

MONITORING A POTENCIÁLNE OHROZENIE JASKYNNÝCH EKOSYSTÉMOV RIZIKOVÝMI PRVKAMI V OKOLÍ PONICKEJ JASKYNE

MONITORING AND POTENTIALLY THREATENING OF CAVE ECOSYSTEMS BY RISK ELEMENTS IN THE VICINITY OF PONICKÁ CAVE

Lenka BOBUESKÁ^{1,} – Valentína LOŠONCZIOVÁ¹ – Lenka DEMKOVÁ^{1,*} – Július ÁRVAY² – Dagmar HAVIAROVÁ³*

ABSTRACT

The aim of this study is to analyse biochemical indices in soil samples collected in Karst region. Soil organic carbon, total nitrogen carbon, soil reaction, enzymatic activity and content of risk elements were determined on nine sites around Ponická cave. Enzymatic activity reduces its function under the influence of inappropriate agricultural activity. Ponická cave is characterized by a close hydrological connection with the earth's surface, thus represents very vulnerable habitat, which would deserve more attention in the protection of natural elements of the landscape. Very high concentration of toxic elements (As, Cd, Co, Cu, Fe, Mn, Pb and Zn) was recognized on localities that are close to the cave entry, which in higher concentrations cause contamination of underground ecosystems. The results showed that risk elements have impact on important soil parameters, such as enzymatic activity of microbial population and chemical properties. In view of the risks associated with the water erosion and rainwater run-off from non-karst land, agricultural activity on these soils should be completely excluded.

KEYWORDS

soil enzymes, soil chemical properties, environmental disturbances, cave ecosystem

ÚVOD

Pôda ako hlavný činiteľ ovplyvňujúci chod a ráz krajiny je pod stálym vplyvom rôznych odpadových látok prírodného alebo antropogénneho charakteru, ktoré ohrozujú celistvosť a kolobeh potravného reťazca (GERARD a kol., 1982). Pôdny ekosystém je komplexný, dynamický a živý orgán, ktorý tvoria minerálne a organické zložky, vzduch a voda. Organické zložky, ktoré tvoria podstatnú časť tohto systému pochádzajú zo živých organizmov vrátane rastlín, baktérií, húb, fauny a ich zvyškov. Jednotlivé zložky pôdy sú ovplyvňované biotickými a abiotickými činiteľmi, ktoré sa vytvárajú aj spontánne, teda bez zásahu akejkoľvek činnosti človeka (YANG a kol.,

1 Katedra ekológie, Fakulta humanitných a prírodných vied, Prešovská Univerzita v Prešove, 17. novembra č. 1, SK- 081 16 Prešov, Slovensko; e-mail: losoncziova.v@gmail.com, lenka.bobulska@unipo.sk, lenka.demkova@unipo.sk

2 Katedra chémie, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, SK- 949 76 Nitra, Slovensko; email: julius.arvay@uniag.sk

3 Štátna ochrana prírody Slovenskej republiky, Správa slovenských jaskýň, Hodžova 11, SK- 031 01 Lip-tovský Mikuláš, Slovensko; email: dagmar.haviarova@ssj.sk

* Autor pre korešpondenciu.

2007). Jaskynné ekosystémy, ktoré predstavujú veľmi špecifické prostredie pre živé organizmy, sú vo veľkej miere ovplyvňované vonkajším prostredím (LUNGHİ a kol., 2020). Jaskynné geosystémy tvoria podzemné priestory, úplne alebo v prevažnej miere ohraničené jaskynným georeliéfom. Vyznačujú sa viacerými špecifickými fyziognomickými črtami komponentov geografickej sféry, priestorovou organizáciou a prírodnými procesmi. Vyznačujú sa absenciou svetla, relatívne stabilnou teplotou a špecifickou kompozíciou jaskynnej fauny (BELLA, 2005). Tieto systémy patria medzi najzraniteľnejšie typy prostredia na Zemi vzhľadom k tomu, že sú mimoriadne citlivé na akékoľvek zmeny (CUEZVA a kol., 2009; TOMOVA a kol., 2019). Jaskynné systémy citlivo reagujú na antropogénne vplyvy, ktoré dokážu významne ovplyvniť zmenu dostupnosti energie prostredníctvom zvýšenia podielu organickej hmoty a živín do jaskýň. Tieto nové organické zdroje využívajú predovšetkým mikroorganizmy, ktoré dokážu nepriamo ovplyvniť klímu jaskyne (napr. zníženie dostupnosti kyslíka), a tým meniť diverzitu a abundanciu jaskynnej fauny (TEBO a kol., 2015). K pôdnemu a hydrologickému narušeniu presakujúcou kontaminovanou zrážkovou vodou do priestorov jaskýň dochádza predovšetkým kvôli intenzívnej poľnohospodárskej výrobe, odlesňovaniu, urbanizácii a likvidácii odpadu v jej bezprostrednej blízkosti (NEILL a kol., 2004). Najväčší problém pri poľnohospodársky upravovanej pôde predstavuje vstup a dlhodobá akumulácia ťažkých kovov v pôdnom prostredí, ktoré vo vyšších koncentráciách spôsobujú kontamináciu podzemných ekosystémov (GILLI, 2015). Z environmentálneho hľadiska takéto miesta predstavujú environmentálnu záťaž a potenciálny možný zdroj znečistenia vody a pôdy. Rizikové prvky sa v prírode vyskytujú v odlišných koncentráciách, v rôznych formách a ich toxicita závisí od niekoľkých faktorov (napr. bioakumulácie, vlastnosti prvku, spôsob adsorpcie a pod.). Zvýšené množstvo rizikových látok v prostredí dokáže trvale meniť stabilitu a štruktúru živých organizmov a degradovať tak celkový stav ekosystémov (DEMKOVÁ a kol., 2020). Za vysokú mieru znečistenia podzemných ekosystémov zodpovedajú taktiež odpadové vody, poľnohospodársky a priemyselný odpad, rôzne chemické úniky a mikrobiálne znečistenie (SIMON, 2019; SLAY, 2019). Tieto škodlivé činitele môžu priamo, alebo nepriamo meniť vnútorné podmienky jaskynných systémov a výrazne zmeniť kompozíciu živých organizmov (vrátane mikrobiálneho spoločenstva). Následkom zásahov do týchto prirodzených ekosystémov môže taktiež dochádzať k znečisteniu, až vyčerpaniu podzemných zdrojov vody, zmenám v prirodzenej morfológii a hydrologii jaskýň, ktoré môžu v konečnom dôsledku viesť až k úhynu vzácnych, častokrát endemických troglobiontných druhov (LIZÁRRAGA-MENDIOLA a kol., 2009; TOMOVA a kol., 2019). Negatívne zmeny, ktoré nastávajú na nadmerne využívaných pôdach majú priamy vplyv na chemické a fyzikálne vlastnosti pôdy, a tým dochádza aj k nezvratnej degradácii podzemných jaskynných priestorov. Krasové jaskyne, ktoré sú charakteristické úzkou hydrologickou prepojenosťou s povrchom zeme, predstavujú tak veľmi zraniteľné biotopy, ktoré by si pri ochrane prírodných prvkov krajiny zasluhovali väčšiu pozornosť (VIOLANTE a kol., 2008).

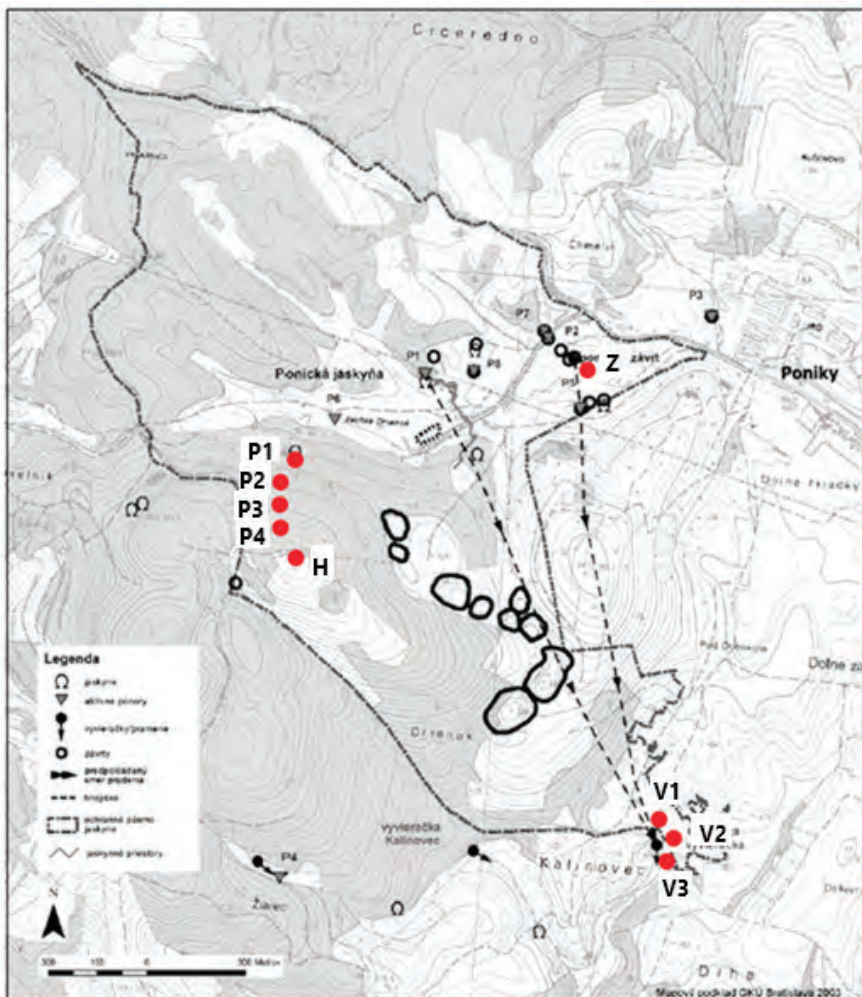
Cieľom tejto práce bolo získať údaje o enzymatickej aktivite spoločenstiev mikroorganizmov v blízkosti povrchových krasových foriem Ponickéj jaskyne (ponor,

závrty, vyvieračka). Predpokladáme, že v dôsledku dlhotrvajúcej poľnohospodárskej činnosti je funkcia mikrobiálneho spoločenstva výrazne zmenená a tento neprimeraný zásah má za následok kontamináciu podzemného systému.

MATERIÁL A METÓDY

Charakteristika lokality

Lokalita Ponickej jaskyne sa nachádza juhovýchodne od mesta Banská Bystrica v obci Poniky (48°42'47.6"N 19°15'43.8"E), ktorá je súčasťou krasového územia nazývaného Ponický kras. Už v minulosti sa predpokladalo že vo vápencovom masíve Drienok (606 m. n. m.) sa nachádzajú jaskynné priestory, čo sa napokon potvrdilo v roku 1981 kedy bola objavená Ponická jaskyňa (obrázok 1). Ponická jaskyňa reprezentuje ponorovú fluviokrasovú jaskyňu s dĺžkou 840 m. Jej dominantou je vodný tok, ktorého prietoky sú najvýdatnejšia počas jarného topenia snehu, alebo po dlhodobých zrážkach. Typickou črtou jaskynných priestorov sú sintrové výplne, ako stalaktity, brčká, záclony, či náteky. Táto prírodná pamiatka sa však nachádza v oblasti, ktorá je výrazne ovplyvnená činnosťou človeka (HAVIAROVÁ, 2008). Ponická jaskyňa bola v roku 1994 vyhlásená za prírodnú pamiatku. Okrem toho sa na predmetnom krasovom území nachádza viacero menších jaskýň, náhodne objavených počas nedávnej banskej činnosti. Existuje tu však predpoklad existencie ďalších, doposiaľ neobjavených podzemných priestorov. Svedčí o tom množstvo povrchových krasových foriem, ako sú závrty, škrapy, ponory a vyvieračky. Vchod do Ponickej jaskyne bol objavený prekopaním sedimentov v najväčšom ponore Ponického krasu. Následne bola farbiacou skúškou zistená prepojenosť Ponickej jaskyne s Oraveckou vyvieračkou, na ktorej začínal prvotný prieskum (BELIČKA, 1981), ktorý bol prevažne zameraný na sledovanie kvality vôd podzemného hydrologického systému. Vyvieračka je človeku prístupná 10 m smerom do horninového masívu. Ďalší postup v nej znemožňuje prítomnosť sifónu.



Obrázok 1. Situačná mapa Ponickéj jaskyne a jednotlivé miesta odberu pôdnych vzoriek (Zdroj: HAVIAROVÁ, 2005).

Figure 1. Soil sampling sites in Ponická cave.

Odber pôdnych vzoriek a použité metódy

V okolí Ponickéj jaskyne bolo spolu vybraných 9 odberných miest. 3 odberné miesta sa nachádzali v blízkosti ponorov pri vstupe do Ponickéj jaskyne, 3 odberné miesta sa nachádzali v blízkosti Oraveckej vyvierajúcej, 1 odberné miesto bolo pri ponorných závrtoch a 1 odberné miesto sa nachádzalo na bývalom hnojisku (bezprostredne v blízkosti ponorov pri vstupe do jaskyne), ktoré v tejto oblasti predstavuje potenciálne znečistenie. Jednotlivé odberné miesta sú vyznačené na obrázku

1 a ich presná lokalizácia je uvedená v tabuľke 1. Na každom z nich boli odobraté tri náhodné vzorky. Odber vzoriek sa uskutočnil v júli 2019.

Tabuľka 1. Lokalizácia odberných miest na lokalite Ponickéj jaskyne.

Table 1. Localization of the sampling sites in Ponická cave.

Miesta odberu vzoriek	Miesta GPS lokalizácie
Ponor 1 (P1)	48°42'47.2"N 19°15'43.9"E
Ponor 2 (P2)	48°42'47.2"N 19°15'43.9"E
Ponor 3 (P3)	48°42'46.4"N 19°15'42.8"E
Ponor 4 (P4)	48°42'42.5"N 19°15'46.4"E
Hnojisko (H)	48°42'50.8"N 19°16'05.5"E
Ponorné závrtý (Z)	48°42'02.5"N 19°16'22.8"E
Oravecká vyvieračka 1 (V1)	48°42'04.0"N 19°16'22.1"E
Oravecká vyvieračka 2 (V2)	48°42'04.0"N 19°16'22.1"E
Oravecká vyvieračka 3 (V3)	48°42'04.0"N 19°16'22.1"E

Po terénnom odbere boli vzorky prenesené v plastových vreckách do laboratória a následne uskladnené v chladničke pri teplote 6 °C. Časť vzorky určených na stanovenie chemických vlastností bola vysušená pri laboratórnej teplote a preosiatá cez sito s veľkosťou ôk 2 mm. Vzorky, z ktorých boli stanovené mikrobiálne parametre (pôdne enzýmy), boli v čerstvom stave uskladnené v chladničke až do samotnej analýzy (maximálne 3 týždne).

Pôdna reakcia (pH) bola stanovená v zmesi pôdy a roztoku CaCl_2 ($c=0,01$ mol/L) v pomere 1:3, pomocou digitálneho pH metra. Aktivita pôdnych enzýmov β -glukozidázy (EIVAZI a TABATABAI, 1988), FDA (GREEN a kol., 2006), kyslej a zásaditej fosfatázy (GREJTOVSKÝ, 1991) a ureázy (KHAZIEV, 1976) boli stanovené za použitia substrátov, tlmivých roztokov a podmienok, ktoré sú uvedené v tabuľke 2. Pre každú aktivitu pôdneho enzýmu sa vykonala zodpovedajúca kontrola, ktorá bola vykonaná rovnakou analytickou analýzou, ale bez pridania substrátu. Stanovenie obsahu organického uhlíka (Cox) a celkového dusíka (Ntot) v pôdnych vzorkách bolo vykonané metódou ISO10694. Obsah sledovaných prvkov (As, Cd, Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Zn) bol stanovený metódou OES-ICP (Agilent 720, Agilent Technologies, USA) a (Hg) CV-AAS (AMA-254; AlTec, Praha), metodickými postupmi publikovanými v prácach DEMKOVÁ a kol. (2019) a ÁRVAY a kol. (2017). Štatistické vyhodnotenie zistených údajov bolo vykonané v programe STATISTICA 12. Pred samotnou analýzou boli všetky dáta log+1 transformované.

Tabuľka 2. Podmienky inkubácie enzýmov s použitými biochemickými indikátormi.
Table 2. Incubation conditions of enzymes used with biochemical indicators.

Enzým	Substrát	Tlmivý roztok (pH)	Pôdna vzorka (g)	Teplota inkubácie (°C)	Čas (h)
β - glukozidáza	4-nitrofenol glukopyranosid	MUP (6,0)	1	37	3
FDA	fluorescein diacetát	PFD (7,6)	1	30	1
Kyslá fosfatáza	p-nitrofenylfosfát	BP (10,0)	5	37	3
Zásaditá fosfatáza	p-nitrofenylfosfát	AP(5,0)	5	37	3
Ureáza	močovina	CP (6,7)	5	37	24

MUP (modifikovaný univerzálny pufer), PFD (pufer fosforečnan draselný), BP (borátový pufer), AP (acetátový pufer), CP (citrátový pufer)

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Už pri prvotných speleologických výskumoch na konci 70. rokov bolo zistené veľké znečistenie vody Oraveckej vyvieracky, ktoré bolo zapríčinené kravským hnojom z neďalekého družstva obce (BELIČKA, 1981). Napriek tomu, že sa v súčasnej dobe znížila poľnohospodárska aktivita v tejto lokalite, doteraz pretrváva ohrozenie podzemných priestorov a vôd Ponického krasu. Za najväčší problém sa považuje hnojisko nachádzajúce sa v blízkosti aktívnych ponorov, ktorého organický obsah môže byť splavený priamo do vnútra krasového masívu a nevhodnými poľnohospodárskymi postupmi, ako je využívanie umelých priemyselných hnojív. Ďalším možným ohrozením v tejto oblasti môžu byť pozostatky banskej činnosti, ktorá tu prebiehala v minulosti, vznikajúce ilegálne skládky tuhého odpadu, zvyšky uhynutého dobytky a využívanie pasienkových porastov pre chov a košarovanie oviec. Práve pasienkárstvo môže byť dôvodom mikrobiálneho oživenia podzemných vôd, ktoré bolo zistené zvýšenými hodnotami psychrofilných baktérií a to v prípade vzoriek odobratých z Oraveckej vyvieracky v rokoch 2004 až 2005 (HAVIAROVÁ, 2005).

Hodnotenie chemických vlastností pôdných vzoriek

Pôdna reakcia je jeden z najdôležitejších faktorov, ktorý reguluje biologickú dostupnosť živín v pôde, mikrobiálnu diverzitu, populačnú hustotu a zloženie spoločenstiev pôdných ekosystémov. Pôdna reakcia na sledovaných lokalitách v blízkosti Ponicekej jaskyne sa pohybovala v rozmedzí 6,2 až 7,2 (Tabuľka 3), z čoho môžeme vyhodnotiť, že sa jedná o neutrálne až mierne zásadité subteránne prostredie. Tabuľka 3 uvádza, že najvyššia hodnota obsahu organického uhlíka (22,82%) a celkového obsahu dusíka (1,91%) na sledovaných lokalitách bola zaznamenaná na hnojisku, ktoré sa nachádza v blízkosti ponorných vstupov do samotnej Ponicekej jaskyne.

Tabuľka 3. Hodnoty chemických vlastností pôdnych vzoriek.
Table 3. Average values of chemical indices in soil samples.

Lokalita	pH/0,01M CaCl ₂	Cox (%)	Ntot (%)
P1	6,9	5,99	0,47
P2	6,8	5,78	0,46
P3	6,6	5,59	0,49
P4	6,2	5,62	0,47
H	6,6	22,82	1,91
Z	7,2	5,59	0,47
V1	6,9	0,93	0,09
V2	7,2	3,53	0,46
V3	7,2	7,23	0,64

Na sledovaných lokalitách bola zistená signifikantná pozitívna závislosť ($p < 0,01$) medzi Cox a Ntot (tabuľka 4). Cox a Ntot signifikantne negatívne korelovali s pôdnym pH ($p < 0,05$). Tento trend vzájomnej závislosti chemických parametrov potvrdili štúdie viacerých autorov (ACIEGO PIETRI a BROOKES, 2008; LI a kol., 2014; BOBUESKÁ a kol., 2015).

Tabuľka 4. Koreračné závislosti medzi Cox, Ntot a pH na lokalite Ponickéj jaskyne.
Table 4. Correlation relationship among organic carbon, total nitrogen content and soil reaction in soil samples.

	Cox	Ntot	pH
Cox		0,94**	-0,61*
Ntot			-0,58*

** Korelácia je signifikantná na hladine 0,01

* Korelácia je signifikantná na hladine 0,05

Obsah ťažkých kovov

As, Pb, Zn, Cu a ďalšie toxické prvky predstavujú znečisťujúce látky v pôde, ktorých zdrojom je antropogénna činnosť ako je priemysel, ťažba, hutníctvo a poľnohospodárstvo. Kvôli ich negatívnym účinkom na ekologické funkcie pôdy to znamená vážny environmentálny problém. Vlastnosti pôdy ovplyvňujú biologickú dostupnosť kovových prvkov v pôde, preto môžu ovplyvniť negatívny účinok potenciálne znečisťujúcich látok na mikrobiálnu aktivitu a zloženie mikrobiálnych spoločenstiev (ROMERO-FREIRE a kol., 2016). Tabuľka 5 uvádza priemerné hodnoty rizikových látok (As, Cd, Co, Fe, Hg, Mn, Ni, Cu, Zn, Pb) na jednotlivých lokalitách spolu s limitnými hodnotami pre pôdy na území Slovenska definovanými v zákone NR SR 220/2004 Z.z., ktorých presiahnuté hodnoty indikujú znečistenie a ohrozenie pôdneho a povrchového prostredia.

Tabuľka 5. Priemerné hodnoty ťažkých kovov stanovené na jednotlivých lokalitách okolia Ponickéj jaskyne.

Table 5. Average values of heavy metals on selected localities.

Lokalita	As [mg/ kg]	Cd [mg/ kg]	Co [mg/ kg]	Cu [mg/ kg]	Fe [mg/ kg]	Hg [mg/ kg]	Mn [mg/ kg]	Ni [mg/ kg]	Pb [mg/ kg]	Zn [mg/ kg]
P1	123,4	8,02	29,92	258,9	25578	0,05	2907	25,15	4215	1094
P2	206,0	9,76	26,41	375,2	32704	0,07	4221	28,62	5469	1452
P3	124,3	8,45	28,03	166,2	25951	0,08	3781	26,60	2183	761,0
P4	24,7	2,16	26,11	63,3	15438	0,04	489,3	14,00	586,9	203,9
H	7,5	2,26	23,72	35,7	12445	0,06	738,4	15,15	225,9	230,9
Z	24,4	6,68	49,39	34,2	46212	0,10	2244	34,08	535,1	329,6
V1	24,6	4,04	45,62	34,6	23391	0,06	1293	32,17	314,1	282,0
V2	23,4	2,90	24,21	44,9	18758	0,03	1282	16,50	658,4	326,5
V3	21,9	5,18	56,53	32,7	31448	0,10	1205	37,53	370,6	344,6
Limitná hodnota	30	1	20	70	550	0,75	550	60	115	200

Podľa limitných hodnôt daného zákona a limitných hodnôt Fe a Mn podľa KABATA-PENDIAS (2011), boli pri viacerých rizikových prvkoch prekročené maximálne hodnoty. Získané výsledky nám naznačujú zvýšené riziko kontaminácie tohto krasového územia. V blízkosti vstupu do Ponickéj jaskyne (P1-P3) sme zaznamenali takmer 7-násobné zvýšenie obsahu As, ktorý by nemal presiahnuť 30 mg/kg suchej hmoty. Taktiež bolo zistené zvýšené množstvo Cd na všetkých lokalitách odberu. Až 5-násobné zvýšenie limitných hodnôt obsahu Cu (70 mg/kg) bolo taktiež zaznamenané v blízkosti vstupu do Ponickéj jaskyne. V našej štúdii sa potvrdil vysoký obsah rizikových látok prevažne pri obsahu Fe, Mn, Pb a Zn. Ich niekoľkonásobné zvýšenie bolo prevažne potvrdené v blízkosti vstupu do samotnej jaskyne. Prekročenie limitných hodnôt Hg a Ni nebolo zaznamenané v žiadnej odobratej vzorke. Z uvedených výsledkov vyplýva, že bola zistená viacnásobná kontaminácia pôdy ťažkými kovmi, ktorá môže mať negatívny dopad na podzemné ekosystémy, ktoré sa v ich blízkosti nachádzajú. Väčšina rizikových látok sa prirodzene vyskytuje v pôde, avšak ľudská činnosť môže vo veľkej miere narušiť ich prirodzenú rovnováhu v prostredí. Veľké množstvo Pb, Zn, Cu, Cd a ďalších látok sa uvoľňuje do prostredia v dôsledku činností súvisiacich so spracovaním nerastných surovín, alebo poľnohospodárskou činnosťou (WONG a kol., 2002; ATAFAR a kol., 2010). Tieto prvky sa nahromadia vo vysokých toxických hladinách v pôde, vode, biote a ohrozujú podzemné ekosystémy. Zhoršovanie životného prostredia s rôznym stupňom devastácie sa negatívne odráža na zníženej kvalite ekosystému, pri čom celý rozsah

problému závisí od veľkosti znečistenej oblasti, hĺbky pôdy do ktorej znečisťujúce látky prenikajú a od chemického zloženia znečisťujúcich látok. Pochopenie správania sa ťažkých kovov v pôdnom systéme je jednou z najdôležitejších úloh environmentálnych vied (ANGELOVIČOVÁ a kol., 2015).

Hodnotenie biologických vlastností pôdných vzoriek

Aktivita pôdných enzýmov sa efektívne využíva za účelom stanovenia stupňa pôdneho znečistenia a hodnotenia zdravia a kvality pôdneho ekosystému (BOBUŠKÁ a kol., 2015). Bolo niekoľkokrát preukázané, že vysoký stupeň kontaminácie prírodného prostredia sa negatívne prejavuje aj na aktivite pôdných enzýmov (WANG a kol., 2008; ZHANG a kol., 2018; TANG a kol., 2020). Priemerné hodnoty aktivity pôdných enzýmov sú zaznamenané v tabuľke 6. Aktivita pôdných enzýmov bola na sledovaných lokalitách pomerne nízka. Porovnávajúc enzymatické aktivity s inými vedeckými prácami, ktoré sa venovali štúdiu pôdných enzýmov v rôznych ekosystémoch (BOBUŠKÁ a kol., 2015; VINHAL-FREITAS a kol., 2017; BOBUŠKÁ a kol., 2019), boli nami zistené hodnoty fosfatáz a ureázy výrazne nižšie.

Tabuľka 6. Namerané hodnoty (priemer \pm SD) enzymatickej aktivity mikroorganizmov v pôdných vzorkách.

Table 6. Average values of microbial enzymatic activity (average \pm SD) in soil samples.

Lokalita	β -glukozidáza ($\mu\text{g pNP/g soil.1h}$)	FDA ($\mu\text{g FS/g soil.1h}$)	Kyslá fosfatáza (mg P/g soil.3h)	Zásaditá fosfatáza (mg P/g soil.3h)	Ureáza ($\mu\text{g NH}_4/\text{g soil.1h}$)
P1	18,33 \pm 2,6	24,72 \pm 1,5	62,14 \pm 5,9	209,35 \pm 10,3	5,97 \pm 0,2
P2	17,69 \pm 1,9	12,28 \pm 0,9	69,15 \pm 6,3	137,22 \pm 8,6	2,75 \pm 0,1
P3	17,69 \pm 1,7	25,82 \pm 1,4	53,24 \pm 5,5	180,36 \pm 9,0	3,56 \pm 0,1
P4	22,59 \pm 3,0	18,08 \pm 1,3	170,22 \pm 6,1	187,31 \pm 9,4	5,66 \pm 0,3
H	22,13 \pm 3,4	19,12 \pm 0,9	116,32 \pm 6,7	164,21 \pm 8,7	4,43 \pm 0,2
Z	17,60 \pm 1,6	7,58 \pm 0,8	95,54 \pm 7,6	246,61 \pm 11,2	3,88 \pm 0,2
V1	36,91 \pm 2,7	32,66 \pm 2,4	99,13 \pm 8,0	238,41 \pm 10,9	6,58 \pm 0,4
V2	15,97 \pm 1,9	6,96 \pm 0,8	44,12 \pm 4,1	105,59 \pm 7,6	13,84 \pm 1,3
V3	4,55 \pm 1,1	1,20 \pm 0,05	0,00 \pm 0,0	142,61 \pm 8,3	9,08 \pm 1,1

Najvyššie hodnoty pôdných fosfatáz, β -glukozidázy a aktivity FDA vykazovali lokality v blízkosti vstupov do Ponickéj jaskyne, v prípade ureázy bol tento trend opačný. Niektoré štúdie uvádzajú, že fosfatázy sa vplyvom mierne zvýšeného obsahu ťažkých kovov v pôdnom prostredí výrazne nemenia (YEATES a kol., 1994), ale až výrazne vysoký obsah týchto toxických prvkov má na ich aktivitu inhibičný účinok (BROOKES, 1995).

Na sledovanej lokalite aktivita pôdných enzýmov negatívne korelovala s obsahom organického uhlíka (Cox) a celkového dusíka (Ntot) ako je uvedené v tabuľke 7. V prípade zásaditej fosfatázy bola táto korelácia v oboch prípadoch (Cox, Ntot) signifikantná. Signifikantná pozitívna závislosť bola taktiež zistená medzi aktivitou pôdnej ureázy a pôdneho pH. Prítomnosť a vysoká koncentrácia kontaminantov v pôde ovplyvňuje interakcie medzi pôdnymi organizmami. Pri analýze aktivity a diverzity mikrobiálnych spoločenstiev susediacich s industrializovanými miestami sa zistilo, že tieto pôdy vykazovali nižšiu enzymatickú funkciu s vyšším obsahom pôdných kovov, ako aj nižšou diverzitou mikrobiálneho spoločenstva (XIE a kol, 2016). KANDELER a kol. (2000) pri svojej štúdií zistili nižšiu aktivitu pôdnej ureázy, zásaditej fosfatázy a xylanázy na pôdach, ktoré boli kontaminované rizikovými prvkami (Zn, Cu, Ni, V a Cd). V niektorých štúdiách (BROOKES, 1995; BOBUŠKÁ a kol., 2018; DEMKOVÁ a kol., 2020) bolo avšak zaznamenané, že vysoké zaťaženie kovmi v pôde bolo spojené s vysokou enzymatickou aktivitou, či v zmenách v zložení a fungovaní mikrobiálnych spoločenstiev. Tieto výsledky poukazujú na zložitosť účinku vplyvu kontaminácie ťažkými kovmi na enzymatickú aktivitu a potrebu zvážiť experimentálne podrobnosti každej štúdie (HAGMANN a kol., 2015). Vplyvom zvyšujúceho sa obsahu niektorých rizikových prvkov, naša štúdia potvrdila, že aktivita pôdných enzýmov sa vplyvom rizikových prvkov znižuje, čo bolo štatisticky preukázané. Tabuľka 7 znázorňuje, že všetky sledované enzýmy, vykazovali negatívnu koreláciu s obsahom rizikových prvkov.

Tabuľka 7. Korelačné závislosti biochemických parametrov s rizikovými prvkami v okolí Ponickéj jaskyne.

Table 7. Correlation relationship between biochemical parameters and toxic elements around Ponická cave.

	pH	BG	FDA	KF	ZF	URE	Cox	Ntot
Hg	0,19	-0,32	-0,55*	-0,53*	0,16	-0,31	-0,04	-0,01
As	0,19	-0,12	-0,02	-0,13	0,03	-0,26	-0,36	-0,02
Cd	0,30	-0,23	-0,05	-0,31	0,05	-0,33	-0,24	-0,42
Co	0,67*	-0,07	-0,08	-0,43	0,55*	-0,34	-0,74**	-0,33
Cu	0,14	-0,19	-0,02	-0,01	-0,16	-0,47	-0,06	-0,69**
Fe	0,58*	-0,61*	-0,03	-0,56*	0,06	-0,04	-0,54*	-0,02
Mn	0,37	-0,11	-0,02	-0,19	0,03	-0,27	-0,31	-0,58*
Ni	0,69*	-0,01	-0,06	-0,45	0,44	-0,07	-0,69**	-0,34
Pb	0,01	-0,24	-0,04	-0,07	-0,19	-0,33	-0,04	-0,68**
Zn	0,16	-0,56*	-0,07	-0,18	0,15	-0,56*	-0,05	-0,13

BG (β -glukozidáza), KF (kyslá fosfatáza), ZF (zásaditá fosfatáza), URE (ureáza)

** Korelácia je signifikantná na hladine 0,01

* Korelácia je signifikantná na hladine 0,05

Ťažké kovy majú komplexný vplyv na enzymatickú aktivitu, pričom rozličné enzýmy reagujú na ťažké kovy rozdielnym spôsobom. V prípade ureázy sme zaznamenali signifikantnú negatívnu koreláciu s celkovým obsahom Zn a naše výsledky v aktivite pôdnej ureázy sa zhodujú s výsledkami, ktoré vo svojej práci uviedli YANG a kol. (2006). Zároveň bola zistená signifikantná negatívna korelácia medzi kyslou fosfatázou a celkovým obsahom Hg a Fe, čo sa zhoduje so zisteniami štúdie autorov GÜLSER a ERDOĞAN (2008), ktorí taktiež potvrdili negatívny vplyv tohto ťažkého kovu na aktivitu fosfatáz. Spoločne s prácami viacerých autorov (ANGELOVIČOVÁ a kol., 2014; CIARKOWSKA, 2018; MENG a kol., 2018; WAHSHA a kol., 2017) sme zaznamenali výrazný vplyv rizikových prvkov na aktivitu pôdných enzýmov a chemických vlastností pôdy. Pomocou Kruskal-Wallis testu, ktorého výsledky môžeme vidieť v tabuľke 8, nebol medzi jednotlivými odbernými miestami zaznamenaný žiadny signifikantný rozdiel v aktivite pôdných enzýmov. Signifikantný rozdiel bol zaznamenaný len v prípade ureázy, ktorá dosahovala štatisticky najnižšie hodnoty v mieste vyvieračky ($p < 0,01$). V prípade pH bol signifikantný rozdiel zaznamenaný len medzi lokalitou hnojiska a vyvieračkou. Hodnoty obsahu organického uhlíka a celkového dusíka sa medzi sledovanými odbernými miestami nelíšili. Avšak v prípade obsahu niektorých rizikových prvkov v pôdných vzorkách, boli zaznamenané významné štatistické rozdiely. V prípade prvkov As, Cd, Cu, Mn, Pb a Zn bol preukázaný štatisticky významný rozdiel medzi ponornými miestami v blízkosti vstupu do jaskyne a ostatnými odbernými miestami, na ktorých boli namerané preukázateľne nižšie hodnoty týchto prvkov. Zároveň bol potvrdený štatisticky významný rozdiel v obsahu Fe medzi ponorom a hnojiskom a taktiež medzi ponorom a ponornými závrťmi, ktoré úzko prepájajú celý podzemný systém Ponickéj jaskyne s Oraveckou vyvieračkou.

Na základe zvýšených hodnôt ťažkých kovov môžeme zhodnotiť, že sledovaná lokalita Ponickéj jaskyne a Oraveckej vyvieračky predstavuje výrazne zraniteľný krasový jaskynný systém. Za pravdepodobné znečistenie podzemných vôd a jaskynných priestorov Ponického krasu môžeme považovať neprimerané poľnohospodárske postupy a pasienkárstvo, ktoré prebieha v bezprostrednej blízkosti tohto jaskynného systému. Najväčší problém predstavuje hnojisko, ktoré je nevhodne umiestnené v blízkosti ponorných vstupov a závrťov do jaskyne, ktorým sa presakujúcou vápencovou horninou dostáva dovnútra jaskynného geosystému a spôsobujú organické znečistenie podzemných vôd (HAVIAROVÁ, 2005). Na týchto odberných miestach boli namerané aj jednoznačne najvyššie hodnoty obsahu ťažkých kovov. Druhým dôvodom prítomnosti vyššieho množstva stopových prvkov v tejto krasovej lokalite môže byť banská činnosť, ktorá tu v minulosti prebiehala ťažbou zlata, striebromedených a železných rúd (BELIČKA, 1981). Na základe klastrovej analýzy nám dendrogram (obrázok 2) rozdelil prvky do dvoch skupín. Prvú skupinu tvoria prvky Fe, Mn, Pb a Zn, druhú skupinu tvoria Hg, Cd, As, Cu, Co, Ni. Prvky nachádzajúce sa v rovnakej skupine sú zvyčajne znakom ich rovnakého pôvodu. V tomto prípade môžeme predpokladať, že prvá skupina prvkov môže súvisieť s nevhodne umiestneným hnojiskom, ktorý spôsobuje kontamináciu týchto podzemných ekosystémov. Prvky ako Fe, Mn, Cu a Zn patria medzi mikroživiny, ktoré sú v malom množstve nevyhnutné v biologických procesoch mikroorganizmov, rastlín, živočíchov, vrátane ľudí. Na druhej strane,

prítomnosť týchto prvkov v toxických koncentráciách môže nepriamo ovplyvniť rast a vývoj rastlín, preto je nevyhnutné udržiavať ich na vhodnej úrovni. Okrem toho, že sú tieto mikroživiny pridávané do ornej pôdy v podobe chemických hnojív (SHAHID a kol., 2015), bolo preukázané, že hnojivo hospodárskych zvierat tiež obsahuje tieto mikroživiny a ich výrazný nárast v pôde bol preukázaný po aplikácii maštalného hnoja na ornú pôdu (DACH a STARMANS, 2005). Zdrojom prvkov druhej skupiny by mohli byť pesticídy, ktoré sú využívané pri poľnohospodárskej produkcii. Monitoring hydrologického systému HAVIAROVEJ (2008) potvrdil vo vodách Oraveckej vyvieracky nízku prítomnosť organických chlórovaných pesticídov. Nadmerné využívanie chemických hnojív v poľnohospodárstve má za následok vážne environmentálne problémy, keďže obsahujú väčšinu ťažkých kovov medzi, ktoré patrí Hg, Cd, As, Pb, Cu a Ni. Neskôr tieto hnojivá predstavujú pre agroekosystém hlavný zdroj ťažkých kovov obsiahnutý v rastlinách, pričom niektoré majú za následok akumuláciu anorganických kontaminujúcich látok (SAVCI 2012). Už pri objavení Oraveckej vyvieracky bolo zistené jej mimoriadne znečistenie kravským trusom a boli objavené čierne povlaky tohto organického hnojiva na stenách Ponickéj jaskyne. Aj na základe týchto skutočností bolo vyhlásené ochranné pásmo prírodnej pamiatky Ponická jaskyňa, ktorej predmetom je ochrana citlivých jaskynných geosystémov. Je však veľmi dôležité dbať na pravidelný monitoring a sledovanie stavu jednotlivých zložiek životného prostredia a regulovanie poľnohospodárskej činnosti ako je odlesňovanie, obmedzenie aplikácie hnojív, či ťažba nerastných surovín v okolí krasových oblastí.

Tabuľka 8. Výsledky Kruskal-Wallis testu na lokalite Ponickéj jaskyne.

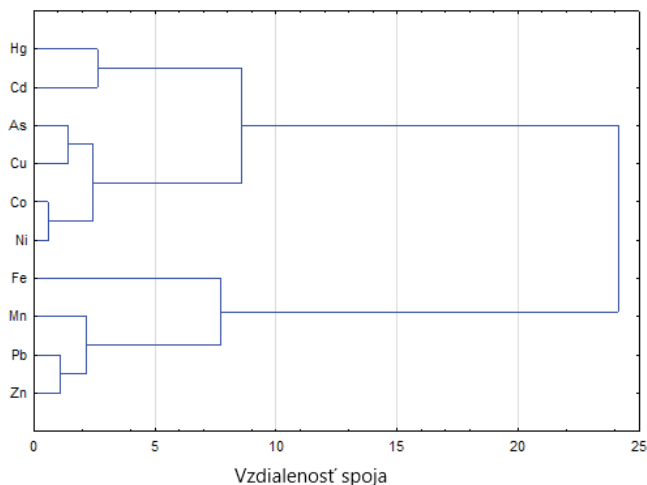
Table 8. Results of Kruskal-Wallis test on locality Ponická cave.

Pôdny parameter	p-hodnota (výsledok testu KRUSKAL-WALLIS)
Hg	0,001**
As	0,02*
Cd	0,05*
Co	0,17
Cu	0,001**
Fe	0,05**
Mn	0,05
Ni	0,25
Pb	0,0015**
Zn	0,002**
Cox	0,37
Ntot	0,61
pH	0,001*
BG	0,700
FDA	0,704
KF	0,39
ZF	0,83
URE	0,002**

BG (β -glukozidáza), KF (kyslá fosfatáza), ZF (zásaditá fosfatáza), URE (ureáza)

** Korelácia je signifikantná na hladine 0,01

* Korelácia je signifikantná na hladine 0,05



Obrázok 2. Dendrogram zobrazujúci výsledky klastrovej analýzy rizikových prvkov nameraných v pôde na lokalite Ponická jaskyňa.

Figure 2. Dendrogram describing the cluster analysis of toxic elements of Ponická cave.

ZÁVER

Výsledky nášho výskumu potvrdili, že pôdy zaťažené vysokými hodnotami rizikových látok sú schopné inhibovať aktivitu mikrobiálneho spoločenstva prostredníctvom zníženej aktivity pôdnych enzýmov. Vyššia kontaminácia rizikovými prvkami na sledovaných lokalitách tak spôsobuje zníženú aktivitu mikrobiálnych enzýmov a ďalších biologicky dôležitých vlastností pôdy ktoré sú dôležité pre stabilitu podzemných ekosystémov. Aj keď väčšina rizikových prvkov sa vyskytuje prirodzene v prostredí, ľudské aktivity (priemysel, poľnohospodárske postupy, spaľovanie fosílnych palív, alebo banská činnosť) narúšajú stabilitu a interakcie medzi jednotlivými zložkami podzemných ekosystémov. Na základe preukázanej najvyššej kontaminácie rizikovými prvkami v oblasti ponorov môžeme konštatovať, že predstavujú najzraniteľnejšiu časť krasových systémov. Napriek zníženiu negatívnych dopadov spôsobených poľnohospodárskou činnosťou viacerými krokmi, ktoré v minulosti čiastočne pomohli k ochrane týchto nestabilných ekosystémov, je do budúca potrebná ochrana ktorá zahŕňa ochranu oboch prostredí - podpovrchových aj povrchových, a to takým spôsobom, aby si tento ekosystém udržal svoju prírodnú zaťažiteľnosť. Je preto veľmi dôležité dbať na pravidelné monitorovanie a zabránenie akejkoľvek ďalšej akumulácii látok, a tým zaistiť zníženie rizikových faktorov ovplyvňujúcich ekosystém.

POĎAKOVANIE

Autori ďakujú agentúre KEGA č. 005PU-4/2019 a VEGA č. 2/0018/20 za finančnú podporu pri riešení projektu, v rámci ktorého vznikol prezentovaný príspevok. Naše poďakovanie patrí taktiež pracovníkom Správy slovenských jaskýň za pomoc pri realizácii terénnych prác.

LITERATÚRA

- ACIEGO PIETRI, J.C. – BROOKES, P.C., 2008. Relationships between soil pH and microbial properties in a UK arable soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(7): 1856-1861.
- ANGELOVIČOVÁ L. – BOBUESKÁ D. – FAZEKAŠOVÁ D., 2014. Chemické a biologické vlastnosti pôdy ako indikátory znečistenia pôdneho prostredia vplyvom ťažkých kovov. *Folia Oecologica*, 11: 11-19.
- ANGELOVIČOVÁ L. – BOBUESKÁ L. – FAZEKAŠOVÁ D., 2015. Toxicity of heavy metals to soil biological and chemical properties in conditions of environmentally polluted area Middle Spiš (Slovakia). *Carpathian Journal of Earth and Environmental Studies*, 10(1): 193-201.
- ÁRVAY J. – DEMKOVÁ L. – HAUPTVOGL M. – MICHALKO M. – BAJČAN D. – STANOVIČ R. – TOMÁŠ J. – HRSTKOVÁ M. – TREBICHALSKÝ P., 2017. Assessment of environmental and health risks in former polymetallic ore mining and smelting area, Slovakia: Spatial distribution and accumulation of mercury in four different ecosystems. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 144: 236-244.
- ATAFAR, Z. – MESDAGHINIA, A. – NOURI, J. – HOMAEE, M. – YUNESIAN, M. – AHMADIMOGHADDAM, M. – MAHVI, A.H., 2010. Effect of the fertilizer application on soil heavy metal concentration. *Environmental Monitoring and Assessment*, 160: 83.
- BELIČKA Š., 1981. Nová jaskyňa v Ponickom krase. *Slovenská speleologická spoločnosť*, 7(3): 7-11.
- BELLA, P., 2005. Ochrana a využívanie jaskýň na Slovensku. *Životné Prostredie* 39(2): 79-82.
- BOBUESKÁ L. – FAZEKAŠOVÁ D. – ANGELOVIČOVÁ L. – KOTOROVÁ D., 2015. Impact of ecological and conventional farming systems on chemical and biological soil quality indices in a cold mountain climate. *Biological Agriculture and Horticulture*, 31(3): 205-218.
- BOBUESKÁ, L., KOŽEJ, J., DEMKOVÁ, L. 2018. Hodnotenie enzymatickej aktivity pôd kontaminovaných rizikovými prvkami v zatažených oblastiach Slovenska. *Studia Oecologica* 12(1): 37-44.
- BOBUESKÁ, L. – DEMKOVÁ, L. – ČEREVKOVÁ, A. – RENČO, M., 2019. Invasive Goldenrod (*Solidago gigantea*) Influences Soil Microbial Activities in Forest and Grassland Ecosystems in Central Europe. *Diversity*, 11(8): 134.
- BROOKES P.C., 1995. The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals. *Biology and Fertility of Soils*, 19: 269-279.
- CIARKOWSKA K., 2018. Assessment of heavy metal pollution risk and enzyme activity of meadow soils in urban area under tourist load: a case study from Zakopane (Poland). *Environmental Science and Pollution Research*, 25(14): 13709-13718.
- CUEZVA S. – SANCHEZ-MORAL S. – SAIZ-JIMENEZ C. – CAÑAVERAS J.C., 2009. Microbial Communities and Associated Mineral Fabrics in Altamira Cave, Spain. *International Journal of Speleology*, 38(1): 83-92.
- DACH J. – STARMANS D., 2005. Heavy metals balance in Polish and Dutch agronomy: actual state and previsions for future. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 107:309-316.
- DEMKOVÁ L. – ÁRVAY J. – BOBUESKÁ L. – HAUPTVOGL M. – HRSTKOVÁ M., 2019. Open mining pits and heaps of waste material as the source of undesirable substances: biomonitoring of air and soil pollution in former mining area (Dubník, Slovakia). *Environmental Science and Pollution Research*, 26: 35227-35239.
- DEMKOVÁ, L. – ÁRVAY, J. – BOBUESKÁ, L. – HAUPTVOGL, M. – MICHALKO, M. – MICHALKOVÁ, J. – JANČO, I. 2020. Evaluation of Soil and Ambient Air Pollution Around Un-reclaimed Mining Bodies in Nižná Slaná (Slovakia) Post-Mining Area. *Toxics* 8(4): 96.
- EIVAZI, F. – TABATABAI, M.A., 1988. Glucosidases and galactosidases in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 20: 601-606.
- GERARD, C.J. – SEXTON, P. – SHAW, G. 1982. Physical factors influencing soil strength and root growth. *Agronomy Journal* 74(5): 875-879.
- GILLI, E., 2015. Deep speleological salt contamination in Mediterranean karst aquifers: perspectives for water supply. *Environmental Earth Sciences*, 74(1): 101-113.
- GREEN, V.S. – STOTT, D.E. – DIACK, M., 2006. Assay for fluorescein diacetate hydrolytic activity: optimization for soil samples. *Soil Biology and Biochemistry*, 38: 693-701.
- GREJTOVSKÝ A., 1991. Vplyv zúrodňovacích opatrení na enzymatickú aktivitu ťažkej nivnej pôdy. *Rostlinná Výroba*, 37: 289-295.

- GÜLSER F. - ERDOĞAN E., 2008. The effect of heavy metal pollution on enzyme activities and basal soil respiration of roadside soils. *Environmental Monitoring and Assessment*, 145(1-3): 127-133.
- HAGMANN D.F. – GOODEY N.M. – MATHIEU C. – EVANS J. – ARONSON M.F.J. – GALLAGHER F. – KRUMINS J.A., 2015. Effect of metal contamination on microbial enzymatic activity in soil. *Soil Biology and Biochemistry*: 91:291-297.
- HAVIAROVÁ D., 2005. Monitorovanie kvality podzemných vôd v jaskynných systémoch ovplyvňovaných negatívnymi poľnohospodárskymi aktivitami. Čiastková správa za roky 2004, 2005. Lokality: Ponický kras, Važecký kras. Správa slovenských jaskýň, Liptovský Mikuláš.
- HAVIAROVÁ D., 2008. Monitoring kvality vôd podzemného hydrologického systému Ponickej jaskyne. *Aragonit*, 13(1): 20-24.
- KABATA-PENDIAS, A. 2011. Trace elements in soils and plants. CRC Press Taylor & Francis Group, New York, 548 s.
- KANDELER E. – TSCHERKO D. – BRUCE K.D. – STEMMER M. – HOBBS P.J. – BARDGETT R.D. – AMELUNG W., 2000. Structure and function of the soil microbial community in microhabitats of a heavy metal polluted soil. *Biology and Fertility of Soils*, 32(5): 390-400.
- KHAZIEV F. CH., 1979. Fermentativnaja aktivnost' počv. Nauka, Moskva, s. 142-150.
- LI, Y.Y. - DONG, S.K. – WEN, L. – WANG, X.X. – WU, Y., 2014. Soil carbon and nitrogen pools and their relationship to plant and soil dynamics of degraded and artificially restored grasslands of the Qinghai-Tibetan Plateau. *Geoderma*, 213: 178-184.
- LIZÁRRAGA-MENDIOLA L. – GONZÁLES-SANDOVAL M.R. – DURÁN-DOMÍNGUEZ M.C. – MÁRAQUEZ-HERRERA C., 2009. Geochemical behaviour of heavy metals in a Zn-Pb-Cu mining area in the State of Mexico (central Mexico). *Environmental Monitoring and Assessment*, 155: 355-372.
- LUNGI E. – CORTI C. – MULARGIA M. – ZHAO Y. – MANETI R. – FICETOLA G. F. – VEITH M., 2020. Cave morphology, microclimate and abundance of five cave predators from the Monte Albo (Sardinia, Italy). *Biodiversity Data Journal*, 8(3): 48623.
- MENG X. – AI Y. – LI R. – ZHANG W., 2018. Effects of heavy metal pollution on enzyme activities in railway cut slope soils. *Environmental Monitoring and Assessment*, 190(4): 197.
- NEILL, H. – GUTIÉRREZ, M. – ALEY, T. 2004. Influences of agricultural practices on water quality of Tumbling Creek cave stream in Taney County, Missouri. *Environmental Geology* 45: 550-559.
- ROMERO-FREIRE A. – SIERRA ARAGÓN M. – MARTÍNEZ GARZÓN F.J. – MARTÍN PEINADO F.J., 2016. Is soil basal respiration a good indicator of soil pollution? *Geoderma*, 263: 132-139.
- SAVCI S., 2012. An Agricultural Pollutant: Chemical Fertilizer. *International Journal of Environmental Science and Development*, 3(1): 77-80.
- SHAHID M. – SHUKLA A.K. – BHATTACHARYYA P. – TRIPATHI R. – MOHANTY S. – KUMAR A. – LAL B. – GAUTAM P. – RAJA R. – PANDA B.B. – DAS B. – NAYAK A.K., 2015. Micronutrients (Fe, Mn, Zn and Cu) balance under long-term application of fertilizer and manure in a tropical rice-rice system. *Journal of Soils and Sediments*, 16(3): 737-747.
- SIMON K.S., 2019. Cave ecosystems. White, W.B., Culver, D.C., Pipan, T. (Eds.). *Encyclopedia of caves*. Academic Press, USA, s. 223-226.
- SLAY M.E., 2019. Protecting caves. White, W.B., Culver, D.C., Pipan, T. (Eds.). *Encyclopedia of caves*. Academic Press, USA, s. 830-835.
- TANG, J. – ZHANG, L. – ZHANG, J. – REN, L. – ZHOU, Y. – ZHENG, Y. – LUO, L. – YANG, Y. – HUANG, H. – CHEN, A., 2020. Physicochemical features, metal availability and enzyme activity in heavy metal-polluted soil remediated by biochar and compost. *Science of the Total Environment*, 701: 134751.
- TEBO B.M. – DAVIS R.E. – ANITORI R.P. – CONNELL L.B. – SCHIFFMAN P. – STAUDIGEL H., 2015. Microbial communities in dark oligotrophic volcanic ice cave ecosystems of Mt. Erebus, Antarctica. *Frontiers in Microbiology* 6: 179.
- TOMOVA I. – LAZARKEVICH I. – TOMOVA A. – KAMBOUROVA M. – VASILEVA-VESPER D.J., 2019. Contamination of cave waters by heavy metals. WHITE, W.B., CULVER, D.C., PIPAN, T. (Eds.). *Encyclopedia of caves*. Academic Press, USA, s. 320-325.
- VINHAL-FREITAS, I.C. – CORREA, G.F. – WENDLING, B. – BOBUŠKÁ, L. – FERREIRA, A.S., 2017. Soil textural class plays a major role in evaluating the effects of land use on soil quality indicators. *Ecological Indicators*, 74: 182-190.
-

- VIOLANTE A. – HUANG M.P. – GADD M.G., 2008. Biophysico-chemical processes of heavy metals and metalloids in soil environments. John Wiley & Sons, New Jersey, 512 s.
- WAHSHA M. – NADIMI-GOKI M. – FORNASIER F. – AL-JAWASREH R. – HUSSEIN E.I. – BINI C., 2017. Microbial enzymes as an early warning management tool for monitoring mining site soil. *Catena*, 148: 40-45.
- WANG Y.P. – LI Q.B. – SHI J.Y. – LIN Q. – CHEN X.C. – WU W. – CHEN Y.X., 2008. Assessment of microbial activity and bacterial community composition in the rhizosphere of a copper accumulation and a non-accumulator. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(5): 1167-1177.
- WONG, S.C. – LI, X.D. – ZHANG, G. – QI, S.H. – MIN, Y.S., 2002. Heavy metals in agricultural soils of the Pearl River Delta, South China. *Environmental Pollution*, 119(1): 33-44.
- XIE, Y., FAN, J., ZHU, W., AMOMBO, E., LOU, Y., CHEN, L., FU, J. 2016. Effect of heavy metals pollution on soil microbial diversity and bermudagrass genetic variation. *Frontiers in Plant Science* 7:755.
- YANG Y.G. – SHU W.S. – LAB C.Y., 2007. Heavy metal concentration and plant ability assessment of edible vegetables in Lechang lead-zinc mine area. *Metal Mine*, 12: 126-127.
- YANG, Z.X. – LIU, S.Q. – ZHENG, D.W. – FENG, S.D., 2006. Effects of cadmium, zinc and lead on soil enzyme activities. *Journal of Environmental Sciences*, 18(6): 1135-1141.
- YEATES G.W. – ORCHARD V.A. – SPEIR T.W. – HUNT J.L. – HERMANS M.C.C., 1994. Impact of pasture contamination by copper, chromium, arsenic timber preservative on soil biological activity. *Biology and Fertility of Soils*, 18(3): 200-208.
- ZÁKON NR SR 220/2004 Z.z. Zákon o ochrane a využívaní poľnohospodárskej pôdy. 38 s.
- ZHANG, J. – YANG, S. – YANG, H. – HUANG, Y. – ZHENG, L. – YUAN, J. – ZHOU, S., 2018. Comparative study on effects of four energy plants growth on chemical fractions of heavy metals and activity of soil enzymes in copper mine tailings. *International Journal of Phytoremediation*, 20(6): 616-623.