

Wpłynęło 18.07.2018 r.
Zrecenzowano 29.08.2018 r.
Zaakceptowano 10.09.2018 r.
A – koncepcja
B – zestawienie danych
C – analizy statystyczne
D – interpretacja wyników
E – przygotowanie maszynopisu
F – przegląd literatury

WYBRANE METODY BIOREMEDIACJI *IN SITU* Z WYKORZYSTANIEM MIKROORGANIZMÓW

Zyta WARACZEWSKA^{ABEF}, Alicja NIEWIADOMSKA^{AB},
Aleksandra GRZYB^{EF}

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wydział Rolnictwa i Bioinżynierii, Katedra Mikrobiologii
Ogólnej i Środowiskowej

Streszczenie

Celem niniejszej pracy jest przybliżenie metod bioremediacji jako techniki przywracania równowagi biologicznej skażonych środowisk na podstawie najnowszej literatury. Bioremediację definiuje się jako technologię oczyszczania środowiska, polegającą na usuwaniu ze środowiska skażeń różnego typu za pomocą mikroorganizmów i ich enzymów zdolnych do degradacji ksenobiotyków. Usuwanie szkodliwych substancji może odbywać się w miejscu skażenia (*in situ*) bądź po usunięciu skażonej gleby z jej naturalnego położenia (*ex situ*). Należy wyróżnić trzy podstawowe metody bioremediacji, w których wykorzystywane są mikroorganizmy: naturalna bioremediacja, biostymulacja oraz bioaugmentacja. Pierwsza z nich polega na regularnym monitorowaniu tempa rozkładu mikrobiologicznego szkodliwych substancji bez ingerencji człowieka. Rozkład ksenobiotyków odbywa się poprzez naturalnie przebiegające reakcje fizyczno-chemiczne, aktywność enzymatyczną mikroorganizmów czy obieg pierwiastków w środowisku. W przypadku, gdy czas rozkładu zanieczyszczeń jest zbyt długi, należy zastosować biostymulację, polegającą na dostarczeniu niezbędnych składników odżywczych i/lub tlenu w celu przyspieszenia wzrostu, aktywności rodzimych populacji drobnoustrojów czy wyrównania stosunku C:N:P. Natomiast bioaugmentacja jest techniką zwiększania zdolności degradacji zanieczyszczonych środowisk poprzez dodanie wybranych szczepów bądź konsorcjów bakteryjnych.

Słowa kluczowe: bioaugmentacja, bioremediacja, biostymulacja, mikroorganizmy

Do cytowania For citation: Waraczewska Z., Niewiadomska A., Grzyb A. 2018. Wybrane metody bioremediacji *in situ* z wykorzystaniem mikroorganizmów. Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie. T. 18. Z. 3 (63) s. 65–78.

WSTĘP

W ostatnich latach rozwój wielu gałęzi przemysłu, rolnictwa, górnictwa, a także postępująca urbanizacja stanowią istotne zagrożenie dla ekosystemów. Środowisko glebowe jest szczególnie narażone na toksyczny wpływ ksenobiotyków, emisję metali ciężkich, a rosnąca antropopresja zwiększa poziom degradacji gleby [GAŁAZKA 2015]. Wymienione czynniki są zagrożeniem nie tylko w stosunku do powierzchniowej warstwy gleby, ale także wód podziemnych i powierzchniowych [ROZPONDEK i in. 2017]. W związku z powyższym niezwykle istotne stało się poszukiwanie skutecznych metod usuwania ksenobiotyków ze środowiska. Mogą to być zarówno metody fizyczne, chemiczne, jak i biologiczne. Bioremediacja jest technologią, polegającą na usuwaniu różnych ksenobiotyków z gleby za pomocą mikroorganizmów i ich enzymów zdolnych do degradacji zanieczyszczeń. Zanieczyszczenia organiczne wykorzystywane są przez mikroorganizmy jako źródło węgla czy energii. Metale ciężkie nie mogą być rozkładane biologicznie, dlatego też mikroorganizmy zmieniają ich rozpuszczalność, a tym samym zmniejszają toksyczność [DZIOŃEK i in. 2016]. Metody biologiczne opisywane są często w literaturze jako tańsze, a także bardziej efektywne niż metody fizykochemiczne w przywracaniu środowiska do stanu właściwego. Ponadto bioremediacja może być przeprowadzana bez negatywnego wpływu na rodzimą faunę i florę, a także miejsce, w którym jest przeprowadzana [GONCIARZ 2013; MROZIK 2016; OLANIRAN i in. 2013; ROY i in. 2014; SZCZEPANIAK i in. 2016].

Celem niniejszej pracy jest przybliżenie metod bioremediacji jako techniki przywracania równowagi biologicznej skażonych środowisk na podstawie najnowszej literatury.

Usuwanie ksenobiotyków może odbywać się w miejscu skażenia (*in situ*) bądź po wybraniu skażonej gleby z jej naturalnego położenia i umieszczeniu jej w specjalnie przygotowanym stanowisku technologicznym (*ex situ*). Zarówno metody *in situ*, jak i *ex situ* umożliwiają skuteczną likwidację zanieczyszczeń w glebie. Dobór odpowiedniej metody zależy od rodzaju skażenia, kalkulacji kosztów bioremediacji czy po ocenie warunków środowiskowych. Technologia *in situ* wykorzystywana jest przede wszystkim, gdy nie ma możliwości usunięcia zanieczyszczonej ziemi, na przykład w warunkach skażenia dużych obszarów, na terenach przeznaczonych pod budownictwo czy na obszarach awarii miejscowych pod instalacjami.

Natomiast przywracanie wartości terenów metodą *ex situ* odbywa się na stanowiskach technologicznych do tego przystosowanych. Plusem tej metody jest stosunkowo krótki czas bioremediacji, a także łatwość kontroli przebiegu procesu [NOWAK 2008; PODSIADŁO, KRZYŚKO-ŁUPICKA 2013; SHARMA, PANT 2018].

Można wyróżnić trzy podstawowe metody bioremediacji *in situ* z wykorzystaniem mikroorganizmów: naturalna bioremediacja, biostymulacja oraz bioaugmentacja.

BIODEGRADACJA NATURALNA

Biodegradacja naturalna, zwana też bioattenuacją, polega wyłącznie na regularnym monitorowaniu poziomu zanieczyszczeń bez ingerencji człowieka. Wiąże się z wykorzystaniem autochtonicznych mikroorganizmów i zachodzi samoczynnie. Wykorzystuje się w niej naturalnie przebiegające reakcje fizyczno-chemiczne, obieg pierwiastków w środowisku, jak również specyficzną aktywność enzymatyczną mikroorganizmów rodzimych. Unieszkodliwianie ksenobiotyków przez drobnoustroje może odbywać się poprzez biodegradację (utlenianie i rozkład), asymilację (przyswajanie) lub biotransformację (przekształcanie w nietoksyczne związki chemiczne). Mikroorganizmy degradujące zanieczyszczenia stanowią ok. 10% całkowitej populacji, w związku z czym oczyszczanie środowiska w ten sposób trwa bardzo długo [DZIOŃEK i in. 2016; LOC 2012; ŁUKSA i in. 2010]. Na szybkość i efektywność bioattenuacji mają wpływ także takie czynniki, jak właściwości substancji zanieczyszczającej, charakterystyka miejsc skażenia (m.in. temperatura, zawartość tlenu, odczyn, obecność pierwiastków biogenych i soli mineralnych) oraz obecność różnych grup mikroorganizmów, które mogą negatywnie na siebie oddziaływać. Metoda ta znajduje zastosowanie w usuwaniu zanieczyszczeń z gleb i wód podziemnych. Stosowana jest powszechnie w przypadku wycieków ropy naftowej i jej produktów [GONCIARZ 2013; LEE i in. 2018; NIKOLOPOULOU i in. 2007; PODSIADŁO, KRZYŚKO-ŁUPICKA 2013].

GUARINO i in. [2017] w swoich badaniach określili procent całkowitego usuwania węglowodorów ropy naftowej za pomocą naturalnej bioremediacji – po 90 dniach obserwacji 45–70% (średnia 57%). Proces bioattenuacji gleby zanieczyszczonej olejem napędowym badali również KOSHLAF i in. [2016]. W 12. tygodniu obserwacji rodzima mikroflora zredukowała węglowodory ropopochodne (TPH – total petroleum hydrocarbons) o 76% w stosunku do stanu wyjściowego. Podobne obniżenie poziomu TPH uzyskali MANSUR i in. [2014] po ok. 3 miesiącach monitoringu. Wydajność tę można tłumaczyć autochtoniczną adaptacją, dzięki której możliwa jest fizjologiczna kompatybilność mikroorganizmów z ich siedliskami [BENTO i in. 2005]. Z kolei CHIU i in. [2013] oceniali skuteczność bioremediacji naturalnej skażonych ropą naftową i węglowodorami wód gruntowych przez wyciek benzyny i oleju napędowego. Wyniki ich badań wskazują, że całkowite stężenie benzenu, toluenu, etylobenzenu i ksylenów (BTEX – benzene, toluene, ethylbenzene and xylene) zmniejszyło się z $9,5 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ w strefie źródłowej do $0,06 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ w odległości ok. 120 m od źródła. W miejscach zanieczyszczonych wyizolowali 27 różnych bakterii zdolnych do rozkładu węglowodorów ropopochodnych, dzięki czemu BTEX może ulec biodegradacji przez samoistnie występujące konsorcjum bakterii. Wśród nich można wyróżnić m.in. *Aquicola tertiarycarbonis* L10, *Alcaligenes sp.* VKM B-2263, *Hydrogenophaga sp.*, *Methylibium sp.* YIM 61602 oraz *Mycobacterium sp.*. Dodatkowo SERRANNO i in. [2008] zasymulowali rozlew oleju napędowego o stężeniu $1 \text{ dm}^3 \cdot \text{m}^{-2}$ na działce o powierzchni 12 m^2

użytków rolnych. Naturalną bioremediację monitorowano przez 400 dni. Krótko po rozlaniu (do 18 dni) głównie proces parowania przyczynił się do zmniejszenia stężenia zanieczyszczeń w glebie. Następnie mikroorganizmy glebowe wykorzystywały alifatyczne węglowodory jako źródło energii i węgla. Wspomniani autorzy stwierdzili, że biomasa drobnoustrojów glebowych, aktywność dehydrogenaz, a także wskaźniki jakości gleby odzyskały pierwotny poziom po ok. 200 dniach od wycieku.

BIOSTYMULACJA

Biostymulację rodzimej mikroflory stosuje się wówczas, kiedy tempo naturalnego rozkładu ksenobiotyków jest niewystarczające w celu przyspieszenia procesu oczyszczania. W większości gleb stosunek C:N:P jest za niski lub niezrównoważony, daleki od idealnego (100:10:1) do biodegradacji węglowodorów i odpowiedniego wzrostu mikroorganizmów [POWELL i in. 2006]. Dostarczenie niezbędnych składników odżywczych (m.in. azotu, fosforu, węgla organicznego) i/lub tlenu ma na celu wyrównanie stosunku C:N:P, przyspieszenie wzrostu i aktywności rodzimych populacji mikroorganizmów [HUSSAIN i in. 2017; SAFDARI i in. 2018; SANTINI i in. 2015].

KASZYCKI i in. [2013] badali bioremediację gruntu skażonego związkami ropopochodnymi na terenie stacji paliw. Średni poziom zanieczyszczeń określono na poziomie $3655 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ s.m. gleby. Podają oni, że zadowalające wyniki biorekultywacji otrzymano dzięki instalacji systemu napowietrzającego, który stymulował wzrost autochtonów glebowych. Efektywność procesu biodegradacji wynosiła w granicach 93,9–68,1% w zależności od głębokości badanej warstwy gleby. Biostymulację z dodatkiem nadtlenu wodoru zastosowali ROSIK-DULEWSKA i in. [2015] w silnie zanieczyszczonej substancjami petrochemicznymi glebie. Eksperyment trwał 60 dni. W tym czasie zastosowanie nadtlenu wodoru doprowadziło do wzrostu gram dodatnich bakterii w analizowanej glebie. Ponadto o ok 35% zwiększyła się skuteczność biodegradacji węglowodorów alifatycznych (C8–C40) i 50% wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) w porównaniu z próbą kontrolną.

Z kolei QIN i in. [2013] przeprowadzili w warunkach laboratoryjnych biostymulację przez dodanie biowęgla pod postacią słomy ryżowej w dwóch terminach, na początku doświadczenia i w 80. dniu. Po 180 dniach eksperymentu wydajność usuwania węglowodorów ropy naftowej wynosiła 61,2, 77,8 i 84,4% odpowiednio z gleby kontrolnej, z dodatkiem biowęgla na początku i w 80. dniu trwania badania. Cytowani autorzy sugerują, że biowęgiel dodany w 80. dniu badań chłonie część metabolitów, co prowadzi do zmniejszenia zanieczyszczenia gleby i przyspieszenia biodegradacji. Znane są również przykłady wykorzystania zielonych odpadów bogatych w polifenole jako wspomaganie procesu biostymulacji. KUPPU-

SAMY i in. [2015] twierdzą, iż polifenole są rozkładalne, a po degradacji stanowią cenne źródło węgla dla rodzimych mikroorganizmów, co może skutkować wzrostem ich liczebności.

W ciągu ostatnich kilku lat przeprowadzono wiele badań, w których stwierdzono, że biostymulacja z dodatkiem azotu bądź fosforu wpływa pozytywnie na aktywność metaboliczną rodzimej mikroflory, dzięki czemu odnotowano przyspieszenie degradacji węglowodorów [SMITH i in. 2015; SUJA i in. 2014]. SAFDARI i in. [2018] badali bioremediację gleby skażonej produktami ropopochodnymi w warunkach laboratoryjnych. Opracowali osiem bioreaktorów, po 2 dla każdej kombinacji, i wyszczególnili warianty doświadczalne: 1) naturalne tłumienie; 2) biostymulacja tlenem i składnikami odżywczymi; 3) bioaugmentacja ze szczepami *Pseudomonas aeruginosa* i *Bacillus subtilis*; 4) połączenie dwóch ostatnich metod. Proces bioremediacji badano przez 60 dni. Z badań tych wynika, że ostatni wariant doświadczalny (bioaugmentacja i biostymulacja) okazał się najskuteczniejszą metodą w zmniejszaniu zanieczyszczeń – na poziomie $89,7 \pm 0,3\%$. Niewiele mniejszą skuteczność odnotowano w wariancie, w którym zastosowano samą biostymulację ($81,9 \pm 0,3\%$), następnie bioaugmentację ($62,9 \pm 0,5\%$) i na końcu w wariancie 2. (naturalna bioremediacja) ($51,4 \pm 0,6\%$). Ponadto wzrost liczebności drobnoustrojów był kolejnym dowodem na skuteczną biodegradację węglowodorów przez mikroorganizmy. Pomyślnie zakończoną biostymulację gleby skażonej węglowodorami ropy naftowej (ang. total petroleum hydrocarbons – TPH) w stężeniu ok. $4000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ przeprowadzili SARKAR i in. [2005]. W warunkach laboratoryjnych wykorzystali oni dwie metody stymulowania procesu bioremediacji. W pierwszej wprowadzili do zanieczyszczonej gleby nawozy nieorganiczne o szybkim uwalnianiu bogate w N i P, w drugiej natomiast sterylizowane osady ściekowe o powolnym uwalnianiu, które oprócz N i P zawierały również C. Po 8 tygodniach inkubacji obie metody spowodowały biodegradację TPH na podobnym poziomie – ok. 96%, podczas gdy w naturalnym procesie rozkładu degradowane było ok. 94% pierwotnego zanieczyszczenia. Cytowani autorzy nie zaobserwowali statystycznie istotnej różnicy w skuteczności między naturalnym procesem remediacji a biostymulacją, co sugeruje, że samo monitorowanie biodegradacji zanieczyszczeń może być skuteczną metodą w glebach z dużą zawartością mikroflory rodzimej. Zakończoną sukcesem biostymulację gleby skażonej węglowodorami antarktycznymi na stacji Carlini (Antarktyda) przeprowadzili ÁLVAREZ i in. [2017]. Wskazali oni biostymulację jako najprostszą i najtańszą metodę bioremediacji. W ciągu 50 dni uzyskali redukcję węglowodorów na poziomie 49,54 i 75,79%, odpowiednio na obiekcie kontrolnym i biostymulowanym N i P. Teorię, że dodatek składników odżywczych stymuluje degradację węglowodorów ropy naftowej, potwierdzają także WU i in. [2016]. Przeprowadzili oni doświadczenie w celu określenia wpływu biostymulacji azotem i fosforem oraz bioaugmentacji szczepem KF453955 *Acinetobacter* SZ-1 na wydajność degradacji węglowodorów ropy naftowej. Zanieczyszczone gleby o stosunku C:N:P wynoszącym 438:1,0:1,6

inkubowano przez 10 tygodni w temperaturze pokojowej. Po 6 tygodniach doświadczenia wspomniani autorzy wykazali, że biostymulacja przyczyniła się do 60%, a bioaugmentacja tylko 34% degradacji węglowodorów ropy naftowej. Większa wydajność biostymulacji może wynikać z dostosowania stosunku C:N:P do odpowiedniego dla wzrostu mikroorganizmów odpowiedzialnych za proces degradacji ksenobiotyków w glebie. Przewagę biostymulacji nad bioaugmentacją stwierdzili także w swoich badaniach ABED i in. [2014]. Badali zdolność biodegradacji gleby zanieczyszczonej ropą naftową, pobierając dwie próbki osadów różniące się czasem skażenia. Jedna z pobranych próbek zanieczyszczona była przez 2 lata, natomiast próbka druga zaledwie 6 miesięcy. Wspomniani autorzy porównali ze sobą skuteczność obu metod na podstawie ilości wydzielanego CO₂. Po 88 dniach w próbie kontrolnej poziom wydzielonego CO₂ osiągnął 0,45±0,02 i 2,23±0,07 mg·g⁻¹ osadu odpowiednio dla próbki pierwszej i drugiej. Dodatek nieorganicznych substancji odżywczych spowodował 1,2–3,7-krotny wzrost wydzielania CO₂ w obu próbkach, podczas gdy dodanie konsorcjum bakteryjnego było skuteczne tylko w osadzie pierwszym. Podobną tendencję zaobserwowali również ANDREOLLI i in. [2015]. Porównali oni naturalną bioremediację z biostymulacją preparatem pobudzającym wzrost drobnoustrojów i bioaugmentacją z dodatkiem zawiesiny zawierającej *Trichoderma sp.* Doświadczenie polowe trwające 60 dni wykazało, że najlepsze wyniki w redukcji węglowodorów o dużej masie cząsteczkowej (ang. high molecular weight – HMW) osiągnięto w glebie biostymulowanej. Doszło w niej do 70-procentowej degradacji początkowego stężenia węglowodorów HMW. W tym samym czasie w wariancie doświadczalnym poddanym bioaugmentacji uzyskano 55% redukcji HMW, a naturalna bioremediacja umożliwiła jedynie 45% usunięcia początkowej frakcji węglowodorowej C12–C40. Cytowani autorzy podają, że największą degradację ksenobiotyków w obiekcie biostymulowanym uzyskano najprawdopodobniej poprzez poprawę bilansu składników odżywczych skażonej gleby.

Poza wspomnianymi już azotem i fosforem, ważnym makroskładnikiem jest siarka, która w odpowiedniej ilości poprawia kondycję mikroorganizmów [ZHANG i in. 2011]. STRĘK i TELESIŃSKI [2015] opisywali zmiany aktywności dehydrogenaz w glebie zanieczyszczonej benzyną (1% wagi), która została poddana procesowi biostymulacji siarczanem (VI) amonu w ilości 0, 15; 1,50 i 15,00 mmol·kg⁻¹ oraz selenem na IV i VI stopniu utlenienia w dawce 0,05 mmol·kg⁻¹. Analizy wykazały, że przede wszystkim zmniejszone dawki wprowadzonego (NH₄)₂SO₄ miały stymulacyjny wpływ na aktywność dehydrogenaz w glebie. Ponadto zanotowano, że jednoczesna obecność siarczanu (VI) amonu i selenu na stopniu utlenienia IV stymulowała aktywność dehydrogenaz w większości terminów analiz. Wyniki uzyskane przez tych autorów dają podstawy do wniosku, że dodatek (NH₄)₂SO₄ wraz z Se(IV) w odpowiednich proporcjach może być stosowany do wspomagania bioremediacji gleb zanieczyszczonych związkami ropopochodnymi.

BIOAUGUMENTACJA

Inną z biologicznych metod wspomagających usuwanie zanieczyszczeń ze skażonego środowiska jest bioaugmentacja. Jest to rodzaj bioremediacji, polegający na zwiększeniu puli mikroorganizmów poprzez wprowadzanie do zanieczyszczonego miejsca pojedynczych szczepów lub konsorcjów mikrobiologicznych, które są wyspecjalizowane w usuwaniu zanieczyszczeń [CYCOŃ i in. 2017; KAVAMURA, ESPOSITO 2010; KOSHLAF i in. 2016; SAYARA i in. 2011]. Z doniesień literaturowych wynika, że bioaugmentacja powinna być stosowana wtedy, gdy liczba mikroorganizmów degradujących zanieczyszczenia jest zbyt mała, a toksyczność ksenobiotyków w stosunku do rodzimych drobnoustrojów zbyt duża oraz miejsca skażone są mieszaninami różnych toksycznych związków [GENTRY i in. 2004; SANTINI i in. 2015]. Według informacji z literatury bioaugmentacja jest skuteczna, gdy wprowadzane mikroorganizmy spełnią określone cechy. Nie mogą bowiem być patogenami w stosunku do autochtonicznej mikroflory. Ponadto dodane drobnoustroje nie powinny wytwarzać toksyn, za to powinny charakteryzować się szybkością działania, mobilnością, odpornością na zmiany środowiskowe i niewielkim kosztem uzyskania [GAŁĄZKA 2009; MROZIK 2016; SINGER i in. 2005]. Jednym z wyzwań przeprowadzenia prawidłowej bioaugmentacji jest odpowiednie dodanie mikroorganizmów do skażonego terenu, w taki sposób aby ich liczba nie zmalała drastycznie po wprowadzeniu. Do przyczyn zmniejszenia liczebności wprowadzonych inokulatów można zaliczyć m.in. produkcję antybiotyków przez autochtoniczną mikroflorę, drapieżnictwo czy brak możliwości konkurowania o składniki odżywcze z rodzimą mikroflorą. W celu zwiększenia przeżywalności inokulowanych mikroorganizmów można zastosować np. szczepionkę z dużą zawartością ich biomasy – ok. 10^6 – 10^9 komórek na gram zanieczyszczonej gleby, kilkukrotny dodatek inokulantów do skażonego środowiska, biostymulację z dodatkiem związków pokarmowych bądź unieruchamianie mikroorganizmów na powierzchni nośnika [COLLA i in. 2014; KUYUKINA i in. 2013; MROZIK 2016]. Ponadto sukces procesu bioaugmentacji zależy od czynników abiotycznych, do których zalicza się m.in. temperaturę, zawartość materii organicznej, wilgotność, odczyn środowiska czy dostępność tlenu [NOWAK 2008; PODSIADŁO, KRZYŚKO-ŁUPICKA 2013].

W ostatnich latach przeprowadzono wiele badań dotyczących rozkładu ksenobiotyków z wykorzystaniem bioaugmentacji pojedynczym szczepem bakterii. DUEHOLM i in. [2015] w swoich badaniach porównywali zdolność degradacji benzenu, toluenu i etylobenzenu za pomocą osadu czynnego z dwóch różnych oczyszczalni – centralnej oczyszczalni ścieków Fredericia (FC) oraz zachodniej oczyszczalni ścieków Aalborg (AAW), a także bioaugmentacji z wykorzystaniem *Pseudomonas monteilli* SB 3078. Inokulacja za pomocą *P. monteilli* SB 3078 w aktywowanym osadzie z AAW poprawiła degradację benzenu, toluenu i etylobenzenu odpowiednio o 430, 720 i 170%. Z kolei WANG i in. [2014] przeprowadzili po-

myślnie zakończoną bioaugmentację gleby skażonej pestycydem o nazwie paration metylu w stężeniu $0,536 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ s.m. gleby z użyciem innego szczepu *Pseudomonas*. Wprowadzenie *Pseudomonas* sp WBC3 umożliwiło całkowity rozkład pestycydu po 15 dniach od inokulacji. W próbie kontrolnej proces degradacji zachodził znacznie wolniej, ponadto cytowani autorzy odnotowali systematyczne zwiększanie stężenia pośredniego produktu rozkładu parationu – *p*-nitrofenolu. Na podstawie badań laboratoryjnych LIMA i in. [2009] dostarczyli dowody na udaną bioremediację gleby, w której zastosowali 20- i 200-krotnie większe dawki pestycydu – atrazyny – niż zalecane przez producenta. Użyli oni do bioaugmentacji *Pseudomonas* sp. szczep ADP, a także stymulowali glebę różną dawką cytrynianu trójsodowego. W wariancie z 20-krotnie większą zawartością atrazyny inokulacja *Pseudomonas* sp. szczep ADP ($9\pm 1\cdot 10^7 \text{ jtk}\cdot\text{g}^{-1}$) spowodowała usunięcie jej w 99% już po 8 dniach, niezależnie od dawki cytrynianu. W glebie z 200-krotnie większym stężeniem pestycydu najlepsze wyniki bioremediacji autorzy ci osiągnęli po zaszczepieniu bakteriami rozkładającymi atrazynę ($8,5\pm 0,5\cdot 10^7 \text{ jtk}\cdot\text{g}^{-1}$) z dodatkiem cytrynianu ($2,4 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$). Połączenie biostymulacji z bioaugmentacją przyczyniło się do poprawy biodegradacji (87%) w porównaniu z samą bioaugmentacją (79%). Jednak ta sama ilość inokulum ($9\pm 1\cdot 10^7 \text{ jtk}\cdot\text{g}^{-1}$) z dodatkiem cytrynianu, podzielona na trzy kolejne dawki szczepienia, zwiększyła liczebność wprowadzonego *Pseudomonas* sp. szczep ADP oraz biodegradację pestycydu do 98% w 1. tygodniu. Wydajniejszy rozkład trwałych związków organicznych, tj. węglowodorów poliaromatycznych (ang. polyaromatic hydrocarbons – PAH), w inokulowanej szczepem grzyba *Phanerochaete velutina* glebie obserwowali WINQUIST i in. [2014]. Przeprowadzili oni zarówno doświadczenie polowe, jak i laboratoryjne. Zanieczyszczona wielopierścieniowymi węglowodorami aromatycznymi (WWA) gleba została zmieszana z kompostowanymi odpadami zielonymi (1:1) i do wybranych wariantów doświadczenia dodano *Phanerochaete velutina*. W skali laboratoryjnej (stężenie PAH $3500 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ gleby, suma 16 WWA) wielkocząsteczkowe WWA uległy znacznie szybszej degradacji w wariantach inokulowanych. W ciągu 3 miesięcy 96% 4-pierścieniowych PAH i 39% 5- i 6-pierścieniowych PAH zostało usunięte z gleby z dodatkiem grzyba, natomiast z gleby niezaszczepionej – odpowiednio 55% i 7%. Jednakże podczas doświadczenia polowego, w warunkach mniejszego stężenia początkowego PAH ($1400 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, suma 16 WWA) proces degradacji przebiegał podobnie zarówno w wariantach inokulowanych *P. velutina*, jak i niezaszczepionych. W ciągu trzech miesięcy uzyskano 94-procentowy rozkład 16 WWA. Autorzy badań sugerują, że oprócz wprowadzonego grzyba mikroskopowego ważną rolę w procesie degradacji odegrały autochtoniczne bakterie.

W bioaugmentacji można wprowadzać nie tylko pojedyncze szczepy mikroorganizmów, ale także konsorcja. Według HEINARU i in. [2005] druga z tych strategii jest bardziej efektywna, ponieważ wprowadzane szczepy mogą się uzupełniać. Produkty pośrednie rozkładu wytwarzane przez jedne szczepy mogą być dalej de-

gradowane przez inne grupy drobnoustrojów. MANCERA-LÓPEZ i in. [2008] wprowadzili konsorcjum trzech szczepów grzybów: *Rhizopus* sp., *Penicillium funiculosum* i *Aspergillus sydowii* do gleby skażonej mieszaniną węglowodorów ropopochodnych (ang. total petroleum hydrocarbons – TPH) w stężeniu $60,6 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$. Trzy wyżej wymienione grzyby były zdolne do skuteczniejszego usunięcia całkowitej ilości węglowodorów ropopochodnych w porównaniu z samą biostymulacją odpowiednio o 36, 30 i 17%. W innych badaniach EGOROWA i in. [2013] przeprowadzili bioaugmentację z wykorzystaniem konsorcjum zawierającego dwa szczepy aerobowych bakterii *Rhodococcus ruber* P25 i *Microbacterium* sp. B51. Wykorzystali po 500 g gleby pobranej z dwóch obszarów, tj. wolnego od zanieczyszczeń (gleba naturalna), oraz obszaru unieszkodliwiania odpadów przemysłowych (gleba antropogeniczna), w której zanieczyszczenie węglowodorami wynosiło $32,7 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ gleby. Do obu wariantów wprowadzili komercyjną mieszaninę polichlorowanych bifenoli (ang. polychlorinated biphenyls – PCB) Sovol w ilości $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Po 90 dniach inkubacji w warunkach laboratoryjnych wprowadzone szczepy bakterii przeprowadziły degradację PCB w 72,2 i 96,4%, odpowiednio w glebie naturalnej oraz antropogenicznej. Autorzy ci podają także, że dynamika wzrostu szczepów *R. ruber* P25 i *Microbacterium* sp. B51 korelowała ze specyficzną degradacją Sovolu. Ponadto *R. ruber* P25 i *Microbacterium* sp. B51 wykazywały wysoką aktywność degradacyjną w odniesieniu do wszystkich kongenerów zawartych w Sovol. Podobną strategię zastosowali DELLAGNEZZE i in. [2016], przeprowadzając eksperyment w 3000-litrowych zbiornikach zawierających sztucznie zanieczyszczoną ropą naftową wodę morską. Wyniki przedstawione w ich pracy wykazały, że zarówno dodatek konsorcjum bakteryjnego (zawierającego cztery szczepy metagenomowe i *Bacillus subtilis* CBMAI 707), jak i kontrola (jedynie autochtoniczne bakterie) wykazały podobny stopień degradacji ropy naftowej. Jednakże po 30 dniach konsorcjum zastosowane do koinokulacji okazało się bardziej skuteczne w degradacji związków aromatycznych w porównaniu z kontrolą, powodując rozkład zanieczyszczeń do 99%. Wykorzystanie konsorcjów mikroorganizmów ma również udowodnione działanie w oczyszczaniu wód. XIN i in. [2013] badali efekt bioaugmentacji wód podziemnych zanieczyszczonych benzenem, toluenem, etylobenzenem, ksylenami (ang. benzene, toluene, ethylbenzene and xylene – BTEX) o stężeniu $100 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ z użyciem bakterii *Mycobacterium* sp. CHXY119 oraz jej mieszaniny z *Pseudomonas* sp. YATO411. Proces degradacji BTEX w wodzie inokulowanej dwoma szczepami bakterii zachodził w krótszym czasie niż w wodzie z dodatkiem samego *Mycobacterium* sp. CHXY119. Warto zauważyć, że benzen, który jest najmniejbezpiecznym zanieczyszczeniem BTEX, został całkowicie rozłożony po 66 godzinach od inokulacji mieszaniną bakterii, natomiast po inokulacji samym *Mycobacterium* sp. CHXY119 skuteczność degradacji po 400 godzinach wyniosła tylko ok. 5%.

Należy także wyróżnić bioaugmentację wykorzystującą mikroorganizmy modyfikowane genetycznie (GEM) o zwiększonej zdolności degradacyjnej. Szczepy

te pozyskuje się przede wszystkim metodami inżynierii genetycznej bądź drogą mutagenезy losowej. MASSA i in. [2009] wykazali, że naturalny szczep *Arthrobacter* sp. FG1 wolniej degradował kwas 4-chlorobenzoowy niż zmodyfikowany genetycznie szczep *Pseudomonas putida* PaW340, zawierający geny kodujące dehalogenazę. Zdolność biogumentacji mikroorganizmów modyfikowanych genetycznie udowodnili także w swoich badaniach MONTI i in. [2005] oraz FILONOV i in. [2005].

PODSUMOWANIE

Na podstawie przedstawionego przeglądu literatury dotyczącego usuwania zanieczyszczeń z gleby za pomocą różnych metod biologicznych wynika, że biologiczne metody z wykorzystaniem mikroorganizmów są obiecujące w oczyszczaniu skażonych środowisk. Do niewątpliwych zalet bioremediacji *in situ* należy zaliczyć stosunkowo niskie koszty oraz łatwość przeprowadzania procesu, dużą skuteczność i brak negatywnego wpływu na oczyszczane środowisko. Dobór odpowiedniej metody (naturalna bioremediacja, biostymulacja, bioaugmentacja) zależy od stopnia zanieczyszczeń, jakości rodzimej mikroflory i tempa rozkładu ksenobiotyków. Ze względu na brak w literaturze jednoznacznych wyników dotyczących wyboru odpowiednich metod oczyszczania skażonych środowisk konieczne są dalsze badania.

BIBLIOGRAFIA

- ABED R.M., AL-SABAHI J., AL-MAQRASHI F., AL-HABSI A., AL-HINAI M. 2014. Characterization of hydrocarbon-degrading bacteria isolated from oil-contaminated sediments in the Sultanate of Oman and evaluation of bioaugmentation and biostimulation approaches in microcosm experiments. *International Biodeterioration and Biodegradation*. Vol. 89 s. 58–66.
- ÁLVAREZ L.M., RUBERTO L.A.M., BALBO A.L., MAC CORMACK W.P. 2017. Bioremediation of hydrocarbon-contaminated soils in cold regions: Development of a pre-optimized biostimulation biopile-scale field assay in Antarctica. *Science of the Total Environment*. Vol. 590 s. 194–203.
- ANDREOLLI M., LAMPIS S., BRIGNOLI P., VALLINI G. 2015. Bioaugmentation and biostimulation as strategies for the bioremediation of a burned woodland soil contaminated by toxic hydrocarbons: a comparative study. *Journal of Environmental Management*. Vol. 153 s. 121–131.
- BENTO F.M., CAMARGO F.A., OKEKE B.C., FRANKENBERGER W.T. 2005. Comparative bioremediation of soils contaminated with diesel oil by natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation. *Bioresource Technology*. Vol. 96(9) s. 1049–1055.
- CHIU H.Y., HONG A., LIN S.L., SURAMPALLI R.Y., KAO C.M. 2013. Application of natural attenuation for the control of petroleum hydrocarbon plume: Mechanisms and effectiveness evaluation. *Journal of Hydrology*. Vol. 505 s. 126–137.
- COLLA T.S., ANDREAZZA R., BÜCKER F., DE SOUZA M.M., TRAMONTINI L., PRADO G.R., FRAZZON A.P.G., DE OLIVEIRA CAMARGO F.A., BENTO F.M. 2014. Bioremediation assessment of diesel-biodiesel-contaminated soil using an alternative bioaugmentation strategy. *Environmental Science and Pollution Research*. Vol. 21(4) s. 2592–2602.

- CYCOŃ M., MROZIK A., PIOTROWSKA-SEGET Z. 2017. Bioaugmentation as a strategy for the remediation of pesticide-polluted soil: A review. *Chemosphere*. Vol. 172 s. 52–71.
- DELLAGNEZZE B.M., VASCONCELLOS S.P., ANGELIM A.L., MELO V.M.M., SANTISI S., CAPPELLO S., OLIVEIRA V.M. 2016. Bioaugmentation strategy employing a microbial consortium immobilized in chitosan beads for oil degradation in mesocosm scale. *Marine Pollution Bulletin*. Vol. 107(1) s. 107–117.
- DUEHOLM M.S., MARQUES I.G., KARST S.M., D'IMPERIO S., TALE V.P., LEWIS D., NIELSEN P.H., NIELSEN J.L. 2015. Survival and activity of individual bioaugmentation strains. *Bioresource Technology*. Vol. 186 s. 192–199.
- DZIOŃEK A., WOJCISZYŃSKA D., GUZIK U. 2016. Natural carriers in bioremediation: A review. *Electronic Journal of Biotechnology*. Vol. 19(5) s. 28–36.
- EGOROVA D. O., DEMAKOV V. A., PLOTNIKOVA E. G. 2013. Bioaugmentation of a polychlorobiphenyl contaminated soil with two aerobic bacterial strains. *Journal of Hazardous Materials*. Vol. 261 s. 378–386.
- FILONOV A. E., AKHMETOV L. I., PUNTUS I. F., ESIKOVA T. Z., GAFAROV A. B., IZMALKOVA T. Y., SOKOLOV S.L., KOSHELEVA I.A., BORONIN A. M. 2005. The construction and monitoring of genetically tagged, plasmid-containing, naphthalene-degrading strains in soil. *Microbiology*. Vol. 74(4) s. 453–458.
- GALAŻKA A. 2009. Przegląd biologicznych metod oczyszczania gleb skażonych wielopierścieniowymi węglowodorami aromatycznymi [The review of biological purification methods of the soils polluted with polycyclic aromatic hydrocarbons]. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*. Z. 535 s. 103–110.
- GALAŻKA A. 2015. Zanieczyszczenia gleb substancjami ropopochodnymi z uwzględnieniem biologicznych metod ich oczyszczenia [Soil contamination with oil derivatives and biological methods of purification]. *Kosmos*. Nr 1(64) s. 145–164.
- GENTRY T., RENSING C., PEPPER I.A. N. 2004. New approaches for bioaugmentation as a remediation technology. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. Vol. 34(5) s. 447–494.
- GONCIARZ W. 2013. Bakterie w bioremediacji gleby [Bacteria in soil bioremediation]. *Edukacja Biologiczna i Środowiskowa*. Nr 3 s. 17–22.
- GUARINO C., SPADA V., SCIARRILLO R. 2017. Assessment of three approaches of bioremediation (natural attenuation, landfarming and bioaugmentation – assisted landfarming) for a petroleum hydrocarbons contaminated soil. *Chemosphere*. Vol. 170 s. 10–16.
- HEINARU E., MERIMAA M., VIGGOR S., LEHISTE M., LEITO I., TRUU J., HEINARU A. 2005. Biodegradation efficiency of functionally important populations selected for bioaugmentation in phenol and oil-polluted area. *FEMS Microbiology Ecology*. Vol. 51(3) s. 363–373.
- HUSSAIN I., PUSCHENREITER M., GERHARD S., SCHÖFTNER P., YOUSAF S., WANG A., SYED J.H., REICHENAUER T.G. 2017. Rhizoremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soils: Improvement opportunities and field applications. *Environmental and Experimental Botany*. Vol. 147 s. 202–219.
- KASZYCKI P., PETRYSZAK P., PRZEPIÓRA T., SUPEL P. 2013. Bioremediacja gleby zanieczyszczonej ksenobiotykami z wykorzystaniem autochtonicznych drobnoustrojów glebowych. 1. Podstawy procesu i badania modelowego [Bioremediation of soil contaminated with xenobiotics with the use of autochthonous soil microorganisms. 1. Process principles and model studies]. *EPISTEME: Czasopismo Naukowo-Kulturalne*. Vol. 1(20) s. 109–122.
- KAVAMURA V.N., ESPOSITO E. 2010. Biotechnological strategies applied to the decontamination of soils polluted with heavy metals. *Biotechnology Advances*. Vol. 28(1) s. 61–69.
- KOSHLAF E., SHAHSAVARI E., ABURTO-MEDINA A., TAHA M., HALEYUR N., MAKADIA T.H., MORRISON P.D., BALL A.S. 2016. Bioremediation potential of diesel-contaminated Libyan soil. *Ecotoxicology and environmental safety*. Vol. 133 s. 297–305.

- KUPPUSAMY S., THAVAMANI P., MEGHARAJ M., NAIDU R. 2015. Bioremediation potential of natural polyphenol rich green wastes: A review of current research and recommendations for future directions. *Environmental Technology and Innovation*. Vol. 4 s. 17–28.
- KUYUKINA M. S., IVSHINA I. B., KAMENSKIKH T. N., BULICHEVA M. V., STUKOVA G. I. 2013. Survival of cryogel-immobilized *Rhodococcus* strains in crude oil-contaminated soil and their impact on biodegradation efficiency. *International Biodeterioration and Biodegradation*. Vol. 84 s. 118–125.
- LEE S.H., JI W., KANG D.M., KIM M.S. 2018. Effect of soil water content on heavy mineral oil biodegradation in soil. *Journal of Soils and Sediments*. Vol. 18(3) s. 983–991.
- LIMA D., VIANA P., ANDR S., CHELINHO, S., COSTA C., RIBEIRO R., SOUSA J.P., FIALHO A.M., VIEGAS C.A. 2009. Evaluating a bioremediation tool for atrazine contaminated soils in open soil microcosms: The effectiveness of bioaugmentation and biostimulation approaches. *Chemosphere*. Vol. 74(2) s. 187–192.
- LOC N.T.B. 2012. Efektywność metody in-situ w usuwaniu zanieczyszczeń ropopochodnych [Efficiency of removing contamination from the production of petroleum origin by method in-situ]. *Zeszyty Naukowe. Inżynieria Środowiska/Uniwersytet Zielonogórski*. Nr 148(28) s. 15–23.
- ŁUKSA A., MENDRYCKA M., STAWARZ M. 2010. Bioremediacja gleb zaolejonych z wykorzystaniem sorbentów [Bioremediation of oil-contaminated soils using sorbents]. *Nafta-Gaz*. R. 66. Nr 9 s. 810–818.
- MANCERA-LÓPEZ M. E., ESPARZA-GARCÍA F., CHÁVEZ-GÓMEZ B., RODRÍGUEZ-VÁZQUEZ R., SAUCEDO-CASTANEDA G., BARRERA-CORTÉS J. 2008. Bioremediation of an aged hydrocarbon-contaminated soil by a combined system of biostimulation–bioaugmentation with filamentous fungi. *International Biodeterioration and Biodegradation*. Vol. 61(2) s. 151–160.
- MANSUR A.A., ADETUTU E.M., KADALI K.K., MORRISON P.D., NURULITA Y., BALL A.S. 2014. Assessing the hydrocarbon degrading potential of indigenous bacteria isolated from crude oil tank bottom sludge and hydrocarbon-contaminated soil of Azzawiya oil refinery, Libya. *Environmental Science and Pollution Research*. Vol. 21(18) s. 10725–10735.
- MASSA V., INFANTINO A., RADICE F., ORLANDI V., TAVECCHIO F., GIUDICI R., CONTI F., URBINI G., DI GUARDO A., BARBIERI P. 2009. Efficiency of natural and engineered bacterial strains in the degradation of 4-chlorobenzoic acid in soil slurry. *International Biodeterioration and Biodegradation*. Vol. 63(1) s. 112–115.
- MONTI M.R., SMANIA A.M., FABRO G., ALVAREZ M.E., ARGARANA C.E. 2005. Engineering *Pseudomonas fluorescens* for biodegradation of 2, 4-dinitrotoluene. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 71(12) s. 8864–8872.
- MROZIK A. 2016. Mikroorganizmy w bioaugmentacji zanieczyszczonych środowisk [Microorganisms in bioaugmentation of polluted environments]. *Postępy Mikrobiologii*. Nr 55(2) s. 147–156.
- NIKOLOPOULOU M., PASADAKIS N., KALOGERAKIS K. 2007. Enhanced bioremediation of crude oil utilizing lipophilic fertilizers. *Desalination*. Vol. 211(1–3) s. 286–295.
- NOWAK J. 2008. Bioremediacja gleb z ropy i jej produktów [Bioremediation of soil contaminated with petroleum products]. *Biotechnologia*. Nr 1(80) s. 97–108.
- OLANIRAN A.O., BALGOBIND A., PILLAY B. 2013. Bioavailability of heavy metals in soil: impact on microbial biodegradation of organic compounds and possible improvement strategies. *International Journal of Molecular Sciences*. Vol. 14(5) s. 10197–10228.
- PODSIADŁO Ł., KRZYŚKO-ŁUPICKA T. 2013. Techniki bioremediacji substancji ropopochodnych i metody oceny ich efektywności [Techniques of petroleum compounds bioremediation and methods of assessment of their effectiveness]. *Inżynieria i Ochrona Środowiska*. Vol. 16(4) s. 459–476.

- POWELL S.M., FERGUSON S.H., SNAPE I., SICILIANO S.D. 2006. Fertilization stimulates anaerobic fuel degradation of Antarctic soils by denitrifying microorganisms. *Environmental Science and Technology*. Vol. 40(6) s. 2011–2017.
- QIN G., GONG D., FAN M. Y. 2013. Bioremediation of petroleum-contaminated soil by biostimulation amended with biochar. *International Biodeterioration and Biodegradation*. Vol. 85 s. 150–155.
- ROSIK-DULEWSKA C., KRZYŹKO-ŁUPICKA T., CIESIELCZUK T., KRĘCIDŁO Ł. 2015. Hydrogen peroxide as a biodegradation stimulator in remediation processes of soils heavily contaminated with petrochemicals. *Polish Journal of Chemical Technology*. Vol. 17(2) s. 17–22.
- ROZPONDEK R., ROZPONDEK K., KACPRZAK M. 2017. Ocena zanieczyszczeń terenów zdegradowanych z wykorzystaniem informacji przestrzennej na przykładzie przemysłu hutniczego [Evaluation of contamination of zn-pb industry degraded areas using spatial information]. *Inżynieria Ekologiczna*. Nr 18(3) s. 106–113.
- ROY A.S., BARUAH R., BORAH M., SINGH A.K., BORUAH H.P.D., SAIKIA N., DEKA M., DUTTA N., BORA T.C. 2014. Bioremediation potential of native hydrocarbon degrading bacterial strains in crude oil contaminated soil under microcosm study. *International Biodeterioration and Biodegradation*. Vol. 94 s. 79–89.
- SAFDARI M.S., KARIMINIA H.R., RAHMATI M., FAZLOLLAHI F., POLASKO A., MAHENDRA S., WILDING W.V. FLETCHER T.H. 2018. Development of bioreactors for comparative study of natural attenuation, biostimulation, and bioaugmentation of petroleum-hydrocarbon contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials*. Vol. 342 s. 270–278.
- SANTINI T.C., KERR J.L., WARREN L.A. 2015. Microbially-driven strategies for bioremediation of bauxite residue. *Journal of Hazardous Materials*. Vol. 293 s. 131–157.
- SARKAR D., FERGUSON M., DATTA R., BIRNBAUM S. 2005. Bioremediation of petroleum hydrocarbons in contaminated soils: comparison of biosolids addition, carbon supplementation, and monitored natural attenuation. *Environmental Pollution*. Vol. 136(1) s. 187–195.
- SAYARA T., BORRAS E., CAMINAL G., SARRA M., SANCHEZ A. 2011. Bioremediation of PAHs-contaminated soil through composting: Influence of bioaugmentation and biostimulation on contaminant biodegradation. *International Biodeterioration and Biodegradation*. Vol. 65(6) s. 859–865.
- SERRANO A., GALLEGO M., GONZÁLEZ J.L., TEJADA M. 2008. Natural attenuation of diesel aliphatic hydrocarbons in contaminated agricultural soil. *Environmental Pollution*. Vol. 151(3) s. 494–502.
- SHARMA V., PANT D. 2018. Structural basis for expanding the application of bioligand in metal bioremediation: A review. *Bioresource Technology*. Vol. 252 s. 188–197.
- SINGER A.C., VAN DER GAST C.J., THOMPSON I.P. 2005. Perspectives and vision for strain selection in bioaugmentation. *Trends in Biotechnology*. Vol. 23(2) s. 74–77.
- SMITH E., THAVAMANI P., RAMADASS K., NAIDU R., SRIVASTAVA P., MEGHARAJ M. 2015. Remediation trials for hydrocarbon-contaminated soils in arid environments: Evaluation of bioslurry and biopiling techniques. *International Biodeterioration and Biodegradation*. Vol. 101 s. 56–65.
- STRĘK M., TELESIŃSKI A. 2015. Zmiana aktywności wybranych enzymów oksydoredukcyjnych wytwarzanych przez mikroorganizmy w glebie lekkiej zanieczyszczonej benzyną w obecności jonów seleniu [Change in oxidoreductase activity of selected microbial enzymes in gasoline-contaminated light soil in presence of selenium]. *Ochrona Środowiska*. Vol. 37(1) s. 43–47.
- SUJA F., RAHIM F., TAHA M.R., HAMBALI N., RAZALI M.R., KHALID A., HAMZAH A. 2014. Effects of local microbial bioaugmentation and biostimulation on the bioremediation of total petroleum hydrocarbons (TPH) in crude oil contaminated soil based on laboratory and field observations. *International Biodeterioration and Biodegradation*. Vol. 90 s. 115–122.
- SZCZEPANIAK Z., CZARNY J., STANIENSKA-PIĘTA J., LISIECKI P., ZGOŁA-GRZEŹKOWIAK A., CYPLIK P., CHRZANOWSKI Ł., WOLKO Ł., MARECİK R., JUZWA W., GLAZAR K., PIOTROWSKA-CYPLIK A. 2016. Influence of soil contamination with PAH on microbial community dynamics and expres-

- sion level of genes responsible for biodegradation of PAH and production of rhamnolipids. Environmental Science and Pollution Research. Vol. 23(22) s. 23043–23056.
- WANG L., CHI X.Q., ZHANG J.J., SUN D.L., ZHOU N.Y. 2014. Bioaugmentation of a methyl parathion contaminated soil with *Pseudomonas* sp. strain WBC-3. International Biodeterioration and Biodegradation. Vol. 87 s. 116–121.
- WINQUIST E., BJÖRKLÖF K., SCHULTZ E., RÄSÄNEN M., SALONEN K., ANASONYE F., TUOMELA M. 2014. Bioremediation of PAH-contaminated soil with fungi – From laboratory to field scale. International Biodeterioration and Biodegradation. Vol. 86 s. 238–247.
- WU M., DICK W.A., LI W., WANG X., YANG Q., WANG T., XU L., ZHANG M., CHEN L. 2016. Bioaugmentation and biostimulation of hydrocarbon degradation and the microbial community in a petroleum-contaminated soil. International Biodeterioration and Biodegradation. Vol. 107 s. 158–164.
- XIN B.P., WU C.H., WU C.H., LIN C.W. 2013. Bioaugmented remediation of high concentration BTEX-contaminated groundwater by permeable reactive barrier with immobilized bead. Journal of Hazardous Materials. Vol. 244 s. 765–772.
- ZHANG J., ZHANG Y., QUAN X., LIU Y., AN X., CHEN S., ZHAO H. 2011. Bioaugmentation and functional partitioning in a zero valent iron-anaerobic reactor for sulfate-containing wastewater treatment. Chemical Engineering Journal. Vol. 174(1) s. 159–165.

Zyta WARACZEWSKA, Alicja NIEWIADOMSKA, Aleksandra GRZYB

SELECTED METHODS OF BIOREMEDIATION *IN SITU* USING MICROORGANISMS

Key words: bioaugmentation, bioremediation, biostimulation, microorganisms

S u m m a r y

The study bioremediation is defined as a biological method of purification of the environment, which consists in removing soil contaminants by means of microorganisms and their enzymes, which are capable of degrading xenobiotics. Harmful substances can be removed at the site of contamination (*in situ*) or after removal of contaminated soil from its natural location (*ex situ*). There are three basic methods of bioremediation with microorganisms: natural bioremediation, biostimulation and bioaugmentation. The first method consists in regular monitoring of the rate of microbial decomposition of harmful substances without human intervention. The decomposition of xenobiotics is based on natural physicochemical reactions, the enzymatic activity of microorganisms and the circulation of elements in the environment. If the time of decomposition of contaminants is too long, biostimulation should be applied. This method consists in providing necessary nutrients and/or oxygen to accelerate the growth and activity of native microbial populations or to equalise C: N: P ratios. Bioaugmentation consists in increasing the degradation capacity of contaminated environments by adding selected bacterial strains or consortia.

Adres do korespondencji: mgr inż. Zyta Waraczewska, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wydział Rolnictwa i Bioinżynierii, ul. Szydlowska 50, 60-656 Poznań; e-mail: zyta.waraczewska@wp.pl