

Wpłynęło 30.09.2014 r.
Zrecenzowano 25.11.2014 r.
Zaakceptowano 18.12.2014 r.

A – koncepcja
B – zestawienie danych
C – analizy statystyczne
D – interpretacja wyników
E – przygotowanie maszynopisu
F – przegląd literatury

PRZEBIEG ZMIAN AKTYWNOŚCI DEHYDROGENAZ W GLEBIE ZANIECZYSZCZONEJ BENZYNĄ PODDANEJ BIOSTYMULACJI SELENEM I SIARCZANEM (VI) AMONU W RÓŻNYCH PROPORCJACH

Michał STRĘK^{ACDE}, Arkadiusz TELESIŃSKI^{BCEF}

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Katedra Fizjologii Roślin i Biochemii

Streszczenie

Celem pracy było określenie zmian aktywności dehydrogenaz w glebie zanieczyszczonej benzyną (1% wagi gleby), poddanej biostymulacji dwoma czynnikami: siarczanem (VI) amonu w dawkach 0,15; 1,50 i 15,00 mmol·kg⁻¹, który w założeniu był podstawowym źródłem siarki, a ponadto wzbogacał glebę w azot, oraz selenem na dwóch stopniach utlenienia (IV i VI), w ilości 0,05 mmol·kg⁻¹. Jest to pierwiastek tworzący analogi związków siarki, jak również czynnik wpływający na aktywność niektórych enzymów oksydoredukcyjnych. Proporcje zostały dobrane tak, by stosunek S:Se wyniósł 3:1; 30:1 i 300:1. Analizowano zmianę aktywności dehydrogenaz glebowych oraz pH_{KCl}. Pomiarów wykonano w 1., 7., 14., 28. i 56. dniu doświadczenia. Analizy wykazały stymulujący wpływ benzyny na aktywność dehydrogenaz w 1. dniu doświadczenia. Efekt ten zwiększał się ze wzrostem ilości wprowadzonego siarczanu (VI) amonu. W kolejnych terminach pomiarów wprowadzenie dużych dawek (15 mmol·kg⁻¹) siarczanu (VI) amonu wraz z selenem niekorzystnie wpływało na aktywność dehydrogenaz w glebie zawierającej benzynę, natomiast mniejsze dawki (NH₄)₂SO₄ miały głównie stymulujący wpływ. Ponadto zaobserwowano, że aktywność dehydrogenaz w większości terminów analiz stymulowała jednoczesna obecność w glebie (NH₄)₂SO₄ i Se na stopniu utlenienia (IV). Wynika z tego, że zastosowanie biostymulacji siarczanem (VI) amonu wraz z selenem (IV), w odpowiednich proporcjach może być wykorzystane do rekultywacji gleb zanieczyszczonych związkami ropopochodnymi.

Słowa kluczowe: benzyna, biostymulacja, dehydrogenazy, gleba, selen, siarczan (VI) amonu

Do cytowania For citation: Stręć M., Telesiński A. 2015. Przebieg zmian aktywności dehydrogenaz w glebie zanieczyszczonej benzyną poddanej biostymulacji selenem i siarczanem (VI) amonu w różnych proporcjach. Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie. T. 15. Z. 1 (49) s. 113–122.

WSTĘP

Ochrona środowiska w ostatnich kilku dekadach sukcesywnie zyskuje na znaczeniu. Dzięki rosnącej świadomości udaje się zaspokajać coraz większe zapotrzebowanie na energię z wykorzystaniem jej alternatywnych źródeł, jednak paliwa kopalne nadal mają najsilniejszą pozycję na rynku.

Benzyna jest produktem rafinacji ropy naftowej i stanowi paliwo dla przeważającej części samochodów osobowych. Ze względu na powszechność jej stosowania stale narasta zagrożenie zanieczyszczenia ekosystemów węglowodorami ropopochodnymi. Wynika to z niekontrolowanego lub też umyślnego wprowadzania benzyny do środowiska. Gleba, jako najwyżej położony element litosfery, jest stale narażona na oddziaływanie substancji ropopochodnych, jednak to właśnie w glebie, w wyniku działania mikroflory, następuje najszybszy rozkład związków organicznych [NATYWA i in. 2010]. Rozkład tych substancji zachodzi głównie pod wpływem enzymów.

Na podstawie aktywności enzymatycznej można ocenić ekochemiczny stan gleby [BIELIŃSKA 2007]. Do enzymów najlepiej odzwierciedlających aktywność mikroorganizmów glebowych należą dehydrogenazy (*EC* 1.1.1.x). Są to enzymy z klasy oksydoreduktaz, katalizujące odłączenie wodoru od związku organicznego i przyłączenie go do tlenu.

Rozkład związków organicznych w glebie można zintensyfikować, stosując dodatkowe nawożenie makroskładnikowe, czyli biostymulację. Najczęściej w tym celu są stosowane związki azotu i fosforu [CHAINEAU i in. 2005; SILVA-CASTRO i in. 2013; QIAO i in. 2014]. Często zapomina się o siarce, której obecność, w odpowiednich ilościach, pozwala na poprawę kondycji mikroorganizmów [ZHENG i in. 2011], a także zwiększenie aktywności enzymatycznej. W opinii wielu badaczy analogiem siarki jest selen. Pierwiastek ten ma właściwości antyoksydacyjne, dzięki czemu może znacząco wpływać na aktywność enzymów oksydoredukcyjnych.

Niejednokrotnie w doniesieniach naukowych podawano przykłady synergistycznego lub antagonistycznego działania tych pierwiastków, między innymi w kontekście ich poboru przez rośliny z podłoża, jak również w odniesieniu do przemian fizjologicznych i biochemicznych [BARAK, GOLDMAN 1997; MIKKENSEN, WAN 1990; WHITE i in. 2004], jednakże badania te były prowadzone głównie na organizmach roślinnych lub zwierzęcych. W literaturze można znaleźć również doniesienia na temat oddziaływania substancji ropopochodnych [LI i in. 2007; TEJADA i in. 2008], selenu [BOROWSKA i in. 2013; NOWAK i in. 2002], a także nawożenia siarczanem (VI) amonu [KUCHARSKI i in. 2009; TREVORS 1984] na aktywność dehydrogenaz. Dlatego też celem niniejszej pracy była ocena przebiegu zmian aktywności enzymatycznej w glebie zanieczyszczonej benzyną (1% wagi gleby) poddanej biostymulacji selenem (na różnym stopniu utlenienia) oraz siarczanem (VI) amonu.

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

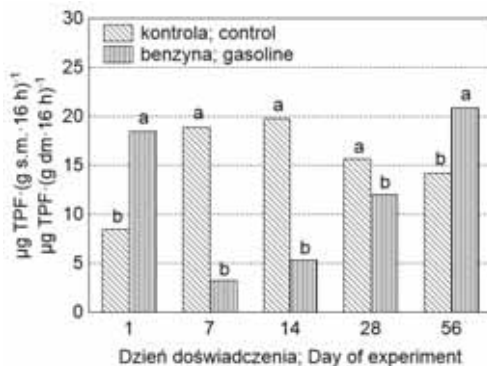
Doświadczenie laboratoryjne przeprowadzono na próbach pobranych z poziomu ornopróchniczego gleb rdzawych typowych, na terenie Rolniczej Stacji Doświadczalnej w Lipniku (woj. zachodniopomorskie). Gleba ta ma skład granulometryczny piasku gliniastego oraz zawartość C_{org} 0,87%. Pobraną glebę przesiano przez sito o średnicy oczek 2 mm. Części ziemiste podzielono na półkilogramowe naważki, do których dodano – w odpowiednich kombinacjach – wodne roztwory selenu (IV) i (VI), jako H_2SeO_3 i H_2SeO_4 , w ilości $0,05 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ oraz $(NH_4)_2SO_4$ w takich dawkach, aby ilość wprowadzonej do gleby siarki wynosiła 15; 1,5 i 0,15 $\text{mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$. Otrzymano kombinacje o zawartości siarki i selenu w stosunku 300:1; 30:1 i 3:1. Ponadto do wszystkich naważek, prócz kontrolnej (bez dodatku selenu oraz siarczanu (VI) amonu) dodano benzynę bezołowiową w ilości stanowiącej 1% wagi gleby. Wilgotność próbek doprowadzono do 60% maksymalnej pojemności wodnej i przetrzymywano je w szczelnie zamkniętych szklanych pojemnikach typu twist w temperaturze 20°C . Aktywność enzymatyczną oznaczono kolorymetrycznie za pomocą spektrofotometru Shimadzu 1800-UV, metodą THALMANNA [1968]. Oznaczono również pH gleby w KCl o stężeniu $1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ (stosunek gleby do roztworu wynosił 1:2,5). Analizy przeprowadzono w 1., 7., 14., 28. i 56. dniu doświadczenia.

Wszystkie oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach. Uzyskane wyniki, dotyczące aktywności dehydrogenaz, opracowano statystycznie za pomocą dwuczynnikowej analizy wariancji ANOVA oraz komplementarnie porównano testem post-hoc Tukey HSD, wykorzystując oprogramowanie Statistica 10.0. Przyjęty poziom istotności wynosił $p < 0,05$.

WYNIKI I Dyskusja

Aktywność dehydrogenaz w próbach kontrolnych w trakcie trwania doświadczenia wynosiła od 8,43 (1. dzień doświadczenia) do 19,72 $\mu\text{g TPF} \cdot (\text{g s.m.} \cdot 16 \text{ h})^{-1}$ (14. dzień doświadczenia). Zanieczyszczenie gleby benzyną w ilości 1% wag. spowodowało zmiany aktywności tych enzymów we wszystkich terminach pomiarów (rys. 1). Na podstawie analizy statystycznej stwierdzono też, że w większości przypadków istotne zmiany aktywności dehydrogenaz nastąpiły po wprowadzeniu siarczanu (VI) amonu oraz selenu do gleby zanieczyszczonej benzyną (tab. 1).

Po wprowadzeniu do gleby benzyny (w ilości 1% wag.) nastąpiła istotna zmiana aktywności dehydrogenaz w porównaniu do gleby kontrolnej. W glebie niezawierającej $(NH_4)_2SO_4$ aplikacja benzyny wywołała stymulację aktywności dehydrogenazowej w 1. i ostatnim dniu doświadczenia odpowiednio o 119 i 46% w porównaniu do gleby kontrolnej. W pozostałych terminach pomiarów dodatek benzyny spowodował zmniejszenie aktywności dehydrogenaz, a stwierdzona inhibicja



Rys. 1. Wpływ benzyny na aktywność dehydrogenaz w glebie; wartości w danym dniu pomiaru oznaczone innymi literami różnią się istotnie; źródło: wyniki własne

Fig. 1. Gasoline effect on dehydrogenase activity in soil; values on the day of experiment marked with different letters are significantly different; source: own study

Tabela 1. Aktywność dehydrogenaz w glebie zanieczyszczonej benzyną poddanej stymulacji selenem i siarczanem (VI) amonu

Table 1. Dehydrogenase activity in soil contaminated with gasoline after stimulation with selenium and ammonium sulfate (VI)

S:Se	Stopień utlenienia Se Oxidation state of Se	Aktywność w dniu doświadczenia, $\mu\text{g TPF}\cdot(\text{g s.m.}\cdot 16 \text{ h})^{-1}$ Activity on the day of experiment, $\mu\text{g TPF}\cdot(\text{g d.m.}\cdot 16 \text{ h})^{-1}$				
		1	7	14	28	56
-	-	18,49 def	3,25 f	5,34 de	11,99 cd	20,88 bcd
	Se (+IV)	23,36 cdef	7,35 ef	3,56 e	6,03 e	19,57 bcd
	Se (+VI)	27,84 cde	10,75 cde	8,66 e	13,53 cd	20,26 bcd
3:1	-	19,88 cdef	16,24 abc	14,46 c	19,03 b	28,54 ab
	Se (+IV)	15,39 ef	15,24 bcd	20,88 ab	15,93 bc	27,30 abc
	Se (+VI)	22,58 cdef	8,82 def	13,77 cd	15,62 bc	22,89 abcd
30:1	-	18,18 def	7,50ef	15,70 bc	12,38 cd	23,44 abcd
	Se (+IV)	14,39 f	22,51 a	25,45 a	26,06 a	17,09 cd
	Se (+VI)	28,23 cd	4,72 ef	4,87 e	15,86 bc	31,56 a
300:1	-	32,25 bc	3,64 f	3,945 e	12,76 cd	12,99 d
	Se (+IV)	48,42 a	21,65 ab	7,27 e	10,44 de	20,42 bcd
	Se (+VI)	42,31 ab	11,45 cde	7,27 e	11,60 cd	14,77 d

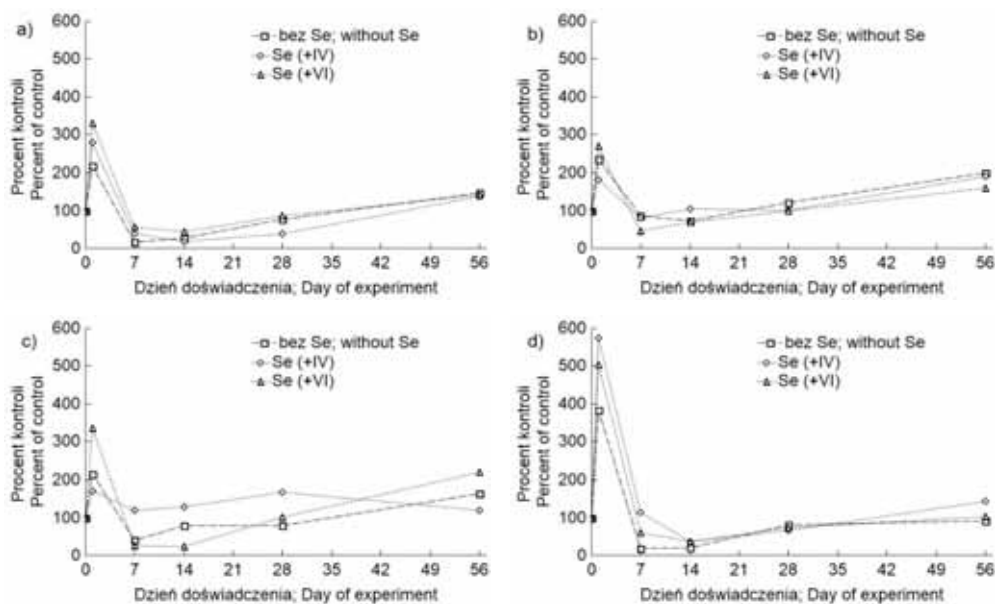
Objaśnienie: wartości w obrębie kolumn oznaczone tymi samymi literami tworzą grupy jednorodnie, wyznaczone testem post-hoc Tukey HSD.

Explanation: values denoted by the same letters within one column defines a homogenous groups calculated using Tukey post-hoc HSD test.

Źródło: wyniki własne. Source: own study.

aktywności wynosiła od 23 (28. dzień doświadczenia) do 83% (7. dzień doświadczenia). Po wprowadzeniu selenu (IV) do gleby zanieczyszczonej benzyną przez pierwszy tydzień doświadczenia oraz w ostatnim terminie pomiarów odnotowano większą aktywność dehydrogenaz niż w glebie z samą benzyną. W 14. i 28. dniu doświadczenia dodatek Se (IV) pogłębił inhibujący wpływ benzyny. Po aplikacji Se (VI) w trakcie trwania całego doświadczenia aktywność dehydrogenazowa była większa niż w glebie z dodatkiem samej benzyny (rys. 2a).

Zanieczyszczenie benzyną gleby zawierającej $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ w takiej ilości, aby proporcja S:Se wynosiła 3:1 stymulowało aktywność dehydrogenaz w 1., 28. i 56. dniu doświadczenia, odpowiednio o 136, 21 i 100% w stosunku do aktywności w glebie kontrolnej. W pozostałych terminach pomiarów (7. i 14. dzień doświadczenia) wykazano inhibicję aktywności enzymów. Po aplikacji selenu na obu stopniach utlenienia w większości dni doświadczenia odnotowano mniejszą aktywność dehydrogenazową niż w glebie zanieczyszczonej benzyną bez dodatku selenu. Zwiększenie aktywności dehydrogenaz wystąpiło jedynie w przypadku Se (IV) w 14. dniu doświadczenia, a w przypadku Se (VI) – w 1. dniu doświadczenia (rys. 2b).



Rys. 2. Zmiany aktywności dehydrogenaz w glebie zanieczyszczonej benzyną, poddanej biostymulacji siarką i selenem w proporcjach: bez siarki (a), 3:1 (b), 30:1 (c), 300:1 (d) w odniesieniu do 100% aktywności w glebie kontrolnej; źródło: wyniki własne

Fig. 2. Percent changes of dehydrogenase activity in soil contaminated with gasoline after stimulation with sulfur and selenium in proportions: without sulfur (a), 3:1 (b), 30:1 (c), 300:1 (d), 100% is the activity in the control soil; source: own study

Zanieczyszczenie benzyną gleby zawierającej $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ w ilości takiej, aby stosunek S:Se wynosił 30:1 spowodowało aktywację dehydrogenaz w 1. i 56. dniu doświadczenia, a zaobserwowana stymulacja wynosiła odpowiednio 115 i 64% w stosunku do aktywności w glebie kontrolnej. Po wprowadzeniu benzyny z Se (IV) wystąpiło zwiększenie aktywności dehydrogenazowej w trakcie trwania całego doświadczenia o 20–70% w odniesieniu do gleby kontrolnej. Jednak w 1. i 56. dniu doświadczenia aktywacja ta była mniejsza niż w glebie z samą benzyną. Aplikacja Se (VI) do gleby zanieczyszczonej benzyną zwiększyła aktywność oznaczanej grupy enzymów jedynie w 1., 28. i 56. dniu doświadczenia w stosunku do gleby zanieczyszczonej benzyną oraz 1. i 56. dniu doświadczenia w stosunku do gleby kontrolnej (rys. 2c).

Zanieczyszczenie benzyną gleby zawierającej $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ w takiej ilości, aby proporcja S:Se wyniosła 300:1 w 1. dniu doświadczenia stymulowało aktywność dehydrogenaz o 282% w stosunku do aktywności w glebie kontrolnej. Aplikacja selenu na obu stopniach utlenienia w 1. dniu doświadczenia zwiększyła wykazaną aktywację do 474% w przypadku Se (IV) i do 401% w przypadku Se (VI). W dalszym czasie trwania doświadczenia w glebie bez dodatku selenu odnotowano zmniejszenie aktywności enzymów pod wpływem benzyny o 9–81%. Po wprowadzeniu Se (IV) aktywność dehydrogenaz w 7., 14. i 56. dniu doświadczenia była większa niż w glebie z dodatkiem samej benzyny, podczas gdy aplikacja Se (VI) wywołała zmiany aktywności enzymów zbliżone do wartości w glebie z benzyną (rys. 2d).

Warto podkreślić, że na podstawie otrzymanych wyników wykazano dużą stymulację aktywności dehydrogenaz pod wpływem benzyny w 1. dniu doświadczenia. Może to wynikać z tego, że główny szlak rozkładu mikrobiologicznego alkanów ropopochodnych polega na ich utlenianiu do kwasów karboksylowych, które następnie ulegają procesowi beta-oksydacji [OKOH 2006]. W kolejnych dniach doświadczenia aktywność dehydrogenaz zmniejszała się, by w ostatnim dniu ponownie wzrosnąć. Podobny przebieg zmienności aktywności dehydrogenazowej gleby pod wpływem substancji ropopochodnych wykazali LI i in. [2007]. Autorzy ci stwierdzili, że zaobserwowane zmiany aktywności tej grupy enzymów były skorelowane z ilością heterotroficznych bakterii tlenowych.

Wprowadzenie do gleby selenu oraz siarczanu (VI) amonu miało na celu stymulację rozwoju lub ochronę autochtonicznej mikroflory, zdolnej do rozkładu substancji ropopochodnych. Podczas rozkładu węglowodorów może dochodzić do zużycia puli makroskładników dostępnych w glebie (np. azotu lub fosforu) [SILVA-CASTRO i in. 2013], jak również do zaburzeń metabolizmu tlenowego u mikroorganizmów i w efekcie – do powstawania reaktywnych form tlenu [SANDRIN, MAIER 2003]. Jednak pomiędzy wprowadzanymi do gleby pierwiastkami może dochodzić do różnego rodzaju interakcji.

Z przeprowadzonych badań wynika, że wprowadzenie dużych dawek ($15 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$) siarczanu (VI) amonu przynosi niekorzystne efekty w postaci zmniej-

szczenia aktywności dehydrogenaz w glebie zawierającej benzynę, natomiast dawki mniejsze miały stymulujący wpływ na aktywność enzymatyczną. Taka reakcja może być spowodowana złym wpływem zbyt dużej ilości nawozu mineralnego dostającego się do gleby. W dostępnej literaturze przedmiotu niewiele jest w danych dotyczących badań nad wpływem zbyt dużych dawek $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ na stan aktywności enzymatycznej gleby, jednak doniesienia dotyczące zarówno azotu i amoniaku, jak i siarki elementarnej potwierdzają, że zbyt duże ilości tych biogenów wprowadzone do gleby mogą wpłynąć negatywnie na aktywność enzymatyczną. Zależność ta dotyczy zarówno dehydrogenaz, jak i innych enzymów [BOROWSKA i in. 2013; GUPTA i in. 1988; TREVORS 1984]. Mniejsze dawki siarczanu (VI) amonu zastosowane w doświadczeniu wpływały korzystnie, zarówno samodzielnie, jak w połączeniu z selenem. Wprowadzenie Se wywołało zmianę aktywności dehydrogenaz. Uzyskane rezultaty potwierdzają wyniki analiz BOROWSKIEJ i in. [2007], świadczące o wysoce istotnej korelacji pomiędzy aktywnością dehydrogenaz a obecnością selenu w glebie. Istotnym aspektem analizy wyników jest stopień utlenienia selenu, ponieważ w homogenicznych warunkach wyniki pomiaru w wielu przypadkach różnią się istotnie – w zależności od tego czy jest to Se (IV), czy Se (VI) następuje istotna stymulacja aktywności lub jej brak. Inną przyczyną różnic może

Tabela 2. Wartości pH w glebie zanieczyszczonej benzyną poddanej stymulacji selenem i siarczanem (VI) amonu

Table 2. pH in soil contaminated with gasoline after stimulation with selenium and ammonium sulfate (VI)

S:Se	Stopień utlenienia Se Oxidation state of Se	Wartości pH w dniu doświadczenia, $\mu\text{g TPF} \cdot (\text{g s.m.} \cdot 16 \text{ h})^{-1}$ pH on the day of experiment, $\mu\text{g TPF} \cdot (\text{g d.m.} \cdot 16 \text{ h})^{-1}$				
		1	7	14	28	56
–	Kontrola Control	7,16	7,22	7,19	7,12	7,17
	–	7,06	7,22	7,13	7,15	7,14
	Se (+IV)	7,05	7,15	7,09	7,14	7,15
	Se (+VI)	7,06	7,16	7,11	7,13	7,10
3:1	–	7,17	7,16	7,20	7,20	7,10
	Se (+IV)	7,06	7,20	7,13	7,17	7,13
	Se (+VI)	7,05	7,15	7,08	7,15	7,15
	–	7,05	7,13	7,09	7,17	7,07
30:1	Se (+IV)	7,10	7,22	7,17	7,15	7,15
	Se (+VI)	7,07	7,20	7,17	7,14	7,18
	–	7,05	7,17	7,12	7,18	7,16
	Se (+IV)	7,08	7,16	7,12	7,16	7,19
300:1	Se (+VI)	7,11	7,18	7,20	7,19	7,17

Źródło: wyniki własne. Source: own study.

być ingerencja w odczyn gleby, mająca wpływ na formę, w jakiej występuje ten pierwiastek. Selen na różnych stopniach utlenienia, w zależności od pH gleby, może wykazywać różnorodne właściwości fizykochemiczne [KABATA-PENDIAS, PENDIAS 1999]. Na podstawie przeprowadzonych analiz nie wykazano większych zmian wartości pH w glebie po wprowadzeniu benzyny, selenu oraz siarczanu (VI) amonu (tab. 2).

WNIOSKI

1. Stopień utlenienia selenu jest istotnym czynnikiem mającym wpływ na aktywność enzymatyczną gleby zanieczyszczonej benzyną.
2. Zbyt duża dawka siarczanu (VI) amonu może doprowadzić do inhibicji aktywności dehydrogenaz w glebie.
3. Zastosowanie biostymulacji siarczanem (VI) amonu wraz z selenem, zwłaszcza na stopniu utlenienia IV, w odpowiednich proporcjach, może być wykorzystane do rekultywacji gleb zanieczyszczonych związkami ropopochodnymi.

LITERATURA

- BARAK P., GOLDMAN I.L. 1997. Antagonistic relationship between selenate and sulfate uptake in onion (*Allium cepa*): Implications for the production of organosulfur and organoselenium compounds in plants. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. Vol. 45 s. 1290–1294.
- BIELIŃSKA E.J. 2007. Aktywność enzymów glebowych w ryzosferze mniszka lekarskiego jako wskaźnik stanu ekochemicznego gleb miejskich. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*. Vol. 52. Iss. 3 s. 10–14.
- BOROWSKA K., GRABOWSKA M., KOZIK K. 2013. Selenium content and enzymatic activity of soil after applying farmyard manure and mineral nitrogen. *Environmental Protection and Natural Resources*. Vol. 24. No. 2(56) s. 5–10.
- BOROWSKA K., KOPER J., TYKWIŃSKA T. 2007. Zawartość selenu w wybranych typach gleb mineralnych regionu kujaw i pomorza na tle aktywności oksydoreduktaz. *Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych*. Nr 31 s. 18–22.
- CHAINEDU C.H., ROUGEUX G., YEPREMIAN C., OUDOT J. 2005. Effects of nutrient concentration on the biodegradation of crude oil and associated microbial populations in the soil. *Soil Biology and Biochemistry*. Vol. 37 s. 1490–1497.
- GUPTA V.V.S.R., LAWRENCE J.R., GERMIDA J.J. 1988. Impact of elemental sulfur fertilization on agricultural soils. I. Effects on microbial biomass and enzyme activities. *Canadian Journal of Soil Science*. Vol. 68. No. 3 s. 463–473.
- KABATA-PENDIAS A., PENDIAS H. 1999. *Biogeochemia pierwiastków śladowych*. Warszawa: PWN. ISBN 83-01-12823-2 ss. 400.
- KUCHARSKI J., BOROS E., WYSZKOWSKA J. 2009. Biochemical activity of nickel-contaminated soil. *Polish Journal of Environmental Studies*. Vol. 18. No. 6 s. 1039–1044.
- LI H., ZHANG Y., KRAVCHENKO I., XU H., ZHANG C. 2007. Dynamic changes in microbial activity and community structure during biodegradation of petroleum compounds. A laboratory experiment. *Journal of Environmental Sciences*. Vol. 19 s. 1003–1013.

- MIKKENSEN R., WAN H. 1990. The effect of selenium on sulfur uptake by barley and rice. *Plant and Soil*. Vol. 121 s. 151–153.
- NATYWA M., SAWICKA A., WOLNA-MARUWKA A. 2010. Aktywność mikrobiologiczna i enzymatyczna gleby pod uprawą kukurydzy w zależności od zróżnicowanego nawożenia azotem. *Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie*. T. 10. Z. 2 (30) s. 111–120.
- NOWAK J., KĄKLEWSKI K., KLÓDKA D. 2002. Influence of various concentrations of selenic acid (IV) on the activity of soil enzymes. *The Science of the Total Environment*. Vol. 291 s. 105–110.
- OKOH A.I. 2006. Biodegradation alternative in the cleanup of petroleum hydrocarbon pollutants. *Biotechnology and Molecular Biology Review*. Vol. 1 (2) s. 38–50.
- QIAO J., ZHANG C., LUO S., CHEN W. 2014. Bioremediation of highly contaminated oilfield soil: Bioremediation for enhancing aromatic compounds removal. *Frontiers of Environmental Science and Engineering*. Vol. 8 (3) s. 293–304.
- SANDRIN T.R., MAIER R.M. 2003. Impact of metals on the biodegradation of organic pollutants. *Environmental Health Perspectives*. Vol. 111. No. 8 s. 1093–101.
- SILVA-CASTRO G.A., RODELAS B., PERUCHA P., LAGUNA J., GONZÁLEZ-LÓPEZ J., CALVO C. 2013. Bioremediation of diesel-polluted soil using biostimulation as post-treatment after oxidation with Fenton-like reagents: Assays in a pilot plant. *Science of the Total Environment*. Vol. 445–446 s. 347–355.
- TEJADA M., GONZALEZ J.L., HERNANDEZ M.T., GARCIA C. 2008. Application of different organic amendments in a gasoline contaminated soil: Effect on soil microbial properties. *Bioresource Technology*. Vol. 99 s. 2872–2880.
- THALMANN A. 1968. Zur Methodik der Bestimmung der Dehydrogenaseaktivität im Boden mittels Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC). *Landwirtschaftliche Forschung*. No. 21 s. 249–258.
- TREVORS J.T. 1984. Effect of substrate concentration, inorganic nitrogen, O₂ concentration, temperature and pH on dehydrogenase activity in soil. *Plant and Soil*. Vol. 77. Iss. 2–3 s. 285–293.
- WHITE P.J., BOWEN H.C., PARMAGURU P., FRITZ M., SPRACKLEN W.P., SPIBY R.E., MEACHAM M.C., MEAD A., HARRIMAN M., TRUEMAN L.J., SMITH B.M., THOMAS B., BROADLEY M.R. 2004. Interactions between selenium and sulphur nutrition in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Experimental Botany*. Vol. 55. No. 404 s. 1927–1937.
- ZHENG S., FAN J., HU H. 2011. The effect of different rates and forms of sulphur applied on soil microbial biomass and activity. *Journal of Food, Agriculture and Environment*. Vol. 9 s. 898–906.

Michał STRĘK, Arkadiusz TELESIŃSKI

CHANGES OF DEHYDROGENASE ACTIVITY IN GASOLINE CONTAMINATED SOIL STIMULATED WITH SELENIUM AND AMMONIUM SULPHATE (VI) IN DIFFERENT PROPORTIONS

Key words: ammonium sulfate, biostimulation, dehydrogenase, gasoline, selenium, soil

S u m m a r y

The aim of the study was to determine changes in enzyme activity in soil contaminated with gasoline (1% by weight of soil) subjected to biostimulation by two factors. The first factor was ammonium sulfate in doses of 0.15 mmol·kg⁻¹, 1.50 mmol·kg⁻¹ and 15.00 mmol·kg⁻¹. Mineral fertilizer was the main source of sulfur in soil, furthermore it enriched soil with nitrogen. The second factor was selenium IV and VI (0.05 mmol·kg⁻¹) as a sulfur analog and element, which can stimulate the activity of some oxidoreductases. The proportions were chosen to provide the ratio of S to Se equal 3:1, 30:1 and 300:1 (regardless of selenium oxidation state IV and VI). During the experiment, soil dehydro-

genase activity and changes in soil pH in 1 M KCl were analyzed. Measurements were made independently on day 1, 7, 14, 28 and 56. Analyses showed stimulating effect of gasoline on the dehydrogenase activity on day 1. The observed effect increased with increasing amounts of introduced ammonium sulfate (VI). Subsequent measurements revealed that the introduction of high doses of ammonium sulfate (VI) ($15 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$) and selenium negatively affected the dehydrogenase activity in soil contaminated with gasoline. In contrast, lower doses of $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ had mainly a stimulating effect on the dehydrogenase activity in soil with gasoline. Furthermore, it was observed that the soil dehydrogenase activity on most days of experiment increased in the presence of $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ and selenium at the oxidation state IV. Therefore, the use of biostimulation with ammonium sulphate (VI) together with selenium (IV) in appropriate proportions can be used for the remediation of soils contaminated with petroleum hydrocarbons.

Adres do korespondencji: mgr inż. M. Stręk, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Katedra Fizjologii Roślin i Biochemii, ul. Słowackiego 17, 71-434 Szczecin; tel. +48 91 449-62-84; e-mail: michal.strek@zut.edu.pl