

Właściwości fizykochemiczne gleb i roślinność jako czynniki determinujące funkcjonowanie mikroorganizmów glebowych na terenach zanieczyszczonych metalami ciężkimi

Anna M. STEFANOWICZ

Institut Botaniki im. W. Szafera Polskiej Akademii Nauk, 31-512 Kraków, ul. Lubicz 46, e-mail: a.stefanowicz@botany.pl

Mikroorganizmy glebowe, czyli przede wszystkim bakterie i grzyby, pełnią szereg istotnych funkcji w ekosystemach. Rozkładają one martwą materię organiczną pochodzenia roślinnego i zwierzęcego do prostych związków nieorganicznych, które mogą być pobrane i wykorzystane przez rośliny. Niektóre mikroorganizmy posiadają zdolność wiązania azotu atmosferycznego, dzięki czemu wzbogacają glebę w ten pierwiastek. Mikroorganizmy wchodzą w interakcje z roślinami, wspomagając, bądź ograniczając ich rozwój (grzyby mikoryzowe, ryzobakterie, patogeny). Biorą również udział w kształtowaniu struktury gleby, a niektóre z nich potrafią rozkładać zanieczyszczenia organiczne.

Niekorzystne czynniki, do których należy zanieczyszczenie gleby metalami ciężkimi, mogą ograniczać aktywność, redukować biomasę, zmniejszać różnorodność oraz zmieniać strukturę zespołów mikroorganizmów (Kandeler i in. 1996; Ge i Zhang 2011; Pan i Yu 2011). Zaburzenia struktury i funkcji zespołów mikroorganizmów mogą mieć niekorzystny wpływ na funkcjonowanie całego ekosystemu. Już pionierskie badania dotyczące wpływu metali ciężkich na procesy glebowe

przeprowadzone w lasach w pobliżu huty cynku w Palmerton w Pensylwanii wykazały, że zanieczyszczenie Zn, Pb i Cd prowadzi do zmniejszenia tempa dekompozycji martwej materii organicznej i jej zwiększonej akumulacji (Strojan 1978). Stwierdzono, że zanieczyszczenie gleby metalami ciężkimi prowadzi do istotnego spadku aktywności enzymów glebowych – ureazy, kwaśnej fosfatazy, dehydrogenazy, arylosulfatazy, proteazy, β -glukozydazy, endocelulazy i innych (Kandeler i in. 1996; Kuperman i Carreiro 1997; Pan i Yu 2011). Ze względu na kluczową rolę pełnioną przez mikroorganizmy i inne organizmy glebowe w ekosystemach, zwiększenie różnorodności i aktywności mikroorganizmów, jak również mikro-, mezo- i makrofauny, oraz przywrócenie funkcji gleb zdegradowanych w wyniku działalności człowieka powinno być jednym z celów rekultywacji prowadzonej na terenach przemysłowych (Gómez-Sagasti i in. 2012).

Parametry mikrobiologiczne gleb, takie jak respiracja (oddychanie), biomasa mikroorganizmów, struktura taksonomiczna zespołu mikroorganizmów i jego różnorodność, aktywność enzymów wydzielanych przez mikroorganizmy, a związanych z obiegiem węgla, azotu, siarki czy fosforu,

zdolność mikroorganizmów do rozkładu różnych związków organicznych oraz stopień mikoryzacji korzeni roślin są ważnymi wskaźnikami jakości biologicznej gleb i powinny być uwzględniane w biomonitoringu (Filip 2002; Avidano i in. 2005; Gómez-Sagasti i in. 2012). Jednak ocena wpływu zanieczyszczeń na mikroorganizmy w warunkach terenowych, na przykład w pobliżu hut metali, nie jest zadaniem łatwym. O stanie mikrobiologicznym gleby, oprócz zanieczyszczenia, decyduje szereg innych czynników, zarówno biotycznych, jak i abiotycznych, między innymi temperatura, wilgotność, struktura gleby, zawartość pierwiastków odżywczych, odczyn, obecność/brak roślin, różnorodność i skład gatunkowy zbiorowisk roślinnych (Stephan i in. 2000; Marschner i in. 2004; Niklińska i in. 2005; Balogh i in. 2011; Chodak i in. 2013). Wykazano, że nawet w terenach relatywnie silnie zanieczyszczonych metalami ciężkimi zawartość siarki, stosunek C/N czy odczyn gleby ma dla mikroorganizmów glebowych większe znaczenie niż obecność znacznych ilości metali (Niklińska i in. 2005). Wymienione wyżej czynniki abiotyczne i biotyczne oddziałują na mikroorganizmy zarówno bezpośrednio, jak i pośrednio – poprzez wpływ na zachowanie się substancji chemicznej w środowisku, jej mobilność, biodostępność i toksyczność (Babich i Stotzky 1983; Hinsinger i in. 2006; Gao i in. 2012). Przykładowo, wysoka zawartość materii organicznej i frakcji ilastej w glebie nie tylko poprawia warunki troficzne, lecz również sprzyja unieruchamianiu metali, obniżając ich biodostępność (Bååth 1989). Odczyn gleby nie tylko determinuje strukturę zespołu mikroorganizmów, jak na przykład stosunek grzybów do bakterii (Blagodatskaya i Anderson 1998), lecz również decyduje o sorpcji metali przez materię organiczną (Kabata-Pendias i Pendias 1993).

Rośliny wpływają na mikroorganizmy glebowe poprzez depozycję ściółki oraz produkcję wydzielin korzeniowych o zróżnicowanej jakości chemicznej. Martwa materia organiczna stanowi źródło pokarmu dla glebowych saprobiontów, a także modyfikuje środowisko życia organizmów, wpływając na właściwości chemiczne gleby, między innymi na zawartość pierwiastków i odczyn. Reich i in. (2005) stwierdzili znaczne różnice w ilości i właściwościach chemicznych materii organicznej deponowanej przez 14

gatunków drzew rosnących w eksperymentalnych monokulturach. Na przykład ilość Ca mieściła się w zakresie od 3.7 mg g⁻¹ w igłach *Pinus nigra* do 22.4 mg g⁻¹ w liściach *Tilia cordata*. Co ważniejsze, ilość Ca w aparacie asymilacyjnym drzew korelowała istotnie z odczynem i ilością Ca w glebie (Reich i in. 2005). Rośliny zielne mogą również znacznie modyfikować właściwości fizykochemiczne gleby. Stwierdzono, że różne gatunki traw (*Agrostis capillaris*, *Festuca ovina*, *Lolium perenne*, *Nardus stricta*) w zróżnicowany sposób wpływały na wilgotność gleby, odczyn oraz zawartość azotu nieorganicznego (Markham i in. 2009).

Rośliny produkują szereg substancji, które wydzielają do gleby na drodze ryzodepozycji. Zalicza się do nich związki organiczne: węglowodany, aminokwasy, amidy, kwasy tłuszczowe, sterole, enzymy, witaminy i regulatory wzrostu roślin oraz gazy: etylen, dwutlenek węgla i cyjanowodór (Grayston i in. 1996). Wydzieliny korzeniowe mogą być specyficzne dla gatunku, a nawet odmiany rośliny. Różnice w ilości i jakości chemicznej wydzielin korzeniowych oraz martwej materii organicznej są jedną z głównych przyczyn różnic w aktywności i różnorodności mikroorganizmów żyjących w glebie, zarówno w ryzosferze, jak i poza nią. Wraz ze wzrostem różnorodności roślin rośnie zróżnicowanie i/lub aktywność mikroorganizmów glebowych (Stephan i in. 2000; Loranger-Merciris i in. 2006; Eisenhauer i in. 2011). Niektóre gatunki, na przykład rośliny motylkowate, mogą oddziaływać na mikroorganizmy szczególnie korzystnie (Stephan i in. 2000).

Celem badań podjętych w ramach projektu MF EOG PL0265 pt. „Roślinność gleb galmano- wych i jej znaczenie dla zachowania różnorodności biotycznej i krajobrazowej terenów pogórnicznych” była ocena stanu mikrobiologicznego gleb terenów znajdujących się pod wpływem wydobycia i przetwarzania rud metali. Cele szczegółowe obejmowały (1) analizę aktywności i biomasy mikroorganizmów oraz zdolności bakterii i grzybów do rozkładu związków organicznych w dwóch poziomach gleby, (2) porównanie wpływu metali ciężkich na mikroorganizmy gleb ekosystemów leśnych i nieleśnych (muraw i odłogów), (3) porównanie właściwości mikrobiologicznych gleb siedlisk dominujących w badanym terenie pogórnicznym, obejmujących

lasy i murawy na piasku oraz na odpadzie górnicy, jak również odłogi, (4) ocenę wpływu właściwości fizykochemicznych gleby oraz różnorodności i składu gatunkowego roślinności zielnej na mikroorganizmy glebowe.

Materiały i metody

Badania przeprowadzono na 49 powierzchniach zaklasyfikowanych do 6 dominujących kategorii siedlisk (GW, MW, FW, GS, FS, P; Kapusta i Godzik – Rozdział 6, niniejszy tom). Parametry mikrobiologiczne zmierzono w dwóch poziomach gleby: górnym obejmującym, w zależności od stanowiska, poziom próchniczny A, Ap lub AE oraz w położonym poniżej poziomie B. Próby gleby pobrano, jak opisano w rozdziałach 6 (Kapusta i Godzik) i 13 (Kapusta i in.) niniejszego tomu, i przesiano przez sito o boku oczka 2 mm. Przed pomiarami mikrobiologicznymi oznaczono wilgotność gleby oraz maksymalną pojemność wodną. W celu oceny ogólnej aktywności mikroorganizmów zmierzono poziom respiracji (oddychania) gleby (tzw. respiracji bazowej), inkubując próby gleby o wystandaryzowanej wilgotności (50% maksymalnej pojemności wodnej) w szczelnych słojach w temperaturze 22°C. Wydzielający się z gleby CO₂ absorbowano w 0.2 M NaOH, którego nadmiar po zakończeniu inkubacji miareczkowano 0.1 M HCl w obecności BaCl₂ i fenoloftaleiny jako wskaźnika. Czas inkubacji był uzależniony od aktywności mikrobiologicznej gleby i mieścił się w zakresie od 1 do 5 dób. Na podstawie ilości HCl zużytego do miareczkowania obliczono ilość CO₂ wydzielonego przez określoną masę gleby w jednostce czasu. Po pomiarach respiracji bazowej do prób gleby dodano glukozę (10 mg g_{SM}⁻¹ gleby) w celu oceny tzw. respiracji indukowanej substratem. Po 4-godzinnej inkubacji w temperaturze 22°C dokonano pomiaru respiracji, jak opisano powyżej. Na tej podstawie obliczono ilość biomasy (węgla w biomase, C_{mic}) mikroorganizmów w glebie zgodnie z formułą: C_{mic} (μg g⁻¹) = 40.04x + 0.37, gdzie x oznacza tempo respiracji wyrażone w μl CO₂ h⁻¹ g⁻¹ (Anderson i Domsch 1978). Respirację bazową oraz biomasę mikroorganizmów gleby wyrażono zarówno na jednostkę suchej masy gleby, jak i na jednostkę materii organicznej obecnej w glebie. Ponadto wyliczono

współczynnik metaboliczny qCO₂ – stosunek respiracji do biomasy mikroorganizmów. Współczynnik ten może być pomocny w ocenie wpływu czynników stresowych, takich jak metale ciężkie, na zespoły mikroorganizmów glebowych.

W celu analizy zdolności mikroorganizmów glebowych do rozkładu związków organicznych wykorzystano 96-dółkowe płytki Biolog – GN2 dla bakterii i SFN2 dla grzybów (Preston-Mafham i in. 2002; Stefanowicz 2006). Płytki te zawierają 95 różnych związków węglowych, między innymi z grupy węglowodanów, aminokwasów i kwasów karboksylowych, które stanowią substancje odżywcze dla mikroorganizmów heterotroficznych. Dodatkowo, płytki GN2 zawierają barwnik będący wskaźnikiem aktywności bakterii.

Próby gleby wytrząsano w soli fizjologicznej, a uzyskane ekstrakty rozcieńczano 10-krotnie solą fizjologiczną (płytki GN2) lub roztworem agaru z dodatkiem detergentu (monooleinianu polioksyetylenosorbitolu – Tween 80) i antybiotyków: streptomycyny i chlorotetracykliny (płytki SFN2). Dodatek agaru i detergentu umożliwił równomierną dyspersję zarodników grzybowych w roztworze, a antybiotyki zapobiegają wzrostowi bakterii (Dobranic i Zak 1999; Buyer i in. 2001; Kraus i in. 2004). Roztwory zaszczipiano na płytki, które były następnie inkubowane w temperaturze 22°C przez około 115 (GN2) lub 216 (SFN2) godzin. Podczas okresu inkubacji absorbancję odzwierciedlającą aktywność mikroorganizmów mierzono spektrofotometrycznie 2 razy na dobę przy długości fali 590 nm (GN2 – zmiana koloru na skutek redukcji obecnego na płytkach barwnika przez bakterie) lub raz na dobę przy długości fali 650 nm (SFN2 – zmętnienie roztworu na skutek wzrostu grzybnii).

Aktywność mikroorganizmów na każdym związku węglowym (substracie) wyrażono jako powierzchnię pod krzywą (czas inkubacji *vs* absorbancja). Średnią aktywność bakterii i grzybów każdej gleby wyrażono jako średnią powierzchnię pod krzywą (liczoną ze wszystkich związków). Policzono substraty, na których zaobserwowano aktywność mikroorganizmów – liczba zużytych związków odzwierciedla tzw. bogactwo funkcjonalne zespołu mikroorganizmów.

Wykonano analizę czynnikową, która miała na celu wyodrębnić wzajemnie nieskorelowanych

czynników charakteryzujących właściwości siedliska (Kapusta i in., niniejszy tom). W sumie w analizie czynnikowej wykorzystano 30 zmiennych: udział frakcji piasku i łu, zawartość C organicznego, stężenie form ogólnych Ca, Cd, Fe, K, Mg, Mn, N, P, Pb, S i Zn, form Ca, Cd, K, Mg, i Zn ekstrahowanych BaCl₂ oraz Cd, Pb, Zn rozpuszczalnych w wodzie, ilość dostępnego P, odczyn, liczbę gatunków roślin zielnych, skład gatunkowy roślinności (reprezentowany przez osie DCA1 i DCA2; Kapusta i in. – Rozdział 13, niniejszy tom), całkowity procent pokrycia roślinności oraz procent pokrycia roślin należących do 2 grup funkcjonalnych: traw i turzyc oraz pozostałych roślin zielnych z wyłączeniem motylkowatych. Rośliny motylkowe nie zostały uwzględnione w analizie, ponieważ dane nie spełniały założeń analizy czynnikowej. Otrzymane czynniki wykorzystano następnie jako zmienne niezależne w analizie regresji wielorakiej w celu analizy wpływu właściwości siedliska, reprezentowane przez poszczególne czynniki, na parametry mikrobiologiczne górnego poziomu gleby (N = 49).

Nieparametryczny test U Manna-Whitneya wykorzystano w celu porównania aktywności mikrobiologicznej pomiędzy poziomami gleby. Z 49 badanych stanowisk wybrano 34 (N = 34), dla których możliwe było wydzielenie tych dwóch poziomów. Odrzucono stanowiska, gdzie występował tylko poziom przejściowy, na przykład AB lub jeden z poziomów był nieobecny.

Aby ocenić wpływ metali na mikroorganizmy górnego poziomu gleb leśnych i nieleśnych przeprowadzono analizy korelacji osobno w tych dwóch grupach (N = 21 dla lasów i N = 28 dla muraw i odłogów). W celu porównania zmiennych mikrobiologicznych pomiędzy 6 kategoriami siedlisk użyto jednoczynnikowej analizy wariancji oraz testu Tukeya dla nierównych N.

Wyniki

Szczegółowe dane dotyczące respiracji, biomasy mikroorganizmów i ich aktywności na płytkach Biolog przedstawiono w Tabeli 1. Aktywność oraz biomasa mikroorganizmów były istotnie wyższe w górnym (tj. A, Ap lub AE w zależności od stanowiska) niż w dolnym (tj. B) poziomie

gleby, co wynikało zapewne z lepszych warunków troficznych poziomu górnego (próchnicznego). Wartości parametrów mikrobiologicznych gleby dla obu poziomów wykazywały znaczną zmienność pomiędzy stanowiskami badawczymi (Tabela 1). Największą zmiennością w górnym poziomie charakteryzowała się biomasa mikroorganizmów oraz respiracja gleby, dla których współczynniki zmienności wynosiły odpowiednio CV = 123% oraz CV = 97%, a najmniejszą bogactwo funkcjonalne grzybów (liczba zużytych substratów na płytkach Biolog) o CV = 31%. Odminną sytuację zaobserwowano dla dolnego poziomu gleby: współczynniki zmienności dla 5 z 7 badanych zmiennych przekraczały 100%, osiągając najwyższą wartość dla aktywności i bogactwa grzybów (odpowiednio CV = 154% i CV = 127%) oraz qCO₂ (CV = 127%). Najmniejszą zmiennością cechowała się biomasa (CV = 47%).

Wyniki analizy korelacji ogólnej zawartości Zn, Pb i Cd w glebie z parametrami mikrobiologicznymi zamieszczono w Tabeli 2. Stwierdzono istotne ujemne korelacje pomiędzy całkowitą zawartością metali w glebie stanowisk bezleśnych a biomasa mikroorganizmów (przeliczoną na jednostkę materii organicznej) oraz aktywnością i bogactwem funkcjonalnym zespołów bakterii. Ponadto, dla tych stanowisk wykazano istotne dodatnie korelacje między całkowitą zawartością Cd, Pb i Zn a współczynnikiem qCO₂. Nie stwierdzono negatywnego wpływu metali na aktywność i bogactwo funkcjonalne grzybów glebowych. Nie wykazano także ujemnego wpływu metali na żaden z badanych parametrów mikrobiologicznych gleb leśnych.

Właściwości mikrobiologiczne gleby różniły się istotnie pomiędzy 6 kategoriami powierzchni (GW, MW, FW, GS, FS, P; Kapusta i Godzik – Rozdział 6, niniejszy tom; Ryc. 1). Najniższą respirację, biomasa oraz aktywność bakterii i grzybów na płytkach Biolog wykazywały gleby muraw i lasów na podłożu piaszczystym. Najwyższą respirację oraz biomasa mikroorganizmów zaobserwowano dla gleb wytworzonych na odpadzie górnym. Z kolei wysokie wartości parametrów analizowanych z wykorzystaniem płytek Biolog stwierdzono dla gleb związanych z odpadem górnym oraz dla odłogów.

Analiza czynnikowa umożliwiła redukcję oryginalnych zmiennych fizykochemicznych oraz

roślinnych do 5 nieskorelowanych czynników, które zinterpretowano jako: rodzaj podłoża (odpad górniczy *vs* piasek), żyzność gleby, bogactwo gatunkowe roślin, zawartość metali rozpuszczalnych w wodzie oraz dostępność fosforu (Tabela 3). Czynniki wykorzystano w analizie regresji wielorakiej jako zmienne niezależne (Tabela 4). Analiza ta wykazała, że zespoły mikroorganizmów glebowych były kształtowane przede wszystkim przez trzy czynniki: rodzaj podłoża, żyzność gleby oraz bogactwo gatunkowe roślin. Rodzaj podłoża, opisujący względną zawartość zanieczyszczonego odpadu górniczego w podłożu, wpływał na respirację bazową gleby oraz biomasę mikroorganizmów. Żyzność gleby, związana przede wszystkim z zawartością wymiennych form Mg, Ca i K, jak również z zawartością C organicznego i N, korelowała silnie dodatnio z wszystkimi badanymi parametrami mikrobiologicznymi. Bogactwo i skład gatunkowy roślinności miały szczególne znaczenie dla bakterii, słabo wpływając na grzyby glebowe. Stężenie metali rozpuszczalnych w wodzie korelowało ujemnie z respiracją bazową gleby oraz dodatnio z aktywnością i bogactwem funkcjonalnym grzybów glebowych. Dostępność P nie miała znaczenia dla mikroorganizmów.

Dyskusja

Jednym z głównych celów prowadzonych badań była ocena wpływu metali ciężkich na zespoły mikroorganizmów glebowych. Stwierdzono, że metale ciężkie negatywnie wpływały na biomasę mikroorganizmów, aktywność bakterii oraz ich zdolność rozkładania związków organicznych; efekt ten wykazano dla gleb muraw i odłogów. Toksyczny wpływ metali na mikroorganizmy obserwowany był również przez innych autorów (Wang i in. 2007; Niemeyer i in. 2012; Chodak i in. 2013). Niemeyer i in. (2012) prowadzili badania na terenach zanieczyszczonych Pb, Zn, Cd i Cu w wyniku działalności huty ołowiu i zaobserwowali negatywne korelacje pomiędzy poziomem zanieczyszczenia gleby, a respiracją gleby, biomasą mikroorganizmów, aktywnością fosfatazy i asparaginazy. Podobnie, Wang i in. (2007) stwierdzili obniżenie biomasy mikroorganizmów, różnorodności bakterii i aktywności fosfatazy oraz zmianę struktury

zespołu bakterii w glebach zanieczyszczonych Zn i Cu w pobliżu huty miedzi.

Niekorzystny wpływ Zn, Pb i Cd na mikroorganizmy gleb muraw i odłogów został potwierdzony dodatnią zależnością między zawartością metali w glebie a współczynnikiem qCO_2 . Zmiany współczynnika qCO_2 mogą wskazywać na zmiany struktury zespołu mikroorganizmów lub zmiany w wykorzystaniu zasobów (Wardle i Ghani 1995; Insam i in. 1996). Wzrost qCO_2 w wyniku zanieczyszczenia może oznaczać, że mikroorganizmy mniej zasobów zużywają na produkcję biomasy, a więcej na bieżące utrzymanie, w tym koszty detoksykacji metali ciężkich.

W niniejszych badaniach nie stwierdzono toksycznego wpływu metali na aktywność i bogactwo funkcjonalne grzybów. Wyniki wskazują na mniejszą wrażliwość grzybów niż bakterii na zanieczyszczenie metalami ciężkimi. Można zatem przypuszczać, że ujemna zależność pomiędzy zawartością metali ogólnych w glebie a biomasą mikroorganizmów wynikała z niekorzystnego wpływu metali na komponent bakteryjny biomasy mikrobiologicznej. Otrzymane wyniki są zgodne z doniesieniami kilku innych autorów, którzy wykazali większą wrażliwość bakterii niż grzybów na metale ciężkie (Bååth 1989; Rajapaksha i in. 2004; Stefanowicz i in. 2008; Wang i in. 2010). Zarówno bakterie, jak i grzyby wykształciły mechanizmy chroniące do pewnego stopnia przed niekorzystnym wpływem metali. Jednak komórki bakteryjne są mikroskopijne i ściśle związane ze swoim otoczeniem oraz charakteryzują się wysokim stosunkiem powierzchni do objętości, co czyni je na ogół wysoce podatnymi na niekorzystne wpływy środowiska. Grzyby, dzięki silnemu rozrastaniu się grzybni w glebie, zdolne są do penetracji względnie rozległych przestrzeni, przez co zdają się mieć większe niż bakterie możliwości unikania szkodliwych czynników, na przykład szczególnie zanieczyszczonych mikrosiedlisk (Baldrian 2010).

Należy zwrócić uwagę, że zawartość form metali rozpuszczalnych w wodzie (czynnik 4 wyłoniony w analizie czynnikowej) korelowała dodatnio z aktywnością i bogactwem funkcjonalnym grzybów. Wzrost aktywności grzybów w odpowiedzi na wzrost czynnika 4 mógł wynikać z dwóch przyczyn: eliminacji wrażliwych na metale

bakterii, stanowiących konkurencję dla grzybów, co przełożyło się na lepsze funkcjonowanie grzybów w środowiskach zanieczyszczonych lub też z dodatniego wpływu C organicznego na grzyby, przy braku szkodliwego działania metali (w czynniku 4 ładunek C organicznego był względnie wysoki i wynosił 0.47; dane nie prezentowane w Tabeli 3). Wyższa zawartość C organicznego (materii organicznej) w glebie przekłada się na wyższą dostępność związków odżywczych dla mikroorganizmów saprotroficznych, a w konsekwencji na wzrost ich aktywności i biomasy.

W niniejszych badaniach nie stwierdzono negatywnego wpływu metali na mikroorganizmy gleb leśnych. Może to być wynikiem niższych koncentracji metali w glebach leśnych niż w glebach muraw i odłogów: poziomy próchnicze i mineralne uwzględnione w badaniach są w glebach lasów do pewnego stopnia chronione przed depozycją zanieczyszczeń z atmosfery przez korony drzew i poziom organiczny gleby (Kapusta i Godzik – Rozdział 6, niniejszy tom). Badane gleby leśne charakteryzowały się również mniejszą zmiennością koncentracji metali pomiędzy stanowiskami, co mogło uniemożliwić wykrycie wpływu metali na mikroorganizmy w tych ekosystemach.

Metale ciężkie nie były głównym czynnikiem kształtującym zespoły mikroorganizmów glebowych. Największe znaczenie dla mikroorganizmów miał rodzaj podłoża oraz żyzność gleby (czynnik 1 i 2). Rodzaj podłoża, związany z zawartością odpadu górniczego w podłożu, silnie wpływał na respirację i biomasę mikroorganizmów. Z kolei żyzność gleby, skorelowana głównie z zawartością wymiennych form Mg, Ca, K, jak również organicznego C oraz ogólnego N, oddziaływała w istotny sposób na wszystkie badane parametry mikroorganizmów. Stanowiska badawcze różniły się zawartością w podłożu, z jednej strony, odpadu górniczego, z drugiej strony – piasku. Odpad górniczny, składający się głównie z dolomitu i kalcytu, był bardzo silnie zanieczyszczony metalami ciężkimi, jednak zawierał również duże ilości makroelementów (Ca, Mg i K) oraz charakteryzował się zasadowym odczynem (Kapusta i in. – Rozdział 13, niniejszy tom). Z tego względu mógł korzystnie oddziaływać na mikroorganizmy. Negatywny wpływ zawartych w odpadzie metali na biomasę mikroorganizmów

ujawnił się, gdy parametr ten został przeliczony na jednostkę materii organicznej. Przeliczenie parametrów mikrobiologicznych na jednostkę materii organicznej umożliwia częściową eliminację różnic w zawartości substancji organicznej w glebie pomiędzy powierzchniami badawczymi i daje możliwość wykrycia efektów innych czynników, w tym przypadku negatywnego wpływu metali (Soler-Rovira i in. 2013). Podobny efekt zaobserwowano również dla czynnika 4 reprezentującego zawartość form metali rozpuszczalnych w wodzie. Czynniki te korelowały ujemnie z respiracją gleby przeliczoną na jednostkę materii organicznej.

Kilku autorów badających zależności pomiędzy właściwościami fizykochemicznymi i mikrobiologicznymi gleby w terenach zanieczyszczonych metalami ciężkimi wykazało, że większe znaczenie dla mikroorganizmów miała zawartość składników odżywczych w glebie i jej odczyn, niż obecność metali (Niklińska i in. 2005; Chodak i in. 2013; Soler-Rovira i in. 2013). Niklińska i in. (2005) stwierdzili, że na respirację i biomasę mikroorganizmów humusu glebowego wpływała głównie zawartość S i stosunek C/N w glebie. Efekt odczynu oraz metali ciężkich był mniejszy, choć istotny statystycznie. Z kolei odczyn gleby miał dominujący wpływ na aktywność i profile fizjologiczne bakterii na płytkach Biolog. Podobne wyniki opisali Chodak i in. (2013). Respiracja i biomasa mikroorganizmów zależały głównie od zawartości C organicznego lub N, a struktura i różnorodność zespołu od odczynu. Wpływ metali był mniejszy niż efekty innych czynników fizykochemicznych i uwidocznił się w poziomie respiracji gleby i różnorodności zespołu bakterii. Również Soler-Rovira i in. (2013) wykazali, że respiracja gleb winnic, zanieczyszczonych Cu w wyniku stosowania fungicydów, zależała głównie od odczynu i zawartości węgla organicznego, a nie od poziomu zanieczyszczenia Cu.

Trzecim czynnikiem wpływającym silnie na badane parametry mikrobiologiczne gleby było bogactwo gatunkowe roślin, czyli liczba gatunków roślin zielnych na poletkach badawczych. Liczba gatunków korelowała dodatnio z respiracją gleby, biomasą oraz, szczególnie silnie, z aktywnością i bogactwem funkcjonalnym bakterii glebowych. Pewne znaczenie dla mikroorganizmów glebowych mógł mieć również skład gatunkowy roślinności.

Parametr ten był silnie skorelowany z bogactwem gatunkowym roślin (obie zmienne charakteryzowały się wysokim ładunkiem czynnikowym w czynniku 3). Rośliny mogą oddziaływać na zespoły mikroorganizmów zarówno bezpośrednio, jak i pośrednio. Bezpośredni wpływ wiąże się z depozycją ściółki o zróżnicowanym składzie chemicznym, jak również z wydzielaniem przez korzenie roślin licznych związków stymulujących aktywność mikrobiologiczną gleby (Grayston i in. 1996; Spehn i in. 2000; Zak i in. 2003; Reich i in. 2005). Większa różnorodność gatunkowa roślin wiąże się na ogół ze zwiększoną różnorodnością produkowanych przez nie substancji stanowiących związki odżywcze dla mikroorganizmów heterotroficznych. Zróżnicowanie tych związków może przekładać się na różnorodność i aktywność mikroorganizmów (Eisenhauer i in. 2010). Ponadto, im większa jest prawdopodobieństwo wystąpienia gatunków roślin oddziałujących na mikroorganizmy w wyjątkowo korzystny sposób. Do takich gatunków należą rośliny motylkowate, mające zdolność wiązania azotu atmosferycznego (Spehn i in. 2000; Milcu i in. 2008). Stephan i in. (2000) wykazali, że obecność *Trifolium repens* prowadziła do zwiększenia aktywności i funkcjonalnej różnorodności mikroorganizmów – parametry te w glebie pod monokulturą *T. repens* były równie wysokie, jak pod zbiorowiskami roślinnymi o wysokiej różnorodności gatunkowej.

Pośredni wpływ roślin na mikroorganizmy w terenach zanieczyszczonych związany jest z ich oddziaływaniem na ilość i mobilność metali ciężkich w glebie. Wiadomo, że rośliny mogą zmieniać odczyn roztworu glebowego lub zawartość rozpuszczonego węgla organicznego (szczególnie w ryzosferze), co może prowadzić do zwiększenia lub zmniejszenia mobilności metali (Kim i in. 2010). Szczególnie wyraźny wpływ na glebę mają rośliny charakteryzujące się wyjątkowymi właściwościami,

na przykład zdolnością akumulacji znacznych ilości metali w tkankach. Gremion i in. (2004) wykazali, że obecność hiperakumulatora Zn i Cd – *Thlaspi caerulescens* – powodowała nie tylko zmniejszenie koncentracji Zn i Cd w zanieczyszczonej glebie dzięki pobieraniu metali i ich akumulacji w tkankach roślinnych, lecz również stymulowała aktywność metaboliczną bakterii glebowych. Korzystny wpływ roślin na mikroorganizmy w zanieczyszczonej glebie wykazali Gao i in. (2010). Obecność jednego (*Solanum nigrum*), a w szczególności dwóch gatunków roślin (*Solanum nigrum* i *Zea mays*) w glebie zanieczyszczonej eksperymentalnie Cd i Pb wpływała dodatnio na wielkość populacji promieniowców, innych bakterii oraz grzybów. Wzrost roślin w zanieczyszczonej glebie powodował również podniesienie poziomu respiracji, aktywności fosfatazy, ureazy i dehydrogenazy oraz różnorodności genetycznej zespołów mikroorganizmów (Gao i in. 2010).

Badania opisane w niniejszym rozdziale wykazały, że chociaż metale mogą wpływać negatywnie na aktywność, biomasę, bądź różnorodność funkcjonalną mikroorganizmów, to wysoka zawartość pierwiastków odżywczych w zanieczyszczonych glebach oraz obecność zbiorowisk roślinnych o dużej różnorodności gatunkowej mogą w znacznym stopniu łagodzić niekorzystne skutki wysokich stężeń metali ciężkich dla zespołów mikroorganizmów glebowych. Konieczne są dalsze badania wpływu zróżnicowanej liczby gatunków roślin na mikroorganizmy gleb zdegradowanych, ponieważ do tej pory niewielu autorów podejmowało to zagadnienie, a nieliczne prace eksperymentalne oparte są jedynie na układach kilkugatunkowych (maksymalnie 2–4 gatunki roślin) (Yang i in. 2007; Gao i in. 2010; Gao i in. 2012). Badania takie warto prowadzić w warunkach terenowych, uwzględniając zbiorowiska roślinne wykształcające się na terenach pogórnicznych w wyniku naturalnej sukcesji.