

Teodora M. TRACZEWSKA

Politechnika Wrocławska
Instytut Inżynierii Ochrony Środowiska
50-370 Wrocław, Wybrzeże Wyspiańskiego 27

WPŁYW WYBRANYCH WIELOPIERŚCIENIOWYCH WĘGLOWODORÓW AROMATYCZNYCH (WWA) NA NATURALNĄ MIKROFLORĘ GLEBOWĄ

Streszczenie. Badano wpływ antracenu, benzo(a)pirenu i fluorantenu, w stężeniach równych ich rozpuszczalności w wodzie i dwukrotnie wyższych, na skład jakościowy i ilościowy wybranych grup fizjologicznych bakterii glebowych, w dynamicznych układach modelowych typu lizymetru. Stwierdzono zróżnicowaną wrażliwość wszystkich badanych grup, tj. bakterii psychrofilnych, przetrwalnikujących, amylolitycznych, proteolitycznych, amonifikacyjnych, denitryfikacyjnych oraz nityfikacyjnych I i II fazy, na wysokie stężenia WWA. Zaobserwowano przemieszczanie się bakterii w profilu glebowym, ich wymywanie z gleby wraz z odciekami oraz efekty toksycznego oddziaływania WWA na bakterie glebowe.

INFLUENCE OF CHOSEN POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS (PAHS) ON NATURAL SOIL MICROFLORA

Summary. The influence of anthracene, benzo(a)pyrene and fluoranthrene on quantity and quality of physiological groups of soil microorganisms were examined. Lysimeters as dynamic models were used. Different susceptibility of soil microorganisms (psychrophilic, endospores forming bacteria, bacteria with amylolytic and proteolytic activity, and ammonifying, ammonia-oxidising, nitrite-oxidising, denitrifying bacteria) to high concentration of PAHs was found. Displacement of bacteria in soil profile, washing out together with effluent and toxic effect of PAHs on soil bacteria were observed.

WSTĘP

Występowanie coraz liczniejszych rodzajów związków chemicznych w powietrzu, glebie i wodzie, możliwość ich migracji w łańcuchach troficznym stwarza poważne zagrożenie dla środowiska i zdrowia człowieka [7]. Istotnym elementem w ocenie zagrożeń, obok rozpoznania źródeł skażenia, wielkości emisji czy trwałości badanych zanieczyszczeń, jest

zagadnienie interakcji ksenobiotyków z elementami biotycznymi ekosystemu w aspekcie przemian tych substancji w środowisku.

Do szczególnie niebezpiecznych i uciążliwych zanieczyszczeń wody i gleby należą wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne [8]. Źródłem ich w środowisku są procesy pirolizy węgla, procesy spalania paliw płynnych, wiele z tych związków występuje również we frakcji aromatycznej olejów mineralnych czy ropy naftowej. Stopień zanieczyszczenia środowiska przez WWA wzrasta wraz z rozwojem cywilizacyjnym [6]. Rozwój metod analitycznych pozwala na coraz bardziej precyzyjne pomiary ich zawartości, a wiedza o ich aktywności mutagennej i rakotwórczej stwarza konieczność minimalizacji ekspozycji na nie organizmów żywych, a zwłaszcza populacji ludzkiej.

Stopień zanieczyszczenia wód powierzchniowych przez WWA jest zróżnicowany [7], ale nabiera ono szczególnego znaczenia w przypadku ujmowania ich na cele wodociągowe. Istotnym elementem wykorzystywanym w technologii oczyszczania wód powierzchniowych jest ich infiltracja przez glebę, w trakcie której wiele niepożądanych związków organicznych ulega sorpcji oraz biodegradacji w wyniku aktywności naturalnej, często wyselekcjonowanej mikroflory glebowej.

W pracy przedstawiono wyniki badań nad interakcją naturalnej mikroflory glebowej z wybranymi WWA, tj. antracenen, benzo(a)pirenem i fluorantenem w aspekcie selekcji ilościowej i jakościowej mikroflory. Badania prowadzono na modelu laboratoryjnym typu lizymetru, wypełnionego glebą pobraną z terenów wodonośnych w pobliżu rzeki wykorzystywanej jako źródło surowca dla dużych zakładów uzdatniania wody.

MATERIAŁY I METODY

Materiał do badań stanowiła gleba pobrana z terenów wodonośnych znajdująca się pod bezpośrednim wpływem zanieczyszczeń z elektrociepłowni oraz trasy szybkiego ruchu. Jest to mada brunatna wytworzona z piasku gliniastego lekkiego o zawartości części spławialnych 12%, w tym iłu koloidalnego 6%, o pH 7,0. Glebą tą wypełniono szklane lizymetry o średnicy 12 cm do wysokości 45 cm, zachowując jej naturalne uwarstwienie. Badania prowadzono równolegle na siedmiu kolumnach, dozując do nich w sposób ciągły z prędkością 25cm³/h przez trzy tygodnie wodne roztwory wybranych WWA, a przez kolejne dwa tygodnie wodę redestylowaną zgodnie z tabelą 1.

Schemat dozowania WWA do lizymetrów

Tabela 1

Rodzaj związku	Stężenie dozowanego węglowodoru [mg/dm ³], w czasie [tygodnie]					
	0*	1**	2**	3**	4**	5**
kontrola	0	0	0	0	0	0
antracenen	0	0,3	0,3	0,3	0	0
antracenen	0	0,6	0,6	0,6	0	0
benzo(a)piren	0	0,24	0,24	0,24	0	0
benzo(a)piren	0	0,48	0,48	0,48	0	0
fluoranten	0	1,06	1,06	1,06	0	0
fluoranten	0	2,12	2,12	2,12	0	0

* jednorazowe wprowadzenie 600 cm³ wody destylowanej w celu nawilżenia gleby

** całkowita, tygodniowa objętość roztworu - 4200 cm³

Badania nad selekcją ilościową w obrębie wybranych grup bakterii

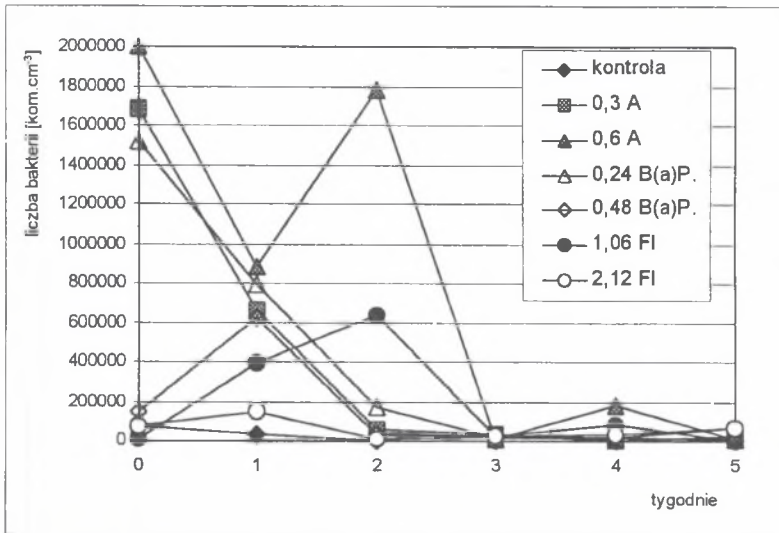
Odplływ z kolumn glebowych pobierano do sterylnych naczyń i po czasie 0, 7, 14 i 21 dni wyznaczano liczebność bakterii psychrofilnych, w tym przetrwalnikujących, amyloリティcznych, proteolitycznych metodą płytkową Kocha oraz amonifikacyjnych, nityfikacyjnych I i II fazy i denityfikacyjnych metodą miana. Analogicznym badaniom poddano glebę w profilach glebowych przed rozpoczęciem badań, po 21 dniach dozowania węglowodorów oraz po 14 dniach przemywania lizymetrów wodą. W tym celu pobrano próby gleby w ilości 10 g z trzech poziomów, sporządzano roztwór glebowy w 90 cm³ roztworu fizjologicznego i posiew wykonywano analogicznie jak w przypadku prób odcieków.

Oznaczenia grup fizjologicznych bakterii

Ogólną liczbę bakterii psychrofilnych określano na agarze odżywcym w temperaturze 20°C po 72 godzinnej inkubacji licząc wszystkie wyrosłe kolonie. Liczbę psychrofilnych bakterii przetrwalnikujących oznaczano po wstępnym usunięciu form wegetatywnych bakterii poprzez preinkubację badanej próby przez 10 minut w 80°C, a następnie po szybkim schłodzeniu, przez posianie na agar odżywczy w analogicznych warunkach jak bakterie psychrofilne. Liczbę psychrofilnych bakterii amyloリティcznych określano na agarze skrobiowym. Po 72-godzinnej inkubacji liczono kolonie, wokół których, po zalaniu płynem Lugola, występowała strefa przejaśnienia podłoża na skutek rozkładu skrobi w wyniku enzymatycznej hydrolizy. Ilość psychrofilnych bakterii proteolitycznych określano na podłożu żelatynowym Fraziera. Po 72-godzinnej inkubacji liczono wszystkie kolonie, wokół których występowała strefa przejaśnienia spowodowana rozkładem żelatyny, widoczna po zastosowaniu odczynnika Fraziera. Miano bakterii amonifikacyjnych ustalano na podłożu glukozowo-peptonowym poprzez ocenę zmiany barwy papierków Kruppa w wyniku ich reakcji z jonami amonowymi, umieszczanych nad pożywką z odpowiednim rozcieńczeniem. Odczytów dokonywano po 72-godzinnej inkubacji w temperaturze 20°C. Miano bakterii nityfikacyjnych I fazy wyznaczano na podłożu Winogradzkiego dla I fazy nityfikacji. Szeregi rozcieńczeń inkubowano 72 godziny w temperaturze 20°C, po czym odczynnikiem Griesa stwierdzano obecność azotynów, będących produktem utleniania jonów amonowych. Miano bakterii nityfikacyjnych II fazy wyznaczano na podłożu Winogradzkiego dla II fazy nityfikacji po 72-godzinnej inkubacji w temperaturze 20°C. Obecność tych bakterii określano poprzez oznaczenie dwufenyloaminą azotanów powstających w wyniku utleniania azotynów. Pozostałe, nie przereagowane azotyny rozkładano metodą mocznikową. Miano bakterii denityfikacyjnych określano na podłożu Giltaya po 72-godzinnej inkubacji w 20°C poprzez ocenę zmiany barwy podłoża, obecność pęcherzyków wydzielanego azotu, reakcję z odczynnikiem Nesslera pozwalającej wykazać obecność jonów amonowych i odczynnikiem Griesa, którym stwierdzano obecność azotynów.

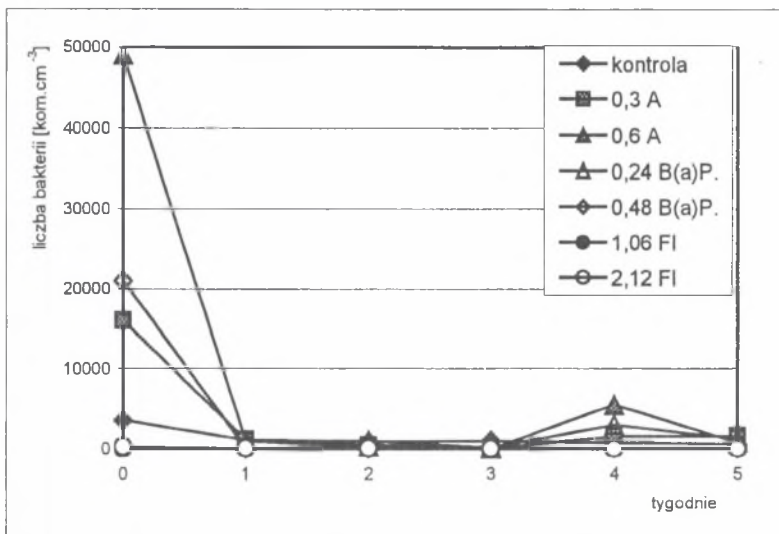
WYNIKI

W trakcie trwania doświadczenia we wszystkich badanych lizymetrach stwierdzano spadek liczebności bakterii (rys. 1, 2, 3 i 4; tab.2).

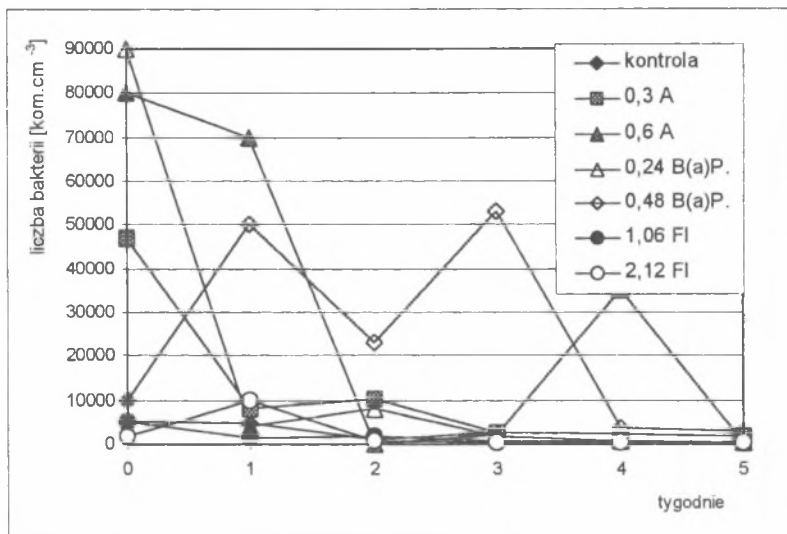


Rys. 1. Liczba bakterii psychrofilnych w odciekach z lizymetrów
 Fig. 1. Number of psychrophilic bacteria in effluents from lysimeters

W próbie kontrolnej, do której dozowano jedynie wodę redestylowaną, obserwowano stopniowo spadek liczebności badanych grup bakterii, spowodowany prawdopodobnie wypłukiwaniem z gleby związków rozpuszczalnych w wodzie, w tym substancji biogennych. Jedynie miano bakterii nityfikacyjnych I i II fazy utrzymywało się na stałym poziomie (tab. 2).

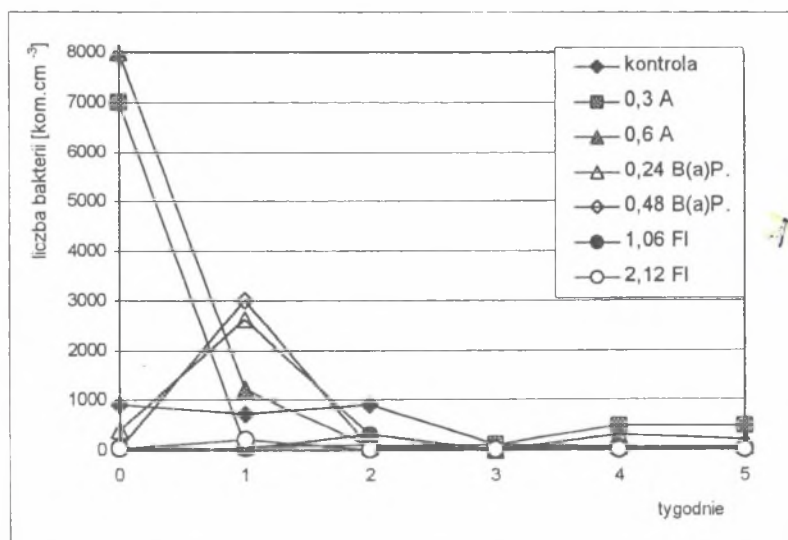


Rys. 2. Liczba bakterii przetrwalnikujących w odciekach z lizymetrów
 Fig. 2. Number of bacteria forming endospores in effluents from lysimeters



Rys. 3. Liczba bakterii proteolitycznych w odciekach z lizymetrów
 Fig. 3. Number of proteolytic bacteria in effluents from lysimeters

Dozowanie badanych WWA powodowało znaczne wahania liczebności bakterii psychrofilnych, przy czym wyraźnie można było zauważyć stymulujący wpływ wysokich stężeń antracenu, benzo(a)pirenu i fluorantenu, zwłaszcza po dwóch tygodniach dozowania (rys. 1). Mogło to być rezultatem z jednej strony namnożenia bakterii, z drugiej zaś wynikiem zmian cech tych drobnoustrojów będących rezultatem działania toksycznego.



Rys. 4. Liczba bakterii amylolitycznych w odciekach z lizymetrów
 Fig. 4. Number of bacteria which posses amylolytic activity in effluents from lysimeters

Za efektem toksycznym może przemawiać fakt, iż w trzecim tygodniu badań nastąpił gwałtowny spadek liczebności bakterii w odciekach z lizymetrów. Dozowanie wody redestylowanej tylko w niewielkim stopniu wpłynęło na wzrost liczby bakterii w odciekach. Ponadto gwałtowny zanik form przetrwalnych bakterii może wskazywać na stymulujące germinację działanie badanych WWA, a zaprzestanie ich dozowania nie wpłynęło w istotny sposób na wytwarzanie form przetrwalnych przez bakterie (rys. 2). Aktywność proteolityczna naturalnej mikroflory glebowej ulegała znacznym, oscylacyjnym wahaniom pod wpływem wysokich stężeń badanych WWA, podczas gdy stężenia w granicach ich rozpuszczalności w wodzie powodowały obniżenie aktywności tej grupy bakterii (rys. 3). Dozowanie antracenu i fluorantenu hamująco wpływało na liczebność w odpływie bakterii amylopolitycznych. Jedynie benzo(a)piren w zastosowanych stężeniach wpływał na wzrost liczby tych bakterii w odpływie (po tygodniu), po czym liczebność ich zrównała się we wszystkich badanych lizymetrach (rys. 4).

Zaobserwowano bardzo wyraźny wpływ badanych WWA na aktywność, a w tym zapewne i liczebność, bakterii przemian azotowych (tab. 2). W pierwszych dwóch tygodniach badań obserwowano wzrost liczby bakterii amonifikacyjnych we wszystkich lizymetrach, do których dozowano WWA. Następnie poziom ich liczebności ustalał się do końca eksperymentu w granicach miana 1 lub 0,1. Pod wpływem antracenu, benzo(a)pirenu i fluorantenu w bardzo istotny sposób zwiększyła się liczba denitryfikatorów w odpływach. Poza stymulującym rozwój komórek działaniem WWA mogło to być efektem stworzenia dla tych bakterii optymalnych warunków do wzrostu. Dozowanie w sposób ciągły źródła węgla (choć trudno dostępnego), zmieniało zapewne warunki tlenowe w glebie, obniżenie zawartości tlenu jest dla tych bakterii czynnikiem sprzyjającym. Antracen i fluoranten wpływały stymulująco na proces nityfikacji I i II fazy, podczas gdy benzo(a)piren wywoływał taki efekt w niewielkim stopniu. W celu oceny selekcji grup fizjologicznych bakterii glebowych pod wpływem WWA określono zmiany ich liczebności w trzech warstwach profilu glebowego, po 21 dniach dozowania stosowanych stężeń antracenu, benzo(a)pirenu i fluorantenu i po 14 dniach przemywania lizymetrów wodą redestylowaną (tabela 3, 4, 5, 6).

Antracen powodował nieznaczne zmiany w liczebności bakterii w poszczególnych poziomach profilu glebowego polegające niekiedy na wzroście liczby oraz na przemieszczaniu się drobnoustrojów do poziomu II. Najwyraźniej efekt ten można zaobserwować na przykładzie bakterii denitryfikacyjnych. Benzo(a)piren wykazywał działanie toksyczne w stosunku do bakterii, zwłaszcza przemian azotowych, przy czym znacznie wyraźniej efekt ten był widoczny przy zastosowaniu wyższego stężenia. Wydaje się, że działanie to dotyczyło raczej aktywności enzymatycznej bez efektu letalnego. Wskazuje na to powrót aktywności, np. denitryfikacyjnej, po zaprzestaniu dozowania tego węglowodoru. Odmienne działał na naturalną mikroflorę glebową fluoranten. W większości przypadków efekt toksyczny, objawiający się obniżaniem aktywności enzymatycznej czy liczebności danej grupy bakterii, utrzymywał się nawet po zaprzestaniu dozowania tego węglowodoru. Jedynie bakterie denitryfikacyjne wydają się słabo wrażliwe na jego działanie.

Tabela 2

Miano bakterii amonifikacyjnych, denitryfikacyjnych, nityfikacyjnych I fazy, nityfikacyjnych II fazy w glebie zanieczyszczonej przez WWA

Gr fizjol. bakterii	Amonifikacyjne		Denitryfikacyjne		Nityfikacyjne I fazy		Nityfikacyjne II fazy	
Antracen								
mg dm ⁻³	0,3	0,6	0,3	0,6	0,3	0,6	0,3	0,6
start	1*10 ⁻³	1*10 ⁻²	1*10 ⁻⁹	1*10 ⁻⁸	-	-	-	-
1. tydzień	1*10 ⁻³	1*10 ⁻⁸	1*10 ⁻⁹	1*10 ⁻⁹	1*10 ¹	1*10 ¹	1*10 ⁻¹	1*10 ¹
2. tydzień	1*10 ⁰	1*10 ⁰	1*10 ⁻¹⁴	1*10 ⁻¹²	1*10 ⁻³	1*10 ⁻³	1*10 ⁻³	1*10 ⁻²
3. tydzień	1*10 ⁰	1*10 ⁰	1*10 ⁻¹⁶	1*10 ⁻¹³	1*10 ⁰	1*10 ⁻¹	1*10 ⁻³	1*10 ⁰
4. tydzień	1*10 ⁻¹	1*10 ⁰	1*10 ⁻²⁵	1*10 ⁻⁹	0	0	1*10 ¹	1*10 ¹
5. tydzień	1*10 ⁰	1*10 ⁰	1*10 ⁻⁶	1*10 ⁻⁶	0	0	1*10 ¹	1*10 ¹
Benzo(a)piren								
mg dm ⁻³	0,24	0,48	0,24	0,48	0,24	0,48	0,24	0,48
start	1*10 ⁻²	1*10 ⁻²	1*10 ⁻¹⁵	1*10 ⁻⁵	1*10 ⁰	1*10 ⁰	1*10 ⁰	1*10 ¹
1. tydzień	1*10 ⁻⁸	1*10 ⁻⁸	1*10 ⁻⁹	1*10 ⁻⁹	1*10 ⁰	1*10 ⁰	1*10 ⁰	1*10 ¹
2. tydzień	1*10 ⁻¹	1*10 ⁰	1*10 ⁻¹²	1*10 ⁻¹⁰	1*10 ⁰	1*10 ¹	1*10 ¹	1*10 ¹
3. tydzień	1*10 ⁻¹	1*10 ⁰	1*10 ⁻¹⁰	1*10 ⁻¹⁶	1*10 ¹	1*10 ¹	1*10 ⁻¹	1*10 ⁻³
4. tydzień	1*10 ⁻¹	1*10 ⁰	1*10 ⁻⁹	1*10 ⁻¹²	0	0	1*10 ¹	1*10 ¹
5. tydzień	1*10 ⁰	1*10 ⁰	1*10 ⁻⁶	1*10 ⁻⁶	0	0	1*10 ¹	1*10 ¹
Fluoranten								
mg dm ⁻³	1,06	2,12	1,06	2,12	1,06	2,12	1,06	2,12
start	1*10 ⁻¹	1*10 ⁻²	1*10 ⁻⁴	1*10 ⁻⁸	1*10 ¹	1*10 ⁰	1*10 ⁰	1*10 ¹
1. tydzień	1*10 ⁻²	1*10 ⁻²	1*10 ⁻⁹	1*10 ⁻⁹	1*10 ⁰	1*10 ⁻¹	1*10 ⁰	1*10 ¹
2. tydzień	1*10 ⁰	1*10 ⁰	1*10 ⁻¹⁶	1*10 ⁻⁹	1*10 ⁰	1*10 ⁻³	1*10 ⁻³	1*10 ¹
3. tydzień	1*10 ⁰	1*10 ⁰	1*10 ⁻¹⁹	1*10 ⁻¹⁶	1*10 ⁰	1*10 ⁻²	1*10 ⁻³	1*10 ⁰
4. tydzień	1*10 ⁻¹	1*10 ⁰	1*10 ⁻¹⁰	1*10 ⁻¹⁴	0	0	1*10 ¹	1*10 ¹
5. tydzień	1*10 ⁻¹	1*10 ⁰	1*10 ⁻⁶	1*10 ⁻⁶	0	0	1*10 ¹	1*10 ¹
Kontrola								
start	1*10 ⁻⁴		1*10 ⁻⁶		1*10 ¹		1*10 ¹	
1. tydzień	1*10 ⁻³		1*10 ⁻⁴		1*10 ¹		1*10 ¹	
2. tydzień	1*10 ⁻²		1*10 ⁻⁴		1*10 ¹		1*10 ¹	
3. tydzień	1*10 ⁰		1*10 ⁻⁴		1*10 ⁰		1*10 ⁰	
4. tydzień	1*10 ⁻¹		1*10 ⁻⁴		1*10 ¹		1*10 ¹	
5. tydzień	1*10 ⁰		1*10 ⁻⁴		1*10 ¹		1*10 ¹	

Tabela 3

Liczebność bakterii w glebie.

Czas	Grupa fizjologiczna bakterii	Próba kontrolna		
		poziom I	poziom II	poziom III
Start	psychrofilne [kom.cm ⁻³]	156000	31600	4900
	przetrwalnijkujące [kom.cm ⁻³]	1920	1480	80
	proteolityczne [kom.cm ⁻³]	90000	400	600
	amylolityczne [kom.cm ⁻³]	2700	2100	500
	amonifikacyjne [miano]	0,1	0,001	0,1
	denitryfikacyjne [miano]	0,00000001	0,000000001	0,000000001
	nitryfikacyjne I fazy [miano]	0,01	10	1
	nitryfikacyjne II fazy [miano]	1	0,001	0,001

Tabela 4

Liczebność bakterii w glebie w obecności antracenu

Czas	Grupa fizjologiczna bakterii	0,3 mg . dm ⁻³			0,6 mg . dm ⁻³		
		poziom I	poziom II	poziom III	poziom I	poziom II	poziom III
3 tygodnie	psychrofilne*	71000	37000	20000	14200	9500	8400
	przetrwalnijkujące*	7680	2020	17040	47210	3000	1660
	proteolityczne *	16000	6000	10000	4000	2000	2000
	amylolityczne *	500	1200	1200	2600	2500	1500
	amonifikacyjne **	0,1	0,1	0,01	0,01	0,01	0,01
	denitryfikacyjne**	0,001	0,000001	0,000001	0,001	0,000001	0,001
	nitryfikacyjne I fazy**	10	1	10	10	10	10
	nitryfikacyjne II fazy**	1	0,001	0	1	1	10
5 tygodni	psychrofilne*	18400	74000	11000	83000	72000	58000
	przetrwalnijkujące*	7040	3240	3120	6040	2960	2440
	proteolityczne*	6000	7000	700	7000	900	5000
	amylolityczne*	2000	3000	2000	600	500	300
	amonifikacyjne**	1	1	0,1	1	1	0,01
	denitryfikacyjne**	0,0001	0,00001	0,001	0,0000001	0,0001	0,0001
	nitryfikacyjne I fazy**	0,001	10	10	10	10	10
	nitryfikacyjne II fazy**	0,1	0,1	10	0,01	0,01	1

* kom.cm⁻³, ** miano

POSUMOWANIE I DYSKUSJA

Mikroorganizmy odgrywają kluczową rolę w obiegu węgla i energii w naturalnych ekosystemach, stąd też stanowią one decydującą grupę organizmów odpowiedzialnych za rozkład zanieczyszczeń pochodzenia antropogenicznego. Ksenobiotyki są związkami o różnej strukturze chemicznej i o różnym działaniu biologicznym, jednak w większości przypadków wykazują działanie toksyczne. Degradacja ksenobiotyków może być wynikiem katabolizmu prowadzonego przez czysty szczep bakteryjny, bądź złożonego metabolizmu przeprowadzanego przez mieszaną kulturę bakterii, a produkty rozkładu powstające w wyniku działalności jednych mikroorganizmów mogą być substratami dla innych [3].

Tabela 5

Liczebność bakterii w glebie w obecności benzo(a)pirenu

Czas	Grupa fizjologiczna bakterii	0,24 mg · dm ⁻³			0,48 mg · dm ⁻³		
		poziom I	poziom II	poziom III	poziom I	poziom II	poziom III
3 tygodnie	psychrofilne*	85000	8600	12100	24000	3200	840
	przetrawnikujące*	23680	3460	430	1820	1080	81
	proteolityczne *	8000	5000	4000	800	900	300
	amylolityczne *	1100	400	400	100	300	70
	amonifikacyjne **	0,01	0,1	0,001	0,01	0,001	0,1
	denitryfikacyjne**	0,0000001	0,001	0,1	0,0001	0,001	0,01
	nitryfikacyjne I fazy**	0,01	10	10	0,1	1	1
	nitryfikacyjne II fazy**	0	0,001	0	1	0,001	1
5 tygodni	psychrofilne*	7300	12000	39000	39000	29000	4200
	przetrawnikujące*	1720	2360	6410	1640	1760	260
	proteolityczne*	3000	300	600	500	800	400
	amylolityczne*	80	300	200	400	500	20
	amonifikacyjne**	0,1	1	1	1	0,1	1
	denitryfikacyjne**	0,01	0,001	0,0000001	0,000001	0,000000001	0,1
	nitryfikacyjne I fazy**	10	10	10	10	10	10
	nitryfikacyjne II fazy**	0,01	0,01	0,01	10	10	10

* kom.cm⁻³, ** miano

Ponadto efektywność biodegradacji może wzrosnąć w niektórych środowiskach na skutek chemicznie indukowanej selekcji i adaptacji mikroorganizmów będących pod wpływem chronicznego działania na nie tych zanieczyszczeń [9]. Ze względu na niewystarczające zasoby wód gruntowych coraz częściej dla celów wodociagowych ujmowane są wody powierzchniowe. W wodach tych obserwuje się relatywnie większy stopień zanieczyszczenia

przez WWA. Obniżenie zawartości WWA uzyskuje się podczas infiltracji wody, jako wynik z jednej strony działalności kompleksu sorpcyjnego gleby, z drugiej zaś w wyniku biologicznej degradacji przede wszystkim z udziałem bakterii i to głównie prototroficznych [2]. Wiadomo, że wiele ksenobiotyków charakteryzuje się zróżnicowaną aktywnością toksykodynamiczną, stąd i zróżnicowanym efektem selekcyjnym. Badane węglowodory w bardzo istotny sposób modyfikowały naturalną mikroflorę gleby pochodzącej z terenów wodonośnych, a znajdującej się pod bezpośrednim wpływem zanieczyszczeń z elektrociepłowni oraz trasy szybkiego ruchu. Przede wszystkim powodowały one germinację bakterii, a co za tym idzie - znaczne obniżenie progu wrażliwości na niekorzystne wpływy czynników środowiska, szczególnie drobnoustrojów wytwarzających endospory. Najwyższą wrażliwość stwierdzono u bakterii amylolitycznych. W większości przypadków zanotowano wzrost liczebności bakterii denitryfikacyjnych. Z jednej strony dowodzi to przebiegu rozkładu badanych WWA, bowiem w warunkach beztlenowych następuje on dzięki wykorzystywaniu związków azotowych jako akceptorów elektronów i protonów wodoru [1]. Z drugiej strony, przy niskiej aktywności pozostałych przemian związków azotowych, może doprowadzić do zubożenia gleby poprzez obniżenie zawartości tego pierwiastka biogenego w wyniku całkowitej denitryfikacji.

Tabela 6

Liczebność bakterii w glebie w obecności fluorantenu.

Czas	Grupa fizjologiczna bakterii	1,06 mg · dm ⁻³			2,12 mg · dm ⁻³		
		poziom I	poziom II	poziom III	poziom I	poziom II	poziom III
3 tygodnie	psychrofilne*	104000	188000	39000	45000	22000	2400
	przetrawnikujące*	2320	776	490	1120	810	188
	proteolityczne *	4000	6000	3000	2000	900	100
	amylolityczne *	1000	700	300	800	700	200
	amonifikacyjne **	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,1
	denitryfikacyjne**	0,000000001	0,0001	0,1	0,0000001	0,000001	0,00001
	nitryfikacyjne I fazy**	0,01	0,01	0,1	10	0,1	1
	nitryfikacyjne II fazy**	1	10	0	0	10	0
	5 tygodni	psychrofilne*	3200	18200	2300	4300	24000
przetrawnikujące*		980	1280	180	4800	2260	230
proteolityczne*		200	400	450	2600	600	500
amylolityczne*		100	60	80	300	50	10
amonifikacyjne**		1	1	1	1	1	1
denitryfikacyjne**		0,0001	0,0001	0,001	0,00001	0,00001	0,00001
nitryfikacyjne I fazy**		10	10	10	10	10	10
nitryfikacyjne II fazy**		0,01	0,01	0,1	0,1	0,01	0,1

* kom.cm⁻³, ** miano

Reasumując, należy stwierdzić, iż dozowane do filtrów glebowych wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne stanowiły źródło węgla i energii dla niektórych bakterii, dzięki czemu drobnoustroje przyczyniały się do usuwania z gleby tych niebezpiecznych zanieczyszczeń. Jednakże zaobserwowany różnorodny wpływ badanych związków na mikroflorę glebową uzależniony był nie tylko od rodzaju związku, ale również od jego stężenia. Wpływ ten obserwowano z jednej strony poprzez przemieszczanie się bakterii w profilu glebowym, czego konsekwencją było ich wymywanie, z drugiej zaś strony poprzez wyraźnie hamujący wpływ na ich rozwój i zapewne eliminację wielu gatunków. Zmiany te miały w większości przypadków charakter utrwalony, na co wskazuje fakt utrzymywania się ich pomimo dozowania wody redestylowanej. Prawdopodobnie spowodowane to było stopniowym uwalnianiem związków w wyniku procesów desorpcji.

Ponadto należy podkreślić, że zanieczyszczenie gleb przez WWA jest zanieczyszczeniem długotrwałym. Uważa się, że w warunkach naturalnych możliwość usuwania WWA z zanieczyszczonej gleby wynosi około 10% rocznie, a czas połowicznego rozkładu mieści się w granicach 20 lat [5,10].

Wszystkie te aspekty mają wpływ na ostateczny stopień zanieczyszczenia wody oraz potencjalne zdolności do bioregeneracji środowiska zarówno glebowego, jak i wodnego.

LITERATURA

1. Colby J., Stirling D. I., Dalton H.: The soluble methane mono-oxygenase of *Methylococcus capsulatus*. Its ability to oxygenate n-alkanes, n-alkenes, ethers and alicyclic, aromatic, and heterocyclic compounds. *Biochem. J.* 165, 395-402, 1977.
2. Dzombak D., Luthy R.: Estimating absorption of polycyclic aromatic hydrocarbons on soils. *Soil Sci.* 137, 292-308, 1984.
3. Heitkamp M. A., Franklin W., Cerniglia C. E.: Microbial metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons: Isolation and characterization of a pyrene-degrading bacterium, *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 54, 10, 2549-2555, 1988.
4. Hoffman E., Latiner J., Hunt C., Mills G., Quinn J.: Stormwater runoff from highways. *Water, Air and Soil Poll.* 25, 349-364, 1985.
5. Hutchins S.R., Sewell G. W., Kovacs D.A., Smith G.A.: Biodegradation of aromatic hydrocarbons by aquifer microorganisms under denitrifying conditions. *Envir. Scie. Technol.*, 1, 68-76, 1991.
6. Kawamura K., Suzuki I., Fujii Y., Wanatabe O.: Ice core record of polycyclic aromatic hydrocarbons over past 400 years. *Naturwissenschaften* 81, 502-505, 1994.
7. Maliszewska-Kordybach B.: Persistent organic contaminants in the environment: PAHs as a case study. In *Bioavailability of organic xenobiotics in the environment. NATO ASI series, Environment* vol. 64, 3-32, 2000.
8. Menzie C. A., Potocki B. B., Santodonato J.: Exposure to carcinogenic PAHs in the environment. *Environ. Sci. Technol.*, 26, 1278-1284, 1992.
9. Traczewska T. M.: Metabolism of anthracene and 9, 10 dimethylanthracene by bacterium isolated from water, *Acta Microbiologica Polonica*, 40(3-4), 235- 241, 1991.
10. Wild S. R., Jons K. C.: Polynuclear aromatic hydrocarbons in the United Kingdom Environment: a preliminary source inventory and budget. *Environ. Poll.*, 72, 141-157, 1995.

Abstract

In the investigation the influence of anthracene, benzo(a)pyrene and fluoranthrene (at concentration 0,3 and 0,6, 0,24 and 0,48, 1,06 and 2,12 mg-dm³, respectively) on quantity and quality of physiological groups of soil microorganisms was examined. Lysimeters were used as dynamic models. Susceptibility of microorganisms from soil to high concentration of PAHs was found. This revealed differently in different groups of bacteria. Psychrophilic bacteria decreased in number; endospores forming bacteria stimulated their germination process; bacteria with amylolytic and proteolytic activity decreased their enzymatic activity; ammonifying, ammonia-oxidising, nitrite-oxidising bacteria decreased their activity; denitrifying bacteria activity increased). As a result displacement of bacteria in soil profile, and their washing out along with effluent and toxic effect were observed. The toxicological effect levelled off.

Podziękowanie

Autorka dziękuje Pani Profesor dr hab. Marii Pawlaczyk-Szpilowej za cenne uwagi merytoryczne podczas realizacji tematu oraz mgr inż. Marii Nowikowskiej za pomoc w opracowaniu wyników badań.

Recenzent: Prof. dr hab. Barbara Maliszewska-Kordybach