

ISSN 1642-3828

ZESZYTY NAUKOWE

Południowo-Wschodniego Oddziału Polskiego Towarzystwa
Inżynierii Ekologicznej z siedzibą w Rzeszowie

i

Polskiego Towarzystwa Gleboznawczego Oddział w Rzeszowie

Nr 17

Scientific Papers

Polish Society of Ecological Engineering

Polish Soil Science Society

South-Eastern Branch, Rzeszów

Rzeszów 2014

KOMITET REDAKCYJNY – EDITORIAL COMMITTEE

Joanna Kostecka (Uniwersytet Rzeszowski) – **Redaktor Naczelny – Editor-in-Chief**

Grzegorz Pączka (Uniwersytet Rzeszowski) – Sekretarz – Secretary

RADA PROGRAMOWA / NAUKOWA – PROGRAMING / SCIENTIFIC BOARD

Jan Siuta (Instytut Ochrony Środowiska, Warszawa) – Przewodniczący – Chairman

Petr Bris (University in Zlin, Department of Production Management – Industrial Engineering, Czech Republic)

Kevin R. Butt (Department of Environmental Management, University of Central Lancashire, Preston, UK)

Luis M. Cunha (Faculty of Science, University of Porto, Portugal)

Vija Dislere (Latvia University of Agriculture, Jelgava, Latvia)

Andriej G. Dziubajło (Katedra Ekologii, Uniwersytet Pedagogiczny w Drohobycz, Ukraina)

Barbara Filipek-Mazur (Uniwersytet Rolniczy w Krakowie)

Wiktor F. Jakobińczuk (Lwowski Państwowy Uniwersytet Rolniczy w Dublanach, Ukraina)

Janina Kaniuczak (Uniwersytet Rzeszowski)

Krzysztof Kasprzak (Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu)

Józef Koc (Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie)

Alfredo Serreta Olivan (Universidad od Zaragoza)

Victoria Thoresen (University College of Hedmark, Norway)

Barbara Wiśniowska-Kielian (Uniwersytet Rolniczy, Kraków)

REDAKTOR JĘZYKOWY – LANGUAGE EDITOR

Maria Cyrankowska (Uniwersytet Rzeszowski)

REDAKTOR STATYSTYCZNY – STATISTICAL EDITOR

Jan Gąsior (Uniwersytet Rzeszowski)

SIEDZIBA REDAKCJI – EDITORIAL OFFICE

Uniwersytet Rzeszowski, Wydział Biologiczno-Rolniczy

Katedra Biologicznych Podstaw Rolnictwa i Edukacji Środowiskowej

ul. Ćwiklińskiej 2, 35-959 Rzeszów

E-mail: jkosteck@ur.edu.pl

ISSN 1642-3828

Druk: Bonus Liber, Rzeszów

SPIS TREŚCI

Joanna KOSTECKA

Wstęp5

**Maciej BILEK, Maciej STRZEMSKI, Joanna TYPEK,
Kamila ROKICKA i Ewelina RYDZIK**

Soja owłosiona – roślina pokarmowa, przemysłowa i lecznicza.....7

**Maciej BILEK, Natalia MATŁOK,
Rafał PIENIAŻEK i Janina KANIUCZAK**

Oznaczanie zawartości cukrów prostych i sacharozy w sokach
i nektarach owocowych pochodzących z rynku ukraińskiego.....15

Kevin R. BUTT, Christopher N. LOWE i Pam DUNCANSON

Dżdżownice miejskiego cmentarza w Preston: Przegląd ogólny
i aktywność *Lumbricus terrestris* w drażeniu korytarzy23

Mariola GARCZYŃSKA i Joanna KOSTECKA

Dynamika muchówek ziemiorkowatych (Sciaridae) na odpadach organicznych
w skrzynce ekologicznej w laboratorium31

Krzysztof KASPRZAK

Ochrona krajobrazu kulturowego - teoria i praktyka.....37

**Sabina LACHOWICZ, Maciej BILEK,
Natalia MATŁOK i Maciej BALAWEJDER**

Określenie jakości cukru na podstawie zawartości monosacharydów49

Jadwiga LECHOWSKA, Marta PISAREK i Magdalena WILK

Gospodarowanie odpadami organicznymi pochodzącymi z produkcji zwierzęcej55
na terenie gminy Głogów Małopolski

Christopher N. LOWE i Kevin R. BUTT

Żywotność kokonów i dowody na opóźniony wylęg
u dżdżownicy *Lumbricus terrestris* L. w badaniach laboratoryjnych.....61

Alina OWSIAK

Chronologiczne starzenie się drożdży bez aktywnej dysmutazy
ponadtlenkowej w długoterminowych hodowlach stacjonarnych69

Agnieszka OZIMEK, Kinga SIKORA i Michał KOPEĆ

Zawartość metali ciężkich w liściach wybranych gatunków
drzew parków krakowskich.....77

AGNIESZKA PODOLAK-MACHOWSKA i JOANNA KOSTECKA

Hodowla rozwielitek (*Daphnia sp.*) w laboratorium 83

PIOTR SKUBAŁA

Nowy environmentalizm – rewolucja w sposobie myślenia na temat ochrony przyrody91

CONTENTS

Joanna KOSTECKA

Introduction5

Maciej BILEK, Maciej STRZEMSKI, Joanna TYPEK, Kamila ROKICKA and Ewelina RYDZIK

Soy – alimentary, medicinal and industrial plant7

Maciej BILEK, Natalia MATŁOK, Rafał PIENIAŹEK and Janina KANIUCZAK

HPLC method for determination of fructose, glucose and sucrose
in some Ukrainian fruit juice and fruit nectar..... 15

Kevin R. Butt, Christopher N. Lowe and Pam Duncanson

Earthworms of an urban cemetery in Preston: General survey
and burrowing activity of *Lumbricus terrestris*.....23

Mariola GARCZYŃSKA and Joanna KOSTECKA

The dynamics of the scarid fly (Sciaridae) on organic wastes
in ecological boxes in a laboratory31

Krzysztof KASPRZAK

Protection of the cultural landscape - theory and practice.....37

Sabina LACHOWICZ, Maciej BILEK, Natalia MATŁOK and Maciej BALAWEJDER

Sugar quality assessment based on monosaccharide content49

Jadwiga LECHOWSKA, Marta PISAREK and Magdalena WILK

Management of the organic waste derived from the animal production
in the terrain of Głogów Małopolski municipality55

Christopher N. LOWE and Kevin R. BUTT

Cocoon viability and evidence for delayed hatching
by the K-selected earthworm *Lumbricus terrestris* in a laboratory-based study61

ALINA OWSIAK

Chronological aging of yeast without active superoxide dismutase
in fixed term cultures.....69

Agnieszka OZIMEK, Kinga SIKORA and Michał KOPEĆ

Contents of heavy metals in leaves of selected tree species
in Cracow parks.....77

AGNIESZKA PODOLAK-MACHOWSKA and JOANNA KOSTECKA

Breeding of daphnia (*Daphnia sp.*) in the laboratory 83

PIOTR SKUBAŁA

New environmentalism – revolution in the manner of thinking about nature protection 91

Szanowni Państwo:

Trwa Dekada Różnorodności Biologicznej przypadająca na lata 2011-2020.

Rozrzut tematyki artykułów prezentowanych w obecnym Zeszycie jest i tym razem tylko pozornie szeroki; dotykając różnorodnie oraz bezpośrednio lub pośrednio problematyki środowiskowej, wpisuje się w budowanie podstaw zrównoważonego rozwoju.

Wszystkie prezentowane badania- podobnie jak w poprzednich Zeszytach, bezpośrednio lub pośrednio promują różnorodność biologiczną i pojęcie „świadczenia ekosystemowe”, których podstawę stanowią właśnie organizmy żywe. Mamy nadzieję, że czytelnicy naszego Zeszytu zbliżą się do Natury i zadbają o swoje zdrowie i środowisko, rozumiejąc lepiej ich podstawy. Da to szansę na poprawne postępowanie na co dzień i uczuli na potrzebę podejmowania wysiłku dbałości o środowisko naszego życia, zagrożonego np. ze strony odpadów czy utratą siedlisk i różnorodności biologicznej. Prezentacja nowej koncepcji - ”enwironmentalizmu” może pomóc zrewolucjonizować nasz sposób patrzenia na siebie i przyrodę.

Redaktor Zeszytu

Prof. dr hab. Joanna Kostecka

**MACIEJ BILEK,¹ MACIEJ STRZEMSKI,^{2,3} JOANNA TYPEK,⁴
KAMILA ROKICKA,² EWELINA RYDZIK³**

¹ Wydziałowe Laboratorium Analiz Zdrowotności Środowiska i Materiałów Pochodzenia Rolniczego, Wydział Biologiczno-Rolniczy, Uniwersytet Rzeszowski, *mbilek@univ.rzeszow.pl*

² Katedra Chemii, Zakład Chemii Analitycznej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie, *maciej.strzemski@poczta.onet.pl, rokicka.kamila@gmail.com*

³ Medyczne Studium Zawodowe w Puławach, *ewelinarydzik@op.pl*

⁴ Instytut Historii Uniwersytetu Rzeszowskiego, *typek@op.pl*

**SOJA OWŁOSIONA – ROŚLINA POKARMOWA, PRZEMYSŁOWA
I LECZNICZA**

Soja owłosiona jest rośliną powszechnie stosowaną w przemyśle spożywczym i farmaceutycznym, wykorzystywaną w sztuce kulinarnej i w dietetyce. W niniejszej pracy przedstawiona została charakterystyka botaniczna i fitochemiczna, omówiono historię stosowania soi, opisano jej wartość odżywczą i działanie lecznicze. Wspomniano także o najnowszych zastosowaniach, m.in. jako rośliny modyfikowanej genetycznie.

Słowa kluczowe: soja owłosiona, rośliny pokarmowe, rośliny lecznicze, izoflawony, rośliny modyfikowane genetycznie

I. WSTĘP

Soja owłosiona (in. soja zwyczajna, warzywna, uprawna, *Glycine max* L. Merr; *Soja hispida* L.; *Glycine hispida* Moench Maxim; *Phaseolus max* L.; *Soya max* L. Piper), jest subtropikalną, jednoroczną rośliną z rodziny bobowatych (*Fabaceae* Lindl.). Dorasta do 1,5 m wysokości, posiada łodygę wzniesioną, silnie rozgałęzioną, owłosioną i gęsto ulistnioną. Liście, duże, złożone, trójlistkowe, długoogonkowe, silnie szorstko owłosione, ułożone są skrętogle; przylistki jajowatolancetowate. Kwiaty typowe dla rodziny *Fabaceae* – motylkowate o barwie białej, żółtawej lub fioletowej, o bardzo krótkich szypułkach zebrane są po 3-8 w kątach liści, pojawiają się od lipca do sierpnia. Owocem jest szorstko owłosiony, żółtobrazowy strąk, zawierający od jednego do czterech małych, owalnych nasion, o zróżnicowanej barwie (żółtych, zielonych, brunatnych lub czarnych). Nasiona te stanowią surowiec leczniczy, znajdując także zastosowanie w przemyśle spożywczym [23].

Udomowienie soi lokuje się na obszarze północno-wschodnich Chin, w okresie panowania dynastii Shang (1700-1100 p.n.e.) [19]. Soja uprawiana jest obecnie w wielu krajach na całym świecie, głównie w Chinach, Japonii, Indiach, Rosji, Mongolii, na południu USA i na południu Europy. Pierwotną ojczyzną soi jest Azja Wschodnia, a dokładniej tereny między Jawą, Indochinami, a Japonią [9,14]. Najstarsze wzmianki o tej

roślinie można odnaleźć w chińskich dziełach medycznych, między innymi w „Kompendium Shennonga”, datowanym na II lub III w. p.n.e [5].

Rozpowszechniona dziś nazwa „soja” wywodzi się od chińskiej nazwy tej rośliny „sou”. W całej Azji południowo-wschodniej spotyka się około pięćdziesięciu różnych określeń soi, co wskazuje na dawne wprowadzenie jej do uprawy [13]. Chińczycy strzegli tajemnic uprawy soi, która była w ich kulturze rośliną świętą, dbając o to by nasiona nie zostały wywiezione poza granice kraju. Prawdopodobnie dopiero w XVII wieku soja dotarła do Indonezji i Indochin, a potem do Polinezji, Palestyny i Afryki Północnej. W 1829 roku wprowadzono jej uprawy w USA [14]. Wiadomości o soi dotarły do Europy dzięki relacjom podróżników zwiedzających Azję w XVII wieku. Pierwsze przywiezione z wypraw nasiona trafiły do ogrodów botanicznych Paryża (1779) i Kew (1790) [13].

Soja owłosiona w języku łacińskim posiada kilka synonimowych nazw, wymienionych powyżej. Soja opisywana była przez różnych autorów, którzy nadawali jej własne nazwy gatunkowe. Nieporozumienia co do nazewnictwa zapoczątkował już sam Karol Linneusz, twórca systematyki roślin. Opisując soję w pierwszym wydaniu „Species Plantarum” z roku 1753, przedstawił ją w dwóch różnych miejscach w odmiennymi nazwami: *Phaseolus max* i *Dolichos soja*. Błędy wynikały stąd, iż Linneusz tworzył systematykę między innymi na podstawie opisów dostarczanych przez podróżników, którzy nie zawsze orientowali się w nazwach wymienianych przez tubylców. Gatunek ten tworzy także wiele odmian, które różnią się między sobą ogólnym pokrojem, barwą kwiatów, owłosieniem, kształtem i barwą nasion. Stąd też odmiany mogły być brane za samodzielne gatunki. W europejskiej literaturze określenie soja po raz pierwszy pojawia się w „Farmakologii” Samuela Dale z 1705 roku [13]. Również i w polskich podręcznikach do botaniki z XVIII wieku odnajdujemy informacje o soi: *Dolichos Soja daje w Chinach i Japonii przyjemną do wszelkich potraw przyprawę, która pod imieniem soja do Europy nawet niekiedy przychodzi* – czytamy w „Botanice stosowanej” z 1799 roku, autorstwa Stanisława Jundziłła [3].

W pierwszej połowie XIX wieku we Włoszech podjęto uprawę soi na większą skalę. W ślad za Włochami poszły Francja i Austria. W 1875 roku Antoni Sempołowski w stacjach doświadczalnych w Zaklikowie i w Sobieszowie rozpoczął próby wprowadzenia soi do uprawy w Polsce. Niestety odmiany, które starał się aklimatyzować, nie przyjęły się. Znacznie lepszymi rezultatami mógł poszczycić się Jan Owiński z Podola. Przywiezione z podróży po Azji w 1893 roku odmiany: czarna i brunatna szybko dojrzewały i przynosiły obfite plony. Głównym celem upraw prowadzonych przez Owińskiego, było przeznaczenie soi na paszę. Soja spotkała się z dużym zainteresowaniem ze strony polskich rolników. Niestety odmiany, które rozprowadzał Jan Owiński, nie wszędzie dawały zadowalające plony [13,17]. Przed naukowcami stało wyzwanie, by wyselekcjonować odmiany, które będą mogły być uprawiane w całej Polsce. Jeszcze przed pierwszą wojną światową Instytut Rolniczy w Puławach sprowadził odmiany z kilku krajów o umiarkowanym klimacie z zamiarem wyhodowania mieszańców przystosowanych do polskich warunków klimatycznych. W wyniku długoletnich badań i doświadczeń udało się wyhodować odmiany: Puławską Żółtą, Złotkę i Warszawską [9]. W latach trzydziestych XX wieku, w Ogrodzie Roślin Leczniczych Uniwersytetu Wileńskiego, Jan Muszyński i Wacław Strażewicz wyselekcjonowali pełną odmianę, którą nazwano Soją Wileńską [13].

Soja jest obecnie rośliną mało znaną i niepopularną wśród rolników. Uprawiana jest sporadycznie, jako źródło oleju i paszy dla zwierząt [6,23]. Wymaga gleb bogatych w wapń, azot i fosfor, wysokich temperatur w okresie kiełkowania i słonecznego stanowiska. Rozmnaża się ją generatywnie, przez wysiew nasion wprost do gruntu, ale istnieją również metody uzyskiwania roślin z kultur kallusowych, merystemów oraz embrioidów. Rośliny takie

wykazują większe zawartości tłuszczów i białek w nasionach, a także zwiększoną odporność na patogeny grzybowe i wirusowe [23].

II. SKŁAD CHEMICZNY

Nasiona soi są bogatym źródłem podstawowych składników odżywczych. Zawierają około 40% białka, 34% węglowodanów, od 17 do 20% błonnika i około 2% lecytyny. Bogaty jest profil kwasów tłuszczowych soi, stanowiący 18% sumarycznej masy nasion. Procentowo składają się nań zarówno kwasy nasycone (mirystynowy <0,4%, arachidowy <0,5%, stearynowy 7%, palmitynowy 11%), jak i nienasycone (α -linolenowy 12%, oleinowy 2-32%, linolowy 4-62%). Nasiona soi są bogatym źródłem składników mineralnych (wapń – 78 mg/100g, fosfor – 158 mg/100g, żelazo – 3,8 mg/100g) i witamin (β -karoten 0,019 mg/100g, α -tokoferol 0,089 mg/100g, tiamina 0,047-0,4 mg/100g, ryboflawina 0,13-0,17 mg/100g, pirydoksyna 0,77 mg/100g, kwas askorbinowy 9,95-27 mg/100g, niacyna 1,5 mg/100g). Nasiona soi są także źródłem metabolitów wtórnych, głównie związanych glikozydowo izoflawonów, w ilości od 50 do 300 mg/100 gramów soi. W ustroju ludzkim wykazują one aktywność estrogenną. Poza tym nasiona soi zawierają szereg substancji antyżywniowych, które jednak ulegają szybkiej dezaktywacji w procesach fermentacji lub obróbki termicznej [19].

III. SOJA W DIETETYCE

Soja, jako roślina o specyficznym składzie chemicznym, jest cenionym surowcem stosowanym w produktach specjalnego przeznaczenia żywniowego, wykorzystywanych w różnego rodzaju dietach. Według Światowej Organizacji Zdrowia, za produkty bezglutenowe uznaje się pokarmy z surowców naturalnie bezglutenowych, m.in. soi. Produkty oznakowane jako „bezglutenowe” są bezpiecznymi pokarmami dla pacjentów z celiakią, czyli enteropatią spowodowaną nadwrażliwością na gluten [8].

Soja jest wartościowym surowcem do produkcji preparatów odżywczych dla dzieci z nietolerancją białek mleka krowiego. Produkty te uzyskiwane są z hydrolizatów białka sojowego, otrzymanych na drodze hydrolizy termicznej i enzymatycznej oraz ultrafiltracji. Zachowują one pełne wartości odżywcze, a jednocześnie zmniejszają się ich właściwości alergizujące od 500 do 1000 razy w porównaniu do białka negatywnego. Mimo to szacuje się, że 47% dzieci wykazujących nietolerancję na białka mleka krowiego, wykazuje również objawy nadwrażliwości na produkty sojowe [4]. Głównym alergenem soi jest białko o masie 30 kDa, oznaczane jako Gly m 1. Stwierdzono, że alergen Gly m 1 posiada w 30% identyczną budowę jak główny alergen kurzu Der p 1. Poza tym w soi zidentyfikowano inne alergeny: Gly m 2, Gly m 3, Gly m Bd30k. Źródłem alergenów może być również szeroko stosowana w przemyśle spożywczym i w farmacji lecytyna sojowa, składająca się głównie z fosfolipidów. Soja zawiera również białka powodujące reakcje IgE-zależne [27]. Niepokój budzi także fakt, iż dzieci karmione wyłącznie „mlekiem sojowym” otrzymują dzienną dawkę izoflawonów na poziomie 20 mg/kg masy ciała. W efekcie od 13000 do 20000 razy zwiększa się poziom estradiolu, w stosunku do poziomu oznaczanego w surowicy u niemowląt z grupy kontrolnej [11].

Soja, ze względu na dużą zawartość białka wysokowartościowego, preferowana jest w diecie wegetariańskiej. Po odpowiedniej obróbce termicznej białko sojowe jest dobrze przyswajalne. Egzogennym aminokwasem ograniczającym jest metionina, którą możemy dostarczyć w postaci ziaren zbóż. Takie zestawienie umożliwi zapewnienie organizmowi pełnowartościowego białka, które może zastąpić białko pochodzenia zwierzęcego. Z tego

powodu, soja niekiedy określana bywa „mięsem z pól” [8]. W Japonii oraz w Chinach nasiona soi, odpowiednio przygotowane, zastępują nie tylko mięso, ale także nabiał. Tradycyjna kuchnia chińska nie uznaje mleka krowiego, które zaliczane było niegdyś do ekskrementów. Również przetwory mleczne, czyli nabiał, nie znajdują uznania wśród Chińczyków. Od najdawniejszych czasów mleko i sery otrzymywane są z ziaren soi. *Tofu* czyli ser sojowy, przygotowywany był niegdyś w każdym domu [5].

Produkty sojowe, wraz z upowszechnianiem się kuchni azjatyckiej w naszym kraju, stają się coraz bardziej popularne. Z walorów przyprawowych sosu sojowego i *miso* korzystają głównie miłośnicy kuchni japońskiej. Sos sojowy (*shoyu*) to jedna z najstarszych chińskich przypraw, wymieniana już w V wieku p.n.e w traktatach Kofucjusza. Tradycyjny proces otrzymywania sosu sojowego wymagał czasu i odpowiednich czynników, stąd też sos sojowy przez długi czas traktowany był jak produkt luksusowy, dostępny najzamożniejszym. Z Chin przedostał się do Japonii, a w XVII wieku pojawił się w Europie [12]. Jedną z najstarszych, polskojęzycznych informacji na ten temat, możemy odnaleźć w podręczniku z 1863 roku, autorstwa Ignacego Rafała Czerwiakowskiego pt. „Opisanie roślin dwulistniowych”: *smaczne jej nasiona jadają jak bób oraz przyrządzają z nich w Japonii, Chinach i całych Indyach wschodnich ulubioną ostrą przyprawę do różnych potraw, w którym to stanie pod nazwiskiem różnych sojów-sooju, przychodzi do Europy* [1]. Nie mniejsze znaczenie w kuchni azjatyckiej odgrywa *miso*, czyli gęsta, słona pasta, powstała w wyniku fermentacji soi zmieszanej z jęczmieniem lub ryżem, zaszczerpionych grzybkami *Aspergillus oryzae*. Procesy fermentacyjne mogą trwać od kilku dni do kilkunastu miesięcy, przy czym im dłuższy proces tym lepszej jakości jest pasta [13].

W dawnej Japonii pasta *miso* była jedną z form zapłaty za nałożony podatek [12]. Przygotowanie *miso* należało do obowiązków pań domu, stanowiąc jednocześnie wizytówkę kulinarnych umiejętności. Prawidłowa fermentacja trwała trzy lata, a źle przygotowane *miso* w japońskiej kulturze było wróżbą nieszczęścia [2]. Obecnie w produkcji na większą skalę nie prowadzi się fermentacji metodami tradycyjnymi. W celu skrócenia procesu stosuje się hydrolizę kwasową, co pociąga za sobą narażenie konsumenta na związki rakotwórcze, głównie 3-monochloroan-1,2-diole (3-MCPD) [16].

IV. IZOFLAWONY

Działanie lecznicze soi wiąże się z zawartymi w niej izoflawonami. Są to: genisteina, daidzeina, formononetyna, biochanina A, glicyteina i ich formy związane glikozydowo. Strukturalne podobieństwo do naturalnych estrogenów sprawia, że wykazują określone działanie farmakologiczne na organizm człowieka. Na polskim rynku farmaceutycznym soja obecna jest w postaci kilkunastu preparatów, zawierających standaryzowane i niestandaryzowane ekstrakty z soi lub też wyosobnione izoflawony. Preparaty te zarejestrowane są zarówno jako leki, jak i suplementy diety, często wzbogacone dodatkami witamin (A, E, witamin z grupy B) i mikroelementów (wapnia i magnezu) [26].

Fitoestrogeny wiążą się z dwoma podstawowymi receptorami estrogenowymi (ER): ER α i ER β , które są kodowane przez dwa geny zlokalizowane na różnych chromosomach. Genisteina i daidzeina należą do naturalnych ligandów tych receptorów, w efekcie ich przyłączenia dochodzi do pobudzenia lub zahamowania ekspresji genów. Wiążąc się z receptorami ER fitoestrogeny mogą wywoływać sygnał podobny do estrogenowego. Mechanizm ich działania może obejmować: aktywację receptorów estrogenowych, zwiększenie siły wiązania kompleksu ER-ligand do ERE (estrogenowy element odpowiedzi, *estrogen response element*) oraz ekspresję genów indukowanych estrogenami.

W wyniku konkurencji z estrogenami o miejsce wiążące mogą wykazywać działanie antyestrogenne poprzez blokowanie w ER miejsca wiążącego ligand, hamowanie wiązania ER do DNA, a także wpływ na ekspresję ER w sposób antagonistyczny do endogennych estrogenów [7,15,26].

Nie wszystkie efekty działania fitoestrogenów wiążą się z oddziaływaniem na receptory, wiele z nich przebiega szybciej niż poprzez ekspresję specyficznych genów i biosyntezę białek. Wśród niegenomowych działań jest wpływ na dostępność endogennych estrogenów, poprzez wpływ na enzymy je syntetyzujące bądź ich metabolizm. Najczęściej dochodzi do wiązania enzymów przez fitoestrogeny i zmniejszeniu ich dostępności i skuteczności w szlaku przekształcania prekursorów steroidowych. Minimalne dawki genisteiny, biochaniny i daidzeniny powodują redukcję aktywności aromatazy w ludzkich luteinizujących komórkach ziarnistych. Przeciwny efekt wywoływała natomiast genisteina dodana do hodowli ludzkich komórek endometrium, a poziom białka aromatazy i aktywność tego enzymu wzrastała. W badaniach wykazano także zmniejszenie produkcji estradiolu i estronu w komórkach nowotworowych MCF-7 poprzez inhibicję enzymów przy zastosowaniu genisteiny, co zahamowało proces proliferacji komórek nowotworowych. Badania wykazały, że genisteina wpływając na komórki raka prostaty poprzez hamowanie aktywności 5 α -reduktazy, może przyczynić się do zmniejszenia ryzyka zachorowania [15].

Słaba aktywność estrogenowa i antyestrogenowa sprawia, że fitoestrogeny mogą korzystnie wpływać na łagodzenie objawów menopauzy oraz być stosowane w prewencji nowotworów hormonozależnych. Są inhibitorami enzymów takich jak aromataza, 5- α -reduktaza, i dehydrogenaza 17- β -hydroksysteroidowa, biorących udział w syntezie estrogenów [18]. Stwierdzono, że fitoestrogeny mają wpływ na łagodzenie niektórych neurovegetatywnych objawów menopauzy. Do najczęstszych należą uderzenia gorąca, które mogą być zredukowane poprzez wpływ izoflawonów na receptory estrogenowe w podwzgórzu i hamowanie wydzielania hormonu luteinizującego. Przypuszcza się, że fitoestrogeny hamują zmiany zanikowe nabłonka wyścielającego narząd rodny [18,26].

Zdolność oddziaływania izoflawonów na receptory estrogenowe α i β wpływa również na ich znaczącą rolę w utrzymaniu i odbudowie masy kostnej u kobiet w okresie okołomenopauzalnym. Niskie dawki izoflawonów i enterolignanów, aktywują komórki osteoprogenitorowe i osteoblasty, natomiast wysokie działają na nie hamująco. Niezależnie od dawki dochodzi do zahamowania formowania osteoklastów. Związki te wpływają także na metabolizm tkanki kostnej poprzez stymulację syntezy witaminy D w komórkach pozanerkowych. Badania wykazały, że spożywanie białka sojowego spowodowało ograniczenie ubytku masy kostnej, głównie w lędźwiowej części kręgosłupa, co może świadczyć o większym wpływie izoflawonów na kości beleczkowe niż korowe [18].

Produkty spożywcze zawierające soję korzystnie działają na profil lipidowy, jednak same izoflawony nie wykazują takiego działania. Genisteina zwiększa ekspresję genu syntazy śródbłonkowego tlenu azotu, rozszerzającego naczynia. Izoflawony w przeciwieństwie do estrogenów działają przeciwzakrzepowo [18]. Fitoestrogeny korzystnie wpływają na funkcje poznawcze u kobiet. Preparaty sojowe poprawiają sprawność pracy mózgu [18]. Spożywanie produktów zawierających izoflawony może mieć również korzystny wpływ na przebieg cukrzycy typu II u kobiet w okresie pomenopauzalnym. Uzupełnienie diety o dużą dawkę izolowanej genisteiny zwiększa tolerancję organizmu na glukozę i powoduje słabszą insulinooporność. Umiarkowane ilości lignanów i izoflawonów zawarte w pokarmie korzystnie wpływają na glikemię, glikozylację białek i wrażliwość tkanek na insulinę oraz na profil lipidowy krwi [18,26].

W przypadku chorób nowotworowych działanie fitoestrogenów jest zależne m.in. od rasy, stopnia rozwoju nowotworu, BMI ciała, polimorfizmu niektórych genów, ilości spożywanych produktów sojowych i wieku w jakim pojawiły się one w diecie. Główne mechanizmy działania przeciwnowotworowego wiążą się z nasileniem apoptozy komórek rakowych, hamowaniem transdukcji sygnałów wewnątrzkomórkowych i blokowaniem translokacji czynnika NF κ - β do jądra komórkowego. Stwierdzono odwrotną korelację pomiędzy spożyciem produktów sojowych, a częstością występowania raka gruczołu sutkowego wśród Azjatek. Prawdopodobnie istotny jest fakt, że produkty sojowe w ich diecie stanowią duży odsetek i pojawiają się przed okresem pokwitania. W prewencji raka sutka istotny czynnik stanowi obecność receptorów estrogenowych ER α oraz progesteronowych (PR) w tkance guza. Jednak wysokie stężenia izoflawonów mogą wykazywać właściwości kancerogenne. Działanie niektórych z nich, np. genisteiny, nie hamuje rozwoju raka, a tylko przedłuża okres jego utajenia. Niektóre badania na liniach komórkowych i u zwierząt z indukowanym rakiem gruczołu sutkowego wykazują, że genisteina może wręcz stymulować rozrost nowotworu [18].

Wpływ izoflawonów na procesy metaboliczne i hormonalne w organizmie kobiety jest nie do końca zbadany. Potrzebne są liczne i wielokierunkowe badania, które pozwolą określić zależności pomiędzy estrogenami, a fitoestrogenami i zbadać wpływ produktów sojowych w diecie ludzi z różnymi genotypami. Jednak najistotniejszym zagadnieniem jest szybka weryfikacja doniesień dotyczących potencjalnego działania kancerogennego izoflawonów, gdyż obecnie, jako jedna z nielicznych alternatyw dla hormonalnej terapii zastępczej, są powszechnie stosowane przez kobiety w okresie okołomenopauzalnym [26].

V. SOJA JAKO ROŚLINA GENETYCZNIE MODYFIKOWANA

Soja jest jedną z pierwszych roślin, która została poddana modyfikacjom genetycznym. Zastosowanie technologii GMO w rolnictwie i produkcji żywności jest przedmiotem nierozstrzygniętych dyskusji nad bezpieczeństwem i konsekwencjami dla zdrowia ludzi. Wprowadzenie upraw GMO wiąże się z ingerencją w środowisko naturalne, co podkreślają przeciwnicy tej technologii. Z kolei zwolennicy zwracają uwagę na szereg zalet płynących z zastosowań metod inżynierii genetycznej. Komitet Biotechnologii PAN przekonuje, iż żywność otrzymywana z genetycznie modyfikowanych odmian jest bezpieczna dla zdrowia, a uprawy nie stanowią zagrożenia dla środowiska [10,22]. Faktem jest, że rośliny modyfikowane genetycznie odgrywają coraz większe znaczenie gospodarcze. Powierzchnie upraw transgenicznych z każdym rokiem powiększają się w skali globalnej, a do najczęściej uprawianych roślin modyfikowanych genetycznie należy soja [21]. W 2009 roku 80% światowego areалу upraw soi stanowiła soja transgeniczna, posiadająca gen odporności na herbicydy. Soja modyfikowana genetycznie, pochodząca z USA, najczęściej wykorzystywana jest jako pasza dla zwierząt. W przypadku żywności przeznaczonej dla ludzi prawo europejskie wymaga oznakowania produktów otrzymywanych z soi modyfikowanej genetycznie, czy też innych roślin [24]. Przeciwnicy żywności bazującej na produktach transgenicznych obawiają się m.in. zagrożenia związanego z chorobami alergicznymi. Modyfikowana genetycznie soja jest podawana jako przykład rośliny wywołującej alergię. W celu zwiększenia wartości pokarmowej, wprowadzono do nasion soi geny orzechów brazylijskich. Badania wykazały, że zwiększyła się zawartość metioniny, ale jednocześnie z orzechów został przeniesiony gen warunkujący produkcję substancji powodującej uczulenia u ludzi [21].

VI. PODSUMOWANIE

Soja zwyczajna, jak pokazuje niniejszy artykuł, to roślina wielu zastosowań. Znajduje wykorzystanie nie tylko jako produkt spożywczy, ale jest także jedną z częściej używanych pasz zwierzęcych. Zawartość izoflawonów i pozostałych składników czynnych pozyskiwanych z nasion powoduje, że soja zaliczana jest do roślin leczniczych. W Polsce niesprzyjające warunki klimatyczne sprawiają, że uprawiana jest na niewielką skalę. Ze względu na wzrastające zainteresowanie konsumentów kuchnią azjatycką, czy też dietą wegetariańską, coraz częściej możemy odnaleźć soję na półkach sklepowych. Niestety nie zawsze produkty sojowe spotykają się z przychylnym odbiorem. Takie podejście może wiązać się z tym, że soja należy do roślin, które zostały wprowadzone do upraw jako organizm modyfikowany genetycznie.

VII. LITERATURA

1. Czerwiakowski I.R.: Opisanie roślin dwulistniowych lekarskich i przemysłowych. s. 3321-3323. Drukarnia Uniwersytetu Kraków. 1863.
2. Frederic L.: Życie codzienne w Japonii w epoce samurajów. s. 190. Państwowy Instytut Wydawniczy Warszawa. 1971.
3. Jundziłł B.S.: Botanika stosowana. Drukaria Dyecezyalna Wilno. ss. 315. 1799.
4. Kaczmarski M., Maciorkowska E., Jastrzębska J.: Alergia i nietolerancja pokarmowa u dzieci. Rola diety eliminacyjnej, Alergia Astma Immunologia 1. s. 7-11. 1996.
5. Kajdański E.: Medycyna chińska dla każdego. WL Kraków. s. 5. 44. 2011.
6. Kołodziejczyk J., Olas B., Wachowicz B.: Właściwości lecznicze izoflawonów w łagodzeniu objawów towarzyszących menopauzie menopauzie i nie tylko. Kosmos 2. s. 332-337. 2012.
7. Kraszevska O., Nynca O., Kamińska B., Ciereszko R.: Fitoestrogeny I. Występowanie, metabolizm i znaczenie biologiczne u samic. Postępy Biologii Komórki 2. s. 189-205. 2007.
8. Krystian J., Adrych J., Marek I., Kryszevski A.: Choroba trzewna u dorosłych – wierzchołek góry lodowej. Wiadomości Lekarskie 5-6. s. 361. 2006.
9. Kuźmiński B.: Warzywa wędrują za człowiekiem. Ludowa Spółdzielnia Wydawnicza Warszawa. ss. 246.1975.
10. Lisowska K.: Genetycznie modyfikowane uprawy a zrównoważone rolnictwo i nasze zdrowie. Journal of Ecology and Health 6. s. 303-309. 2010.
11. Łuczkiwicz M.: Badania nad akumulacją aktywnych leczniczo izoflawonów w kulturach in vitro wybranych gatunków z rodzaju Genista. Annales Academiae Medicae Gedanensis suplement. ss. 78. 2006.
12. Molenda J.: Rośliny, które zmieniły świat. Replika Zakrzewo. s. 302-308. 2011.
13. Muszyński J., Strażewicz W.: Soja jej historia, znaczenie gospodarcze, uprawa, użytkowanie oraz dotychczasowe wyniki uprawy w Polsce. Wilno. s. 4-81. 1933.
14. Nowiński M.: Dzieje upraw i roślin uprawnych. PWN Warszawa. s. 257. 1970.
15. Nynca A., Kraszevska O., Słomczyńska M., Ciereszko R.: Fitoestrogeny. II. Wewnątrzkomórkowy mechanizm działania w układzie rozrodczym samicy. Postępy Biologii Komórki 1. s. 207-222. 2007.
16. Obara M., Grzeškiewicz S.: Zawartość 3-MCPD (3-monochloropropan-1,2-diolu) w wybranych produktach spożywczych. Tłuszcze Jadalne 41. s. 289. 2006.
17. Owsiański J.: Soja wczesna. Warszawa. s. 4. 1899.

18. Prescha A., Biernat J.: Wpływ fitoestrogenów pokarmowych na organizm człowieka. Cz. II. Przeciwdziałanie skutkom menopauzy oraz działanie przeciwnowotworowe. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna* 4. s. 941-948. 2008.
19. Radzikowski Cz.: Genisteina – izoflawonoid soi o zróżnicowanym mechanizmie działania – implikacje kliniczne w leczeniu i prewencji chorób nowotworowych. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*. 58. s. 128-137. 2004.
20. Stankiewicz D.: GMO korzyści i zagrożenia. *Infos: zagadnienia społeczno-gospodarcze. Biuro Analiz Sejmowych*. s. 1-4. 2007.
21. Stankiewicz D.: Organizmy zmodyfikowane genetycznie. Kancelaria Sejmu. Biuro Studiów i Ekspertyz. Wydział Analiz Ekonomicznych i Społecznych. *Informacja BSE*. s. 2-8. 2000.
22. Stawarczyk K., Prokop A., Stawarczyk M., Sadło S.: Biotechnologia w rolnictwie – odbiór i świadomość mieszkańców Podkarpacia. *Zesz. Nauk. PTIE i PTG Oddz. W Rzeszowie*. 15. s. 89-94. 2012.
23. Strzelecka H., Kowalski J.: *Encyklopedia Ziolarstwa i Ziołolecznictwa*. Wydawnictwo Naukowe PWN Warszawa. s. 520-521. 2000.
24. Świtoński M., Maleszy S.: Postęp biologiczny w rolnictwie w erze genomiki i modyfikacji genetycznej. *Nauka* 1. s. 25-35. 2012.
25. Typek J.: Wielka kariera małej fasolki. *Bez Recepty*. 3. s. 42-44. 2013.
26. Typek J.: Soja. *Apetyt na Zdrowie*. 5. s. 10-11. 2013.
27. Wróblewska B.: Wielka ósemka alergenów pokarmowych. *Alergia*. 15. 2002.

SOY – ALIMENTARY, MEDICINAL AND INDUSTRIAL PLANT

Summary

Soy is a plant commonly used in the food and pharmaceutical industries, as well as used in cookery and dietetics. This paper discusses the botanical and phytochemical characteristics, history of use, nutritional and therapeutic effects of soy. Mention was also made of the latest applications of soy, including as genetically modified plants.

Keywords: *soybean, food plants, medicinal plants, isoflavones, genetically modified plants*

**MACIEJ BILEK,¹ NATALIA MATŁOK,² RAFAŁ PIENIAŹEK,¹
JANINA KANIUCZAK^{1,3}**

¹ Wydziałowe Laboratorium Analiz Zdrowotności Środowiska i Materiałów Pochodzenia Rolniczego, Wydział Biologiczno-Rolniczy, mbilek@univ.rzeszow.pl,

² Katedra Inżynierii Produkcji Rolno-Spożywczej, Wydział Biologiczno-Rolniczy, natalia.matlok@onet.pl,

³ Katedra Gleboznawstwa, Chemii Środowiska i Hydrologii, Wydział Biologiczno-Rolniczy, Uniwersytet Rzeszowski, jkaniucz@univ.rzeszow.pl

**OZNACZANIE ZAWARTOŚCI CUKRÓW PROSTYCH
I SACHAROZY W SOKACH I NEKTARACH OWOCOWYCH
POCHODZĄCYCH Z RYNKU UKRAIŃSKIEGO**

Jednymi z najbardziej wartościowych produktów ukraińskiej gospodarki są przetwory owocowo-warzywne, a ukraiński przemysł rolno-spożywczy wydaje się być potencjalnym, niezwykle atrakcyjnym segmentem polsko-ukraińskiej współpracy handlowej. Pojawia się zatem pytanie o jakość produktów spożywczych, wytwarzanych na Ukrainie, a jednym ze sposobów wstępnego jej określenia może być porównanie zawartości składników deklarowanych przez producentów ze stanem faktycznym. W niniejszych badaniach przeprowadzono kontrolę zawartości cukrów prostych i sacharozy w 10 sokach i nektarach produkcji ukraińskiej, metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej. Otrzymane wyniki wskazują na wysoką jakość produktów wytwarzanych na Ukrainie, co uwidacznia się w zgodności deklarowanej i stwierdzonej doświadczalnie sumie węglowodanów.

Słowa kluczowe: cukry proste, chromatografia cieczowa HPLC, bezpieczeństwo żywności, soki owocowe, nektary owocowe

I. WSTĘP

Ukraina jest ważnym partnerem handlowym Polski, jest jednocześnie drugim po Rosji największym państwem naszego kontynentu. Polskie firmy coraz częściej inwestują w ukraińską gospodarkę, a polscy konsumenci chętnie nabywają ukraińskie produkty, szczególnie w ramach Polsko-Ukraińskiego Regionu Transgranicznego. Pokazna jest także ilość wwożonych do Polski produktów spożywczych, produkowanych na Ukrainie, stanowiących indywidualne zakupy za wschodnią granicą Polski. Ukierunkowany przede wszystkim na eksport towarów do Rosji, ukraiński przemysł rolno-spożywczy odnotowuje ciągły wzrost. Stanowi on kilkanaście procent produkcji przemysłowej i ponad 25% struktury towarowej eksportu Ukrainy. Główne zakłady przetwórstwa owocowo-warzywnego zlokalizowane są na Krymie, w Odessie i na Zakarpaciu, stanowiąc atrakcyjny cel dla potencjalnych polskich inwestorów [3,12,13].

Rosnąca konsumpcja ukraińskich produktów spożywczych w Polsce wskazuje na konieczność badania ich jakości, niezależnie od działań ukraińskich służb sanitarno-higienicznych i fitosanitarnych. Jednym z najprostszych sposobów oceny jakości wytwarzanych produktów spożywczych jest zrewidowanie na drodze doświadczalnej deklarowanego na etykiecie przez producenta składu produktu [4]. Producenci soków i nektarów owocowych zobowiązani są do poinformowania w treści etykiety o łącznej zawartości cukrów, występujących w surowcu naturalnie, bądź też na drodze dodatku technologicznego. Metoda wysokosprawnej chromatografii cieczowej stwarza możliwość określenia jakie cukry znajdują się w danym produkcie, a także określenia ich sumarycznej zawartości, a co za tym idzie – porównania jej z zawartością deklarowaną przez producenta.

Celem pracy była ocena zawartości cukrów prostych i sacharozy w dziesięciu sokach i nektarach owocowych, zakupionych w ogólnodostępnym sklepie spożywczym w miejscowości Drohobycz na Ukrainie.

II. METODYKA

Analizie poddano dziesięć soków i nektarów, wytwarzanych przez pięciu producentów. Produkty te zakupiono w ogólnodostępnym sklepie spożywczym w miejscowości Drohobycz na Ukrainie. Nabyte soki i nektary stanowiły pełny asortyment sklepu w tej kategorii produktów.

Do analiz zawartości cukrów w sokach, napojach i nektarach owocowych zastosowano wysokosprawny chromatograf cieczowy firmy Varian sterowany za pomocą programu Varian Workstation wersja 6.9.1, składający się z dwóch pomp wysokociśnieniowych Varian LC 212, automatycznego podajnika próbek Varian ProStar 410, ewaporacyjnego detektora promieniowania rozproszonego Varian ELSD 385 LC oraz modułu integrującego Varian Star 800. Do rozdzielu chromatograficznego użyto kolumny chromatograficznej Cosmosil Sugar-D, 4,6 x 250 mm. Częstotliwość szczytywania danych ustalono na 5.0 Hz. Chromatogramy opracowywano za pomocą programu Varian Workstation wersja 6.9.1. Na podstawie danych eksperymentalnych ustalono optymalne parametry analizy chromatograficznej. Przepływ izokratyczny; skład fazy ruchomej: acetonitryl:woda (80:20 v/v); prędkość przepływu fazy ruchomej: 1 ml/min; objętość nastrzyku: 25 µl; temperatura wewnątrz termostatu kolumnowego: 35°C; temperatura tacy automatycznego podajnika próbek: 4°C. Zastosowano następujące parametry detektora ELSD: przepływ gazu 1,2 l/min., temperatura rozpylacza 80°C, temperatura parownika 80°C.

Oszacowano podstawowe parametry walidacyjne zastosowanej metody analitycznej. Specyficzność metody została potwierdzona nastrzykami pojedynczych wzorców trzech badanych cukrów: fruktozy, glukozy i sacharozy oraz ich mieszaniny. Dla trzech wymienionych cukrów określona została również liniowość odpowiedzi detektora na zadane stężenia roztworów wzorcowych w zakresie od 1,0 do 20 mg/ml. Pełna kalibracja została przeprowadzona na początku analizy i powtórzona po 30 nastrzykach (10 godzin). Krzywe kalibracyjne otrzymano wyciągając średnią z dwóch wartości uzyskanych dla każdego poziomu kalibracyjnego w odstępach codziiesięciogodzinnych. Dla fruktozy uzyskano krzywą o wzorze $y=39,642x-38,064$ i współczynniku $R^2=0,9992$, dla glukozy o wzorze $y=40,652x-45,175$ i współczynniku $R^2=0,999$, zaś dla sacharozy o wzorze $y=39,25x-53,378$ i współczynniku $R^2=0,998$.

Analizę chromatograficzną poprzedzało czterokrotne rozcieńczenie wodą dejonizowaną i przesączenie próbek soków i nektarów przez filtry strzykawkowe MCE o średnicy porów 0,45 µm, dostarczone przez firmę AlfaChem. Wzorce cukrów pochodziły z firmy Sigma Aldrich, acetonitryl o czystości HPLC oraz etanol z firmy POCH.

III. WYNIKI BADAŃ

W ośmiu z dziesięciu badanych soków i nektarów stwierdzono obecność trzech cukrów: fruktozy, glukozy i sacharozy. W dwóch próbkach (soki: multiwitaminowy i brzoskwiniowy) nie odnotowano zawartości sacharozy. Największą sumaryczną ilość cukrów (13,4 g/100 ml) odnotowano w nektarze wiśniowym, zaś najmniejszą (8,7 g/100 ml) w nektarze wieloowocowym. Najwyższe stężenie fruktozy zostało stwierdzone w 100% soku jabłkowym (69,2 mg/ml), natomiast najmniejsze (31,8 mg/ml) w soku brzoskwiniowym. Najwyższe stężenie glukozy odnotowano w nektarze wiśniowym (60,7 mg/ml), a najniższe (31,2 mg/ml) w nektarze wieloowocowym. Najwyższe stężenie sacharozy stwierdzono dla soku brzoskwiniowego (27,7 mg/ml), zaś najniższe (8,5 mg/ml) dla 100% soku jabłkowego.

Zawartości cukrów prostych (fruktozy i glukozy) oraz sacharozy w większości badanych soków i nektarów pokrywały się z deklaracjami producenta. Największe odstępstwa stwierdzono w przypadku nektaru wiśniowego (zawartość cukrów większa o 1,3 g/100 ml od zadeklarowanej), soku brzoskwiniowego (zawartość cukrów większa o 1,5 g/100 ml od zadeklarowanej) i kolejnego soku brzoskwiniowego (zawartość cukrów mniejsza o 3,3 g/100 ml od zadeklarowanej). W przypadku innych soków i nektarów różnice te wynosiły poniżej jednego grama sumy cukrów na 100 ml produktu (tabela 1).

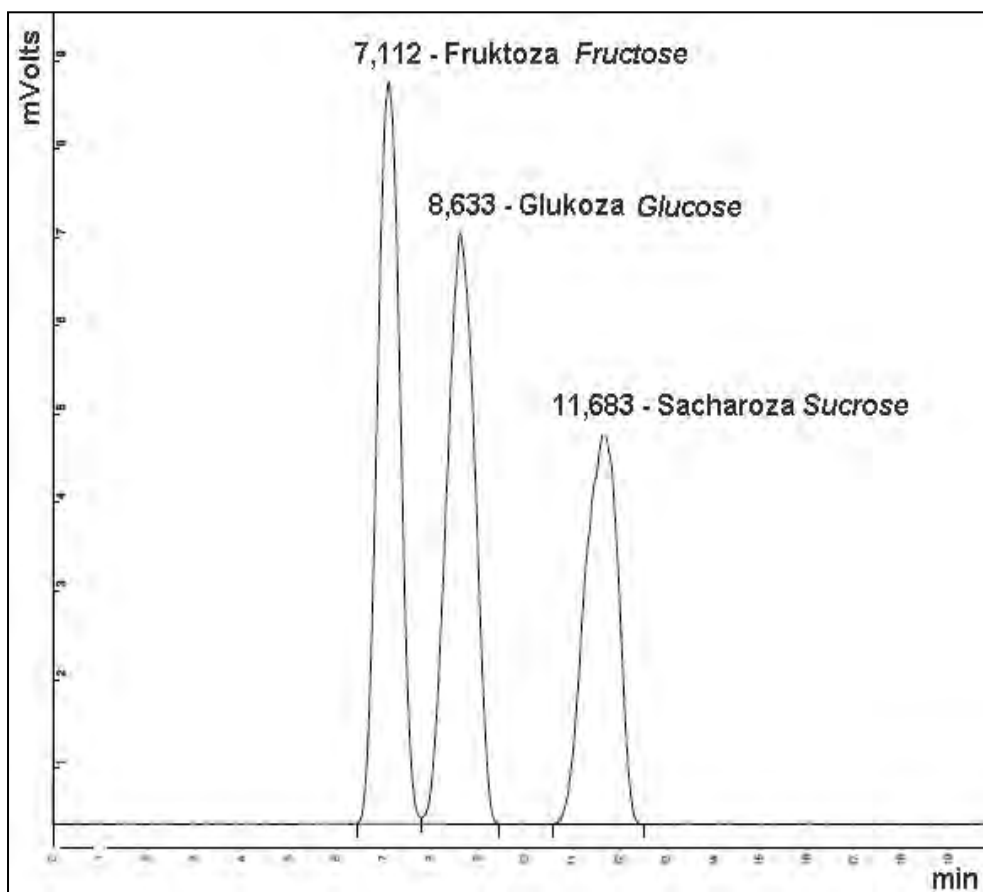
Tabela 1 – Table 1

Zawartość fruktozy, glukozy i sacharozy w badanych sokach
Content of fructose, glucose and sucrose in the samples

Opis próbki Description of the sample	Średnia zawartość węglowodanu w czterokrotnie rozcieńczonym soku lub nektarze <i>The average content of carbohydrate in fourfold dilution juice or nectar</i> [mg/ml] ±SD, (n=3)			Zawartość cukrów deklarowana przez producenta <i>Sugar content in juice or nectar declared by the manufacturer</i> [g/100 ml]	Oznaczona suma cukrów <i>Determined total sugar</i> [g/100 ml]
	Fruktozy <i>Fructose</i> [mg/ml] ±SD, (n=3)	Glukozy <i>Glucose</i> [mg/ml] ±SD, (n=3)	Sacharozy <i>Sucrose</i> [mg/ml] ±SD, (n=3)		
Nektar wiśniowy <i>Cherry nectar</i>	11,9 ±0,087	11,2 ±0,039	6,7 ±0,027	10,6	11,9
Nektar wiśniowy <i>Cherry nectar</i>	14,3 ±0,016	15,2 ±0,037	4,0 ±0,021	12,8	13,4
Nektar wielo- owocowy <i>Mixed fruit nectar</i>	8,6 ±0,115	7,8 ±0,075	5,3 ±0,044	9,5	8,7
Sok jabłkowy <i>Apple juice 100%</i>	17,3 ±0,075	8,6 ±0,049	2,1 ±0,017	10,9	11,2
Nektar z czarnej porzeczki <i>Blackcurrant nectar</i>	14,9 ±0,165	12,6 ±0,123	2,6 ±0,019	12,0	12,0
Nektar jabłkowy <i>Apple nectar</i>	10,6 ±0,029	8,1 ±0,061	6,7 ±0,015	9,7	10,2

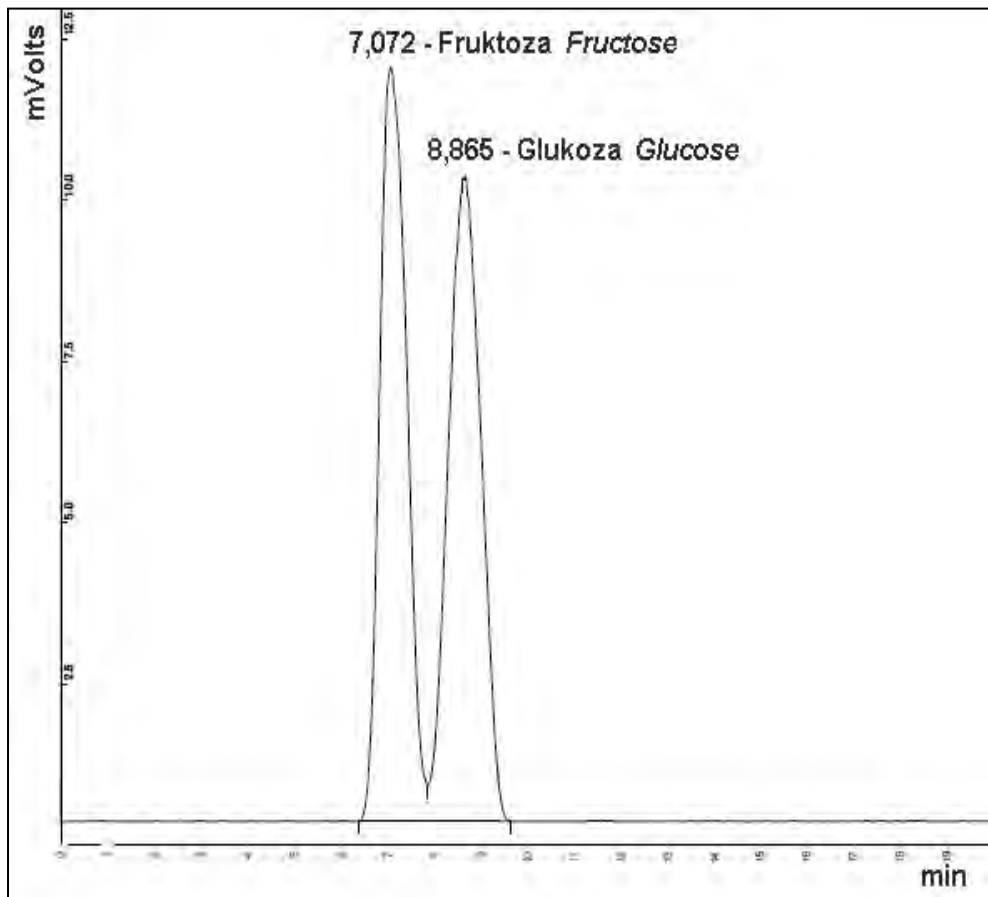
Sok brzoskwinio- wy <i>Peach juice</i>	7,9 ±0,050	7,9 ±0,061	6,9 ±0,029	12,4	9,1
Sok brzoskwinio- wy <i>Peach juice</i>	14,9 ±0,050	13,9 ±0,014	–	10,0	11,5
Sok brzoskwinio- wy <i>Peach juice</i>	9,402 ±0,058	8,597 ±0,051	5,33 ±0,016	10,0	9,3
Sok multiwitaminowy jagodowy <i>Blueberry multivitamin juice</i>	12,9 ±0,038	13,1 ±0,065	–	10,0	10,4

Na rycinie 1 i 2 zaprezentowano typowe chromatogramy otrzymane w trakcie badań.



Rys. 1. Chromatogram otrzymany dla nektaru wieloowocowego

Fig. 1. Chromatogram of mixed fruit nectar



Rys. 2. Chromatogram otrzymany dla soku multiwitaminowego jagodowego
Fig. 2. Chromatogram of multivitamin juice

IV. Dyskusja

Analizy zawartości cukrów w sokach, nektarach i napojach owocowych prowadzone są często [1,6,7,8,11], szczególnie w kontekście ich potencjalnych zafałszowań [10]. W wynikach z tych badań nie są jednak odnotowywane ewentualne różnice w określonym składzie soku z informacjami zadeklarowanymi przez producenta. Częściej spotykane są prace dotyczące porównania np. zawartości cukrów w sokach świeżo wyciskanych i produkowanych przemysłowo [5,9]. W Polsce badania nad zawartością cukrów w różnorodnych napojach prowadzą pracownicy Katedry i Zakładu Bromatologii Wydziału Farmaceutycznego Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, wykorzystując do tego celu wysokosprawny chromatograf cieczowy z detektorem Corona-CAD. Zespół ten dokonał m.in. oceny zawartości cukrów prostych w dziesięciu sokach produkcji krajowej (pięciu jabłkowych i pięciu pomarańczowych) i dziesięciu sokach świeżo sporządzonych. Nie podano jednak informacji o różnicach pomiędzy zawartością deklarowaną przez

producenta, a stwierdzoną. Autorzy ograniczyli się jedynie do stwierdzenia, że *często zdarzają się niezgodności lub brak informacji o rodzajach cukrów, którymi są słodzone soki i napoje*. Odnotowane w cytowanych badaniach średnie zawartości sumy węglowodanów (fruktozy, glukozy i sacharozy) w sokach jabłkowych kształtowały się w zakresie od 8,68 do 10,16 g/100 ml. Natomiast określona w niniejszych badaniach, średnia zawartość sumy wymienionych cukrów w sokach jabłkowych produkcji ukraińskiej, była zbliżona i wynosiła 11,2 g/100 ml dla 100% soku jabłkowego i 10,2 g/100 ml dla nektaru jabłkowego [5]. Kolejne badania wspomnianego zespołu dotyczyły zawartości cukrów prostych i sacharozy w napojach energetyzujących. Wykazano w nich niezgodności z wartościami deklarowanymi w zakresie od 12 do 48% [2], podczas gdy w przypadku badanych soków i nektarów ukraińskich wartości te wynosiły od 0,1 do 26,7% i przy średniej różnicy 8,68%.

V. WNIOSKI

1. W sokach i nektarach owocowych produkcji ukraińskiej, badanych z użyciem wysokosprawnej chromatografii cieczowej, stwierdzono zawartość fruktozy, glukozy i sacharozy, występujących naturalnie lub dodanych jako substancje słodzące.
2. Średnia zawartość sumy oznaczanych cukrów w badanych sokach i napojach ukraińskich była w zakresie od 8,708 g/100 ml dla nektaru wieloowocowego do 13,423 g/100 ml dla nektaru wiśniowego.
3. Tylko w wypadku trzech na dziesięć badanych soków i nektarów odnotowano różnice pomiędzy ilością deklarowaną przez producenta, a stwierdzoną, przekraczające 1 gram/100 ml.
4. Przeprowadzone badania wskazują, że ukraińscy producenci wywiązują się z zadeklarowanych zawartości cukrów w sokach, co może być przyczynkiem do potwierdzenia wysokiej jakości produktów z za wschodniej granicy.

VI. LITERATURA

1. Blanco Gomis D., Gutierrez Alvarez M. D., Mangas Alonso J. J., Noval Vallina A.: Determination of Sugars and Alcohols in Apple Juice and Cider by High Performance Liquid Chromatography. *Chromatographia*. 25. s. 701-706. 1988.
2. Grembecka M., Lebidzińska A., Mróz M., Szefer P.: Ocena zawartości sacharozy i cukrów prostych w wybranych napojach energetyzujących. *Problemy Higieny i Epidemiologii*. 94. s. 339-341. 2013.
3. Kalita W., Puchalska K., Barwińska-Małajowicz A.: Ocena polsko-ukraińskiej wymiany handlowej z uwzględnieniem obszarów transgranicznych. W: Woźniak M.G. (red.): *Spójność społeczno-ekonomiczna a modernizacja regionów transgranicznych*. Wydawnictwo Uniwersytetu Rzeszowskiego Rzeszów. s. 83-94. 2008.
4. Kim H., House L.A.: Impact of Added Sugar Information of Front-of-Pack Labels on Consumers' Beverage Health Perception Changes. *Agricultural&Applied Economics Association's 2012 AAEA Annual Meeting*. AAEA Seattle-Washington. s. 3-31. 2012.
5. Lebidzińska A., Czaja J., Brodowska K., Woźniak A., Szefer P.: Ocena zawartości cukrów prostych i sacharozy w sokach owocowych z wykorzystaniem HPLC. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*. 44. s. 326-330. 2011.

6. Li W., Goovaerts, Maurens M.: Quantitative Analysis of Individual Sugars and Acids in Orange Juices by Near-Infrared Spectroscopy of Dry Extract. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 44. s. 2252-2259. 1996.
7. Malik A., Krukowska A.: Ocena preferencji smakowych soków marchwiowych na tle wybranych parametrów jakościowych. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*. 42. s. 965-968. 2009.
8. Markowski J., Baron A., Mieszczakowska M., Płocharski W.: Skład chemiczny francuskich i polskich mętnych soków jabłkowych. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 84. s. 68-74. 2009.
9. Serpen J. Y.: Comparison of Sugar Content in Bottled 100% Fruit Juice versus Extracted Juice of Fresh Fruit. *Food and Nutrition Sciences*. 3. s. 1509-1513. 2012.
10. Targoński Z., Stój A.: Zafałszowania żywności i metody ich wykrywania. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*. 45 suppl. s. 30-40. 2005.
11. Tewari J., Joshi M., Gupta A., Mehrotra R., Chandra S.: Determination of sugars and organic acid concentration in apple juices Rusing infrared spectroscopy. *Journal of Scientific&Industrial Research*. 58. s. 19-24. 1999.
12. Ukraina. Informacja o stosunkach gospodarczych Polski z Ukrainą. Ministerstwo Gospodarki, Departament Promocji i Współpracy Dwustronnej. Warszawa. s. 1-8. 2013.
13. Urbanowska J., Oniszczyk W., Borko H.: Ukraina. Przewodnik dla przedsiębiorców. Polska Agencja Rozwoju Przedsiębiorczości. Warszawa. s. 9-54, 136-256. 2005.

HPLC METHOD FOR DETERMINATION OF FRUCTOSE, GLUCOSE AND SUCROSE IN SOME UKRAINIAN FRUIT JUICE AND FRUIT NECTAR

Summary

One of the most valuable products of the Ukrainian economy are fruit and vegetable products. Ukrainian agri-food industry seems to be a potent, highly attractive segment of the Polish-Ukrainian trade cooperation. The question therefore arises about the quality of food products produced in Ukraine. One way to assess their quality could be to compare the contents of the selected components declared by the producers and their content determined experimentally. The aim of this study was to control the content of carbohydrates in juices and nectars produced in Ukraine. High performance liquid chromatography method was used for this purpose. The results show the high quality of the products produced in Ukraine. This is shown in the conformity of the declared and stated the total carbohydrate content.

Keywords: sugar, liquid chromatography HPLC, food safety, fruit juice, nectar juice

KEVIN R. BUTT¹, CHRISTOPHER N. LOWE¹, PAM DUNCANSON²

¹Earthworm Research Group, University of Central Lancashire, Preston, PR1 2HE, UK

²Preston City Council, Preston Cemetery, New Hall Lane, Preston, PR1 4SY, UK

e-mail: krbutt@uclan.ac.uk

**EARTHWORMS OF AN URBAN CEMETERY IN PRESTON:
GENERAL SURVEY AND BURROWING ACTIVITY OF
*LUMBRICUS TERRESTRIS***

*Cemeteries in the UK are predominantly represented by grassland areas which have a variety of origins. Each can act as a haven for wildlife and numerous studies have looked at the flora and fauna present and in particular lichens associated with gravestones which offer chronological assessment. However, very few studies have looked at invertebrates in such settings and surprisingly, few if any have investigated earthworms - given the folklore associating these animals with the decomposition of human remains in the soil. This investigation set out to identify which species of earthworm were present in an urban cemetery in Preston and to discover how deep the animals were burrowing and indeed, if they were capable of burrowing to a depth of 2 metres – the depth at which bodies are usually buried. Nine species of earthworm were found, representing all three ecological categories, epigeic, endogeic and anecic. Burrow configurations were measured through casting with polyurethane resin. Vertical burrows of clitellate *Lumbricus terrestris* penetrated to a mean depth of 0.49 m (maximum 0.59 m), a function of soil type and water table. Where previous land use had created a relatively impervious layer below the soil surface, complex branched burrows of *L. terrestris* were found. These were significantly ($p < 0.001$) shorter (mean depth 0.21 m) but confirmed the behavioural flexibility that this species of earthworm is known to exhibit. The presence of a healthy earthworm community in the grassland of the cemetery may well assist ecosystem services, but assistance with decomposition of human remains is unlikely.*

Keywords: graveyard, *Lumbricus terrestris*, burrow, behavioural flexibility, polyurethane resin

I. INTRODUCTION

Within urban settings there are often surprisingly large areas of green space. These may be represented by obvious locations such as parks and gardens, but other spaces may be overlooked or not seriously considered when assessing their ecological value. Cemeteries are one such area. Traditionally, burials took place in churchyards, but more recently as populations have grown and urbanisation has occurred, specifically designated cemeteries, often managed by Local Authorities have been utilised for internments. There are thought to be in excess of 20,000 burial grounds in England alone, ranging from less than 1 ha up to 5 ha in area [6]. Cemeteries often provide relatively large grass-covered spaces within

urban settings and the ecological value of cemeteries has not gone totally unnoticed. A review by Dennis [6] highlighted botanical surveys of such areas, particularly more ancient churchyards, and also focussed on bird species and mammals such as bats.

More recently, Krupa and Czerniakowaki [12] looked at the interrelationships of natural and human history in cemeteries. Many Local Authorities in the UK e.g. [15] now provide heritage and ecology trails around some of the older cemeteries, which may have received no pesticide or fertiliser treatments for over 150 years. Because of the large number of gravestones in cemeteries and the variety of stone used, colonisation by lichens is something that has been studied for decades. In unpolluted areas this can reveal much, due to the known date of headstone erection, with the British Lichen Society [3] representing a source of valuable information on the ecology and conservation of this group.

Despite the research so far described, little is known of the soil fauna associated with cemeteries. Earthworms are one important group of soil organisms, renowned for their ecosystem service provision e.g. [1]. The work here described, therefore set out to obtain data on the earthworm community associated with a cemetery close to the centre of the city of Preston (53° 46' 03" N, 2° 39' 40" W) in NW England. This cemetery, which opened in July 1855, is owned and managed by Preston City Council [14].

Objectives were (a) to qualitatively unearth which species were present and in what numbers/biomasses; and (b) more directly to ascertain the status of the largest earthworm in Britain, the deep burrowing (anecic *sensu* Bouché [2]) *Lumbricus terrestris*. This species is of interest as it is reputed to be able to burrow to depths of 2- 3 metres [7]. Therefore in the given context, the relationship of such burrows with burial plots was something considered worthy of exploration, as it has been the subject of folklore for centuries. This is exemplified as shown below in an excerpt from a traditional English Folk song (Ilkla' Moor baht'at) – which describes the fate of a young man who is buried and eaten by worms after catching “his death of cold” after going out on to a moor without his hat.

“...Then t'wurms'll come an' ate thee up, ate thee up
On Ilkla' Moor baht'at
Then t'wurms'll come and ate thee up
Then t'wurms'll come and ate thee up...”

II. MATERIALS AND METHODS

Undisturbed areas were required to give a clear indication of the earthworm species present. General sampling employed a number of methods, including digging and hand-sorting of soil plus mustard vermifuge extraction [4]. Two parts of the cemetery, the Victorian (from the nineteenth century) and the New (brought into use in the 1950s), were both examined. For legal and moral reasons no sampling took place upon or immediately beside any point of human burial. The New part of the cemetery had previously been used for growth of vegetables, sand extraction and had been used as a dump site for disposal of construction waste.

In the Victorian section of the cemetery, qualitative sampling for earthworms initially involved searching through earth which had recently been excavated to create graves. This was followed by more systematic applications of a vermifuge (mustard suspension equivalent to 50 g in 10 litres of water) over quadrats of 0.25 m². Each area sampled had an application of 20 litres of vermifuge per quadrat over a period of 30 minutes. Specimens were preserved in formaldehyde, taken to the laboratory, examined and identified to species level, using the nomenclature of Sims and Gerard [16]. Earthworm masses were also recorded and each individual was allocated to an age category; simplified as adult

(fully clitellate) or juvenile. Similar sampling was also undertaken in the New section of the cemetery and results were combined.

In both the Victorian and the New parts of the cemetery, *L. terrestris* burrows were examined following the method of Shipitalo and Butt [17]. Within demarcated areas of 2 m², all *L. terrestris* middens were located at the soil surface by feeling manually and exploring with blunt knives [13]. These middens were then removed to expose the burrows below. Each burrow had a vermifuge (mustard suspension as previously described) applied from a syringe, and the emerging earthworm was collected, preserved and referenced to the burrow from which it emanated, permitting burrow and burrow occupant to be cross-referenced. Additional vermifuge was added if the animal did not initially surface. Each burrow was then marked with a small plastic peg and left overnight for excess liquid to drain away. Thereafter polyurethane resin and hardner was mixed as directed by the manufacturer (Scott-Bader, Stockport) with the addition of yellow acrylic paint for visual clarity of casting. This was poured directly into each burrow until excess resin collected at the burrow opening. The resin was then left for 24 hours to harden. To assist the *in situ* exposure of resin casts, a small soil excavator, normally used to prepare graves, dug a trench beside the area where burrow-casting had taken place (fig. 1). This then enabled burrows to be exposed by standing in the trench and digging laterally into the soil profile (fig. 2). Lengths of burrows and masses attributable to mature (clitellate) animals were measured and compared between the Victorian and New sections of the cemetery using students' t-tests.



Fig. 1. Excavation of trench in Preston Cemetery beside area where *Lumbricus terrestris* burrows have been located and cast with coloured polyurethane resin

Rys. 1. Wybieranie *Lumbricus terrestris* z wykopu na cmentarzu w Preston, gdzie zlokalizowano odchody dżdżownic a korytarze zostały wypełnione kolorową żywicą poliuretanową



Fig. 2. Excavation of soil from within a trench to expose the marked, polyurethane-filled burrows of *Lumbricus terrestris* in Preston Cemetery

Rys. 2. Wykop w ziemi cmentarza w Preston odsłaniający wypełnione kolorową żywicą poliuretanową korytarze *Lumbricus terrestris*

III. RESULTS

Within Preston Cemetery, nine earthworm species were located, representing all 3 ecological groups. The surface dwelling species *Lumbricus castaneus* (Savigny), *Lumbricus festivus* (Savigny) and *Lumbricus rubellus* (Hoffmeister); shallow working species (green morph of) *Allolobophora chlorotica* (Savigny), *Aporrectodea caliginosa* (Savigny), *Aporrectodea rosea* (Savigny) and *Octolasion cyaneum* (Savigny); and also two deep burrowing species *Aporrectodea longa* (Ude) and *L. terrestris* (Linnaeus).

A. chlorotica and *O. cyaneum* were not located during systematic sampling but were recorded during hand sorting of soil and extraction of *L. terrestris* burrows. Of the other seven species extracted with a mustard vermifuge, their relative contribution to the community is shown in figure 3. From this, *L. terrestris* could be considered dominant, four species abundant, with *L. castaneus* and *L. festivus* as occasional. Mean density recorded in this manner was 41 ± 5.9 earthworms m^{-1} with a mean biomass of $42.95 g m^{-1}$. The largest clitellate *A. longa* and *L. terrestris* recorded from this sampling were 1.77 g and 4.73 g respectively.

In the Victorian cemetery, *L. terrestris* burrows were found to a depth of 0.51 m in a heavy clay soil, water-logged at depth. The shape of these burrows was of the type normally associated with this species, i.e. near vertical with little or no branching. When filled with resin and excavated, it was found that the burrows tended to terminate at the level of the water table (around 0.53 - 0.57 m). In the New cemetery *L. terrestris* burrows were very different in form from those previously described, see examples in figures 4 and 5. Greatest burrow depth was 0.3 m and these were often branched, with a mean of 1.2 divisions (max. = 8) below a depth of 0.1 m.

Clitellate animals taken from the Victorian and New sites had mean masses of 3.18 ± 0.16 g and 3.06 ± 0.35 g respectively which did not differ significantly ($p > 0.05$). However, burrow length of clitellate *L. terrestris* from Victorian and New sites was significantly different ($p > 0.001$) with means of 0.49 ± 0.02 m and 0.21 ± 0.02 m respectively.

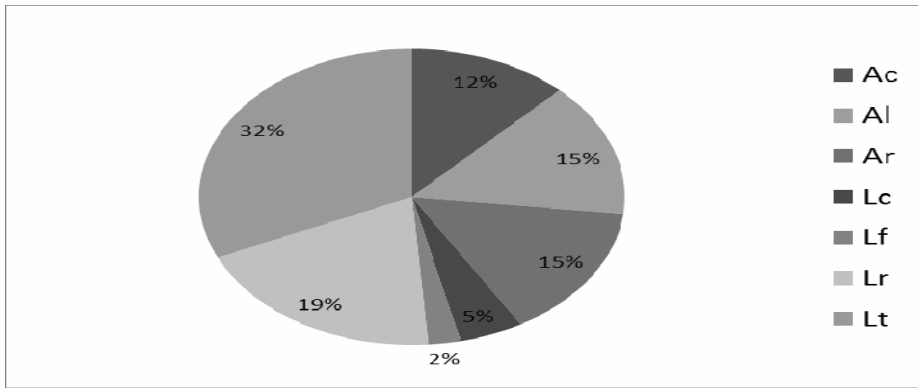


Fig. 3. Proportion of earthworm species located from mustard vermifuge sampling in Preston Cemetery (Ac - *Aporrectodea caliginosa*, Al - *Aporrectodea longa*, Ar - *Aporrectodea rosea*, Lc - *Lumbricus castaneus*, Lf - *Lumbricus festivus*, Lr - *Lumbricus rubellus*, Lt - *Lumbricus terrestris*)

Rys. 3. Udział gatunków dżdżownic wypłoszonych roztworem mielonej gorczycy na cmentarzu w Preston (Ac - *Aporrectodea caliginosa*, Al - *Aporrectodea longa*, Ar - *Aporrectodea rosea*, Lc - *Lumbricus castaneus*, Lf - *Lumbricus festivus*, Lr - *Lumbricus rubellus*, Lt - *Lumbricus terrestris*)



Fig. 4. *In situ* yellow-coloured, polyurethane-cast of a *Lumbricus terrestris* burrow to show its shape, curling around a number of bricks and other impenetrable objects in Preston Cemetery

Rys. 4. Wybarwione na żółto *in situ* poliuretanowe odlewy korytarzy *Lumbricus terrestris* pokazujące ich kształt, zwiłanie się wokół kilku cegieł i innych niedostępnych obiektów w glebie cmentarza w Preston



Fig. 5. Example of an extracted polyurethane cast of a *Lumbricus terrestris* burrow from Preston Cemetery, showing multiple branches (total depth = 0.2 m)

Rys. 5. Przykład wydobytego z gleby cmentarza w Preston poliuretanowego korytarza *Lumbricus terrestris* pokazującego wiele odgałęzień (całkowita głębokość = 0,2 m)

In the Victorian section of the cemetery, there was evidence of burrows which extended to 0.48 m that were occupied by small (immature) *L. terrestris*. These had a mean mass of only 2.23 g (n = 3). The burrow dimensions were not dissimilar to those occupied by mature animals in this location. In addition, one individual (mass 1.9 g) had a burrow whose resin impression came to an end after 0.20 m, but below some earthworm soil casting, the burrow continued with a larger diameter to a greater depth.

IV. DISCUSSION

The community in the cemetery, comprising of all ecological groups of earthworms, is what might be expected for any grassland. The collection of nine species is a relatively high number for grassland as Guild [10] working in Scotland, showed that no more than 7-10 species occurred in any one pasture habitat – with little relationship between pasture age and species number.

The (vermifuge) extraction method used in this work does not favour collection of endogeic species such as e.g. *A. chlorotica* which might be considered as recalcitrant. For this reason, no attempt was made to draw comparison with documented densities and biomasses from other UK grasslands, [7] as hand-sorting of soil was normally employed. *O. cyaneum*, a larger species, only found when digging, is more suited to vermifuge expulsion but is parthenogenetic and where found, is described as locally common but never abundant [16]. This may help to explain its perceived scarcity in the cemetery.

Burrow dimensions of *L. terrestris* have been studied extensively in the field, particularly in agricultural settings using the technique employed here e.g. [13,17]. However, the depth of burrowing in agricultural settings has been found to extend to 1 m and as here, depth is a function of soil type and water table level. The masses of mature *L. terrestris* found in the cemetery were not dissimilar to those from other UK grassland sites e.g. [4] with no differences present between the two sections of the cemetery. However, there were significant differences between the “Victorian” burrows and the “New” burrows with the branching nature of the latter caused by a limited soil layer, where sand had been extracted historically and the void created filled with refuse and rubble. The building rubble and bricks in the soil made creation of a vertical burrow almost impossible. However *L. terrestris* was able to colonise and survive in this inhospitable area. This demonstrates a remarkable flexibility in burrowing behaviour, as also shown by Butt and Nuutinen [5] for this species at an effectively shallow soil above a waste site in the UK. Such field observations are supported experimentally. For example, in an applied setting, Hawkins et al. [11] have shown that a sand layer can be used to prevent burrows of *L. terrestris* from penetrating the surface of soil-wastewater treatment system trenches. The discovery of immature *L. terrestris* in larger burrows suggests that some form of burrow inheritance may well be occurring. This supports experimental observations reported in 2D terraria [9] and from field plots [8].

That the burrows of *L. terrestris*, at their very deepest, extended to a depth of much less than 1 m in the cemetery is worthy of note. What it means in this context, is that folklore must be dismissed with respect to interactions between earthworms and buried human remains. The reality is surely that “wurms’ll *not* come and ate thee up”!

V. REFERENCES

1. Blouin M., Hodson M. E., Aranda Delgado E., Baker G., Brussaard, L., Butt K.R., Dai J., Dendooven L., Pérès G., Tondoh J., Cluzeau J., Brun J. J.: A review of earthworm impact on soil function and ecosystem services. *European Journal of Soil Science*. 64. p. 161-182. 2013.
2. Bouché M. B.: Stratégies lombriciennes. In: U. Lohm & T. Persson (eds.) *Soil Organisms as components of Ecosystems*. Biological Bulletin (Stockholm). 25. p. 122-132. 1977.
3. British Lichen Society. Churchyard Lichens: A fact Sheet – your questions answered. [electronic document; <http://www.thebls.org.uk/activities/churchyard-survey/churchyard-lichens>. Accessed January 2014].
4. Butt K. R., Grigoropoulou N.: Basic Research Tools for Earthworm Ecology. *Applied and Environmental Soil Science*. vol. 2010, Article ID 562816. doi:10.1155/2010/562816. <http://www.hindawi.com/journals/aess/2010/562816.html> . 2010.
5. Butt K. R., Nuutinen V.: Behavioural flexibility in the deep burrowing earthworm *Lumbricus terrestris* under adverse subsoil conditions. Poster presentation at XVI International Colloquium on Soil Zoology. Coimbra Portugal. 2012.
6. Dennis E.: The Living Churchyard- Sanctuaries for Wildlife. *British Wildlife*. 4 (4). p. 230-241. 1993.
7. Edwards C. A., Bohlen P. J.: *Biology and ecology of earthworms* (3rd edition). Chapman and Hall. London. 1996.
8. Grigoropoulou N., Butt K. R.: Assessment of burrow re-use by *Lumbricus terrestris* L. through field experimentation. *Zesz. Nauk. PTIE i PTG Oddz. w Rzeszowie*. 15. p. 43-51. 2012.
9. Grigoropoulou N., Butt K. R., Lowe C. N.: Interactions of juvenile *Lumbricus terrestris* with adults and their burrow systems in a two-dimensional microcosm. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*. 44. p. 964-968. 2009.

10. Guild W. J. Mc. L.: The distribution and population density of earthworms (Lumbricidae) in Scottish pasture fields. *Journal of Animal Ecology*. 20. p. 88-97. 1951.
11. Hawkins C. L., Rutledge E. M., Savin M. C., Shipitalo M. J., Brye K. R.: A sand layer deters burrowing by *Lumbricus terrestris* L. *Soil Science*. 173 (3). p. 186-194. 2008.
12. Krupa B., Czerniakowaki Z. W.: Historical and Natural aspects of Pobitno Municipality Cemetery in Rzeszów. In: *Practical Applications of Environmental Research* (Eds. Kostecka J., Kaniuczak J.). University of Rzeszów. p. 413-423. 2012.
13. Nuutinen V., Butt K. R.: Interaction of *Lumbricus terrestris* L. burrows with field subdrains. *Pedobiologia*. 47. p. 578-581. 2003.
14. Preston Cemetery. [electronic document; <http://www.cemsearch.co.uk/preston/preston.html>. Accessed February 2014].
15. Salford Waste Cemetery Heritage & Ecology Trail. [electronic document; <http://www.salford.gov.uk/cemeteries.htm> Accessed January 2014].
16. Sims R. W. Gerard B. M.: Earthworms. *Synopses of the British Fauna* No. 31 (revised). Published for The Linnean Society and the Brackish-Water Sciences Association by Field Studies Council. Shrewsbury. 1999.
17. Shipitalo M. J., Butt K. R.: Occupancy and geometrical properties of *Lumbricus terrestris* L. burrows affecting infiltration. *Pedobiologia* 43. p. 782-794. 1999.

Acknowledgements

Preston City Council for access to Preston Cemetery and assistance with digging of trenches.
Mustard powder was supplied by Colman's of Norwich.

DŹDŹOWNICE MIEJSKIEGO CMENTARZA W PRESTON: PRZEGLĄD OGÓLNY I AKTYWNOŚĆ *LUMBRICUS TERRESTRIS* W DRAŻNIENIU KORYTARZY

Streszczenie

*Cmentarze w Wielkiej Brytanii mają różne pochodzenie a każdy może stanowić siedlisko życia dla wielu przedstawicieli dzikiej przyrody. Na cmentarzu prowadzono liczne badania flory i fauny, w szczególności porostów na nagrobkach, co umożliwiło ocenę chronologiczną. Niewiele badań poświęcono tu jednak bezkręgowcom a zaskakująco niewiele dżdżownic - ludowo kojarzonych z rozkładem szczątków ludzkich w glebie. Prowadzone badania określiły które gatunki dżdżownic były obecne w miejskim cmentarzu w Preston i jak głębokie ryły korytarze są dodatkowo, czy były w stanie schodzić do głębokości 2 metrów - na której szczątki ludzkie są zazwyczaj pochowane. Stwierdzono tu dziewięć gatunków dżdżownic reprezentujących wszystkie trzy kategorie ekomorfolologiczne; epigeiczne, endogeiczne i anektyczne. Konfiguracje korytarzy mierzono poprzez odlew z żywicy poliuretanowej. Pionowe korytarze dojrzałych *Lumbricus terrestris* dochodziły średnio do głębokości 0,49 m (maksymalnie 0,59 m), w zależności od rodzaju gleby i poziomu wód gruntowych.*

*Tam gdzie poprzednie użytkowanie gruntów powodowało powstanie stosunkowo nieprzepuszczalnej warstwy pod powierzchnią gleby, znaleziono złożone i rozgałęzione nory *L. terrestris*. Były one istotnie ($p < 0,001$) krótsze (średnia głębokość 0,21 m), co potwierdza elastyczność behawioralną tego gatunku dżdżownicy. Obecność zdrowego zespołu dżdżownic w użytkach zielonych cmentarza może również wspomóc usługi ekosystemowe (ekosystem services), ale udział w rozkładzie szczątków ludzkich jest mało prawdopodobny.*

Słowa kluczowe: cmentarz, *Lumbricus terrestris*, korytarz, elastyczność behawioralna, żywica poliuretanowa

MARIOŁA GARCZYŃSKA^{1,2}, JOANNA KOSTECKA^{1,2}

¹ Katedra Biologicznych Podstaw Rolnictwa i Edukacji Środowiskowej

² Pracownia Gospodarki Odpadami

Wydział Biologiczno-Rolniczy Uniwersytetu Rzeszowskiego

e-mail: mgar@univ.rzeszow.pl; jkosteck@univ.rzeszow.pl

DYNAMIKA MUCHÓWEK ZIEMIÓRKOWATYCH (SCIARIDAE) NA ODPADACH ORGANICZNYCH W SKRZYŃCE EKOLOGICZNEJ W LABORATORIUM

Podstawą opracowania było badanie dynamiki liczebności larw ziemiórkowatych w odpadach organicznych utylizowanych przez okres 9 miesięcy w wermikulturze, w warunkach laboratoryjnych. Stwierdzono, że były najliczniejsze w miesiącach letnich - w lipcu, a najmniej liczne (choć nadal obecne) w lutym.

Słowa kluczowe: ziemiórki, odpady organiczne, dżdżownicowe skrzynki ekologiczne

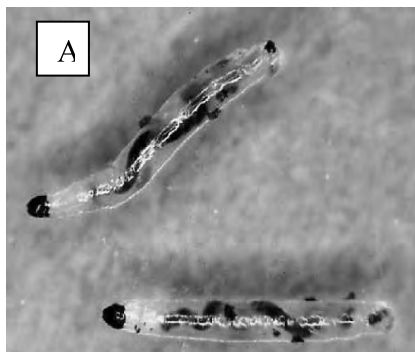
I. WSTĘP

Ziemiórki (*DIPTERA: SCARIDAE*) to wspólna nazwa muchówek należących do trzech rodzajów *Bradysia*, *Lycorieua* i *Sciarra* [1,14]. Długość ich cyklu rozwojowego jest ściśle uzależniona od wilgotności podłoża i temperatury otoczenia. Według badań przeprowadzonych przez Tomalaka [14], w temperaturze 20°C, ich pełny cykl rozwojowy wynosi 21-23 dni. Po pewnym czasie (od około 4 do 12 dni) z jaj wylęgają się szklistobiałe larwy, z przeświecającym przez ciało przewodem pokarmowym i czarną głową (fot. 1, rys. 1). Według Szwejdys [13] w temperaturze 22°C cykl jednego pokolenia muchówek trwa około 20-30 dni.

Dorośle samice ziemiórek przypominają postać komara. Kopulują bezpośrednio po wylocie z podłoża i po około dwóch dniach zaczynają składać jaja do żyznego i wilgotnego środowiska. Zapłodniona samica może złożyć około 170 jaj.

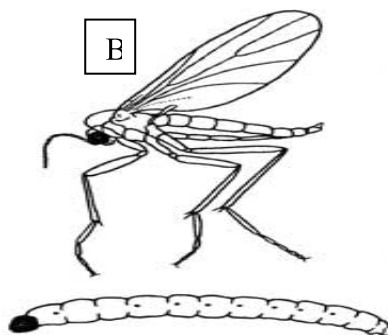
Wyszczególnione muchówki są często obecne w uprawach szklarniowych i pieczarkarniach. Ich larwy wykazywane są jako poważne szkodniki w uprawach pieczarki, bocznika ostrygowatego i pomidorów (obniżają ich wartość handlową). Atakują również rośliny ozdobne (np. anturium, cyklamen, pojsencję, pelargonie, begonie i storczyki) oraz warzywa (ogórki, pomidory, paprykę). *Sciaridae* powodują duże straty, sięgające nawet do 50% w przypadku roślin rozmnażających się wegetatywnie [6]. Mogą

stanowiąc ważne ogniwo w rozprzestrzenianiu się nicieni, roztoczy, patogenów bakteryjnych czy grzybowych (np. *Verticillium fungicola*) [1,11,14].



Fot. 1. Larwy ziemiórek (A)

Fot. 1. *Scarid fly larvae* (A)



Rys. 1. Owad dorosły i larwa ziemiórki (B)
[za Szwejda 2004]

Rys. 1. *An adult insect and Scarid fly larva* (B)
[za Szwejda 2004]

Ziemiórki preferują podłoża wilgotne, bogate w rozkładającą się substancję organiczną, w szczególności torf i jego substraty, podłoża zawierające kompost liściowy, rozkładającą się słomę, korę czy gliniastą ziemię [13]. W przypadku zasiedlania kompostu, większa część larw ziemiórek zasiedla jego warstwę powierzchniową [10,14].

Ze wspomnianych powodów ziemiórki chętnie zasiedlają także dżdżownicowe skrzynki ekologiczne [7,8], wypełnione np. kuchennymi odpadami organicznymi. Nadmierne namnożenie zarówno osobników dorosłych muchówek jak i larw może utrudniać prowadzenie skrzynki. Larwy tych muchówek konkurują w wermikulturze z dżdżownicami o odpad organiczny.

Celem pracy było określenie dynamiki liczebności muchówek *Sciaridae* pojawiających się na odpadach organicznych skrzynki ekologicznej w okresie jej prowadzenia.

II. MATERIAŁ I METODY

Doświadczenie prowadzono w 10 pojemnikach badawczych o wymiarach 21x15x10cm (odpowiednikach niewielkich skrzynek ekologicznych), w warunkach laboratoryjnych przez okres 9 miesięcy. Obserwowano wermikompostowanie kuchennych resztek organicznych z udziałem dżdżownicy *Eisenia fetida* (Sav.) (tab.1) (w temperaturze $20\pm 5^{\circ}\text{C}$, przy wilgotności podłoża około 70%). W wermikompostowanych odpadach sprawdzano obecność larw ziemiórek określając ich liczebność i biomasę. W tym celu, regularnie raz w miesiącu, z każdego pojemnika badawczego pobierano po 3 próbki podłoża o objętości 30 cm^3 . Poszukując larw stosowano metodę mokrego lejka [5]. Metoda ta polega na wypłaszaniu organizmów glebowych pod wpływem ciepła palącej się żarówki, przez okres 3 dni.

Uzyskane dane analizowano z pomocą arkusza kalkulacyjnego Excel i zaprezentowano jako średnie i odchylenia standardowe (średnia \pm SD).

Tabela 1 – Table 1

Schemat przeprowadzonej obserwacji / Scheme of conducted observation

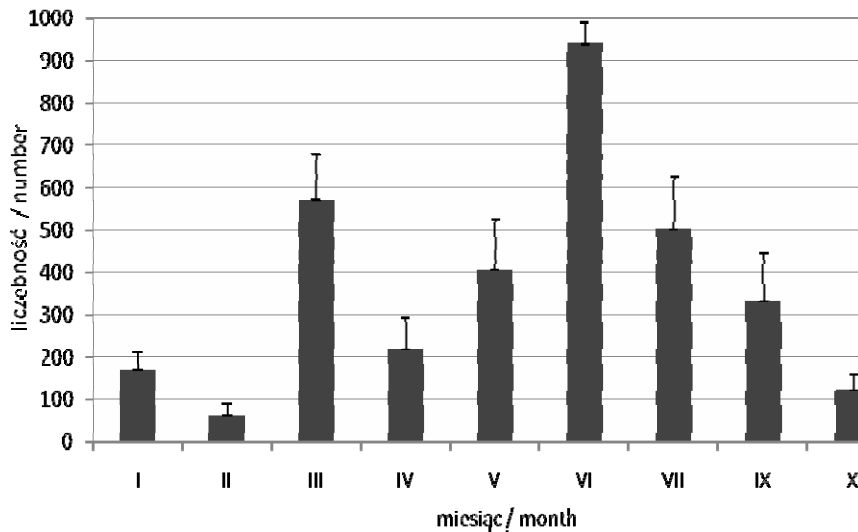
Pojemniki badawcze <i>Containers</i>	Czas obserwacji <i>Time of observation</i>	Podłoże <i>Substrate</i>	Odpady organiczne <i>Organic wastes</i>	Populacja startowa dżdżownic <i>Starting population of earthworms</i>
1-10	styczeń <i>January</i> październik <i>October</i>	ziemia ogrodnicza* <i>universal medium for ornamental plants*</i>	resztki gotowanego makaronu, chleba, obierek z ziemniaków i jabłek + celuloza** <i>leftovers of cooked pasta, bread, potato peels and apples + cellulose**</i>	po 50 dżdżownic <i>E. fetida</i> o zbilansowanej biomase <i>in groups of 50 E. fetida of balanced biomass</i>

* uniwersalne podłoże do roślin ozdobnych Floro-hum, pH 5,5-6,5. Skład: torf wysoki, torf niski, perlit, piasek, mikroelementy, nawóz mineralny NPK / *universal medium for ornamental plants Floro-hum: highmoor peat, lowmoor peat, perlite, sand, microelements, mineral fertilizer NPK*

** podawanie wymienionych resztek kuchennych i celulozy odpowiednio w stosunku / *administration of listed kitchen wastes and cellulose in a ratio of ½: ½: ½::1 respectively*

III. WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

W wyniku przeprowadzonych obserwacji określono dynamikę aktywności muchówek ziemiorkowych w podłożach dżdżownicowych skrzynek ekologicznych (w temperaturze $20\pm 5^{\circ}\text{C}$ i wilgotności około 70%) w okresie od stycznia do października (ryc. 1, tab. 2).



Ryc. 1. Średnia liczebność larw ziemierek w okresie od stycznia do października (w dm^3 podłoża)

Fig. 1. The average size of scarid fly larvae population found during the period between January and October (in dm^3 of the medium)

Średnia liczebność odnajdywanych larw *Sciaridae* wynosiła 369 ± 187 (os. / dm^3 podłoża) a średnia ich biomasa $0,011 \pm 0,02$ (g / dm^3). Najwięcej larw stwierdzono w odpadach w miesiącu lipcu ($p < 0,001$), gdy ich średnia liczebność sięgała 940 ± 280 os. dm^{-3} próbki podłoża a średnia biomasa $0,772 \pm 0,012$ g (w dm^3 próbki podłoża) (ryc. 1; tab. 2). Stanowiło to 28% wszystkich odnalezionych larw ziemiórek, gdy w pozostałych w miesiącach były one znacznie mniej liczne; odpowiednio w styczniu stanowiły 5% całości populacji rocznej a w lutym tylko 2%.

Tabela 2 – Table2

Średnia masa larw ziemiórek odnajdywanych w okresie styczeń - październik (g w dm^3 podłoża)
The average of biomass scarid fly larvae population during the period from January to October
(g in dm^3 of the medium)

Czas obserwacji <i>Time of the study</i>	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
Biomasa <i>Biomass</i>	0,092 $\pm 0,005$	0,021 $\pm 0,001$	0,035 $\pm 0,000$	0,112 $\pm 0,006$	0,237 $\pm 0,002$	0,772 $\pm 0,006$	0,236 $\pm 0,004$	0,132 $\pm 0,007$	0,055 $\pm 0,002$

Duże zagęszczenie odnalezionych larw muchówek w analizowanych skrzynkach ekologicznych potwierdza ich optymalne warunki środowiskowe dla zasiedlania przez *Sciaridae*. Podczas wermikompostowania odpady utrzymywane są bowiem w stosunkowo wysokiej (70%) wilgotności a to odpowiada także ziemiórkom. W przesuszonych podłożach i przy podwyższonej temperaturze larwy te przenoszą się natomiast w głąb i wyszukują np. wilgotne korzenie roślin albo przechodzą w stan anabiozy.

Podobnie jak do laboratorium, ziemiórki mogą zalatywać do innych pomieszczeń (szklarni, tuneli ogrodniczych) lub mogą być tam zawlekane wraz z podłożem organicznym lub materiałem roślinnym. Duże zagęszczenie larw i populacji dojrzałych osobników *Sciaridae* utrudnia prowadzenie hodowli, a czasami ich nadmierna liczebność może nawet stać się czynnikiem alergennym [6,12].

Chroniąc otoczenie przed masowym pojawieniem się *Sciaridae* można wykorzystywać np. metody mechaniczne. Należy wtedy zabezpieczyć miejsca, przez które dojrzałe osobniki mogą wlecieć zwabione zapachem (znalezione miejsca wlotu dorosłych muchówek np. w oknach, należy uszczelnić). Gdy dojdzie do ich nalotu i rozmnażania, owady dorosłe można ograniczać przez stosowanie żółtych bądź niebieskich (często podświetlonych) tablic lepowych oraz specjalnych lamp owadobójczych. Na wysoko rozmieszczone tablice lepowe wylapują się jednak głównie samce. Zapłodnione samice (z odwołkiem pełnym jaj) przemieszczają się natomiast nisko nad podłożem lub chodzą po nim. W opisanym przypadku, w walce z ziemiórkami można sięgać także po metody chemiczne lub biologiczne [2,3,4,9]. W przypadku utrudnień laboratoryjnych, wg Szwejda [13] larwy te można również ograniczać rozstawiając żółte pojemniki z wodą i środkiem zmniejszającym napięcie powierzchniowe, co spowoduje ich przyciąganie kolorem i topienie się.

IV. WNIOSKI

1. Ziemiórki *Sciaridae* mogą zalatywać lub być zawlekane wraz z podłożem organicznym lub materiałem roślinnym do szklarni, tuneli ogrodniczych a także do laboratorium, gdzie duże zagęszczenie larw i populacji dojrzałych osobników utrudnia np. prowadzenie hodowli zwierząt laboratoryjnych.
2. Znając dynamikę liczebności i aktywności tych owadów, łatwiej jest przedsięwziąć działania ochronne, wśród których zalecać należy głównie prośrodowiskowe metody biologiczne.

V. LITERATURA

1. Dmowska E., Ignatowicz S., Lewandowski M., Maszkiewicz J., Szymański J., Uliński Z.: Ochrona pieczarki. Hortpress. Warszawa. ss. 123. 1999.
2. Garczyńska M., Kostecka J.: Influence of Dimilin 25 WP on characteristics of earthworm *Eisenia fetida* Sav., vermicomposting organic waste. Ecological Chemistry and Engineering. 18(11). s. 1557-1563. 2011.
3. Garczyńska M., Kostecka J.: Wpływ insektycydu Nomolt 150SC stosowanego przeciwko muchówkom w skrzynkach ekologicznych na cechy dżdżownic *Eisenia fetida* (Sav.). Inżynieria Ekologiczna. 27. s. 13-18. 2011.
4. Garczyńska M., Kostecka J.: Ograniczanie larw muchówek podczas vermikompostowania domowych odpadów organicznych w skrzynkach ekologicznych. Roczniki Gleboznawcze. LXIII(1). s. 18-21. 2012.
5. Górny M., Grüm L.: Metody stosowane w zoologii gleby. PWN. Warszawa. 1981.
6. Kołaczyńska-Janicka M.: Ziemiórki i brzegówki w uprawach pod osłonami. Hasło Ogrodnicze. 2. s. 90-92. 2009.
7. Kostecka J.: Badania nad vermikompostowaniem odpadów organicznych. Zesz. Nauk. AR w Krakowie. Rozprawy. 268. s. 1-88. 2000.
8. Kostecka J., Garczyńska M., Pączka G., Mroczek. J.: Modeling the processes of vermicomposting in an ecological box – recognized critical points. Contemporary Problems of Management and Environmental Protection: „Some aspects of environmental impact of waste dumps”. Red. Skibniewska K.A. 9. s. 143- 156. 2011.
9. Kostecka J., Garczyńska M.: Influence of chosen insecticides on the characteristics of vermicompost produced from kitchen waste. Proceedings of Ecopole. 6 (2). s. 535-540. 2012.
10. Kowalska J., Komosa A.: Ocena skuteczności *Steinernema feltiae* w zwalczaniu ziemiórek (*Diptera, Sciaridae*) w podłożu z włókna drzewnego w uprawie pomidora szklarniowego. Post. Ochr. Rośl. 46(2). s. 476-479. 2006.
11. Lewandowski M.: Patogeny i szkodniki przenoszone przez muchówki i roztocze. Biuletyn Producentów Pieczarek „Pieczarki”. 2. s. 29-33. 2003.
12. Mazurek J.: Larwy ziemiórek. Owoce, Warzywa, Kwiaty. 10. s. 62-63. 2010.
13. Szwejda J.: Ochrona warzyw przed ziemiórkami. Hasło Ogrodnicze. 7. 2004. [dokument elektroniczny: <http://www.ho.haslo.pl.php?id=1789>, data wejścia 3.04. 2014]
14. Tomalak M.: Problemy ochrony upraw bocznika (*Pleurotus spp.*) przed szkodnikami. Post. Ochron. Rośl. 48(3). s. 978-987. 2008.

THE DYNAMICS OF THE SCARID FLY (SCIARIDAE) ON ORGANIC WASTES IN ECOLOGICAL BOXES IN A LABORATORY

Summary

The basis of the study was to research the dynamics of the number of the Diptera Sciaridae larva population in organic waste utilized in vermiculture for the period of 9 months in laboratory conditions. It was found that they were most numerous during summer (in July) and the least numerous (although still present) in February.

Keywords: scarid flies, organic wastes, earthworms ecological boxes

KRZYSZTOF KASPRZAK

Katedra Turystyki Wiejskiej Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, ul. Witosa 45, 61-693 Poznań
e-mail: kasprzakjk@poczta.onet.pl

OCHRONA KRAJOBRAZU KULTUROWEGO - TEORIA I PRAKTYKA

W artykule przedstawiono uwagi na temat teoretycznych i praktycznych zasad ochrony krajobrazu kulturowego. Podkreślono znaczenie krajobrazu jako dobra publicznego, którego ochrona jest obecnie pozorowana. Przyczyną jest brak zarówno dobrych rozwiązań prawnych, jak i świadomości społecznej dotyczącej potrzeby ochrony krajobrazu.

Słowa kluczowe: krajobraz kulturowy, ochrona krajobrazu, dobro publiczne

I. WSTĘP

Od szeregu lat występuje w Polsce wyraźny kryzys ochrony krajobrazu. Społeczny odbiór ustanawiania wszelkich form ochrony przyrody jest na ogół bardzo zły. Ochrona krajobrazu np. w parku narodowym, czy parku krajobrazowym, uważana jest najczęściej jako hamulec rozwoju gospodarczego i ograniczanie praw własności prywatnych właścicieli. Ponieważ społeczne oczekiwania dotyczące ochrony dziedzictwa przyrodniczego i kulturowego są niezwykle słabo określone, dlatego w Polsce brak jest całościowej ochrony krajobrazów. Wartości przyrodniczo-kulturowe ustępują bardzo często racjom społecznym i decyzjom ekonomicznym. Jednym z głównych powodów tej sytuacji jest nieprzebranie Europejskiej Karty Krajobrazowej (European Landscape Conveni), jako wielostronnej umowy międzynarodowej mającej moc wiążącą wobec państw sygnatariuszy [5,9,10,12]. Konwencja stanowi jedyny akt prawny, który traktuje krajobraz bezpośrednio, definiuje jego pojęcie, działania związane z jego ochroną i zarządzaniem; zmierza także do integracji przepisów z zakresu ochrony całości krajobrazu. Dokument ten nie ogranicza krajobrazu tylko do tego, co jest wytworem środowiska przyrodniczego. Uwzględniając działalność człowieka definiuje zarówno krajobraz przyrodniczy, jak i kulturowy. Krajobraz pełni ważną rolę w publicznych zainteresowaniach dziedzinami kultury, ochrony środowiska i przyrody, sprawami społecznymi oraz stanowi zasób sprzyjający działalności gospodarczej i umożliwiający poprawę życia. Jego ochrona, a także gospodarka i planowanie, mogą przyczynić się do tworzenia miejsc pracy. Oddziałuje na powstawanie kultur lokalnych i jest podstawowym komponentem europejskiego dziedzictwa przyrodniczego i kulturowego, przyczyniając się do dobrobytu ludzi i konsolidacji europejskiej tożsamości jednostki i społeczności lokalnych.

Celem artykułu jest przedstawienie podstawowych zasad prawnych ochrony krajobrazu oraz ich praktycznej realizacji.

II. OCHRONA PRZESTRZENI W STRATEGII PAŃSTWA

Ochrona przestrzeni i związanych z nią zasobów biologicznych i krajobrazowych jest formalnie rzeczą biorąc działalnością strategiczną państwa, prowadzącego równoległą ochronę różnorodności biologicznej i krajobrazów. Prowadzone działania służące ochronie i zachowaniu różnorodności biologicznej obejmować mają m.in. zapewnienie efektywnej i aktywnej ochrony cennych przyrodniczo obszarów oraz siedlisk i gatunków na terenach należących do sieci NATURA 2000, uwzględniając jednocześnie procesy i aspiracje rozwojowe kraju, regionów i społeczności lokalnych. Realizowane mają być także działania służące powstrzymaniu defragmentacji środowiska, utrzymaniu ciągłości i ochronie korytarzy ekologicznych. Nastąpi zwiększanie powierzchni obszarów chronionych, jak również tworzenie tzw. zielonej infrastruktury na terenach poza systemem obszarów objętych ochroną. Prowadzona będzie renaturyzacja niekorzystnie przekształconych ekosystemów, w tym ekosystemów wodnych, bagien, mokradeł i torfowisk, a także terenów zdegradowanych i porzuconych przez dotychczasowych użytkowników. Działaniom tym będzie towarzyszyć integracja aktywnej ochrony krajobrazów kulturowych i przyrodniczych, jako nośnika potencjału rozwoju [17].

Bardziej szczegółowo ujmuje te zagadnienia Koncepcja Przestrzennego Zagospodarowania Kraju do 2030 r. Gospodarowanie krajobrazami dotyczy zarówno podejmowanych działań ochronnych jak i planowania wykorzystywania zidentyfikowanych walorów w procesie rozwoju, nadawania nowych funkcji obiektom, projektowania i realizacji nowych struktur. Skuteczność podejmowania działań ochronnych, wymaga systematycznego, wieloetapowego umacniania powszechnej ogólnospołecznej świadomości dotyczącej faktu, że zabezpieczanie zapisanej w krajobrazie Polski narodowej i regionalnej tożsamości jest elementem dbałości o wspólne europejskie dziedzictwo kulturowe i wysoką jakość życia [7].

III. POZOROWANA OCHRONA KRAJOBRAZU

Ochrona dziedzictwa kulturowego, w tym krajobrazu kulturowego jest w naszym kraju obowiązkiem prawnym, wynikającym z przepisów ustawy o ochronie zabytków i opiece nad zabytkami [23]. Realizacja tego obowiązku związana jest m.in. z określeniem wielkości zasobów związanych z krajobrazem kulturowym. Służą temu badania naukowe, studia i inwentaryzacje. Jednak praktycznie zmiany wprowadzane w krajobrazie i jego kształtowanie opierają się obecnie nie na badaniach naukowych, ale wyłącznie na przepisach, zasadach i normach, które kształtowane są w ustawach, rozporządzeniach, decyzjach administracyjnych i rozstrzygnięciach sądów administracyjnych. Decyzje podejmują głównie prawnicy i urzędnicy, a nie architekci krajobrazu, urbaniści, czy biolodzy lub geografowie z ośrodków akademickich.

Planowanie przestrzeni geograficznej w sytuacji polskiej gospodarki rynkowej jest na ogół działaniem pozorowanym. Powszechne prowadzenie "polityki" przestrzennej bez miejscowych planów zagospodarowania przestrzennego a tylko wyłącznie w oparciu o indywidualnie wydawane decyzje o warunkach zabudowy lub decyzje o lokalizacji celu publicznego nie pozwala na żadne określenie ogólnych nawet założeń tego rodzaju działań, które trudno nawet nazwać polityką. Działania w przestrzeni nie wynikają z racjonalnego planowania, ale z tzw. „punktowego przesądzania przestrzennego". Poza tym nie wynikają one na ogół z przyjętych kierunków rozwoju oraz nie pozwalają na kształtowanie także bliżej nie zrozumiałej dla większości społeczeństwa wartości jaką jest ład przestrzenny [18]. I właśnie ta powszechna obecnie realizacja zabudowy bez planu miejscowego jest jedynie pozorem planowania w krajobrazie [1].

Harmonię (idealne współdziałanie i jedność) oraz równowagę (zachowanie proporcji) w odniesieniu do ochrony krajobrazu można znaleźć w definicjach ustawowych [22],

natomiast o wiele trudniej doszukać się praktycznego zastosowania tych przesłanek. Chociaż określają one zasady tej ochrony, to jednak brak jest możliwości skutecznego praktycznego ich zastosowania. W polityce przestrzennej gminy - określonej w studium uwarunkowań i kierunków zagospodarowania przestrzennego obejmującym obszar całej gminy - należy uwzględniać nie tylko wymogi ochrony środowiska i przyrody, ale także krajobrazu kulturowego. Stanowią one jednak jedynie zbiór zasad i wytycznych do dalszych działań planistycznych w postaci miejscowego planu zagospodarowania przestrzennego. Pod względem prawnym studium jest nie tylko jedynym dokumentem, który umożliwi przedstawienie kompleksowej problematyki kształtowania krajobrazu, ale także jedynym dokumentem planistycznym, jaki gmina musi posiadać. Co jednak wcale nie oznacza, że musi się do niego stosować i uwzględniać zasady i wytyczne do miejscowych planów przez siebie uchwalone. Priorytety w ogólnej polityce przestrzennej gminy - o ile zostały w ogóle sformułowane i przyjęte - wcale nie muszą być bowiem wiążące dla rozwiązań i decyzji indywidualnych [18]. Wynika to z faktu, że studium jako dokument planistyczny obowiązkowy do wykonania przez samorządy gminne, nie ma mocy prawa lokalnego, natomiast dokument, który mógłby mieć tę właściwość, czyli plan miejscowy, nie musi być w ogóle opracowywany. Trudno więc, aby inwestorzy poważnie traktowali teoretyczne zapisy na temat ochrony jakichkolwiek wartości krajobrazowych. Wystarczy bowiem w sytuacji braku miejscowego planu zagospodarowania przestrzennego wydanie indywidualnej decyzji administracyjnej związanej z tzw. "dobrym sąsiedztwem" [18]. Całość systemu planowania i ochrony nie jest ze sobą skorelowana.

Przeźren krajobrazu kulturowego miast kształtują indywidualne działania inwestorów, a w mniejszym stopniu plany zagospodarowania, których najczęściej brak. Prowadzone są one bez kontroli mieszkańców i w zasadzie także administracji. Urzędnicy orzekają jedynie, czy dana inwestycja jest zgodna z prawem. Nie mogą jednak jej zatrzymać, nawet jeśli jest to sprzeczne z koncepcją urbanistyczną miasta. W mieście system oparty jest na decyzjach wobec poszczególnych budynków, a nie na kompleksowym planowaniu. Przeważa w nim interes prywatny bogatych inwestorów, a nie publiczny biednych mieszkańców.

Miejscowy plan zagospodarowania przestrzennego ma szansę jednak określić jednoznacznie wskaźniki i parametry kształtujące zabudowę i zagospodarowanie terenu (np. linie zabudowy, minimalne i maksymalne wskaźniki intensywności zabudowy, w tym powierzchnię biologicznie czynną) oraz gabaryty (skrajnie) i wysokości projektowanej zabudowy wraz z kształtem dachu. W takim przypadku jakość urbanistyczna i architektoniczna nowych inwestycji zależy wyłącznie od rzetelności i pomysłowości projektanta oraz od decyzji władz samorządowych. Natomiast w przypadku braku planu miejscowego realizacja zabudowy nie jest już tak oczywista. Powstająca w sąsiedztwie zabudowanej już działki nowa inwestycja, jak i planowany nowy sposób użytkowania obiektu, powinny odpowiadać charakterystyce urbanistycznej (kontynuacja funkcji, parametrów, cech i wskaźników kształtowania zabudowy) i architektonicznej (gabaryty i forma architektoniczna obiektów budowlanych) w stosunku do zabudowy już istniejącej. Określenie tej charakterystyki jest prawnym, chociaż zupełnie teoretycznym obowiązkiem gminy prowadzącej postępowanie w sprawie warunków zabudowy [18].

Chociaż ustawodawca starał się pogodzić dwie wartości konstytucyjne - wolność działalności gospodarczej i zadania ochronne - to jednak prawo własności jest w naszym kraju obecnie głównie wiązane z prawem do zabudowy [24]. Duża łatwość zabudowania terenu na podstawie analizy "dobrego sąsiedztwa" usprawiedliwiana jest powszechnie w orzecznictwie sądów administracyjnych, które w krajobrazie nie upatrują żadnego dobra publicznego, nie znają i nie są zainteresowane informacjami na temat zasobów krajobrazowych i niezwykle szeroko interpretują pojęcie "działki sąsiedniej" [18]. Stoi to w sprzeczności z ustawą zasadniczą. Chociaż prawo własności jest chronione konstytucyjnie,

jednak w określonych sytuacjach może być ograniczone. Ograniczenia mogą nastąpić tylko w drodze ustawy i tylko w takim zakresie w jakim nie narusza to istoty prawa własności, a więc z poszanowaniem zasady proporcjonalności, tj. zakazem nadmiernej w stosunku do chronionej wartości ingerencji w sferę praw i wolności jednostki. Takimi przepisami ustawowymi są przepisy m.in. ustawy o planowaniu i zagospodarowaniu przestrzennym [22], określające ograniczenia wykonywania prawa własności wynikające z miejscowego planu zagospodarowania przestrzennego, które są prawnie dopuszczalne. Obecna wolność gospodarcza w działaniach inwestycyjnych może być - przynajmniej teoretycznie - ograniczana poprzez zasady kształtowania przestrzeni w aktach prawnych tworzonych na poziomie polityki lokalnej [19]. Jednak nawet najbardziej ostre ograniczenia działalności gospodarczej nie zawsze idą w parze ze zwiększonym poziomem ochrony [24].

Sytuację ochrony krajobrazu kulturowego utrudnia także brak szczegółowych dokumentacji dotyczących określenia jego wartości. A może nie tyle brak dokumentacji, bowiem najrozsowniejsze opracowania studialne wykonywane są przez architektów krajobrazu m.in. w ośrodkach akademickich, co brak ich umocowania prawnego. Dla postępowania administracyjnego tak naprawdę dokumentacje te nic nie znaczą, a ich ewentualne wykorzystanie w postępowaniu administracyjnym uzależnione jest tylko od pogłębionego zainteresowania tym problemem urzędnika. W zasadzie jakby jego hobby - nie ma on żadnego obowiązku je uwzględniać, a najczęściej może o nich w ogóle nie wiedzieć. Nie ma przyjętej formalnie ewidencji krajobrazów kulturowych i nie ma obecnie również prawnego obowiązku wykonywania studiów krajobrazowych. Nie może więc istnieć w obiegu administracyjno-prawnym wiedza o walorach, kompozycji i potrzebach ochrony wartości krajobrazowych. Inwentaryzacja urbanistyczna, wykonywana na potrzeby studium gminy, skupia uwagę głównie na formach zabudowy i zagospodarowania terenu. Istnieją oczywiście sytuacje, że planiści określają przy wytyczaniu polityki przestrzennej obowiązek ochrony przestrzeni kulturowych cennych, lecz niechronionych. Praktycznie nie jest on w żadnym stopniu wiążący dla zabudowy powstającej w ramach powszechnych w całym kraju indywidualnych decyzji administracyjnych o warunkach zabudowy. Są one w sytuacji braku planu miejscowego instrumentem wyjątkowo nieprecyzyjnym [19]. Stała i nieodwracalna degradacja polskiego krajobrazu następuje więc na wyraźne życzenie i przy całkowitym przyzwoleniu organu ustawodawczego.

Powszechna jest obecnie nadprodukcja terenów przeznaczanych pod działalność inwestycyjną, często kilkakrotnie przekraczająca możliwość finansowe gmin [15,18]. Podział otwartych krajobrazów, które nie są objęte żadną ochroną prawną, następuje poprzez ingerencję w przestrzeń najczęściej bez żadnych uwarunkowań ekonomicznych. Samorządy lokalne - decydujące o przeznaczaniu kolejnych nowych terenów pod inwestycje w granicach własnych gmin - w swojej polityce przestrzennej stawiają głównie na rozwój polegający na zabudowaniu przestrzeni, nie dokumentując w pełni środków finansowych na jego realizację. Dotyczy to zwłaszcza terenów, na których nie ma prawnych form ochrony przyrody lub krajobrazu kulturowego; ich zabudowa jest zawsze priorytetem [18].

Plan miejscowy uchwała rada gminy, po stwierdzeniu, że nie narusza on ustaleń studium, rozpatruje jednocześnie o sposobie rozpatrzenia uwag do projektu planu oraz sposobie realizacji zapisanych w planie inwestycji z zakresu infrastruktury technicznej, które należą do zadań własnych gminy, oraz zasadami ich finansowanie, zgodnie z przepisami o finansach publicznych. Z uchwalaniem planów związane są odszkodowania za poniesioną rzeczywistą szkodę, względnie możliwość wykupienia nieruchomości lub jej części. Jeżeli w związku z uchwaleniem planu miejscowego albo jego zamianą wartość nieruchomości wzrosła, a jej właściciel (użytkownik wieczysty) zbywa tą nieruchomość, to burmistrz (wójt, prezydent) pobiera jednorazową opłatę ustaloną w tym planie. W odniesieniu do zasad określania wartości

nieruchomości oraz zasad określenia skutków finansowych uchwalania lub zmiany planów miejscowych, a także w odniesieniu do osób uprawnionych do określania tych wartości i skutków finansowych stosuje się przepisy o gospodarce nieruchomościami [21]. Miasta nie mogą jednak skutecznie pobierać opłaty planistycznej za wzrost wartości działki objętej nowym planem, który często kosztuje więcej, niż przynosi miastu dochodów. W takiej sytuacji gmin nie stać na świadome kształtowanie przestrzeni i zwykle wstrzymują się z uchwalaniem planów. Bez zmiany prawa sytuacja taka będzie się jeszcze pogłębiać.

Nie ma obowiązku prawnego przełożenia wniosków finansowych, wynikających z przeznaczenia kolejnego obszaru w gminie pod inwestycje, na rzeczywiste zapisy wielkości środków finansowych zapisanych w budżecie i okres ich praktycznej realizacji. Ekonomiczne braki systemu planowania w powiązaniu z systemem podatkowym prowadzą do powolnego zawłaszczania krajobrazu i przekształcania terenów niejako na wyrost wbrew zasadzie zrównoważonego rozwoju [18]. Tworzą się zapasowe rezerwy terenów, które nie wiadomo, czy kiedykolwiek zostaną uruchomione zgodnie z pierwotnymi założeniami. Brak w naszym kraju podatku katastralnego powoduje, że system podatków od nieruchomości nie uwzględnia przekształcania terenów na poziomie prawa miejscowego. Pomimo, że działka po opracowaniu planu miejscowego ma status działki budowlanej, nadal w rozumieniu prawa podatkowego, aż do chwili faktycznej realizacji zabudowy, jest działką rolną. Jej ewentualna "wartość krajobrazowa" nie ma z tym żadnego związku. Problem stanowi również brak jednoznacznych zapisów prawnych dotyczących obowiązku wyposażania terenów budowlanych w niezbędną infrastrukturę techniczną (zwłaszcza kanalizacji sanitarnej) przed rzeczywistym rozpoczęciem inwestycji.

Ochrona i kształtowanie krajobrazu jest wypadkową całego systemu planowania, ściśle powiązane z systemem ochrony zabytków, ochrony przyrody i środowiska oraz uwarunkowaniami ekonomicznymi. Utrzymanie ładu przestrzennego, czy jak kto woli harmonii i równowagi, jest w takiej sytuacji praktycznie niemożliwe. Tym bardziej, że nie ma miejsca w przepisach prawnych na żadne twórcze działanie w zakresie ochrony krajobrazu, zarówno przyrodniczego, jak i kulturowego. Utrzymanie równowagi polegającej na określeniu w przestrzeni granicy między wolnością inwestowania na terenach zurbanizowanych, a zakazem realizacji zabudowy na terenach krajobrazowo cennych, m.in. pod względem kulturowym, jest obecnie także założeniem czysto teoretycznym, nie mającym żadnego związku z podejmowanymi działaniami i decyzjami administracyjnymi w tym zakresie.

W przestrzeni naszego kraju nie jest możliwe wyraźne, jednoznaczne wytyczanie granic krajobrazowych. Nadal w dokumentacjach planistycznych nie określa się granicy rolno-leśnej. Brak jest także programów ochrony terenów rolnych oraz programów i planów krajobrazowych. Żadne gminy nie opracowują miejscowych planów zagospodarowania przestrzennego dotyczących terenów rolnych. Plan jest bowiem potrzebny do wyznaczenia nowych terenów pod budownictwa, a nie prowadzenia bliżej nie zrozumiałej działalności ochronnej, która mogłaby obciążyć niepotrzebnie budżet gminy. Jedynym dokumentem określającym jednoznaczny podział na tereny inwestycyjne i tereny wolne od zabudowy jest studium uwarunkowań kierunków zagospodarowania gminy. Nie ma to jednak praktycznie większego znaczenia dla indywidualnego przekwalifikowania gruntu. W przypadku braku planu miejscowego, na terenach rolnych możliwa jest bowiem realizacja zabudowy zagrodowej, związanej z prowadzonym gospodarstwem, lokalizowana w drodze decyzji indywidualnej. Warunkiem otrzymania decyzji jest posiadanie tzw. gospodarstwa rolnego związanej z tą zabudową, przekraczającego średnią powierzchnię rolną w danej gminie. Grunt związany z projektowanym gospodarstwem nie musi stanowić nawet własności inwestora, lecz może być tylko wdzierżawiony, a z zabudowy związanej z gospodarstwem można zrealizować jedynie budynek mieszkalny. W ten sposób - całkowicie

obecnie legalny - mogą powstać i powstają ogromne wille - będące oficjalnie "zabudową zagrodową" - na terenach o dużych wartościach krajobrazowych. Słusznie podkreśla się, że tego typu zabudowa poprzez pojedyncze realizacje w terenach otwartych, sukcesywnie i bezterminowo niszczy w sposób niekontrolowany i nieodwracalny krajobraz [18].

Niszczeniu krajobrazu kulturowego sprzyja prowadzona od lat pozorowana ochrona gruntów rolnych związana z procedurą tzw. odróżnienia gruntów. Zgodnie z przepisami ustawy o ochronie gruntów rolnych i leśnych [20], na przekształcenie gruntów chronionych w tereny budowlane należy uzyskać zgodę ministra rolnictwa i rozwoju wsi, a wyłączenie z produkcji rolnej uzyskuje się jedynie poprzez ustalenia miejscowego planu zagospodarowania przestrzennego. Takiej zgody wymagają grunty rolne stanowiące użytki rolne klas I-III, jeżeli ich zwarty obszar projektowany do przeznaczenia inwestycyjnego, przekracza wielkość 0,5 ha. Przepis ten dotyczy jednak wyłącznie terenów wiejskich, ponieważ nowelizacja wymienionej wyżej ustawy w 2008 r. wykluczyła ich stosowanie w stosunku do gruntów rolnych położonych w granicach administracyjnych miast. Ułatwiło to dostęp do obszarów peryferyjnych miast i w następstwie ich "rozlewanie", bez względu na konieczność zachowania lub nie zachowania walorów krajobrazowych. Aspekt ten nie jest w ogóle brany pod uwagę.

Gminy nie przeprowadzają na ogół procedury scaleniowo-podziałowej ze względu na koszty procedury planistycznej i prac geodezyjnych. Taniej i prościej w sytuacji braku planu miejscowego jest dzielić grunty rolne na działki o powierzchni nie mniejszej niż 0,3 ha, a następnie wykorzystując "dobre sąsiedztwo" lokalizować zabudowę w terenach rolnych. Umożliwia to również "obchodzenie" obowiązku uzyskiwania zgody na wyłączenie gleb chronionych z produkcji rolnej. Działalność zwana "wolnością gospodarczą" pozwala w szybkim czasie każdą powierzchnię gruntów rolnych przekształcić i zabudować [18]. Tereny rolne wokół miast przestają spełniać barierę dla ich ekspansji na zewnątrz. Tym samym granica między terenami zabudowanymi a otwartymi, w także rolnymi, nie istnieje. A przecież tereny rolne to główny i nieodzowny składnik krajobrazu codziennego, zdefiniowanego jako krajobraz kulturowy niechroniony, w którym harmonia i równowaga mogą być utrzymane tylko dzięki stałym zabiegom [26]. Ochrona tych terenów powinna być jednoznaczna, a granica pomiędzy terenami o różnych funkcjach powinna być czytelna w przestrzeni i w prawie.

Potrzeby rozwoju cywilizacyjnego prowadzą do przekształceń środowiska, skutkujących konfliktami w zakresie ochrony krajobrazu. Chociaż konflikty te są nieuniknione, to jednak istnieją możliwości ich identyfikacji na różnych etapach planowania. Przykładem może być Plan Zagospodarowania Przestrzennego Województwa Wielkopolskiego, który m.in. zabezpiecza podstawowe zasoby krajobrazowe istotne ze względów przyrodniczych [2]. Na poziomie planowania regionalnego najpoważniejszym konfliktem przestrzennym, wynikającym z obowiązku ochrony środowiska kulturowego, jest zwłaszcza realizacja potrzeb transportowych. W wielu miastach drogi ponadlokalne przebiegają przez objęte ochroną obszary o wyjątkowych walorach kulturowych i przyrodniczych, które powinny być uwolnione od tranzytowego ruchu komunikacyjnego. Budowa obwodnic miejskich powinna być poza tym każdorazowo łączona z przebudową rynku w mieście, przywracającą mu historyczną funkcję lokalnego węzła życia społeczno-gospodarczego.

Nie brakuje konfliktów także na poziomie samych miejscowości. Dotyczą one np. dogęszczania osiedli, braku skoordynowania miejskich inwestycji i wizji ich rozwoju, izolacji osiedli z powodu braków w infrastrukturze komunikacyjnej. Chociaż konsultacje społeczne są niekiedy rozbudowane i stosowane są różne formy kontaktu administracji samorządowej z mieszkańcami, to jednak zbierane od mieszkańców uwagi nie zawsze są uwzględniane. Nie ma także żadnych prawnych podstaw, aby równoległe do rozbudowanych konsultacji społecznych, nie forsować rozwiązań budzących sprzeciw mieszkańców. Powstanie

hipermarketów w pobliżu domów mieszkalnych, wysokich budynków w dzielnicy willowej, czy całkowity chaos reklamowy przysłaniający na wszystkie strony krajobraz jest wynikiem panującego od lat powszechnego bezładu przestrzennego.

Bardzo niepokojące jest znikanie z krajobrazu wsi obiektów tworzących przez dziesiątki i setki lat krajobraz kulturowy regionu. Przykładem mogą być wiejskie zespoły przemysłowe, które wpisywały się w miejscowy krajobraz. W wielu przypadkach brak jest obecnie zainteresowania takimi obiektami lub brak możliwości ich utrzymania, chociaż obiekty takie mogą nadal kształtować ład przestrzenny miejscowości [6].

Przekształcenia krajobrazu kulturowego w parkach krajobrazowych są wynikiem nowej sytuacji gospodarczej i nagłym zwiększeniem się popularności obszaru i niedostateczną jego ochroną. Przykładem może być Lednicki Park Krajobrazowy, w których od połowy lat 90. XX w. zaczęły powstawać w oderwaniu od dotychczasowego rozmieszczenia siedlisk zespoły mieszkaniowe deformujące istniejące, historyczne struktury krajobrazu i miejscowości. Utratę pierwotnych walorów krajobrazowych tego Parku pogłębia wprowadzana forma nowych budynków, nie nawiązujących do miejscowej tradycji budowlanej [3]. Procesy tego typu masowo zachodzą na terenie całego kraju, a ich nasilenie występuje zwłaszcza na terenach formalnie chronionych lub w ich bezpośrednim sąsiedztwie.

IV. KRAJOBRAZ DOBREM PUBLICZNYM

Krajobraz kulturowy świata jest coraz bardziej różnorodny i dynamiczny, a dotychczasowe podejścia i definicje stają się niewystarczające. Analitycy kultury odchodzą w swoim postrzeganiu krajobrazu kulturowego świata coraz częściej od pojęcia przestrzeni geograficznej i stanowiącego jej fragment krajobrazu. Powstają nowe siatki pojęciowe, mające uchwycić wielowymiarowość zjawisk o charakterze globalnym. Specyficzne krajobrazy nakładają się na siebie, tworząc obszar przemieszczania się ludzi, przedmiotów i kojarzonych z nimi idei. Wyróżnione krajobrazy (np. etniczny, technologiczny, finansowy, medialny, ideologiczny, estetyczny, rekreacyjny) przenikają się i uzupełniają, mając ogromną siłę oddziaływania społecznego. Krajobraz przestrzenny traci niejako swoje terytorium poprzez międzynarodowe, a w wielu przypadkach wręcz globalne oddziaływania. Sieć nowych krajobrazów wzajemnie się przeplata, wchłania i różnicuje, kształtuje obieg informacji, technologii, ideologii i finansów, tworząc nowe pojęcia, zależności, oddziaływania i zasady. Zwrócić można uwagę np. na związki występujące między krajobrazem estetycznym a turystami i turystyką traktowaną jako zjawisko przestrzenne. Turysta w akcie poznawczym krajobrazu kulturowego chce wchłonąć jego odmienną, cieszyć się różnorodnością i wszelkimi jej odcieniami. Określając siłę swego doznania dąży także do określenia stopnia jego naturalności. Oglądane obiekty turysta postrzega jako przestrzeń estetyczną, która niejako jest przez niego konsumowana w niekończącym się procesie oglądania i poznawania. Turystyka opłatając swoją siecią obecnie praktycznie cały świat, w dużym stopniu kształtuje wzorce jego pojmowania [25].

Formą krajobrazu kulturowego jest także krajobraz rekreacyjny, traktowany jako część krajobrazu wykorzystywana dla celów rekreacji, formułująca się i funkcjonująca pod jej wpływem, o dużej atrakcyjności, przydatności i potencjale rekreacyjnym, posiadająca liczne walory turystyczne, właściwie i atrakcyjnie zagospodarowana [14]. I nie jest to powtarzający się typ krajobrazu, a jedynie układ regionalny. Może to być system przyrodniczy lub przyrodniczo-antropogeniczny lub system całkowicie stworzony przez człowieka, który spełnia lub może spełniać funkcję regeneracji sił psychofizycznych człowieka. W takim układzie pojęć geograficznych podporządkowanym pojęciem jest

krajobraz turystyczny, stanowiący także system przyrodniczy lub przyrodniczo-antropogeniczny, który wzbudza lub może potencjalnie wzbudzać czasowe przemieszczanie się ludności poza miejsce stałego zamieszkania [16]. Stają się oni wtedy turystami, których ogarnia chęć oglądania, poznawania, a niekiedy nawet zrozumienia.

Wiarygodny i logiczny przekaz w przyszłość, dlaczego współczesny polski krajobraz kulturowy tak wygląda, nie jest już obecnie racjonalnie możliwy. Dla wszystkich zainteresowanych krajobrazem kulturowym jako harmonijnym dobrem wytworzonym przez człowieka, oczywiście wydaje się, że jest ono dostępne dla ogółu społeczeństwa. Dobro, które jest powszechnie w każdej chwili odbierane przez wszystkich w otaczającej nas przestrzeni; jest *publicus* i służy ludziom, jest realizowane z uwzględnieniem obiektywnych potrzeb dla ogółu społeczeństwa lub lokalnych społeczności związanych z zagospodarowaniem przestrzennym. Nie odnosi się do interesu jednostkowego lub określonej grupy. Stanowi kategorię potrzeb, które mogą być zaspokajane tylko przez specyficzne dobra, nie poddające się regułom rynkowym. Dobro użytkowane przez jedną osobę może być jednocześnie użytkowane przez innych.

Od lat wskazywane są niekorzystne i na ogół nieodwracalne zmiany zachodzące w krajobrazie naszego kraju i związane z tym pilne potrzeby zmian przepisów, które zapewniłyby realną możliwość prowadzenia kompleksowej ochrony krajobrazu, łącznie z jego estetyką. Przedstawiony przez Prezydenta RP projekt ustawy o zmianie niektórych ustaw w związku ze wzmocnieniem narzędzi ochrony krajobrazu (druk sejmowy nr 1525 z 28.06.2013 r.) bardzo jednak rozczarowuje. Błędne założenia i sformułowania powodują, że prawdopodobieństwo uzyskania znaczącego efektu ochrony krajobrazu w planowaniu miejscowym (podstawowej procedurze planistycznej w naszym kraju) nie będzie możliwe. Projekt przygotowany został w oderwaniu od już istniejących uregulowań prawnych, zarówno krajowych, jak i Wspólnoty Europejskiej, m.in. w zakresie ochrony przyrody nic nie poprawia w zakresie skuteczności egzekwowania już istniejących przepisów, nie określa tzw. krajobrazów priorytetowych oraz zasad i celów ich wyznaczania, przedstawia informacje niezgodne z istniejącym porządkiem prawnym, np. nie uwzględnieni przepisów dotyczących ocen oddziaływania na środowiska i prowadzenia analiz skutków krajobrazowych wprowadza wątpliwe konstytucyjnie rozwiązania prawne zabierając gminom ustawowo zapewnione prawo do decydowania w sprawach dotyczących ładu przestrzennego, ochrony środowiska, przyrody i gospodarki wodnej. To antysamorządowe i sprzeczne z konstytucyjną zasadą subsydiarności rozwiązanie utrwaliłoby tylko bierność środowisk lokalnych. Proponowana nowelizacja ustaw nie zmienia wadliwej praktyki administracyjna związanej z ogromnymi brakami w zakresie sporządzania planów miejscowych oraz nie przywraca korelacji w całości systemu planowania i ochrony.

Nie tylko krajobraz kulturowy, ale całość krajobrazu jako układu ponadekosystemowego (poliekosystemowego), nie jest jednak w naszym kraju traktowane jako dobro publiczne. Przyczynia się do tego występowania poważnych braków w: określeniu spójności między poszczególnymi poziomami przestrzennego planowania lokalnego, udokumentowanej wiedzy o zasobach krajobrazowych, przepisach prawnych, umożliwiających obecnie zawłaszczanie dobra publicznego [18]. W rezultacie brak jest kompleksowego zarządzania takim dobrem jakim jest krajobraz, a krajobraz kulturowy w szczególności. To w nim osadzone jest bowiem materialne i niematerialne dziedzictwo, będące nośnikiem społecznej pamięci i w tej przestrzeni realizują się ludzkie potrzeby tworzenia. Krajobraz, jako wartościowe dobro wspólne, powinien być wyznacznikiem właściwej racjonalnej polityki przestrzennej. Szczególnie na terenach otwartych, dla których charakterystyczną cechą jest duży popyt inwestycyjny [19]. W istniejącej polskiej sytuacji prawnej związanej z ochroną i kształtowaniem krajobrazu, przy wypaczonej w polskim prawodawstwie idei "dobrego sąsiedztwa", krajobraz nie może optymalnie służyć

społeczeństwu, zarówno współczesnemu, a tym bardziej i przyszłemu. Wartość krajobrazu musi mieć swoje odbicie w przepisach prawa, jako wartość nadrzędna i niepowtarzalna, konieczna do zachowania dla jej przyszłych odbiorców. Realizacja zabudowy, oparta o analizę otoczenia, winna być poparta przesłankami wynikającymi z kształtowania realnego ładu przestrzennego oraz uwzględniać czynnik społeczny, ale w rozumieniu dobra publicznego, a nie jednorazowych, indywidualnych zysków. Jedynie takie podejście uchroni gminy przed chaotycznym i niekontrolowanym rozwojem przestrzennym. Konieczne jest dlatego egzekwowanie zasad wynikających z "władztwa planistycznego" gminy, mającej zdolność do jednostronnego kształtowania praw i obowiązków podmiotu administrowanego, a nie podleganie presji inwestorów. Dla utrzymania tej zasady nie wystarczy demokratyczny wybór władzy samorządowej. Niezbędna jest jeszcze jej świadomość, wiedza planisty, wola społeczeństwa i dobre instrumenty prawne, a zwłaszcza formalne uznanie krajobrazu, jako codziennego miejsca życia człowieka, za ogólnie dostępne dobro publiczne z którego każdy korzysta [18].

V. ŚWIADOMOŚĆ SPOŁECZNA I EDUKACJA

Dla architekta krajobrazu podstawą jego zawodu jest m.in. działanie mające na celu zharmonizowanie przestrzeni otwartych z formami tradycyjnego budownictwa [18]. Przestrzeń publiczna nie może służyć tylko wybranej grupie osób, realizującej w niej kosztem społeczeństwa swoje wymyślone, czysto partykularne cele lub fantazje. Niektóre powstałe w miastach obiekty, w tym rekonstrukcje historyczne, to tylko wstyd i całkowita porażka historyków sztuki, architektów krajobrazu, urbanistów i konserwatorów zabytków. Jarmarczne twory są szkodliwe społecznie, ponieważ pokazują obiekty jakie nigdy nie istniały, sugerując ich prawdziwość historyczną [8]. Nie uczą, ale fałszują, poprzez celową manipulację. Stanowi to całkowite zaprzeczenia postanowień Karty Weneckiej [11], co nie jest stwierdzeniem oryginalnym, ponieważ jej nagminne łamanie w Polsce trwa praktycznie już od chwili jej podpisania przez ostatnie prawie pół wieku.

Problemem edukacyjnym jest brak ugruntowanej świadomości społecznej w dziedzinie ochrony wartości kulturowych. Pozamaterialne działania samorządów, dotyczące kształtowania tej świadomości poprzez edukację, z równoczesną promocją walorów kulturowych własnego regionu to proces długotrwały, którego pozytywne skutki nastąpią dopiero po wielu latach intensywnych, ale i konsekwentnych działań edukacyjnych i promocyjnych. W Polsce jest to tym bardziej konieczne, że w odbiorze społeczności lokalnych każde działanie zmierzające do ochrony krajobrazu traktowane jest jak próba wstrzymywania rozwoju. Kryteria i metody oceny krajobrazu kulturowego w procesie planowania przestrzennego na tle obowiązujących formalnie procedur prawnych są poza tym często przedstawiane bardzo idealistycznie [13]. Brak odpowiednich zapisów w prawie miejscowym powoduje, że z polskiego krajobrazu znikają ukształtowane przez wieki wartościowe i charakterystyczne panoramy miast i wsi, nieodpowiednio zabudowywane są historyczne układy przestrzenne miejscowości, a współczesna architektura często zakłóca harmonię dawnej zabudowy. Przekształcone są także historycznie ukształtowane w miastach tereny zieleni. W krajobrazie miejskim obecność i kompozycja przestrzenna terenów zieleni jest tylko zewnętrznym przejawem tendencji rozwojowych, występujących w danym miejscu i czasie. Wszystkie te stany są warunkowane sposobem życia danej społeczności lokalnej - jej poziomem wiedzy i świadomości - stanem "czwartej natury", natury ludzkiego umysłu [4]. Dlatego tworzenie stref konserwatorskich o szczegółowych wytycznych dla kształtowania obiektów zabytkowych, analizy wartościowych panoram i osi widokowych oraz odpowiednie zapisy w planach miejscowych mogą przyczynić się do tego, aby zurbanizowany krajobraz był harmonijny i kulturowy w pełni znaczenia tego słowa.

V. LITERATURA

1. Bogdanowski J.: Kompozycja i planowanie w architekturze krajobrazu. Wydawnictwo PAN, Zakład Narodowy im. Ossolińskich. Kraków. ss. 276. 1976.
2. Bryl M., Łyczkowska G.: Spatial planning as an instrument for shaping an ecological network. *Problemy Ekologii Krajobrazu*. 28. s. 77-83. 2010.
3. Chojnacka M., Wilkaniec A.: Wpływ ruchu turystycznego na przekształcenia krajobrazu chronionego na przykładzie Lednickiego Parku Krajobrazowego. *Ibidem*. 27. s. 79-86. 2010.
4. Drapella-Hermansdorfer A.: Urbanizacja przyrody - przyroda w kompozycji obszarów zurbanizowanych. *Ibidem*. 21. s.61-68. 2008.
5. Europejska Konwencja Krajobrazowa sporządzona we Florencji dnia 20 października 2000 r. Dz. U. z 2006 r. Nr 14. poz. 98.
6. Gubański J.: Gorzelnie rolnicze jako element dziedzictwa przemysłowego wsi - miejsce w krajobrazie oraz możliwości zagospodarowania. *Problemy Ekologii Krajobrazu*. 24. s. 147-155. 2009.
7. Koncepcja Przestrzennego Zagospodarowania Kraju 2030. Ministerstwo Rozwoju Regionalnego. Warszawa. (Uchwała Nr 239 Rady Ministrów z dnia 13 grudnia 2011 r. w sprawie przyjęcia Koncepcji Przestrzennego Zagospodarowania Kraju 2030. M.P. z 2012 r. poz. 252). ss. 290. 2012.
8. Lewandowski P.: Z dziejów pewnej odbudowy. *Czas Kultury*. 6 (165), ss. 60-66. 2011.
9. Majchrowska A.: Europejska Konwencja Krajobrazowa impulsem dla badań interdyscyplinarnych. *Problemy Ekologii Krajobrazu*. 16. 1. s. 49-59. 2006.
10. Majchrowska A.: Realizacja zapisów Europejskiej Konwencji Krajobrazowej, *Czasopismo Techniczne*. 7-A. s. 179-184. 2007.
11. Międzynarodowa Karta Konserwacji i Restauracji Zabytków i Miejsc Zabytkowych. Postanowienia i uchwały II Międzynarodowego Kongresu Architektów i Techników Zabytków w Wenecji w 1964 r.
12. Myczkowski Z., Marcinek R., Siwek A.: Możliwości wdrożenia Europejskiej Konwencji Krajobrazowej i problem zachowania dziedzictwa kulturowego poprzez kształtowanie krajowej polityki przestrzennej - rekomendacje do KZPK. Kraków. 2009. [ekspertyza wykonana dla potrzeb projektu Koncepcji Przestrzennego Zagospodarowania Kraju. [dokument elektroniczny: www.mrr.gov.pl/rozwoj_regionalny/Polityka_przestrzenna/KPZK/Ekspertyzy/Documents/EKK_dziedzictwo_kulturowe_511; data wejścia: 15.10.2013]]
13. Myga-Piątek U.: Kryteria i metody oceny krajobrazu kulturowego w procesie planowania przestrzennego. *Problemy Ekologii Krajobrazu*. 19. ss. 101-110. 2007.
14. Pietrzak M.: Krajobraz rekreacyjny - istota, treść i zakres pojęcia. *Ibidem*. 27. s. 321-326. 2010.
15. Raszka B., Hełdak M.: Świadczenia ekosystemów w polityce przestrzennej gmin powiatu wrocławskiego. Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. ss. 125. 2013.
16. Richling A.: O krajobrazie raz jeszcze. Czy istnieją krajobrazy rekreacyjne? *Problemy Ekologii Krajobrazu*. 27. s. 341-344. 2010.
17. Strategia Rozwoju Kraju 2020. Aktywne społeczeństwo, konkurencyjna gospodarka, sprawne państwo [Załącznik do Uchwały Nr 157 Rady Ministrów z dnia 25 września 2012 r. w sprawie przyjęcia Strategii Rozwoju Kraju 2020 (M.P. poz. 882.)].
18. Tomczak A.: Utopia ochrony krajobrazu codziennego w lokalnej przestrzeni prawnej. [w] M. Górski (red.): *Prawo ochrony przyrody a wolność gospodarcza*. Wydawnictwo PZI i TS Oddział Wielkopolski. Poznań. 890/2011. s. 403-418. 2011.
19. Tomczak A., Sowa D.: Ochrona przyrody jako wyznacznik kształtowania przestrzeni. *Ibidem*. s. 419-434. 2011.

20. Ustawa z dnia 3 lutego 1995 r. o ochronie gruntów rolnych i leśnych. Dz. U. z 2004 r. Nr 121, poz. 1266, tekst jednolity z późn. zm.
21. Ustawa z dnia 21 sierpnia 1997 r. o gospodarce nieruchomościami. Dz. U. z 2010 r. Nr 102, poz. 651, tekst jednolity z późn. zm.
22. Ustawa z dnia 27 marca 2003 r. o planowaniu i zagospodarowaniu przestrzennym. Dz. U. z 2012 r. poz. 647, tekst jednolity z późn. zm.
23. Ustawa z dnia 23 lipca 2003 r. o ochronie zabytków i opiece nad zabytkami. Dz. U. Nr 162, poz. 1568, z późn. zm.
24. Walas M.: Ograniczenie wolności działalności gospodarczej w ustawie o ochronie przyrody. [w] M. Górski (red.): Prawo ochrony przyrody a wolność gospodarcza. Wydawnictwo Polskiego Zrzeszenia Inżynierów i Techników Sanitarnych Oddział Wielkopolski. Poznań. 890/2011. s. 435-446. 2011.
25. Wieczorkiewicz A.: Apetyt turysty. O doświadczaniu świata w podróży. Towarzystwo Autorów i Wydawców Prac Naukowych Universitas. Horyzonty Nowoczesności. Kraków. 66. ss. 383. 2012.
26. Wiśniewska W.: Krajobrazy codzienne. Zeszyty Naukowe Politechniki Łódzkiej. 903. 308. Łódź. ss.182. 2002.

PROTECION OF THE CULTURAL LANDSCAPE - THEORY AND PRACTICE

Summary

In the article presents comments on the theoretical and practical principles of protection of the cultural landscape. Highlighted the importance of the landscape as a public welfare, the protection of which is currently simulated. The reason is the lack of both good legislation and public awareness of the need to protect the landscape.

Keywords: cultural landscape, landscape protection, public welfare

**SABINA LACHOWICZ,¹ MACIEJ BILEK,² NATALIA MATŁOK,³
MACIEJ BALAWEJDER⁴**

¹ Katedra Technologii i Oceny Jakości Produktów Roślinnych Wydział Biologiczno-Rolniczy, Uniwersytet Rzeszowski, *sabina.lachowicz@interia.pl*;

² Wydziałowe Laboratorium Analiz Zdrowotności Środowiska i Materiałów Pochodzenia Rolniczego, Wydział Biologiczno-Rolniczy, Uniwersytet Rzeszowski, *mbilek@univ.rzeszow.pl*;

³ Katedra Inżynierii Produkcji Rolno-Spożywczej, Wydział Biologiczno-Rolniczy, Uniwersytet Rzeszowski, *natalia.matlok@onet.pl*;

⁴ Katedra Chemii i Toksykologii Żywności, Wydział Biologiczno-Rolniczy, Uniwersytet Rzeszowski, *maciejb@univ.rzeszow.pl*

**OKREŚLENIE JAKOŚCI CUKRU NA PODSTAWIE
ZAWARTOŚCI MONOSACHARYDÓW**

Masowa konsumpcja cukru sprawia, że niezbędne jest stałe monitorowanie jego jakości, przejawiającej się m.in. w stopniu czystości dostępnego w handlu surowca i ewentualnych zanieczyszczeń cukrami prostymi (tzw. cukier inwertowany). Celem niniejszej pracy było określenie składu próbek dziesięciu cukrów dostępnych w sklepach i w lokalach gastronomicznych Rzeszowa. Badano cukry białe i trzcinowe z wykorzystaniem wysokosprawnego chromatografu cieczonego z detektorem ELSD. Uzyskane wyniki pozwalają stwierdzić, że poza sacharozą w badanych próbkach nie stwierdzono obecności innych cukrów.

Słowa kluczowe: cukier buraczany, cukier trzcinowy, wysokosprawną chromatografia cieczoza z detektorem ELSD

I. WSTĘP

Cukrem, według definicji polskiego ustawodawstwa, jest disacharyd – sacharoza, węglowodan zbudowany z cząsteczki glukozy i fruktozy (lub β -D-fruktofuranosylo- α -D-glukopiranozyd) [8]. Głównymi surowcami w produkcji cukru są trzcina cukrowa (75% światowej produkcji cukru) oraz buraki cukrowe (25%). Ze względu na uwarunkowania klimatyczne w polskim przemyśle cukrowniczym surowcem produkcyjnym jest burak cukrowy [1]. Na ogólny proces produkcji cukru buraczanego składa się:

- dobór surowca o odpowiedniej zawartości sacharozy,
- obróbka wstępna, polegająca na myciu i krojeniu,
- ekstrakcja krajanki w temp. ok. 70 °C,
- alkalizacja soku surowego (tzw. nawapnianie), przeciwdziałająca inwersji i wytrącaniu związków niecukrowych,
- węgłowanie, czyli wytrącanie nadmiaru wodorotlenku wapnia,

- filtracja – oczyszczenie surowego soku z powstałego osadu,
- zagęszczanie soku,
- krystalizacja sacharozy,
- wirowanie - oddzielenie ciemnego odcieku z którego w późniejszym etapie powstaje melasa,
- rafinacja - usuwanie pozostałości syropu z powierzchni kryształów,
- chłodzenie - do 30 °C,
- sortowanie (według odpowiedniej granulacji),
- cukier - gotowy produkt [3].

W produkcji cukru trzcinowego można stosować rafinację, jak w przypadku cukru buraczanego, bądź też pominąć ten etap, uzyskując ciemny cukier nierafinowany, dzięki czemu zachowuje on przyjemny smak i aromat. Wynika to z obecności naturalnej melasy, w której zawarte są składniki smakowo-zapachowe, charakterystyczne dla trzciny [1,2].

Na cukier dostępny w handlu, niezależnie od jego pochodzenia, składa się ten sam związek chemiczny – sacharoza. Różnice w wyglądzie wynikają z różnego stopnia oczyszczenia, bądź też innej granulacji, która wpływa na odczucia smakowe. Stopień oczyszczenia cukru determinuje zawartość sacharozy. Nierafinowany cukier zawiera jej mniej i jest bogatszy w inne składniki niecukrowe [1,2].

Ze względu na liczne doniesienia w środkach masowego przekazu odnośnie zafałszowywania produktów spożywczych, uzasadnione są podejrzania konsumentów co do jakości spożywanej żywności. Problem ten można jak najbardziej odnieść do cukru, którego czystość często podważana jest przez konsumentów, deklarujących m.in. obniżenie wrażeń smakowych – stopień słodczy [4,5,9,10,11].

W zależności od stopnia czystości cukru wyróżniamy różne jego rodzaje, które szczegółowo definiuje rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi „W sprawie szczegółowych wymagań w zakresie jakości handlowej niektórych półproduktów i produktów przemysłu cukrowniczego” [7]. Według normy odnoszącej się do jakości handlowej produktów przemysłu cukrowniczego można wyróżnić trzy typy cukru, różniące się m.in. zawartością cukru inwertowanego, czyli mieszaniny fruktozy i glukozy [6,7].

Celem pracy było określenie jakości cukru na podstawie zawartości monosacharydów. W niniejszej pracy zastosowano wysokosprawny chromatograf cieczowy z ewaporacyjnym detektorem promieniowania rozproszonego (HPLC-ELSD), pracujący w Wydziałowym Laboratorium Analiz Zdrowotności Środowiska i Materiałów Pochodzenia Rolniczego wydziału Biologiczno-Rolniczego Uniwersytetu Rzeszowskiego. Badanie polegało na chromatograficznym rozdzieleniu badanej próbki oraz identyfikacji jej składników (sacharoza, glukoza i fruktoza).

II. METODYKA

Analizie poddano dziesięć próbek cukrów białych i trzcinowych, dostępnych w sklepach i lokalach gastronomicznych Rzeszowa (tabela 1).

Do analizy zawartości mono- i disacharydów w badanych próbkach cukru zastosowano wysokosprawny chromatograf cieczowy firmy Varian, sterowany za pomocą programu Varian Workstation wersja 6.9.1, składający się z dwóch pomp wysokociśnieniowych Varian LC 212, automatycznego podajnika próbek Varian ProStar 410, ewaporacyjnego detektora promieniowania rozproszonego Varian ELSD 385 LC oraz modułu integrującego Varian Star 800. Do rozdzielania chromatograficznego użyto kolumny chromatograficznej Cosmosil Sugar-D, 4,6 x 250 mm firmy Nacalai Tesque, Inc. Częstotliwość sczytywania danych ustalono na 5.0 Hz. Chromatogramy opracowywano za pomocą programu Varian Workstation wersja 6.9.1. Na

podstawie danych eksperymentalnych ustalono optymalne parametry analizy chromatograficznej. Przepływ izokratyczny; skład fazy ruchomej: acetonitryl:woda (80:20 v/v); prędkość przepływu fazy ruchomej: 1 ml/min; objętość nastrzyku: 25 µl; temperatura wewnątrz termostatu kolumnowego: 35°C; temperatura tacy automatycznego podajnika próbek: 4°C. Zastosowano następujące parametry detektora ELSD: przepływ gazu 1,2 l/min., temperatura rozpylacza 80°C, temperatura parownika 80°C.

Tabela 1 / Table 1

Charakterystyka materiału doświadczalnego / *Experimental material*

L.p.	Charakterystyka analizowanych próbek <i>Characteristics of the analyzed samples</i>
1	Cukier biały (Stop cafe w Rzeszowie) / <i>White sugar (Stop cafe in Rzeszow)</i>
2	Cukier biały (Bistro, supermarket Tesco w Rzeszowie) / <i>White sugar (Bistro, Tesco supermarket in Rzeszow)</i>
3	Cukier trzcinowy brązowy (McCafe w Rzeszowie) / <i>Brown cane sugar (McCafe in Rzeszow)</i>
4	Cukier biały kategorii 2, jednorazowy (w Sklepie Centrum w Rzeszowie) <i>Category 2 portion white sugar („Centrum” shop in Rzeszow)</i>
5	Cukier trzcinowy (Bistro, supermarket Tesco w Rzeszowie) <i>Cane sugar (Bistro, Tesco supermarket in Rzeszow)</i>
6	Cukier biały (McDonald’s w Rzeszowie) / <i>White sugar (McDonald’s in Rzeszow)</i>
7	Cukier biały (KFC w Rzeszowie) / <i>White sugar (KFC in Rzeszow)</i>
8	Cukier biały kategorii 2 (sklep Centrum w Rzeszowie) <i>Category 2 white sugar („Centrum” shop in Rzeszow)</i>
9	Cukier trzcinowy nierafinowany (sklep Centrum w Rzeszowie) <i>Unrefined Cane sugar („Centrum” shop in Rzeszow)</i>
10	Cukier puder (sklep Centrum w Rzeszowie) / <i>Castor sugar („Centrum” shop in Rzeszow)</i>

Określone zostały podstawowe parametry walidacyjne zastosowanej metody (tabela 2). Pełną kalibrację przeprowadzono na początku badań. Analizę chromatograficzną poprzedzało odważenie badanych cukrów z dokładnością 0,0001 grama i sporządzenie roztworu wodnego o oczekiwanej stężeniu 10 mg/ml sacharozy. Roztwory cukrów przesączono przez filtry strzykawkowe MCE o średnicy porów 0,45 µm, dostarczone przez firmę AlfaChem. Wzorce fruktozy, glukozy i sacharozy pochodziły z firmy Sigma Aldrich, acetonitryl o czystości HPLC z firmy POCH.

Tabela 2 / Table 2

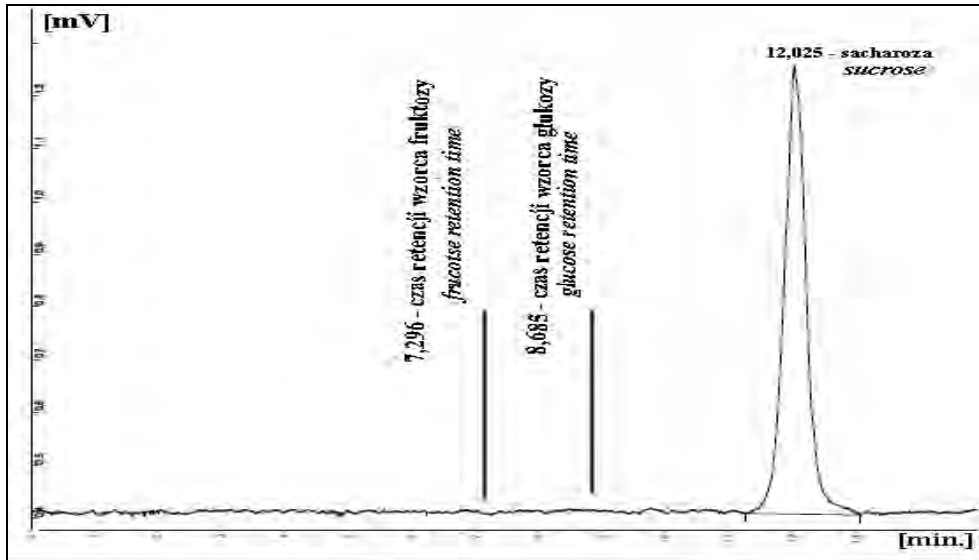
Parametry walidacyjne zastosowanej metody / *Validation parameters of HPLC method*

Badany cukier <i>Studied sugar</i>	Zakres liniowości <i>Linearity range</i> [mg/ml]	Wzór krzywej kalibracyjnej <i>Calibration curve formula</i>	R ²
Fruktoza / <i>Fructose</i>	2,5 – 12,5	$y=24,88x-65,2$	0,9993
Glukoza / <i>Glucose</i>		$y=29,12x-75,8$	0,9996
Sacharoza / <i>Sucrose</i>		$y= 25,9x-67,75$	0,999

III. WYNIKI

W przebadanych dziesięciu próbkach cukrów białych i trzcinowych, dostępnych w sklepach i lokalach gastronomicznych Rzeszowa, nie stwierdzono obecności cukrów prostych i innych poza sacharozą dwucukrów, które według specyfikacji kolumny

chromatograficznej powinny być możliwe do analizowania. Największe odstępstwo od oczekiwanego wyniku 10 mg/ml stwierdzono w przypadku cukru nr 1 (rysunek 1), a najmniejsze w przypadku cukru nr 9. Ponadto, w cukrach białych, stwierdzono średnią różnicę od oczekiwanego stężenia 10 mg/ml wynoszącą 0,33 mg/ml, zaś dla cukrów trzcinowych średnią różnicę od oczekiwanego stężenia 10 mg/ml wynoszącą 0,2 mg/ml (tab. 3). Oznaczone średnie stężenia nie różnią się jednak statystycznie od oczekiwanej wartości na poziomie istotności $\alpha=0,05$.



Rysunek 1. Chromatogram HPLC roztworu próbki nr 1 o stężeniu 10,0 mg/ml. Widoczne szумы linii bazowej i brak sygnałów przy czasach retencji właściwych dla fruktozy i glukozy.

Figure 1. HPLC chromatogram of sample nr 1 solution at a concentration 10,0 mg/ml. Baseline noise and no signals at the appropriate retention times for fructose and glucose have been shown.

Tabela 3 / Table 3

Zestawienie wyników dla przebadanych próbek cukru, przy oczekiwanym stężeniu 10 mg/ml
Summary of results for tested sugar samples, with an expected concentration of 10 mg/ml

L.p.	Średnie stężenie sacharozy w badanych próbkach (n=3) [mg/ml] ± SD <i>The average sucrose concentration [mg/ml] ± standard deviation</i>
1	10,51±0,057
2	10,42±0,015
3	10,32±0,031
4	10,1±0,063
5	10,23±0,009
6	10,4±0,017
7	10,42±0
8	10,32±0,009
9	10,05±0,017
10	10,17±0,009

V. DYSKUSJA

Aktem prawnym, definiującym jakość cukru, jest Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 10 lipca 2007 r. w sprawie znakowania środków spożywczych. Wyróżnia ono trzy typy cukru, różniące się m.in. zawartością cukru inwertowanego, czyli mieszaniny fruktozy i glukozy. Są to:

1. Cukier przemysłowy – polaryzacja $\leq 99,5$ □Z, zawartość cukru inwertowanego $\geq 0,1\%$ wagowo, wilgotność $\geq 0,1\%$ wagowo,
2. Cukier (cukier biały) – polaryzacja $\leq 99,7$ □Z, zawartość cukru inwertowanego $\geq 0,04\%$ wagowo, wilgotność $\geq 0,06\%$ wagowo, liczba punktów za typ zabarwienia ≥ 9 ,
3. Cukier ekstra biały (cukier rafinowany) – polaryzacja $\leq 99,7$ □Z, zawartość cukru inwertowanego $\geq 0,04\%$ wagowo, wilgotność $\geq 0,06\%$ wagowo, łączna liczba punktów za typ zabarwienia ≥ 8 , w tym: liczba punktów za typ zabarwienia ≥ 4 , liczba punktów za zawartość popiołu ≥ 6 , liczba punktów za zabarwienie roztworu cukru ≥ 3 [6,7].

Na podstawie uzyskanych wyników należy stwierdzić, że badane próbki cukru spełniają wymagania co do zawartości sacharozy gdyż nie stwierdzono w nich obecności cukrów prostych.

V. WNIOSKI

1. Wysokosprawna chromatografia cieczowa HPLC z detekcją ELSD jest wszechstronna i czułą metodą analityczną, pozwalającą na ocenę precyzowanej przez ustawodawstwo jakości cukru.
2. Przedstawiony w publikacji bardzo prosty sposób przygotowywania próbki pozwala na precyzyjne oznaczenie zawartości sacharozy w cukrze i wykluczenie obecności cukrów prostych, definiowanych przez ustawodawcę jako jeden z wyznaczników jego jakości.
3. Podczas analizy zawartości sacharozy w 10 przebadanych próbkach cukru nie stwierdzono obecności cukrów prostych: glukozy i fruktozy.

VI. LITERATURA

1. Kolanowski W.: Trzcina dająca miód. Przegląd gastronomiczny. 7. s. 11. 2013.
2. Matuszak D.: Ile cukru w cukrze. Przegląd gastronomiczny. 6. s. 10. 2011.
3. Pałasiński M., Achremowicz B., Gibiński M., Sikora M.: Technologia przetwórstwa węglowodanów. Polskie Towarzystwo Technologów Żywności oddział małopolski w Krakowie. s. 7-28. Kraków. 2005.
4. Pokrywka T.: Co dzieje się z naszą żywnością? Przemysł fermentacyjny i owocowo-warzywny. 3. s. 37. 2013.
5. Przetaczek-Rożnowska I., Rosiak M.: Wykrywanie zafałszowań żywności. Przemysł spożywczy. 2. s. 20-23. 2011.
6. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 10 lipca 2007. W sprawie znakowania środków spożywczych. Rozdział 3.
7. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 23 grudnia 2003. W sprawie szczegółowych wymagań w zakresie jakości handlowej niektórych półproduktów i produktów przemysłu cukrowniczego. Dziennik Ustaw nr 5. s. 197-199.
8. Wiśniewski A., Madej J.: Podstawy chemii cukrów. Poznań - Gdańsk 1997.
9. http://forum.gazeta.pl/forum/w,77,143351626,143351626,ile_jest_cukru_w_cukrze.html.
10. <http://pl.rec.kuchnia.narkive.com/4W0nFi6P/co-z-tym-cukrem>.
11. <http://pieniadze.fakt.pl/Cukier-brazowy,artykuly,182812,1.html>.

SUGAR QUALITY ASSESSMENT BASED ON MONOSACCHARIDE CONTENT

Summary

Due to the mass consumption of sugar constant monitoring of the quality required. Contamination of simple sugars such as fructose and glucose, should be investigated. The aim of this study was to determine the composition of samples of ten sugars available in stores and restaurants in Rzeszow.

Varian high performance liquid chromatograph with ELSD detection has been used. The results show that (except for sucrose), there was no presence of other sugars, especially sugars: fructose and glucose.

Keywords: beet sugar, cane sugar, high performance liquid chromatography with ELSD detection

JADWIGA LECHOWSKA¹, MARTA PISAREK², MAGDALENA WILK¹

¹Zakład Produkcji Zwierzęcej i Oceny Produktów Drobiarskich, e-mail: *libra04@interia.pl*

²Katedra Agroekologii, e-mail: *mpisarek@univ.rzeszow.pl*

Wydział Biologiczno-Rolniczy Uniwersytetu Rzeszowskiego

GOSPODAROWANIE ODPADAMI ORGANICZNYMI POCHODZĄCYMI Z PRODUKCJI ZWIERZĘCEJ NA TERENIE GMINY GŁOGÓW MAŁOPOLSKI

Współczesna produkcja rolna wywiera istotny wpływ na stan środowiska przyrodniczego. Do odpadów organicznych pochodzących z produkcji zwierzęcej zalicza się: obornik, gnojówkę, gnojowicę, pomiot ptasi oraz padłe zwierzęta. Stan wiedzy dotyczący prawidłowego gospodarowania odpadami oraz zwłokami padłych zwierząt pochodzącymi z gospodarstw rolnych jest istotnym elementem prawidłowego funkcjonowania wszystkich komponentów środowiska przyrodniczego w zgodzie z zasadami zrównoważonego rozwoju. Na terenie badanej gminy najpowszechniejszą metodą przechowywania odchodów stałych jest składowanie na gnojowni. Wykazano nieznaczne uchybienia w przestrzeganiu terminu stosowania nawozów naturalnych w okresach agrotechnicznych i utylizacji padłych zwierząt.

Słowa kluczowe: rolnictwo, odchody zwierząt, padłe zwierzęta, zagospodarowanie

I. WSTĘP

W ochronie środowiska naturalnego ważną kwestią jest umiejętne zagospodarowywanie a także przechowywanie odpadów organicznych pochodzenia zwierzęcego. Jest to istotne ze względu na możliwość utraty cennych składników pokarmowych występujących w odchodach zwierząt, wykorzystywanych jako nawozy o wszechstronnym zastosowaniu oraz na możliwość skażenia środowiska przyrodniczego toksycznymi związkami, które mogą być przyczyną występowania m.in. efektu cieplarnianego, kwaśnych deszczy czy eutrofizacji wód. Ponadto niewłaściwa gospodarka odpadami zwierzęcymi może prowadzić do rozprzestrzeniania się groźnych chorób zakaźnych [1,2,5,6,10]. Chcąc zapobiegać i przeciwdziałać dewastacji ekosystemu rolnik powinien posiadać wiedzę oraz zdolności umiejętnego gospodarowania odpadami organicznymi, w tym zwłokami padłych zwierząt powstającymi na terenie swojego gospodarstwa [3].

Celem badań była analiza systemów gospodarowania odpadami organicznymi pochodzenia zwierzęcego stosowanych przez producentów rolnych gminy Głogów Małopolski. Ponadto poddano ocenie stan świadomości rolników w zakresie prawidłowego składowania, przechowywania i zagospodarowania odchodów pochodzących z produkcji zwierzęcej oraz postępowania z padłymi zwierzętami.

II. MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na terenie gminy Głogów Małopolski leżącej w południowo-wschodniej części województwa podkarpackiego. Gmina ta ma charakter przemysłowo-rolniczy. Ponad połowę jej powierzchni zajmują indywidualne gospodarstwa rolne, stanowiące dodatkowe źródło utrzymania miejscowej ludności. W tych gospodarstwach zarówno produkcja zwierzęca jak i roślinna są nastawione głównie na zaspokojenie własnych potrzeb, a nadmiar produktów jest przeznaczany na sprzedaż.

Badaniami objęto 140 losowo wybrane gospodarstwa rolne. Na podstawie kwestionariusza wywiadu zebrano dane z zakresu prawidłowego składowania, przechowywania i zagospodarowania odchodów zwierzęcych oraz postępowania z padłymi zwierzętami. Ankieta zawierała 17 pytań otwartych i zamkniętych, z czego 5 dotyczyło właścicieli gospodarstw, zaś pozostałe prowadzonej działalności rolniczej.

Spośród ankietowanych 84% stanowili mężczyźni, w tym najliczniejszą grupą byli właściciele gospodarstw w wieku 40 do 55 lat (75%). Pozostali ankietowani to mężczyźni w wieku 20 do 40 lat (20%) i poniżej 20 lat (5%). Kobiety biorące udział w badaniu stanowiły tylko 16% ogółu respondentów, w tym 55% miało od 40 do 55 lat.

Najwięcej badanych legitymowało się wykształceniem zawodowym (60%). Wykształcenie podstawowe posiadało 13% ankietowanych, średnie 8,5%, a wyższe 18%. Blisko połowa ankietowanych miała wykształcenie rolnicze (44%). Większość ankietowanych prowadzi działalność rolniczą od 10 do 15 lat (41,5%), 36% od 5 do 10 lat, a tylko 15,5% powyżej 15 lat.

Średnia powierzchnia gospodarstwa rolnego w gminie Głogów Małopolski wynosi 2,6 ha. Gospodarstwa są silnie rozdrobnione. Wśród ankietowanych rolników 54% gospodaruje na powierzchni od 1 do 2 ha, 34% stanowią gospodarstwa o powierzchni 2 do 5 ha, 5% - 5 do 7 ha, a 8% ma powierzchnię 7 do 10 ha, Tylko 1% respondentów posiadało gospodarstwa o powierzchni powyżej 10 ha.

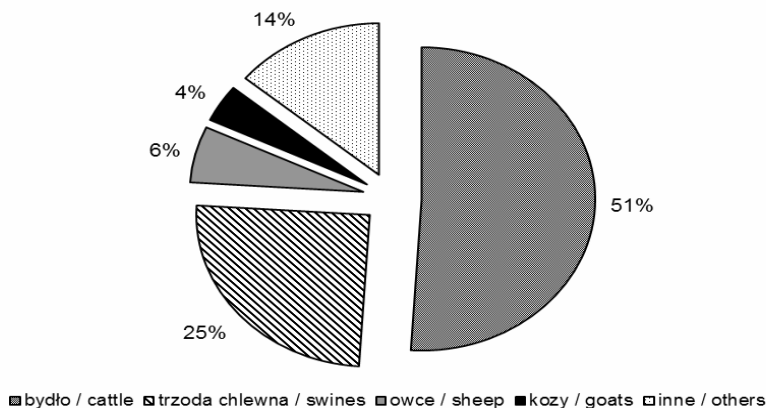
Do głównych kierunków produkcji rolniczej na terenie gminy zalicza się produkcję mleka oraz żywca wieprzowego i wołowego. Produkcja roślinna jest uzależniona od produkcji zwierzęcej i stanowi jej zabezpieczenie paszowe. Uprawia się głównie zboża i ziemniaka. Taki cel produkcji zadeklarowało 49% rolników. Tylko 6% ankietowanych produkuje wyłącznie lub głównie na sprzedaż. Natomiast 4% rolników uzyskuje dochody wyłącznie z produkcji rolniczej, a pozostali posiadają dodatkowe źródła utrzymania.

III. WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Producent rolny i prowadzone przez niego gospodarstwo rolne pełni wiele funkcji, w tym do najważniejszych można zaliczyć funkcje gospodarczą i przyrodniczą. W coraz większym zakresie rolnictwo pełni także funkcję związaną z zagospodarowaniem i recyklingiem odpadów w obrębie własnego gospodarstwa [1,4,5,7]. Chcąc zachować jak

najlepszą jakość środowiska właściciel gospodarstwa rolnego powinien znać i postępować zgodnie z podstawowymi zasadami ochrony środowiska zawartymi m.in. w Kodeksie Dobrej Praktyki Rolniczej [5,6].

Na terenie gminy Głogów Małopolski są utrzymywane różne gatunki zwierząt gospodarskich, z czego bydło stanowi 51% ogółu pogłowia, trzoda chlewna 25%, owce 6%, kozy 4%, natomiast inne gatunki (drób, futerkowe) stanowią w sumie 14% (Rys. 1).



Źródło: opracowanie własne / Source: own elaboration

Rys. 1. Struktura pogłowia zwierząt użytkowanych w badanych gospodarstwach

Fig. 1. The structure of animal used in the analyzed farms

Każdy rolnik ma obowiązek utylizacji martwych zwierząt, bez względu na to, czy padły w wyniku choroby, starości czy urodziły się martwe. Znaczna część (85%) respondentów oddaje padłe zwierzęta do wyspecjalizowanego zakładu utylizacyjnego, którym na terenie gminy Głogów Małopolski jest SARIA, oddział w Przewrotnem. W niektórych z badanych gospodarstw dochodzi do zakopywania padłych zwierząt na jego terenie (10%) lub poza obrębem gospodarstwa 5%, co stanowi zagrożenie bezpieczeństwa sanitarnego środowiska. Fakt ten może świadczyć o bardzo niskiej świadomości rolników w zakresie postępowania z padłymi zwierzętami [5,8,11].

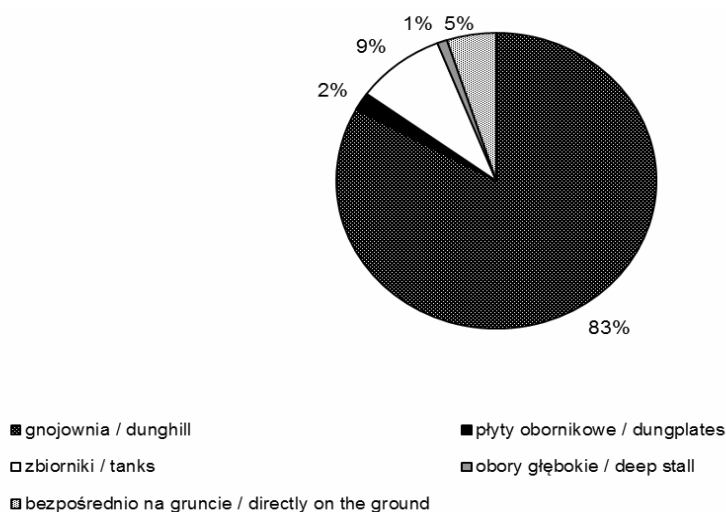
Ze względu na utrzymywanie różnych gatunków zwierząt, w badanych gospodarstwach rolnych powstają różnego rodzaju odchody zwierzęce. Najwięcej produkuje się obornika (61%), udział gnojowicy stanowi 25%, zaś pomiotu ptasiego 14%.

Rolnik powinien znać i stosować zasady prawidłowego składowania odpadów organicznych powstających na terenie swojego gospodarstwa. Dotyczy to zarówno odchodów w formie stałej jak i ciekłej [9,10]. Najlepszą i powszechnie stosowaną metodą gromadzenia odchodów stałych, z jak najmniejszymi stratami cennych składników nawozowych, jest ich gromadzenie na nieprzepuszczalnych płytach gnojowych. Płyty te muszą być wyposażone w ściany boczne oraz instalacje odprowadzające wodę gnojową do szczelnego zbiornika. Natomiast odpady ciekłe powinny być przechowywane w szczelnych, nieprzepuszczalnych zbiornikach wyposażonych w szczelne pokrywy z otworem wejściowym i wentylacyjnym [2,3,6].

Odpady pochodzące z produkcji zwierzęcej w badanych gospodarstwach są przechowywane głównie na gnojowni. Taki sposób zadeklarowało 83% ankietowanych, 5% bezpośrednio wywozi je w pole i tam gromadzi, zaś tylko 1% badanych przechowuje

obornik w oborach głębokich. Zbiorniki na płynne odpady posiada 9% gospodarstw, a płyty obornikowe zaledwie 2% rolników (Rys. 2).

Niewłaściwe przechowywanie odchodów zwierzęcych może doprowadzić do zanieczyszczenia wód gruntowych i powierzchniowych oraz zanieczyszczenia powietrza w wyniku emisji amoniaku, metanu, siarkowodoru, dwutlenku węgla [5,6]. Ponadto chów zwierząt w budynkach inwentarskich oprócz wydzielania szkodliwych zarówno dla zwierząt, ludzi, jak i dla całego środowiska gazów, powoduje wprowadzenie do otoczenia olbrzymich ilości pyłów oraz skażenia drobnoustrojami [10,11].



Źródło: opracowanie własne / Source: own elaboration

Rys. 2. Sposób przechowywania odchodów zwierzęcych powstających w gospodarstwach rolnych
Fig. 2. The way of storing the animal feces produced on the farms

Wiedza na temat zagrożeń wynikających z nieprawidłowego przechowywania odpadów organicznych pochodzących z produkcji zwierzęcej na terenie gminy Głogów Małopolski jest wystarczająca. Aż 95% ankietowanych zdaje sobie sprawę, że nieprawidłowe zagospodarowanie odchodów ma negatywny wpływ na poszczególne komponenty środowiska przyrodniczego. Jako główne zagrożenie związane z nieprawidłowym przechowywaniem odpadów badani rolnicy wymieniali zanieczyszczenie gleb (68%), w dalszej kolejności zanieczyszczenie wód (20%) oraz zanieczyszczenie powietrza (12%).

Odpady zwierzęce produkowane w gospodarstwach rolnych są chętnie wykorzystywane jako nawozy naturalne o wszechstronnym zastosowaniu. Jednak obok działania dodatniego mogą wywierać ujemny wpływ na środowisko, dlatego też ważnym aspektem jest ich umiejętne wykorzystanie. Agrotechnicznymi okresami, w których najczęściej były te nawozy stosowane na pola uprawne były wiosna (56%) oraz jesień (42%).

Gospodarowanie odpadami organicznymi zgodnie z zasadami Zwykłej Dobrej Praktyki Rolniczej [12] zależy głównie od wielkości gospodarstwa rolnego. Rolnicy z terenu gminy Głogów Małopolski dostrzegają potrzebę ochrony środowiska zarówno na poziomie regionalnym jak i lokalnym, a ich świadomość wzrasta w dużej mierze wraz z poziomem wykształcenia.

IV. PODSUMOWANIE

Najpowszechniej stosowaną metodą składowania odchodów pochodzących z produkcji zwierzęcej w gospodarstwach gminy Głogów Małopolski jest składowanie na gnojowni. Profesjonalne płyty obornikowe posiada jedynie 2% gospodarstw, co wynika z faktu, że na badanym terenie rolnicy nie specjalizują się w wielkotowarowej produkcji zwierzęcej. Świadomość producentów rolnych z zakresie stosowania nawozów naturalnych jest zadowalająca, tylko 2% rolników wybiera niewłaściwe okresy agrotechniczne (zima, lato). Stan wiedzy dotyczący prawidłowego postępowania z padłymi zwierzętami jest niepokojący, bo aż 15% respondentów wybiera inne formy utylizacji (zakopywanie padłych zwierząt na terenie gospodarstwa lub poza nim), zagrażając w ten sposób bezpieczeństwu sanitarnemu środowiska.

V. LITERATURA

1. Adamowicz M.: Zrównoważony i wielofunkcyjny rozwój rolnictwa a agronomia. *Annales UMCS Sec. E* 40. s. 71-91. 2005.
2. Hutnik E., Mulica E.: Techniczne aspekty racjonalnego przechowywania nawozów naturalnych. *Inżynieria Ekologiczna*. 4. s. 26-31. 2008.
3. Kajdan-Zynarska I., Nowak D.: Ochrona środowiska w gospodarstwie rolnym. Centrum Doradztwa Rolnego w Brwinowie, Oddział w Poznaniu. 2010.
4. Kubacki J.: Opracowanie w sprawie postępowania w sytuacjach związanych z występowaniem zwierząt wolnożyjących na terenach zurbanizowanych oraz na temat postępowania ze zwłokami zwierząt padłych. Państwowy Inspektorat Weterynarii w Pruszkowie. <http://pruszkow.home.pl>.
5. Mroczek J.R.: Gospodarowanie odpadami organicznymi pochodzącymi z produkcji zwierzęcej w wybranych wsiach województwa podkarpackiego. *Inżynieria Ekologiczna*. 22. s. 63-68. 2010.
6. Mroczek J.R., Kostecka J.: Zagrożenia zrównoważonego rozwoju środowiska obszarów wiejskich spowodowane intensyfikacją produkcji zwierzęcej. *Zesz. Nauk. PTiE i PTG Oddz. w Rzeszowie*. 10. s. 93-100. 2008.
7. Mroczek J.R.: Problemy ekologiczne spowodowane intensyfikacją produkcji zwierzęcej. *Przegląd Hodowlany*. 11. s. 5-6. 2001.
8. Okularczyk S.: Zarys bilansu przemian w rolnictwie determinujących zrównoważony rozwój produkcji zwierzęcej. *Przegląd Hodowlany*. 4. s. 10-14. 2004.
9. Pałkowski K.: Prawne aspekty przechowywania i stosowania nawozów naturalnych. *Pomorskie Wieści Rolnicze*. 1. s. 12-15. 2011.
10. Sołowiej P.: Analiza ilościowo-jakościowa odpadów z gospodarstw rolnych na przykładzie gminy. *Inżynieria Rolnicza*. 1. s. 155-163. 2005.
11. Szymańska E.: Wpływ trzody chlewnej na środowisko. *Zeszyty Naukowe AR we Wrocławiu*. 540. s. 531-536. 2006.
12. Zwykła Dobra Praktyka Rolnicza. Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi, Departament Rozwoju Obszarów Wiejskich. Warszawa. 2003.

MANAGEMENT OF THE ORGANIC WASTE DERIVED FROM THE ANIMAL PRODUCTION IN THE TERREIN OF GŁOGOW MAŁOPOLSKI MUNICIPALITY

Summary

Modern agricultural production has a significant impact on the natural environment. The organic waste from livestock production include: manure, liquid manure, slurry, bird droppings and dead animals. Knowledge about the proper management of these waste coming from farms is an important element of the proper functioning of all components of the natural environment in accordance with the principles of sustainable development. The most common method of solid waste storage within analyzed community is the storage in the dunghill. It was shown a slight deficiencies in complying with the date of application of natural fertilizers during the agronomic periods and disposal of dead animals.

Keywords: agriculture, animal faeces, dead animals, management

CHRISTOPHER N. LOWE, KEVIN R. BUTT

Earthworm Research Group, University of Central Lancashire, Preston
PR1 2HE, UK, E-mail: cnlowe@uclan.ac.uk

COCOON VIABILITY AND EVIDENCE FOR DELAYED HATCHING BY THE EARTHWORM *LUMBRICUS TERRESTRIS* IN A LABORATORY - BASED STUDY

Clitellate Lumbricus terrestris, obtained from 5 commercial suppliers (A-E) and also field collected (F) - grassland in Preston, Lancashire, UK, were kept under controlled environmental conditions (15 °C and 24 h darkness) in a sterilised loam soil and surface-fed with horse manure. Survival, biomass and cocoon production was monitored every 4 weeks over 1 y. Collected cocoons were maintained in water-filled Petri dishes on filter paper. Time to hatch and cocoon viability was recorded over a 2 y period. Cocoon production ranged from 15.1 – 32.2 ind.⁻¹ y⁻¹. Cocoon production was initially low followed by a period of high production (12–36 weeks) and then fell (36–52 weeks). Time for cocoon hatching ranged from 132–731 days. Hatching success after 2 years was 58–90% across treatments, with a total viability (including cocoons dissected after the 2 year period) of 88–94%. Evidence of 2 distinct hatching peaks was recorded, separated by a period of approximately 12 months in treatments of most of the commercially obtained earthworms. Cocoon incubation periods are in excess of those previously recorded under similar laboratory conditions (e.g. 90–280 days). Furthermore, viability is also higher than previously recorded (e.g. 67.9–83%). These differences are mainly attributable to the extended length of cocoon observation. Origin, age, unknown pre-treatment (in A-E) and experimental conditions (e.g. a constant temperature regime) may have influenced incubation times. However, it is suggested that asynchronous and delayed hatching within cohorts and ability for cocoons to remain viable for extended periods allows this K-selected species to maximise reproductive potential. This proposed “bet-hedging” strategy is worthy of further laboratory and field-based investigation

Keywords: *Lumbricus terrestris*, bet-hedging, cocoon development, delayed hatching

I. INTRODUCTION

Lumbricus terrestris (Linnaeus, 1758) is a relatively large (adult mass 3–5 g), long-lived, temperate, anecic earthworm species that usually inhabits a permanent near-vertical burrow system. This K-selected species [20] is found predominantly in undisturbed habitats and under field conditions maturation is achieved in approximately 12 months (in Britain) but may take longer in more extreme climates [4,21]. *L. terrestris* is an obligatory bi-parental species. Adults usually mate on the soil surface and cocoons are deposited below

ground in association with the burrow system. Cocoon production ($< 20 \text{ coc ind}^{-1} \text{ y}^{-1}$) is usually restricted to spring and autumn. Life cycle parameters under field [5] and laboratory [4] conditions are relatively well established and sustainable populations have been successfully cultured under laboratory conditions [13].

The influence of temperature on cocoon development and hatchling emergence is widely recognised. Field observations in Sweden [18] noted a bi-modal synchronised emergence with 2 pronounced peaks in early June and mid-August to September. By contrast, in England, Satchell [19] observed only a single emergence period in spring to early summer. Under controlled laboratory conditions, Meinhardt [15] reported that *L. terrestris* cocoons hatched in 84-91 days a figure supported by Butt et al. [4] who recorded a mean incubation time of 90 days at an optimal incubation temperature of 15°C. Butt et al. [4] recorded cocoon viability of 71% but this was based on maintaining cocoons only for a period of twice (the known) mean incubation period (up to 180 days). There have only been 2 published studies [3, 22] that have recorded *L. terrestris* cocoon incubation and hatching over extended time periods (in excess of 12 months). Both studies recorded cocoon hatching times far in excess of 90 days. Butt [3] observed successful hatching after 100 weeks whilst Svendsen et al. [22] recorded hatching after 114 weeks with a maximum difference between hatching times of cocoons from the same batch of 77 weeks (both studies conducted at 15°C).

The aim of the current laboratory study was to determine the influence of earthworm origin and pre-treatment on cocoon viability and time to hatch for *L. terrestris* over an extended 3 year experimental period. The study formed part of a larger project investigating the use of commercially obtained *L. terrestris* in ecotoxicological studies [14].

II. MATERIALS AND METHODS

Adult (clitellate) *L. terrestris* were obtained from five commercial suppliers (A-E) and field-collected (F) from grassland in Preston, Lancashire, UK. Twenty *L. terrestris* from each of the suppliers and from the field were cultured ($n=4$ per vessel), as described by Lowe and Butt [14] for a period of 52 weeks. Every 4 weeks, soil and feed were replaced with fresh material and the culture substrate was wet-sieved for cocoons through a series of graded sieves (6.7, 4.00 and 3.35 mm).

Cocoons from each replicate were placed in labelled Petri dishes on filter paper (Whatman no 1), provided with excess water to prevent dehydration and maintained at 15°C in 24 h darkness [1]. Dishes were checked regularly for hatchlings, allowing calculations to be made on viability and length of incubation. The latter was calculated as time to hatch after collection plus 14 days (half of the time between sampling periods) [2]. Water was replenished as required, and due to occasional microbial growth, filter paper and Petri dishes replaced. On emergence, hatchlings and spent cocoons were removed from the dishes. After 2 years incubation, any remaining un-hatched cocoons were dissected and viability was recorded.

An Anderson-Darling normality test was used to assess normality of hatching times within the 6 treatments (A-F). Further inferential statistical analyses were not undertaken as experimental design did not allow individual cocoons to be assigned to the adult that produced them, as earthworms were kept in groups of four.

III. RESULTS

Mean incubation durations (Table 1) were in excess of those previously recorded for this species under similar laboratory conditions with cocoons hatching over an extended

range (maximum range 599 days in treatment E). All treatments contained cocoons that hatched after 700 days of incubation and viable cocoons (containing a live hatchling on dissection) that remained unhatched at the end of the 2 year period. Cocoon hatching after 2 years was variable and ranged from 58% (E) to 90% (F). However, total viability was more consistent and ranged from 88% (E) to 94% (A).

Table 1 / Tabela 1

Cocoon production, incubation, hatching, and viability data for adult *L. terrestris* obtained from five commercial (A-E) and 1 field-collected (F) source

Produkcja kokonów, inkubacja, wylęganie oraz żywotność dorosłych L. terrestris uzyskanych z pięciu komercyjnych (AE) i polowego źródła (F)

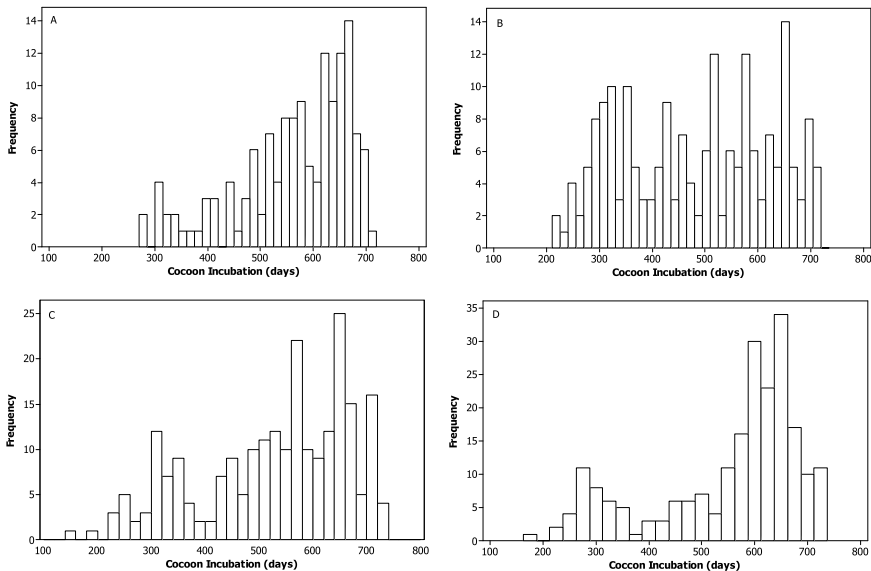
Treatment <i>Pochodzenie</i>	Total N ^o of cocoons <i>Calkowita liczba kokonów</i>	Mean time to hatch (days)* <i>Średni czas do wylęgu (dni) *</i>	Hatching range (days) (max-min) <i>Zakres wylęgu (dni) (max-min)</i>	% hatched after 2 years <i>% wylutych kokonów po 2 latach</i>	Cocoon viability (%) <i>żywotność kokonów (%)</i>	NT
A	302	566 (103)	442	86	94	<0.005
B	388	478 (146)	504	83	91	<0.005
C	643	535 (131)	577	72	91	<0.005
D	442	552 (138)	544	68	90	<0.005
E	453	538 (160)	599	58	88	<0.005
F	367	446 (88)	479	90	91	0.017

* Standard deviation in parentheses / *Odchylenie standardowe w nawiasach;*

NT - Normality test of

hatching time (p value) / *Test normalności rozkładu czasu wykluwania (wartość p)*

Incubation times for cocoons hatching within a 2 year period did not follow a normal distribution ($p < 0.05$ in all treatments). Incubation time distributions for the 6 treatments are shown in Figure 1. Distributions in treatments B-E suggest evidence for two hatching peaks separated by a period of 10-12 months.



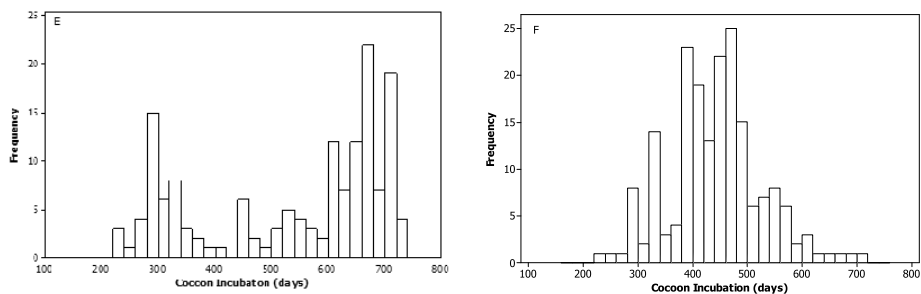


Fig. 1. Frequency of *L. terrestris* cocoon hatching over time for 6 treatments A-F (A-E employed earthworms purchased from different commercial suppliers, F used field-collected earthworms)

Fig. 1. Frekwencja wykluwania kokonów *L. terrestris*. Kokony pochodzą od dżdżownic z różnych źródeł A-F (jak w tabeli ; A-E źródła komercyjne; (F) pobranie w polu)

IV. DISCUSSION

Mean cocoon incubation times (446 – 566 days) in all experimental *L. terrestris* treatments were significantly greater than the 90 days recorded by Meinhardt [15] and Butt et al. [4]. In treatments A,B,E and F the first cocoons did not hatch until after 200 days of incubation. This stark difference in findings is difficult to interpret as cocoons in the current study and Butt et al. [4] were maintained under very similar laboratory conditions. However, cocoons in the latter were produced by recently matured individuals, whilst in the former, adults were field-collected and of unknown age and origin (with the exception of F). Svendsen et al. [22] suggested that cocoon incubation time increases with the age of the parents and this may partly explain the extended period of time required for the first cocoons to hatch.

In the current study, a proportion of cocoons in all treatments remained viable throughout the 2 year study period. In treatments A, B and F cocoon viability (83-90%) (after 2 years) was in excess of that previously recorded for this species. Furthermore, on cocoon dissection, cohort offspring viability increased to 88-94%, indicating that cocoons of this species can remain viable for more than 24 months (under specified laboratory conditions). This observation is supported by Svendsen et al. [22] who recorded hatching of *L. terrestris* cocoons after 114 weeks under similar laboratory conditions. They also observed that within a batch of cocoons produced by the same pair of worms over 1 month, the incubation time varied considerably with maximum difference between hatching times of cocoons in the same batch as much as 60 weeks (compared with 86 weeks in the current study).

Climatic conditions are known to influence earthworm activity and development. In adverse soil moisture (and temperature) conditions earthworms have developed a range of survival strategies. Certain species are able to enter into obligatory diapause (e.g. *Aporrectodea longa*) with other species able to adopt a less permanent quiescent state (e.g. *Aporrectodea caliginosa*) [7]. *L. terrestris* does not aestivate but has been reported to reduce casting and surface activity and reduce cocoon production in response to drought [19] and reside at depth in its burrow under extremes of cold [16]. Parmalee and Crossley [17] have suggested that cocoons could act as the main survival stage during drought for certain non-aestivating species (e.g. *Lumbricus rubellus*) as all juveniles and adults may die. Embryonic development is also known to be delayed at low temperatures [1] and/or under dry conditions [9]. Furthermore, Edwards and Bohlen [6] have suggested that cocoon development might be influenced by the availability of food for the parent worm. However, with the exception of the latter, these factors may not explain delayed hatching in this study as all cocoons were maintained at a temperature considered optimal for development and were provided with excess water to prevent dehydration. In addition, Jensen and Holmstrup

[11] demonstrated that incubation times of cocoons (*A. caliginosa*, *Allolobophora chlorotica* and *Dendrobaena octaedra*) placed on moist filter papers were not systematically slower than in soil.

Butt [3] recorded extended periods of cocoon incubation and suggested that the results may be ‘an artefact of the incubation technique’ and considered it ‘difficult to explain in terms of evolutionary advantage’. However, it is suggested that asynchronous and delayed hatching within cohorts and ability for cocoons to remain viable for extended periods may allow this K-selected species to maximise reproductive potential. Rundgren [18] suggested that the bi-modal pattern of *L. terrestris* emergence observed under field conditions in Sweden, may reduce risks associated with emergence in adverse environmental conditions and/or scarcity of food. Svendsen et al. [22] also stated that variable incubation times may be a physiological adaptation to fluctuating environmental conditions, but also suggested that it may also enable populations to survive stress associated with agricultural management practices. This “bet-hedging” strategy has also been observed in other invertebrate species. Hakalahti et al. [10] studied the egg hatching dynamics in the ectoparasitic crustacean *Argulus coregoni*. This species of fish louse over-winters as eggs and emerges in the spring to infect fish populations. Observations at Finnish fish farms have indicated that the hatching pattern of eggs was extended by several months, which was confirmed by controlled laboratory experiments. Clutches of eggs hatched over a period of 7 months with potentially viable eggs remaining at the end of the 451 day observation period. The authors speculated that ‘some eggs were genetically programmed for later hatching’ and that this strategy maximises progeny survival through unpredictable patterns of host availability. Extended periods of hatching have also been recorded in the eggs of the Nearctic Stonefly *Megarcys signata* [23] and the northern and western corn root worms (*Diabrotica barberi* and *Diabrotica virgifera virgifera*) [12].

In this current study, *L. terrestris* cocoons were maintained at a temperature considered optimal for development and hatching. Therefore it is suggested that observed delayed hatching may not be related to environmental cues but rather a “pre-programmed” response (bet-hedging strategy) to maximise reproductive potential driven by low fecundity and variable environmental conditions.

However it also must be accepted that origin, age, unknown pre-treatment and controlled experimental conditions may have influenced cocoon incubation times and it is advocated that the proposed alternative “bet-hedging” strategy in this and similar earthworm species is worthy of further laboratory and field-based investigation.

V. REFERENCES

1. Butt K.R.: The effects of temperature in the intensive production of *Lumbricus terrestris* (Oligochaeta: Lumbricidae). *Pedobiologia*. 35. p. 257-264. 1991.
2. Butt K.R.: Reproduction and growth of the earthworm *Allolobophora chlorotica* (Savigny, 1826) in controlled environments. *Pedobiologia*. 41. p. 369-374. 1997.
3. Butt K.R.: Food quality affects production of *Lumbricus terrestris* (L.) under controlled environmental conditions. *Soil Biol. Biochem.* 43. p. 2169-2175. 2011.
4. Butt K.R., Frederickson J., Morris R.M.: The life cycle of the earthworm *Lumbricus terrestris* L. (Oligochaeta: Lumbricidae) in laboratory culture. *Eur. J. Soil Biol.* 30. p. 49-54. 1994.

5. Daniel O.: Population dynamics of *Lumbricus terrestris* L. (Oligochaeta: Lumbricidae) in a meadow. *Soil Biol. Biochem.* 24. p. 1425-1431. 1992.
6. Edwards C.A., Bohlen P.J.: *Biology and Ecology of Earthworms*. Third Edition. Chapman and Hall. 1996.
7. Evans A.C., Guild W. J. M^c.L.: Studies on the relationships between earthworms and soil fertility. I. Biological studies in the field. *Ann. Appl. Biol.* 34. p. 307-330. 1947.
8. Evans A.C., Guild W. J. M^c.L.: Studies on the relationships between earthworms and soil fertility. IV On the life cycles of some British Lumbricidae. *Ann. Appl. Biol.* 35. p. 471-493. 1948.
9. Gerard B.M.: Factors affecting earthworms in pastures. *J. Anim. Ecol.* 36. p. 235-252. 1967.
10. Hakalahti T., Häkkinen H., Valtonen E.T.: Ectoparasitic *Argulus coregoni* (Crustacea: Branchiura) hedge their bets – studies on egg hatching dynamics. *Oikos*. 107. p. 295-302. 2004.
11. Jensen K.S., Holmstrup M.: Estimation of earthworm cocoon development time and its use in studies of in situ reproduction rates. *Appl. Soil Ecol.* 7. p. 73-82. 1997.
12. Krysan J.L., Jackson J.J., Lew A.C. Field termination of egg diapause in *Diabrotica* with new evidence of extended diapause in *D. barberi* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Environ. Entomol.* 13 (5). p. 1237-1240. 1984.
13. Lowe C.N., Butt K.R.: Culture techniques for soil dwelling earthworms: a review. *Pedobiologia*. 49 (5). p. 401-413. 2005.
14. Lowe C.N., Butt K.R.: Culture of commercially obtained *Lumbricus terrestris* L.: Implications for sub-lethal ecotoxicological testing. *Soil Biol. Biochem.* 39. 7. p. 1674-79. 2007.
15. Meinhardt U.: Comparative observations on the laboratory biology of endemic earthworm species, II. Biology of bred species. *Zeitschrift für Angewandte Zoologie*. 61. p. 137-182. 1974.
16. Nuutinen V. Butt K.R.: Worms from the cold: lumbricid life stages in boreal clay during frost. *Soil Biol. Biochem.* 41. p. 1580-1582. 2009.
17. Parmalee R.W., Crossley D.A.Jr. Earthworm production and the role in the nitrogen cycle of a no-tillage agroecosystem on the Georgia piedmont. *Pedobiologia*. 32. p. 351-361. 1998.
18. Rundgren S. Seasonality in lumbricids in southern Sweden. *Oikos*. 28. p. 49-55. 1977.
19. Satchell J.E.: Lumbricidae, in Burges, A., Raw, F. (Eds.) *Soil Biology*. Academic Press. London. p. 259-322. 1967.
20. Satchell J.E.: r-worms and K-worms: a basis for classifying lumbricid earthworm strategies. In: *Soil Biology as Related to Land Use Practices* (Dindal D.L. Ed.) Environmental Protection Agency. Washington D.C. p. 848-864. 1980.
21. Sims R.W., Gerard B.M.: *Synposes of the British Fauna, 31-Earthworms*. Linnean Society. London. 1999.
22. Svendsen T.S., Hansen P.E., Sommer C., Martinussen T., Grønvold J., Holter P.: Life history characteristics of *Lumbricus terrestris* and effects of the veterinary antiparasitic compounds ivermectin and fenbendazole. *Soil Biol. Biochem.* 37. p. 927-936. 2005.
23. Taylor B.W., Anderson C.R., Peckarsky B.L.: Delayed Egg Hatching and Semivoltinism in the Nearctic Stonefly *Megarctys signata* (Plecoptera: Perlodidae). *Aquat. Insect.* 21 (3). p. 179-185. 1999.

ŻYWOTNOŚĆ KOKONÓW I DOWODY NA OPÓŹNIONY WYLĘG U DŹDŹOWNICY LUMBRICUS TERRESTRIS L. W BADANIACH LABORATORYJNYCH

Streszczenie

Dojrzałe dżdżownice *Lumbricus terrestris* L. zostały zakupione u pięciu komercyjnych hodowców (A-E) a także zebrane w środowisku naturalnym (F) – użytek zielony w Preston, Lancashire, w Anglii. Hodowano je w kontrolowanych warunkach (15°C i 24 godziny w ciemności w wyjałowionej glebie gliniastej. Były karmione obornikiem końskim.

Przeżywalność, biomasa i produkcję kokonów monitorowano co 4 tygodnie przez okres jednego roku. Otrzymane kokony trzymano w wypełnionych wodą płytkach Petriego na papierze filtracyjnym. Czas wylęgu i żywotność kokonów obserwowano ponad 2 lata. Produkcja wahała się od 15,1 - 32,2 kokony \cdot osobnik⁻¹ \cdot rok⁻¹.

Początkowo produkcja kokonów była niska, następuje obserwowano (przez 12-36 tygodni) okres wysokiej produkcji a potem spadek (w 36-52 tygodniu). Czas wykluwania z kokonów wahał się od 132-731 dni. Po 2 latach badań stwierdzono 58-90% wykluwalności we wszystkich obserwowanych przypadkach (w tym kokony badane po okresie 2 lat - 88-94%). Odnotowano 2 odrębne piki wylęgowe oddzielone przez okres około 12 miesięcy przebywania w eksperymencie większości dżdżownic zakupionych u komercyjnych hodowców. Wykazane okresy inkubacji kokonów przekraczają uprzednio zarejestrowane w podobnych warunkach laboratoryjnych (np. 90-280 dni). Ponadto stwierdzona efektywność wykluwania jest wyższa niż wykazana poprzednio (np. 67.9-83%). Różnice te są w głównej mierze wynikiem znacznie dłuższego okresu obserwacji kokonów. Pochodzenie, wiek, nieznanne traktowanie (w przypadku AE) oraz warunki doświadczalne (np. stały rozkład temperatur) mogą mieć także wpływ na czas inkubacji. Eksperyment sugeruje, że asynchroniczne i opóźnione wylęgi ciągu kohort *Lumbricus terrestris* i zdolność kokonów do pozostawania przy życiu przez dłuższy czas, pozwalają tym dżdżownicom o strategii rozrodczej K, na maksymalizowanie potencjału reprodukcyjnego.

Proponowane tutaj określenie strategia "bet-hedging" wymaga dalszych badań laboratoryjnych i terenowych.

Słowa kluczowe: *L. terrestris*, strategia "bet-hedging", rozwój kokonów, opóźniony wylęg

ALINA OWSIAK

Katedra Biochemii i Biologii Komórki
Wydział Biologiczno-Rolniczy Uniwersytetu Rzeszowskiego
e-mail: owskiak@univ.rzeszow.pl

CHRONOLOGICZNE STARZENIE SIĘ DROŻDŻY BEZ AKTYWNEJ DYSMUTAZY PONADTLENKOWEJ W DŁUGOTERMINOWYCH HODOWLACH STACJONARNYCH

*Chronologiczne starzenie się drożdży piekarniczych *Saccharomyces cerevisiae* w płynnej hodowli stacjonarnej jest modelem badań stosowanym przez niektórych naukowców analogicznym do starzenia się fibroblastów organizmów wielokomórkowych, mięśni szkieletowych czy komórek nerwowych. W wyniku starzenia się w komórkach drożdży zachodzą zmiany o charakterze fizjologicznym, genetycznym, metabolicznym i morfologicznym. Jedną z przyczyn procesu starzenia się upatruje się w zaburzeniach spowodowanych zwiększoną syntezą RFT (reaktywnych form tlenu) lub brakiem obrony antyoksydacyjnej. W eksperymencie zastosowano komórki drożdży z nieaktywną dysmutazą nadadtlenkową (enzymem antyoksydacyjnym), które są nadwrażliwe na tlen i wykazują zmniejszenie długości życia, mierzonej średnimi i maksymalnymi ilościami podziałów komórkowych w tenie atmosferycznym. Hodowle drożdży szczepu dzikiego, jak i mutantu pozbawionego aktywnej dysmutazy nadadtlenkowej prowadzono 56 dni w pożywce YNB oraz w pożywce YNB zbuforowanej. W tym czasie żywotność komórek drożdży określano w oparciu o procent przeżywalności komórek, procent martwych komórek i gęstość hodowli. Zbuforowanie hodowli znacząco wpłynęło na zwiększenie żywotności komórek w długoterminowych hodowlach obydwu badanych szczepów.*

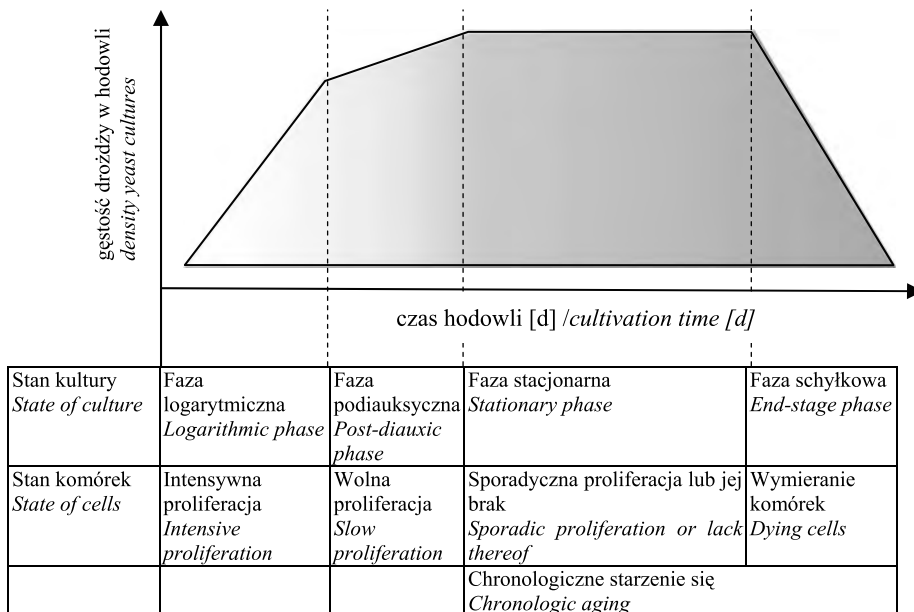
Słowa kluczowe: starzenie się, dysmutaza nadadtlenkowa, obrona antyoksydacyjna, żywotność

I. WSTĘP

Starzenie się można zdefiniować jako nieodwracalny proces rozpoczynający się wraz z osiągnięciem dojrzałości człowieka, charakteryzujący się rosnącym odchyleniem od stanu optymalnego. Oznacza to postępujące pogorszenie praktycznie każdej funkcji organizmu w czasie [19]. Zrozumienie mechanizmów kierujących procesem starzenia się umożliwiłoby zapobieganie przedwczesnej śmierci organizmu i mogłoby przyczynić się do poprawy jakości życia ludzi starszych. Starzenie ludzi bada się bezpośrednio na różnych poziomach organizacji ich organizmu i ciągle poszukuje się odpowiednich organizmów modelowych. Zdaniem wielu naukowców model długoterminowych hodowli stacjonarnych drożdży *Saccharomyces cerevisiae*, gdzie komórki już nie pączkują, można odnieść jako analogię do stanu nieproliferujących komórek człowieka: fibroblastów, mięśni szkieletowych, komórek nerwowych czy stanu nowotworzenia [1,6,15].

Potwierdzono, że komórki organizmów tak różnych, jak drożdże i ludzie, mogą wejść w nieproliferacyjną, postmitotyczną fazę spoczynku, która u organizmów jednokomórkowych rosnących w hodowlach płynnych nazywana jest fazą stacjonarną [15].

Komórki drożdży w stanie spoczynku mogą przetrwać przez długi okres bez składników odżywczych. Szybko pączkujące w fazie logarytmicznej, *S. cerevisiae* korzystają z energii uzyskanej w procesie fermentacji, gdzie źródłem węgla jest zazwyczaj glukoza, a produktem metabolizmu - etanol. Po wyczerpaniu glukozy komórki w hodowli przestawiają swój metabolizm na wykorzystanie niefermentacyjnych źródeł węgla (w tym etanolu). Etap hodowli, w którym drożdże korzystają z dwóch różnych źródeł węgla nazywamy fazą podiauksychną, a komórki dzielą się wtedy bardzo wolno. Kiedy w hodowli wyczerpane są wszystkie źródła węgla, komórki w większości przestają się dzielić i wchodzi w fazę stacjonarną (Rys. 1). Długi okres hodowli przy braku dostępu składników odżywczych powoduje nieodwracalne zmiany w metabolizmie komórek prowadzące do fazy wymierania hodowli. Podczas długotrwałej hodowli drożdży w pożywce pojawiają się metabolity zakwaszające środowisko (kwas octowy, pirogronowy, szczawiowy, jabłkowy, cytrynowy), które mogą indukować śmierć komórek [5]. Chronologiczne starzenie się drożdży określa się jako okres czasu, w którym komórki drożdży mogą przeżyć nie dzieląc się [8]. Czas ten obejmuje fazę stacjonarną jak i schyłkową.



Rys. 1. Zależność gęstości i stanu metabolicznego komórek w hodowli płynnej YPD od czasu (mierzone w dniach) [9]

Fig. 1. The dependence of the density and the metabolic state of the cells in YPD liquid culture on time (measured in days)[9]

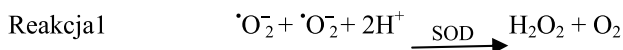
Obecnie znanych jest wiele teorii opisujących mechanizmy starzenia się komórek czy wielokomórkowych organizmów. Jedna z nich głosi, że starzenie się organizmów jest wynikiem powstawania w komórce „wolnych rodników tlenowych” jako produktów ubocznych naturalnego metabolizmu tlenu, oraz ich niespecyficzných reakcji z molekułami komórkowymi [10]. Szczególną rolę w procesie starzenia się organizmów pełnią mitochondria, ponieważ są istotnym źródłem wolnych rodników. Powstałym w komórce

uszkodzeniom można przynajmniej częściowo przeciwdziałać stosując w odpowiednich stężeniach antyoksydanty (zaproponowano witaminę A, C i selen) [11].

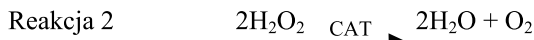
Wolne rodniki, a dokładniej reaktywne formy tlenu (RFT) powstają u organizmów aerobowych podczas reakcji metabolicznych z udziałem tlenu. Na zewnętrznej orbicie posiadają one pojedynczy elektron, są wysoce reaktywne i niebezpieczne dla komórek. Do RFT zaliczamy między innymi nadtlenek wodoru H_2O_2 . W stężeniach fizjologicznych jest on niezbędny w komórce jako cząsteczka sygnałowa, natomiast jego nadmiar jest szkodliwy. RFT, dążąc do przyłączenia lub oddania elektronu, wykazują dużą aktywność chemiczną i mogą utleniać wszystkie najważniejsze składniki komórkowe. Obiektem ataków RFT w komórce są głównie związki posiadające w cząsteczkach podwójne wiązania jak: kwasy tłuszczowe wchodzące w skład błon komórkowych, białka, DNA czy polisacharydy. Wszystkie te uszkodzenia w efekcie mogą prowadzić do śmierci komórki [2].

W toku ewolucji organizmy, wraz z adaptacją do warunków tlenowych i do reaktywnych form tlenu, rozwinęły również różne systemy obrony przed RFT. Komórki posiadają wyspecjalizowane enzymy antyoksydacyjne, rozkładające RFT zanim dojdzie do reakcji z biomolekułami komórki. Kiedy jednak mimo ochronnego działania enzymów RFT już zainicjują reakcję wolnorodnikową, komórki dążą do jej przerwania lub zakończenia przy udziale niskocząsteczkowych antyoksydantów i witamin. Powstałe w wyniku działania RFT uszkodzenia biomolekuł są naprawiane lub usuwane dzięki enzymatycznym systemom naprawczym oraz przy użyciu niskocząsteczkowych antyoksydantów (na przykład glutationu) [2].

Dysmutaza ponadtlenkowa (SOD) jest antyoksydacyjnym enzymem, który na drodze dysproporcjonowania anionorodnika ponadtlenkowego wytwarza w komórce nadtlenek wodoru i tlen (Reakcja 1).



Powstały nadtlenek wodoru ulega reakcji dysproporcjonowania do wody i tlenu w obecności innych enzymów antyoksydacyjnych w komórce, między innymi katalaz (CAT) (Reakcja 2).



Dysmutazę ponadtlenkową, która do swojej aktywności katalitycznej wymaga jonów miedzi i cynku (CuZnSOD-1), wykryto zarówno u człowieka jak i u drożdży. Występuje ona w cytoplazmie, ale również znajdująca jest w mitochondriach [14]. U ludzi, dysmutazy chronią organizm w stanach zapalnych [13] i w procesie starzenia się mięśni szkieletowych [12]. Zaburzenia aktywności CuZnSOD-1 spowodowane mutacjami są przyczyną uszkodzenia neuronów motorycznych w stwardnieniu zanikowym bocznym [2]. Myszki pozbawione CuZnSOD-1 wykazują zaburzenia rozrodu, bardzo wysoki poziom uszkodzeń oksydacyjnych w komórkach i przyspieszoną utratę mięśni tylnych kończyn, a także żyją krócej w porównaniu z kontrolą o 30% [16]. Komórki drożdży z nieaktywną SOD-1 są nadwrażliwe na tlen, parakwat i napromieniowanie i wykazują zmniejszenie długości życia, mierzonej średnimi i maksymalnymi ilościami podziałów komórkowych w tlenie atmosferycznym [18].

Doświadczenia opisane w prezentowanej pracy pozwalają na obserwowanie skutków mutacji w genie kodującym dysmutazę ponadtlenkową, zaangażowaną w obronę antyoksydacyjną komórki.

Celem pracy było wyjaśnienie roli dysmutazy ponadtlenkowej w starzeniu chronologicznym się drożdży, oraz wpływu zbuforowania diety na żywotność komórek.

II. MATERIAŁ I METODY

W niniejszej pracy wykorzystano dwa szczepy drożdży *Saccharomyces cerevisiae*: szczep dziki SP4 (*α leu1 arg4*) [3] i szczep pozbawiony aktywnej dysmutazy ponadtlenkowej DSCD1-1C (*α leu1 arg4 sod1*) [4].

Eksperymenty prowadzono w kolbach Erlenmayera o pojemności 100 cm³ w temperaturze 28°C z wytrząsaniem 250 obrotów na minutę, a objętość zaszczepionej drożdżami pożywki wynosiła 20 cm³. Inoculum przygotowywano w sterylnej płynnej pożywce YPD (2% glukozy, 1% peptonu drożdżowego, 1% ekstraktu drożdżowego, woda) w hodowli całonocnej. Hodowle właściwe długoterminowe zaszczepiano zawiesiną komórek o gęstości 5·10⁵ komórek·cm⁻³. Zastosowano dwa rodzaje płynnych sterylnych pożywek: YNB_1 (Yeast Nitrogen Base, 5 mg·cm⁻³ argininy, 4 mg·cm⁻³ leucyny; 0,5% glukozy, woda; dla szczepu DSCD1-1C dodatkowo 2 mg·cm⁻³ metioniny i 4 mg·cm⁻³ lizyny), oraz YNB_1/bufor (YNB, 5 mg·cm⁻³ argininy, 4 mg·cm⁻³ leucyny; 0,5% glukozy; 0,1 M bufor fosforanowy pH 6,5; dla szczepu DSCD1-1C dodatkowo 2 mg·cm⁻³ metioniny i 4 mg·cm⁻³ lizyny).

Pomiary rozpoczynano po 48 godzinach od inokulacji (czas 0), gdy hodowle osiągnęły gęstość 2·10⁷ komórek·cm⁻³ i wykonywano je w kilkudniowych odstępach, maksymalnie 56 dni. Istotnym elementem eksperymentu było ważenie kolb z hodowlą oraz uzupełnianie pożywki wodą w sterylnych warunkach co 2 - 3 dni w celu utrzymania stałej objętości, a co za tym idzie gęstości hodowli.

Gęstość hodowli określano licząc komórki w komorze Malasseza pod mikroskopem, a następnie rozcieńczano hodowle w sterylnej wodzie do gęstości 10³·cm⁻³.

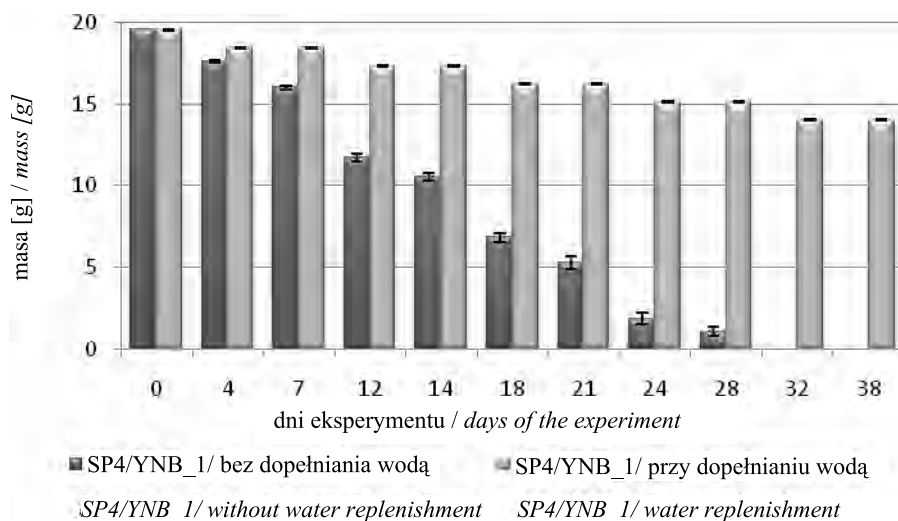
Dla potrzeb pracy zaproponowano termin „żywność komórek” (z ang. *vitality*) oznaczający stan metaboliczny komórek w fazie stacjonarnej umożliwiający podjęcie pączkowania, sprawdzany testem szalkowym na stałej pożywce YPD oraz pomiarem gęstości hodowli. Komórki „żywotne” mogą równocześnie nie pączkować, a pozostać żywe. Wtedy nie barwią się błękitem metylenowym.

W celu wyliczenia procentu przeżywalności komórek (czyli procentu komórek zdolnych do tworzenia kolonii) w poszczególnych dniach hodowli wysiewano określoną objętość hodowli o znanej gęstości, tak aby zawierała 150 komórek, na stałe podłoże YPD (2% glukozy, 2% agaru, 1% peptonu drożdżowego, 1% ekstraktu drożdżowego, woda) na polistyrenowych szalkach Petriego o średnicy 90 mm i wysokości 16 mm. Wzrost oceniano po 48 godzinnej hodowli w temperaturze 28°C i wyliczano procent przeżywalności w stosunku do wysianej liczby komórek.

Procent martwych komórek wyznaczano przy użyciu barwnika (1 mg·cm⁻³ błękitu metylenowego w 2% cytrynianie sodu) poprzez dwuminutową inkubację w temperaturze pokojowej wodnej zawiesiny drożdży o gęstości 1·10⁶·cm⁻³ z taką samą objętością barwnika. Procent zabarwionych na niebiesko komórek (martwych) liczono w komorze Malasseza [13]. Wszystkie doświadczenia wykonano w trzech niezależnych powtórzeniach.

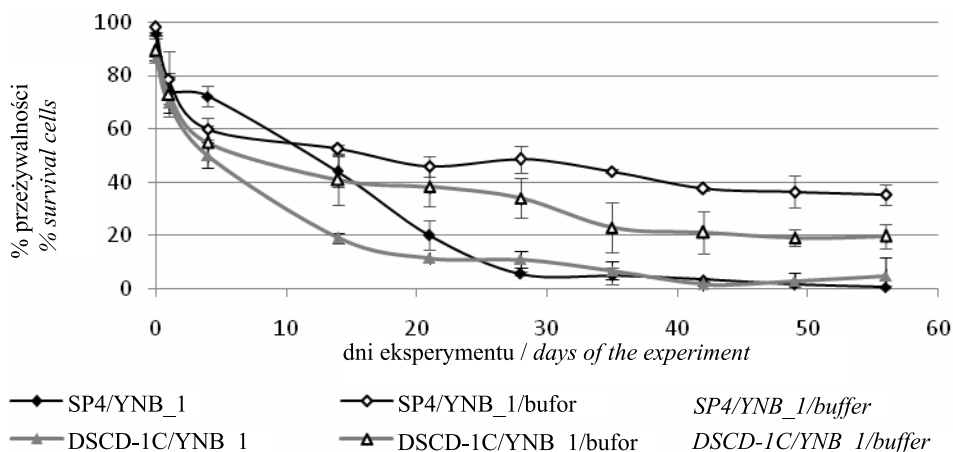
III. WYNIKI

W prezentowanych doświadczeniach nad procesem starzenia się drożdży w długoterminowej hodowli stacjonarnej w pożywce płynnej istotnym czynnikiem była utrata wody w wyniku parowania. Prowadziło to do zagęszczania składników pożywki, dlatego konieczne było uzupełnianie wody (co 2 - 3 dni) i pobieranie jak najmniejszej objętości hodowli do pomiarów (Rys. 2).

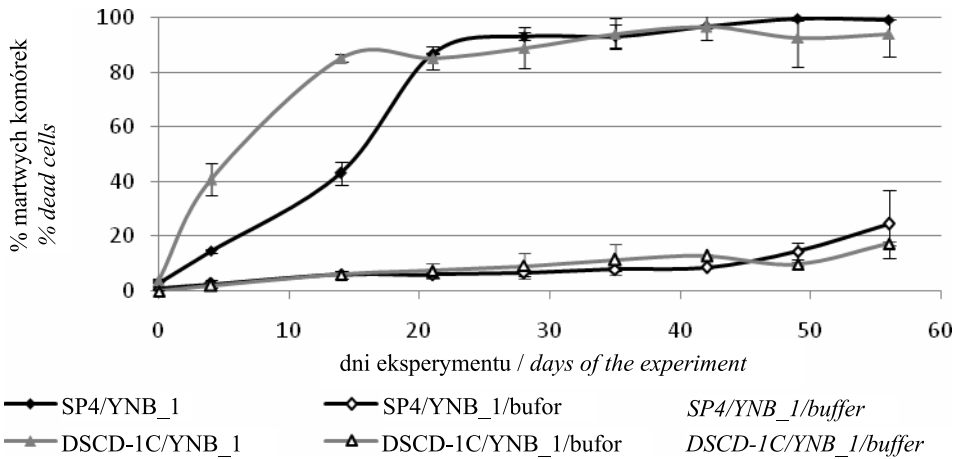


Rys. 2. Zmiana masy hodowli szczepu SP4 podczas eksperymentu bez dopełniania i przy dopełnianiu wodą
Fig. 2. The change in mass of the strain SP4 in experiment carried out with and without water replenishment

Hodowla nieuzupełniana wodą wysycha już w 28 dniu eksperymentu (Rys. 2). Natomiast hodowla, w której straty wody były uzupełniane, zmniejsza swoją masę tylko w wyniku pobrania prób do dalszych pomiarów określenia żywotności komórek w fazie stacjonarnej. Uwzględniając wyżej opisaną obserwację, przeprowadzono 56 dniowe hodowle drożdży szczepu dzikiego SP4 oraz szczepu bez aktywnej dysmutazy ponadtlenkowej DSCD1-1C na dwóch rodzajach pożywek: YNB_1 oraz YNB_1/bufor. Badano trzy parametry hodowli, a mianowicie: procent przeżywalności (Rys. 3), procent martwych komórek (Rys. 4) i gęstość hodowli (Rys. 5).

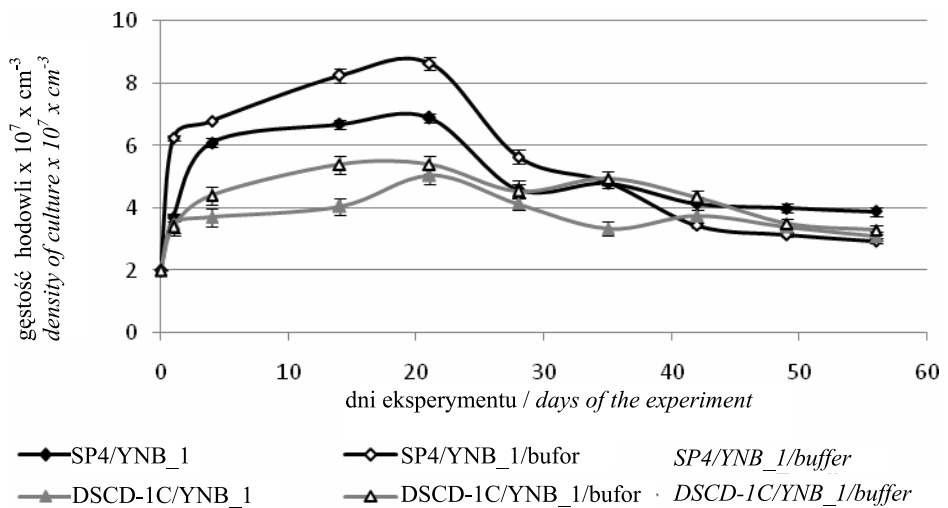


Rys. 3. Przeżywalność komórek *S. cerevisiae* szczepu dzikiego SP4 oraz mutantu DSCD1-1C w hodowlach długoterminowych w pożywce YNB_1 oraz w pożywce YNB_1 w 0.1 M buforze fosforanowym o pH 6.5
Fig. 3. The comparison of the percentage of cell survival of *Saccharomyces cerevisiae* wild strain SP4 and DSCD1-1C mutant in long-term cultures in medium YNB_1 and YNB_1/buffer 0.1 M phosphate pH 6.5



Rys. 4. Porównanie procentu martwych komórek *Saccharomyces cerevisiae* szczepu dzikiego SP4 oraz mutanta DSCD1-1C w hodowlach długoterminowych w pożywce YNB_1 oraz w pożywce YNB_1 w 0.1 M buforze fosforanowym o pH 6.5

Fig. 4. The comparison of the percentage of dead cells *Saccharomyces cerevisiae* wild strain SP4 and DSCD1-1C mutant in long-term cultures in medium YNB_1 and YNB_1/buffer 0.1 M phosphate pH 6.5



Rys. 5. Porównanie gęstości hodowli *Saccharomyces cerevisiae* szczepu dzikiego SP4 oraz mutanta DSCD1-1C w hodowlach długoterminowych w pożywce YNB_1 oraz w pożywce YNB_1 w 0.1 M buforze fosforanowym o pH 6.5

Fig. 5. The comparison of the density of culture *Saccharomyces cerevisiae* wild strain SP4 and DSCD1-1C mutant in long-term cultures in medium YNB_1 and YNB_1/buffer 0.1 M phosphate pH 6.5

W czasie pierwszych 20 dni hodowli mutanta DSCD1-1C z 56 dniowego eksperymentu zaobserwowano znaczne obniżenie procentu przeżywalności (Rys. 3), zwiększenie liczby martwych komórek (Rys. 4), i gęstości komórek (Rys. 5) w pożywce YNB_1 w porównaniu do kontrolnego dzikiego szczepu SP4. W dalszym etapie hodowli poziom parametrów żywotności

dla obu badanych szczepów drożdży uległ wyrównaniu. Zastosowanie buforu o pH 6.5 w pożywce znacząco wpłynęło na zmniejszenie odsetka martwych komórek zarówno w szczepie dzikim jak i w mutancie (Rys. 4) oraz zwiększyło przeżywalność komórek szczepu SP4 i DSCD1-1C (Rys. 3) w porównaniu do hodowli niezbuforowanych. Zwiększenie gęstości komórek (Rys. 5) w hodowlach obydwu szczepów w warunkach zbuforowanych potwierdzało wyniki doświadczeń prezentowanych na rysunku 3 i 4. Natomiast istotne jest, że w pożywce YNB_1/bufor różnica w przeżywalności komórek obu badanych szczepów nadal została zachowana (Rys. 3). Mimo zbliżonego procentu komórek martwych (Rys. 4) zaobserwowano mniejszy procent przeżywalności komórek drożdży bez aktywnej dysmutazy ponadtlenkowej w porównaniu do szczepu dzikiego (Rys. 3) w hodowlach zbuforowanych.

IV. PODSUMOWANIE

Brak aktywnej dysmutazy ponadtlenkowej w drożdżach szczepu DSCD1-1C powoduje zmniejszenie żywotności komórek do 20 dnia hodowli w porównaniu do komórek szczepu dzikiego SP4 podczas 56 dniowych hodowli stacjonarnych. Wyrównanie procentu przeżywalności i odsetka martwych komórek obydwu badanych szczepów po 20 dniu hodowli może świadczyć o możliwości przystosowania się komórek szczepu pozbawionego aktywnej dysmutazy ponadtlenkowej do długotrwałych warunków stresowych [17].

Zbuforowanie pożywki pozwoliło na wyeliminowanie wpływu metabolitów (między innymi kwasu octowego). W porównaniu do hodowli niezbuforowanych znacznie zwiększył się procent przeżywalności komórek jak, zwiększyła się gęstość hodowli jak i zmniejszył się odsetek martwych komórek w hodowlach obydwu badanych szczepów. Natomiast nadal została zachowana różnica przeżywalności komórek drożdży bez aktywnej dysmutazy ponadtlenkowej w porównaniu do szczepu dzikiego. Może to świadczyć o utracie możliwości pączkowania komórek w wyniku wysokiego poziomu anionorodnika ponadtlenkowego i akumulacji uszkodzeń oksydacyjnych w komórkach drożdży DSCD1-1C w chronologicznym starzeniu się, co jest zgodne z danymi literaturowymi [7].

V. LITERATURA

1. Balázsi G.: Network reconstruction reveals new links between aging and calorie restriction in yeast. *HFSP Journal* 4. 3-4. s. 94-99. 2010.
2. Bartosz G.: *Druga twarz tlenu*. PWN Warszawa. s. 28-119, s: 144-196. 2003.
3. Biliński T., Łukaszewicz J., Śledziwski A.: Demonstration of anaerobic catalase synthesis in the cz1 mutant of *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 83. 3. s. 1225-1233. 1978.
4. Biliński T., Krawiec Z., Liczmański A., Litwińska J.: Is hydroxyl radical generated by the Fenton reaction *in vivo*?" *Biochemical and Biophysical Research Communications* 130. 2 s. 533-539. 1985.
5. Burtner C., Murakami C. J., Kennedy B. K., Kaerberlein M.: A molecular mechanism of chronological aging in yeast. *Cell Cycle (Georgetown, Tex.)* 8. 8 s. 1256-1270. 2009.
6. Chen, B., Runge K. W.: A new *Schizosaccharomyces pombe* chronological lifespan assay reveals that caloric restriction promotes efficient cell cycle exit and extends longevity. *Experimental Gerontology* 44. 8. s. 493-502. 2009.
7. Demir A. B., Koc A.: Assessment of chronological lifespan dependent molecular damages in yeast lacking mitochondrial antioxidant genes. *Biochemical and*

8. Fabrizio P., Longo VD.: The chronological life span of *Saccharomyces cerevisiae*. *Aging Cell* 2. s. 73-81. 2003.
9. Gray J. V., Petsko G. A., Johnston G. C., Ringe D., Singer R. A., Werner-Washburne M.: «Sleeping beauty»: quiescence in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR* 68. 2. s. 187-206. 2004.
10. Harman D.: Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *Journal of Gerontology* 11. 3. s. 298-300. 1956.
11. Harman D.: The biologic clock: the mitochondria? *Journal of the American Geriatrics Society* 20. 4. s. 145-147. 1972.
12. Jackson M. J.: Strategies for reducing oxidative damage in ageing skeletal muscle. *Advanced Drug Delivery Reviews* 61. 14. s. 1363-1368. 2009.
13. Kocwowa E.: Ćwiczenia z mikrobiologii ogólnej. PWN Warszawa. s.173-175. 1981.
14. Li C., Hai-Meng Zhou H.: The role of manganese superoxide dismutase in inflammation defense. *Enzyme Research* 2011. s. 387176. 2011.
15. Longo V. D., Gralla E. B., Valentine J. S.: Superoxide dismutase activity is essential for stationary phase survival in *Saccharomyces cerevisiae*. Mitochondrial production of toxic oxygen species in vivo. *The Journal of Biological Chemistry* 271. 21. s. 2275-12280. 1996.
16. Muller F. L., Lustgarten M.S., Jang Y., Richardson A., Van Remmen H.: Trends in oxidative aging theories. *Free Radical Biology & Medicine* 43. 4. s. 477-503. 2007.
17. Pereira M. D., Eleutherio E. C., Panek A. D.: Acquisition of tolerance against oxidative damage in *Saccharomyces cerevisiae*. *BMC Microbiology* 1. s. 11. 2001.
18. Wawryn J., Świącilo A., Bartosz G., Biliński T.: Effect of superoxide dismutase deficiency on the life span of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. An oxygen-independent role of Cu,Zn-superoxide dismutase. *Biochimica Et Biophysica Acta* 1570. 3. s. 199-202. 2002.
19. Weinert B. T., Timiras P.S.: Invited review: Theories of aging. *Journal of Applied Physiology* (Bethesda, Md.: 1985) 95. 4. s. 1706-1716. 2003.

CHRONOLOGICAL AGING OF YEAST WITHOUT ACTIVE SUPEROXIDE DISMUTASE IN FIXED TERM CULTURES

Summary

The chronologic aging (CA) of the baker's yeast Saccharomyces cerevisiae in stationary culture is a test model used by some scientists as analogical to aging of multicellular organisms fibroblasts, skeletal muscles or nerve cells. As a result of aging in yeasts cells physiological, genetic, metabolic and morphological changes occurs. One of the possible reasons of ageing are malfunctions caused by the excessive synthesis of reactive forms of oxygen or decline in antioxidative defense. In this experiment were used yeast cells with inactive yeast superoxide dismutase (antioxidative enzyme), which therefore are hypersensitive to oxygen and show a decrease in life expectancy, measured by an average and maximum quantities of cell division in atmospheric oxygen. Stationary cultures of wild-type strains and mutant devoided of superoxide dismutase in YNB medium and YNB buffered medium were tested for 56 days. In this period viability of yeasts was estimated by percentage of life and dead cells and culture density. Implementation of buffered medium had a significant positive impact on lifespan of both strains in the long-term stationary culture.

Key words: aging, superoxide dismutase, antioxidant defense, vitality

AGNIESZKA OZIMEK¹, KINGA SIKORA², MICHAŁ KOPEĆ³

¹ Wydziałowe Laboratorium Analiz Zdrowotności Środowiska i Materiałów Pochodzenia Rolniczego Wydział Biologiczno-Rolniczy, Uniwersytet Rzeszowski, e-mail: aozimek@o2.pl

² studentka kierunku Ochrona Środowiska Wydział Rolniczo-Ekonomiczny, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie

³ Katedra Chemii Rolnej i Środowiskowej, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie

ZAWARTOŚĆ METALI CIĘŻKICH W LIŚCIACH WYBRANYCH GATUNKÓW DRZEW PARKÓW KRAKOWSKICH

Celem pracy była ocena zawartości wybranych metali ciężkich: cynku, ołowiu, kadmu i niklu w liściach różnych gatunków drzew. Obiekt badań stanowiły liście drzew rosnących w dwóch, wybranych parkach terenu miasta Krakowa: Parku Krakowskim oraz Parku w Krakowie-Bieżanowie. Liście wszystkich gatunków drzew charakteryzowały się znaczną zawartością materii organicznej, a podwyższone zawartości niektórych metali ciężkich nie wykluczają wykorzystania biomasy liści jako surowca w procesie kompostowania.

Słowa kluczowe: metale ciężkie, zieleń miejska, kompost

I. WSTĘP

Parki miejskie podnoszą estetykę przestrzeni miast oraz służą mieszkańcom jako miejsca wypoczynku i rekreacji [2]. Równie istotne znaczenie ma ich wartość ekologiczna, mająca decydujący wpływ na stan sanitarny i jakość środowiska przyrodniczego miast. Szczególnym elementem parków są zadrzewienia, stanowiące siedliska zwierząt oraz poprawiające mikroklimat [19]. Zurbanizowane i uprzemysłowione tereny obszarów miejskich, głównie w pobliżu dróg są najbardziej narażone na zanieczyszczenia motoryzacyjne. Terenów tych najczęściej dotyka (występujący w Polsce lokalnie) problem zanieczyszczenia metalami ciężkimi roślin i gleb [2,16]. Pojazdy o napędzie spalinowym wydzielają do środowiska wiele szkodliwych substancji takich jak: tlenki węgla i azotu, dwutlenek siarki, sadze, metale ciężkie (składniki spalin i pyłów) oraz węglowodory.

Metale ciężkie emitowane do środowiska przez pojazdy to przede wszystkim ołów i cynk oraz chrom, kadm i platyna [4,12,13]. Najbardziej szkodliwe dla roślin drzewiastych metale ciężkie to Hg, Cu, Ni, Pb, Co, Cd. Źródłami tych metali w ciągach komunikacyjnych są: pył atmosferyczny, opad deszczu oraz zanieczyszczenia motoryzacyjne. Metale ciężkie dostają się także do środowiska podczas ścierania opon oraz innych części pojazdów [1,3]. Źródłem kadmu wzdłuż dróg mogą być także smary używane w pojazdach samochodowych [1,3].

Znaczna koncentracja metali ciężkich ma niekorzystny wpływ na faunę i florę, a pobieranie ich przez rośliny drzewiaste stwarza zagrożenie włączania ich w łańcuch troficzny. Drzewa

oczyszczają powietrze z pyłów przez wychwytywanie ich cząsteczek. Nadmierna kumulacja metali ciężkich w liściach drzew może zachodzić poprzez wychwytywanie pyłów o dużej ilości metali ciężkich. Dodatkowo, biomasa z pielęgnacji zieleni miejskiej często pełni funkcje ekologiczne i powinna być surowcem do produkcji nawozu organicznego (kompostu). Kompostowanie biomasy z terenów zurbanizowanych i uprzemysłowionych, może być ryzykowne, z uwagi na możliwość zanieczyszczenia metalami ciężkimi gleb i roślin.

II. MATERIAŁ I METODY

Przedmiotem badań były liście różnych gatunków drzew pochodzących z dwóch parków usytuowanych na terenie miasta Krakowa. Były to: Park Krakowski oraz park w Krakowie-Bieżanowie. Park Krakowski o powierzchni 5,14 ha jest położony przy ulicach o dużym natężeniu ruchu samochodowego: Czarnowiejską, Szymanowskiego, placem Inwalidów i Alejami Trzech Wieszców. Park w Krakowie-Bieżanowie (1,2 ha), położony jest w dolinie potoku Bieżanowskiego. Stanowi teren rekreacji i wypoczynku mieszkańców dużych osiedli mieszkaniowych o wysokiej intensywności zabudowy – Nowy Prokocim i Nowy Bieżanów.

Do badań wybrano następujące gatunki drzew: robinia akacja (*Robinia pseudoacacia* L.), brzoza brodawkowata (*Betula pendula*), dąb szypułkowy (*Quercus robur* L.), klon jawor (*Acer pseudoplatanus* L.), kasztanowiec zwyczajny (*Aesculus hippocastanum*), lipa drobnolistna (*Tilia mordata* Mill.), topola osika (*Populus tremula* L.), wierzba płacząca (*Salix alba* L. „*Tristis*”).

Liście drzew zebrano jesienią, wysuszone, zmielono oraz wykonano analizy laboratoryjne określając:

- a) zawartość wody higroskopowej metodą suszarkowo-wagową po wysuszeniu próbki w temperaturze 105°C przez 12 godzin,
- b) zawartość materii organicznej po mineralizacji próbki w piecu muflowym (450°C przez 5 godz.),
- c) zawartość ogólnych form badanych metali ciężkich (Zn, Pb, Cd, Ni) po mineralizacji próbki w piecu muflowym (450°C przez 5 godz.) i rozтворzeniu pozostałości w rozcieńczonym (1:2) kwasie azotowym (V); następnie oznaczenie metodą ICP-OES za pomocą aparatu Perkin Elmer Optima 7300DV.

Przedstawione wyniki analiz stanowią średnią arytmetyczną z 2 powtórzeń różniących się maksymalnie o 5%. Dla podanych w tabelach wartości średnich obliczono błąd standardowy (SE).

III. WYNIKI I DYSKUSJA

Liście wszystkich badanych gatunków drzew z obydwu parków charakteryzowały się dużą zawartością materii organicznej, która stanowiła od 90,67% do 93,84% s.m. Wartości te uzasadniają przydatność liści w procesie kompostowania.

Największą zawartość cynku (tab. 1) wykazywały liście brzozy brodawkowatej z parku w Bieżanowie (319,77 mg·kg⁻¹ a.s.m). Równie duża zawartość tego pierwiastka była w liściach wierzby płaczącej z Parku Krakowskiego (309,91 mg·kg⁻¹ a.s.m.). Najmniejsze zawartości cynku oznaczono w liściach klonu i robinii akacjaowej z Parku Krakowskiego odpowiednio 26,63 i 27,31 mg Zn·kg⁻¹ a.s.m.

Badania wierzby, głównie wiciowej, prowadzone przez Kalembasę [15] wykazały, że drzewa te akumulują więcej cynku w porównaniu z innymi gatunkami. Oznaczone przez tę

autorke zawartości cynku w liściach wierzby nie powodowały jednak efektu fitotoksyczności. Podobnie brzoza brodawkowata, choć nie jest hiperakumulatorem, to również wykazuje wyjątkowe powinowactwo do cynku (znacznie większe niż inne gatunki drzew) [5,6,7]. Wyniki badań otrzymane przez Hrdlicka i in. [11] wskazują na znaczne zawartości m.in. cynku, ołowiu i kadmu w liściach brzozy brodawkowatej rosnącej w okolicach Olkusza. Badania Krzaklewskiego [18] na terenach leśnych w tych samych okolicach również wykazały zwiększenie zawartości cynku, ołowiu i kadmu w porównaniu z analogicznymi terenami nieskażonymi. Za główną przyczynę zwiększonej zawartości metali ciężkich autorzy uznają pyły oraz gazy, głównie SO₂. Również Franiel [8,9] wykazał zwiększenie zawartości kadmu, ołowiu i cynku w korzeniach i pędach brzozy, usytuowanej na zwałowisku odpadów poflotacyjnych. Niektórzy autorzy [10,17] proponują wykorzystanie brzozy brodawkowej jako bioindykatora skażeń metalami ciężkimi.

Największą zawartość ołowiu (8,60 mg·kg⁻¹ a.s.m.) oznaczono w liściach lipy z Parku Krakowskiego, a ponad 4-krotnie mniej tego pierwiastka w liściach wierzby. W liściach drzew parku w Bieżanowie największą zawartość ołowiu stwierdzono w liściach kasztanowca zwyczajnego – 5,72 mg·kg⁻¹ a.s.m., a najmniejszą w liściach dębu szypułkowego – 1,89 mg·kg⁻¹ a.s.m. W obydwu parkach porównywalne zawartości ołowiu oznaczono w liściach klonu, topoli oraz wierzby.

Tabela 1- Table 1

Zawartość cynku i ołowiu w liściach wybranych gatunków drzew krakowskich parków
Contents of zinc and lead in leaves of selected trees species in Cracow parks

Lp.	Gatunki drzew <i>Tree species</i>	Park Krakowski		Park Kraków – Bieżanów	
		Zn	Pb	Zn	Pb
		mg·kg ⁻¹ a.s.m.			
1	Robinia akacjowa <i>Black locust</i>	27,31±0,62	2,47±0,07	34,14±0,81	1,91±0,10
2	Brzoza brodawkowata <i>Birch</i>	125,72±0,65	5,35±0,02	319,77±1,92	3,27±0,07
3	Dąb szypułkowy <i>English oak</i>	37,67±3,35	2,82±0,24	39,77±0,21	1,89±0,11
4	Kasztanowiec zwyczajny <i>Horse chestnut</i>	32,95±0,44	3,76±0,16	36,01±1,17	5,72±0,20
5	Klon jawor <i>Sycamore maple</i>	26,63±0,01	2,55±0,08	30,72±0,13	2,41±0,01
6	Lipa drobnolistna <i>Linden</i>	39,32±0,63	8,60±0,22	31,53±0,40	3,33±0,01
7	Topola osika <i>Aspen</i>	128,32±1,09	2,17±0,05	114,24±0,16	2,27±0,05
8	Wierzba płacząca <i>Weeping willow</i>	309,91±0,44	2,03±0,14	134,36±0,17	2,25±0,02
9	Śred. Arytm. n=8	90,90	3,72	92,57	2,88
10	V%	101,0	56,6	101,6	41,3
11	Śred. Arytm. n=n-poz.8	59,70	3,96	86,60	2,97
12	V%	71,7	54,2	114,5	41,9

±SE (błąd standardowy z 2 powtórzeń) / ± SE (standard error of 2 reps)

Kadm (tab. 2) akumulował się głównie w liściach wierzby z Parku Krakowskiego, a jego zawartość wynosiła 2,21 mg·kg⁻¹ a.s.m., natomiast najmniejszą zawartość tego pierwiastka oznaczono w liściach dębu – 0,13 mg Cd·kg⁻¹ a.s.m. Oznacza to, że w liściach wierzby było prawie 17 razy więcej kadmu niż w liściach dębu. Liście badanych gatunków drzew parku w Krakowie-Bieżanowie zawierały na ogół więcej kadmu w porównaniu z liśćmi drzew Parku Krakowskiego, przy czym największą zawartość tego pierwiastka miały liście topoli - 1,96 mg Cd·kg⁻¹ a.s.m., a najmniejszą lipy drobnolistnej - 0,20 mg Cd·kg⁻¹ a.s.m.

Tabela 2 – Table 2

Zawartość kadmu i niklu w liściach wybranych gatunków drzew krakowskich parków
Contents of cadmium and nickel in leaves of selected trees species in Cracow parks

L.p.	Gatunki drzew <i>Tree species</i>	Park Krakowski		Park Kraków-Bieżanów	
		Cd	Ni	Cd	Ni
		mg·kg ⁻¹ a.s.m.			
1	Robinia akacjowa <i>Black locust</i>	0,22±0,04	1,10±0,04	0,21±0,10	1,75±0,02
2	Brzoza brodawkowata <i>Birch</i>	0,31±< 0,01	1,81±0,07	0,65±0,03	2,86±0,02
3	Dąb szypułkowy <i>English oak</i>	0,13±0,03	2,18±0,18	0,23±0,02	2,91±<0,01
4	Kasztanowiec zwyczajny <i>Horse chestnut</i>	0,15±< 0,01	1,48±0,09	0,21±0,01	3,30±0,06
5	Klon jawor <i>Sycamore maple</i>	0,19±0,02	1,20±0,13	0,50±0,02	1,32±<0,01
6	Lipa drobnolistna <i>Linden</i>	0,21±<0,01	2,57±0,03	0,20±0	2,19±0,03
7	Topola osika <i>Aspen</i>	0,38±<0,01	1,10±0,03	1,96±0,05	1,41±<0,01
8	Wierzba płacząca <i>Weeping willow</i>	2,21±0,08	1,67±0	1,32±0,04	3,89±<0,01
9	Śred. Arytm. n=8	0,47	1,63	0,66	2,45
10	V%	139,0	30,4	92,1	35,5
11	Śred. Arytm. n=n-poz.8	0,23	1,63	0,57	2,25
12	V%	36,2	32,6	104,7	32,5

±SE (błąd standardowy z 2 powtórzeń) / ± SE (standard error of 2 reps)

W liściach z Parku Krakowskiego największą zawartość niklu wykazywały liście lipy – 2,57 mg·kg⁻¹ a.s.m., a najmniejszą topoli i robinii akacjowej - 1,10 mg Ni·kg⁻¹ a.s.m. W liściach pochodzących z Bieżanowa największą zawartość niklu stwierdzono w liściach wierzby - 3,88 mg Ni·kg⁻¹ a.s.m., a najmniejszą w liściach topoli osiki – 1,41 mg Ni·kg⁻¹ a.s.m.

Nikiel jest łatwo przyswajany przez rośliny, gdy występuje w formach mobilnych. W roślinach jest on bardzo ruchliwy i łatwo przemieszcza się do części nadziemnych. Nadmiar tego metalu powoduje chlorozę liści młodszych, która jest spowodowana wyłączeniem żelaza z funkcji fizjologicznych [14].

Na podstawie wartości przedstawionych w tabelach 1 i 2 stwierdzono, że średnia zawartość cynku we wszystkich badanych gatunkach w obu lokalizacjach wynosiła 91,77 mg·kg⁻¹ a.s.m. przy bardzo dużej zmienności (V=101%) spowodowanej odbiegającą od innych zawartością w wierzbie płaczącej. Odpowiednio średnia zawartość ołowiu wynosiła

3,3 mg·kg⁻¹ a.s.m. (V=53%), kadmu – 0,57 mg·kg⁻¹ a.s.m. (V=113%) i niklu – 2,04 mg·kg⁻¹ a.s.m. (V=54%). Z przeprowadzonej analizy wynika, że w przypadku zawartości badanych metali ciężkich lokalizacja nie miała istotnego znaczenia, poza szczególnymi przypadkami. Zmienność zawartości metali ciężkich w liściach była jednak duża i biorąc pod uwagę ewentualne przetwarzanie na drodze recyklingu organicznego i jakość produktu, należy brać pod uwagę strukturę drzewostanu z obszaru, z którego pozyskuje się surowiec.

IV. WNIOSKI

1. Liście badanych gatunków drzew charakteryzowały się dużą zawartością materii organicznej, która wynosiła od 90,67% do 93,84% s.m., co wskazuje na ich przydatność w procesie kompostowania.
2. Podwyższone zawartości metali ciężkich oznaczono w liściach brzozy brodawkowatej (Zn, Pb), wierzby płaczącej (Zn, Cd, Ni), lipy drobnolistnej (Pb) i kasztanowca zwyczajnego (Pb).
3. Najmniejsze zawartości metali ciężkich stwierdzono w liściach robinii akacjowej, klonu jaworu oraz dębu szypułkowego bez względu na lokalizację parku.
4. Oznaczone zawartości metali ciężkich nie wykluczają wykorzystania biomasy liści jako surowca do produkcji kompostu.

V. LITERATURA

1. Antonkiewicz J., Macuda J.: Zawartość metali ciężkich i węglowodorów w gruntach przylegających do wybranych stacji paliw w Krakowie. Acta Sci. Pol., Formatio Circumiestus. 4 (2). s. 31-36. 2005.
2. Bach A., Frazik-Adamczyk M.: Charakterystyka zagrożeń zieleni miejskiej ze szczególnym uwzględnieniem zieleni w ciągach komunikacyjnych. Katedra Roślin Ozdobnych. Akademia Rolnicza w Krakowie. s. 6-8. 2006.
3. Baran A., Spałek I., Jasiewicz C.: Zawartość metali ciężkich w roślinach i gruntach przylegających do wybranych stacji paliw w Krakowie. Krakowska Konferencja Młodych Uczonych. s. 265-272. 2007.
4. Curzydło J.: Skażenie motoryzacyjne wzdłuż dróg i autostrad oraz sposoby przeciwdziałania ujemnym skutkom motoryzacji w środowisku. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. 418. s. 265-270. 1995.
5. Denny H.J., Wilkins D.A.: Zinc tolerance in *Betula* spp. New Phytol. 106. s. 517-524. 1987.
6. Dmuchański W.: Use of plant bioindicators in assessment of environmental contamination with heavy metals. Reports of The Botanical Garden of The Polish Academy of Sciences, Series: Monographs and treatises. 7. s. 1-116. 2005.
7. Dmuchański W.: Hiperakumulacja cynku w liściach brzozy brodawkowatej (*Betula pendula* Roth). Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych. 31. s. 209-214. 2007.
8. Franiel I.: Przydatność siewek brzozy brodawkowatej (*Betula pendula* Roth) do rekultywacji terenów zdegradowanych. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. 477. s. 203-208. 2001.
9. Franiel I.: Wstępne badania nad jakością pyłku, nasion i przeżywalnością siewek brzozy brodawkowatej (*Betula pendula* Roth) pochodzących z drzew rosnących na zwałowiskach pocynkowych. Archiwum Ochrony Środowiska. 29/2. s. 5-11. 2003.
10. Hanus-Fajerska E., Ciarkowska K., Gajewski Z., Doroz M.: Zawartość kadmu, ołowiu i cynku oraz anatomia liści brzozy zastosowanej do obudowy odpadów z flotacyjnego

11. Hrdlicka P., Kula E., Ząbecka J.: Zawartość wybranych pierwiastków w liściach brzozy (*Betula verrucosa* Ehrh.) rosnącej na terenie znajdujących się pod wpływem emisji przemysłowej w okolicach Olkusza. Sylwan CXIV/1. s. 101-110. 2001.
12. Indeka L., Karczun Z.: Kumulacja wybranych metali ciężkich w glebach przy ruchliwych trasach komunikacyjnych. Ekol. i Techn. 6. s. 174-180. 1999.
13. Jasiewicz Cz., Buczek J.: Zawartość metali ciężkich w glebie i pszenicy narażonej na wpływ zanieczyszczeń komunikacyjnych. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. 472. s. 341-347. 2000.
14. Kabata-Pendias A., Pendias H.: Biogeochemia pierwiastków śladowych. Wydawnictwo Naukowe PWN. ss. 400. 1999.
15. Kalembasa D.: Ilość i skład chemiczny popiołu z biomasy roślin energetycznych. Acta Agrophysica. 7(4). s. 909-914. 2006.
16. Kaszubkiewicz J., Kowałko D.: Zawartość wybranych metali ciężkich w glebach i roślinach na terenie powiatu jeleniogórskiego. Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych. 40. s. 177-178. 2009.
17. Krawczyk J., Letachowicz B., Klink A., Krawczyk A.: Wykorzystanie wybranych gatunków roślin i porostów do oceny zanieczyszczenia środowiska metalami ciężkimi. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. 501. s. 227-234. 2004.
18. Krzaklewski W.: Skażenie środowiska leśnego metalami ciężkimi w rejonie Olkusza. III Krajowe Sympozjum „Reakcje biologiczne drzew na zanieczyszczenie przemysłowe”. Kórnik. s. 101-105. 1994.
19. Rosłon-Szeryńska E., Sikorski P.: Wybrane problemy zarządzania drzewostanem w parkach miejskich. Cz. I. Ochrona różnorodności biologicznej zadrzewień a ich pielęgnacja. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. 562. s. 197-205. 2011.

CONTENTS OF HEAVY METALS IN LEAVES OF SELECTED TREE SPECIES IN CRACOW PARKS

Summary

The aim of this study was to evaluate content of heavy metals: zinc, lead, cadmium and nickel in the leaves of various trees species. Object of study were trees leaves growing in two selected parks in Cracow: Cracow Park and Park in Kraków-Bieżanów. The leaves of all tree species have significant organic matter content and high heavy metal content in biomass leaves which do not exclude use of it as a raw material in the composting process.

Keywords: heavy metals, compost, urban green

AGNIESZKA PODOLAK-MACHOWSKA, JOANNA KOSTECKA

Katedra Biologicznych Podstaw Rolnictwa i Edukacji Środowiskowej
Wydział Biologiczno-Rolniczy, Uniwersytet Rzeszowski,
e-mail: mojaap@poczta.fm, jkosteck@univ.rzeszow.pl

HODOWLA ROZWIELITEK (*DAPHNIA SP.*) W LABORATORIUM

Rozwielitki (*Daphnia sp.*) są to słodkowodne stawonogi zaliczane do podrzędu wioślarek (*Cladocera*). Ze względu na małe rozmiary ciała, dużą płodność, krótki cykl życiowy i niewielkie wymagania życiowe są dobrym materiałem do hodowli oraz obserwacji. Pełniąc rolę organizmów biotestowych są powszechnie stosowane w badaniach ekotoksykologicznych. Rozwielitki mogą też być ciekawym obiektem badań prowadzonych np. przez uczniów biorących udział w Olimpiadzie Biologicznej.

Słowa kluczowe: rozwielitki, *Daphnia sp.*, ekotoksykologia, hodowla

I. WSTĘP

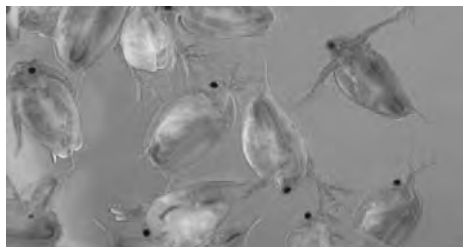
Rozwielitki (*Daphnia*) to niewielkie zwierzęta wodne osiągające 0,5-10 mm długości. Należą do typu stawonogów (Arthropoda), podtypu skorupiaków (Crustacea), gromady skrzelonogów (Branchiopoda) oraz rzędu wioślarek (*Cladocera*) [9,10].

Wioślarki występują na całej kuli ziemskiej zamieszkując głównie wody słodkie, rzadziej słone. Są to organizmy o bocznie spłaszczonym ciele, pokrytym karapaksem i zaopatrzone w dwie pary czułków. Pierwsza para czułków stanowi organ czuciowy, natomiast druga para jest lepiej rozwinięta i wykorzystywana jako narząd ruchu. Pozostałe odnóża pełnią funkcje oddechowe, mogą też służyć do zdobywania pokarmu (Ryc. 1 i 2). W przedniej części ciała znajduje się oko złożone, zawierające od 20 do 300 soczewek [9,28].



Źródło/ Source:
<http://home.cogeco.ca/~parksidescienceq/SBI%203U/Scientific%20methods.htm>

Ryc.1. *Daphnia magna* – pojedynczy osobnik
Fig. 1. *Daphnia magna* – a single individual



Źródło/ Source:
<http://fineartamerica.com/featured/1water-flea-daphnia-magna-ted-kinsman.html>

Ryc. 2. Populacja rozwielitek *Daphnia sp.*
Fig. 2. Population of *Daphnia sp.*

Wioślarki odgrywają zasadniczą rolę w ekosystemach wodnych ze względu na swoje kluczowe miejsce w łańcuchu pokarmowym. Są pokarmem dla wielu gatunków ryb planktonożernych, bardzo ważna jest też ich rola w oczyszczaniu wody – przerabiają duże ilości unoszącej się w wodzie zawiesiny w pokarm bardziej dostępny dla innych organizmów. Suszone dafnie mogą być natomiast pokarmem dla ryb akwariowych [24,26]. Do najczęściej spotykanych gatunków można zaliczyć rozwielitkę długokolcą (*Daphnia longispina*) o długości do 2,5 mm oraz rozwielitkę pchlicę (*Daphnia pulex*) osiągającą długość do 4 mm [9].

Rozwielitki podobnie jak i inne zwierzęta wodne, są stale narażone na toksyczne oddziaływanie substancji chemicznych, między innymi pestycydów i ścieków przemysłowych [3,8]. Ze względu na dużą wrażliwość na zanieczyszczenia, są uznane za organizmy testowe, często wykorzystywane w badaniach czystości wody. W badaniach ekotoksykologicznych najczęściej używanym gatunkiem jest *Daphnia magna* (rozwielitka wielka) osiągająca rozmiary od 2 do 6 mm (Ryc. 1) [2,3,15,24].

Zgodnie z regulaminem Olimpiady Biologicznej, jednym z zadań ucznia biorącego w niej udział jest zaprojektowanie i przeprowadzenie badań a następnie ich zaprezentowanie w formie posteru. Wybierając tematykę badawczą uczeń musi najpierw zapoznać się z zasadami przygotowywania pracy olimpijskiej oraz przestrzegać zawartych w Regulaminie Olimpiady Biologicznej ograniczeń (dotyczą one np. wykorzystywania substancji niebezpiecznych lub zagrażających środowisku) [18]. Pomocy w poszukiwaniu modelu badawczego mogą dostarczyć informacje zawarte np. w kolejnych Zeszytach Naukowych Południowo-Wschodniego Oddziału Polskiego Towarzystwa Inżynierii Ekologicznej i Polskiego Towarzystwa Gleboznawczego, Oddziały w Rzeszowie. Opisano w nich przykładowe doświadczenia i wskazówki na temat możliwości wykorzystania w badaniach różnych zwierząt; np. glonów [16], straszaków [17], bezkręgowców wodnych [14], dżdżownic [4,11,12] czy ryb [25].

Celem obecnego artykułu jest opisanie rozwielitek (*Daphnia*), ich hodowli oraz przedstawienie prostych doświadczeń które mogą być inspiracją dla uczniów zdecydowanych przygotować pracę badawczą w ramach udziału w Olimpiadzie Biologicznej.

II. WYBRANE PRZYKŁADY BADAŃ NAD ROZWIELITKAMI

Obecnie prowadzone są liczne eksperymenty określające toksyczność różnych związków chemicznych i ich wpływ na przeżywalność i funkcjonowanie populacji zwierząt wodnych na przykładzie rozwielitek [2,19].

Podczas jednego z doświadczeń analizowano na przykład wpływ powszechnie stosowanych pestycydów na *Daphnia magna*, w połączeniu z interakcją czynników biotycznych takich jak konkurencja z larwami komara (*Culex pipiens*). Wykazano, że powtarzające się działanie toksyczne substancji połączone z konkurencją międzygatunkową może doprowadzić do wielopokoleniowej kumulacji efektów toksycznych. Podwójny stres jakim jest konkurencja międzygatunkowa oraz toksyczny wpływ insektycydu może wyjaśniać długoterminowe skutki środowiskowe [3].

Inne publikacje donoszą o możliwości wykorzystywania populacji rozwielitek w badaniach kształtowania się tolerancji długoterminowych (mikroewolucja) w wyniku ekspozycji na toksyny [15]. Tego typu badania laboratoryjne pozwalają na przewidywanie wpływu toksyn na środowisko naturalne, co jest obecnie ważnym zagadnieniem analizowanym przy ocenie ryzyka i konsekwencji stosowania substancji chemicznych.

Należy jednak pamiętać, że gatunki *Daphnia* występujące w środowisku naturalnym cechują się dużym zróżnicowaniem genetycznym, co może mieć wpływ na nieco inną wrażliwość na substancje chemiczne [15].

Rozwielitki są wartościowym obiektem badawczym także ze względu na swoją interesującą biologię. Ciekawym, godnym obserwacji, zjawiskiem jest ich cyklomorfoza, czyli zmiany wielkości i kształtu całego osobnika lub jego części, powtarzające się cyklicznie w ciągu roku. Jest to sezonowa zmienność przystosowawcza zależna od zmian temperatury i związanych z tym zmian w gęstości wody. Zjawisko to jest wyraźnie obserwowane np. u *Daphnia longispina*, gatunku żyjącego w zbiornikach strefy umiarkowanej. Od wiosny, wraz ze wzrostem temperatury, pojawia się pokolenie o coraz większych wyrostkach karapaksu, natomiast wraz ze spadkiem temperatury proces powoli się odwraca dając możliwość obserwacji tych zmian [9,24].

III. WARUNKI HODOWLI

Prowadzenie hodowli rozwielitek umożliwia stałe ich wykorzystywanie np. podczas lekcji biologii oraz może być przydatne dla pracy badawczej uczniów startujących w Olimpiadzie Biologicznej. Wioślarki są łatwe w hodowli między innymi ze względu na niewielkie wymagania życiowe. Rozwój tych zwierząt jest prosty, bez stadiów larwalnych, a jednorazowo samica może mieć od 2 do 100 jaj, w wyniku czego w sprzyjających warunkach termicznych i pokarmowych jeden osobnik może w ciągu życia wytworzyć nawet kilkaset młodych. Dodatkowym atutem przemawiającym za hodowlą wioślarek jest ich krótki czas rozwoju, który w temperaturze pokojowej (około 20°C) trwa zwykle pięć dni. Długość ich życia jest również ściśle skorelowana z temperaturą i dostępnością pokarmu (np. długość życia *Daphnia magna* wynosi 108, 88, 42 i 26 dni w temperaturze odpowiednio 8, 10, 18 i 28°C) [24].

Prowadzenie hodowli rozwielitek nie jest skomplikowane. W celu założenia takiej hodowli należy zaopatrzyć się w niewielkie akwarium lub szklany słoik (około 5 dm³) (Ryc. 3), który należy wypełnić odstaną wodą o temperaturze pokojowej a następnie umieścić wewnątrz niewielki fragment rozmrożonego fileta rybnego. Tak przygotowane siedlisko zaleca się przykryć, a następnie umieścić w temperaturze około 20°C w nasłonecznionym miejscu. Po kilku dniach w akwarium pojawią się zielone glony. Gdy będą już wystarczająco liczne, można do nich wpuścić złowione w czystym stawie rozwielitki (około 1-2 łyżeczek od herbaty) (Ryc. 3). Rozwielitki użyte do założenia hodowli laboratoryjnej możemy pozyskać ze zbiornika wodnego przy użyciu siatki planktonowej lub specjalnych czerpaków. Wioślarki w większości odżywiają się przez filtrowanie wody, dlatego jako pokarm można dla nich zastosować rozdrobnioną mieszaninę zielenicy (*Chlorella sp.*) z drożdżami lub karmić je samymi drożdżami. Przy dodawaniu do wody pokarmu należy kontrolować jego ilość i sprawdzić czy został całkowicie zjedzony, po około 2 godzinach. W przeciwnym razie można doprowadzić do zmętnienia i zabrudzenia wody, co utrudni obserwację. W dobrych warunkach rozwielitki będą się namnażały szybko, wobec czego mogą być stale wykorzystywane do rozlicznych doświadczeń [1,24].



Źródło / Source: [http://www.lfu.bayern.de/analytik_stoffe/biol_analytik_toxizitaetstests/akute_sch_adwirkungen/pic/159522_gr.jpg]



Źródło / Source: <http://www.fawa.pl/viewtopic.php?f=35&t=20837>

Ryc. 3. Hodowla *D. magna*

Fig. 3. *D. magna* culture

IV. ZASTOSOWANIE W BIOMONITORINGU

Obecnie, gdy zanieczyszczenie środowiska wodnego stale rośnie, niesie to ze sobą szereg niekorzystnych skutków dla ekosystemów wodnych. Ma też istotne znaczenie dla funkcjonowania organizmów żywych, w tym człowieka.

Monitoring wód pełni funkcję ostrzegawczą i obejmuje jakościową i ilościową kontrolę aktualnego ich stanu. Regularnie prowadzony monitoring tego środowiska pozwala na dostrzeganie tendencji do zmian jakości. W Polsce monitoring wód to podsystem Państwowego Monitoringu Środowiska (PMS), który zgodnie z ustawą o Państwowej Inspekcji Ochrony Środowiska, stanowi sieć zdobywania, przetwarzania oraz upubliczniania informacji o stanie środowiska [7].

Unowocześniając metody działania, poszukuje się nowych narzędzi do oceny stopnia zanieczyszczenia środowiska. Odpowiednią rolę zaczynają tu odgrywać biotesty [2]. Biomonitoring oraz badanie szkodliwego wpływu substancji chemicznych prowadzi się można z użyciem wielu zwierząt wodnych między innymi wykorzystując ryby czy właśnie rozwielitki [27]. Do badania zanieczyszczenia wód słodkich zaleca się np. 21-dniowy test z *Daphnia sp.* lub 7-dniowy test z *Ceriodaphnia sp.* na przeżycie i rozrodczość. Można też stosować 24- i 48- godzinne testy toksyczności ostrej z wykorzystaniem rozwielitek *Daphnia sp.* [26]. Wybór zwierząt do tego rodzaju eksperymentów podyktowany jest doбором na podstawie kryterium 5P. W związku z nim, dobrymi bio wskaźnikami są organizmy powszechne, pospolite, przeżywające, podatne na badaną substancję i umożliwiające uzyskanie powtarzalnych wyników [5].

Analizując toksyczność danej substancji chemicznej stosuje się metodę polegającą na określaniu toksyczności ostrej np. dla rozwielitek – *Daphnia sp.*. Głównym celem tej metody jest określenie medialnego stężenia efektywnego danej substancji, powodującego unieruchomienie rozwielitek (EC_{50} – *effect concentration*) w świeżej wodzie (efekt inny niż śmierć organizmu). Toksyczność ostra w tym przypadku to medialne stężenie efektywne powodujące unieruchomienie 50% badanej grupy rozwielitek w określonym czasie ekspozycji [20]. Przy testowaniu toksycznego wpływu danej substancji chemicznej wyznacza się też LC_{50} . Stężenie letalne (LC – *lethal concentration*; LD – *lethal doses*) jest to stężenie toksycznego związku chemicznego, które w odniesieniu do czasu ekspozycji wywołuje śmierć określonej liczby organizmów w populacji. Wyrażone jest w procentach [6].

V. SUGESTIE DLA OLIMPIJCZYKÓW

Obserwacje i eksperymenty biologiczne są doskonałymi metodami umożliwiającymi poznawanie otaczającego świata. Ich stosowanie wymaga od młodzieży pomysłowości oraz samodzielności i prowadzi do pogłębiania wiedzy oraz doskonalenia wielokierunkowych umiejętności [23]. Eksperyment biologiczny jest jedną z metod pozwalających uczniom na rozwinięcie zainteresowań przyrodniczych. Przeprowadzając go należy jednak pamiętać, że składa się z kilku etapów i ważne jest jego dokładne zaplanowanie [22].

Podstawowym zadaniem ucznia może stać się np. zbadanie wpływu różnych substancji chemicznych na wybrane reakcje fizjologiczne *Daphnia magna* [13,20,26,27]. Istotne jest aby przed rozpoczęciem doświadczenia zebrać dokładne informacje na temat badanej substancji (między innymi jej rozpuszczalności, trwałości, stałej dysocjacji i podatności na biodegradację), ponieważ pozyskane dane pomogą zapewnić jej odpowiednie i stałe stężenie przez cały czas trwania doświadczenia. Planując badania z udziałem organizmów wodnych warto przeprowadzić doświadczenia pilotażowe pozwalające na wstępne określenie wpływu analizowanej substancji chemicznej na rozwielitki. Doświadczenie pilotażowe angażuje kilka osobników danego gatunku oraz szeroki zakres kolejnych rozcieńczeń testowanej substancji (w postępie geometrycznym lub arytmetycznym). Na jego podstawie można następnie znacznie trafniej zaplanować właściwy test, w którym wykorzystuje się większą liczbę organizmów, w węższym zakresie stężeń badanej substancji. Stężenia badanej substancji można określać w jednostce masy na jednostkę objętości (mg/dm^3) lub jako jednostkę masy na jednostkę masy (mg/kg) [20,27]. Według danych standaryzujących badania [13,20], do wykonania właściwych badań należy użyć przynajmniej 20 osobników na każde stężenie stosowanej substancji chemicznej (co podzielone na 4 grupy po 5 osobników lub 2 grupy po 10 zwierząt każda znaczy, że na każde zwierzę powinno przypadać po 2 cm^3 roztworu testowego). Zaleca się, aby testowane stężenia roztworów substancji chemicznej były przygotowywane bezpośrednio przed wprowadzeniem do nich rozwielitek, a zastosowane stężenia mieściły się w zakresie 0% i 100% unieruchomionych zwierząt po 48h. Podczas doświadczenia obserwuje się i notuje liczbę zwierząt unieruchomionych, co stwierdza się na podstawie obserwacji grupy doświadczalnej, w której unieruchomione zwierzęta to te, które nie wykazują zdolności do pływania w ciągu 15 sekund po delikatnym wstrząśnięciu naczyniem doświadczalnym. W ten sposób otrzymujemy dane do obliczenia EC_{50} (stężenie danej substancji powodujące unieruchomienie 50% badanej populacji). Całe doświadczenie powinno trwać 48h, a obserwacje można prowadzić po upływie 24h oraz na końcu doświadczenia – po upływie 48h. Podczas całego czasu trwania obserwacji, należy stworzyć stałe warunki temperaturowe ($18\text{-}22^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$) w cyklu dobowym (światło / ciemność). Nie ma natomiast potrzeby stosowania karmienia zwierząt podczas całego czasu trwania eksperymentu [20].

Inną propozycją doświadczenia z użyciem rozwielitek jest test rozrodu dla *Daphnia magna* w porównaniu z grupą kontrolną [26]. Celem tego doświadczenia jest ocena wpływu substancji chemicznych na wydajność rozrodczą rozwielitek. Do testu potrzebnych jest sześćdziesiąt dojrzałych osobników *D. magna*, jednak nie starszych niż 24h. Każdego osobnika umieszcza się pojedynczo w pojemniku zawierającym około 60-80 ml roztworu testowanej substancji, w dziesięciu powtórzeniach. Całą procedurę powtarza się w odniesieniu do pięciu stężeń tej samej substancji chemicznej, trzeba też pamiętać o prawidłowej kontroli w każdym teście. Czas jego trwania wynosi 21 dni podczas których powinno dojść do pięciu wylęgów. Pod koniec doświadczenia dokonuje się sprawdzenia ile osobników przeżyło i ile młodych znajduje się w pojemnikach badawczych. Na tej podstawie oblicza się całkowitą liczbę żywych młodych przypadających na osobnika

rodzicielskiego. Wydajność reprodukcji zwierząt narażonych na toksyczne działanie danej substancji chemicznej należy następnie porównać z grupą kontrolną, w celu określenia najniższego stężenia efektywnego oraz stężenia bez obserwowanego efektu [21,27].

Prawidłowa ocena uzyskanych wyników zależy od precezyjności postępowania podczas prowadzenia eksperymentu, w związku z tym należy gromadzić dokładną dokumentację jego przebiegu i notować wszystkie zmiany związane np. ze zmętnieniem, zmianą barwy czy wytrąceniem się substancji. Do przygotowania roztworów powinno używać się wody destylowanej, aby wykluczyć wpływ np. chloru a roztwory substancji zawsze przygotowywać „na świeżo”. Podkreślmy jeszcze raz, przy planowaniu doświadczeń należy także koniecznie pamiętać o odpowiedniej liczbie powtórzeń układu doświadczalnego.

Omawiając wyniki badań, ich słowny opis należy wzbogacić tabelą lub wykresem.

VI. PODSUMOWANIE

Przedstawione w niniejszym artykule informacje dotyczące wymagań życiowych i prowadzenia hodowli rozwielitek mogą być przydatne dla uczniów wykonujących pracę badawczą w związku z udziałem w Olimpiadzie Biologicznej. Te proste stawonogi wodne posiadają wiele cech, dzięki którym należą do grupy przydatnych organizmów laboratoryjnych. Cechami tymi są małe rozmiary ciała, duża płodność, partenogenetyczne rozmnażanie, krótki cykl życiowy, niewielkie wymagania i w związku z tym względna łatwość hodowli. Prawidłowo poprowadzona pozwoli rozmnożyć osobniki, a następnie wykorzystać je w eksperymentach, które mogą pomóc w budowaniu świadomości ekologicznej oraz rozwijaniu zainteresowań przyrodniczych.

VII. PIŚMIENNICTWO

1. Anonim: Hodowla rozwielitki [dokument elektroniczny: <http://aquarium.republika.pl/hodowlarozwielitki.htm>; data wejścia: 11.02.2014].
2. Billoir E., Pery A. R. R., Charles S.: Integrating the lethal and sublethal effects of toxic compounds into the population dynamics of *Daphnia magna*: A combination of the DEBtox and matrix population models. *Ecological Modelling*. 203. s. 204-214. 2007.
3. Dolciotti I., Foit K., Herkelrath A., Liess M.: Competition impedes the recovery of *Daphnia magna* from repeated insecticide pulses. *Aquatic toxicology*. 147. s. 26-31. 2014.
4. Garczyńska M., Kostecka J., Mazur A.: Wybrane aspekty toksykologii dżdżownic w kontekście zrównoważonego rozwoju. *Zesz. Nauk. PTiE i PTG Oddz. w Rzeszowie*. 11. s. 61-66. 2009.
5. Garczyńska M., Kostecka J.: Wpływ wybranych stężeń chlorku sodu na przeżywalność dżdżownicy *Eisenia fetida* (Sav.) w teście bibułowym. *Zesz. Nauk. PTiE i PTG Oddz. w Rzeszowie*. 14. s. 19-22. 2011.
6. Hłuszyk H., Stankiewicz A.: Słownik szkolny – Ekologia. Wydawnictwa Szkolne i Pedagogiczne WSiP. Warszawa. s. 32. 1996.
7. Jagodzińska M.: Cel i zasady monitorowania wód. *Edukacja biologiczna i środowiskowa – Kwartalnik dla nauczycieli*. 17. s. 16-28. 2006.
8. Jansen M., Coors A., Stoks R., De Meester L.: Evolutionary ecotoxicology of pesticide resistance: a case study in *Daphnia*. *Ecotoxicology*. 20. s. 543-551. 2011.

9. Jura Cz.: Bezkręgowce. Podstawy morfologii funkcjonalnej, systematyki i filogenezy. Wydawnictwo Naukowe PWN. Warszawa. s. 434-442. 2002.
10. Jurasz W.: Gromada: Skrzelonogi – Branchiopoda. [w:] Błaszak Cz. (red.): Zoologia, Stawonogi, Szczękoczułkopodobne, Skorupiaki. Wydawnictwo Naukowe PWN. Warszawa. Tom 2, część 1. s. 264-268. 2011.
11. Kostecka J., Mazur A., Górecki W.: Wermikompostowanie odpadów z celulozy z udziałem dżdżownic *Eisenia fetida* (Sav.) i *Dendrobaena veneta* (Rosa). Zesz. Nauk. PTIE i PTG Oddz. w Rzeszowie. 12. s. 35-40. 2010.
12. Lowe Ch. N., Butt K. R.: A review of laboratory techniques used in the cultivation of soil dwelling earthworms. Zesz. Nauk. PTIE i PTG Oddz. w Rzeszowie. 7. s. 53-61. 2006.
13. Łebkowska M., Załęska-Radziwiłł M., Słomczyńska B.: Toksykologia środowiska. Ćwiczenia laboratoryjne. Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej. Warszawa. ss. 71. 2004.
14. Mazur A., Kostecka J.: Bezkręgowce wodne jako materiał w pracach olimpijczyków. Zesz. Nauk. PTIE i PTG Oddz. w Rzeszowie. 14. s. 45-50. 2011.
15. Messiaen M., Janssen C. R., De Meester L., De Schampelaere K. A. C.: The initial tolerance to sub-lethal Cd exposure is the same among tentative pond populations of *Daphnia magna*, but their micro-evolutionary potential to develop resistance is very different. Aquatic Toxicology. 144-145. s. 322-331. 2013.
16. Noga T.: Różnorodność sinic i glonów słodkowodnych Polski. Wskazówki dla uczestników Olimpiady Biologicznej. Zesz. Nauk. PTIE i PTG Oddz. w Rzeszowie. 7. s. 69-80. 2006.
17. Podolak-Machowska A., Kostecka J.: Straszyki (Phasmda) jako obiekt obserwacji biologicznych. Zesz. Nauk. PTIE i PTG Oddz. w Rzeszowie. 15. s. 75-80. 2011.
18. Regulamin Olimpiady Biologicznej: [dokument elektroniczny: http://www.olimpiol.uw.edu.pl/?id_dz=334; data wejścia: 27.01.2014].
19. Rodgher S., Espindola E. L. G., Lombardi A. T.: Suitability of *Daphnia similis* as an alternative organism in ecotoxicological tests: implications for metal toxicity. Ecotoxicology. 19. s. 1027-1033. 2010.
20. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 21 listopada 2005 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie metod przeprowadzania badań właściwości fizykochemicznych, toksyczności i ekotoksyczności substancji i preparatów chemicznych. Część C. Metody przeprowadzania badań ekotoksyczności. C.2. Toksyczność ostra (dla rozwielitek – *Daphnia sp.*), Dziennik Ustaw nr 232 [dokument elektroniczny: <http://www.nettax.pl/serwis/imgpub/du/2003/232/2343/zal64.pdf>; data wejścia: 22.01.2014].
21. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 21 listopada 2005 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie metod przeprowadzania badań właściwości fizykochemicznych, toksyczności i ekotoksyczności substancji i preparatów chemicznych. Część C. Metody przeprowadzania badań ekotoksyczności. C. 20. Rozmnażanie rozwielitki (*Daphnia magna sp.*), Dziennik Ustaw nr 232 [dokument elektroniczny: http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:xEOGj0I56ZQJ:www.bip.minrol.gov.pl/filerepozytory/filerepozytoryshowimage.aspx%3Fitem_id%3D6680+%&cd=1&hl=pl&ct=clnk&gl=pl, s. 4-6; data wejścia 22.01.2014].
22. Rybska E., Cieszyńska A., Dudziak R.: Z eksperymentem za pan brat. Biologia w szkole. Czasopismo dla nauczycieli. 6. s. 19-21. 2012.

23. Sawiński J.P.: Uczenie się biologii metodą uczniowskiego eksperymentu. *Biologia w szkole*. 6. s. 38-43. 2010.
24. Stańczykowska A.: Zwierzęta bezkręgowce naszych wód. Wydawnictwa Szkolne i Pedagogiczne WSiP. Warszawa. s. 104-111. 1986.
25. Szwałkowski P., Graclik A., Kasprzak K.: Behavior *Garbaczka hełmiastego Steatocranus casuarius Poll, 1939* w zasiedlonym akwarium. *Zesz. Nauk. PTiE i PTG Oddz. w Rzeszowie*. 16. s. 81-86. 2013.
26. Traczewska T. M.: Biologiczne metody oceny skażenia środowiska. Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej. Wrocław. ss. 210.
27. Walker C. H., Hopkin S. P., Sibly R. M., Peakall D. B.: Podstawy ekotoksykologii. Miguła P. (red.). Wydawnictwo Naukowe PWN. Warszawa. s. 135-149. 2002.
28. Zagrobelna-Kłoda K.: Przewodnik do badań terenowych wód płynących. Publiczne Gimnazjum nr 3 im. Ks. Jana Twardowskiego w Jarosławiu, miasto Jaworów w ramach programu Interreg III A TACIS 2004-2006. Jarosław. s. 8. 2007.

BREEDING OF DAPHNIA (*DAPHNIA SP.*) IN THE LABORATORY

Summary

Daphnia (Daphnia sp.) are freshwater arthropods included in the suborder Cladocera. Because of the small body size, high fertility, short life cycle and low life requirements are good material for breeding and observation. In their role as biotest organisms, they are commonly used in ecotoxicology studies. Daphnia can be an interesting object of conducted experiments by students participating in the Biology Olimpiad.

Key words: *water fleas, Daphnia sp., ecotoxicology, breeding*

PIOTR SKUBAŁA

Katedra Ekologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Śląski,
e-mail: piotr.skubala@us.edu.pl

NOWY ENWIRONMENTALIZM – REWOLUCJA W SPOSOBIE MYŚLENIA NA TEMAT OCHRONY PRZYRODY

W polityce ochrony środowiska, elementem, którego w niej brakuje wydaje się być radykalna zmiana w sposobie korzystania z zasobów przyrody. Edward Wilson używa terminu „nowy enwironmentalizm” na określenie rewolucji w sposobie myślenia na temat biologicznej ochrony przyrody. Jej celem jest opracowanie nowych sposobów uzyskiwania dochodu z przyrody, bez jej niszczenia. Szereg badań naukowych dowodzi, że możliwym jest uzyskiwanie większych dochodów z przyrody bez jej niszczenia. Istnieje też recepta na postępujący ubytek gleby uprawnej. Ponadto musimy na nowo nauczyć się korzystania z różnorodności biologicznej w rolnictwie, hodowli czy przemyśle. Wybór gatunków uprawnych czy hodowlanych często nie był najlepszy, najbardziej ekonomiczny.

Słowa kluczowe: nowy enwironmentalizm, różnorodność biologiczna, ochrona środowiska, rolnictwo, hodowla, przemysł

I. ZAGROŻENIA ŚRODOWISKOWE I BRAKUJĄCY ELEMENT W POLITYCE OCHRONY ŚRODOWISKA

Kiedy tworzyły się zręby naszej współczesnej cywilizacji, zaczął rozwijać się przemysł, chyba niewiele osób przewidywało, że przyjdzie nam kiedyś płacić wysoką cenę za jego rozwój. Pierwsze problemy środowiskowe w naszym współczesnym świecie obserwujemy w latach 50-tych XX wieku. Ścieki, dym z kominów zaczęły powodować problemy lokalne, które nie mogły być lekceważone. Z tamtego okresu do podręczników szkolnych przeniknął przykład smogu w Londynie w 1954 roku, który pochłonął cztery tysiące ofiar. Podejmowano pewne środki zaradcze, okazały się jednak nieskuteczne i w latach 60. i 70. doczekaliśmy się problemów ekologicznych w skali regionalnej, takich jak kwaśne deszcze czy eutrofizacja. Podejmowane działania nie rozwiązywały problemów i lata 90. to kolejne zagrożenia, takie jak efekt cieplarniany czy zanik warstwy ozonowej, które przybrały już zasięg globalny.

W odpowiedzi na pojawiające się zagrożenia środowiskowe podejmowano środki zaradcze. Kiedy pojawiły się w latach 50. pierwsze problemy ekologiczne zaczęto budować wyższe kominy, ujścia ścieków były wydłużane, a odpady stałe były często składowane w odludnych miejscach. Za rozwiązanie problemu zanieczyszczeń uznano ich rozcieńczanie. Taka strategia okazała się wysoce nieskuteczna, niestety jest nadal stosowana. Kolejny sposób na problemy środowiskowe jest nazywany rozwiązaniem „na

końcu rury”. Polega on na budowie filtrów, oczyszczalni ścieków, szczelnych wysypisk śmieci. Gdy stało się oczywiste, że odpady w ten sposób nie znikną, w latach 70. obserwujemy nasiloną promocję recyklingu. Materiały odpadowe, jak makulatura, szkło i złom zostały uznane za cenne zasoby. Gdy recykling, odnoszący się jedynie do odpadów stałych, nie przynosił zadowalających efektów, pojawił się pomysł bezodpadowej, zapobiegającej powstawaniu odpadów, czystej produkcji. Okazało się jednak, że przy pomocy bardziej wydajnej środowiskowej technologii, recyklingu i czystszej produkcji nie rozwiążemy wszystkich problemów środowiskowych. Degradacja środowiska nie została w ten sposób wstrzymana, a jedynie przesunięta w czasie i przestrzeni.

Zdaliśmy sobie sprawę, że powierzchowne zmiany nie wystarczą, że są potrzebne głębsze zmiany systemowe. Uznaliśmy, że nie można odkładać rozwiązania tych problemów dla przyszłych pokoleń. Koncepcja zrównoważenia narodziła się z tego właśnie względu. Prawidłowo rozumiany zrównoważony rozwój obejmuje trzy elementy: gospodarczy, społeczny i środowiskowy, które na poziomie politycznym należy rozważać jednakowo. Najważniejszym czynnikiem budowy społeczeństwa zrównoważonego stała się nowa wizja świata i nowe wartości. Główna jej idea to konieczność wzajemnej współpracy człowieka i przyrody. Człowiek przestaje być panem natury, staje się jej częścią, zależną od harmonijnej współpracy z resztą świata żywego. Z wprowadzeniem w życie koncepcji rozwoju zrównoważonego mamy jednak ogromne problemy. W dużej mierze pozostaje ona wciąż koncepcją na papierze. Nadal nie potrafimy zorganizować naszego świata w sposób zrównoważony.

Czegoś nam brakuje w podejściu do skutecznego rozwiązania problemów środowiskowych. Jesteśmy skazani na korzystanie z zasobów środowiskowych, usług oferowanych nam przez ekosystemy. Bez nich nie przetrwamy. To czego nam brakuje to rozsądku, mądrości w korzystaniu z przyrody. Nauczyliśmy się kreować nasze wygodne życie wykorzystując bogactwa naturalne. Robimy to jednak jednocześnie niszcząc je. Musimy nauczyć się na nowo korzystania z bogactw świata żywego w taki sposób, aby nie uszczuplać nadmiernie jednocześnie jego zasobów. Z ogromnego bogactwa życia musimy wybierać najlepsze rozwiązania, które powstały w toku ewolucji. Edward Wilson używa terminu „nowy environmentalizm” na określenie rewolucji w sposobie myślenia na temat biologicznej ochrony przyrody [22]. Jej celem jest opracowanie nowych sposobów uzyskiwania dochodu z przyrody, bez jej niszczenia. Okazuje się, że jest to możliwe. Badania naukowe dowodzą, że bardziej opłaca się zachowanie kapitału przyrodniczego niż jego zniszczenie. Co więcej sposób w jaki korzystaliśmy do tej z różnorodności biologicznej w rolnictwie, hodowli czy przemyśle często nie był najlepszy, najbardziej ekonomiczny.

II. ZACHOWANIE ZASOBÓW PRZYRODY BARDZIEJ OPŁACALNE NIŻ JEJ NISZCZENIE

W literaturze naukowej coraz częściej możemy spotkać opracowania dotyczące nowych sposobów uzyskiwania dochodu z przyrody, bez jej jednoczesnej degradacji. Uzyskaliśmy przekonujące dowody, że korzystając w sposób zrównoważony z przyrody można uzyskać więcej środków finansowych, niż w sposób tradycyjny, wiążący się najczęściej z jej niszczeniem. Charles Peters z Institute of Economic Botany (New York Botanical Garden) wraz ze współautorami postanowili odpowiedzieć na pytanie: Czy dochód z produktów ubocznych jest wystarczająco wysoki, by uzasadnić zachowanie lasu deszczowego bez wycinki drzew? [13]. W Peru, niedaleko miasta Mishana, około 30 km od Iquitos, wybrali

jedno-hektarową działkę. Zidentyfikowali na niej 275 gatunków drzew. Siedemdziesiąt dwa gatunki drzew dostarczyły owoce, warzywa, dziką czekoladę i kaczuk, które można sprzedać na pobliskich peruwiańskich rynkach. Roczny dochód ze sprzedaży tych kilku produktów wyniósł 700 dolarów. Warto zwrócić uwagę, że zysk ten mógłby zostać wielokrotnie powiększony, gdyby wykorzystać walory tysięcy innych gatunków roślin i zwierząt, które występują w dżungli. Tymczasem roczny jednorazowy dochód z wycinki drewna wynosi 1000 dolarów. Z kolei Michael Balick i Robert Mendelsohn, wyliczyli, że wartość zbioru dziko rosnących ziół leczniczych w dwóch fragmentach lasu tropikalnego w Belize wyniosła, odpowiednio 726 dolarów i 3327 dolarów na hektar [3]. Tymczasem wartość plonów z hektara lasu tropikalnego przekształconego w grunty uprawne oszacowano na 228 dolarów w Gwatemali i 339 dolarów w Brazylii [23].

Walory estetyczne niezniszczonej przyrody reprezentują dla wielu obywateli pewną wartością, za które skłonni są sporo zapłacić. Niektóre z krajów zachowały cenne zasoby środowiskowe, co pozwoliło im na rozwój ekoturystyki. Liderem wśród krajów, które postawiły na ekoturystykę jest Kostaryka. To jedno z państw, które dostrzegły, że bardziej opłacalne jest zachowanie zasobów przyrodniczych, niż rozwój w tym rejonie rolnictwa, leśnictwa czy górnictwa. W 2000 roku Kostarykę odwiedziło 1,1 miliona turystów zostawiając ponad 1,1 miliarda dolarów. To drugie co do wielkości źródło dochodów Kostaryki, po produkcji układów scalonych [6]. W Rwandzie ekoturystyka stanowi trzecie co do wielkości źródło dochodu. Jest to możliwe głównie dzięki goryłom górskim. Warto nadmienić, że do ich zachowania w głównej mierze przyczyniła się Dian Fossey, największy znawca goryli górskich, która z determinacją walczyła o ich ochronę, poświęcając życie. Ekoturystyka stała się obecnie najszybciej rozwijającym się sektorem turystyki, z rocznym przyrostem w tej branży 20 do 30% [7].

Nie zawsze jednak, aby rozwinąć turystykę w danym regionie, potrzebujemy zachowania wyjątkowo cennych obszarów przyrodniczych, czy jakiś spektakularnych gatunków. Dobrze ilustruje to sytuacja w miejscowości Rhayader w środkowej Walii. W latach 90. w regionie tym panowała trudna sytuacja ekonomiczna, bezrobocie miało wysoki wskaźnik, mieszkańcy narzekali na brak perspektyw. Sytuacja diametralnie się zmieniła, kiedy ustanowiono w regionie kilka stanowisk ornitologicznych kania rudej (*Milvus milvus*). Kania ruda jest dużym ptakiem drapieżnym z rodziny jastrzębiowatych, zamieszkującym Europę Azję Środkową oraz Wyspy Kanaryjskie i Wyspy Zielonego Przylądka. Odmieniło to całkowicie los mieszkańców. Miejscowi farmerzy zaczęli karmić kanię i utrzymywać ptaka jako atrakcję turystyczną. Dzisiaj region słynie z wielu lokalnych produktów. Powstały centra edukacji ekologicznej, liczne są hotele. W regionie działa 114 nowych firm, turyści zostawiają rocznie 3 mln funtów.

III. PODGLĄDANIE ZWIERZĄT BARDZIEJ OPŁACALNE NIŻ ICH ZABIJANIE

W 1986 roku Międzynarodowa Komisja Wielorybnicza (IWC) wprowadziła globalne moratorium (zakaz) na komercyjne połowy wielorybów. Uznaliśmy, że te niezwykle ssaki są zbyt cenne i zagrożone, należy więc zaprzestać ich połowów. Niestety proceder ten ciągle ma miejsce. Niektóre z kraje (Norwegia, Japonia, Islandia) nie przestrzegają zaleceń moratorium, odwołując się do argumentów ekonomicznych, naukowych i tradycji. Rocznie zabijanych jest 1500 wielorybów. Tymczasem raport opublikowany przez International Fund for Animal Welfare (IFAW) dokumentuje, że organizowanie wycieczek dla turystów w celu podglądania wielorybów, dostarcza znacznie większych dochodów niż polowania na nie [19]. W 2008 roku

ta branża dostarczyła 2,1 mld \$ rocznie. Patrick Ramage z IFAW argumentuje, że podglądanie wielorybów jest najbardziej zrównoważonym sposobem ich wykorzystania. Można oglądać te same wieloryby wiele razy, a zabić wieloryba można tylko raz. W ciągu ostatniej dekady dochód w tej branży wzrastał o 3,7% rocznie. W 2008 roku 13 milionów ludzi z 119 krajach obserwowało wieloryby. Dało to pracę 13 tysiącom ludzi.

Kolejny przykład pokazujący, że można chronić przyrodę i nie oznacza to utraty pracy i źródła dochodu dla ludności, dostarcza historia delfina krótkogłowego (*Orcaella brevirostris*). Występuje on u wybrzeży, w wodach słonawych i wodach ujść rzek w południowej Azji. W tym regionie jest gatunkiem zagrożonym wyginięciem [15]. Do głównych przyczyn giniecia gatunku należą połowy przy użyciu tradycyjnych sieci, połowy z użyciem prądu elektrycznego i przemiany antropogeniczne. W Kambodży, w prowincjach Kratie i Steung Trend, w górnym biegu Mekongu doliczono się zaledwie 90 sztuk tego gatunku delfina w 2006 roku. W tym okresie WWF przyjął program pod nazwą Cambodian Mekong Dolphin Conservation Project, którego celem było wsparcie rządu i lokalnych społeczności. Szeroka akcja prowadzona przez społeczników doprowadziła do przerwania połowów z wykorzystaniem sieci. Spora część rybaków zajęła się uprawą roli, inni turystyką. Już w 2007 roku populacja delfina z Mekongu wzrosła do 160 sztuk [4].

W naszym kraju, który może poszczycić się foką szarą w Bałtyku, nikt nie myśli o jej zabijaniu. Jednak zorganizowanie możliwości jej podglądania, to rodzaj działalności o sporym znaczeniu. Fokarium Stacji Morskiej Instytutu Oceanografii Uniwersytetu Gdańskiego na Helu powstało jako miejsce wspomagania ochrony gatunku i upowszechniania o nim wiedzy. Jednak środki pozyskiwane od gości służą do pokrycia kosztów utrzymania infrastruktury ośrodka oraz realizacji celu jego działalności.

IV. UTRATA GLEBY ORNEJ – GŁÓWNE WYZWANIE XXI WIEKU

David R. Montgomery (geolog, University of Washington) zapytany co jest najważniejszym zadaniem dla nas w najbliższej dekadzie podkreślił: "... świat musi stawić czoła procesowi degradacji gleby na świecie, stanowiącemu główne wyzwanie tego wieku, zjawisku, którego waga jest niedoceniana, który przebiega w sposób bardzo skryty" [1]. Degradacji lub erozji uległa już ponad 1/3 wierzchniej warstwy gleby rolnej. Każdego roku znika 0,5% gleby ornej [1]. Glebę w zasadzie powinniśmy traktować jako zasób nieodnawialne. Uformowanie 25 mm warstwy gleby rolnej trwa 500 lat, uformowanie 25 mm warstwy gleby leśnej dwa razy tyle [14].

Pragnąc przeciwdziałać utracie gleby ornej należałoby podjąć szereg działań, przeciwstawiających się obserwowanym zagrożeniom, do których zalicza się m.in.: zmiany klimatyczne, zmianę użytkowania gruntów, zaburzenia siedlisk, spadek ilości materii organicznej, zanieczyszczenie metalami ciężkimi, erozję gleby, zasolenie, zanieczyszczenie gleby, kompakcję, intensywną eksploatację gruntów rolnych, fragmentację siedlisk, rośliny inwazyjne [8].

Istnieje jeszcze inne rozwiązanie, które zastosowali Indianie z regionu Amazonii. Jakiś czas temu archeolodzy w tym regionie rozpoznali obszary żyznej gleby. Były to niewielkie poletka ciemnej gleby o powierzchni od 1 do 15 ha. Zostały nazwane indiańskim czarnoziemem - *terra preta do Indio* [10]. Przypisywano mu różne pochodzenie. Rozważano pochodzenie wulkaniczne, spekulowano czy to nie są osady ze starych jezior, czy też pozostałości resztek roślinnych. Wszystko to okazało się nieprawdą. Dzisiaj wiemy,

że to sztuczna gleba, do wytworzenia której Indianie okresu prekolumbijskiego używali porzecznej ceramiki, odpady: nawóz zwierzęcy, ryby, kości zwierzęce, odpady roślinne i wreszcie węgiel drzewny. Od 2500 do 500 lat temu w dorzeczu Amazonki ludzie tam żyjący stworzyli grube warstwy gleby wzbogaconej węglem. W dżungli tropikalnej, gdzie gleba jest cienka i uboga, mieszkańcy znaleźli rozwiązanie. Co więcej okazało się, że *terra preta* pozostaje żyzna przez stulecia, obfituje w minerały: fosfor, wapń, cynk, mangan. Kluczowa okazuje się być zawartość węgla drzewnego, który powstaje przy spalaniu roślin i odpadów w niskich temperaturach. To ona poprawia żyzność gleby i zapobiega wymywaniu z niej substancji odżywczych. Christoph Steiner (gleboznawca, University of Georgia, Athens) zwrócił uwagę, że dodanie rozdrobnionego węgla drzewnego i tzw. płynnego dymu do typowej, marnej tropikalnej gleby prowadzi do wykładniczego wzrostu populacji drobnoustrojów. Co więcej wykazał, że gdy materiał roślinny, zwierzęcy zostanie zwęglony poprzez ogrzewanie go bez dostępu tlenu, pozostaje nietknięty w ziemi, gromadząc duże ilości węgla [17]. Z kolei Johannes Lehmann (gleboznawca z Uniwersytetu Cornella) zwraca uwagę, że wykorzystanie paliw kopalnych przez ludzkość mogłoby zostać w pełni zrekomensowane przez magazynowanie węgla w *terra preta nova* [9].

V. WYKORZYSTANIE RÓŻNORODNOŚCI BIOLOGICZNEJ W ROLNICTWIE I HODOWLI

Do tej pory opisano około 310 tysięcy gatunków roślin [5]. Około 30 tysięcy gatunków roślin ma części jadalne, z tego 7 tysięcy gatunków roślin uprawiano albo zbierano w całej historii. W XIX wieku uprawiano 250 gatunków. Obecnie w rolnictwie uprawia się 180 gatunków roślin na świecie, a 20 gatunków stanowi 90% żywności całego świata. Z tego trzy gatunki (pszenica, kukurydza i ryż) dostarczają ponad 50% pożywienia [22]. Dlaczego uprawiamy te, a nie inne gatunki roślin? Czy ich uprawa przynosi najlepsze efekty ekonomiczne? Czy pokarmy z nich są najsmaczniejsze, najzdrowsze? Czy był to dobry wybór? To, że uprawiamy takie, a nie inne rośliny okazuje się być często kwestią przypadku i w wielu wypadkach nie był to najlepszy wybór.

Jedną z takich roślin, której nie uprawiamy, a wydaje się nie mieć konkurencji jest łust głąbigroszek (*Psophocarpus tetragonolobus*). Każda część rośliny może być wykorzystana, to tak zwany „gatunek supermarket”. Jej liście są podobne do szpinaku, młode strąki mogą być używane jako fasolka szparagowa. Młode nasiona są podobne do groszku; z kolei dojrzałe nasiona przypominają soję, można je gotować w całości lub zmielić na mączkę; można z nich sporządzić bezkofeinowy napój o smaku kawy. Bulwy mogą być gotowane, smażone, czy pieczone. Roślina ta pochodzi z Nowej Gwinei. Osiąga fantastyczne przyrosty - 4 metry osiąga w parę tygodni. Jest rośliną strączkową (żyje w symbiozie z bakteriami wiążącymi azot atmosferyczny), co stanowi dodatkowy ważny walor [18].

Szarłat (*Amaranthus* sp.) był powszechnie uprawiany przez Indian z Meksyku i Ameryki Południowej. Uprawiali oni trzy gatunki, spośród 60. Nasiona mogą posłużyć do produkcji mąki, ugotowane młode liście mogą być wykorzystywane jako jarzyna, podobna do szpinaku [2]. Niedawno szarłat wszedł na rynki w USA i Europie. Co dzisiaj bardzo ważne, szarłat może się stać doskonałą rośliną uprawną na czas globalnego ocieplenia. Dlaczego nie jemy dzisiaj szarłatów? Zdecydował o tym zwykły przypadek. Indianie z mąki z *Amaranthusa* sporządzali figurki i mieszały je z krwią ludzką. Hiszpańscy konkwistadorzy z tego powodu zakazali uprawy tej rośliny [22]. Lista roślin, które czekają

na szerokie rozpowszechnienie, są często smaczniejsze, zdrowsze, dają lepsze plony, jest długa. Na liście tej znajdują się między innymi: ziemniara jadalna (*Arracacia xanthorrhiza*), maurycja pogięta (*Mauritia flexuosa*), pieprzycy Meyena (*Lepidium meyenii*), bulwatka (*Ullucus tuberosus*), tykwa woskowa (*Benincasa hispida*) [22].

Podobnie sytuacja przedstawia się odnośnie zwierząt hodowlanych. Wybór zwierząt, które są obecnie hodowane był przypadkowy i nie zawsze najlepszy. Różnorodność biologiczna na naszej planecie jest wciąż duża i mamy gatunki zwierząt, które dostarczają smacznego mięsa, a ich hodowla mniej obciąża środowisko. Przykładem mogą być amazońskie żółwie z rodzaju *Podocnemis*. Dostarczają one 25 000 kg mięsa/ha, jest to 400 razy więcej niż przy produkcji wołowiny z hektara. Stanowią one cenne źródło białka dla tubylców i co ważne koszty środowiskowe ich hodowli są znacznie mniejsze niż np. krów [11]. Legwan zielony (*Iguana iguana*), przez całe stulecia uważany za przysmak przez farmerów wilgotnych rejonów Ameryki Środkowej i Południowej, dostarcza 10 razy więcej niż produkcja wołowiny z 1 ha [20]. Jego mięso jest lekkie i delikatne, przez całe stulecia uważane było za przysmak przez farmerów wilgotnych rejonów Ameryki Środkowej i Południowej [21]. Lista dzikich gatunków zwierząt, które mogą być hodowane w celu produkcji żywności na skalę komercyjną jest długa, są na niej np.: babilusa (*Babryrousa babryrousa*), kapibara (*Hydrochoeris hydrochoeris*), guanako (*Lama guanicoe*), paka (*Cuniculus paca*) czy pustynniki (*Pterocles*) [22].

VI. WYKORZYSTANIE ROŚLIN W PRZEMYŚLE

Przemysł w dużej mierze bazuje na substancjach dostarczanych przez dzikie gatunki roślin i zwierząt. Niestety i w tej dziedzinie, nie zawsze dobrze wykorzystujemy potencjał jaki tkwi w ogromnej różnorodności biologicznej przyrody. Olej palmowy zyskuje coraz większą popularność na świecie ze względu na szereg zastosowań. Pozyskuje się go z potocznie nazywanego palmą olejową, olejowca gwinejskiego (*Elaeis guineensis*). Olej palmowy jest szeroko wykorzystywany do produkcji biopaliw, produktów spożywczych, kosmetyków, mydeł, proszków, czy nawet smarów. Jedna trzecia światowego zużycia oleju roślinnego pochodzi z owoców palmy. Produkcja oleju palmowego wiąże się ze zniszczeniem przyrody. Procedura zakładania plantacji palmy olejowej polega zwykle na całkowitym ścięciu naturalnie rosnących na danym terenie drzew i zniszczeniu ogromnych połaci lasu, szczególnie lasów tropikalnych. Rosnący na świecie popyt na żywność wymaga ciągłego poszerzania terenów do uprawy palmy olejowej. Tymczasem *Fevillea cordifolia*, roślina pnąca z Amazonii, ma oleiste nasiona, które dostarczają z hektara więcej oleju palma olejowa [22]. Jej uprawa nie wiązałaby się z wycinką dżungli tropikalnej.

Lasy gospodarcze (użytkowe) stanowią główne zaplecze surowca dla przemysłu papierniczego. Duże obszary zabieramy dzikiej przyrodzie, aby między innymi wytwarzać papier. Zakłady papiernicze, poza produktem finalnym w postaci ryzy papieru, produkują duże ilości dwutlenku węgla i metanu, które wzmacniają efekt cieplarniany i zanieczyszczają środowisko; dwutlenku siarki, który zakwasza jeziora; związków azotowych i fosforanów, które przyspieszają eutrofizację wód. Do wybielania masy celulozowej stosowany jest chlor gazowy lub związki chloru, to najbardziej toksyczny etap produkcji papieru. Organiczne związki chloru poddawane działaniu wysokich temperatur podczas bielenia, mogą przekształcać się w wysoce toksyczne dioksyny. I w tym przypadku istnieje alternatywa dla tego rodzaju produkcji papieru. Kenaf (*Hibiscus cannabinus*) to wschodnioafrykańska roślina spokrewniona z bawełną i okrą, osiąga 5 metrów wysokości w ciągu 4-5 miesięcy. Na południu

USA już dzisiaj dostarcza 3-5 razy więcej pulpy niż drzewa na produkcję papieru. Do wybielania włókien potrzeba znacznie mniejszej ilości substancji chemicznych, niż przy tradycyjnej produkcji z drzew z lasów gospodarczych [12]. Inny pomysł na bezpieczniejszą dla środowiska produkcję papieru to tzw. „trawa drzewna”. Pulpę i włókien do produkcji papieru produkuje się na masową skalę z podrostów specjalnych gatunków drzew. Drzewa sadi się bardzo gęsto i kosi jak trawę [16].

Rozwiązań i działań możliwych do podjęcia na polu ochrony środowiska jest wiele. Czy te przedstawione powyżej i inne pozwolą nam powstrzymać postępującą utratę różnorodności biologicznej i usług świadczonych przez ekosystemy? Z pewnością mogą w tym pomóc, ale koniecznym jest zmiana naszego zachowania na innym jeszcze polu. Każda działalność ma pewien koszt środowiskowy. Każdy rodzaj ludzkiej aktywności wymaga produktywnego terenu i w pewien sposób obciąża środowisko. Wspomniana powyżej roślina oleista *Fevillea cordifolia* jest bardziej „przyjazna” dla środowiska niż olejowiec gwinejski, ale również i ona ma swój koszt środowiskowy. Podglądanie wielorybów jest godne pochwały, w przeciwieństwie do ich zabijania, ale organizacja tego rodzaju wycieczek też ma swój, zapewne niemały, ślad ekologiczny. To czego dzisiaj potrzebujemy, aby przetrwać i zapewnić bezpieczny i szczęśliwy byt dla kolejnych pokoleń, to wydatne zmniejszenie konsumpcji. Według koncepcji śladu ekologicznego (*ecological footprint*) ludzkość wykorzystuje dzisiaj 150% rocznych zasobów biosfery. Ziemska przyroda potrzebuje ponad 18 miesięcy, aby odtworzyć to, co zużyliśmy w ciągu 12 miesięcy.

VII. LITERATURA

1. 2020 Visions. Nature 463. s. 26-32. 2010.
2. Amaranth: Modern prospects for an ancient crop. Report of an Ad Hoc Panel of the Advisory Committee on Technology Innovation Board on Science and Technology for International Development (BOSTID) Office of International Affairs National Research Council. ss. 74. 1984.
3. Balick M. J., Mendelsohn R.: Assessing the economic value of traditional medicines from tropical rainforests. Conservation Biology 6. s. 128-130. 1992.
4. Cambodian Mekong Dolphin Conservation Project. WWF Greater Mekong Programme Office (2008-10-21).
5. Chapman A. D.: Numbers of Living Species in Australia and the World. 2nd edition. A Report for the Australian Biological Resources Study. Australian Biodiversity Information Services, Toowoomba, Australia. [dokument elektroniczny. <http://www.environment.gov.au/node/13875>. data wejścia 10.02.2014]. 2009.
6. Dulude J.: Trouble in Paradise: Critics say lack of Protection Endangers Costa Rica's Famed Nature Preserves. The San Francisco Chronicle. December 28. 2000.
7. Egan T.: Uneasy Being Green: Tourism Runs Wild. The New York Times. May 20. 2001. [dokument elektroniczny. <http://www.nytimes.com/2001/05/20/travel/uneasy-being-green-tourism-runs-wild.html>. data wejścia 10.02.2014]. 2001.
8. Gardi C., Menta C., Montanarella L., Cenci R.: Main threats on soil biodiversity: The case of agricultural activities impacts on soil microarthropods. [w:] Threats to Soil Quality in Europe. Tóth G., Montanarella L., Rusco R. (red.) European Community. Luxemburg. s. 100-110. 2008.
9. Lehmann J.: Biological carbon sequestration must and can be win-win approaches. Climatic Change 97. s. 459-463. 2009.

10. Mann Ch. C.: Błogosławiona Ziemia. Przyszłość zależy od gleby pod naszymi stopami. National Geographic 7. s: 50-71. 2009.
11. Mittermeier R. A.: South American River Turtles: Saving Their Future. Oryx 4. s. 222-230. 1978.
12. Myers N.: A wealth of wild species: storehouse for human welfare. Boulder, Colo.: Westview Press. ss. 274. 1983.
13. Peters Ch. M., Gentry A. H., Mendelsohn R. O.: Valuation of an Amazonian Rainforest. Nature 339. s. 655-656. 1989.
14. Pimentel D., Harvey C., Resosudarmo P., Sinclair K., Kurz D., McNair M., Crist S., Sphritz L., Fitton L., Saffouri R., Blair R.: Environmental and economic costs of soil erosion and conservation benefits. Science 267. s. 1117-1123. 1995.
15. Reeves R. R., Jefferson T. A., Karczmarski L., Laidre K., O'Corry-Crowe G., Rojas-Bracho L., Secchi E. R., Slooten E., Smith B. D., Wang J. Y., Zhou K.: *Orcaella brevirostris*. [w:] IUCN 2008. IUCN Red List of Threatened Species. [dokument elektroniczny. <http://www.iucnredlist.org/details/15419>. data wejścia 16.02.2014]. 2008.
16. Shen S.: Biological Engineering for Sustainable Biomass Production. W: Wilson E. O., Peter F. M. Biodiversity. National Academies. s. 377-389. 1988.
17. Steiner C.: Soil Charcoal Amendments Maintain Soil Fertility and Establish a Carbon Sink - Research and Prospects. [w:] Soil Ecology Research Developments. Tian-Xiao Liu (red.) Nova Science Publishers. New York. 2008. [dokument elektroniczny. <http://www.biochar.org/joomla/images/stories/Expert%20Comment%20Steiner-PE.pdf>.
18. Venketeswaran S., Dias M. A. D. L., Weyers U. V.: The winged bean: A potential protein crop. W: Janick J., Simon J. E. (red.) Advances in new crops. Timber Press. Portland. OR. s. 445. 1990.
19. Watching whales sure beats killing them. New Scientist. 06 July 2009. [dokument elektroniczny. <http://www.newscientist.com/article/mg20327153.500-watching-whales-sure-beats-killing-them.html>. data wejścia 16.02.2010. data wejścia 10.02.2014]. 2009.
20. Werner D.: The Rational Use of Green Iguanas. [w:] Neotropical Wildlife Use and Conservation. Robinson J. G., Redford K.H. (red.). University of Chicago Press. Chicago. s. 181-201. 1991.
21. Wille Ch., Jukofsky D.: Savory „Chicken of the Trees”. Could Play a Role in Saving Forests. Canopy (Rainforest Alliance). s. 7. 1991.
22. Wilson E. O.: Różnorodność życia. PIW. Warszawa. ss. 508. 1999.
23. Wilson E. O.: Przyszłość życia. Wyd. Zysk i S-ka. Poznań. ss. 268. 2003.

NEW ENVIRONMENTALISM – REVOLUTION IN THE MANNER OF THINKING ABOUT NATURE PROTECTION

Summary

In environmental policy, an element that is missing seems to be a radical change in the way we use the natural resources. Edward Wilson uses the term "new environmentalism" to describe the revolution in thinking about biological conservation. Its aim is to develop new ways of getting income from nature, without destroying it. A number of research demonstrates that it is possible to obtain higher income from nature without destroying it. There is also a recipe for progressive loss of arable soil. Furthermore, we must re-learn how to use biological diversity in agriculture, farming and industry, which is often not the best, most economical.

Keywords: new environmentalism, biological diversity, environmental protection, agriculture, farming, industry

WSKAZÓWKI DLA AUTORÓW

Zeszyty Naukowe Południowo-Wschodniego Oddziału Polskiego Towarzystwa Inżynierii Ekologicznej z siedzibą w Rzeszowie i Polskiego Towarzystwa Gleboznawczego Oddział w Rzeszowie (Zesz. Nauk. PTIE i PTG Oddz. w Rzeszowie) ukazują się od 1997 roku. Powstają dzięki działalności badawczej członków obu Towarzystw, a także dzięki współpracy z ośrodkami naukowymi w kraju i za granicą.

Zapraszamy zainteresowanych do publikowania w naszym Czasopiśmie.

Wymogi ogólne i techniczne przygotowania prac do druku:

Przygotowany przez autorów do druku tekst (edytor tekstu: Word) powinien spełniać następujące warunki:

- nie powinien przekraczać 8 stron maszynopisu o cechach określonych poniżej (w uzasadnionych przypadkach, za zgodą Redakcji można od tej reguły odstąpić),
- mieścić się na stronie formatu B-5 o wymiarach: szerokość 13 cm, wysokość 19 cm (ustawiamy marginesy; lewy: 1,5; prawy: 6,5; górny: 2,5; dolny: 7,5),
- pełny tekst publikacji powinien zawierać w kolejności: pełne imiona i nazwiska autorów wraz z miejscem pracy i adresem e-mailowym, tytuł publikacji, streszczenie po polsku do 10 wierszy, słowa kluczowe. Następnie WSTĘP, METODYKA, WYNIKI BADAŃ, DYSKUSJA, WNIOSKI, LITERATURA wg. wzoru, TYTUŁ po angielsku, streszczenie po angielsku, słowa kluczowe po angielsku,
- tekst powinien być napisany czcionką Times New Roman CE, wielkość 10 pk, odstęp pojedynczy, tytuł artykułu i nazwisko autorów czcionka 12 pt, podtytuły literami o wielkości 10 pk, podobnie jak całość tekstu, tabulator 0,5 cm,
- na pierwszej stronie pozostawiamy od góry strony 4 cm na główkę wydawniczą Zeszytów,
- wszystkie tabele, ilustracje /wykresy, rysunki, fotografie/w maksymalnych wymiarach: szer. - 13 cm, wys. - 19 cm (**wraz z podpisami i całym wnętrzem w dwu językach**) powinny mieć odpowiednią jakość i czytelność, muszą być z góry wpisane lub wklejone w tekst,
- tabele powinny być przygotowane do druku starannie i zawierać także pełny **tekst ich zawartości opracowany po polsku i po angielsku**,
- literatura powinna być cytowana w tekście w nawiasach, wg wzoru [1],
- zbiór LITERATURA powinien być uporządkowany wg alfabetu i opracowany następująco:

1. Podgórski W., Trawińska B., Mardarowicz L., Polonis A.: Wpływ wyciągu z *Yucca schidigera* na przemiany azotu niebiałkowego w pomociu brojlerów. Materiały Konferencji Naukowej „Higienizacja Wsi”. s. 219-224. AR Lublin. 1995.
2. Preston R. L., Bartle S. J., May T. R., Goodall S. R.: Influence of sarsaponin on growth, feed and nitrogen utilization in growing male rats fed diets with added urea or protein. Journal of Animal Science 65. s. 481-487. 1987.
3. Sutton A. L., Foster J. R., Kelly D. T., Meyerholtz K. A.: Micro-Aid compared to copper sulfate as a growth promotant for growing and finishing hogs. Swine Day Pur. University 38. s. 75-78. 1992.

Przy opracowywaniu tekstu należy używać wzoru z poprzednich Zeszytów dostępnego na stronie <http://www2.univ.rzeszow.pl/wbr/zeszyty/>.

Do Redakcji należy przekazać tekst starannie opracowany, na dyskietce, wraz z jego wydrukiem. Publikacja powinna zawierać – tekst właściwy, ilustracje i tabele oraz podpisy pod ilustracjami i tabelami - jako jeden zbiór.