

WIERA MICHALCEWICZ

WPLYW OLEJU NAPĘDOWEGO DO SILNIKÓW *DIESLA* NA LICZEBNOŚĆ BAKTERII, GRZYBÓW, PROMIENIOWCÓW ORAZ BIOMASĘ MIKROORGANIZMÓW GLEBOWYCH

THE INFLUENCE OF *DIESEL* FUEL OIL ON NUMBER
OF BACTERIA, FUNGI, ACTINOMYCETES AND SOIL MICROBIAL BIOMASS

Z Katedry Mikrobiologii Rolnej Akademii Rolniczej w Szczecinie
Kierownik: prof. dr hab. A. Nowak

Badano jak zmienia się liczebność trzech podstawowych grup drobnoustrojów: bakterii, grzybów, promieniowców oraz poziom biomasy żywych mikroorganizmów w glebie, do której dodano różne ilości oleju napędowego do silników Diesla.

Zanieczyszczenie gleb ropą naftową i jej pochodnymi staje się coraz poważniejszym problemem zwłaszcza w świetle sygnalizowanych ostatnio awarii rurociągów i szybów wiertniczych. Większość opublikowanych prac dotyczy przede wszystkim skażenia tymi związkami zbiorników wodnych [7, 8, 13, 14], a w znacznie mniejszym stopniu – środowiska glebowego [2, 3, 5, 12]. Źródłem zanieczyszczenia gleby ropą naftową i związkami ropopochodnymi są głównie: stacje benzynowe, stacje obsługi samochodów i ciągników, tereny portowe itp.

Produkty przemysłu petrochemicznego dostają się do gleby wraz ze ściekami i wodami deszczowymi, które wymywają składniki olejowe w głębsze warstwy aż do wód gruntowych powodując ich skażenie. Dostające się do gleby oleje mogą w różny sposób oddziaływać na bytującą tam mikroflorę powodując zmiany w jej składzie ilościowym i jakościowym.

Celem niniejszej pracy było zbadanie w warunkach laboratoryjnych wpływu wywieranego przez dodawany do gleby olej napędowy do silników *Diesla* na liczebność: bakterii, grzybów i promieniowców oraz na zawartość biomasy żywych mikroorganizmów.

MATERIAŁ I METODYKA

Badanie prowadzono w warunkach laboratoryjnych, przez okres około 5 miesięcy. Do doświadczenia użyto gleby brunatnej, wytworzonej z gliny zwałowej lekko spłaszczonej (C_{org} 1,23, pH_{H_2O} 6,7).

Glebę, po przesianiu przez sito o średnicy oczek 1 mm, doprowadzono do 60% maksymalnej pojemności wodnej (utrzymywano taką wilgotność przez cały czas badań), a następnie mieszano z olejem napędowym w ilości: 1, 2, 5 g na 100 g gleby. Próbkę kontrolną stanowiła gleba bez dodatku oleju. Badane próbki glebowe przechowywano w woreczkach foliowych, w temperaturze pokojowej, co tydzień wykonując posiewy mikrobiologiczne oraz pomiary zawartości biomasy mikroorganizmów.

Pierwsze analizy przeprowadzono w dniu potraktowania gleby olejem, następne – odpowiednio w 7, 14, 21 oraz 150 dni.

Do doświadczenia użyto oleju napędowego do silników *Diesla*, zbliżonego swoimi właściwościami do naturalnej ropy (ciężar wł. 0,841 g/m³). Analizy mikrobiologiczne obejmowały oznaczenie ogólnej liczebności: bakterii i promieniowców na podłożu *Bunta-Roviry* oraz grzybów na agarze *Martina*.

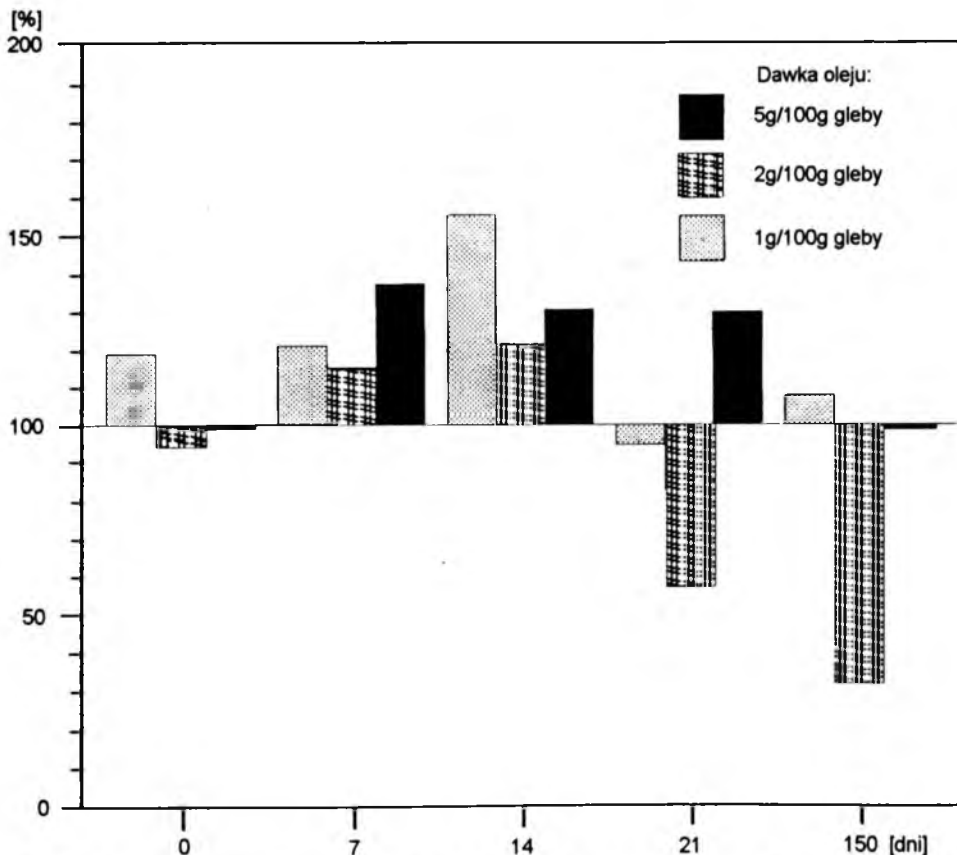
Posiewy wykonywano metodą rozcieńczeń glebowych, w pięciu powtórzeniach [9]. Inkubację drobnoustrojów prowadzono w temperaturze pokojowej przez okres od 3 do 10 dni. Po tym czasie liczono wyrosłe na powierzchni pożywki, kolonie, a następnie przeliczano ich ilość na 1 g suchej masy gleby.

W badanych próbkach oznaczono również zawartość biomasy żywych mikroorganizmów według fizjologicznej metody *Andersona* i *Domscha* [1]. Pomiarów prowadzono w analizatorze CO₂ firmy *Wohloff* – „Ultragas U2S”. Wielkość biomasy wyliczano na podstawie empirycznego równania podanego przez autorów metody:

$$x = 40,4 + 0,37y$$

gdzie: x = ilość węgla zawartego w żywych organizmach w przeliczeniu na 100 g gleby

y = maksymalne początkowe wydzielanie CO₂ w cm³/h



Ryc. 1. Wpływ oleju napędowego do silników *Diesla* na liczebność bakterii glebowych, wyrażony procentowo w stosunku do kontroli.

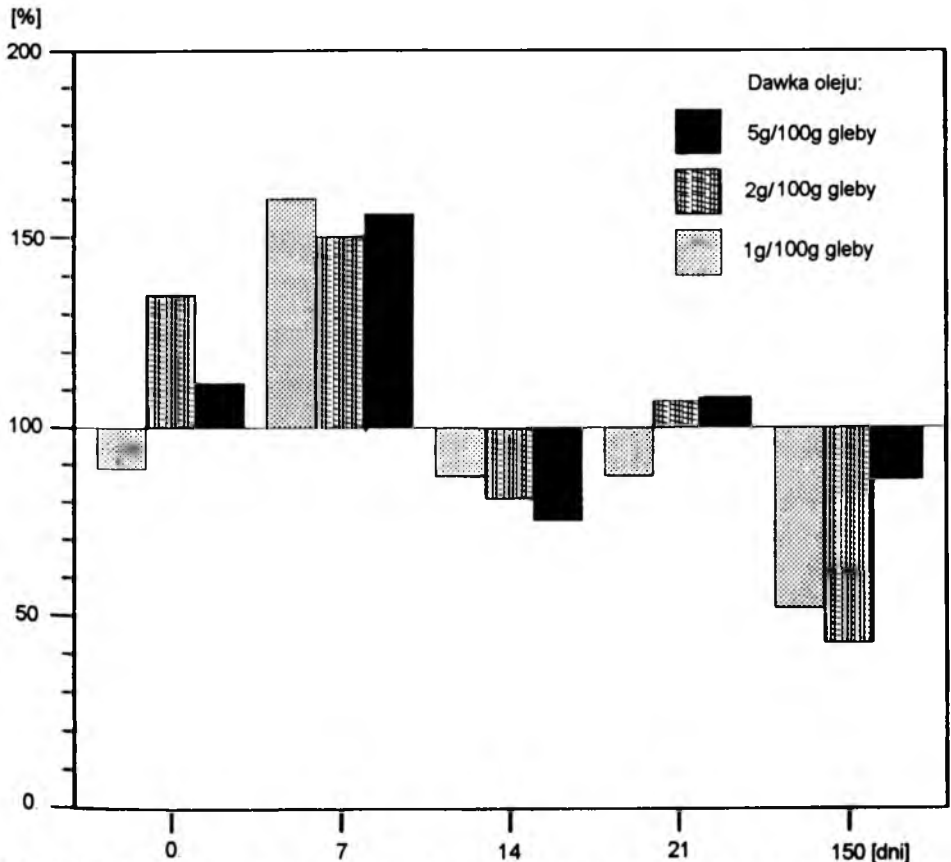
The influence of *Diesel* fuel oil on number of soil bacteria, expressed as a percentage of control.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Uzyskane wyniki badań przedstawiono na rycinach 1–4, procentowo w porównaniu z kontrolą.

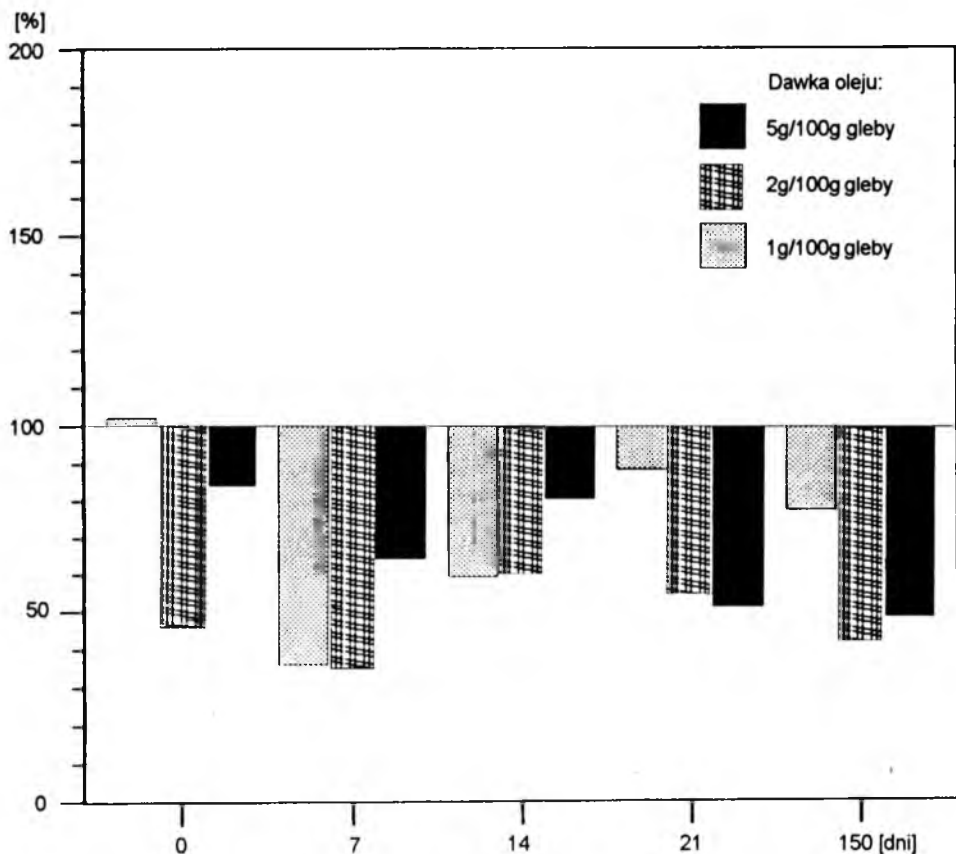
Dodawany do gleby olej napędowy do silników *Diesla* powodował zmiany w liczebności badanych grup drobnoustrojów glebowych. W przypadku bakterii (ryc. 1) obserwowano stymulację ich liczebności w glebie zadanej zarówno niższą (1g na 100 g gleby), jak i wyższymi dawkami oleju. Wielkość tej stymulacji wynosiła od 20 do 60% w porównaniu z glebą kontrolną i wystąpiła przede wszystkim w ciągu pierwszych 14 dni badań. Po tym czasie notuje się tendencję do obniżania liczebności bakterii (o ok. 70 do 80% w porównaniu z kontrolą).

Wielkość tej obniżki nie była związana z wielkością zastosowanej dawki oleju napędowego. Dane z piśmiennictwa sygnalizują możliwość stymulacji liczebności bakterii pod wpływem dodawanego do gleby oleju napędowego [2, 3, 4, 10], co tłumaczyć można między innymi rozwojem tych rodzajów i gatunków bakterii, które



Ryc. 2. Wpływ oleju napędowego do silników *Diesla* na liczebność grzybów glebowych, wyrażony procentowo w stosunku do kontroli.

The influence of *Diesel* fuel oil on number of soil fungi, expressed as a percentage of control.



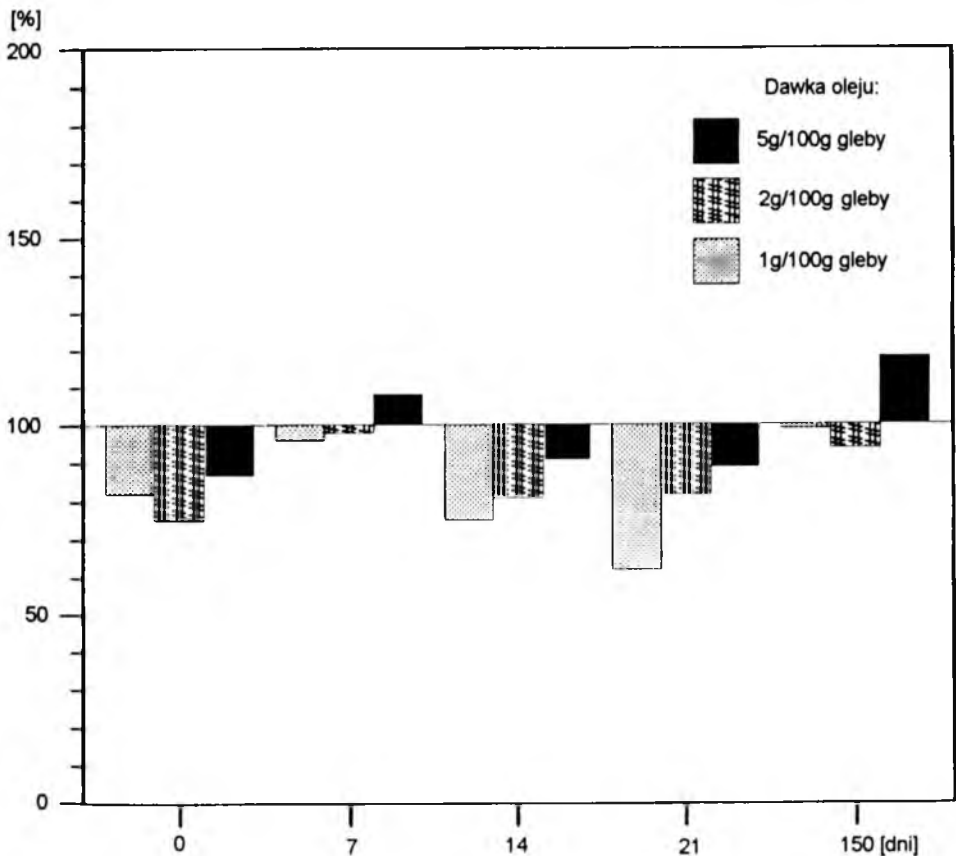
Ryc. 3. Wpływ oleju napędowego do silników *Diesla* na liczebność promieniowców glebowych, wyrażony procentowo w stosunku do kontroli.

The influence of *Diesel* fuel oil on number of soil actinomycetes, expressed as a percentage of control.

wykorzystują związki olejowe jako źródło węgla i energii. W dostępnych na ten temat publikacjach wymienia się np. rodzaje *Arthrobacter* i *Pseudomonas*, jako te które mogą rosnąć w glebach zalanych ropą naftową [4, 6]. Przeprowadzone wstępne badania nad wyizolowanymi, z próbek glebowych zalanych olejem, bakteriami potwierdzają obecność rodzajów: *Pseudomonas* oraz Gram – zmiennych pałeczek zbliżonych do *Arthrobacter*. Stwierdzono ponadto obecność rodzaju *Bacillus*, który również może występować w glebach zanieczyszczonych ropą naftową [4].

Liczebność grzybów oznaczona w badanych próbkach gleby (ryc. 2) ulegała wahaniom w ciągu całego okresu doświadczenia. Początkowo wystąpiła stymulacja tej liczebności, wynosząca od 12 do 60% wartości gleby kontrolnej, a następnie od 14 dnia badań zahamowanie rozwoju grzybów trwające, poza kilkoma wyjątkami, aż do końca obserwacji.

Wielkość tej obniżki kształtowała się na poziomie 20–60% gleby kontrolnej. Nie zaobserwowano, poza kilkoma przypadkami, wyraźniejszego związku pomiędzy wielkością hamowania a zastosowaną dawką oleju napędowego.



Ryc. 4. Wpływ oleju napędowego do silników *Diesla* na biomasę mikroorganizmów, wyrażony procentowo w stosunku do kontroli.

The influence of *Diesel* fuel oil on soil microbial biomass, expressed as a percentage of control.

Podobnie jak bakterie również mikroskopowe grzyby glebowe mają możliwość wykorzystywania węglowodorów jako źródła węgla i energii. *Datson i in.* [4] znajdowali szereg gatunków grzybów w glebach zalewanych okresowo lub stale ściekami przemysłu naftowego. Były to między innymi różne gatunki *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Trichoderma* i inne, których obecność stwierdzono w badanych próbkach gleby potraktowanych olejem napędowym. W pracach innych autorów potwierdza się fakt zarówno, zmniejszania liczebności grzybów [2, 3], jak i jej stymulacji pod wpływem dodawanego do gleby związku olejowego [10, 11].

Wyniki badań pod wpływem oleju napędowego do silników *Diesla* na liczebność promieniowców przedstawiono na rycinie 3. We wszystkich badanych próbkach (oprócz jednej) nastąpiło obniżenie ilości promieniowców (od 20–60%) w porównaniu z glebą kontrolną. Analizując średnie wyniki liczebności dla całego okresu badań należy stwierdzić, iż wielkość hamowania związana była z wielkością zastosowanej dawki oleju napędowego. Wyższe stężenia oleju powodowały większe obniżenie liczebności promieniowców. Nieliczne na ten temat dane z piśmiennictwa wskazują

na możliwość negatywnego oddziaływania związków olejowych na wzrost i rozwój promieniowców glebowych [11].

Na rycinie 4 przedstawiono zawartość biomasy żywych mikroorganizmów w glebie potraktowanej olejem napędowym. Ogólny poziom biomasy potwierdził przeanalizowane wcześniej wyniki nad liczebnością trzech badanych grup drobnoustrojów, wskazując dość wyraźnie na negatywny wpływ wywierany na nie przez dodawany do gleby olej napędowy. Oprócz kilku przypadków stymulacji, zawartość biomasy żywych organizmów w glebie z olejem wynosiła poniżej poziomu wartości kontrolnych i wznosiła, średnio, dla całego okresu doświadczenia od 20 do 30%.

WNIOSKI

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że:

1. Dodawany do gleby olej napędowy do silników *Diesla* powodował zmiany w liczebności bakterii, grzybów i promieniowców w porównaniu z glebą bez dodatku oleju. Zmiany te miały charakter zarówno stymulacji (w większości przypadków – bakterii) jak i hamowania (promieniowce) liczebności drobnoustrojów glebowych.

2. Średni poziom biomasy żywych mikroorganizmów w glebie z dodatkiem oleju napędowego, w ciągu całego okresu badań wahał się od 20 do 30% poniżej wartości kontrolnych.

3. Z gleby potraktowanej olejem napędowym wyizolowano bakterie z rodzaju: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter* oraz grzyby: *Penicilium*, *Aspergillus*, *Trichoderma* i *Fusarium* uważane za najbardziej aktywne w wykorzystywaniu związków olejowych jako źródła węgla. To ważne zagadnienie będzie celem dalszych badań.

W. Michalcewicz

THE INFLUENCE OF DIESEL FUEL OIL ON NUMBER OF BACTERIA, FUNGI, ACTINOMYCETES AND MICROBIAL BIOMAS

Summary

In laboratory conditions the influence of *Diesel* fuel oil on the total number bacteria, fungi, actinomycetes and content of microbial biomass in soil was studied. The fuel oil was applied at dosage of 1, 2 and 5 g/100 g of soil. Samples of soil were analysed 1, 7, 14, 21 and 150 days after oil applied. Microbiological analyses involved determinations of the total number of bacteria and actinomycetes (on *Bunta-Roviry* medium) and fungi (on *Martin's* agar) by the plate method. The content of microbial biomass in soil was determined using the physiological method of *Anderson and Domsch*. *Diesel* fuel oil application caused the changes of total number of investigated groups of soil microorganisms. These results were confirmed by the investigated groups of soil microorganisms. These results were confirmed by the investigation on microbial biomass in soil.

In the most of cases the fuel oil was the most stimulated for the number of bacteria and the most inhibited for actinomycetes in comparison with soil without oil (control).

From soil with *Diesel* fuel oil addition *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Bacillus* and *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Trichoderma* strains were isolated. The possibility of the fuel oil as source of carbon utilization by these strains will be investigate.

PIŚMIENICTWO

1. *Anderson J.P.E., Domsch K.H.*: Physiological method for quantitative measurement of microbial biomass in soils, *Soil Biol. Biochem.*, 1978, 1, 215. – 2. *Borowiec S., Dzienia S., Boligłowa Z.*: Wpływ skażenia gleby produktami ropy naftowej na mikroflorę glebową. Cz. I: Mikroorganizmy glebowe w sąsiedztwie magazynów paliw, *Zesz. Nauk. AR Szczec.*, 1982, 94, 33. – 3. *Daca H., Kopyłow H., Skrzyczyński T.*: Wpływ oleju napędowego do silników *Diesla* na niektóre grupy drobnoustrojów glebowych, *Zesz. Nauk. AR Szczec.*, 1977, 61, 101. – 4. *Dotson G., Dean R.B., Cooke W.B., Kennar B.A.*: Land spreading a conserving and non-polluting method of disposing of oily wastes (W: 5 th International Water Pollution Research Conference, July – August, 1970, Oxford), Pergamon Press, 1971, 2, 1. – 5. *Dzielnia S., Boligłowa E., Borowiec S.*: Wpływ skażenia gleby produktami ropy naftowej na mikroflorę glebową. Cz. II: Wpływ oleju stosowanego w rolnictwie na niektóre grupy drobnoustrojów glebowych, *Zesz. Nauk. AR Szczec.*, 1982, 94, 45. – 6. *Ellis R., Adams R.S.*: Contamination of soils by petroleum hydrocarbons, *Adv. Agron.*, 1961, 13, 197. – 7. *Łuczak J., Rogala R.*: Możliwości zanieczyszczenia wody produktami destylacji ropy naftowej. *GWITS*, 1977. – 8. *Łuczak J., Stanisławska-Świątkowska J., Życiński D., Ranke-Rybicka B.*: Wpływ olejów mineralnych na właściwości fizyko-chemiczne wody i rozwój organizmów wodnych. *Roczn. PZH*, 1974, 5, 517. – 9. *Maliszewska W.*: Proponowana szczegółowa metodyka analiz mikrobiologicznych gleb. (maszynopis), IUNG Puławy, 1954. – 10. *Milkowska-Jankowska D., Maleszewska J., Łuczak J.*: Przenikanie produktów destylacji ropy naftowej przez glebę i ich wpływ na drobnoustroje w glebie i w wodzie. *Roczn. PZH*, 1976, 27, 679.

11. *Niewolak S.*: Mikrobiologiczne aspekty rekultywacji gleb uprawnych skażonych ropą naftową, *Wiad. Ekol.*, 1978, 24, 109. – 12. *Niewolak S.*: Skutki zanieczyszczenia gleby ropą naftową. *Aura*, W-wa, 1978, 5, 16. – 13. *Radzikowski A.*: Awaria rurociągu paliwowego jako problem gospodarki wodnej. *Zesz. Nauk. Politech. Szczec.*, 1967, 92, 42, 35. – 14. *Reisfeld A., Rosenberg E., Outnick D.*: Microbial degradation of crude oil: factors affecting the dispersion in sea water by mixed and pure cultures. *Applied Microbiology*, 1972, 24/3, 363.

Dn. 1993.06.12

71-434 Szczecin, ul. Słowackiego 17