

KATARZYNA TURNAU, ANNA JURKIEWICZ i BARBARA GRZYBOWSKA

*Instytut Botaniki*

*Uniwersytet Jagielloński*

*Lubicz 46, 31-512 Kraków*

*e-mail: ubturnau@kinga.cyf-kr.edu.pl*

## ROLA MIKORYZY W BIOREMEDIACJI TERENÓW ZANIECZYSZCZONYCH

Stale wzrastające zanieczyszczenie gleby, powietrza i wód, wynikające z działalności przemysłu, niskiej wydajności metod pozyskiwania metali, chemizacji rolnictwa itp., stanowi istotne zagrożenie dla zdrowia człowieka oraz otaczającej go przyrody (ADRIANO i współaut. 1998). Konieczne jest nie tylko stworzenie sprawnego systemu monitoringu, ale także opracowanie niedrogich i skutecznych technik oczyszczania gleby i zabezpieczania toksycznych związków w miejscu ich depozycji, przeciwdziałających skażeniu wód gruntowych i łańcucha troficznego oraz erozji wietrznej. Istnieje szereg technologii umożliwiających dezaktywację lub usunięcie substancji toksycznych z podłoża, w większości przypadków opartych na metodach ekstrakcji fizyko-chemicznej. Ich zastosowanie wiąże się z niezwykle wysokimi kosztami oraz całkowitą eliminacją występujących w glebie mikroorganizmów. Powrót życia na takie tereny jest utrudniony i najczęściej wymaga ponownej interwencji ze strony człowieka. Odbudowa ekosystemów zbliżonych do naturalnych trwa w takich przypadkach niezwykle długo. Alternatywę dla metod fizyko-chemicznych stanowi fitoremediacja, polegająca na zastosowaniu roślin w procesie obniżania zawartości substancji toksycznych lub w stabilizacji podłoża i hamowaniu procesu erozji (WÓJCIK 2000). Utrudnienie stanowi tu jednak fakt, że dla prawidłowego rozwoju roślin, zwłaszcza w obrębie siedlisk trudnych, wymagane jest wytworzenie właściwych ekosystemów glebowych.

Aktywność mikroorganizmów ryzosfery jest jednym z głównych czynników warunkujących wzrost rośliny oraz jej odporność na patogeny (SMITH i READ 1997, LINDERMAN 2000). Dla omówienia różnorodności i ekologii tej grupy przydatna jest nieco szersza definicja ryzosfery, obejmująca glebę otaczającą korzeń, jego powierzchnię i komórki kory, często skolonizowane przez organizmy endofityczne. Oddziaływanie mikroorganizmów na korzeń może być negatywne, obojętne lub pozytywne. W szczególności ten ostatni typ interakcji jest istotny w sytuacjach, gdy poszukuje się możliwości poprawy warunków wzrostu roślin na terenach zdegradowanych lub skażonych przez działalność człowieka. Do najlepiej poznanych grup organizmów ryzosfery należą symbiotyczne bakterie brodawkowe roślin motylkowych (BROCKWELL i współaut. 1995). Znacznie mniej wiemy o grzybach mikoryzowych (SMITH i READ 1997), którym poświęcone jest niniejsze opracowanie, oraz bakterii i grzybach stymulujących wzrost roślin (ang. plant growth promoting rhizobacteria and fungi, PGPR oraz PGPF). Organizmy te budują swoistego typu konsorcja, wpływające na roślinę poprzez interakcje z patogenami (AZCÓN-AQUILAR i BAREA 1996) lub pobudzające wzrost rośliny poprzez wydzielanie witamin i hormonów (BAREA 1997, 2000). Niektóre mikroorganizmy, np. grzyby z rodzaju *Trichoderma*, mogą równolegle wykorzystywać kilka mechanizmów stymulacji (OUSLEY i współaut. 1994).

## MIKORYZA I JEJ ROLA W ŚRODOWISKU

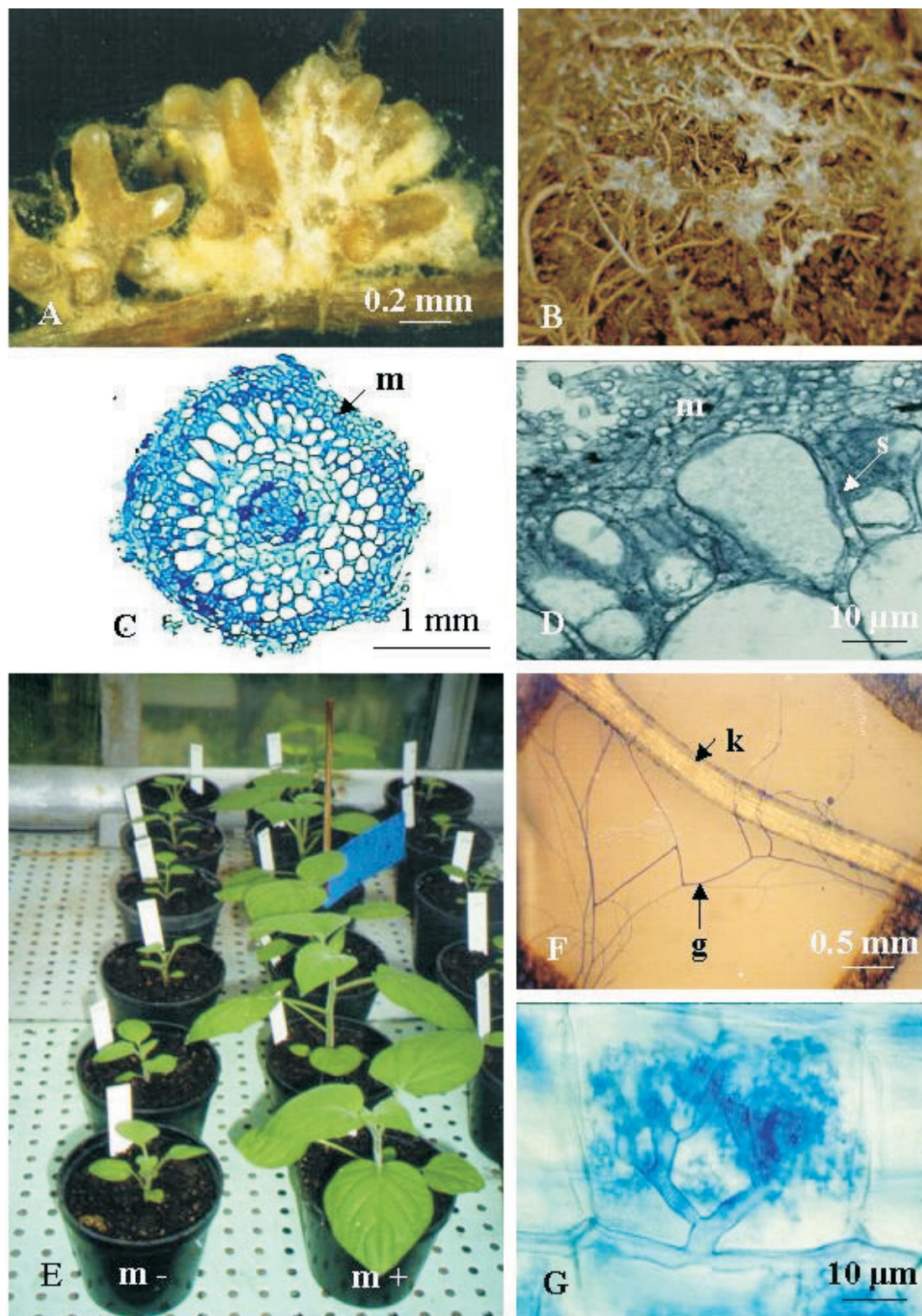
Grzyby mikoryzowe zajmują szczególnie istotne miejsce w obrębie konsorcjum mikroorganizmów ryzosfery. Z jednej strony są one szeroko rozpowszechnione, a z drugiej wykazują zdolność do tworzenia symbiozy ze zdecydowaną większością gatunków roślin na kuli ziemskiej. Cechą wspólną grzybów mikoryzowych jest ich obecność we wszystkich strefach ryzosfery. Ich grzybnia przerasta podłoże otaczające korzenie roślin (Ryc. 1 B, F), przyczyniając się do jego stabilizacji poprzez tworzenie sieci strzępek oraz wydzielanie substancji wiążącej lub sklejającej cząsteczki gleby (MILLER i JASTROW 2000). Sposób kolonizacji korzenia oraz jego powierzchni zależny jest od typu mikoryzy. Wyróżniamy dwa zasadnicze typy mikoryzy, ekto- i endomikoryzę. W pierwszym przypadku grzybnia wytwarza na powierzchni korzenia mniej lub bardziej zbitą mufkę grzybniową (Ryc. 1 A, C, D), której właściwości ochronne zależą od gatunku grzyba symbiotycznego, zdolności do chłonięcia wody, syntezy pigmentów i kwasów organicznych. Grzybnia wnika pomiędzy komórki kory pierwotnej korzenia tworząc tzw. sieć Hartiga, stanowiącą miejsce wymiany substancji pomiędzy partnerami symbiozy. Ektomikoryzę tworzy kilka tysięcy gatunków grzybów, mniej lub bardziej specyficznych względem poszczególnych gatunków roślin, którymi zazwyczaj są drzewa strefy umiarkowanej. Drzewa te są obligatoryjnie mikoryzowe. Znacznie bardziej zróżnicowany typ symbiozy stanowi endomikoryza. Cechą charakterystyczną tego rodzaju mikoryzy jest zdolność penetracji zarówno przestrzeni międzykomórkowych, jak i wnętrza żywych komórek kory korzenia. Do tego typu symbiozy należą: mikoryza storczyków, mikoryza erikoidalna oraz arbuskularna. W pierwszych dwóch typach wewnątrz komórek kory tworzą się zwoje grzybni, podczas gdy w mikoryzie arbuskularnej wykształcają się drzewkowate struktury zwane arbuskulami

(Ryc. 1 G). Mikoryza arbuskularna (AM) jest najszerzej rozpowszechnionym typem mikoryzy, występującym u ponad 80% gatunków roślin, pomimo iż bierze tu udział jedynie około 120 gatunków grzybów zaliczanych do rzędu Glomales. Symbioza ta uważana jest za najstarszą filogenetycznie mikoryzę i zarówno badania molekularne, jak i paleobotaniczne wydają się potwierdzać hipotezę bliskiego związku grupy *Glomales* z korzeniami roślin od momentu ich pojawienia się na lądzie (REMY i współaut. 1994, SIMON i współaut. 1993). Długotrwała koewolucja tych dwóch grup organizmów, trwająca ponad 450 mln lat, niewątpliwie może tłumaczyć zarówno stabilność symbiozy AM, jak i wzajemne uzależnienie od siebie obu grup organizmów. Mikoryza ta odgrywa kluczową rolę w produktywności (Ryc. 1 E), stabilności i różnorodności naturalnych ekosystemów. Gleby zbiorowisk naturalnych zawierające niewiele lub w ogóle nie zawierające propagul grzybów z grupy *Glomales* występują rzadko. Zanik propagul wiąże się z poważnymi konsekwencjami w postaci degradacji zbiorowisk roślinnych, obniżenia biodostępności pierwiastków biogenych i utraty stabilności ekosystemu. Przykładami sytuacji, gdzie dla utworzenia lub odbudowy zbiorowisk roślinnych konieczne jest wprowadzenie propagul grzybów arbuskularnych, są obszary powstałe w wyniku działalności wulkanów oraz wycinki lasów, hałdy przemysłowe, odkrywki pogórnice, tereny rolnicze, na których prowadzono zbyt intensywne nawożenie, oraz tereny silnie skażone związkami toksycznymi, w tym metalami ciężkimi i organicznymi ksenobiotykami (SMITH i READ 1997). Mikoryza staje się w takich sytuacjach niezwykle ważna dla obniżenia toksyczności tych związków dla roślin. Szczególnie ważna jest selekcja odpowiednich szczepów grzybów, przystosowanych do wzrostu w danym siedlisku toksycznym i w danych warunkach klimatycznych.

## WYKORZYSTANIE MIKROORGANIZMÓW W FITOREMEDIACJI

Wśród najczęściej branych pod uwagę praktyk bioremediacyjnych na szczególną uwagę zasługują fitostabilizacja, fitodegradacja i fitoekstrakcja (WÓJCIK 2000). Fitostabilizacja jest procesem, w którym substancje toksyczne unieruchamiane są w glebie dzięki aktywności

roślin obniżającej erozję gleby i hamującej ucieczkę zanieczyszczeń do wód gruntowych lub rozprzestrzenianie się zanieczyszczeń przez wiatr (LOSI i współaut. 1994). Fitodegradacja obejmuje zróżnicowane procesy metaboliczne roślin oraz towarzyszących im mikroor-



Ryc. 1. Najpowszechniej występujące typy mikoryzy: ektomikoryza (A-D) i mikoryza arbuskularna (E-G).

A. Ektomikoryza *Suillus luteus*/*Pinus sylvestris* (fot. P. Mleczek). B. Grzybnia glebowa (ekstramatrykalna) wykształcona wokół korzeni drzew. C. Poprzeczny przekrój przez ektomikoryzę z widoczną mufką grzybniową (m) otaczającą korzeń. D. Fragment przekroju poprzecznego korzenia z widoczną mufką grzybniową (m) oraz siecią Hartiga (s). E. Porównanie wzrostu miechunki (*Physalis* sp.) inokulowanej grzybami arbuskularnymi (m+) oraz nieinokulowanej (m-). F. Sieć grzybni (g) wykształconej blisko korzenia (k) inokulowanego grzybami arbuskularnymi. G. Arbuskula wykształcona w komórkach miększyu korowego korzeni roślin zielnych (fot. E. Orłowska).

ganizmów, prowadzące do rozkładu związków organicznych, takich jak węglowodory poliaromatyczne, pestycydy czy substancje wybuchowe. Z kolei fitoekstrakcja bazuje na zdolności roślin do hiperakumulacji metali. Za rośliny przydatne w tym procesie uważa się takie gatunki lub odmiany, które mogą zakumulować ponad 1% określonego metalu w suchej masie części nadziemnej. Takie rośliny uprawiane są na danym terenie, następnie ich części nadziemne są zbierane, suszone i palone (KUMAR i współaut. 1995, BROOKS 1997).

Początkowo nie zwracano uwagi na konieczność uwzględniania mikroorganizmów glebowych w fitoremediacji. Stosowano natomiast substancje wzmagające dostępność związków toksycznych, a tym samym zwiększające akumulację metali w roślinach (BLAYLOCK i współaut. 1995, SALT i współaut. 1995, CHŁOPECKA i ADRIANO 1996). Dodatkowo podawano nawozy dla zwiększenia biomasy roślin (BAKER i współaut. 1994), jak również prowadzono selekcję najbardziej wydajnych odmian lub wykorzystywano techniki inżynierii genetycznej (BAKER i BROOKS 1989, LEVREBRE i współaut. 1987, MISRA i GEDAMU 1989, MAITI i współaut. 1991). Pod uwagę brano również zdolność roślin do produkcji związków organicznych, wpływających na ryzosferę i udostępniających metale (ERNST 1996, RAO GADDE i LAITINEN 1974, KRISHNAMURTI i współaut. 1997). Spośród roślin pro-

dukujących w ryzosferze znaczne ilości kwasów organicznych zainteresowano się rodzajem *Lupinus*, którego uprawa z powodzeniem może zastąpić stosowanie chemicznych substancji zwiększających dostępność metali w podłożu. W końcu zwrócono uwagę na fakt, iż aktywność mikroorganizmów stanowi ważny czynnik wpływający na procesy uruchamiania i wiązania metali poprzez precypitację siarczków i uwodnionych tlenków żelaza lub przez wiązanie ich przez polisacharydy (LODENIUS i AUTIO 1989, ERNST 1996). Takie pierwiastki jak Pb, Zn i Cu mogą być także wiązane przez węglany i szczawiany produkowane przez mikroorganizmy (BLOOMFIELD 1981). Niezwykle ważne w wiązaniu metali są również grupy funkcyjne zlokalizowane na powierzchni ściany komórkowej mikroorganizmów (FEIN i współaut. 1997).

Biologiczne metody usuwania zanieczyszczeń wykorzystywały głównie bakterie i grzyby saprobialne, podczas gdy rola grzybów mikoryzowych była i wciąż jest niedoceniana. Tymczasem prawidłowo wykształcona mikoryza może zwiększyć przeżywalność roślin w trudnych warunkach poprzez podniesienie dostępności biogenów, obniżenie stresu związanego z niską dostępnością wody, wzmożenie odporności na patogeny, wzmożenie produkcji fitohormonów oraz poprawę struktury podłoża, co w efekcie może znacznie podnieść efektywność procesu bioremediacji.

#### MIKORYZA A FITOSTABILIZACJA

Mikoryza okazała się szczególnie przydatna w fitostabilizacji. Pomimo iż pierwsze rośliny, kolonizujące tereny o podwyższonej zawartości metali ciężkich, to zazwyczaj gatunki niemikoryzowe (SHETTY i współaut. 1994), wykształcenie zwartej pokrywy roślinnej, jak również poprawa struktury gleby uzależnione są od pojawienia się symbiotycznych grzybów. Jest to szczególnie ważne w obrębie takich siedlisk, jak tereny zanieczyszczone materiałem poflotacyjnym, pochodzącym np. z procesów pozyskiwania rud metali cynku i ołowiu. Deponowany w osadnikach materiał jest ubogi w związki azotu i fosforu, charakteryzuje go niska zdolność zatrzymywania wody i jest szczególnie podatny na erozję wietrzną (TURNAU 1998, GUCWA-PRZEPIÓRA i TURNAU 2001). Samoistna kolonizacja takiego podłoża przez grzyby arbuskularne jest procesem długotrwałym. Możli-

we jest natomiast wprowadzenie propagul wybranych szczepów grzybów mikoryzowych w formie inokulum. Poszczególne szczepy różnią się pod względem efektywności wiązania metali, a tym samym obniżania toksyczności podłoża. Grzybnia niektórych szczepów, takich gatunków jak *Glomus mosseae*, tolerujących obecność podwyższonych stężeń metali ciężkich, zdolna jest do wiązania kilkakrotnie większych ilości metali niż grzybnia gatunku stosowanego często w bioremediacji – *Rhizopus arrhizus* (JONER i współaut. 2000). Jak stwierdzono w przypadku kadmu i cynku, pomimo iż pierwiastki te są obecne w grzybni rozwijającej się wewnątrz korzeni roślin, to jednak akumulacja ich w częściach nadziemnych jest ograniczona (JONER i LEYVAL 1997, HILDEBRANDT i współaut. 1999). Zdolność do wiązania i detoksyfikacji metali ciężkich w czę-

ściach podziemnych rośliny, uzyskana dzięki mikoryzie, okazała się szczególnie przydatna dla stymulacji wzrostu roślin uprawnych hodowanych na podłożach zanieczyszczonych. Rośliny te były szczepione grzybnią wyizolowaną z metalofitu *Viola calaminaria* (HILDEBRANDT i współaut. 1999, TONIN i współaut. 2001). Stwierdzono, iż szczepy izolowane z terenów zanieczyszczonych są znacznie bardziej przydatne niż szczepy pochodzące z miejsc niezanieczyszczonych (GALLI i współaut. 1994, LEYVAL i współaut. 1995). Różnice w efektywności detoksyfikacji i akumulacji metali istnieją także pomiędzy szczepami i gatunkami występującymi na terenach skażonych (TURNAU i współaut. 2001b). Dlatego tak ważne są badania nad identyfikacją szczepów oraz ich charakterystyką, prowadzone pod kątem selekcji szczepów najbardziej efektywnych w bioremediacji. Na tym jednak nie koniec. Wyselekcjonowane szczepy muszą być także efektywne w konkurencji z innymi grzybami, które mogą pojawić się na danym terenie. W ostatnich latach, dzięki zastosowaniu metod molekularnych, pojawiła się możliwość śledzenia dalszych losów wprowadzonego szczepu, zarówno w warunkach kultur doniczkowych, jak i w materiale pobranym z terenu. Dla szeregu gatunków i szczepów istnieją specyficzne startery, pozwalające na stwierdzenie obecności wprowadzonych grzybów w obrębie próbek korzeni, odpowiednio wybarwionych, w celu uwidocznienia znajdującej się w ich wnętrzu grzybni. Wykorzystuje się w tym przypadku metodę zagnieżdżonej reakcji łańcuchowej polimerazy (ang. nested PCR) (VAN TUINEN i współaut. 1998a, b; JACQUOT-PLUMEY i współaut. 2001; TURNAU i współaut. 2001b). Poza analizą parametrów partnera grzybowego konieczne jest także przeprowadzanie dokładnych obserwacji mechanizmów pozwalających roślinie na tolerowanie metali przekazywanych jej przez grzybnie. Rośliny w różny sposób reagują na metale ciężkie (ANTOSIEWICZ 1992), a dodatkowo potrafią regulować stopień kolonizacji mikoryzowej (KOIDE i SCHREINER 1992).

Zarówno ektomikoryzy, jak i mikoryzy arbuskularne stymulują wzrost drzew, chronią je przed patogenami oraz obniżają toksyczność podłoża (HASELWANDTER i BOWEN 1996). Grzyby ektomikoryzowe pojawiają się na terenach silnie zanieczyszczonych znacznie szybciej

aniżeli arbuskularne. Wynika to z faktu tworzenia przez nie drobnych zarodników w obrębie owocników eksponujących warstwę rodzajną przeważnie nad powierzchnią ziemi, dzięki czemu zarodniki te są łatwo rozprzestrzeniane przez wiatr, nawet na duże odległości. Poszczególne szczepy oraz gatunki grzybów ektomikoryzowych różnią się także pod względem efektywności w ochronie drzew na terenach skażonych (LEYVAL i współaut. 1997, HARTLEY-WHITAKER i współaut. 2000, BLAUDEZ i współaut. 2000). Zjawisko to można szczególnie łatwo zaobserwować porównując w warunkach laboratoryjnych szczepy izolowane z terenów zanieczyszczonych i niezanieczyszczonych (COLPAERT i współaut. 2000). Za istotny mechanizm ochronny, pozwalający na przetrwanie drzew w warunkach zanieczyszczenia, uważa się unieruchamianie metali ciężkich w obrębie grzybni i zahamowanie ich transferu do tkanek roślinnych (LEYVAL i współaut. 1997, KHAN i współaut. 2000). Zjawisko to tłumaczy się wiązaniem pierwiastków przez pigmenty deponowane na powierzchni grzybni przerastającej glebę (GALLI i współaut. 1994, TURNAU i współaut. 1994), w obrębie ściany grzybni (GALLI i współaut. 1993, TAM 1995) oraz w bogatych w fosfor ziarnistościach wakuolarnych (TURNAU i współaut. 1994). W większości przypadków efekt biofiltracji dotyczy grzybni ekstramatrykalnej. Stwierdzono jednak, że niekiedy rolę tę może również pełnić mufka grzybniowa. Taką sytuację opisano u *Rhizopogon roseolus* i *Suillus luteus* z hałd cynkowych na terenie Polski (TURNAU i współaut. 1996, 2001a). W mikoryzach sosny utworzonych przez wymienione gatunki grzybów stwierdzono tworzenie charakterystycznego gradientu stężeń metali ciężkich, malejącego w kierunku do wnętrza mufki. Selekcja szczepów grzybów mikoryzowych do inokulacji siewek drzew sadzonych na terenach skażonych jest ważnym czynnikiem pozwalającym na łatwiejsze przyjęcie się drzew w obrębie trudnych siedlisk. Wprowadzenie drzew na tereny hałd i wykształcenie właściwego systemu korzeniowego pozwala na poprawę struktury gleby oraz zwiększenie ilości materii organicznej, co z kolei stwarza lepsze warunki dla rozwoju roślin zielnych wraz z towarzyszącymi im organizmami symbiotycznymi (ORŁOWSKA i współaut. 2002).

## MIKORYZA A FITODEGRADACJA I FITOEKSTRAKCJA

W technologiach degradacji organicznych zanieczyszczeń gleby wykorzystywano dotychczas głównie bakterie i grzyby saprobiontyczne (WILSON i BRADLEY 1996, BEZALEL i współaut. 1997, SCHÜTZENDÜBEL i współaut. 1999). Stwierdzono również korzystny efekt uprawy roślin o obfitym systemie korzeniowym na rozkład poliaromatycznych węglodorów (PAH) (SCHWAB i BANKS 1994, REILLEY i współaut. 1996). Wprowadzenie do takich upraw mikroorganizmów ryzosferowych stanowi alternatywę dla stosowanych substancji zwiększających dostępność substancji toksycznych (SCHWAB i BANKS 1994, SHANN i BOYLE 1994). Zarówno grzyby ektomikoryzowe, jak i arbuskularne mogą być korzystne w procesie fitodegradacji. Pomimo, iż liczebność propagul grzybów arbuskularnych maleje przy rosnącym stężeniu ksenobiotyków (LEYVAL i BINET 1998), mogą one jednak wspomagać wzrost roślin przez obniżenie stresu związanego z brakiem dostępności fosforu (JONER i LEYVAL 2001) oraz wody (SANCHEZ-DIAZ i HONRUBIA 1994), jak również wzmacniać pro-

dukcję enzymów oksydacyjnych (SALZER i współaut. 1999). Grzyby ektomikoryzowe mogą dodatkowo produkować enzymy uczestniczące co najmniej w etapach wstępnych lub pośrednich rozkładu ksenobiotyków (BARR i AUST 1994, MEHARG i CAIRNEY 2000), co pozwala na ułatwienie dalszego rozkładu przez inne organizmy ryzosfery (DONNELLY i FLETCHER 1994, GILBERT i CROWLEY 1997, GREEN i współaut. 1999).

Najmniej uwagi poświęcono dotychczas zastosowaniu mikoryzy w procesie fitoekstrakcji. Do niedawna sądzono, że rośliny hiperakumulujące nie tworzą związków mikoryzowych. Ostatnio jednak stwierdzono występowanie mikoryzy u kilku gatunków z rodziny złożonych (dane niepublikowane). Stwarza to nowe możliwości praktycznego działania. Rola mikoryzy niekoniecznie musi polegać na wzmożeniu procesu fitoekstrakcji, ale przede wszystkim na zwiększeniu biomasy plonu, poprawie warunków glebowych oraz na ochronie roślin przed patogenami.

## MIKORYZY JAKO WSKAŹNIKI TOKSYCZNOŚCI PODŁOŻA ORAZ TEMPA PROCESU REMEDIACJI

Grzyby mikoryzowe mogą być także przydatne do określania toksyczności podłoża (WEISENHORN i współaut. 1993, GUCWA-PRZEPIÓRA i TURNAU 2001) lub wydajności procesu remediacji (ORŁOWSKA i współaut. 2002). Badania stopnia mikoryzacji mogą zastąpić chemiczne metody oceny toksyczności podłoża, szczególnie gdy czynników stresowych jest więcej. W takich przypadkach ocena stopnia kolonizacji, obfitości tworzenia arbuskul lub żywotności mikoryz i zarodników może służyć jako prosty i tani wskaźnik stanu podłoża (LOVERA i CUENCA 1996, HASELWANDTER 1997). Tego typu badania przeprowadza się na glebie pobranej z terenu i analizuje się parametry mikoryzacji na materiale hodowanym na tej glebie w warunkach laboratoryjnych. W takim monitoringu ważny jest staranny dobór zarówno szczepu grzyba, jak i odpowiedniej rośliny (ORŁOWSKA i współaut. 2002). Wśród dotychczas przebadanych gatunków roślin na uwagę zasługuje zazwyczaj silnie kolonizowana przez grzyby arbuskularne babka lancetowata (*Plantago lanceolata* L.), która występuje na zróżnicowanych siedliskach, jest od-

porną na szeroki zakres elementów stresowych, a także możliwe jest w stosunkowo prosty sposób uzyskanie klonów jednej rośliny, co pozwala na eliminację genetycznych różnic między osobnikami pod względem reakcji na substancje toksyczne (WU i ANTONOVICS 1975, 1976; BARONI i współaut. 2000; BAKKER i współaut. 1999).

Europa Środkowa i Wschodnia to teren o szczególnie częstym występowaniu rozległych hałd przemysłowych, terenów depozycji odpadów różnego typu oraz miejsc, gdzie w niewystarczającym stopniu zabezpieczano niewykorzystane środki ochrony roślin, jak również obszary znajdujące się pod wpływem intensywnej motoryzacji i uprzemysłowienia. Pomimo często prawidłowo prowadzonej akcji uświadamiającej mieszkańcom problem skażenia, wciąż napotyka się uprawy roślin przeznaczonych do konsumpcji na terenach silnie zanieczyszczonych. Potrzebne są tu tanie i szybkie metody monitoringu, a następnie niedrogie i skuteczne techniki fitoremediacji, w których zastosowanie grzybów mikoryzowych powinno odgrywać istotną rolę. Na podkreślenie

zasługuje fakt, że badania nad tą grupą grzybów powinny być prowadzone kompleksowo i winny uwzględniać także inne organizmy ryzofery, z którymi wchodzi one w interakcje (JEFFRIES i współaut. 2002).

Powyższe rozważania obrazują, jak szerokie i różnorodne są możliwości wykorzystania naturalnych zjawisk do rozwiązywania trudnych problemów współczesnej cywilizacji.

Uzasadnia to dynamiczny rozwój szeregu dziedzin nauki, zajmujących się omówionymi kwestiami, dążący do poznania mechanizmów wspomnianych zjawisk i optymalizacji ich wykorzystania w praktyce. Dzięki temu w ciągu ostatnich lat miał miejsce znaczny postęp w zakresie wiedzy teoretycznej i znajomości zastosowań praktycznych opracowywanych metod.

## THE ROLE OF MYCORRHIZA IN BIOREMEDIATION OF POLLUTED SITES

### S u m m a r y

Industry, ineffective mining technologies, overuse of chemicals in agriculture result among others in increasing pollution of soil, air and water. In consequence many bare areas are created, exposed to wind erosion and contaminating ground waters. The introduction of plants on such sites is of utmost importance for stabilization of the soil. Plants can be used not only in phytostabilisation, but also in phytodegradation (degradation of soil pollutants by plants) and phytoextraction (extraction of e.g. soil metals by plants). The degraded sites often highly polluted, are usually devoid of beneficial soil microorganisms the plants naturally rely on. Most plants are symbiotic with soil fungi, forming ecto- and endomycorrhizal associa-

tions. Those natural allies could be used to enhance plant survival on difficult sites. Mycorrhizal fungi not only provide the plants with water and mineral compounds and help to improve the structure of soil, but were also shown to act as filters, blocking toxic compounds within their mycelium. Moreover, they influence the physiology of their host plants making them less vulnerable to pathogens, soil pollution, salinity, drought and a number of other environmental stress factors. By using specific fungal strains isolated from polluted sites, showing improved tolerance to toxic compounds, the success of new techniques, such as phytostabilisation, phytodegradation and phytoextraction, could be optimised.

### LITERATURA

- ADRIANO D. C., CHLOPECKA A., KAPLAN D. I., 1998. *Role of Soil Chemistry in Soil Remediation and Ecosystem Conservation. Soil Chemistry and Ecosystem Health. Special Publication 52: Soil Science Society of America, Madison, USA.*
- ANTOSIEWICZ D. M., 1992. *Adaptation of plants to an environment polluted with heavy metals.* Acta Soc. Bot. Pol. 61, 281–299.
- AZCÓN-AGUILAR C., BAREA J. M., 1996. *Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens. An overview of the mechanisms involved.* Mycorrhiza 6, 457–464.
- BAKER A. J. M., BROOKS R. R., 1989. *Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements: A review of their distribution, ecology and phytochemistry.* Biorecovery 1, 81–126.
- BAKER A. J. M., REEVES R. D., HAJAR A. S. M., 1994. *Heavy metal accumulation and tolerance in British populations of the metallophyte *Thlaspi caerulescens* J & C Presl (Brassicaceae).* New Phytol. 127, 61–68.
- BAKKER M. I., VORENHOUT M., SIJM D. T. H. M., KOLLOFEL C., 1999. *Dry deposition of atmospheric polycyclic hydrocarbons in three *Plantago* species.* Env. Toxic. Chem. 18, 2289–2294.
- BARR D. P., AUST S. D., 1994. *Mechanisms white rot fungi use to degrade pollutants.* Environm. Sci. Technol. 28, 79–87.
- BAREA J. M., 1997. *Mycorrhiza/bacteria interactions on plant growth promotion.* [W:] *Plant growth-promoting rhizobacteria, present status and future prospects.* OGOSHI A., KOBAYASHI L., HOMMA Y., KODAMA F., KONDON N., AKINO S. (red.). OECD, Paris, 150–158.
- BAREA J. M., 2000. *Rhizosphere and mycorrhiza of field crops.* [W:] *Biological resource management: connecting science and policy.* TOUTANT J. P., BALAZS E., GALANTE E., LYNCH J. M., SCHEPERS J. S., WERNER D., WERRY P. A. (red.). (OECD) INRA, Editions and Springer, 110–125.
- BARONI F., BOSCAGLI A., PROTANO G., RICCOBONO F., 2000. *Antimony accumulation in *Achillea ageratum*, *Plantago lanceolata* and *Silene vulgaris* growing in an old Sb-mining area.* Env. Poll. 109, 347–352.
- BEZALEL L., HADAR Y., CERNIGLIA C. E., 1997. *Enzymatic mechanisms involved in phenanthrene degradation by the white rot fungus *Pleurotus ostreatus*.* Appl. Env. Microbiol. 63, 2495–2501.
- BLAUDEZ D., JACOB C., TURNAU K., COLPAERT J. V., AHONEN-JONNARTH U., FINLAY R., BOTTON B., CHALOT M., 2000. *Differential responses of ectomycorrhizal fungi to heavy metals in vitro.* Mycol. Res. 104, 1366–1371.
- BLAYLOCK M. J., ZAKHAROVA O., SALT D. E., RASKIN I., 1995. *Increasing heavy metal uptake through soil amendments. The key to effective phytoremediation.* [W:] *Agronomy abstracts.* ASA, Madison, WI, 218.
- BLOOMFIELD C., 1981. *The translocation of metals in soils.* [W:] *The chemistry of soil processes.* GREENLAND

- D. J., HAYES M. H. B. (red.). John Wiley & Sons Ltd, Chichester.
- BROCKWELL J., BOTTOMLEY P. J., THIES J. E., 1995. *Manipulation of rhizobia microflora for improving legume productivity and soil fertility: a critical assessment*. *Plant Soil* 174, 143–180.
- BROOKS R. R., 1997. *Plant hyperaccumulators of metals and their role in mineral exploration, archaeology, and land reclamation*. [W:] *Remediation of metal-contaminated soils*. ISKANDAR I. K., ADRIANO D. C. (red.). Science Reviews, Northwood, England, 123–133.
- CHŁOPECKA A., ADRIANO D. C., 1996. *Mimicked in situ stabilization of metals in a cropped soil*. *Environm. Sci. Technol.* 30, 3294–3303.
- COLPAERT J. V., VANDENKOORNHUYSE P., ADRIANSEN K., VANGRONSVELD J., 2000. *Genetic variation and heavy metal tolerance in the ectomycorrhizal basidiomycete *Suillus luteus**. *New Phytol.* 147, 367–379.
- DONNELLY P. K., FLETCHER J. S., 1994. *Potential use of mycorrhizal fungi as bioremediation agents*. [W:] *Bioremediation through rhizosphere technology*. ANDERSON T. A., COATS J. R. (red.). American Chemical Society, Washington DC, 93–99.
- ERNST W. H. O., 1996. *Bioavailability of heavy metals and decontamination of soils by plants*. *Appl. Geochem.* 11, 163–167.
- FEIN J. B., DAUGHNEY C. J., YEE N., DAVIS T. A., 1997. *A chemical equilibrium model for metal absorption onto bacterial surfaces*. *Geochem. Cosmochim. Acta* 61, 3319–3328.
- GALLI U., MEIER M., BRUNOLD C., 1993. *Effects of cadmium on non-mycorrhizal and mycorrhizal Norway spruce seedlings (*Picea abies* (L.) Karst.) and its ectomycorrhizal fungus *Laccaria laccata* (Scop. ex Fr.) Bk. and Br.: Sulphate reduction, thiols and distribution of the heavy metals*. *New Phytol.* 125, 837–843.
- GALLI U., SCHÜEPP H., BRUNOLD C., 1994. *Heavy metal binding by mycorrhizal fungi*. *Physiol. Pl.* 92, 364–368.
- GILBERT E. S., CROWLEY D. E., 1997. *Plant compounds that induce polychlorinated biphenyl biodegradation by *Arthrobacter* sp. strain BIB*. *Appl. Env. Microbiol.* 63, 1933–1938.
- GREEN N. A., MEHARG A. A., TILL C., TROKE J., NICHOLSON J. K., 1999. *Degradation of 4-fluorobiphenyl by mycorrhizal fungi as determined by 19C radiolabeling analysis*. *Appl. Env. Microbiol.* 65, 4021–4027.
- GUCWA-PRZEPIÓRA E., TURNAU K., 2001. *Arbuscular mycorrhiza and plant succession in the zinc smelter spoil heap in Katowice-Wetłnowiec*. *Acta Soc. Bot. Poloniae* (w druku).
- HARTLEY-WHITAKER J., CAIRNEY J. W. G., MEHARG A. A., 2000. *Sensitivity to Cd or Zn of host and symbiont of ectomycorrhizal *Pinus sylvestris* L. (Scots pine) seedlings*. *Plant Soil* 218, 31–42.
- HASELWANDTER K., 1997. *Soil micro-organisms, mycorrhiza, and restoration ecology*. [W:] *Restoration ecology and sustainable development*. URBAŃSKA K., WEBB N. R., EDWARDS P. J. (red.). Cambridge Univ. Press, Cambridge, 65–80.
- HASELWANDTER K., BOWEN G. D., 1996. *Mycorrhizal relations in trees for agroforestry and land rehabilitation*. *Forest Ecol. Managem.* 81, 1–17.
- HILDEBRANDT U., KALDORF M., BOTHE H., 1999. *The zinc violet and its colonization by arbuscular mycorrhizal fungi*. *J. Pl. Physiol.* 154, 709–717.
- JACQUOT-PLUMÉY E., VAN TUINEN D., CHATAGNIER O., GIANINAZZI S., GIANINAZZI-PEARSON V., 2001. *25S rDNA-based molecular monitoring of glomalean fungi in sewage sludge-treated field plots*. *Env. Microbiol.* 3, 525–531.
- JEFFRIES P., GIANINAZZI S., PEROTTO S., TURNAU K., BAREA J. M., 2002. *The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility*. *Ecol. J. Microbiol.* (w druku).
- JONER E. J., LEYVAL C., 1997. *Uptake of 109Cd by roots and hyphae of *Glomus mosseae*/Trifolium subterraneanum mycorrhiza from soil amended with high and low concentration of cadmium*. *New Phytol.* 135, 353–360.
- JONER E. J., LEYVAL C., 2001. *Influence of arbuscular mycorrhiza on clover and ryegrass grown together in a soil spiked with polycyclic aromatic hydrocarbons*. *Mycorrhiza* 10, 155–159.
- JONER E. J., BRIONES R., LEYVAL C., 2000. *Metal-binding capacity of arbuscular mycorrhizal mycelium*. *Plant Soil* 226, 227–234.
- KHAN A.G., KUEK C., CHAUDHRY T. M., KHOO C. S., HAYES W. J., 2000. *Role of plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation*. *Chemosphere* 41, 197–207.
- KOIDE R. T., SCHREINER R. P., 1992. *Regulation of the vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis*. *Ann. Rev. Pl. Physiol. Pl. Mol. Biol.* 43, 557–581.
- KRISHNAMURTI G. S. R., CIESLINSKI G., HUANG P. M., VAN REES K. C. J., 1997. *Kinetics of cadmium release from soils as influenced by organic acids: Implication in cadmium availability*. *J. Env. Qual.* 26, 271–277.
- KUMAR P., DUSCHENKOV V., MOTTO H., RASKIN I., 1995. *Phytoextraction: The use of plants to remove heavy metals from soils*. *Env. Sci. Technol.* 29, 1232–1238.
- LEVEBRE K. K., MIKI B. L., LALIBERTE J. F., 1987. *Mammalian metallothionein functions in plants*. *Biotechnol.* 5, 1053–1056.
- LEYVAL C., BINET P., 1998. *Effect of polyaromatic hydrocarbons in soil on arbuscular mycorrhizal plants*. *J. Env. Qual.* 27, 402–407.
- LEYVAL C., SINGH B. R., JONER E. J., 1995. *Occurrence and infectivity of arbuscular mycorrhizal fungi in some Norwegian soils influenced by heavy metals and soil properties*. *Water Air Soil Poll.* 83, 203–216.
- LEYVAL C., TURNAU K., HASELWANDTER K., 1997. *Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: physiological, ecological and applied aspects*. *Mycorrhiza* 7, 139–153.
- LINDERMAN R. G., 2000. *Effects of mycorrhizas on plant tolerance to diseases*. [W:] *Arbuscular mycorrhizas: physiology and function*. KAPULNIK Y., DOUDS D. D. Jr. (red.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 345–365.



- LODENIUS M., AUTIO S., 1989. *Effects of acidification on the mobilization of cadmium and mercury from soils*. Arch. Env. Contamin. Toxicol. 18, 261–267.
- LOSI M. E., AMRHEIN C., FRANKENBERGER W. T., 1994. *Bioremediation of chromate contaminated groundwater by reduction and precipitation in surface soils*. J. Env. Qual. 23, 1141–1150.
- LOVERA M., CUENCA G., 1996. *Arbuscular mycorrhizal infection in Cyperaceae and Gramineae from natural, disturbed and restored savannas in La Gran Sabana, Venezuela*. Mycorrhiza 6, 111–118.
- MAITI I. B., WAGNER G. J., HUNT A. G., 1991. *Light inducible and tissue specific expression of a chimeric mouse metallothionein cDNA gene in tobacco*. Pl. Sci. 76, 99–107.
- MEHARG A. A., CAIRNEY J. W. G., 2000. *Ectomycorrhizas - extending the capabilities of rhizosphere remediation?* Soil Biol. Biochem. 32, 1475–1484.
- MILLER R. M., JASTROW J. D., 2000. *Mycorrhizal fungi influence soil structure*. [W:] *Arbuscular mycorrhizas: physiology and function*. KAPULNIK Y., DOUDS D. D. (red.). Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 3–18.
- MISRA S., GEDAMU L., 1989. *Heavy metal tolerant Brassica napus L. and Nicotiana tabacum L. plants*. Theor. Appl. Genet. 78, 161–168.
- ORŁOWSKA E., ZUBEK SZ., JURKIEWICZ A., SZAREK-ŁUKASZEWSKA G., TURNAU K., 2002. *Influence of restoration on arbuscular mycorrhiza of Biscutella laevigata L. (Brassicaceae) and Plantago lanceolata L. (Plantaginaceae) from calamine spoil mounds*. Mycorrhiza 12, 153–159.
- OUSLEY M. A., LYNCH J. M., WHIPPS J. M., 1994. *Potential of Trichoderma spp as consistent plant-growth stimulators*. Biol. Fert. Soils 17, 85–90.
- RAO GADDE R., LAITINEN H. A., 1974. *Studies of heavy metal adsorption by hydrous iron and manganese oxides*. Analytical. Chem. 46, 2022–2026.
- REILLEY K. A., BANKS M. K., SCHWAB A. P., 1996. *Dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere*. J. Env. Qual. 25, 212–219.
- REMY W., TAYLOR T. N., HAAS H., KERP H., 1994. *Four hundred-million-year-old vesicular-arbuscular mycorrhizae*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91, 11841–11843.
- SALT D. E., BLAYLOCK N., KUMAR N., DUSHENKOV V., ENSLEY B. D., CHET I., RASKIN I., 1995. *Phytoremediation: A novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants*. Biotechnol. 13, 468–474.
- SALZER P., CORBERE H., BOLLER T., 1999. *Hydrogen peroxide accumulation in Medicago truncatula roots colonized by the arbuscular mycorrhiza-forming fungus Glomus intraradices*. Planta 208, 319–325.
- SANCHEZ-DIAZ M., HONRUBIA M., 1994. *Water relations and alleviation of drought stress in mycorrhizal plants*. [W:] *Impact of arbuscular mycorrhizas on sustainable agriculture and natural ecosystems*. GIANINAZZI S., SCHÜEPP H. (red.). Birkhäuser, Basel, 167–178.
- SCHÜTZENDÜBEL A., MAJCHERCZYK A., JOHANNES C., HUTTERMANN A., 1999. *Degradation of fluorene, anthracene, phenanthrene, fluoranthene, and pyrene lacks connection to the production of extracellular enzymes by Pleurotus ostreatus and Bjerkandera adusta*. Int. Biodeterior Biodegradat. 43, 93–100.
- SCHWAB A. P., BANKS M. K., 1994. *Biologically mediated dissipation of polyaromatic hydrocarbons in the root zone*. [W:] *Bioremediation through rhizosphere technology*. ANDERSON T. A., COATS J. R. (red.). American Chemical Society, Washington DC, 132–141.
- SHANN J. R., BOYLE J. J., 1994. *Influence of plant species on in situ rhizosphere degradation*. [W:] *Bioremediation through rhizosphere technology*. ANDERSON T. A., COATS J. R. (red.). American Chemical Society, Washington DC, 70–81.
- SHETTY K. G., BANKS M. K., HETRICK B. A., SCHWAB A. P., 1994. *Biological characterization of a southeast Kansas mining site*. Water Air Soil Poll. 78, 169–177.
- SIMON L., BOUSQUET J., LÉVESQUE R. C., LALONDE M., 1993. *Origin and diversification of endomycorrhizal fungi and coincidence with vascular land plants*. Nature 363, 67–69.
- SMITH S. E., READ D. J., 1997. *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press, London.
- TAM P. C. F., 1995. *Heavy metal tolerance by ectomycorrhizal fungi and metal amelioration by Pisolithus tinctorius*. Mycorrhiza 5, 181–187.
- TONIN C., VANDENKOORNHUYSE P., JONER E. J., STRACZEK J., LEYVAL C., 2001. *Assessment of arbuscular mycorrhizal fungi diversity in the rhizosphere of Viola calaminaria and effect of these fungi on heavy metal uptake by clover*. Mycorrhiza 10, 161–168.
- TURNAU K., 1998. *Heavy metal uptake and arbuscular mycorrhiza development of Euphorbia cyparissias on zinc wastes in South Poland*. Acta Soc. Bot. Poloniae 67, 105–113.
- TURNAU K., KOTTKE I., DEXHEIMER J., 1996. *Toxic element filtering in Rhizopogon roseolus/Pinus sylvestris mycorrhizas collected from calamine dumps*. Mycol. Res. 100, 16–22.
- TURNAU K., KOTTKE I., DEXHEIMER J., BOTTON B., 1994. *Element distribution in Pisolithus tinctorius mycelium treated with cadmium dust*. Ann. Bot. 74, 137–142.
- TURNAU K., PRZYBYLOWICZ W. J., MESJASZ-PRZYBYLOWICZ J., 2001a. *Heavy metal distribution in Suillus luteus mycorrhizas as revealed by micro-PIXE analysis*. Nucl. Instr. Meth. Phys. Res. B 181, 649–658.
- TURNAU K., RYSZKA P., TUINEN VAN D., GIANINAZZI-PEARSON V., 2001b. *Identification of arbuscular mycorrhizal fungi in soils and roots of plants colonizing zinc wastes in Southern Poland*. Mycorrhiza 10, 169–174.
- VAN TUINEN D., JACQUOT E., ZHAO B., GALLOTTE A., GIANINAZZI-PEARSON V., 1998a. *Characterization of root colonization profiles by a microcosm community of arbuscular mycorrhizal fungi using 25S rDNA-targeted nested PCR*. Mol. Ecol. 7, 879–887.
- VAN TUINEN D., ZHAO B., GIANINAZZI-PEARSON V., 1998b. *PCR in studies of AM fungi: from primers to application*. [W:] *Mycorrhizal manual*. VARMA A. K. (red.). Springer-Verlag, Heidelberg, 387–399.

- WEISSENHORN I., LEYVAL C., BERTHELIN J., 1993. *Cd-tolerant arbuscular mycorrhizal (AM) fungi from heavy metal polluted soils*. Plant Soil 157, 247-256.
- WILSON N. G., BRADLEY G., 1996. *Enhanced degradation of petrol (Slovene diesel) in an aqueous system by immobilized Pseudomonas fluorescens*. J. Appl. Bacteriol. 80, 99-104.
- WÓJCIK M., 2000. *Fitoremediacja – sposób oczyszczania środowiska*. Kosmos 49, 135-147.
- WU L., ANTONOVICS J., 1975. *Experimental ecological genetics in Plantago. I. Induction of roots and shoots on leaves for large scale vegetative propagation and metal tolerance testing in P. lanceolata*. New Phytol. 75, 277-282.
- WU L., ANTONOVICS J., 1976. *Experimental ecological genetics in Plantago. II. Lead tolerance in Plantago lanceolata and Cynodon dactylon from roadside*. Ecology 57, 205-208.