

WPLYW BENZYNY BEZOŁOWIOWEJ NA LICZEBNOŚĆ W GLEBIE DROBNOUSTROJÓW AMYLOLITYCZNYCH, LIPOLITYCZNYCH I PROTEOLITYCZNYCH

Krystyna Przybulewska, Andrzej Nowak, Agnieszka Foltyn

Katedra Mikrobiologii i Biotechnologii Środowiska, Akademia Rolnicza w Szczecinie

Wstęp

Wśród substancji dostających się do gleby, związki ropopochodne są jedną z dominujących grup. Substancje te, stanowią poważne zagrożenie dla środowiska naturalnego. Przyczynami zanieczyszczeń gleb związkami ropopochodnymi są wycieki ropy naftowej i jej produktów z rurociągów przemysłowych na skutek nie szczelnych połączeń, wycieki paliwa podczas transportu i przeładunku, brak podstawowych zabezpieczeń przed uszkodzeniem i skutkami awarii technicznych, niewłaściwe postępowanie ze ściekami i odpadami, niewłaściwa obsługa i eksploatacja urządzeń magazynowania, dystrybucji i transportu [GUTKOWSKI 1992; LEŚKIEWICZ 1995; BARAN, TURSKI 1996; PIECHOWIAK, MINTA 2000].

Ropa naftowa i jej pochodne produkty zmieniają strukturę gleby, zaburzając właściwości fizyko-chemiczne. Obniżają jej zdolności sorpcyjne, niszcząc przez to życie biologiczne środowiska glebowego [PRZYSTAŚ i in. 2000; KUCHARSKI, JASTRZEBSKA 2001b; RÓŻAŃSKI, WŁODKOWIC 2002]. Jest jednak wiele mikroorganizmów glebowych, przeprowadzających efektywną biodegradację omawianych związków, przez co zmniejsza lub niweluje się ich negatywny wpływ na środowisko [MAŁACHOWSKA-JUTSZ i in. 1997; KUREK i in. 1998; PIWOWARCZYK i in. 1993; ZIEŃKO 1999; NOWAK 1997].

Celem pracy było określenie wpływu benzyny bezołowiowej na liczebność mikroorganizmów wybranych grup fizjologicznych w glebie.

Materiał i metody

Badania prowadzono na glebie gliniastej (średnia) i piaskowej (lekka), pobranych z poziomu orno-próchniczego. Gleba średnia pochodziła z obszaru Równiny Gumienieckiej, z miejscowości Ostoja w pobliżu Szczecina. Jest to czarna ziemia [NIEDŹWIECKI 1990], zaliczana do IIIa i IIIb klasy bonitacyjnej, o składzie granulometrycznym gliny lekkiej pylastej. Miąższość poziomu próchniczego wynosiła około 30 cm. Odczyn gleby wynosił pH_{H_2O} 7,0. Gleba lekka pochodziła z Lipnika. Pobrana została z pola Stacji Doświadczalnej Akademii Rolniczej w Szczecinie. Jest ona zaliczana do gleb brunatno-rdzawych moreny dennej [NIEDŹWIE-

CKI, KOZMINSKI 1994], i wykazuje skład granulometryczny piasku gliniastego lekko-go pylastego. Miąższość poziomu próchniczego wynosiła 20–25 cm. Odczyn gleby wynosił pH_{H_2O} 6,5.

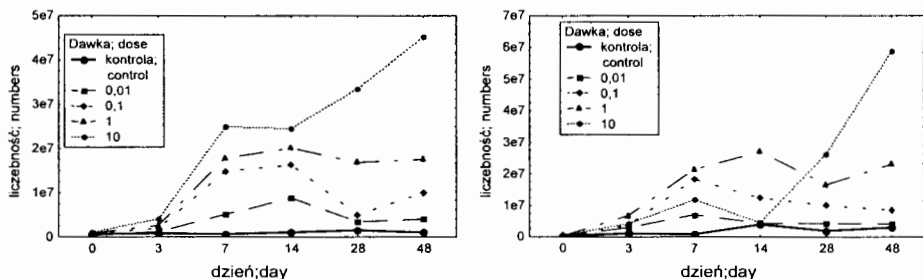
Przygotowano próbki glebowe o masie 0,5 kg a następnie zanieczyszczono benzyną bezołowiową w ilości 0,01; 0,1; 1 i 10% wagowych. Benzynę dokładnie mieszano z glebą w celu równomiernego rozprowadzenia. Kontrolę stanowiła gleba bez dodatku benzyny. Glebę doprowadzano do wilgotności 60% maksymalnej pojemności wodnej i utrzymywano przez cały okres badań na stałym poziomie. Doświadczenie wykonano w trzech powtórzeniach i prowadzono w temperaturze 25°C. Próbkę gleb do analiz pobierano w dniu założenia doświadczenia a następnie po 3, 7, 14, 28 i 48 dniach, w których określano liczebność mikroorganizmów amylolitycznych [COONEY, EMERSON 1964], proteolitycznych [KĘDZIA, KONIAR 1980] i lipolitycznych [BURBIANKA, PLISZKA 1977].

Uzyskane wyniki przeliczono na 1 g suchej masy gleby i poddano ocenie statystycznej wyliczając analizę wariancji.

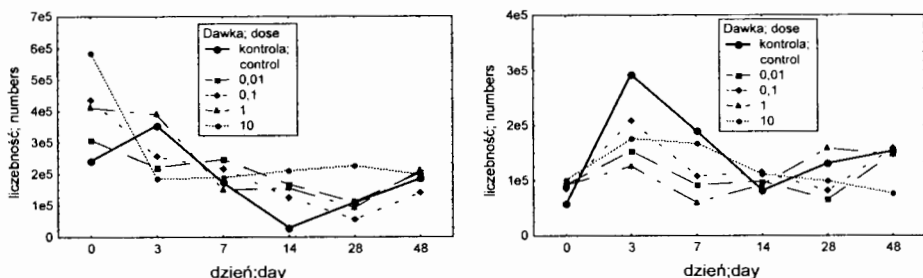
Wyniki badań i dyskusja

Liczebność mikroorganizmów lipolitycznych w glebie piaszczystej wynosiła 703 tys. w 1 g s.m. i wzrosła dwukrotnie wraz z upływem czasu (28 dzień). Pod koniec doświadczenia liczebność badanych drobnoustrojów zmniejszyła się do 1 mln w 1 g s.m. gleby. W glebie gliniastej początkowo wynosiła 450 tys. w 1 g s.m. W 14 dniu inkubacji stwierdzono 9-krotny wzrost w stosunku do wartości początkowej a w ostatnim dniu obniżyła się do 3 mln w 1 g s.m. (rys. 1).

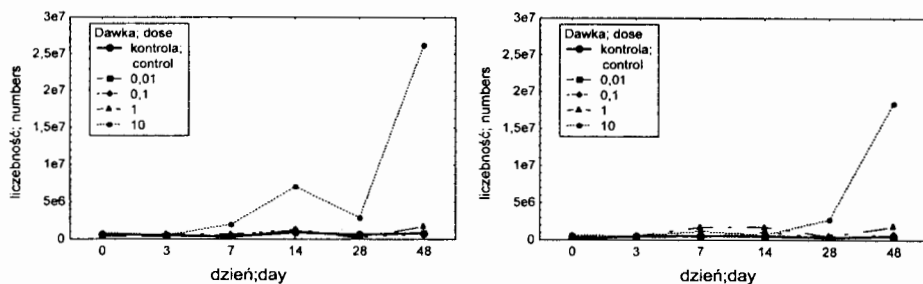
mikroorganizmy lipolityczne; lipolytic microorganisms



mikroorganizmy amylolityczne; amylolytic microorganisms



mikroorganizmy proteolityczne; proteolytic microorganisms



Rys. 1. Wpływ benzyny bezołowiowej na liczebność mikroorganizmów w glebie lekkiej (po lewej) i średniej (po prawej) w przeliczeniu na 1 g s.m.

Fig. 1. The influence of lead-free petrol on microorganism population in light soil (left) and medium soil (right) recalculated onto 1g of dry matter

Skażenie gleby benzyną jak również czas jej oddziaływania (termin), wpływały w sposób wysoce istotny na liczebność badanych drobnoustrojów. Wpływ ten zależał często od rodzaju gleby. W glebie piaszczystej wprowadzona benzyna stymulowała namnażanie drobnoustrojów lipolitycznych. Już w 3 dniu inkubacji stwierdzono wzrost mikroorganizmów średnio o 185% w porównaniu do kontroli. Z upływem czasu stymulacja nasilała się. Po tygodniu odnotowano sześciokrotny wzrost liczebności drobnoustrojów w glebie zanieczyszczonej najmniejszą ilością benzyny (0,01%), nawet do 35-krotnego zwiększenia liczby drobnoustrojów w glebie najbardziej zanieczyszczonej. W badaniach KUCHARSKIEGO i JASTRZEBSKIEJ [2001a], zanieczyszczenie gleby benzyną ołowiową stymulowało namnażanie się bakterii kopiotroficznych, a w mniejszym stopniu oligotroficznych. Autorzy stwierdzili również nieco większą liczebność promieniowców w zanieczyszczonej glebie. Jedyną grupą drobnoustrojów, na którą benzyna ołowiowa działała hamująco były grzyby. Odmienne wyniki badań otrzymali BOROWIEC i in. [1982], zaobserwowali bowiem wyraźne hamowanie rozwoju drobnoustrojów lipolitycznych w czarnej ziemi zanieczyszczonej produktami naftowymi a tylko nieznaczną stymulację namnażania drobnoustrojów w glebie brunatnej. W przeprowadzonych badaniach z czasem działanie stymulujące benzyny zmniejszyło się w glebie z najmniejszą ilością produktu naftowego. PRZYSTAŚ i in. [2000] takie wahania dotyczące wzrostu i spadku aktywności tłumaczy wyczerpaniem się składników pokarmowych dla mikroorganizmów.

W glebie gliniastej wprowadzona benzyna również działała stymulująco na namnażanie mikroorganizmów lipolitycznych. Początkowo liczebność wzrosła ponad dwukrotnie w stosunku do kontroli. Po tygodniowej inkubacji obserwowano 7-krotne zwiększenie liczebności pod wpływem działania najmniejszej dawki zanieczyszczenia oraz ponad 20-krotny pod wpływem większego zanieczyszczenia. GALAS i in. [1997] oraz OLAŃCZUK-NEYMAN i in. [1994], badając mikroflorę zanieczyszczonych substancjami środowisk otrzymali podobne wyniki. Badane szczepy wykazywały szybki i obfity wzrost w obecności produktów naftowych oraz wysoką tolerancję na rosnące stężenie substratu.

Liczebność drobnoustrojów proteolitycznych w glebie lekkiej wynosiła 662 tys. w 1 g s.m. i utrzymywała się na zbliżonym poziomie przez cały okres doś-

wiadczenia osiągając w ostatnim terminie wartość 819 tys. w 1 g s.m. gleby. W glebie gliniastej liczebność wynosiła 196 tys. w 1 g s.m. i w ostatnim okresie wzrosła do 546 tys. w 1 g s.m. gleby (rys. 1).

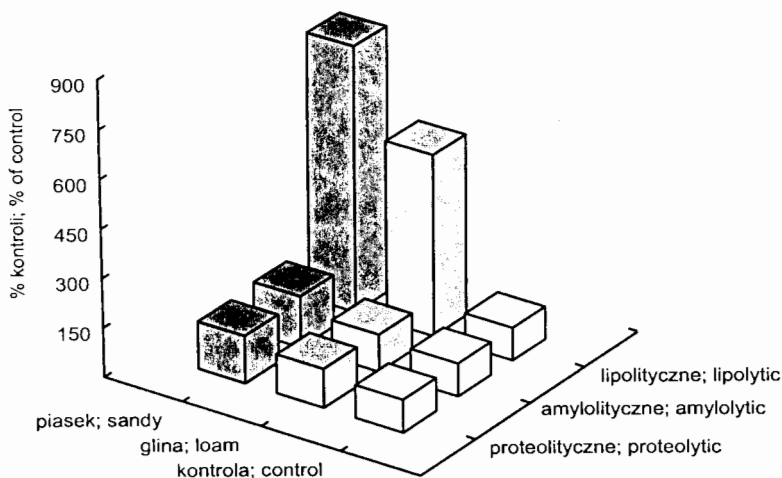
W glebie piaszczystej najbardziej zanieczyszczonej benzyną (10%) odnotowano znaczne namnożenie drobnoustrojów rozkładających białko. Ich liczebność wzrosła ponad 30-krotnie w porównaniu do gleby niezanieczyszczonej. Mniejsze dawki benzyny nie wpływały już tak intensywnie ale z upływem czasu powodowały wzrost liczebności od 27 do 66% w stosunku do gleby kontrolnej.

W glebie gliniastej w dniu założenia doświadczenia zaobserwowano stymulujący wpływ benzyny na mikroflorę proteolityczną (średnio o 170% więcej niż w kontroli). Po upływie 3 dni, w glebie zanieczyszczonej najmniejszą ilością benzyny (0,01 i 0,1%) nastąpiło nieznaczne obniżenie liczebności badanych mikroorganizmów średnio 15% poniżej kontroli. Natomiast w glebie najbardziej zanieczyszczonej liczebność nie odbiegała istotnie od obiektu kontrolnego. Jednak po upływie 4 tygodni odnotowano znaczną stymulację pod wpływem najwyższej dawki najwyższej benzyny, które z czasem nasilało się jeszcze bardziej powodując w końcowym efekcie blisko 34-krotnie wyższy wzrost liczebności badanych drobnoustrojów w stosunku do obiektu kontrolnego (rys. 1). Liczebność mikroorganizmów amylolitycznych w glebie piaszczystej wynosiła 242 tys. w 1 g s.m. Z czasem następowało obniżenie liczebności i w 2 tygodniu badań stwierdzono 28 tys. drobnoustrojów w 1 g s.m. Pod koniec doświadczenia nastąpił jednak wzrost liczebności badanych mikroorganizmów do 184 tys w 1 g s.m. gleby. W glebie gliniastej wynosiła ona 58 tys. w 1 g s.m. i po 3 dniach wzrosła 5-krotnie. Pod koniec doświadczenia odnotowano spadek liczebności do 153 tys. w 1 g s.m. gleby (rys. 1).

Zanieczyszczenie gleby lekkiej benzyną początkowo stymulowało namnażanie drobnoustrojów rozkładających skrobię od 27% w przypadku działania najmniejszej dawki benzyny, do 141% w glebie najbardziej zanieczyszczonej benzyną. Po kilku dniach nastąpiło obniżenie liczebności badanych drobnoustrojów, średnio 29% poniżej kontroli. W 2 tygodniu badań ponownie zaobserwowano stymulujące działanie benzyny, o 342% w glebie zanieczyszczonej najmniejszą ilością benzyny (0,1%), i o 635% w glebie najbardziej zanieczyszczonej (10%). Z czasem nastąpiło jednak obniżenie liczebności mikroorganizmów amylolitycznych. Po 4 tygodniach doświadczenia jedynie największa dawka benzyny działała stymulująco, w przypadku której stwierdzono 2-krotny wzrost liczebności mikroorganizmów amylolitycznych w porównaniu z glebą niezanieczyszczonej. W glebie zanieczyszczonej mniejszą ilością benzyny (0,01%) liczebność utrzymywała się na poziomie zbliżonym do kontroli, a w przypadku wyższych dawek produktu (0,1–1%) zmniejszyła się nawet dwukrotnie pod jej wpływem. W glebie gliniastej początkowo zanieczyszczenie benzyną stymulowały liczebność mikroorganizmów amylolitycznych (od 48% do 74% powyżej kontroli). Z czasem następował spadek liczebności średnio o 41% w porównaniu do gleby niezanieczyszczonej. W drugim tygodniu badań zanieczyszczenie gleby benzyną stymulowało wzrost liczebności mikroorganizmów hydrolizujących skrobię średnio o 28% powyżej kombinacji kontroli. W kolejnym terminie liczebność ponownie obniżyła się dwukrotnie pod wpływem działania najmniejszej dawki benzyny, i czterokrotnie w przypadku działania największej dawki benzyny. Hamujący efekt 10% zanieczyszczenia benzyną utrzymywał się do końca doświadczenia, gdzie nastąpiło dwukrotnie zmniejszenie tych drobnoustrojów w porównaniu do gleby nieskażonej. Natomiast

niższe ilości benzyny zanieczyszczających glebę nie powodowały istotnych zmian w liczebności mikroorganizmów rozkładających skrobię. Przyczyną obniżenia liczebności tych drobnoustrojów może być prawdopodobnie wyczerpanie dostępnych źródeł węgla i energii. Potwierdzają to badania niektórych autorów [DZIENIA i in. 1982; MICHAŁCEWICZ 1995].

Zanieczyszczenie gleby benzyną bezołowiową stymulowało wzrost liczebności mikroorganizmów lipolitycznych i proteolitycznych. Liczebność drobnoustrojów amylolitycznych była stymulowana w mniejszym stopniu, głównie w glebie piaszczystej. W przypadku gleby gliniastej obserwowano istotne zmniejszenie liczebności mikroorganizmów rozkładających skrobię. PRZYSTAŚ i in. [2000] wahania aktywności amylaz tłumaczy wyczerpaniem się składników pokarmowych dla mikroorganizmów o zdolnościach amylolitycznych oraz selekcją prowadzącą do wyparcia mikroorganizmów o takich właściwościach. W niniejszej pracy zdecydowanie większą stymulację (nawet o 80%) stwierdzono pod wpływem wprowadzonej benzyny do gleby piaszczystej w przypadku mikroorganizmów rozkładających tłuszcze i skrobię (rys. 2).



Rys. 2. Wpływ benzyny bezołowiowej na średnią liczebność mikroorganizmów w glebie wyrażony jako procent kontroli

Fig. 2. The influence of lead-free petrol on average microorganisms population in soil expressed as percentage of control

Natomiast rozkład białka był nieznacznie większy w glebie gliniastej skażonej benzyną. Odmienne wyniki badań otrzymali BOROWIEC i in. [1982], zaobserwowali bowiem wyraźne hamowanie rozwoju drobnoustrojów lipolitycznych w czarnej ziemi skażonej produktami naftowymi a tylko nieznaczną stymulację liczebności drobnoustrojów w glebie brunatnej. Ich zdaniem na zróżnicowany stopień aktywności mikrobiologicznej gleb wpływa różny stopień skażenia tych gleb niezależnie od ich właściwości fizyko-chemicznych, jak skład granulometryczny i zawartość próchnicy. Zdaniem DZIENIA i in. [1982], RÓŻAŃSKIEGO i WŁODKOWCA [2002] a także DACY i in. [1977], aktywność mikrobiologiczna gleb skażonych substancja-

mi ropopochodnymi zależy od składu granulometrycznego, w szczególności od zawartości części spławianych i koloidalnych, jak również od zawartości próchnicy.

Wnioski

1. Zanieczyszczenie gleby benzyną bezołowiową wpływa na wzrost liczebności mikroorganizmów lipolitycznych, w mniejszym stopniu liczebności drobnoustrojów rozkładających białko i skrobię.
2. W glebie piaszczystej stwierdzono zdecydowanie większy wzrost liczebności (nawet o 80%) w przypadku mikroorganizmów rozkładających tłuszcze i skrobię, natomiast rozkład białka był nieznacznie większy w glebie gliniastej zanieczyszczonej tym produktem.

Literatura

- BARAN S., TURSKI R. 1996. *Degradacja ochrona i rekultywacja gleb*. Lublin: 112–131.
- BOROWIEC S., DZIENIA S., BOLIGŁOWA E. 1982. *Wpływ skażenia gleby produktami ropy naftowej na mikroflorę glebową. Cz. I. Mikroorganizmy glebowe w sąsiedztwie magazynów paliw*. Zesz. Nauk. AR Szczecin 94: 33–44.
- BURBIANKA M., PLISZKA A. 1977. *Mikrobiologia żywności*. PZWL Warszawa: 507 ss.
- COONEY D.G., EMERSON R. 1964. *Termophilic fungi*. Freeman and Co. London: 245 ss.
- DACA H., KOPYŁOW H., SKRZYCZYŃSKI T. 1977. *Wpływ oleju napędowego do silników Diesla na niektóre grupy drobnoustrojów glebowych*. Zesz. Nauk. AR Szczecin 61: 101–113.
- DZIENIA S., BOLIGŁOWA E., BOROWIEC S. 1982. *Wpływ skażenia gleby produktami ropopochodnymi na mikroflorę glebową. Cz. II. Wpływ oleju napędowego stosowanego w rolnictwie na niektóre grupy drobnoustrojów glebowych*. Zesz. Nauk. AR Szczecin 9: 65–70.
- GALAS E., KWAPISZ E., TARABASZ-SZYMAŃSKA Ł., KRYSZYŃCZAK A., ANTCZAK T., ORYŃSKA A. 1997. *Charakterystyka wybranych szczepów bakterii degradujących węglowodory ropy naftowej*. Biotechnologia 1(36): 145–157.
- GUTKOWSKI J. 1992. *Wpływ środków eksploatacyjnych na środowisko naturalne. Paliwa Oleje Smary w Eksploatacji* 1: 9–11.
- KĘDZIA W., KONIAR H. 1980. *Diagnostyka mikrobiologiczna*. PZWL Warszawa.
- KUCHARSKI J., JASTRZĘBSKA E. 2001a. *Reakcja drobnoustrojów na zanieczyszczenie gleby benzyną ołowiową*. Zesz. Probl. Post. Nauk. Rol. 476: 189–195.
- KUCHARSKI J., JASTRZĘBSKA E. 2001b. *Aktywność enzymatyczna gleby zanieczyszczonej olejem napędowym*. Zesz. Probl. Post. Nauk. Rol. 476: 181–187.
- KUREK E., STEC A., STANIAK D. 1998. *Bioremediacja ex situ gleby skażonej produktami ropopochodnymi*. Ekoinżynieria 9(34): 5–11.
- LEŚKIEWICZ J. 1995. *Skażenie gruntu i wód produktami ropopochodnymi*. Aura 11: 6–9.

- MAŁACHOWSKA-JUTSZ A., MROZOWSKA J., KOZIELSKA M., MIKSCH K. 1997. *Aktywność enzymatyczna w glebie skażonej związkami ropopochodnymi w procesie jej detoksykacji*. Biotechnologia 1(36): 79–91.
- MICHAŁCEWICZ W. 1995. *Wpływ oleju napędowego do silników Diesla na liczebność bakterii, grzybów, promieniowców oraz biomasę mikroorganizmów glebowych*. Roczn. PZH 26(1): 91–97.
- NIEDŹWIECKI E. 1990. *Wpływ użytkowania sadowniczego na zmiany właściwości gleb wytworzonych z glin zwałowych w obrębie Równiny Gumienieckiej na Pomorzu Zachodnim*. Zesz. Nauk. AR Wrocław 196: 137–147.
- NIEDŹWIECKI E., KOZMIŃSKI Cz. 1994. *Agricultural production on light soil in the protective zone of Miedwie lake water intake for Szczecin*. Roczn. Glebozn. 24: 21–26.
- NOWAK A. 1997. *Wykorzystanie mikroorganizmów w biotechnologii środowiskowej*. Chem. Inż. Ekol. 4(6): 869–893.
- OLAŃCZUK-NEYMAN K., PREJZNER J., TOPOLNICKI M. 1994. *Chemiczna i bakteriologiczna ocena skażenia stacji przeładunku paliw produktami ropopochodnymi*. Biotechnologia 2(25): 50–59.
- PIECHOWIAK K., MINTA M. 2000. *Biologiczne oczyszczanie wód i gruntów*. Cz. II. Ekopartner 2: 31.
- PIWOWARCZYK J., DEMCZAK M., BIBER E. 1993. *Zagrożenie rozlewami naftowymi i sposoby ich likwidacji*. Aura 1: 11–12.
- PRZYSTAŚ W., MIKSCH K., MAŁACHOWSKA-JUTSZ A. 2000. *Zmiany aktywności enzymatycznej gleby w procesie biodegradacji zanieczyszczeń ropopochodnych przy zastosowaniu biopreparatów*. Arch. Ochr. Środ. 2(26): 59–70.
- RÓŻAŃSKI H., WŁODKOWICZ D. 2002. *Skutki oddziaływania zanieczyszczeń ropopochodnych na środowisko przyrodnicze*. Wszechświat 103(7–9): 223–225.
- ZIENKO J. 1999. *Technologie redukcji ujemnych wpływów terminali, baz i stacji paliw ropopochodnych na środowisko*. Cz. III. *Technologie wykorzystujące metody biologiczne i biochemiczne oczyszczania środowiska gruntowo-wodnego*. Ekol. Tech. 4(4): 107–112.

Słowa kluczowe: benzyna bezołowiowa, mikroorganizmy, aktywność enzymatyczna, gleba

Streszczenie

W niniejszej pracy przedstawiono wyniki badań nad wpływem benzyny bezołowiowej na wybrane grupy fizjologiczne mikroorganizmów glebowych. Próbkę glebową zanieczyszczono benzyną bezołowiową w ilości 0,01; 0,1; 1,0 i 10% wagowych. Zanieczyszczenie gleby benzyną istotnie zmieniało liczebność podstawowych grup fizjologicznych drobnoustrojów. Pod jej wpływem znacznie wzrosła liczebność mikroorganizmów lipolitycznych, w mniejszym stopniu stymulowała drobnoustroje rozkładające białko, a najmniej korzystnie wpływała na drobnoustroje amylolityczne. Stwierdzono zdecydowanie większy wzrost mikroorganizmów (nawet o 80%) w glebie piaszczystej w przypadku rozkładu mikroorganizmów rozkładających tłuszcze i skrobię, natomiast w przypadku rozkładu białka liczebność była nieznacznie większa w glebie gliniastej zanieczyszczonej tym produktem.

INFLUENCE OF LEAD-FREE PETROL ON THE QUANTITY
OF LIPOLYTIC, PROTEOLYTIC
AND AMYLOLYTIC MICROORGANISMS IN THE SOIL

Krystyna Przybulewska, Andrzej Nowak, Agnieszka Foltyn
Department of Microbiology and Biotechnology of Environment,
Agricultural University, Szczecin

Key words: lead-free petrol, microorganisms, enzymatic activity, soil

Summary

Effects of lead-free petrol on population of general physiological micro-organism groups are presented in the paper. The soil was amended with 0.01, 0.1, 1.0 and 10% (by weight) of lead-free petrol. Soil pollution significantly changed the populations of general microorganism groups. The pollution of soil significantly increased the number of lipolitic microorganisms, to a lesser extent it stimulated the microorganisms decomposing protein and to the least extent it affected amylolytic microorganisms. Significantly more intensive growth of microorganisms (even by 80%) was found in sandy soil in a case of microbes decomposing fat and starch; protein degradation was slightly larger in loamy soil contaminated with this product.

Dr inż. **Krystyna Przybulewska**
Katedra Mikrobiologii i Biotechnologii Środowiska
Akademia Rolnicza
ul. Słowackiego 17
71-434 SZCZECIN
e-mail: kprzybulewska@agro.ar.szczecin.pl