

Beata Suszek-Łopatka

*Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowy Instytut Badawczy
w Puławach*

ZNACZENIE STRESU ŁĄCZONEGO DLA OCENY ZAGROZEŃ EKOTOKSYKOLOGICZNYCH ŚRODOWISKA GLEBOWEGO*

Słowa kluczowe: stres łączony, współdziałanie stresów chemicznych i środowiskowych, toksyczność zanieczyszczeń gleby

Wstęp

Organizmy glebowe w swoim środowisku naturalnym narażone są na jednoczesne oddziaływanie zróżnicowanych czynników stresowych, zarówno pochodzenia naturalnego (np. wysoka lub niska temperatura, niekorzystne warunki wodno-powietrzne, ograniczony dostęp do pokarmu) jak również antropogenicznych, np. obecność zanieczyszczeń chemicznych (21). Współwystępowanie tych stresorów może prowadzić do oddziaływania na organizmy glebowe tzw. stresu łączonego, będącego wynikiem interakcji poszczególnych czynników (27). Badania ekotoksykologiczne mające na celu określenie oddziaływania zanieczyszczeń środowiska na organizmy żywe, prowadzone są zwykle w ściśle określonych, najczęściej optymalnych dla badanych organizmów warunkach i polegają na narażeniu organizmu wskaźnikowego na zróżnicowane stężenia jednego zanieczyszczenia (6, 21). Nie uwzględniają zatem rzeczywistych warunków środowiskowych na jakie narażone są organizmy żyjące na terenach zanieczyszczonych. Rozdział ten ma na celu przedstawienie zagadnienia stresu łączonego, jako nowego podejścia w badaniach ekotoksykologicznych ze szczególnym podkreśleniem jego znaczenia dla ochrony środowiska glebowego.

Stres łączony w środowisku glebowym

Gleba ze względu na szereg pełnionych przez nią bardzo istotnych funkcji stanowi ważny element środowiska przyrodniczego. Jednocześnie, dzięki funkcji produkcyjnej, retencyjnej i siedliskowej jej jakość ma ogromne znaczenie dla

*Praca była współfinansowana ze środków: Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego Grant nr NN305255035, pt. „Współdziałanie czynników naturalnych i chemicznych w glebie: ocena ekotoksykologicznego wpływu zanieczyszczeń chemicznych oraz temperatury i suszy”.

rolnictwa wpływając na plony oraz bioróżnorodność ekosystemów (10). Jednym z podstawowych zagrożeń środowiska glebowego są zanieczyszczenia chemiczne, z których większość ostatecznie trafia do gleby, gdzie ulega akumulacji (23). W tradycyjnych badaniach ekotoksykologicznych oceniany jest wpływ poszczególnych zanieczyszczeń na organizmy glebowe. Badania te jednak najczęściej prowadzone są w stałych, ściśle określonych, często optymalnych dla badanych organizmów warunkach środowiskowych (tj. temperatura, wilgotność gleby, dostępność pokarmu), w celu wskazania efektu pojedynczego zanieczyszczenia, występującego w zróżnicowanych stężeniach (6, 27). Natomiast, na terenach zanieczyszczonych, organizmy najczęściej narażone są jednocześnie na łączne oddziaływanie zróżnicowanych substancji chemicznych jak również odmienne od optymalnych, a niekiedy nawet stresowe warunki środowiskowe, czyli na tzw. stres łączony (6, 21) (rys. 1, tab. 1).



fot. Beata Suszek

Rysunek 1. Schematyczne zestawienie - układ doświadczalny w tradycyjnych badaniach ekotoksykologicznych (po lewej) – organizmy zwykle narażane są na oddziaływanie różnych stężeń jednego zanieczyszczenia Z_1 w stałych, zwykle optymalnych warunkach, w porównaniu ze zróżnicowanymi warunkami na jakie łącznie narażone są organizmy w środowisku naturalnym (zróżnicowane zanieczyszczenia $Z_1 - Z_3$, zróżnicowane czynniki środowiskowe: $C_1 - C_2$) – po prawej

Źródło: opracowanie własne na podstawie: Holmstrup i in., 2010 (21).

Tabela 1

Podsumowanie - tradycyjne testy ekotoksyczności, a warunki w środowisku naturalnym

CECHA	TRADYCYJNE TESTY EKOTOKSYCZNOŚCI	ŚRODOWISKO NATURALNE
WARUNKI ŚRODOWISKOWE (tj. temperatura, wilgotność, pokarm)	stałe	zmiennie
	optymalne	zróżnicowane, zwykle różne od optymalnych
NARAŻENIE NA ZANIECZYSZCZENIE	pojedyncze zanieczyszczenie (różne dawki)	mieszanina zanieczyszczeń

Źródło: opracowanie własne na podstawie: Holmstrup i in., 2010 (21).

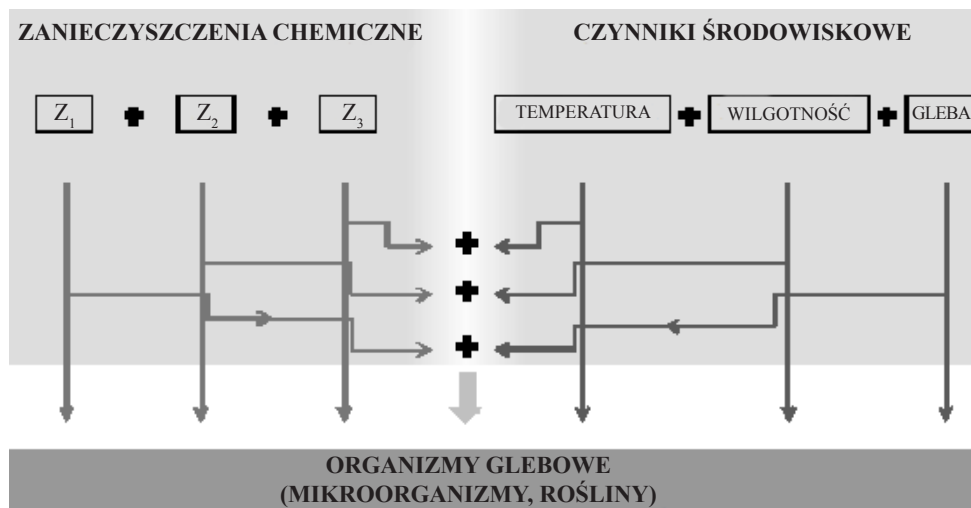
Badania wskazują, że zróżnicowane czynniki środowiskowe mogą zmieniać oddziaływanie zanieczyszczeń chemicznych na organizmy (27), a wśród nich wymienia się takie jak m.in.: obecność innych zanieczyszczeń, stres temperaturowy, odwodnienie, niedotlenienie, czy ograniczona dostępności pokarmu (21). Zestawienie czynników stresowych mogących potencjalnie wpływać na toksyczność zanieczyszczeń zamieszczono na rysunku 2.



Rysunek 2. Czynniki stresowe wykazujące potencjalny wpływ na toksyczne oddziaływanie zanieczyszczeń chemicznych względem organizmów

Źródło: opracowanie własne na podstawie : Holmstrup i in., 2010 (21).

W glebie możemy spotkać wszystkie z wymienionych powyżej czynników stresowych, jako wynik oddziaływania: mieszanych zanieczyszczeń, zróżnicowanych warunków temperaturowych, zmiennych warunków wilgotnościowych oraz właściwości fizyko-chemicznych samej gleby, w tym jej zasobności w składniki pokarmowe (rys. 3). Należy zauważyć, że występowanie zróżnicowanych warunków środowiskowych nie zawsze oznacza obecność stresu łączonego. Dane literaturowe wskazują, że w niektórych warunkach badane czynniki stresowe wykazywały interakcję, w innych nie (21). Stąd poszukiwanie warunków współdziałania zanieczyszczeń chemicznych i czynników środowiskowych pozostaje nadal przedmiotem badań nad zjawiskiem stresu łączonego.

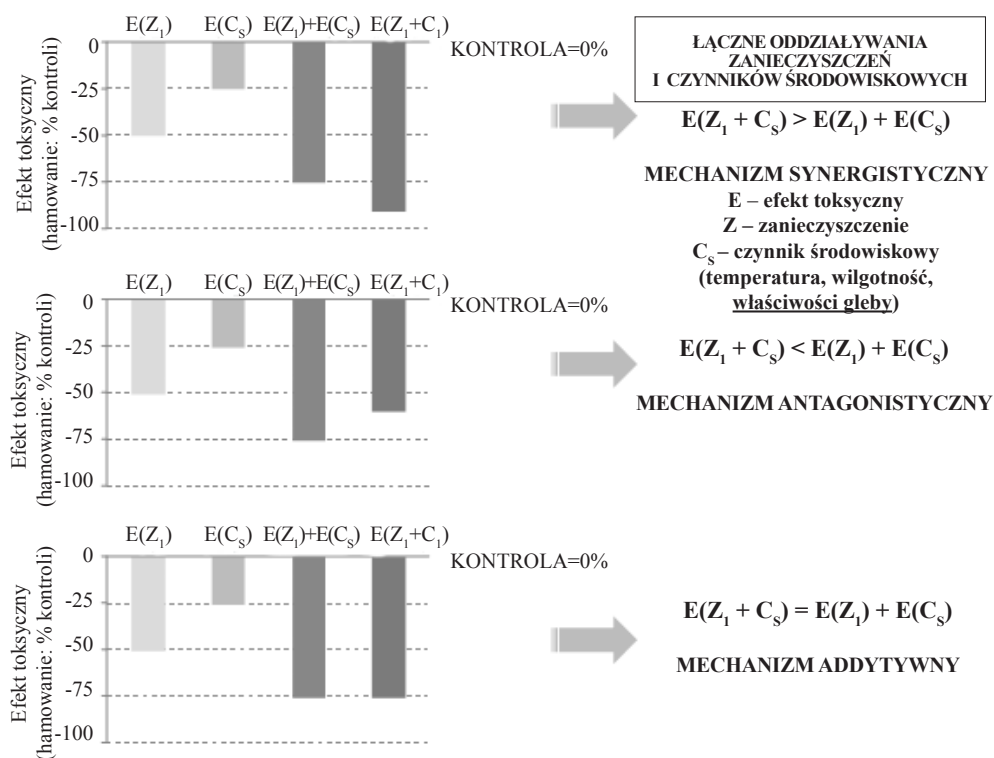


Rysunek 3. Mieszanka zanieczyszczeń chemicznych gleby oraz zróżnicowane warunki środowiskowe (takie jak temperatura, wilgotność i właściwości fizyko-chemiczne gleby) mogą oddziaływać na organizmy glebowe osobno lub, jeśli wchodzą w interakcje, mogą być przyczyną stresu łączonego

Źródło: opracowanie własne.

Znaczenie badań nad stresem łączonym w ocenie zagrożeń ekotoksykologicznych środowiska glebowego

Oddziaływanie czynników środowiskowych na toksyczność zanieczyszczeń chemicznych względem organizmów może zachodzić według trzech podstawowych mechanizmów (rysunek nr 4) (21). W sytuacji, gdy łączne oddziaływanie zanieczyszczenia chemicznego i czynnika środowiskowego (określone na rysunku 4 jako efekt sumy czynników: $E(Z_1 + C_s)$) na badany organizm jest istotnie większe niż suma osobnych efektów zanieczyszczenia $E(Z_1)$ i czynnika środowiskowego $E(C_s)$, wówczas mechanizm takiego współoddziaływania określamy jako synergistyczny. W sytuacji przeciwnej, gdy badany efekt toksyczny jest mniejszy w przypadku łącznego oddziaływania niż suma osobnych efektów pochodzących od zanieczyszczenia i badanych warunków środowiskowych, tj. gdy $E(Z_1 + C_s) < E(Z_1) + E(C_s)$ mówimy o mechanizmie antagonistycznym. Natomiast, w przypadku gdy łączne oddziaływanie badanych czynników nie różni się istotnie od sumy ich osobnych efektów: $E(Z_1 + C_s) = E(Z_1) + E(C_s)$ mechanizm taki można uznać za addytywny.



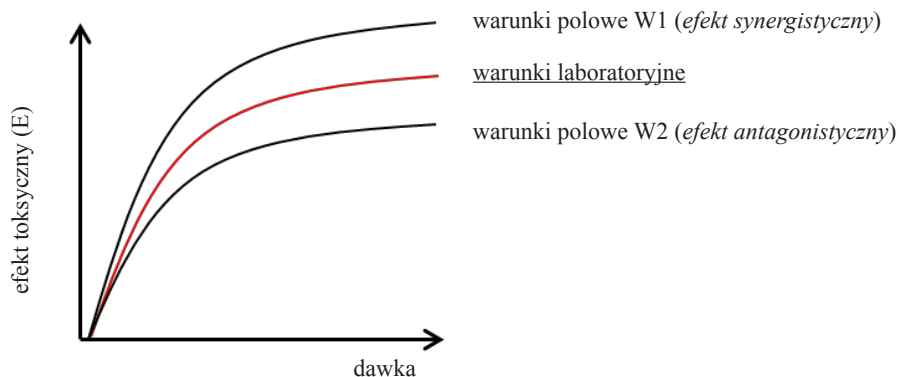
Rysunek 4. Mechanizmy oddziaływania czynników środowiskowych na toksyczność zanieczyszczeń chemicznych. Kontrola – warunki optymalne, w których organizmy nie były narażone na żaden z badanych czynników stresowych (badany efekt w kontroli = 0 %)

Źródło: opracowanie własne na podstawie: Holmstrup i in., 2010 (21).

Nieuwzględnienie wspomnianych powyżej mechanizmów łącznego oddziaływania w ocenie ekotoksykologicznej może w konsekwencji prowadzić do nieprawidłowych wyników (rysunek 5).

Pominięcie istotnego efektu synergistycznego będzie prowadziło do otrzymania w warunkach laboratoryjnych wyników niedoszacowanych w stosunku do tych jakie możemy zaobserwować w warunkach polowych, zaś nieuwzględnienie efektu antagonistycznego będzie przyczyną wyników przeszacowanych. Obie sytuacje są niekorzystne z punktu widzenia ochrony środowiska przyrodniczego. Pierwsza może prowadzić do niewystarczającej ochrony obszaru narażonego na stresy łączone, druga do niepotrzebnych skutków ekonomicznych, poprzez prowadzenie nieuzasadnionych lub nadmiernych działań naprawczych dla środowiska w miejscach, gdzie to nie jest konieczne (21). Badania nad stresem łączonym w ekotoksykologii, uzupełniając tradycyjne, proste układy doświadczalne, skierowane na określanie relacji dawka –

reakcja organizmu wskaźnikowego w warunkach standardowych, dążą do lepszego poznania rzeczywistych oddziaływań zanieczyszczeń chemicznych na organizmy w ich środowisku naturalnym, pozwalając tym samym ograniczyć problemy z ekstrapolacją danych na warunki polowe. Stanowią one zatem ważne źródło informacji umożliwiające doskonalenie metod służących utrzymaniu bezpieczeństwa w środowisku (53), w tym także w glebach. Jednak, pomimo coraz większego zainteresowania zagadnieniem stresu łączonego, niewiele jest badań podejmujących ten temat (21, 47).



Rysunek 5. Nieuwzględnienie stresu łączonego w badaniach ekotoksykologicznych, może prowadzić do uzyskania niedoszacowanego (gdy łączny efekt jest synergistyczny) lub przeszacowanego (gdy mechanizm antagonistyczny) efektu toksycznego uzyskanego w laboratorium w porównaniu z warunkami polowymi

Źródło: opracowanie własne.

Współoddziaływanie warunków środowiskowych i zanieczyszczeń chemicznych na organizmy w ich środowisku naturalnym

Warunki środowiskowe oraz substancje chemiczne mogą oddziaływać na organizmy bezpośrednio lub pośrednio poprzez interakcje (4), które mogą zachodzić na różnym poziomie: fizykochemicznym, toksykinetycznym lub fizjologicznym (37; 21). Oddziaływanie na poziomie fizykochemicznym jest szczególnie ważne w przypadku środowiska glebowego, gdyż zróżnicowane właściwości gleby mogą być przyczyną odmiennej biodostępności badanej substancji chemicznej, a tym samym zróżnicowanego efektu toksycznego względem badanych organizmów glebowych, przy tym samym poziomie stężenia zanieczyszczenia (34; 21). Warunki fizyczne, np. temperatura oraz status żywieniowy mogą zmieniać efekt toksyczny substancji poprzez wpływ na jej toksykinetykę (37; 21). Niektóre zanieczyszczenia chemiczne wpływają na fizjologię organizmów poprzez ograniczenie ich zdolności tolerancyjnych, powodując tym samym, że organizmy w środowisku zanieczyszczonym stają się mniej

odporne na inne stropy środowiskowe (37; 21). I odwrotnie, w stresowych warunkach środowiskowych, organizmy mogą stać się mniej odporne na obecne w środowisku zanieczyszczenia (37). Efekt toksyczny substancji chemicznej obecnej w środowisku jest zatem wynikiem nie tylko jej właściwości, ale również szeregu oddziaływań otaczającego środowiska (35). Poniżej przedstawiono osobne oddziaływania warunków środowiskowych oraz łączne z zanieczyszczeniami chemicznymi na jakie są narażone organizmy w środowisku glebowym.

Indywidualny wpływ podstawowych czynników środowiskowych na organizmy glebowe

W tej części opracowania ograniczono się do dwóch grup organizmów glebowych: mikroorganizmów i roślin, szczególnie ważnych z punktu widzenia jakości gleby i jej funkcji istotnych dla rolnictwa.

Jednym z najważniejszych i jednocześnie najbardziej zmiennych w przestrzeni i czasie czynników środowiskowych jest temperatura, która w znacznym stopniu reguluje stan fizjologiczny organizmów żywych (4). Temperatura oddziałując na mikroorganizmy nie tylko na poziomie poszczególnych osobników, ale także całego zespołu (58) ma bezpośredni wpływ na bioróżnorodność mikroorganizmów, wzrost, tempo mineralizacji i aktywność enzymatyczną (12) oraz stan fizjologiczny komórek (3). Niska temperatura spowalnia metabolizm mikroorganizmów (26). Wraz ze wzrostem temperatury ulega on przyspieszeniu (26), a wraz z nim przemiany C i N (25), jednocześnie wzrastają wymagania energetyczne komórek (13) i przyspieszają procesy życiowe tj. intensywność oddychania (13) oraz aktywność enzymatyczną (12). Na poziomie zespołu zmiany temperatury mogą wpływać na jego strukturę (41). Temperatura wpływa także na wzrost, rozwój i funkcjonowanie roślin (33). Szczególnie wrażliwe są początkowe fazy rozwojowe roślin (15), niekorzystne warunki temperaturowe mogą spowolnić lub zahamować kiełkowanie nasion, a w późniejszych fazach wpływają na podstawowe procesy życiowe: oddychanie, fotosyntezę, stosunki wodne, stabilność błon komórkowych, poziom hormonów, czy powstawanie metabolitów (55). Skutkiem tego może być zahamowanie wzrostu roślin i przyrostu biomasy (55).

Kolejnym ważnym czynnikiem środowiskowym mogącym ograniczać produktywność ekosystemów jest wilgotność gleby (50). Podobnie jak temperatura wpływa ona zarówno na aktywność jak i skład gatunkowy mikroorganizmów glebowych (14). Wysychanie gleby wiąże się ze spadkiem jej potencjału wodnego, przez co utrudnieniu ulega pobieranie wody ze środowiska przez komórki mikroorganizmów, w wyniku koncentracji roztworu glebowego oraz utrudnionej dyfuzji. Tym samym zwiększają się wymagania energetyczne komórek konieczne dla utrzymania w nich właściwego potencjału osmotycznego, a wymiana substancji z otoczeniem ulega spowolnieniu (14). W wyniku suszy spowolnieniu,

a w skrajnych wypadkach całkowitemu zahamowaniu ulegają procesy fizjologiczne (8) i aktywność enzymatyczna w komórkach, przez co zmienia się aktywność całego zespołu mikroorganizmów (14) oraz następuje spadek biomasy mikroorganizmów w glebie (12). Także rośliny są wrażliwe na niedobór wody w glebie, w szczególności w początkowych fazach wzrostu (2). W warunkach suszy, na skutek utrudnionego przepływu wody spowolnieniu ulega pobieranie składników odżywczych (5), następuje spadek potencjału wodnego w roślinach oraz turgoru w liściach (45), w wyniku ograniczonej dyfuzji CO_2 do chloroplastów spowolnieniu ulega proces fotosyntezy, co z kolei prowadzi do hamowania wzrostu roślin i przyrostu ich biomasy (17). Ze względu na fakt, że alokacja węgla w warunkach suszy nie jest w roślinie równomierna i skupia się w większej mierze w korzeniach, jako organach umożliwiających pobieranie wody, reakcją na suszę może być zwiększony przyrost systemów korzeniowych (44).

Nie tylko warunki niedoboru wody, ale również jej nadmiar w glebie może być niekorzystny dla zasiedlających ją organizmów. Nadmierny wzrost nasycenia gleby wodą może prowadzić do zmiany warunków z tlenowych do o ograniczonym dostępie tlenu lub całkowicie beztlenowych, na skutek wypełniania coraz większej liczby porów glebowych wodą i wypychaniu z nich powietrza (43). Prowadzi to do zmiany struktury mikroorganizmów glebowych, gatunki aerobowe zastępowane są początkowo przez beztlenowce fakultatywne, potem przez obligatoryjne, a w skutek tego końcowy produkt metabolizmu tlenowego zastępowany jest częściowo utlenionymi formami węgla organicznego (np. CH_4) (43). Podobnie rośliny, w warunkach wysokiego nasycenia gleby wodą mogą być narażone na warunki hipoksji lub anoksji, jednocześnie podwyższona wilgotność gleby może być przyczyną niedoboru mineralnych składników pokarmowych. Dodatkowo utrudniona w tych warunkach dyfuzja oraz wymiana gazów pomiędzy wilgotną glebą i atmosferą (np. CO_2) może powodować gromadzenie się ich w pobliżu systemów korzeniowych w ilościach wykazujących oddziaływanie toksyczne (22). W warunkach wysokiej wilgotności gleby oddychanie w korzeniach roślin zostaje ograniczone, co może być przyczyną obumierania komórek w korzeniach lub całych korzeni, a w następstwie tego zaburzenia funkcjonowania także części nadziemnych roślin (9). Ograniczony wzrost korzeni i części nadziemnych roślin prowadzi do spadku przyrostu biomasy (42).

W środowisku glebowym bardzo duże znaczenie mają właściwości fizykochemiczne samej gleby. Oddziałują one na organizmy bezpośrednio (38) lub pośrednio poprzez wpływ na biodostępność substancji zawartych w glebie (39). W kontekście gleb zanieczyszczonych do najważniejszych jej cech należą: odczyn, zawartość cząstek o średnicy poniżej 0,02 mm oraz materii organicznej. pH jest parametrem warunkującym równowagę jonową roztworu glebowego, przez co może wpływać na biodostępność substancji nieorganicznych, m.in. metali (48). Frakcja części spławialnych (o średnicy poniżej 0,02mm), dzięki obecności koloidów glebowych, posiada dobre właściwości sorpcyjne (31). Silne właściwości sorpcyjne wykazuje również glebowa

materia organiczna, stanowiąca główny czynnik wpływający na biodostępność lipofilowych zanieczyszczeń organicznych (np. wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych - WWA), przez co jej duża zawartość w glebie zmniejsza dostępność zanieczyszczeń organicznych dla organizmów glebowych (56). Zawartość materii organicznej wpływa także na mobilność zanieczyszczeń nieorganicznych i dzięki tworzeniu kompleksów z metalami ogranicza biodostępność toksycznych pierwiastków śladowych (54). Właściwości gleby stanowią ważny czynnik środowiskowy, który nie powinien być pomijany w ocenie ekotoksykologicznej środowiska glebowego (39).

Zagrożenia wynikające z łącznego oddziaływania stresowych warunków środowiskowych i zanieczyszczeń chemicznych na organizmy

Jak już wspomniano powyżej, warunki środowiskowe mogą oddziaływać na organizmy nie tylko indywidualnie, ale także poprzez wzajemne interakcje oraz w przypadku gleb zanieczyszczonych, łączne oddziaływanie z zanieczyszczeniami chemicznymi. Potwierdzają to badania podejmujące zagadnienie stresu łączonego, z których wynika możliwość interakcji oddziaływań stresów środowiskowych i chemicznych względem organizmów żywych (21).

Bardzo ważnym czynnikiem mogącym wpływać na toksyczność zanieczyszczeń jest temperatura (57). Zaobserwowano jej wpływ zarówno na toksyczność zanieczyszczeń nieorganicznych (np. pierwiastków śladowych) (35) jak również organicznych (głównie pestycydów (21)). Interakcję zanieczyszczeń z warunkami temperaturowymi stwierdzono w przypadku różnych grup organizmów: mikroorganizmów (57), bezkręgowców (24; 4), kręgowców (7; 40), roślin (28). Temperatura może zmieniać ekotoksyczne oddziaływanie zanieczyszczeń poprzez wpływ na właściwości substancji chemicznych lub na same organizmy. Pierwszy z wymienionych sposobów oddziaływania temperatury zależy od właściwości badanych zanieczyszczeń, bardzo ważna jest tu np. ich hydrofobowość, gdyż wykazano, że im większa hydrofobowość substancji chemicznej tym interakcja z warunkami temperaturowymi jest silniejsza (18). Przykładem zanieczyszczeń hydrofobowych spotykanych w glebie są wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA). W wyższej temperaturze ich biodostępność może wzrosnąć w skutek spadku współczynnika podziału ciała stałe – roztwór wodny i osłabienia wiązania z cząstkami gleby, a w konsekwencji łatwiejszego przechodzenia do wody glebowej zawartej w porach (47), czyli do postaci bardziej dostępnej dla organizmów glebowych (47). Przyczyną wzrostu biodostępności zanieczyszczeń wraz ze wzrostem temperatury może być ponadto spadek ich lepkości i wzrost tempa dyfuzji (36; 11).

Drugi sposób oddziaływania temperatury na toksyczny efekt zanieczyszczeń chemicznych względem organizmów związany jest z jej wpływem na ich fizjologię. Temperatura, wpływając na tempo pobierania i ekskrecji zanieczyszczeń, respirację oraz procesy biotransformacji ma znaczenie dla ich akumulacji w organizmach

(30). Za podstawowy mechanizm oddziaływania temperatury na biotransformację i szkodliwość zanieczyszczeń chemicznych należy uznać jej wpływ na metabolizm (37). Nabiera on szczególnego znaczenia w sytuacji, gdy metabolity substancji pobranej ze środowiska przechodzą szlak metaboliczny, w wyniku którego powstają substancje jeszcze bardziej toksyczne niż pobrany związek chemiczny (30, 37). Stwierdzono, że wzrost temperatury może być przyczyną zwiększonego tempa rozkładu biologicznego nawet dość trwałych substancji chemicznych zaliczanych do grupy tzw. trwałych zanieczyszczeń organicznych (TZO) (37). Badania wskazują, że zarówno warunki niskiej jak i wysokiej temperatury mogą niekorzystnie wpływać na toksyczne oddziaływanie zanieczyszczeń względem organizmów (1), jednak dla większości substancji jej wzrost nasila niekorzystne oddziaływanie toksyn, które jest szczególnie silne w zakresie temperatur odpowiadającym górnym granicom tolerancji badanych organizmów (19, 35). Należy zauważyć, że współdziałanie niekorzystnej temperatury i zanieczyszczeń na organizmy jest dwustronne, tzn. nie tylko temperatura może wpływać na toksyczność zanieczyszczeń, ale także obecność zanieczyszczeń może zmieniać tolerancję organizmów względem temperatury (6). Nie ulega wątpliwości, że warunki temperaturowe, w wyniku ich osobnego jak i łącznego z zanieczyszczeniami chemicznymi oddziaływania na organizmy stanowią bardzo ważny czynnik środowiskowy, który powinien być uwzględniany przy ocenie zagrożeń środowiska glebowego.

Kolejnym bardzo ważnym czynnikiem środowiskowym, w przypadku którego wykazano możliwość wystąpienia interakcji z toksycznym oddziaływaniem zanieczyszczeń jest dostępność wody w środowisku (47). Choć jak dotąd literatura podejmująca temat oddziaływania niskiej wilgotności gleby na toksyczność zanieczyszczeń jest bardzo uboga i dotyczy głównie bezkręgowców glebowych: skoczogonków (*Collembola*) i dżdżownic (*Lumbricidae*) (21) to jednak w niektórych układach doświadczalnych pozwala stwierdzić możliwość zaistnienia interakcji synergistycznej tych dwóch rodzajów czynników stresowych na badane organizmy (21). Zaistnienie mechanizmu interakcji zależało m.in. od poziomu czynników stresowych (29), właściwości badanej substancji chemicznej (49), kolejności działania stresów w przypadku sukcesywnego narażania na stres chemiczny i suszy (47).

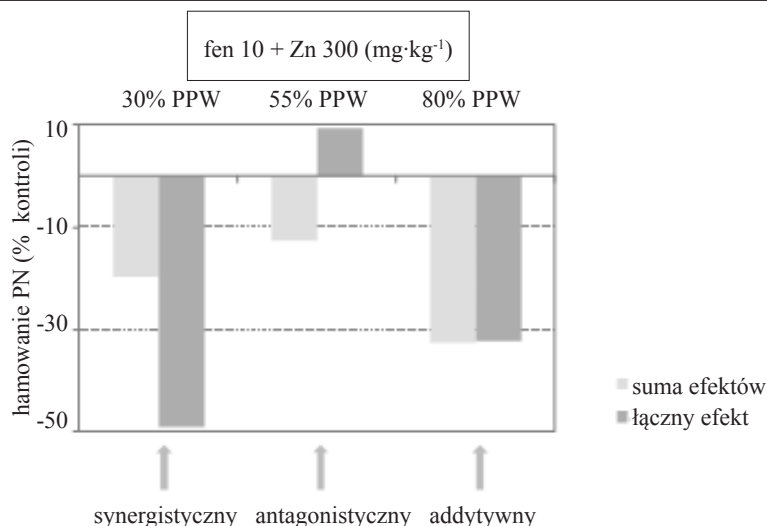
Niektóre zanieczyszczenia chemiczne mogą ograniczać zakres tolerancji organizmów na warunki niedoboru wody poprzez wpływ na ochronne względem suszy mechanizmy fizjologiczne (20). Zanieczyszczenia te mogą być przyczyną wzrostu przepuszczalności dla wody zewnętrznej powierzchni organizmu (20). Szczególnie niebezpieczne są substancje ulegające interakcji z błonami komórkowymi (np. WWA), stanowiącymi podstawę właściwej osmoregulacji (49).

Nadmiar wody w glebie, będący przyczyną powstania warunków stresu niedotlenienia dla organizmów glebowych, nie został jak dotąd w dostępnej literaturze zaprezentowany w ujęciu stresu łącznego. Biorąc pod uwagę wyniki badań prowadzonych na organizmach wodnych narażanych na łączne oddziaływanie stresu

niedotlenienia i zanieczyszczeń chemicznych oraz stwierdzone w nich interakcje (21), warunki niedotlenienia w środowisku glebowym należy uznać za ważny czynnik, o potencjalnym znaczeniu dla szkodliwego oddziaływania zanieczyszczeń na organizmy glebowe.

W środowisku naturalnym zanieczyszczenia gleby najczęściej nie występują osobno, ale w mieszaninach (4). Współwystępowanie zanieczyszczeń stanowi dodatkowy czynnik stresowy dla organizmów, szczególnie jeśli ich efekty toksyczne ulegają interakcji. Badania wskazują, że niektóre grupy zanieczyszczeń gleby bardzo często współwystępują ze sobą, tak jest np. w przypadku metali i WWA (32; 46). Obie te grupy można zaliczyć do głównych zanieczyszczeń spotykanych w glebach, ze względu na zawartości oraz ich potencjalną szkodliwość względem organizmów (46). Toksyczne efekty tych dwóch grup mogą ulegać interakcji, w wielu wypadkach synergistycznej (16; 32;). WWA ze względu na swoje właściwości lipofilowe wchodzi w interakcje z lipofilowymi błonami komórkowymi, przez co niszczą ich strukturę i zwiększają przepuszczalność. W obecności WWA, metale mogą łatwiej przenikać do komórek i tam szkodliwie oddziaływać na ich funkcjonowanie (16). Inną przyczyną synergistycznego współdziałania tych dwóch grup zanieczyszczeń w środowisku glebowym może być toksyczne oddziaływanie metali na mikroorganizmy rozkładające WWA, większa toksyczność gleby jest w tym wypadku wynikiem większej zawartości WWA, pozostających dłużej w środowisku na skutek spowolnionej biodegradacji (32). Synergistyczne współdziałanie metali i WWA stwierdzono w przypadku zróżnicowanych grup organizmów glebowych: mikroorganizmów i roślin (32), bezkręgowców (dżdżownic) (59). Zaobserwowany efekt łącznego oddziaływania metali i WWA zależy od poziomów oraz właściwości zastosowanych zanieczyszczeń (16). Choć dla większości mieszanin metale – WWA zaobserwowano efekt synergistyczny, to w niektórych przypadkach stwierdzono antagonistyczny mechanizm ich oddziaływania np. Zn i fenantren wykazywały dodatnią interakcję względem aktywności enzymów glebowych (ureazy, dehydrogenazy), co można wytłumaczyć zwiększoną absorpcją fenantrenu w obecności Zn (46). Łączny efekt toksyczny metali i WWA zależy także od czasu narażenia oraz zastosowanego organizmu testowego (32). Istotnym czynnikiem wpływającym na współoddziaływanie metali i WWA są ponadto właściwości fizykochemiczne zastosowanej gleby (16; 32).

Zdecydowana większość literatury podejmującej zagadnienie stresu łączonego dotyczy współdziałania dwóch czynników, tylko nieliczne prace podejmują problem w szerszym aspekcie, oceniając współdziałanie większej liczby czynników (4). Okazuje się, że niekiedy dodanie kolejnego czynnika środowiskowego może w znacznym stopniu zmieniać wyniki testu ekotoksyczności. I tak w badaniach (52) wpływu cynku na toksyczność fenantrenu (związek z grupy WWA) względem bakterii nityfikacyjnych przy różnych scenariuszach uwilgotnienia gleby (optymalnym, niskim i wysokim) wskazano, że mechanizm interakcji zanieczyszczeń chemicznych zależał od zastosowanego poziomu wilgotności gleby (rysunek 6).

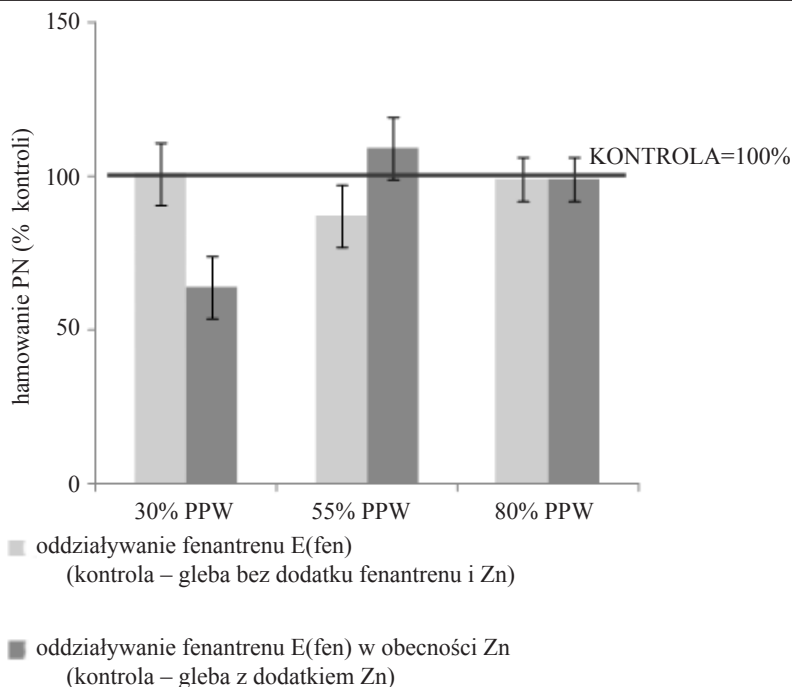


Rysunek 6. Wpływ wilgotności gleby (30, 55, i 80 %PPW) na mechanizm interakcji Zn i fenantrenu (fen) względem bakterii nitryfikacyjnych. Oceniany parametr – potencjał nitryfikacji (PN) (kontrola = 0% - gleba bez dodatku zanieczyszczeń). Suma efektów: $E(\text{Fen}) + E(\text{Zn})$, łączny efekt: $E(\text{Fen}+\text{Zn})$

Źródło: Suszek i in., 2012 (52).

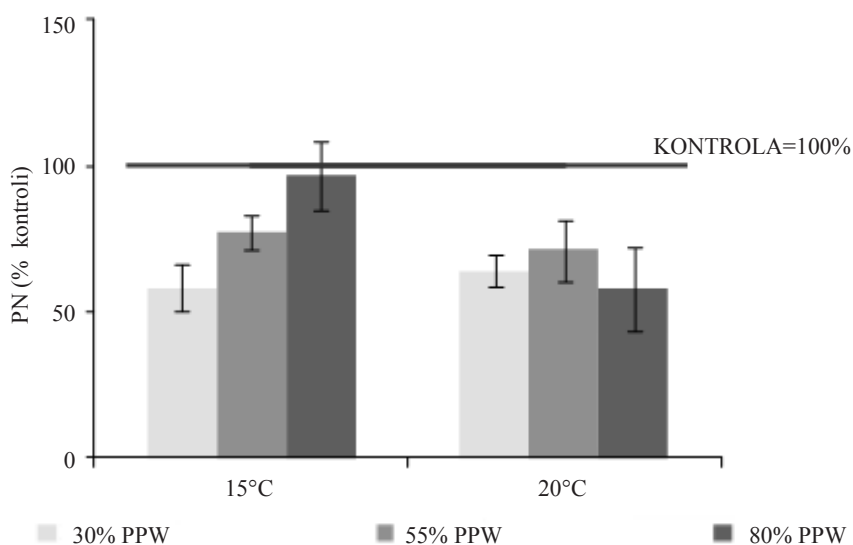
W badaniu tym (52) oceniano także jak zmienia się toksyczność fenantrenu w obecności i bez dodatku Zn, w warunkach różnej wilgotności gleby (rysunek 7). Wyniki wyrażono w % kontroli (kontrola = 100% - potencjał nitryfikacji zaobserwowany w glebie bez dodatku fenantrenu). Obecność Zn zmieniała toksyczne oddziaływanie fenantrenu w zależności od warunków wilgotnościowych gleby. W warunkach optymalnej wilgotności gleby (55% PPW) obecność Zn zmniejszała toksyczne oddziaływanie fenantrenu, przy podwyższonej wilgotności (80 %PPW) Zn nie wpływał na efekt fenantrenu, natomiast w warunkach suszy (30 %PPW) w obecności Zn toksyczność fenantrenu była istotnie większa.

W badaniach trzyczynnikowych (51), oceniano łączny wpływ dwóch czynników środowiskowych: temperatury (optymalnej: 20° C i niskiej 15° C) i wilgotności gleby (warunki: optymalne, suszy i podwyższonej wilgotności, odpowiednio: 55, 30 i 80 %PPW) oraz zanieczyszczenia fenantrenem na aktywność bakterii nitryfikacyjnych (ocena potencjału nitryfikacji). Badanie to wskazuje (rysunek 8), że w warunkach optymalnej temperatury zmiany poziomu wilgotności nie wpływały na toksyczne oddziaływanie fenantrenu, natomiast w warunkach obniżonej temperatury efekt fenantrenu istotnie zależy od zastosowanej wilgotności i jest tym silniejszy im niższa wilgotność gleby.



Rysunek 7. Toksyczność fenantrenu bez i w obecności Zn w stosunku do bakterii nitryfikacyjnych. Oceniany parametr – potencjał nitryfikacji (PN). Słupki błędów – 95% przedziały ufności wg ANOVA, test HSD Tukey'a

Źródło: Suszek i in., 2012 (52).



Rysunek 8. Wpływ temperatury (optymalnej: 20 °C i niskiej 15 °C) i wilgotności gleby (30, 55 i 80 %PPW) na toksyczne oddziaływanie fenantrenu. Kontrola = 100 % - gleba bez dodatku fenantrenu. Słupki błędów – 95% przedziały ufności wg ANOVA, test HSD Tukey'a

Źródło: badania własne (51).

Badania (52, 51) wskazują, że oddziaływanie zanieczyszczeń chemicznych w glebie nie jest wynikiem ich bezpośredniego wpływu na organizmy, ale skomplikowanego układu czynników chemicznych lub środowiskowych.

Stresy łączone czynników środowiskowych i zanieczyszczeń chemicznych stanowią zatem dodatkowe poza ich indywidualnym oddziaływaniem realne zagrożenie dla organizmów glebowych. Oba rodzaje oddziaływań (indywidualne i łączne) są istotne dla obecnych w środowisku glebowym organizmów i powinny być w możliwie jak największym stopniu poznawane i uwzględniane w ocenie ryzyka ekotoksykologicznego.

Podsumowanie

Warunki panujące w środowisku glebowym są zróżnicowane, głównie ze względu na zmienne w czasie poziomy temperatury i wilgotności gleby oraz zróżnicowane właściwości fizykochemiczne gleb. W glebach zanieczyszczonych organizmy glebowe poza stresem chemicznym, pochodzącym najczęściej od mieszaniny zanieczyszczeń, często narażone są na stresowe warunki środowiskowe. Stresy środowiskowe mogą oddziaływać na organizmy indywidualnie lub (jeśli ulegają interakcji) łącznie. Współoddziaływanie zanieczyszczeń i czynników środowiskowych może zachodzić według trzech podstawowych mechanizmów: synergistycznego, antagonistycznego lub addytywnego. Nieuwzględnienie w badaniach ekotoksyczności oddziaływania stresów chemicznych i środowiskowych, może prowadzić do błędnej oceny ryzyka i trudności w ekstrapolacji danych na warunki polowe. Badania podejmujące zagadnienie stresu łączonego wskazują, że stresy środowiskowe, tj. wysoka i niska temperatura, warunki suszy i niedotlenienia oraz współwystępowanie zanieczyszczeń często nasilają efekt toksyczny badanej substancji toksycznej. W przypadku synergistycznego współoddziaływania, nie tylko stresy środowiskowe mogą zwiększać toksyczne efekty substancji chemicznych, ale także odwrotnie, niektóre zanieczyszczenia chemiczne spotykane w glebie mogą wpływać na mechanizmy ochronne organizmów, zwiększając tym samym ich wrażliwość na niekorzystne warunki środowiskowe. Szczególnie cenne i jednocześnie nieliczne są badania podejmujące zagadnienie stresu łączonego więcej niż dwóch czynników stresowych. Każdy kolejny czynnik może w istotny sposób wpływać na interakcje pozostałych stresorów, niosąc tym samym cenną informację o zagrożeniach związanych ze stresem łączonym na jaki są narażone organizmy w środowisku glebowym. Ocena ekotoksykologiczna środowiska glebowego, powinna możliwie w jak największym stopniu uwzględniać łączne oddziaływania stresów środowiskowych i chemicznych na jakie mogą być narażone organizmy glebowe.

Literatura

1. Abdel-Lateif H.M., Donker M.H., Van Straalen N. M.: Interaction between temperature and cadmium toxicity in the isopod *Porcellio scaber*. *Functional Ecology*, 1998 **12**: 521–527.
2. Ahmad S., Ahmad R., Ashraf M.D.Y.N., Ashraf M., Waraich E. A.: Sunflower (*Helianthus annuus* L.) Response to drought stress at germination and seedling growth stages. *Pak. J. Bot.*, 2009, **41**(2): 647–654.
3. Allison S. D., Wallenstein M. D., Bradford M. A.: Soil-carbon response to warming dependent on microbial physiology. *Nature Geoscience*, 2010, **3**: www.nature.com/naturegeoscience.
4. Bednarska A.J., Portka I., Kramarz P.E., Laskowski R.: Combined effect of environmental pollutants (nickel, chlorpyrifos) and temperature on the ground beetle, *Pterostichus oblongopunctatus* (coleoptera: *carabidae*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2009, **28**(4): 864–872.
5. Beltrano J., Ronco M.G.: Improved tolerance of wheat plants (*Triticum aestivum* L.) to drought stress and rewatering by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus claroideum*: Effect on growth and cell membrane stability. *Braz. J. Plant Physiol.*, 2008, **20**(1): 29–37.
6. Bindesbøl A.M., Holmstrup M., Damgaard Ch., Bayley M.: Stress synergy between environmentally realistic levels of copper and frost in the earthworm *dendrobaena octaedra*. *Environ. Toxicol. and Chem.*, 2005, **24**: 1462–1467.
7. Boone M.D., Bridges Ch.M.: The effect of temperature on the potency of carbaryl for survival of tadpoles of the green frog (*Rana clamitans*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1999, **18**(7): 1482–1484.
8. Borken W., Savage K., Davidson E. A., Trumbore S. E.: Effects of experimental drought on soil respiration and radiocarbon efflux from a temperate forest soil. *Global Change Biology*, 2006, **12**: 177–193, doi: 10.1111/j.1365-2486.2005.01058.x.
9. Brisson N., Rebière B., Zimmer D., Renault P.: Response of the root system of a winter wheat crop to waterlogging. *Plant and Soil*, 2002, **243**: 43–55.
10. COM(2006)231 final. Communication from the Commission of the Council, The European Parliament, the European Economic and Social Committee and the Committee of the regions. Thematic Strategy for Soil Protection. 22 September 2006, Brussels
11. Coulon F., Pelletier E., Gourhant L., Delille D.: Effects of nutrient and temperature on degradation of petroleum hydrocarbons in contaminated sub-Antarctic soil. *Chemosphere*, 2005, **58**: 1439–1448.
12. Das S., Bhattacharyya P., Adhya T. K.: Interaction effects of elevated CO₂ and temperature on microbial biomass and enzyme activities in tropical rice soils. *Environ Monit Assess*, 2011, **182**: 555–569.
13. Dijkstra P., Thomas S.C., Heinrich P.L., Koch G.W., Schwartz E., Hungate B.A.: Effect of temperature on metabolic activity of intact microbial communities: Evidence for altered metabolic pathway activity but not for increased maintenance respiration and reduced carbon use efficiency. *Soil Biology & Biochemistry*, 2011, **43**: 2023–2031.
14. Geisseler D., Horwath W. R., Scow K. M.: Soil moisture and plant residue addition interact in their effect on extracellular enzyme activity. *Pedobiologia*, 2011, **54**: 71–78.
15. Gilani S., Wahid A., Ashraf M., Arshad M., Din I.U.: Changes in Growth and Leaf Water Status of Sugarcane (*Saccharum officinarum*) During Heat Stress and Recovery. *International Journal Of Agriculture & Biology* ISSN Print: 1560–8530; ISSN Online: 1814–9596 07–400/ SBC/2008/10–2–191–195 <http://www.fspublishers.org>.
16. Gogolev A., Wilke B.M.: Combination effects of heavy metals and fluoranthene on soil bacteria. *Biol Fertil Soil*, 1997, **25**: 274–278.
17. ul-Haq A., Vamil R. i Agnihotri R. K.: Effect of Osmotic Stress (PEG) on Germination and Seedling Survival of Lentil (*Lens culinaris* MEDIK.). *Research Journal of Agricultural Sciences*, 2010, **1**(3): 201–204.

18. Heinonen J., Honkanen J., Kukkonen J. V. K., Holopainen I. J.: Bisphenol A Accumulation in the Freshwater Clam *Pisidium amnicum* at Low Temperatures. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 2002, **43**: 50-55.
19. Heugens E.H.W., Hendriks A.J., Dekker T., van Straalen N.M. i Admiraal W.: A review of the effects of multiple stressors on aquatic organisms factors for use in risk assessment. *Crit Rev Toxicol*, 2001, **31**: 247-284.
20. Højer R., Bayley M., Damgaard Ch., Holmstrup M.: Stress synergy between drought and a common environmental contaminant: studies with the collembolan *Folsomia candida*. *Global Change Biology*, 2001, **7**: 485-494.
21. Holmstrup M., Bindesbøl A-M., Oostingh G.J., Duschl A., Scheil V.: Interactions between effects of environmental chemicals and natural stressors: A review. *Sci Total Environ.*, 2010, **408**: 3746-3762.
22. Hossain Md. A., Uddin S.N.: Mechanisms of waterlogging tolerance in wheat: Morphological and metabolic adaptations under hypoxia or anoxia. *AJCS*, 2011, **5(9)**: 1094-1101.
23. Kabata-Pendias A.: Trace elements in soils and plants. 4th ed.: CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, London, New York.
24. Khan M.A.Q., Ahmed S. A., Salazar A., Gurumendi J., Khan A., Vargas M., von Catalin B.: Effect of Temperature on Heavy Metal Toxicity to Earthworm *Lumbricus terrestris* (Annelida: *Oligochaeta*) *Environmental Toxicology*, 2007, DOI 10.1002/tox.
25. Koch O., Tscherko D., Kandeler E.: Temperature sensitivity of microbial respiration, nitrogen mineralization, and potential soil enzyme activities in organic alpine soils. *Global Biogeochemical Cycles*, 2007, **21**: GB4017, doi:10.1029/2007GB002983.
26. Kozdrój J.: Microbial reaction to soil contamination with Cd(II) at different temperatures. *Microbiol. Res.*, 2001, **155**: 285-290
27. Laskowski R., Bednarska A. J., Kramarz P. E., Loureiro S., Scheil V., Kudłek J., Holmstrup M.: Interactions between toxic chemicals and natural environmental factors – A meta-analysis and case studies. *Sci. Total Environ.*, 2010, **408**: 3763-3774.
28. Li D., Zhou D., Wang P., Li L.: Temperature affects cadmium-induced phytotoxicity in wheat roots involved in subcellular cadmium distribution and oxidative stress in wheat roots. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2011, **74**: 2029-2035.
29. Long S.M., Reichenberg F., Lister L.J., Hankard P.K., Townsend J., Mayer P., Wright J., Holmstrup M., Svendsen C., Spurgeon D.J.: Combined chemical (fluoranthene) and drought effects on *Lumbricus rubellus* demonstrate the applicability of the independent action model for multiple stressor assessment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2009, **28(3)**: 629-636.
30. Lydy M. J., Belden J. B. i Ternes M. A.: Effects of Temperature on the Toxicity of M-Parathion, Chlorpyrifos, and Pentachlorobenzene to *Chironomus tentans*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 1999, **37**: 542-547.
31. Maliszewska-Kordybach B.: Polycyclic aromatic hydrocarbons in agricultural soils in Poland: preliminary proposals for criteria to evaluate the level of soil contamination. *Applied Geochemistry*, 1996, **11**: 121-127.
32. Maliszewska-Kordybach B., Smreczak B.: Habitat function of agricultural soils as affected by heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons contamination. *Environment International*, 2003, **28**: 719-728.
33. Morison J.I.L., Lawlor D. W.: Interactions between increasing CO₂ concentration and temperature on plant growth. *Plant, Cell and Environment*, 1999, **22**: 659-682.
34. Newman M.C., Unger M.A.: Fundamentals of ecotoxicology. Second Edition. Boca Raton: Lewis Publishers; 2003, pp 458.

35. Nørhave N. J., Spurgeon D., Svendsen C., Cedergreen N.: How does growth temperature affect cadmium toxicity measured on different life history traits in the soil nematode *caenorhabditis elegans*? *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2012, 31 (4): 787-793, 2012 DOI: 10.1002/etc.1746.
36. Northcott G. L., Jones, K. C.: Experimental approaches and analytical techniques for determining organic compound bound residues in soil and sediment. *Environ. Pollut.*, 2000, **108**: 19-43.
37. Noyes P. D., McElwee M. K., Miller H. D., Clark B. W., Van Tiem L. A., Walcott K. C., Erwin K. N., Levin E. D.: The toxicology of climate change: Environmental contaminants in a warming world. *Environment International*, 2009, 35: 971-986.
38. Oleszczuk P.: Phytotoxicity of municipal sewage sludge composts related to physico-chemical properties, PAHs and heavy metals. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2008, 69: 496-505.
39. Oleszczuk P., Hollert H.: Comparison of sewage sludge toxicity to plants and invertebrates in three different soils. *Chemosphere*, 2011, **83**: 502-509.
40. Patra R. W., Chapman J. C., Lim R. P., Gehrke P. C.: The effects of three organic chemicals on the upper thermal tolerances of four freshwater fishes. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2007, **26**(7): 1454-1459.
41. Pettersson M., Bafiafith E.: Temperature-dependent changes in the soil bacterial community in limed and unlimed soil. *FEMS Microbiology Ecology*, 2003, **45**: 13-21.
42. Promkhambut A., Younger A., Polthanee A., Akkasaeng C.: Morphological and Physiological Responses of Sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) to Waterlogging. *Asian Journal of Plant Sciences*, 2010, **9**(4): 183-193.
43. Rodrigo A., Recous S., Neel C., Mary B.: Modelling temperature and moisture effects on C-N transformations in soils: comparison of nine models. *Ecological Modelling*, 1997, **102**: 325-339.
44. Sanaullaha M., Blagodatskaya E., Chabbia A., Rumpela C., Kuzyakov Y.: Drought effects on microbial biomass and enzyme activities in the rhizosphere of grasses depend on plant community composition. *Applied Soil Ecology*, 2011, **48**: 38-44.
45. Sayar R., Khemira H., Kameli A., Mosbahi M.: Physiological tests as predictive appreciation for drought tolerance in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *Agronomy Research*, 2008, **6**(1): 79-90.
46. Shen G., Lu Y., Zhou Q., Hong J.: Interaction of polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metals on soil enzyme. *Chemosphere*, 2005, **61**: 1175-1182.
47. Sijns H., Holmstrup M.: Cold and drought stress in combination with pyrene exposure: studies with *Protaphorura armata* (Collembola: *Onychiuridae*) *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2004, **57**: 145-152.
48. Smit C. E., Van Gestel C. A. M.: Influence of Temperature on the Regulation and Toxicity of Zinc in *Folsomia candida* (Collembola). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1997, **37**: 213-222.
49. Sørensen T. S., Holmstrup M.: A comparative analysis of the toxicity of eight common soil contaminants and their effects on drought tolerance in the collembolan *Folsomia candida*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2005, **60**: 132-139.
50. Starck Z.: Fizjologiczne podstawy produktywności roślin. W: Fizjologia Roślin pod red. Kopcewicz J. i Lewaka S., Wydawnictwo Naukowe PWN 2007, 679-706.
51. Suszek B., Klimkowicz-Pawlas A., Maliszewska-Kordybach B.: Combined effect of soil temperature and moisture condition on phenanthrene toxicity towards nitrifying bacteria. Materiały konferencyjne, International Conference: Protection of agricultural soils against joint stress of natural and anthropogenic factors. 13-16 czerwiec 2011, IUNG-PIB, Puławy, 192-193.
52. Suszek B., Maliszewska-Kordybach B., Klimkowicz-Pawlas A., Smreczak B.: Łączny wpływ warunków środowiskowych i czynników chemicznych na ocenę ekotoksykologiczną zanieczyszczeń gleby. Materiały konferencyjne, Warsztaty Naukowe nt.: Ocena ryzyka zdrowotnego i ekologicznego na terenach rolniczych narażonych na oddziaływanie zanieczyszczeń chemicznych., 9-10 października 2012, IUNG-PIB, Puławy, 28-30.

53. Suszek B., Maliszewska-Kordybach B.: Znaczenie badań ekotoksykologicznych dotyczących stresu łączonego dla ochrony środowiska glebowego. 2012, artykuł umieszczony na stronie Urzędu Marszałkowskiego Województwa Lubelskiego w Lublinie, Departamentu Gospodarki i Innowacji: http://www.rsi2004.lubelskie.pl/doc/sty6/art/Suszek_art.pdf.
54. Udom B.E., Mbagwu J.S.C., Adesodun J.K., Agbim N.N.: Distributions of zinc, copper, cadmium and lead in a tropical. *Environment Internationa*, 2004, **30**: 467-470.
55. Wahid A. S. Gelani, Ashraf M., Foolad M.R.: Heat tolerance in plants: An overview. *Environmental and Experimental Botany*, 2007, **61**: 199-223.
56. Yang Y., Zhang N., Xue M., Lu S.T., Tao S.: Effects of soil organic matter on the development of the microbial polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) degradation potentials. *Environmental Pollution*, 2011, **159**: 591-595.
57. Zenga J., Wang W.-X.: Temperature and irradiance influences on cadmium and zinc uptake and toxicity in a freshwater cyanobacterium, *Microcystis aeruginosa*. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, **190**: 922-929.
58. Zhang N., Xia J., Yu X., Ma K., Wan Sh.: Soil microbial community changes and their linkages with ecosystem carbon exchange under asymmetrically diurnal warming. *Soil Biology & Biochemistry*, 2011, **43**: 2053-2059.
59. Zhu J., Lu Y., Chen W.: Single and joint toxic effects of cadmium and phenanthreneon enchytraeid *Fridericia bulbosa*. *Soil Biol.*, 2008, **44**: 260-265.

Adres do korespondencji

mgr Beata Suszek-Łopatka
Zakład Gleboznawstwa Erozji i Ochrony Gruntów
IUNG-PIB
ul. Czartoryskich 8
24-100 Puławy
tel. 81 886 34 21 w. 316
e-mail: bsuszek@iung.pulawy.pl