

## Grzyby mikroskopijne występujące w środowisku glebowym na terenie składowiska komunalnego Barycz w Krakowie

<sup>1</sup>Helena Bis, <sup>1</sup>Krzysztof Frączek, <sup>1</sup>Jacek Grzyb, <sup>2</sup>Ewa Mędręła-Kuder

<sup>1</sup>Katedra Mikrobiologii – Wydział Rolniczo-Ekonomiczny – Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie  
Al. Mickiewicza 21, 31-120 Kraków, Polska

<sup>2</sup>Zakład Higieny i Wychowania Zdrowotnego – Akademia Wychowania Fizycznego w Krakowie  
al. Jana Pawła II 78, 31-571 Kraków, Polska

**Abstrakt.** Celem badań była ocena wpływu składowiska odpadów komunalnych Barycz w Krakowie na kształtowanie się liczebności i składu gatunkowego grzybów mikroskopowych – *Micromycetes* – występujących w środowisku glebowym na składowisku i w jego okolicy. Próbkę gleby do badań pobierano na 17 stanowiskach badawczych w latach 2011–2012. Analizę mikologiczną wykonano metodą posiewu rozcieńczeń. Grzyby izolowano na podłożu MEA. Liczebność grzybów w glebie na badanych stanowiskach położonych na obszarze i wokół składowiska wahała się w granicach od  $6,5 \cdot 10^3$  do  $136,0 \cdot 10^3$  jtk·g<sup>-1</sup> s.m. gleby. Największą odnotowano w lecie, a najmniejszą w zimie 2011 r. Z badanych środowisk glebowych wyizolowano 35 gatunków grzybów należących do 14 rodzajów. Najczęściej reprezentowane były rodzaje: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Verticillium*, *Zygorhynchus*. Metabolity gatunków grzybów potencjalnie toksynotwórczych w testach biologicznych z grochem siewnym *Pisum sativum* wykazywały zmniejszenie energii kiełkowania nasion w 38–100%, a zdolności kiełkowania nasion w 30–98% w stosunku do kontroli.

**słowa kluczowe:** grzyby, gleba, składowisko

### WSTĘP

Działalność bytowa i gospodarcza człowieka jest nieodłącznie związana z wytwarzaniem odpadów. Większość z nich trafia na składowiska. Żadna technologia składowania odpadów nie gwarantuje zabezpieczenia środowiska przyrodniczego (Kozłowski, 1991; Niemiec, Zamorska, 2002). Najbliższe otoczenie tego typu obiektów komunalnych może być zanieczyszczane mikrobiologicznie, w tym bakteriami, wirusami i grzybami. Dlatego też każdy uciążliwy dla środowiska obiekt tego rodzaju powinien być

monitorowany i mieć strefę ochronną, a po zakończonej eksploatacji powinien podlegać rekultywacji (Przybulewska i in., 2010). Warto wiedzieć, jaki jest wpływ tego typu składowisk na zanieczyszczenie mikrobiologiczne gleby w strefie ich oddziaływania, zwłaszcza że do jej skażenia może dochodzić w trakcie dowozu i wyładunku odpadów, a także w wyniku niewłaściwej eksploatacji składowiska oraz nieprawidłowego odprowadzania wód z obiektu. Zagrożenie gleby w sąsiedztwie składowisk może być spowodowane również przez odcieki. Istnieje także zależność między skażeniem mikrobiologicznym powietrza a jakością i ilością patogenów występujących w glebie (Kulig, Ossowska-Cypryk, 1999; Biesiada, 2000; Barabaszy i in., 2003; Frączek, 2010).

Celem przeprowadzonych badań była ocena wpływu składowiska odpadów komunalnych Barycz w Krakowie na liczebność i skład gatunkowy grzybów mikroskopowych *Micromycetes* występujących w środowisku glebowym.

### MATERIAŁY I METODY

Badania przeprowadzono na terenie i w otoczeniu składowiska odpadów komunalnych Barycz w Krakowie. Jest ono największym i najdłużej eksploatowanym tego typu obiektem komunalnym w Małopolsce (utworzone zostało w 1974 r.). Jego docelowa powierzchnia wynosi 37 ha i obejmuje część obecnie eksploatowaną i część zrehabilitowaną o powierzchni 27 ha. Badane składowisko zlokalizowane jest na terenach miasta Krakowa graniczących od wschodu z miastem Wieliczka, od strony południowej otoczone jest lasem, a od północy i zachodu – pasem zieleni izolacyjnej o szerokości od 35 do 80 m.

Próbki gleby do badań pobierano czterokrotnie w trzech powtórzeniach w ciągu całego okresu badawczego w cyklu sezonowym: wiosną (kwiecień), latem (sierpień) 2011 r., jesienią (listopad) oraz zimą (luty) 2012 r., na 3 stanowiskach badawczych usytuowanych bezpośrednio na obsza-

Autor do kontaktu:

Helena Bis  
e-mail: rfracze@cyf-kr.edu.pl  
tel. +48 12 6624181

Praca wpłynęła do redakcji 8 lipca 2013 r.

rze składowiska oraz na 14 stanowiskach wyznaczonych poza jego obrębem (rys. 1, stanowisko 12 stanowi „tło”). Stanowiska badawcze wyznaczono we wszystkich kierunkach geograficznych wokół obszaru badanego składowiska, w lokalizacjach:

Punkt	Odległość stanowiska od środka czynnego sektora [m]	Opis stanowiska badawczego
1	234	przed III sektorem (czynnym) – w kierunku zachodnim
2	368	poniżej obrzeża III sektora – w kierunku południowym
3	103	wewnątrz III sektora – strefa czynna
4	300	poniżej części środkowej III sektora – w kierunku południowym
5	494	poniżej części środkowej II sektora – w kierunku południowym
6	410	w pobliżu części środkowej II sektora – w kierunku południowym
7	696	w pobliżu części środkowej I sektora – w kierunku południowym
8	858	powyżej części środkowej I sektora – w kierunku północnym
9	647	powyżej części środkowej II sektora – w kierunku północnym
10	507	powyżej części środkowej III sektora – w kierunku północnym
11	546	powyżej brzegu III sektora – w kierunku północno-zachodnim
12	480	przed III sektorem (czynnym) – w kierunku zachodnim (tło)
13	1144	na północny – wschód przed obrzeżem I sektora
14	748	poniżej części środkowej I sektora – w kierunku południowym
15	1026	na wysokości III sektora – w kierunku wschodnim
16	1187	na wysokości III sektora – w kierunku wschodnim
17	1061	na południowy – wschód przed obrzeżem I sektora

Położenie składowiska i wyznaczonych stanowisk badawczych, na których były pobierane próbki gleby, przedstawiono na rysunku 1.

Analizę mikologiczną, celem określenia ilości i jakości występujących w badanym środowisku glebowym grzybów *Micromycetes*, przeprowadzono



metodą posiewu rozcieńczeń. Jednocześnie prowadzono pomiary pH i wilgotności gleby. Hodowlę grzybów prowadzono na podłożu agarowo-brzeczkowym (MEA) w temperaturze 28°C przez 5 dni. Przynależność systematyczną wyizolowanych szczepów grzybowych określono na podstawie cech makro- i mikroskopowych, opierając się na kluczach diagnostycznych (Gilman, 1975; Fassatiowa, 1983; Klich, 2002; Samson, Frisvad, 2004). Na podstawie analizy jakościowej, szczepy potencjalnie toksynotwórczych gatunków grzybów przeszczepiano na płynne podłoże Eldridge'a, a następnie określano ich zdolność do produkcji mikotoksyn metodą testu biologicznego (Mirczink, 1957). Jako rośliny testowej użyto zielonego groszku o numerze serii 7138 V.P. „Polan”, o sprawdzonej energii i zdolności kiełkowania. Działanie metabolitów przyjmowano wg testu biologicznego za toksyczne, gdy zmniejszały energię kiełkowania w co najmniej 30% w stosunku do kontroli.

Uzyskane dane ilościowe opracowano statystycznie w oparciu o jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA.

## WYNIKI

Badania mikologiczne próbek gleb pobranych w wybranych punktach doświadczalnych wykazały zróżnicowane występowanie grzybów *Micromycetes*, reprezentowanych przez przedstawicieli klas *Phycomycetes* i *Deuteromycetes*, w zależności od usytuowania danego stanowiska badawczego. Liczebność grzybów mieściła się w zakresie od  $6,5 \cdot 10^3$  do  $136,0 \cdot 10^3$  jtk·g<sup>-1</sup> s.m. gleby (tab. 1, 2). Maksymalna ich liczba występowała latem (2011 r.) na stanowisku 1, zlokalizowanym w pobliżu czynnego sektora składowania odpadów. Liczebność grzybów była zróżnicowana w zależności od pory roku. Wiosną największą średnią

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

Fig. 1. Location of sampling points at municipal landfill site in Kraków.

Tabela 1. Liczebność [jtk·g<sup>-1</sup> s.m. gleby x 10<sup>3</sup>] grzybów *Micromycetes* w glebie w rejonie składowiska odpadów komunalnych Barycz w KrakowieTable 1. Number [cfu·g<sup>-1</sup> of soil dry weight x 10<sup>3</sup>] of fungi – *Micromycetes* in soil in the vicinity of landfill site Barycz in Kraków.

Stanowisko Stand	Wiosna Spring		Lato Summer		Jesień Autumn		Zima Winter	
	zakres range	średnia mean	zakres range	średnia mean	zakres range	średnia mean	zakres range	średnia mean
1	45,0–96,0	70,5	101,5–136,0	119,0	20,0–42,5	31,3	17,5–28,0	22,8
2	51,5–83,0	67,0	82,5–89,0	85,8	21,5–56,5	39,0	29,0–40,5	34,8
3	53,5–100,5	77,0	111,0–112,0	116,5	26,5–76,0	51,3	11,5–14,50	13,0
4	51,5–55,5	53,5	109,5–130,0	119,8	40,5–82,0	61,3	17,5–19,0	18,3
5	31,0–52,0	41,5	99,5–110,5	105,0	50,5–59,5	55,0	17,0–22,0	19,5
6	34,0–71,0	52,5	108,5–119,5	114,0	39,5–67,5	53,5	8,5–11,0	9,8
7	32,0–52,5	42,8	105,5–115,5	110,5	58,5–84,0	71,3	12,5–17,5	15,0
8	51,0–53,5	52,3	46,0–60,5	53,3	25,5–37,0	31,3	6,5–10,0	8,3
9	51,5–62,0	56,8	26,0–89,5	57,8	62,5–103,0	82,8	23,0–35,5	29,3
10	46,5–83,0	64,8	76,5–88,5	82,5	57,0–71,0	64,0	34,5–37,0	35,8
11	54,0–68,5	61,2	71,5–103,5	87,5	24,5–67,0	45,8	20,0–37,0	28,5
12	38,5–65,0	52,0	58,0–90,0	74,0	46,0–79,5	62,8	20,0–33,0	26,5
13	31,5–69,0	50,3	64,0–81,5	72,8	69,0–89,0	79,0	27,0–32,5	29,8
14	49,0–60,5	54,8	87,0–85,5	86,3	48,0–54,0	51,0	20,0–40,0	30,0
15	45,0–77,0	61,0	82,5–89,0	85,8	44,5–61,5	53,0	14,5–19,0	11,8
16	56,5–64,5	60,5	62,5–78,5	70,5	55,0–71,5	63,3	15,0–30,0	22,5
17	45,5–79,0	62,3	62,0–78,0	70,0	43,5–48,0	45,8	16,5–21,5	19,0

liczebność tych drobnoustrojów ( $77,0 \cdot 10^3$  jtk·g<sup>-1</sup> s.m. gleby) stwierdzono na stanowisku badawczym 3, położonym na obszarze czynnego sektora, a najmniejszą liczebność ( $41,5 \cdot 10^3$  jtk·g<sup>-1</sup> s.m. gleby) na stanowisku 5, zlokalizowanym w kierunku południowym, poza obrębem składowiska. W okresie lata średnia liczebność grzybów znacznie wzrosła i wahała się od  $53,3 \cdot 10^3$  jtk·g<sup>-1</sup> s.m. gleby (stanowisko 8) do  $119,8 \cdot 10^3$  jtk·g<sup>-1</sup> s.m. gleby (stanowisko 4), natomiast jesienią największą średnią liczebność grzybów ( $82,8$  jtk·g<sup>-1</sup> s.m. gleby) odnotowano na stanowisku 9, a najmniejszą –  $31,3 \cdot 10^3$  jtk·g<sup>-1</sup> s.m. gleby na stanowisku 1 i 8. Natomiast badania przeprowadzone w zimie wykazały, że na wszystkich wyznaczonych stanowiskach badawczych liczebność grzybów była znacząco niższa niż w pozostałych sezonach badawczych, średnio od  $8,3 \cdot 10^3$  do  $35,8 \cdot 10^3$  jtk·g<sup>-1</sup> s.m. gleby. Średnia liczebność grzybów ze wszystkich punktów badawczych wiosną wynosiła  $58,0 \cdot 10^3$  jtk·g<sup>-1</sup> s.m. gleby, w lecie –  $89,0 \cdot 10^3$  jtk·g<sup>-1</sup> s.m. gleby, by jesienią osiągnąć w następnym roku  $55,0 \cdot 10^3$  jtk·g<sup>-1</sup> s.m. gleby, a zimą  $22,0 \cdot 10^3$  jtk·g<sup>-1</sup> s.m. gleby.

W tabeli 2 przedstawiono wyniki dotyczące liczebności grzybów w badanym środowisku glebowym we wszystkich badanych sezonach pomiarowych, w czterech grupach stanowisk: stanowisko 12 – “tło”; stanowisko 3 – czynny sektor składowiska; stanowiska 6, 7 – na obszarze składowiska; stanowiska 1, 2, 4, 5, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 – poza obrębem składowiska.

Tabela 2. Liczebność [jtk·g<sup>-1</sup> s.m. gleby x 10<sup>3</sup>] grzybów *Micromycetes* w glebie w poszczególnych porach roku w czterech grupach stanowisk badawczych: tło; czynny sektor składowiska; na obszarze składowiska; poza obrębem składowiskaTable 2. Number [cfu·g<sup>-1</sup> of soil dry weight x 10<sup>3</sup>] of fungi – *Micromycetes* in soil during measuring seasons in 4 sampling groups: background; active sector, at the landfill site; sampling outside landfill site.

Sezon Season	„Tło” Background	Czynny sektor składowiska Active sector	Obszar składowiska Landfill site area	Poza obrębem składowiska Outside landfill site
Wiosna Spring	52,0	77,0	48,0	58,0
Lato Summer	74,0	117,0	113,0	98,0
Jesień Autumn	63,0	51,0	62,0	54,0
Zima Winter	27,0	13,0	12,0	28,0

Objaśnienia; Explanation:

stanowisko 12 – “tło”; “background”

stanowisko 3 – czynny sektor składowiska; active sector

stanowiska 6, 7 – na obszarze składowiska; at the landfill site

stanowiska 1, 2, 4, 5, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 – poza obrębem składowiska; outside landfill site

Tabela 3. Częstotliwość występowania grzybów – *Micromycetes* w glebie w rejonie składowiska odpadów komunalnych Barycz w KrakowieTable 3. Frequency of fungi occurrence – *Micromycetes* in soil in the vicinity of landfill site Barycz in Kraków.

Lp. No.	Gatunek grzyba Fungi species	Stanowisko badawcze Sampling point																
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1	<i>Absidia glauca</i> , Hagem	+	++	+		+		+	+			+		++	+	++		
2	<i>Alternaria alternata</i> , (Fr.) Keissl		++	++		+	+	++		+		++			++	+	+	+
3	<i>Alternaria geophila</i> , Daszewska	+		+	+		+	+			++		++	+	+++		++	+
4	<i>Aspergillus flavus</i> , Link		+	++	+		+		+			+		+		+	++	+
5	<i>Aspergillus niger</i> , van Thieghen	+	+	+		+		+		++	+++			++	+	+	+	+
6	<i>Aspergillus versicolor</i> , Tirab.		+	+		+	++	+										
7	<i>Cladosporium cladosporioides</i> , de Vries		+	++	+	+++		+	++						++		++	
8	<i>Cladosporium herbarium</i> , Link	+	+	+		+	++	+++	++	++		+	+	++	+	+		+
9	<i>Cladosporium macrocarpum</i> , Preuss				+			+				+					++	
10	<i>Cylindrocarpon destructans</i> , Schott	+	+		+	++			+				++	+++				
11	<i>Fusarium dimerum</i> , Penzig			+++	+	+++		+			+	+			+	+		
12	<i>Fusarium redolens</i> , Wallen			+	++		+	+	++	+		++	+	+		+	+	+
13	<i>Humicola fuscoatra</i> , Traaen	+			+			++			++		+				++	+
14	<i>Humicola grisea</i> , Traaen		+	+		++	+	+		+++				++	+			
15	<i>Mucor hiemalis</i> , Wehmer	++	+	++	+	++	+	+	++	+	+	+	++	+	+	+++	+	+++
16	<i>Mortierella candelabrum</i> , van Thieghem			+		+	+		++									+
17	<i>Mortierella elongata</i> , Linn.			+		+					+	++		++	+	++	+	
18	<i>Penicillium brevi-compactum</i> , Dirckx	+		+			+	+				+	+		++	+		+
19	<i>Penicillium chrysogenum</i> , Thom		++		++		++											
20	<i>Penicillium citrinum</i> , Thom	+		++		+++		+		++		+		+			++	
21	<i>Penicillium frequentans</i> , Westling	+	+	+	+		++		+++		+		++		++	+		+
22	<i>Penicillium jenseni</i> , Zaleski			+		+	+				+	+		++			+	
23	<i>Penicillium funiculosum</i> , Thom	+	++	+	+		+	+	+						++			++
24	<i>Penicillium granulatum</i> , Bainier			+				+			+					+		
25	<i>Penicillium notatum</i> , Westling	+		+	+			+		+		+	+			+		
26	<i>Penicillium rugulosum</i> , Thom	+	++	+		+	+		++									+
27	<i>Penicillium tardum</i> , Thom			+		+					+	+					+	
28	<i>Penicillium oxalicum</i> , Thom	+		+			+		+			+		++				
29	<i>Penicillium lanosum</i> , Westling			+	+	+	+	+				+				+		+
30	<i>Rhizopus sp.</i> , Westling	++	+	+	+		+		+++		++	+++	+	++	+	+	+	++
31	<i>Torula herbarum</i> , Link ex Fr.		+	+				+	+		+		+	+	+		+	
32	<i>Verticillium chlamydosporium</i> , Godd.		+	+		+	+	+		+		+	+		+	+		
33	<i>Verticillium nigrescens</i> , Peth.	+		+		+	+		+		++			+		+		+
34	<i>Zygorhynchus heterogamus</i> , Vuill	+	+		+		+						+		+			+
35	<i>Zygorhynchus moelleri</i> , Vuill	+		+				+		+		+			+		+	+

Objaśnienia; Explanation:

+++ bardzo liczne występowanie; very frequent occurrence

++ średnio liczne występowanie; frequent occurrence

+ nieliczne występowanie; rare occurrence

W sezonie wiosennym największą liczebność grzybów w glebie stwierdzono na terenie czynnego sektora –  $77,0 \cdot 10^3$  jtk·g<sup>-1</sup> s.m. gleby. Na obszarze składowiska ich liczebność wynosiła  $48,0 \cdot 10^3$  jtk·g<sup>-1</sup> s.m. gleby, natomiast w jego otoczeniu  $58,0 \cdot 10^3$  jtk·g<sup>-1</sup> s.m. gleby. Na stanowisku 12, stanowiącym wg założeń „tło”, maksymalna liczebność grzybów kształtowała się na poziomie  $52,0 \cdot 10^3$  jtk·g<sup>-1</sup> s.m. gleby. W lecie, podobnie jak wiosną, największą liczbę grzybów zaobserwowano w czynnym sektorze składowiska  $117,0 \cdot 10^3$  jtk·g<sup>-1</sup> s.m. gleby. Bardzo zbliżoną wartość –  $113,0 \cdot 10^3$  jtk·g<sup>-1</sup> s.m. gleby stwierdzono w glebie na obszarze składowiska, natomiast poza jego obrębem ich liczebność kształtowała się na poziomie  $98,0 \cdot 10^3$  jtk·g<sup>-1</sup> s.m. gleby. W jesieni w stosunku do stanowiska badawczego stanowiącego „tło”, w którym stwierdzono  $63,0 \cdot 10^3$  jtk·g<sup>-1</sup> s.m. gleby, tylko na obszarze składowiska uzyskano zbliżoną liczebność  $62,0 \cdot 10^3$  jtk·g<sup>-1</sup> s.m. gleby. W czynnym sektorze składowiska liczebność wynosiła  $51,0 \cdot 10^3$  jtk·g<sup>-1</sup> s.m. gleby; na stanowiskach usytuowanych poza obrębem składowiska –  $54,0 \cdot 10^3$  jtk·g<sup>-1</sup> s.m. gleby, na tych stanowiskach liczebności grzybów *Micromyces* były niższe niż w „tło”. W okresie zimowym zarówno na terenie czynnego sektora, jak i na obszarze składowiska stwierdzono bardzo zbliżone liczebności grzybów, co przedstawiają dane zawarte w tabelach 1 i 2. Otrzymane

wyniki wskazują natomiast na istnienie zależności między lokalizacją stanowisk badawczych i porą roku a liczebnością grzybów. Nie stwierdzono natomiast znaczącego wpływu tych parametrów na skład gatunkowy grzybów. Z badanych środowisk glebowych wyizolowano 35 gatunków grzybów należących do 14 rodzajów. Na podstawie oznaczenia przynależności systematycznej wyizolowanych gatunków grzybów najczęściej były reprezentowane grzyby z rodzajów: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Verticillium*, *Zygorhynchus*. Częstotliwość ich występowania przedstawiono w tabeli 3.

W glebie na składowisku czynnym stwierdzono 30 gatunków grzybów *Micromyces*, w tym 13 gatunków potencjalnie toksynotwórczych (43%). Na obszarze składowiska charakteryzującego się mniejszą różnorodnością gatunkową ze środowiska glebowego zostały wyizolowane 22 gatunki grzybów, w tym 14 gatunków potencjalnie toksynotwórczych (64%). W środowisku glebowym poza obrębem badanego składowiska stwierdzono mniejszą różnorodność gatunkową grzybów mikroskopowych niż w czynnym sektorze czy na terenie składowiska. Ilość wyizolowanych gatunków wahała się od 11 do 19, wśród nich stwierdzono od 2 do 14 gatunków potencjalnie toksynotwórczych. Należy również zwrócić uwagę na fakt,

Tabela 4. Wpływ metabolitów grzybów toksynotwórczych na kiełkowanie nasion zielonego groszku (dane stanowią średnią arytmetyczną z 5 losowo przebadanych szczepów każdego gatunku)

Table 4. The effect of metabolites of potentially toxin forming fungi on germination of green pea seeds (data are presented as the arithmetic mean of 5 randomly chosen strains of each species).

Lp. No.	Grzyby toksynotwórcze Potentially toxin forming fungi	Grupy stanowisk badawczych Groups of sampling points							
		„tło” background		czynny sektor składowiska active sector		obszar składowiska landfill site area		poza obrębem składowiska outside landfill site	
		a	b	a	b	a	b	a	b
1	<i>Alternaria alternata</i> , (Fr.) Keissl.			88	72	48	39	56	44
2	<i>Aspergillus flavus</i> , Link.			92	83	78	59	78	56
3	<i>Aspergillus versicolor</i> , Tirab.			83	79	77	63	82	77
4	<i>Cladosporium cladosporioides</i> , de Vries			70	63	70	65	59	43
5	<i>Fusarium dimerum</i> , Penzig			83	80	90	88	77	56
6	<i>Fusarium redolens</i> , Wallen	47	39	90	88	72	64	56	44
7	<i>Penicillium brevi-compactum</i> , Dirckx	38	32	38	36	63	57	83	71
8	<i>Penicillium chrysogenum</i> , Thom			54	39	66	59	71	65
9	<i>Penicillium citrinum</i> , Thom			100	98	96	81	42	39
10	<i>Penicillium jenseni</i> , Zaleski			41	38	72	64	57	53
11	<i>Penicillium funiculosum</i> , Thom			57	42	39	30	83	70
12	<i>Penicillium granulatum</i> , Bainier			-	-	47	35	54	37
13	<i>Penicillium rugulosum</i> , Thom			100	97	76	58	65	59
14	<i>Penicillium lanosum</i> , Westling			67	51	70	59	49	39

Objaśnienia; Explanation:

a – zmniejszenie energii kiełkowania nasion [%]; reduction of germination rate [%]

b – zmniejszenie zdolności kiełkowania nasion [%]; reduction of germination capacity [%]

iz w glebie stanowiska badawczego 12, stanowiącego „tło”, wyizolowano 14 gatunków grzybów, w tym 2 gatunki potencjalnie toksynotwórcze (14%). Wyniki testów biologicznych dotyczących wpływu metabolitów grzybów toksynotwórczych na kiełkowanie nasion grochu przedstawiono w tabeli 4. W sektorze czynnym najsilniejsze fitotoksyczne oddziaływanie wykazały szczepy należące do gatunków *Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus versicolor*, *Fusarium redolens*, *Penicillium citrinum*, *Penicillium rugulosum*. Natomiast najsłabsze oddziaływanie fitotoksyczne stwierdzono w płynie pochodzonym z szczepów należących do gatunków: *Penicillium brevi-compactum*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium jenseni*, *Penicillium funiculosum*. Na obszarze składowiska najsilniejsze oddziaływanie fitotoksyczne wykazywały szczepy należące do gatunków: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus versicolor*, *Fusarium dimerum*, *Fusarium redolens*, *Penicillium citrinum*, *Penicillium jenseni*, *Penicillium rugulosum*, a najsłabsze *Alternaria alternata*, *Penicillium funiculosum* oraz *Penicillium granulatum*. W przypadku grzybów wyizolowanych poza obrębem składowiska najsilniejsze oddziaływanie fitotoksyczne stwierdzono wśród szczepów należących do gatunków: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus versicolor*, *Fusarium dimerum*, *Penicillium brevi-compactum*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium funiculosum*, a najsłabsze wśród szczepów *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides*, *Fusarium redolens*, *Penicillium citrinum*, *Penicillium granulatum*, *Penicillium lanosum*. Z punktu 12 stanowiącego „tło” wyizolowano tylko dwa gatunki potencjalnie toksynotwórcze: *Penicillium brevi-compactum* i *Fusarium redolens*. Metabolity *Fusarium redolens* wykazały w teście biologicznym silniejsze oddziaływanie fitotoksyczne niż metabolity *Penicillium brevi-compactum*.

## DYSKUSJA

Odpady komunalne gromadzone na składowiskach i związane z nimi zagrożenia stają się jednym z najpoważniejszych problemów współczesnej cywilizacji. Zawsze są traktowane jako znaczące zagrożenie dla roślin, zwierząt, człowieka niezależnie od ich pochodzenia, właściwości i użyteczności (Frączek, Ropek, 2011). Coraz częściej zauważa się, że zmiany jakości powietrza wskutek emisji zanieczyszczeń gazowych i stałych do atmosfery mogą powodować, iż cząstki bioaerozolu przenoszone przez wiatr na duże odległości opadając mogą zanieczyszczać środowiska wodne i glebowe wokół składowisk odpadów komunalnych (Żygadło, 1998; Frączek, 2010; Frączek, Ropek, 2011).

Jak wynika z piśmiennictwa szczególną uwagę zwraca się na zanieczyszczenie powietrza, wód powierzchniowych i podziemnych wokół składowisk komunalnych, a bardzo mało uwagi poświęca się badaniom zanieczyszczenia środowiska glebowego (Frączek, 2010; Przybulew-

ska i in., 2010). Warto jednak zaznaczyć, że zanieczyszczenie gleby skażonymi odciekami niesie za sobą poważne konsekwencje, albowiem spada jej produktywność, np. plony roślin są dużo niższe (Kryński, 1983; Bis, 2006).

Nieliczne dotychczas doświadczenia przeprowadzone przez badaczy krajowych oraz zagranicznych potwierdzają zróżnicowane występowanie mikroorganizmów w glebie na terenie obiektów gospodarki komunalnej i niekontrolowanych składowisk odpadów oraz rozmaity stopień skażenia środowiska (Malinowska, Marska, 2004; Frączek, 2004). Na podstawie szczegółowych badań wykazano, że liczebność grzybów *Micromycetes* w wybranych punktach pomiarowych na terenie i w sąsiedztwie składowiska Barycz w Krakowie kształtowała się różnie. Uzależniona była przede wszystkim od odległości od sektora czynnego, kierunku wiejących wiatrów oraz warunków mikroklimatycznych (zmiany sezonowe). Liczne doniesienia literatury dotyczące badań występowania mikroorganizmów w powietrzu atmosferycznym wymieniają również te uwarunkowania jako istotnie wpływające na stopień zanieczyszczenia mikrobiologicznego środowiska (Barabasz i in., 2004; Frączek, 2013).

Nie tylko samo składowisko komunalne jako obiekt jest zagrożeniem dla środowiska i otaczającego go terenu, ale i intensywny ruch pojazdów transportujących odpady powoduje rozprzestrzenianie się drobnoustrojów na całej trasie przejazdu, szczególnie w miejscu ich składowania. Przeprowadzone badania potwierdziły również, że składowisko oddziałuje również na środowisko glebowe zarówno na swoim obszarze, jak i w jego sąsiedztwie. Stwierdzono, że wśród wyizolowanych gatunków grzybów występują również szczepy, które mają zdolność wytwarzania groźnych mikotoksyn. Toksyczne metabolity badanych grzybów, wyizolowanych z 17 stanowisk badawczych, powodowały zmniejszenie energii kiełkowania nasion grochu o 38–100% w stosunku do kontroli, a zdolności kiełkowania o 30–98%. Substancje te mogą wpływać negatywnie zarówno na rośliny, zwierzęta, jak i ludzi (Chełkowski, 1985; Grajewski, 2006).

## WNIOSKI

1. W środowisku glebowym na obszarze składowiska odpadów komunalnych Barycz w Krakowie, jak i w jego sąsiedztwie, w promieniu do 1200 m stwierdzono zróżnicowaną liczebność grzybów *Micromycetes*.

2. Liczebność i różnorodność gatunkowa tych mikroorganizmów była uzależniona od pory roku i usytuowania stanowiska badawczego względem czynnego sektora składowania odpadów.

3. Z badanych gleb wyizolowano 35 gatunków grzybów należących do 14 rodzajów, wśród których występowały szczepy gatunków potencjalnie toksynotwórczych: *Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus versicolor*, *Fusarium redolens*, *Penicillium citrinum*, *Penicil-*

*lium rugulosum*, *Cladosporium cladosporioides*, *Fusarium dimerum*, *Penicillium brevi-compactum*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium jenseni*, *Penicillium funiculosum*, *Penicillium granulatum*, *Penicillium lanosum*.

4. Metabolity badanych gatunków grzybów toksynotwórczych w testach biologicznych przeprowadzonych na grochu siewnym wskazywały zmniejszenie energii kiełkowania nasion w zakresie od 38 do 100% i zdolności kiełkowania od 30 do 98% w stosunku do kontroli.

5. Najsilniejsze działanie fitotoksyczne wykazują szczepy grzybów należące do gatunków: *Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus versicolor*, *Fusarium redolens*, *Penicillium citrinum*, *Penicillium rugulosum*.

6. Zróżnicowanie ilościowe i jakościowe grzybów mikroskopowych w środowiskach glebowych wyznaczonych stanowisk pomiarowych świadczy o konieczności regularnego monitoringu gleb na terenie składowiska komunalnego i poza jego obrębem, w różnej odległości, w zależności od wielkości i rodzaju użytkowania badanego obiektu.

## PIŚMIENNICTWO

- Barabasz W., Albińska D., Frączek K., Grzyb J., Barabasz J., Kosińska B., 2003.** Mikrobiologiczne i zdrowotne zagrożenia ludzi wokół składowisk odpadów i oczyszczalni ścieków. ss. 155-168, Mat. IX Konferencji Naukowo-Technicznej „Gospodarka odpadami komunalnymi”. Kołobrzeg – Kopenhaga – Oslo, maj 2003.
- Barabasz W., Albińska D. 2004.** Porównanie warunków aerosanitarnych na terenie trzech składowisk odpadów komunalnych w zależności od ich wielkości i czasu eksploatacji, ss. 207-229, Mat. X Konferencji Naukowo-Technicznej „Gospodarka odpadami komunalnymi”, Gdańsk – Helsinki, 2004.
- Biesiada M., 2000.** Skutki zdrowotne oddziaływania składowisk odpadów komunalnych – wyzwanie dla przyszłości. Środowisko a zdrowie – 2000. Wyd. Cmyk-Art., ss. 76-91.
- Bis H., 2006.** Uzdolnienia do produkcji mikotoksyn grzybów wyizolowanych z gleb Krakowa i jego okolic. Zesz. Nauk UP Wrocław, Rolnictwo LXXXIX, 546: 43-50.
- Chelkowski J., 1985.** Mikotoksyny, wytwarzające je grzyby i mikotoksykozy. Wyd. SGGW, Warszawa, ss. 95.
- Fassatiowa O., 1983.** Grzyby mikroskopowe w mikrobiologii technicznej. Wyd. Naukowo-Techniczne, Warszawa, 284 ss.
- Frączek K. 2004.** Oddziaływanie składowiska odpadów komunalnych w Tarnowie Krzyżu na liczebność grzybów w środowisku glebowym ze szczególnym uwzględnieniem grzybów toksynotwórczych. Acta Agr. Silv., ser. Agraria, XLII: 87-96.
- Frączek K., 2010.** Sezonowe zmiany wskaźników stanu sanitarnego gleby na terenie oraz w rejonie składowiska odpadów komunalnych aglomeracji krakowskiej. Woda Środ. Obsz. Wiejs., 2(30): 49-60.
- Frączek K., Ropak D., 2011.** Municipal waste dumps as the microbiological threat to the natural environment. Ecol. Chem. Engin., S, 18(1): 93-110.
- Frączek K., 2013.** Ocena narażenia na drobnoustroje w strefie oddziaływania składowiska odpadów komunalnych. Zesz. Nauk. Uniwersytetu Rolniczego im. H. Kołłątaja w Krakowie nr 504, rozprawy, zesz. 381, 160 ss.
- Gilman J.C., 1975.** A Manual at Soil Fungi. The Iowa state College Press-ames, Iowa, USA.
- Grajewski J., 2006.** Mikotoksyny i grzyby pleśniowe – zagrożenia dla człowieka i zwierząt. Wyd. UKW Bydgoszcz, 201 ss.
- Klich M.A., 2002.** Identification of common *Aspergillus* species. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands, ss. 10-153.
- Kozłowski S., 1991.** Gospodarka a środowisko przyrodnicze. Wyd. PWN, Warszawa, 289 ss.
- Kryński A., 1983.** Mikotoksyny i mikotoksykozy. Prz. Hod., 2: 27-32.
- Kulig A., Ossowska-Cypryk K., 1999.** Problematyka badań mikrobiologicznych w ocenach oddziaływania na środowisko obiektów komunalnych – zagadnienia metodyczne. Probl. Ocen Środ., 1(4): 51-58.
- Malinowska K., Marska B. 2004.** Zmiany w składzie mikroflory gleb w rejonie oddziaływania emisji z biologicznych oczyszczalni ścieków. Acta Agr. Silv., ser. Agraria, XLII: 279-287.
- Mirczink T.G., 1957.** O grzbach obusiewliwojuszczich toksyczności diernowo podzowlistoj poczwy rozlicznej stepieni okultienosti. Mikrobiologia, 26: 78-86.
- Niemiec W., Zamorska J., 2002.** Składowiska odpadów komunalnych a zanieczyszczenie mikrobiologiczne środowiska. Prz. Komun., 9: 46-47.
- Przybulewska K., Nowak A., Głabowska D., 2010.** Zmiany w mikroflorze gleby wokół składowiska odpadów komunalnych w Łęczycy k. Stargardu Szczecińskiego. Woda Środ. Obsz. Wiejs., 2(30): 159-166.
- Samson R., Frisvad J., 2004.** *Penicillium* subgenus *Penicillium*; new taxonomic schemes, mycotoxins and other extrolites. Stud. Mycol., 49: 260.
- Żygadło M., 1998.** Gospodarka odpadami komunalnymi. Wyd. Politechniki Świętokrzyskiej, Kielce, ss. 300.

H. Bis, K. Frączek, J. Grzyb, E. Mędreła-Kuder

## SOIL MICROFLORA IN AND NEAR THE MUNICIPAL LANDFILL SITE IN KRAKÓW

### Summary

The aim of the research was to evaluate the effect of municipal landfill site Barycz in Kraków on the concentration and species composition of microscopic fungi – *Micromycetes* occurring in soil environment at the dumping site and in its vicinity. Soil samples were collected at 17 sampling points during 2011–2012. Microbiological analyses were done by culture dilution. Fungi were isolated using MEA medium. By comparing the changes in number of fungi in the soil at sampling points it was concluded that they range from  $6.5 \cdot 10^3$  to  $136.0 \cdot 10^3$  cfu·g<sup>-1</sup> of soil dry weight. Their highest number was noted during summer and the lowest in winter 2011. Thirty-five fungi species belonging to 14 genus were isolated from investigated soil environments. Most often isolated genera were: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Verticillium*, *Zygorhynchus*. In biological tests metabolites of potentially toxin-producing fungi induced reduction of pea germination rate by 38–100% and germination capacity by 30–98% in comparison to the control.

**key words:** fungi, soil, landfill site