o wełnę w formie wkładki okazało się niekorzystne.

Na uwagę zasługuje fakt, że zarówno różnorodności funkcjonalnej jak i aktywność β -glukozydazy charakteryzowały się dużą dynamiką zmian w ciągu całego okresu badań. Zjawisko to świadczy o dużej wrażliwości tych parametrów na zmiany zachodzące w środowisku glebowym. Zaprezentowane badania nad kształtowaniem się profilu metabolicznego populacji dostarczają cennych informacji które uzupełniają lukę w poznaniu bioróżnorodności gleb zdegradowanych rekultywowanych odpadami.

Ocena 3-letniego wpływu zabiegów rekultywacyjnych na życie biologiczne gleby, na podstawie parametrów aktywności enzymatycznej [B.4]

Ważną rolę w przemianach zachodzących w glebie, rzutujących na jej żyzność i zdrowotność odgrywają mikroorganizmy. Większość tych procesów ma charakter enzymatyczny. Podjęto badania (B.4), dotyczyły kierunku, natężenia i trwałości zmian w aktywności enzymatycznej gleby nie tylko w początkowym okresie ale również w kolejnych latach trwania procesów rekultywacyjnych. Dynamikę tych zmian analizowano na tle parametrów fizycznych, chemicznych i fizykochemicznych.

Prezentowana praca wpisuje się w aktualny kierunek w badaniach nad enzymatyką gleb, mający na celu poszukiwanie odpowiedzi na pytanie o możliwość wykorzystanie aktywności enzymatycznej jako wskaźnika żyzności i zdrowotności gleb oraz oczyszczania i rewitalizacji zdegradowanego środowiska (Burns i in., 2013).

Zastosowane środki rekultywujące spowodowały wzrost aktywności enzymów biorących udział w procesach oksydoredukcyjnych tj. dehydrogenaz i katalazy oraz w przemianach azotu i fosforu tj. proteazy, ureazy i fosfatazy. Stymulacji podlegała również aktywność hydrolityczna FDA. Aktywność katalazy, proteazy i ureazy wzrosła pod wpływem wszystkich zastosowanych odpadów i ich kombinacji. Przy czym największy wpływ odnotowano w obiektach gdzie zastosowano osad ściekowy oddzielnie lub łącznie z innymi odpadami. Ponadto stymulacja ww. aktywności enzymatycznych utrzymywała się przez cały okres badań.

Aktywność dehydrogenaz, fosfatazy kwaśnej i aktywność hydrolityczna FDA również podlegały stymulacji, ale tylko w obiektach gdzie w celach rekultywacyjnych zastosowano osad ściekowy oddzielnie lub łącznie z innymi odpadami. W pozostałych obiektach odnotowano brak wpływu, a w przypadku fosfatazy kwaśnej nawet niewielką inhibicję jej aktywności. Odnotowany dodatni wpływ osadu ściekowego na aktywność dehydrogenaz i fosfatazy kwaśne osłabł w miarę upływu czasu. Natomiast podwyższony poziom hydrolizy FDA w obiektach z tym odpadem utrzymywał się przez cały okres trwania doświadczenia.

Pobudzenie aktywności badanych enzymów miało związek z poprawą takich właściwości gleby jak zawartość Corg, Nog., odczynu czy wilgotności. Potwierdzają to odnotowane dodatnie korelacje wszystkich badanych parametrów enzymatycznych z zawartością Corg. i wilgotnością, prawie wszystkich z zawartością Nog. oraz katalazy z odczynem. Na wzrost aktywności enzymów zewnątrzkomórkowych w początkowym okresie miało zapewne wpływ wniesienie pewnej ich puli wraz z odpadami. Odnotowano szczególnie w przypadku osadu ściekowego wysoką aktywność enzymatyczną.

Uzyskane wyniki wyraźnie wskazują na dodatek osadu ściekowego jako najkorzystniejszy sposób pobudzenia życia biologicznego objawiający się stymulacją aktywności enzymatycznej. Dla większości analizowanych aktywności enzymatycznych korzystniejsze okazało się zastosowanie osadu ściekowego łącznie z wapnem niż samego osadu. Istotny dla badanych aktywności enzymatycznych był również sposób aplikacji wełny mineralnej. Korzystniejsze było wymieszanie jej z gruntem w dawce $500 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$. Jedynie w przypadku poziomu hydrolizy FDA i fosfatazy kwaśnej przez większość okresu badawczego silniejszą stymulację spowodowało zastosowanie wełny w formie wkładki $5 \text{ cm} \times 50 \text{ cm}^{-1}$.

Analiza zmian sezonowych badanych aktywności enzymatycznych wykazała, że najwyższe wartości osiągały one głównie wiosną i latem co zapewne miało związek z wyższymi temperaturami w tym okresie niż jesienią.

Pozytywny wpływ zastosowanych zabiegów rekultywacyjnych na badane parametry enzymatyczne nie ograniczył się jedynie do pierwszego roku, ale utrzymywał się z nieco mniejszym nasileniem również w 2-gim i 3-cim roku.

Wszystkie analizowane aktywności enzymatyczne tj. dehydrogenazy, katalaza, ureaza, proteaza, fosfataza kwaśna oraz aktywność hydrolityczna FDA okazały się czułymi wskaźnikami zmian wywołanych dodatkiem odpadów do zdegradowanego gruntu. Jakkolwiek biorąc pod uwagę nasilenie oraz czas utrzymywania się zmian w badanych parametrach, najczulszymi testami okazała się aktywność enzymów odpowiedzialnych za przemiany azotu w glebie, tj. ureazy i proteazy.

Wyniki badań opisanych w cyklu publikacji [B.1-B.5] były również prezentowane na konferencjach naukowych [Zał. 5: K.4; II.B.2.15; II.B.2.16; II.B.2.20; II.B.2.22; II.B.2.23; II.B.2.26; II.B.28-32; II.B.2.34].

Podsumowanie

Wyniki zaprezentowane w publikacjach dowodzą, że wskaźniki mikrobiologiczne takie jak: różnorodność metaboliczna i liczebności poszczególnych grup drobnoustrojów, nasilenie procesów biochemicznych oraz aktywność enzymatyczna użyte na tle właściwości chemicznych, fizycznych i fizykochemicznych są czułymi parametrami zmian, które zachodzą w glebie poddanej rekultywacji odpadami. Zastosowane techniki okazały się dobrym narzędziem do oceny ryzyka związanego z wprowadzaniem materii odpadowej do środowiska glebowego i dowiodły, że materiały użyte do rekultywacji mimo odpadowego charakteru nie stanowią zagrożenia dla życia biologicznego w rekultywowanej glebie. Recykling tych odpadów na drodze wykorzystania ich do celów rekultywacyjnych przyczynił się do pobudzenia życia biologicznego w zdegradowanej glebie poprzez dostarczenie składników pokarmowych dla drobnoustrojów oraz poprawę ich warunków bytowania. Świadczy o tym intensyfikacja aktywności drobnoustrojów, które transformując odpadową materię (głównie pochodzenia osadowego) przyczyniły się do włączenia w obieg unieruchomionych w odpadach biogenów, które są kluczowe z punktu widzenia żyzności gleb tj. węgla, azotu, siarki i fosforu.

Do najistotniejszych osiągnięć wynikających z cyklu prezentowanych prac należą:

1. Wykazanie, że jednorazowe zastosowanie odpadów do celów rekultywacyjnych jest skutecznym sposobem na pobudzenie życia biologicznego w glebie.
2. Analizowane parametry aktywności mikroorganizmów związane z ich rozwojem, różnorodnością, aktywnością biochemiczną i enzymatyczną okazały się czułymi parametrami przydatnymi w monitorowaniu zmian zachodzących w glebie zdegradowanej, rekultywowanej odpadami.
3. Przeanalizowanie natężenia i czasu utrzymywania się zmian w badanych parametrach mikrobiologicznych i wykazanie, że dla pełniejszego obrazu zmian zachodzących w rekultywowanym gruncie wskazane jest dalsze monitorowanie aktywności mikroorganizmów w kolejnych latach.
4. Poznanie profilu metabolicznego drobnoustrojów glebowych i wykazanie, że poszczególne odpady w różnym stopniu kształtują bioróżnorodność gleby. **Warianty z wapnem i wełną mineralną wprowadzoną zarówno w formie wkładki jak i wymieszaną z glebą są najkorzystniejsze dla potencjału katabolicznego i różnorodności funkcjonalnej populacji mikroorganizmów w rekultywowanej glebie.**
5. Wskazanie, że 3 letni okres czasu jest za krótki dla wytworzenia się trwałego, stabilnego profilu metabolicznego w rekultywowanym gruncie.
6. **Zastosowanie osadu ściekowego oddzielnie lub łącznie z innymi odpadami jest najskuteczniejsze w rekultywacji gleby.**
7. **Korzystniejszym dla aktywności mikroorganizmów sposobem zastosowania wełny mineralnej jest wymieszanie jej z gruntem niż wprowadzenie jej w formie wkładki.**
8. Zaprezentowane badania przyczyniają się do pogłębienia wiedzy z zakresu oceny skuteczności i ryzyka związanego ze stosowaniem odpadów w rekultywacji gleb.

Literatura

1. Baran S., Harasimowicz-Herman G., Herman J., 2011b. Odpady przemysłowe jako substancje do odkwaszania gleb. W: Baran S., Łabętowicz J. Krzywy E. (red.) Przyrodnicze wykorzystanie odpadów. Podstawy teoretyczne i praktyczne. Wyd. Roln. i Leśne, Warszawa, 89 – 114.
2. Baran S., Hermann J., Żukowska G., Wójcikowska-Kapusta A., 2011b. Wełna mineralna w kształtowaniu i ochronie środowiska. W: Baran S., Łabętowicz J. Krzywy E. (red.)

- Przyrodnicze wykorzystanie odpadów. Podstawy teoretyczne i praktyczne. Wyd. Roln. i Leśne, Warszawa, 120 – 149.
3. Baran S., Pranagal J., Bik M., 2008. Możliwości wykorzystania wełny mineralne Grodan i osadu ściekowego do kształtowania właściwości wodnych w glebach zdewastowanych w procesie wydobywania siarki metodą Frasha. *Gospodarka Surowcami Mineralnymi*, 24, 81-95.
 4. Bastida F., Zsolnay A., Hernández T., García C., 2008. Past, present and future of soil quality indices: A biological perspective. *Geoderma*, 147, 159-171.
 5. Bunt J.B., Rovira A.D., 1955. Microbiological studies of some subantarctic soils. *Soil Sci.*, 6, 119-128.
 6. Burbianka M., Pliszka A., Janczura E., Teisseyer T., Załęska H., 1971. *Mikrobiologia żywności*. PZWL, Warszawa.
 7. Burns R.G., DeForest J.L., Marxsen J., Sinsabaugh R.L., Stromberger M.E., Wallenstein M.D., Weintraub M.N., Zoppini A., 2013. Soil enzymes in a changing environment: Current knowledge and future directions. *Soil Biol. Biochem.*, 58, 216-234.
 8. Cavigelli M.A., Robertson G.P., 2000. The functional significance of denitrifier community composition in a terrestrial ecosystem. *Ecology*, 81, 1404-1414.
 9. Cele E.N., Maboeta M., 2016. Response of soil enzyme activities to synergistic effects of biosolids and plants in iron ore mine soils. *Int. J. Environ. Sci, Technol.*, 13, 2117-2126.
 10. Drab M., Węglewski S., Długosz A., 2004. Działanie nawozowe osadu ściekowego z mechaniczno-biologicznej oczyszczalni miasta Zielona Góra. *Zesz. Prob.. Post. Nauk Roln.*, 499, 69-77.
 11. Elvazi F., Tabatabai M.A., 1988. Glucosidases and galactosidases in soils. *Soil Biol. Biochem.*, 20, 601-606.
 12. Foght J., Aislabie J., 2005. Enumeration of Soil Microorganisms. W: Margesin, R., Schinner, F. (red.), *Manual of soils analysis. Part 5. Monitoring and assessing soil bioremediation*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 261-280.
 13. Fraç M., Oszust K., Lipiec J., 2012. Community Level Physiological Profiles (CLPP), Characterization and Microbial Activity of Soil Amended with Dairy Sewage Sludge. *Sensors*, 12, 3253-3268.
 14. Furczak J., Joniec J., 2007. Numbers of microorganisms and activity of biochemical processes related with carbon transformations in podzolic soil under willow culture, in fourth year of the soil treatment with sewage sludge. *Pol. J. Environ. Stud.* 16, 587- 592.
 15. Güsewell S., Gessner M.O., 2009. N:P ratios influence litter decomposition and colonization by fungi and bacteria in microcosms. *Funct. Ecol.*, 23, 211-219.
 16. Hill G.T., Mitkowski N.A., Aldrich-Wolfe L., Emele L.R., Jurkonie D.D., Ficke A., Maldonado-Ramirez S., Lynch S.T., Nelson E.B., 2000. Methods for assessing the composition and diversity of soil microbial communities. *Appl. Soil Ecol.*, 15, 25-34.
 17. Insam H., 1997. A new set of substrates proposed for community characterization in environmental samples. W: Insam H., Rangger A. (red.), *Microbial Communities. Functional versus Structural Approach*. Springer, Berlin/Heidelberg, Germany, 259-260.
 18. Insam H., Goberna M., 2004. Use of Biolog® for the Community Level Physiological Profiling (CLPP) of environmental samples. W: Kowalchuk G.A., Bruijn F.J., Head I.M., Akkermans A.D., van Elsas J.D. (red.), *Molecular Microbial Ecology Manual*. Kluwer Academic, Dordrecht, The Netherlands, 853–860.
 19. Jezierska –Tys S., Rachoń L., Rutkowska A., Szumiło G., 2012. Effect of new lines of winter wheat on microbiological activity in Luvisol. *Int. Agroph.*, 26, 33-38.
 20. Johnson J.I., Temple K.L., 1964. Some variables affecting the measurements of catalase activity in soil. *Soil Sci. Soc. Am Proc.*, 28, 207-216.
 21. Joniec J., Furczak J., Baran S., 2012. The Importance of Sludge Microorganisms in Nitrogen Transformations in Podzolic Soil Amended with Sewage Sludge. *Arch. Environ. Prot.*, 38, 35-47.

22. Joniec J., Furczak J., Kwiatkowska E., 2015. Application of biological indicators for estimation of remediation of soil degraded by sulphur industry. *Ecol. Chem. Eng. S*, 22, 269-283.
23. Kozak E., 2007. Ochrona powierzchni ziemi. Stan środowiska w województwie podkarpackim w 2001 roku. Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska w Rzeszowie.
24. Kuhnert-Finkernagel R., Kandeler E., 1996. Lipase activity by titration. W: Schinner F, Kandeler E, Ohlinger R, Margesin R (red.) *Methods in soil biology*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York, 206-207.
25. Kuzyakov Y., 2006. Sources of CO₂ efflux from soil and review of partitioning methods. *Soil Biol. Biochem.*, 38, 425-448.
26. Ladd J.N., Butler J.A.H., 1972. Short-term assays of soil proteolytic enzyme activities using proteins and dipeptide derivatives as substrates. *Soil Biol. Biochem.*, 4, 19-30.
27. Likus-Cieślik J., Pietrzykowski M., Szostak M., Szulczewski M., 2017. Spatial distribution and concentration of sulfur in relation to vegetation cover and soil properties on a reclaimed sulfur mine site (Southern Poland). *Environ. Monit. Assess.*, 189:87.
28. Maciak F. 2003. Ochrona i rekultywacja środowiska. Wyd. SGGW, Warszawa
29. Majewska M., Jaroszuk-Ściśeł J., 2017. Mobilization of cadmium from *Festuca ovina* roots and its simultaneous immobilization by soil in a root-soil-extractant system (*in vitro* test). *Int. J. Phytorem*, 19, 701-708.
30. Martin J., 1950. Use of acid, rose bengal and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. *Soil Sci.* 69, 215-232.
31. Nannipieri P., Kandeler E., Ruggiero P., 2002. Enzyme activities and microbial and biochemical processes in soil. W: Burns, R.G., Dick, R.P., (red.), *Enzymes in the environment*. Marcel Dekker, New York, 1-34.
32. Nicolas C., Hernandez T., Garcia C., 2012. Organic amendments as strategy to increase organic matter in particle-size fractions of a semi-arid soil. *Appl. Soil Ecol.*, 57, 50-58.
33. Nowosielski O., 1974. Metody oznaczania potrzeb nawożenia. PWRiL, Warszawa.
34. Oszust K., Frac M., Lipiec J., 2015. Soil microbial functionality in response to dairy sewage sludge and mineral fertilisers application under winter rape. *Int. J. Environ. Sci. Technol.*, 12, 3675-3684.
35. Płaza G., Nałęcz-Jawecki G., Pinyakong O., Illmer P., Margesin R., 2010. Ecotoxicological and microbiological characterisation of soils from heavy-metal and hydrocarbon contaminated sites. *Environ. Monit. Assess.*, 163, 477-488.
36. Pochon J., Tardieux O., 1962. Techniques d'analyse en microbiologie du sol. Inst. Pasteur, Edit. De la Tourelle, Saint – Mandé (Seine), Paris.
37. Pohland B., Owen B., 2009. Biolog EcoPlates standard methods. TAS technical bulletin Biology, 1, 1-3.
38. Pokorna V., 1964. Method of determining the lipolytic activity of upland and lowland, Pesta and mus. *Poczwow.* 106, 85-87.
39. Rodina A., 1968. Mikrobiologiczne metody badania wód. PWRiL, Warszawa.
40. Ros M., Klammer S., Knapp B., Aichberger K., Insam H., 2006. Long-term effects of compost amendment of soil on functional and structural diversity and microbial activity. *Soil Use Manage.*, 22, 209-218
41. Rühling A., Tyler G., 1973. Heavy metal pollution and decomposition of spruce needle litter. *Oikos*, 24, 402-415.
42. Schnurer J., Rosswall T., 1982. Fluorescein Diacetate Hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter. *Appl. Environ. Microbiol.*, 43, 1256-1261
43. Singh R.P., Agrawal M., 2008. Potential benefits and risks of land application of sewage sludge. *Waste Manage.*, 28, 347-358.
44. Siuta J., Żukowski B., 2008. Degradacja i rekultywacja powierzchni ziemi w Polsce. Instytut Ochrony Środowiska, Warszawa

45. Siwik-Ziomek A., Brzezińska M., Lemanowicz J., Koper J., Szarlip P. 2018. Biological parameters in technogenic soils of a former sulphur mine. *International Agrophys.*, 32, 237-245.
46. Tabatabai M.A., Bremner J.M., 1969. Use of p-nitrophenol phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biol. Biochem.*, 1, 301-307.
47. Tabatabai M.A., Bremner J.M., 1970. Arylosulfatase activity of soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 34, 225-229.
48. Taylor J.P., Wilson B., Mills M.S., Burns R.G., 2002. Comparison of microbial numbers and enzymatic activities in surface soils and subsoils using various techniques. *Soil Biol. Biochem.*, 34:387-401.
49. Thalmann A., 1968. Zur Methodik der Bestimmung der Dehydrogenaseaktivität in Boden mittels Triphenyltetrazolium chlorid (TTC). *Landwirtschaftliche Forschung*, 21, 249 - 258
50. Whitelaw-Weckert M.A., Rahman L., Hutton R.J., Coombes N., 2007. Permanent swards increase soil microbial counts in two Australian vineyards. *Appl. Soil Ecol.*, 36, 224-232.
51. Wolińska A., Stępniewska Z., Szymańska E., 2013. Dehydrogenase activity of soil microorganisms and the total DNA level in soil of different use. *J. Agr. Sci. Tech. B*, 3, 613-621.
52. Zaborowska M., Kucharski J., Wyszowska J., 2016. Biological activity of soil contaminated with cobalt, tin and molybdenum. *Environ. Monit. Assess.*, 188:398.
53. Zantua M.J., Bremner J.M., 1975. Comparison of methods of assaying urease activity in soils. *Soil Biol, Biochem.*, 7, 291-295.

6. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

W początkowym okresie pracy zostałam włączona w badania naukowe prowadzone w Katedrze Mikrobiologii Rolniczej przy współpracy z Katedrą Ekologii Rolniczej i Katedrą Ogólnej Uprawy Roli i Roślin Akademii Rolniczej w Lublinie, w ramach obszaru badawczego: **Aktywność mikroorganizmów w glebach użytkowanych rolniczo**. Badania zaowocowały powstaniem dwóch publikacji z zakresu aktywność mikroorganizmów w glebach odłogowanych oraz uprawianych w zmianowaniu i monokulturze [Zał. 5: I.D.1.1; I.D.1.3]. Wyniki badań były również prezentowane na konferencjach naukowych w formie posterów [Zał. 5: II.B.1.1; II.B.1.7].

Jednym z wytyczonych celów było poznanie wpływu rolniczego zagospodarowania gleby odłogowanej na jej aktywność mikrobiologiczną i biochemiczną [Zał. 5: I.D.1.1]. Włączenie gleby pod uprawę nie wywarło istotnego wpływu na rozwój badanych grup bakterii i grzybów i nie naruszyło charakterystycznego dla odłogu warstwowego zróżnicowania tych drobnoustrojów. Istotne zmiany uwidoczniły się natomiast w przypadku badanych aktywności enzymatycznych. Odnotowano spadek aktywności dehydrogenaz i proteazy przy jednoczesnym wzroście aktywności badanych fosfataz. Przywrócenie funkcji rolniczej badanej glebie zakłóciło również warstwowy rozkład nasilenia tych parametrów enzymatycznych, zmniejszając różnice pomiędzy glebą pochodzącą z warstwy 0-10 cm a 10-20 cm. Dynamika zmian w aktywnościach

badanych enzymów wskazuje, że cechuje je większa wrażliwość na zmiany spowodowane zagospodarowaniem gleby niż liczebności bakterii i grzybów.

Kolejnym nurtem badań w omawianym obszarze są badania nad wpływem różnych systemów uprawy na różnorodność, liczebność oraz aktywność biochemiczną i enzymatyczną gleb [Zał. 5: I.D.1.3]. Wyniki badań wskazują, że w badanym okresie uprawa żyta ozimego zarówno w zmianowaniu jak i w monokulturze nie wpłynęła znacząco na aktywność większości badanych aktywności tj. dehydrogenaz, proteazy i fosfatazy kwaśnej oraz na parametry chemiczne. Jedynie aktywność ureazy podlegała istotnym zmianom. Wykazano pozytywny wpływ uproszczonej agrotechniki na aktywność ureazy oraz dehydrogenazy i proteazy.

W kolejnych latach uczestniczyłam w szeroko zakrojonych kilkuletnich badaniach polowych w ramach zadania badawczego realizowanego w projekcie badawczym własnym, pod kierunkiem prof. dr hab. Jadwigi Furczak. Badania prowadzone były na modelu doświadczenia polowego założonego przez Instytut Gleboznawstwa i Kształtowania Środowiska Przyrodniczego Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Badania te dotyczyły następującego obszaru badawczego: **Aktywność mikroorganizmów w glebie pod uprawą wierzby wiciowej *Salix viminalis* L. nawiezionej osadem ściekowym w okresie 4 lat oddziaływania odpadu na glebę.** Wyniki uzyskane w tych badaniach stały się podstawą do napisania dziewięciu publikacji z listy B MNiSW [Zał. 5: I.D.1.5; I.D.2.1 - I.D.2.8] oraz były prezentowane na licznych konferencjach naukowych w formie referatów i posterów [Zał. 5: I.K.1; I.K.2; I.K.3; II.B.1.4; II.B.1.5; II.B.1.6; II.B.1.11; II.B.1.12; II.B.1.15; II.B.1.8; II.B.1.9; II.B.1.10; II.B.1.13; II.B.1.14; II.B.2.6; II.B.2.14]. Celem badań było poznanie natężenia, kierunku oraz czasu utrzymywania się zmian w liczebności wybranych grup mikroorganizmów i ich aktywności w ciągu czterech lat oddziaływania na glebę bielicową różnych dawek osadu ściekowego. Wyniki dotyczące badanych grup bakterii i grzybów wykazały, że użyźnienie gleby bielicowej osadem ściekowym wywołało w poziomie Ap, istotną stymulację lub tendencję w kierunku pobudzenia ich rozwoju. Odnotowano również stymulację prawie wszystkich, analizowanych procesów biochemicznych i aktywności enzymatycznych. Efekt ten był zależny od dawki zastosowanego osadu, wyraźniej zaznaczając się na ogół w obecności wyższych dawek osadu (5, 10 i 20%). Wzrost liczebności oraz badanych aktywności biochemicznych i enzymatycznych wystąpił najsilniej po założeniu plantacji, po czym podlegał stopniowemu osłabieniu, aczkolwiek utrzymywał się przez wszystkie kolejne lata. Niewielki negatywny wpływ osad ściekowy wywarł jedynie na rozwój bakterii

celulolitycznych oraz na proces amonifikacji. Pobudzenie rozwoju mikroorganizmów oraz większości analizowanych aktywności biochemicznych oraz ograniczenie procesu amonifikacji stwierdzono również w glebie głębiej położonej (20-40 cm). Jednak wpływ osadu był w tych warunkach zdecydowanie słabszy. Podobnie jak w poziomie Ap, oddziaływanie to słabło wraz z upływem czasu. Wyniki dostarczyły cennych informacji z zakresu monitorowania stanu gleb nawożonych osadami ściekowymi w perspektywie początkowych lat oddziaływania tego odpadu na populację mikroorganizmów glebowych.

W celu poznania udziału mikroflory osadowej wprowadzanej z osadem ściekowym do gleby w transformacji węglowej i azotowej materii organicznej prowadziłam równoległe badania laboratoryjne na glebie i osadzie z doświadczenia polowego. Badania realizowałam w ramach obszaru badawczego: **Kształtowanie się liczebności i aktywności mikroorganizmów oraz ich udziału w przemianach C i N w glebie wzbogaconej osadem ściekowym w warunkach kontrolowanych**. Wyniki ww. badań zostały opublikowane w cyklu publikacji w tym w czasopiśmie z listy *JCR* [Zał. 5: I.D.1.2; I.D.2.11; I.A.1.3]. oraz były prezentowane na konferencjach w formie posterów [Zał. 5: II.B.1.3; II.B.2.1; II.B.2.2; II.B.2.3; II.B.2.4]. Doświadczenie zostało założone na glebie bielkowej do której wprowadzono osad ściekowy w pięciu dawkach. Odpad zastosowano w dwóch wariantach tzn. poddany sterylizacji i niesterylizowany. Zarówno osad sterylny jak i niesterylny spowodowały wzrost badanych aktywności mikroorganizmów związanych z przemianami węgla w glebie [Zał. 5: I.D.1.2; I.D.2.11]. Efekt ten na ogół narastał wraz ze wzrostem dawki zastosowanego odpadu. Osad sterylny spowodował większe w porównaniu do osadu niesterylnego nasilenie rozwoju badanych grup bakterii i grzybów oraz aktywności oddechowej. Tempo mineralizacji celulozy oraz aktywności dehydrogenazowej i lipolitycznej gleby były wyraźniej stymulowane przez osad niesterylny. Zmiany zachodziły z różnym nasileniem w poszczególnych terminach. Badania wykazały niekorzystne oddziaływanie na siebie mikroorganizmów osadowych i glebowych. Mikroorganizmy osadowe raczej nie zasiedliły gleby i nie odgrywały znaczącej roli w mineralizacji celulozy i aktywnościach enzymatycznych. Udział w aktywności lipazy w glebie mogły mieć egzoenzymy wprowadzone wraz z osadem.

W badaniach nad udziałem mikroorganizmów w przemianach azotu w glebie wzbogaconej osadem sterylnym i niesterylnym, analizowano liczebność bakterii i grzybów rozkładających białko, nasilenie procesu amonifikacji, nasilenie procesu nitryfikacji oraz aktywność

proteolityczną [Zał. 5: I.A.1.3]. Uzyskane wyniki wskazują na stymulację zarówno przez niesterylny jak i sterylny osad liczebności badanych grup drobnoustrojów oraz nasilenie nityfikacji i aktywność proteazy. Jedyne proces amonifikacji podlegał hamowaniu. Oddziaływanie było zależne od wielkości zastosowanej dawki i najwyraźniej uwidoczniło się w przypadku większych dawek osadów. Istotnie niższa liczebność grzybów rozkładających białko oraz aktywność prawie wszystkich (wyj. amonifikacja), analizowanych parametrów biochemicznych w glebie z osadem sterylnym niż niesterylnym wskazuje na udział mikroorganizmów pochodzenia osadowego w kształtowaniu mikrobiologicznych przemian azotu w glebie wzbogaconej tym odpadem.

W doświadczeniu wazonowym prowadziłam również badania należące do kolejnego obszaru badawczego, którym był **Wpływ granulatu nawozowego sporządzonego na bazie osadu ściekowego oraz stopnia rozdrobnienia osadów wprowadzanych do gleby na jej aktywność mikrobiologiczną**. Wyniki zostały zamieszczone w dwóch publikacjach, w tym jednej w czasopiśmie z listy *JCR* [Zał. 5: I.A.1.4; I.D.1.4] i były prezentowane na konferencjach [Zał. 5: II.B.1.2; II.B.2.12; II.B.2.13; II.B.2.17; II.B.2.18; II.B.2.21; II.B.2.24; II.B.2.25].

Jednym z dwóch kierunków badawczych, które realizowałam w ramach omawianego obszaru było poznanie w jaki sposób preparat nawozowy sporządzony na bazie osadu ściekowego kształtuje liczebność mikroorganizmów glebowych związanych z krążeniem węgla, azotu i fosforu oraz ich aktywność biochemiczną i enzymatyczną. Badania dotyczące gleby obsianej gorczycą [Zał. 5: I.A.1.4] wykazały zarówno w 1-szym jak i 2-gim roku istotny stymulujący wpływ granulatu nawozowego na liczebność badanych grup bakterii i grzybów oraz na aktywność oddechową i fosfatazową. Proces mineralizacji celulozy oraz aktywność dehydrogenazowa, lipolityczna i proteolityczna podlegały niewielkiej inhibicji. Zastosowanie nawozu mineralnego NPK spowodowało jedynie niewielką tendencję spadkową liczebności badanych grup bakterii w 2-gim roku. Niepokojący jest przy tym fakt istotnej stymulacji rozwoju grzybów co może być zjawiskiem niekorzystnym z punktu widzenia jakości gleb. Nawożenie NPK stymulowało również procesy oddychania i mineralizacji celulozy oraz aktywność dehydrogenaz i fosfatazy kwaśnej, ale tylko w początkowym okresie. W ciągu dwóch lat zaznaczył się negatywny wpływ nawożenia mineralnego na aktywność proteolityczną i lipolityczną w glebie.

Wyniki uzyskane na glebie spod uprawy owsa oraz kukurydzy również wykazały w większości przypadków stymulujący wpływ preparatu osadowego na rozwój badanych grup drobnoustrojów oraz na aktywności biochemiczne.

Wyniki wskazują, że granulaty mineralno-organiczne korzystniej wpływają na większość badanych parametrów biologicznych niż nawożenie mineralne, co świadczy o jego przydatności z punktu widzenia praktyki rolniczej.

Kolejnym kierunkiem realizowanym w ramach omawianego obszaru były badania dotyczące oceny wpływu stopnia rozdrobnienia osadu ściekowego na aktywność mikroorganizmów glebowych. [Zał. 5: I.D.1.4]. Badania prowadzono w warunkach laboratoryjnych na glebie bielcowej, do której wprowadzono osady ścieków komunalno-przemysłowych w dwóch wariantach, tj. rozdrobniony, a następnie przesiany przez sito o średnicy oczek 0,5 mm oraz nierozdrobniony. Uzyskane wyniki wykazały, że zastosowanie rozdrobnionego osadu spowodowało korzystniejsze zmiany w badanych aktywnościach niż osad nierozdrobniony. Wprowadzenie obu dawek rozdrobnionego odpadu skutkowało wzrostem liczby wszystkich badanych grup bakterii, a wyższej jego dawki również grzybów celulolitycznych i proteolitycznych. Silnie rozdrobniony osad przyczynił się również do stymulacji obu procesów związanych z przemianami azotu, tj. amonifikacji i nityfikacji oraz wszystkich aktywności enzymatycznych.

W 2005 roku obroniłam pracę doktorską, za którą otrzymałam Nagrodę II^o J.M. Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora nauk rolniczych brałam czynny udział w badaniach realizowanych w ramach obszaru: **Wpływ wieloletniego oddziaływania osadu ściekowego na parametry aktywności drobnoustrojów glebowych związane z transformacją C i N w glebie pod uprawą wierzby wiciowej *S. viminalis***. Badania podjęłam biorąc pod uwagę wyniki badań polowych, które wykazały utrzymujący się przez 4 lata wpływ osadu na aktywność mikroorganizmów glebowych. Celem było określenie zmian, które zachodzą w mikrobiologicznej aktywności gleby, tym razem w perspektywie długiego okresu czasu. Podjęto również próbę weryfikacji użytych testów jako wskaźników odzwierciedlających wieloletnie skutki oddziaływania osadu ściekowego i produktów jego transformacji na stan mikrobiologiczny gleby. Kompleksowy monitoring mikrobiologiczny może przyczynić się bowiem do prognozowania ekologicznych skutków długotrwałego wpływu osadu ściekowego na funkcjonowanie mikrobiocenozy glebowej. Badania

te zaowocowały kolejnymi publikacjami w tym w czasopismach z listy *JCR* [Zał. 5: I.A.1.1; I.A.1.2; I.D.2.7] i komunikatami na konferencjach naukowych [Zał. 5: II.B.2.7; II.B.2.8; II.B.2.9; II.B.2.10; II.B.2.11].

Badania nad aktywnością lipolityczną gleby nawiezionej osadem ściekowym [Zał. 5: I.D.2.7] wykazały, że wpływ zastosowanego odpadu był widoczny jeszcze w dziewiątym roku po jego zastosowaniu. Efekt ten wystąpił w obu warstwach gleby, silniej zaznaczając się w górnej warstwie (0-20 cm). W przypadku bakterii, stymulację ich rozwoju odnotowano tylko w pojedynczych kombinacjach. Natomiast rozwój grzybów nasilił się w poziomie Ap gleby w większości obiektów z osadem, natomiast w warstwie 20-40 cm jedynie w obiekcie z najwyższą jego dawką. Należy podkreślić, że oddziaływanie osadu kształtowało się na niższym poziomie niż w latach poprzednich. Aktywność lipazy w glebie z głębokości 0-20 cm była istotnie stymulowana w 5-tym roku przez prawie wszystkie dawki osadu. Natomiast w glebie z głębokości 20-40 cm wpływ osadu wystąpił w tym okresie jedynie w kombinacjach z najwyższą jego zawartością. Istotne pobudzenie aktywności lipazy utrzymywało się również w 9-tym roku, ale tylko w obecności wyższych dawek odpadu (150 Mg ha^{-1} , 300 Mg ha^{-1} i 600 Mg ha^{-1}).

Wyniki dotyczące aktywności drobnoustrojów w glebie po pięciu latach od nawiezienia jej osadem ściekowym [Zał. 5: I.A.1.1] wykazały, że w poziomie Ap nadal utrzymuje się stymulacja rozwoju większości badanych grup drobnoustrojów, tj. bakterii oligo- i makrotroficznych, grzybów nitkowatych, bakterii i grzybów celulolitycznych oraz niewielki wzrost liczebności bakterii proteolitycznych. Odnotowano również nasilenie oddychania, tempa mineralizacji celulozy, nityfikacji, aktywności dehydrogenazowej i proteolitycznej. Natomiast proces amonifikacji nadal podlegał inhibicji. W głębszej warstwie gleby (20-40 cm) odnotowano również dodatni wpływ osadu, ale był on zdecydowanie słabszy i dotyczył tylko niektórych ww. parametrów (bakterie makrotroficzne, grzyby nitkowate, bakterie celulolityczne, oddychanie i tempo mineralizacji celulozy).

W dziewiątym roku od nawiezienia gleby osadem ściekowym [Zał. 5: I.A.1.2] w obu warstwach gleby nadal utrzymywał się jego wpływ na większość analizowanych właściwości mikrobiologicznych (wyj. bakterie proteolityczne) i na wszystkie biochemiczne. Wyraźnej stymulacji podlegały bakterie celulolityczne i analizowane grupy grzybów. Podwyższoną aktywność wykazały również prawie wszystkie parametry biochemiczne, z wyjątkiem

amonifikacji (w obu warstwach gleby) i nitryfikacji (w glebie głębiej położonej), w przypadku których stwierdzono istotną inhibicję.

Uzyskane wyniki wykazały, że oddziaływanie jednorazowo wprowadzonego do gleby osadu ściekowego nie miało charakteru krótkotrwałego. Utrzymujące się jeszcze w 9-tym roku zmiany w badanych aktywnościach mikroorganizmów świadczą o przydatności użytych wskaźników w monitorowaniu stanu środowiska glebowego, nawożonego osadami ścieków komunalno-przemysłowych.

Kolejnym istotnym elementem mojej pracy naukowej był udział w badaniach z obszaru dotyczącego **Oceny fitotoksyczności i zawartości związków fenolowych w glebie nawiezionej osadem ściekowym i obsadzonej wierzba wiciową *S. viminalis***. Badania z tego zakresu stanowią kontynuację badań, które omówiłam w poprzednim obszarze badań dotyczą jednak innych niż aktywność mikrobiologiczna aspektów jakości gleb nawożonych osadami ściekowymi. Wyniki zostały opublikowane w dwóch pracach w czasopiśmie z listy B MNiSW [**Zał. 5: I.D.2.9; I.D.2.10**] oraz były prezentowane na konferencjach [**Zał. 5: II.B.1.16; II.B.1.17; II.B.2.10**]. Podczas przyrodniczego stosowania osadów ściekowych istnieje ryzyko wprowadzenia do środowiska związków o charakterze toksycznym. Dlatego też odpady te obok pozytywnego wpływu na szereg właściwości fizycznych, chemicznych i biologicznych środowiska glebowego mogą przyczynić się do akumulacji m.in. fenoli w glebie, które jak powszechnie wiadomo wykazują szerokie, toksyczne działanie zarówno na organizmy roślinne, jak i zwierzęce.

Wprowadzenie do gleby osadu ściekowego skutkowało utrzymującymi się przez 9 lat zmianami w zawartości związków fenolowych [**Zał. 5: I.D.2.10**]. Efekt ten zaznaczył się wyraźniej w pierwszych latach badań i był silniejszy w poziomie Ap niż w warstwie 20-40 cm. W poziomie Ap odnotowano najczęściej wzrost koncentracji fenoli, który potęgował się na ogół wraz ze wzrostem dawki osadu i utrzymywał się do 5-go roku badań. W warstwie 20-40 cm oddziaływanie osadu na ten parametr nie było jednoznacznie ukierunkowane i ujawniło się w glebie z wyższymi dawkami zazwyczaj w postaci wzrostu lub spadku jego wartości. Przeprowadzone badania wykazały, że wprowadzony jednorazowo osad ściekowy wywołuje długotrwałe zmiany w zawartości związków fenolowych w glebie. Dlatego też wskazane jest wieloletnie monitorowanie kształtowania się poziomu tych związków w glebach nawożonych tym odpadem.

Badania nad fitotoksycznością gleby nawiezionej osadem ściekowym podjęto w celu sprawdzenia, czy w ciągu dziewięciu lat oddziaływania osadu ściekowego na glebę nie dochodzi do wzrostu fitotoksyczności w środowisku glebowym [Zał. 5: I.D.2.9]. Na materiale glebowym wykonywano dwa rodzaje biotestu przy użyciu *Lepidium sativum* L., jako rośliny testowej. Pierwszy test pozwolił na określenie wpływu całokształtu warunków powstałych po wniesieniu osadu do gleby na kiełkowanie oraz na rozwój siewek *L. sativum* (indeks wzrostu). Drugi biotest umożliwił przeanalizowanie wpływu związków rozpuszczalnych w wodzie na kiełkowanie i wzrost korzenia *L. sativum* mierzony po 2 i 4 dniach. Uzyskane wyniki wykazały, że zastosowany jednorazowo osad ściekowy wywołał zmiany w analizowanych parametrach rośliny testowej. Zmiany te występowały w ciągu całego okresu badawczego z różnym nasileniem. W poziomie Ap proces kiełkowania nasion w glebie podlegał stymulacji w obiektach z wyższymi dawkami osadu, ale jedynie w drugim roku. W glebie z głębokości 20-40 cm wystąpiło w okresie tym hamowanie kiełkowania, ale tylko pod wpływem 75 i 150 Mg osadu na hektar. W początkowych latach doświadczenia indeks wzrostu osiągał wyższe wartości zarówno w glebie wierzchniej warstwy jak i głębiej położonej. Natomiast w 9-tym roku badań stwierdzono obniżenie jego poziomu. Wyciągi glebowe z kombinacji zawierających osad ściekowy nie wywarły wpływu na proces kiełkowania nasion. Jedynie w 2-gim roku liczba wykiełkowanych nasion wzrosła w niewielkim stopniu w poziomie Ap. Przyrost korzenia, mierzony po upływie 2 jak i 4 dni, podlegał przez prawie cały okres badań, na ogół hamowaniu w obiektach z wyższymi dawkami osadu. Oddziaływanie to silniej wystąpiło pod wpływem wyciągów glebowych z poziomu Ap. Biowskażnik *Lepidium sativum* okazał się czułym testem zmian rozwoju rośliny w badanych warunkach. Warto podkreślić, że najmniejszy wpływ zastosowany odpad wywarł na proces kiełkowania. Natomiast najbardziej podatny na oddziaływanie osadu był wzrost korzenia testowanej rośliny.

Za dotychczasowy dorobek naukowy otrzymałam Nagrodę J.M. Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie.

W kręgu moich zainteresowań naukowych był również obszar dotyczący: **Badan nad stanem gruntów zdegradowanych przez przemysł wydobywczy, poddanych rekultywacji różnymi odpadami, w oparciu o wskaźniki mikrobiologiczne, biochemiczne, enzymatyczne i chemiczne.** Ta problematyka badawcza została przedstawiona w publikacji w czasopiśmie

z listy *JCR* [Zał. 5: I.A.1.7], oraz w postaci komunikatów na konferencjach naukowych [Zał. 5: II.B.2.5; II.B.2.38; II.B.2.39; II.B.2.40].

Badania prowadzone w ramach współpracy międzynarodowej z Katedrą Gleboznawstwa, Chemii Środowiska i Hydrologii na Uniwersytecie Rzeszowskim oraz z Katedrą Biologii i Chemii Uniwersytetu Pedagogicznego im. Ivana Franko w Drohobyczu na Ukrainie dotyczyły wykorzystania parametrów aktywności mikroorganizmów glebowych do oceny skuteczności rekultywacji składowiska przy użyciu różnych odpadów tj. obornika, trocin i odpadu popieczarkowego [Zał. 5: I.A.1.7]. Badania wykonywane były na modelu doświadczenia polowego na terenie rekultywowanego składowiska odpadów powstałych w trakcie wydobywania i przetwórstwa ozokerytu, założonego w ramach międzynarodowego projektu: The Cross-Border Cooperation Programme Poland-Belarus-Ukraine 2007-2013, Grant agreement: IPBU 03.01.00-18-629/11-00. Uzyskane wyniki wykazały, że zastosowane odpady wpłynęły na ogół pozytywnie na omawiane aktywności mikrobiologiczne, biochemiczne i enzymatyczne w rekultywowanym gruncie, zarówno obsianym *Trifolium hybridum*, jak i *Dactylis glomerata*. Negatywny wpływ odnotowano tylko w niektórych obiektach w przypadku ogólnej liczby bakterii o małych wymaganiach pokarmowych, liczebności bakterii celulolitycznych, liczebności grzybów lipolitycznych i aktywności β glukozydazy i lipazy. Nasilenie oddziaływania zależne było od rodzaju odpadu oraz jego dawki, a także gatunku rośliny. Najsilniejszy wpływ na analizowane parametry wywarł obornik, osad ściekowy oraz odpad popieczarkowy, natomiast najmniej korzystny okazał się dodatek trocin. Biorąc pod uwagę dawkę odpadu najkorzystniejsza okazała się wyższa dawka obornika oraz niższa odpadu popieczarkowego. Najczulszymi parametrami była liczebność bakterii lipolitycznych, bakterii i grzybów celulolitycznych oraz aktywność hydrolityczna fluoresceiny, a w dalszej kolejności aktywność dehydrogenaz, β -glukozydazy i lipazy.

Innym kierunkiem badań, który realizowałam w ramach omawianego obszaru naukowego były badania laboratoryjne nad oddziaływaniem różnych odpadów m.in. wełny mineralnej na aktywność mikrobiologiczną gleb zdegradowanych. Wyniki były prezentowane na konferencji [Zał. 5: II.B.2.5]. Badanie te realizowałam jako główny wykonawca w kolejnym zadaniu badawczym pod kierunkiem prof. dr hab. Jadwigi Furczak w ramach projektu badawczego własnego. Badania prowadzone były na modelu doświadczenia wazonowego w którym glebę zdegradowaną nawieziono różnymi dawkami odpadów i obsiano mieszanką traw. Największy

wpływ na rozwój omawianych grup drobnoustrojów wywarło zastosowanie wełny mineralnej w różnych dawkach łącznie z osadem w dawce 100 t ha⁻¹. Efekt ten uwidocznił się w postaci stymulacji rozwoju bakterii oligotroficznych i proteolitycznych oraz grzybów nitkowatych oraz niewielkiego spadku liczebności grzybów proteolitycznych. Aktywność oddechowa oraz enzymatyczna podlegała nasileniu również w obiektach gdzie wełnę zastosowano łącznie z osadem. Wyniki wykazały pobudzenie życia biologicznego w zdegradowanej glebie na skutek wniesienia do niej odpadów.

Kolejnym nurtem badań, z omawianego zakresu była ocena wpływu sposobu rekultywacji i zagospodarowania na zawartość siarki, zakwaszenie i właściwości chemiczne gleb zdegradowanych przez przemysł wydobywczy siarki. Podjęcie tego typu badań wynikało z charakteru degradacji ponieważ eksploatacja siarki powoduje kwasową degradację gleby, która przyczynia się do niszczenia jej właściwości fizykochemicznych, chemicznych i biologicznych. Wyniki badań w których uczestniczyłam w ramach współpracy z Katedrą Gleboznawstwa, Chemii Środowiska i Hydrologii Uniwersytetu Rzeszowskiego zostały zaprezentowane w formie dwóch komunikatów konferencyjnych [Zał. 5: II.B.2.39; II.B.2.40]. Analizie poddano glebę po eksploatacji siarki metodą otworową (Jeziórko, Basznia) i metodą odkrywkową (Machów). Gleby po kopalni siarki Jeziórko zagospodarowane w kierunku łąkowym wykazywały większą zawartość siarki siarczanowej niż gleby leśne. Niewielkie zróżnicowanie zawartości (S-SO₄) wykazywały gleby zagospodarowane w kierunku łąkowym po Kopalni Siarki „Machów”. Największą zawartością siarki siarczanowej (7,55 g kg⁻¹), po Kopalni Siarki „Basznia” charakteryzowała się gleba zdegradowana. Poziomy powierzchniowe badanych gleb po Kopalni Siarki „Jeziórko”, charakteryzowały się zróżnicowanym odczynem: wartość pH od 2,83 do 7,19, a gleby po Kopalni Siarki „Machów” od 6,76 do 7,80. Niskie wartości pH zaobserwowano w większości badanych gleb po Kopalni Siarki „Basznia”.

W badanych gruntach po Kopalni Siarki „Jeziórko”, „Machów” i „Basznia”, węgiel organiczny podlegał akumulacji w poziomach powierzchniowych. Największą zawartość Corg.- 43,4 g kg⁻¹ oznaczono w profilu gleby zrekultywowanej i zagospodarowanej w kierunku leśnym. Azot ogólny podlegał akumulacji w powierzchniowych poziomach gleb po Kopalni Siarki „Jeziórko” i „Machów”. Najmniejszą zawartość azotu stwierdzono w gruncie zdegradowanym i nierekultywowanym w Jeziórku. Zawartość przyswajalnego fosforu w poziomach powierzchniowych gleb zrekultywowanych po Kopalni Siarki „Jeziórko” była wysoka i bardzo

wysoka, a niska lub bardzo niska w gruntach po Kopalni Siarki „Machów” i „Basznia”. Najzasobniejsze w potas oraz magnez okazały się gleby zrehabilitowane i zagospodarowane w kierunku łąkowym.

Degradacja gleb spowodowana przez kopalnictwo siarki skutkuje silną, wieloraką degradacją środowiska glebowego, prowadzącą do zamierania życia biologicznego. Podejmowane zabiegi rekultywacyjne na tych terenach mają na celu przywrócenie w nich równowagi w czym duży udział mają mikroorganizmy glebowe. W przeciwieństwie do procesów degradacji procesy rekultywacji wymagają długiego okresu czasu. Dlatego w kręgu moich zainteresowań znalazły się również wieloletnie skutki rekultywacji gleby za pomocą różnych odpadów tj. osadu ściekowego, wełny mineralnej i wapna poflotacyjnego [Zał. 5: II.B.2.38]. Próbki pobierano w 6 i 7 roku od wprowadzenia do gruntu odpadów. Otrzymane wyniki wykazały, że nawet jednorazowe wprowadzenie do zdegradowanego gruntu w celach rekultywacyjnych odpadów wywołuje długotrwałe skutki w aktywności mikroorganizmów glebowych. Jakkolwiek charakter odnotowanych zmian nie był jednakowy dla wszystkich analizowanych aktywności. Odnotowano pozytywny wpływ zabiegów rekultywacyjnych na rozwój badanych grup bakterii i aktywność oddechową i dehydrogenazową. Natomiast wpływ na rozwój grzybów i aktywność hydrolaz był na ogół negatywny. Należy zaznaczyć, że najtrwalsze zmiany wywołał dodatek osadu ściekowego. Warto podkreślić, że najczęściej zmianom podlegała aktywność fosfatazy kwaśnej, a także liczebność bakterii oligotroficznych i grzybów celulolitycznych. Powyższe obserwacje wskazują na dużą czułość tych właśnie parametrów oraz ich przydatność w monitorowaniu długotrwałych skutków rekultywacji gleb odpadami.

Prowadziłam również badania będące kontynuacją badań, których wyniki przedkładałam jako osiągnięcie naukowe. Wyniki prezentowałam na konferencjach naukowych [Zał. 5: II.B.2.19; II.B.2.27; II.B.2.36] oraz zostały zamieszczone w publikacji, która obecnie jest w redakcji czasopisma z listy JCR [Zał. 5: I.A.2.3]. Wyniki dotyczące stężenia związków fenolowych w I roku rekultywacji gleby wykazały wzrost analizowanego parametru chemicznego we wszystkich obiektach w których w celach rekultywacyjnych zastosowano osad ściekowy. Analiza stanu fitotoksyczności gleby w oparciu o indeks wzrostu *Lepidium sativum* L. wykazała pozytywny wpływ wprowadzonych odpadów tj. osadu ściekowego wełny mineralnej i wapna poflotacyjnego na kiełkowanie i przyrost masy rośliny. W II roku badań odnotowano we wszystkich obiektach z odpadami wzrost liczby bakterii proteolitycznych. Rozwój grzybów

proteolitycznych nasilił się tylko w obiektach z osadem ściekowym. W III roku liczebność drobnoustrojów rozkładających białko utrzymywała się na poziomie kontroli. Proces nityfikacji podlegał w tym okresie wyraźnej stymulacji w obiektach z osadem ściekowym, a proces amonifikacji hamowaniu.

W ramach współpracy z Katedrą Inżynierii Środowiskowej Katolickiego Uniwersytetu Lubelskiego, w mojej pracy naukowej zajmowałam się również tematyką dotyczącą: **Wpływu różnych dodatków na aktywność bakterii i grzybów przeprowadzających przemiany węglowej materii organicznej oraz na samą materię organiczną w kontekście jej podatności na utlenianie.** Wyniki z tego zakresu zostały opublikowane w czasopiśmie z listy JCR [Zał. 5: I.A.1.5] Z aktywnością mikrobiologiczną gleb wiąże się ściśle podatność substancji organicznej na utlenianie, ponieważ procesy mineralizacji i humifikacji polegają zasadniczo na reakcjach utleniania przebiegających przy udziale enzymów których głównymi producentami są bakterie i grzyby glebowe. Celem podjętych badań była analiza jakości substancji organicznej oraz aktywności mikrobiologicznej gleby płowej wzbogaconej różnymi materiałami organicznymi i mineralnymi tj. obornikiem, ilem, wapnem poflotacyjnym, tlenkiem glinu i żelaza oraz preparatem koro-keratyno-mocznikowy, podczas trzyletniego doświadczenia poletkowego. Wprowadzone do gleby komponenty w różnym stopniu wpływały na badane parametry aktywności mikrobiologicznej w ciągu całego okresu badań. Zastosowane w doświadczeniu materiały wpłynęły również na zróżnicowanie podatności na utlenianie substancji organicznej gleby płowej. Gleby wzbogacone obornikiem, ilem w połączeniu z wapnem, glinem, żelazem charakteryzowały się ograniczoną podatnością substancji organicznej na utlenianie, zaś zastosowany preparat koro-keratyno-mocznikowy przyczynił się do znacznej jej podatności. Powyższe obserwacje wskazują, że drobnoustroje glebowe w pierwszej kolejności wykorzystują związki węgla podatnego na biologiczne utlenianie czyli łatwodegradowalnego. Natomiast w miarę upływu czasu w glebie doszło do wyselekcjonowania się populacji drobnoustrojów uzdolnionych do korzystania z frakcji węgla trudnodegradowalnego. Powyższe obserwacje potwierdza również nasilenie procesu oddychania, odnotowane w glebie dopiero w drugim roku badań. Wynika z tego, że prowadzenie badań nad żyznością gleb z wykorzystaniem parametrów biochemicznych jest słuszne w doświadczeniach wieloletnich, ponieważ trwałe zmiany biologiczne w glebie ujawniają się najczęściej dopiero po kilku latach stosowania określonych zabiegów agrotechnicznych.

Moje zainteresowania naukowe dotyczące wykorzystania wskaźników aktywności mikroorganizmów w monitorowaniu środowiska nie ograniczają się tylko do gleb. Wyrazem tego jest kolejny obszar badawczy: **Wykorzystanie wskaźników mikrobiologicznych w ocenie jakości wód powierzchniowych przeznaczonych do zaopatrzenia ludności w wodę do spożycia**, który realizowałam we współpracy z Katedrą Gleboznawstwa, Chemii Środowiska i Hydrologii na Uniwersytecie Rzeszowskim i z Powiatową Stacją Sanitarno-Epidemiologiczną w Mielcu. Wyniki badań zostały opublikowane w publikacji w czasopiśmie z listy *JCR* [Zał. 5: I.A.1.6]. Mikroorganizmy chorobotwórcze, to częsty składnik wód powierzchniowych trafiający do rzek wraz ze ściekami. Ilość bakterii chorobotwórczych w wodach rzek waha się w zależności od różnych czynników. W związku z zagrożeniem jakie mogą powodować mikroorganizmy chorobotwórcze dla ludzi i zwierząt, prowadzony jest stały monitoring ich ilości w wodach powierzchniowych. Celem pracy jest ocena ilości bakterii grupy coli, grupy coli typu termotolerancyjnego (kałowego), enterokoków kałowych i *Salmonella* w wodach powierzchniowych rzeki Wisłoka przeznaczonych do zaopatrzenia ludności miasta Mielec w wodę do spożycia. W okresie badawczym średnia liczebność bakterii grupy coli i bakterii grupy coli termotolerancyjnych w wodzie rzeki Wisłoki wahała się w szerokim zakresie, zachowując trend spadkowy. Jakość wody była dobra, należy jednak zaznaczyć, że sporadycznie, badane parametry sanitarne wykluczały ją z przeznaczenia do celów zaopatrzenia ludności w wodę do spożycia. Średnia liczebność enterokoków kałowych była zróżnicowana w okresie badawczym przy ustalonym trendzie wzrostu ich występowania. Liczebności te nie przekraczały norm dotyczących wód powierzchniowych określonych w Rozporządzeniu z 2002 r. W wieloletnim okresie badań, główny wpływ na stan sanitarny wód powierzchniowych Wisłoki wykazywały zanieczyszczenia pochodzenia ludzkiego. Jedynie w 2006 roku były to zanieczyszczenia o charakterze odzwierzęcym. W okresie badawczym nie stwierdzono występowania w wodach Wisłoki chorobotwórczych pałeczek z rodzaju *Salmonella*. Analizowane parametry sanitarne wody powierzchniowej Wisłoki, z ujęcia dla miasta Mielca, wykazywały dużą zmienność w zależności od pory roku i niekiedy od wartości pH wody. Stwierdzono występowanie bardzo wysokiej, dodatniej korelacji ($r_{x,y} \geq 0.7$) pomiędzy przewodnością elektrolityczną właściwą wody, a liczebnością bakterii z grupy coli i coli typu termotolerancyjnego. Bardzo wysoką korelację dodatnią ($r_{x,y} = 0.85$) wykazano także pomiędzy wskaźnikiem BZT₅, a liczebnością enterokoków kałowych.

Kolejny obszar badawczy, który realizowałam jako wykonawca zadania badawczego w ramach działalności statutowej, pod kierunkiem prof. dr hab. Stefanii Jezierskiej-Tys dotyczył: **Wpływu różnych systemów uprawy tj. konwencjonalnego i organicznego na różnorodność metaboliczną, liczebność i aktywność biochemiczną mikroorganizmów glebowych.** Badania te realizowałam przy współpracy z Katedrą Herbologii i Technik Uprawy Roślin Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie i Zakładem Mikrobiologii Rolniczej Instytutu Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa w Puławach. Wyniki tych badań zostały zaprezentowane na konferencjach [Zał. 5: II.B.2.33; II.B.2.35; II.B.2.37], oraz zamieszczone w publikacji, która w chwili obecnej jest w recenzji w czasopiśmie z listy *JCR* [Zał.5: I.A.2.1]. W ramach omawianej tematyki analizowałam liczebności oraz aktywności biochemiczną i enzymatyczną gleby pod uprawą owsa, pszenicy i jęczmienia, uprawianych w dwóch systemach uprawy tj. konwencjonalnym i ekologicznym. Badania prowadzone były na glebie płowej pochodzącej z 3-letniego doświadczenia polowego. Uzyskane wyniki wykazały, że uprawa ekologiczna pszenicy w systemie ekologicznym stworzyła korzystniejsze warunki dla rozwoju badanych grup drobnoustrojów glebowych.

Aktualnie prowadzę badania przy współpracy z Katedrą Herbologii i Technik Uprawy Roślin, Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie nad oceną wpływu odpadu popieczarkowego i obornika na różnorodność metaboliczną, liczebność i aktywność biochemiczną mikroorganizmów glebowych. Drugi kierunek badań, który realizuję wspólnie z Instytutem Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie dotyczy wpływu nanocząstek ZnO i CuO na liczebność bakterii i grzybów oraz ich aktywność enzymatyczną w różnych typach gleb. Wyniki tych badań zostały przedstawione w publikacji, która obecnie znajduje się w recenzji w czasopiśmie z listy *JCR* [Zał.5: I.A.2.2]. Prowadzę również badania we współpracy z Zakładem Chemii Środowiskowej z Uniwersytetu Marii Curie Skłodowskiej w Lublinie z zakresu oceny wpływu biowęglu, otrzymanego z osadu ściekowego lub mieszaniny osadu z wikliną, na zawartość WWA w glebie oraz właściwości i ekotoksykologię gleby. W kręgu moich zainteresowań jest również tematyka badawcza dotycząca wpływu pestycydów na różnorodność metaboliczną, liczebność i aktywność populacji mikroorganizmów w glebie pod uprawą różnych odmian rzepaku. Wyniki z tego zakresu zostały przedstawione w publikacji, która obecnie jest złożona w redakcji czasopisma z listy *JCR* [Zał. 5: I.A.2.4].

Podsumowanie

1. Wyniki badań wskazują na dużą czułość badanych aktywności drobnoustrojów glebowych na różne rodzaje antropopresji wywierane na środowisko glebowe, nie tylko w początkowym okresie, ale również w kolejnych latach.
2. Badania wykazały praktyczną i naukową przydatność użytych parametrów mikrobiologicznych, biochemicznych i enzymatycznych w monitorowaniu stanu gleb użytkowanych rolniczo oraz gleb zdegradowanych rekultywowanych odpadami.
3. Wprowadzenie do gleby osadu ściekowego skutkuje utrzymującymi się przez 9 lat pozytywnymi zmianami w aktywności bakterii i grzybów glebowych.
4. **Nowatorskim aspektem moich dotychczasowych badań jest wykazanie przydatności węgla mineralnej w przywracaniu aktywności biologicznej w glebach zdegradowanych. Zastosowanie węgla mineralnej przyczynia się do wzrostu różnorodności metabolicznej drobnoustrojów glebowych, oraz ich liczebności i aktywności biochemicznej, szczególnie przy zastosowaniu jej łącznie z osadem ściekowym.**

W trakcie całego okresu zatrudnienia w celu podnoszenia swoich kwalifikacji jako naukowiec i dydaktyka uczestniczyłam w licznych kursach, szkoleniach, warsztatach i zdobywałam nowe certyfikaty [Zał. 5: II.Q.1]. Odebrałam dwa staże naukowe w Instytucie Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego PAN w Lublinie, w Zakładzie Badań Systemu Gleba – Roślina [Zał. 5: II.L]. Jestem członkiem panelu ekspertów w ramach projektu: „Soil Care for profitable and sustainable crop production in Europe” Nr projektu 677407-2, realizowanego w Programie Horyzont 2020-SFS-2B-2015 (okres realizacji 2016-2021) [Zał. 5: II.N]. Moim zadaniem jest opiniowanie schematów doświadczeń polowych planowanych do założenia w ramach projektu oraz udział w opracowaniu bazy danych potencjalnych odbiorców/interesariuszy projektu SoilCare. Jestem również członkiem Polskiego Towarzystwa Gleboznawczego.

7. Syntetyczne zestawienie dorobku naukowego

Tabela 1. Liczbowe zestawienie dorobku naukowego przed i po uzyskaniu stopnia doktora

Wyszczególnienie		Liczba prac		
		Przed doktoratem	Po doktoracie	Razem
Oryginalne prace twórcze	Samodzielne	-	3	3
	Pierwszy autor	-	13	13
	Drugi i kolejny autor	5	7	12
Razem		5	23	28
Udział w konferencjach	Referaty konferencyjne	3	1	4
	Streszczenia konferencyjne	17	40	57
Razem publikacje		25	64	89

Tabela 2. Syntetyczne zestawienie dorobku naukowego

Lp.	Nazwa czasopisma	Liczba dokonań	IF ^a	IF ^b	Punkty wg MNiSW ^c	Liczba prac	Suma punktów wg MNiSW
Czasopisma z IF							
1.	Polish Journal of Environmental Studies	3	0,947 0,543 0,793	1,111 0,904 0,961	10 13 15	1 1 1	38
2.	Archives of Environmental Protection	1	0,506	0,435	15	1	15
3.	Journal Elementology	1	0,690	0,755	15	1	15
4.	Ecological Chemistry and Engineering, S	2	0,553 0,553	0,706 0,671	15	2	30
5.	International Agrophysics	1	1,242	1,267	25	1	25
6.	International Journal of Environmental Science and Technology	1	2,037	2,152	30	1	30
7.	Ecological Indicators	1	3,983	4,391	35	1	35
8.	Journal of Environmental Management	1	4,005	4,449	35	1	35
Pozostałe czasopisma recenzowane							
9.	Polish Journal of Environmental Studies	1	-	-	10	1	10
10.	Annales UMCS, sec. E	3	-	-	2 4	1 2	10
11.	Polish Journal of Soil Science	6	-	-	6 5 4	1 2 3	28
12.	Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych	3	-	-	3 4	1 2	11

13.	International Agrophysics	2	-	-	6	2	12
14.	Journal Elementology	1	-	-	6	1	6
15.	Ecological Chemistry and Engineering, A	1	-	-	7	1	7
Pozostałe							
16.	Materiały konferencyjne	61	-	-			
17.	Wygłoszone referaty konferencyjne	4	-	-			
18.	Udział w projektach badawczych	6	-	-			
	Razem		15,851	17,802			307

^aIF - wartość IF zgodnie z datą wydania

^bIF – 5-letni IF

MNiSW^c – liczba punktów według wykazu MNiSW zgodnie z datą wydania

Mój dorobek publikacyjny obejmuje **89** pozycji, w tym **28** oryginalnych prac twórczych i **61** komunikatów na konferencje krajowe i międzynarodowe. **11** oryginalnych prac twórczych zostało opublikowanych w czasopismach znajdujących się w bazie *Journal Citation Report*, których sumaryczny *Impact Factor* wynosi **15,851**, a liczba punktów MNiSW **223**. Łączna liczba punktów MNiSW wynosi **307**.

Indeks Hirscha według bazy Web of Science (WoS) wynosi 4

Liczba cytowań moich prac wg **Web of Science** wynosi **50**, suma cytowań bez autocytowań **32**, liczba artykułów cytujących **38**, liczba artykułów cytujących bez autocytowań **29**

Indeks Hirscha według bazy Scopus wynosi 6

Liczba cytowań moich prac wg **Scopus** wynosi **77**, suma cytowań bez autocytowań **40**.

Jolanta Joniec