

Anna Małachowska-Jutsz, Weronika Janosz, Joanna Rudek

Toksyczność gleby zanieczyszczonej olejem silnikowym poddanej samooczyszczaniu oraz fitoremediacji

Rozwój urbanizacji i uprzemysłowienia spowodował silne zanieczyszczenie środowiska glebowego, na skutek przedostania się do niego różnorodnych ksenobiotyków, w tym substancji ropopochodnych. Na szczególną uwagę zasługują oleje smarne, stosowane przede wszystkim w silnikach, przekładniach i układach hydraulicznych. W czasie ich eksploatacji pogarszają się właściwości użytkowe olejów (tzw. starzenie oleju). Produktami długotrwałego utleniania składników oleju podczas pracy silnika są głównie laki, żywice i wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne, przy czym całkowitą ilość zanieczyszczeń w oleju przepracowanym szacuje się na 20÷30% jego masy. Oleje przepracowane są odpadem i zalicza się je do odpadów niebezpiecznych, niestety szacunki wykazują, że około 25÷30% przepracowanych olejów zostaje nielegalnie spalona lub celowo wprowadzona do środowiska. Podstawowymi aktami prawnymi regulującymi procesy użytkowania gruntów i ich rekultywacji są ustawa Prawo ochrony środowiska z 27 kwietnia 2001 r. (Dz. U. nr 62, poz. 627) wraz z późniejszymi zmianami oraz rozporządzenie Ministra Środowiska w sprawie standardów jakości gleby oraz standardów jakości ziemi z 9 września 2002 r. (Dz. U. nr 165, poz. 1359).

Do najbardziej korzystnych metod przeciwdziałania skutkom zanieczyszczenia środowiska glebowego zalicza się metody biologiczne (tzw. bioremediacja) [1–3]. Jedną z technik bioremediacji jest fitoremediacja, polegająca na rekultywacji gleby z użyciem roślin. Układ roślina–mikroorganizmy odgrywa znaczącą rolę w bioremediacji gleby skażonej związkami ropopochodnymi. Oddziaływanie korzeni roślin i mikroorganizmów na zanieczyszczenia organiczne w glebie stanowi jedną z technik fitoremediacji, zwaną fitodegradacją [4, 5]. Zarówno przed, jak i w czasie trwania rekultywacji korzystne jest prowadzenie testów fitotoksyczności i zootoksyczności. Testy te pozwalają na szybką i wiarygodną ocenę stopnia toksyczności gleby zanieczyszczonej związkami ropopochodnymi oraz dają możliwość oceny postępu prowadzonych zabiegów remediacyjnych.

Celem pracy było porównanie toksyczności próbek gleby zanieczyszczonej przepracowanym olejem silnikowym, poddanej procesom samooczyszczania i fitoremediacji w warunkach laboratoryjnych.

Dr hab. inż. A. Małachowska-Jutsz, mgr inż. W. Janosz, mgr inż. J. Rudek: Politechnika Śląska, Wydział Inżynierii Środowiska i Energetyki, Katedra Biotechnologii Środowiskowej, ul. Akademicka 2A, 44-100 Gliwice
anna.malachowska-jutsz@polsl.pl

Materiały i metodyka badań

Jako podłoża glebowego użyto mieszaniny składającej się z 70% piasku, 20% gliny oraz 10% torfu, zgodnie z zaleceniami podanymi w normie [6]. Tak przygotowane podłoże o pH=6 nawilżono wodą destylowaną do uzyskania 60% całkowitej pojemności wodnej (WHC) i wstawiono na 7 d do komory fitotronowej (20±2°C). Po 7-dobowym czasie inkubacji, próbki gleby (10 kg) zanieczyszczono przepracowanym mineralnym olejem silnikowym w ilościach 10%, 20% i 30% wag. i umieszczono w wazonach. Równoległe z procesem samooczyszczania przeprowadzono fitoremediację gleby. W tym celu próbki gleby o takiej samej masie zanieczyszczono taką samą ilością oleju, a następnie umieszczono w pojemnikach i obsiano babką lancetowatą (*Plantago lanceolata*) (ok. 200 nasion na powierzchni 0,071 m²). Próbkę kontrolną w procesach samooczyszczania i fitoremediacji stanowiła gleba bez dodatku oleju. Doświadczenia prowadzono przez 13 tygodni w trzech powtórzeniach. próbki gleby pobrano z wazonów po 1 d, 31 d, 61 d i 91 d trwania procesu samooczyszczania/fitoremediacji i następnie wykorzystano w badaniach mających na celu określenie ich fito- i zootoksyczności.

Fitotoksyczność

Wpływ zanieczyszczenia gleby olejem silnikowym na wczesne stadia rozwojowe roślin określono zgodnie z normą [7]. W badaniach wykorzystano koniczynę białą (*Trifolium repens* V.). Przed przystąpieniem do testów toksykologicznych sprawdzono zdolność kiełkowania nasion (w ciemności) w temperaturze 21°C. Do dalszych badań wybrano te partie nasion, których zdolność kiełkowania przekraczała 90%. Stosowano nasiona niezaprawione. Badania wykonano z użyciem testu Phytotoxkit. Ocenę toksycznego oddziaływania węglowodorów na badane rośliny przeprowadzono na podstawie pomiaru stopnia zahamowania wzrostu korzeni oraz łodyg, w porównaniu z roślinami z próbek kontrolnych. Wartość współczynnika inhibicji wzrostu korzeni roślin (I_K , %) obliczono z zależności:

$$I_K = \frac{L_B - L_A}{L_B} 100 \quad (1)$$

w której:

L_B – średnia długość korzeni roślin w próbce kontrolnej gleby, cm,

L_A – średnia długość korzeni roślin w glebie zanieczyszczonej, cm

Podobnie obliczono wartość współczynnika inhibicji wzrostu łodyg roślin (I_N).

Zootoksyczność

Aby określić wpływ zanieczyszczeń na dżdżownicę, przeprowadzono test toksyczności ostrej zgodnie z normą [6]. Metoda ta polega na oznaczeniu śmiertelności dorosłych dżdżownic *Eisenia fetida* po 7 d i 14 d od ich umieszczenia w podłożu hodowlanym, zawierającym różne ilości substancji zanieczyszczającej. Wartość współczynnika śmiertelności dżdżownic po 7 d obliczono z zależności:

$$M_7 = \frac{A - B_7}{A} 100 \quad (2)$$

w której:

M_7 – współczynnik śmiertelności po 7 d, %

A – liczba żywych dżdżownic w próbce kontrolnej gleby

B_7 – liczba żywych dżdżownic w glebie zanieczyszczonej po 7 d

Podobnie obliczono wartość współczynnika śmiertelności dżdżownic po 14 d trwania testu (M_{14}).

Oznaczenie wpływu substancji toksycznych na rozmnażanie dżdżownic wykonano wg normy [8]. Test przeprowadzono w szklanych pojemnikach o pojemności 1 dm³, wypełnionych badaną glebą do objętości 700 cm³. Każda próbka zawierała 10 dorosłych dżdżownic z gatunku *Eisenia fetida* z dobrze wykształconym siodelkiem. Próbkę kontrolną stanowiła gleba niezanieczyszczona olejem. Wilgotność podłoża utrzymywano na poziomie 40÷60% (WHC). Test prowadzono przez 4 tygodnie, podczas których dżdżownice dokarmiano drobno zmieloną obornikiem. Po 4 tygodniach od momentu umieszczenia zwierząt w pojemniku policzono liczbę kokonów. Wpływ węglowodorów na rozmnażanie dżdżownic oceniono licząc potomstwo wylęgłe z kokonów w próbkach kontrolnych oraz w glebie zanieczyszczonej po czasie kolejnych 4 tygodni.

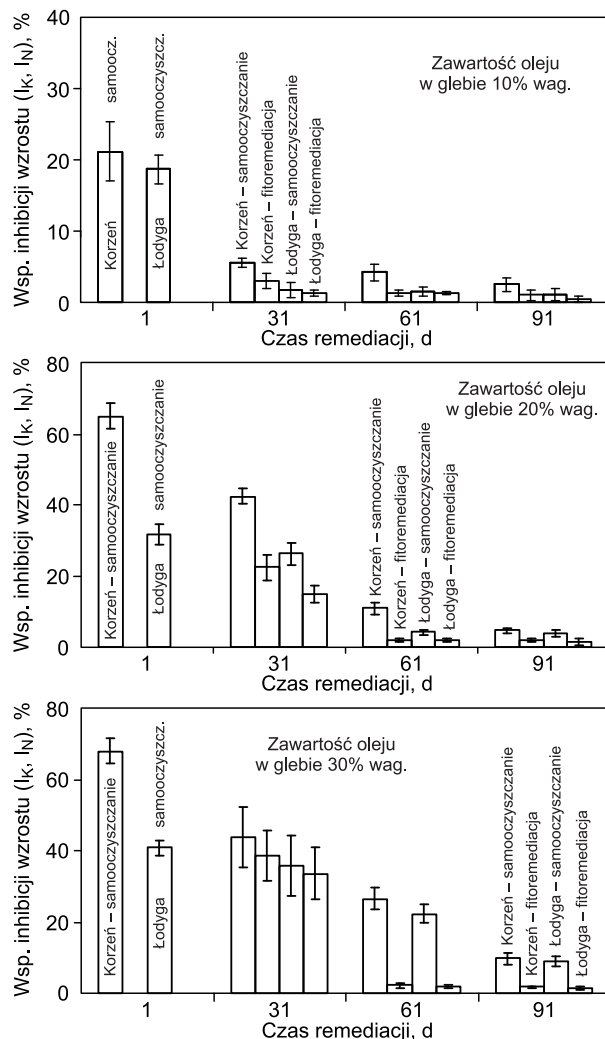
Analizy chemiczne obejmowały oznaczenie w przepracowanym oleju silnikowym zawartości węglowodorów alifatycznych metodą spektrometrii w podczerwieni według pracy [9] oraz wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych zgodnie z pracą [10].

Wyniki badań

Przeprowadzone analizy chemiczne wykazały, że przepracowany olej silnikowy składał się prawie w 90% z węglowodorów alifatycznych, natomiast spośród węglowodorów aromatycznych najliczniej występowały naftalen (274 mg/kg), fenantren (47 mg/kg) i chryzen (76 mg/kg).

Wpływ oleju silnikowego na fitotoksyczność gleby

Wyniki badania zmian fitotoksyczności gleby zanieczyszczonej przepracowanym olejem silnikowym podlegającej procesowi samooczyszczania (gleba bez babki lancetowatej) lub fitoremediacji (gleba z babką lancetowatą) w czasie 1 d, 31 d, 61 d i 91 d przedstawiono na rysunku 1.



Rys. 1. Fitotoksyczność gleby (zanieczyszczonej olejem silnikowym) podczas jej bioremediacji

Fig. 1. Phytotoxicity of soil (contaminated with engine oil) during bioremediation

Okazało się, że obecność 10% wag. oleju w glebie w 1. dobie badań spowodowała ok. 22% inhibicję wzrostu korzeni i ok. 18% inhibicję wzrostu łodyg koniczyny. W 91. dobie badań w podłożu glebowym poddanym procesowi samooczyszczania współczynnik inhibicji wzrostu korzeni i łodyg koniczyny wyniósł ok. 3%, natomiast w podłożu glebowym poddanym fitoremediacji – ok. 1%. Wprowadzenie do gleby 20% wag. oleju spowodowało istotne zwiększenie stopnia hamowania wzrostu koniczyny. Zaobserwowano ok. 65% inhibicję wzrostu korzeni i ok. 30% inhibicję wzrostu łodyg. Wraz z postępującym procesem oczyszczania malała toksyczność badanych próbek gleby, o czym świadczyły wzrastające wartości współczynników IC (tab. 1). W 91. dobie doświadczenia w podłożu

Tabela 1. Wyniki testu toksyczności z udziałem koniczyny białej (*Trifolium repens* V.)
Table 1. Results of toxicity tests with white clover (*Trifolium repens* V.)

Czas remediacji d	Współczynnik IC, g/kg			
	samooczyszczanie		fitoremediacja	
	korzeń	łodyga	korzeń	łodyga
1	IC ₅₀ =109,9	IC ₅₀ =341,6	–	–
31	IC ₂₅ =167,4	IC ₂ =184,4	IC ₂₅ =243,1	IC ₂₅ =251,4
61	IC ₂₅ =287,1	IC ₂₅ =332,4	IC ₂₅ =301,1	IC ₂₅ =340,3
91	IC ₁₀ =313,4	IC ₁₀ =321,1	IC ₁₀ =322,2	IC ₁₀ =331,5

Tabela 2. Wyniki testu toksyczności ostrej z udziałem dżdżownic *Eisenia fetida* (współczynnik śmiertelności)
Table 2. Results of acute toxicity tests with earthworms *Eisenia fetida* (mortality rate)

Zawartość oleju % wag.	Czas d	Samooczyszczanie		Fitoremediacja	
		współczynnik śmiertelności, %	odchylenie standardowe	współczynnik śmiertelności, %	odchylenie standardowe
10	1	20	1,7	–	–
	31	17	2,0	10	1,2
	61	10	1,7	0	0,0
	91	0	0,0	0	0,0
20	1	57	3,0	–	–
	31	50	3,0	33	1,7
	61	23	1,7	20	1,7
	91	20	1,7	17	1,7
30	1	100	0,0	–	–
	31	70	3,0	67	3,0
	61	67	5,1	60	1,7
	91	63	4,9	50	1,7

Tabela 3. Wyniki testu reprodukcji z udziałem dżdżownic *Eisenia fetida* (współczynnik hamowania produkcji kokonów)
Table 3. Results of reproduction tests with earthworms *Eisenia fetida* (inhibition coefficient of cocoon production)

Zawartość oleju % wag.	Czas d	Samooczyszczanie		Fitoremediacja	
		współczynnik hamowania, %	odchylenie standardowe	współczynnik hamowania, %	odchylenie standardowe
10	1	98	0,0	–	–
	31	97	1,3	94	1,2
	61	91	1,3	79	1,2
	91	60	3,6	46	3,3
20	1	100	0,0	–	–
	31	98	1,3	96	1,2
	61	97	0,0	95	1,2
	91	96	1,3	93	1,3
30	1	100	0,0	–	*
	31	100	0,0	100	0,0
	61	100	0,0	100	0,0
	91	100	0,0	97	0,0

Tabela 4. Wyniki testu reprodukcji z udziałem dżdżownic *Eisenia fetida* (współczynnik hamowania wylęgu młodych)
Table 4. Results of reproduction tests with earthworms *Eisenia fetida* (inhibition coefficient of hatched juveniles)

Zawartość oleju % wag.	Czas d	Samooczyszczanie		Fitoremediacja	
		współczynnik hamowania, %	odchylenie standardowe	współczynnik hamowania, %	odchylenie standardowe
10	1	100	0,0	–	–
	31	98	1,9	98	1,5
	61	93	2,5	86	2,1
	91	88	2,1	59	2,9
20	1	100	0,0	–	–
	31	100	0,0	99	0,4
	61	100	0,0	98	0,4
	91	99	0,5	98	0,5
30	1	100	0,0	–	–
	31	100	0,0	100	0,0
	61	100	0,0	100	0,0
	91	100	0,0	100	0,0

podlegającym procesowi samooczyszczania współczynnik zahamowania wzrostu korzeni i łodyg koniczyny wynosił ok. 5%, a w glebie obsianej babką lancetowatą ok. 2%. Z kolei obecność w glebie 30% wag. oleju spowodowała w 1. dobie badań ok. 65% zahamowanie wzrostu korzeni i ok. 40% zahamowanie wzrostu łodyg koniczyny. W 91. dobie badań zarówno w glebie podlegającej samooczyszczaniu, jak i w glebie poddanej procesowi fitoremediacji współczynnik inhibicji wzrostu korzeni koniczyny wynosił ok. 10%, a łodyg ok. 4%.

Wpływ oleju silnikowego na zootoksyczność gleby

W 1. dobie doświadczenia gleba skażona 10% wag. oleju spowodowała ok. 20% śmiertelność dżdżownic *Eisenia fetida* (tab. 2) oraz 100% inhibicję produkcji kokonów (tab. 3). Po 91 d procesu pomimo to, że wszystkie osobniki przeżyły w obu glebach, współczynniki inhibicji produkcji kokonów i wylęgu dżdżownic były nadal wysokie i wynosiły odpowiednio ok. 80% w glebie poddanej samooczyszczaniu oraz ok. 60% w glebie poddanej fitoremediacji (tab. 4). Wprowadzenie do gleby 20% wag. oleju spowodowało istotne pogorszenie warunków bytowania dżdżownic *Eisenia fetida*. Test toksyczności ostrej wykazał ok. 60% śmiertelność zwierząt w 1. dobie badań (tab. 2). Po 91 d samooczyszczania w teście toksyczności ostrej odnotowano 20% śmiertelność dżdżownic w podłożu podlegającym samooczyszczaniu i 17% w próbkach poddanych fitoremediacji. Pomimo istotnego zmniejszenia toksyczności próbek gleby zanieczyszczonej 20% wag. oleju, w 91. dobie remediacji testowane zwierzęta nie były zdolne do rozrodu (tab. 3 i 4).

W przypadku obecności w glebie 30% wag. przeprowanego oleju silnikowego w 1. dobie badań nastąpiła śmierć wszystkich dżdżownic (tab. 2). Po 91 d remediacji zanieczyszczenia pozostające w glebie w dalszym ciągu oddziaływały toksycznie na badane zwierzęta. W podłożu ulegającym samooczyszczaniu zaobserwowano ok. 63% współczynnik śmiertelności (tab. 2), natomiast w podłożu poddanym procesowi fitoremediacji stwierdzono 50% śmiertelność dżdżownic (tab. 1). Wyniki testów fito- i zootoksyczności wykorzystano do wyznaczenia zawartości oleju powodujących 50% (IC_{50}), 25% (IC_{25}) oraz 10% (IC_{10}) inhibicję wzrostu korzeni i łodyg koniczyny białej, a także ilości oleju powodującego 50% śmiertelność (LC_{50}) dżdżownic *Eisenia fetida*. Wyniki zebrano w tabelach 1 i 5. Na ich podstawie można stwierdzić, że rośliny wykazywały znacznie większą tolerancję na wprowadzony do gleby ksenobiotyk aniżeli zwierzęta, przy czym korzenie koniczyny okazały się bardziej wrażliwe od łodyg. W 91. dobie badań wyznaczono jedynie IC_{10} w przypadku roślin.

Tabela 5. Zawartość oleju powodująca 50% śmiertelność dżdżownic *Eisenia fetida* w 14. dobie testu zootoksyczności
Table 5. Oil concentrations causing 50% mortality of earthworms *Eisenia fetida* on the 14th day of the test

Czas remediacji d	Współczynnik LC_{50} , g/kg	
	samooczyszczanie	fitoremediacja
1	157,8	–
31	200,0	227,5
61	231,9	278,5
91	257,8	300,0

Dyskusja wyników badań

Wpływ oleju silnikowego na fitotoksyczność gleby

Substancje ropopochodne mogą powodować deformacje w budowie komórek i tkanek, hamować ich wzrost, a nawet prowadzić do śmierci roślin. Tolerancja roślin na zanieczyszczenia węglowodorami związana jest przede wszystkim z głębokością penetracji gleby przez ich systemy korzeniowe, a także obecnością w roślinach organów spichrzowych lub łodyg podziemnych [11]. W testach fitotoksyczności wykorzystano koniczynę białą zaliczaną do naftofitów, czyli roślin tolerujących bardzo wysokie ilości substancji ropopochodnych, głównie węglowodorów. Naftofity mają zdolność absorpcji, kumulacji i metabolizowania węglowodorów, dlatego odpowiednio zastosowane pomagają stworzyć w zanieczyszczonej glebie optymalne warunki pokarmowe, powietrzne, cieplne oraz wodne, konieczne do odbudowy naruszonej równowagi biologicznej i jonowej [12]. Przeprowadzone badania wykazały, że fitotoksyczność próbek gleby zanieczyszczonej przeprowanym olejem silnikowym malała w miarę postępującego procesu samooczyszczania/fitoremediacji (tab. 1). Próbki gleby poddanej procesowi fitoremediacji charakteryzowały się mniejszą toksycznością, w porównaniu z próbkami poddanymi jedynie samooczyszczaniu (tab. 1). Dowodzi to istotnego wpływu roślin na proces oczyszczania gleby z produktów ropopochodnych. Każda roślina może wpływać na szybkość rozkładu ksenobiotyków w glebie, co wiąże się ze specyficznym oddziaływaniem systemu korzeniowego roślin na drobnoustroje glebowe. W badaniach dotyczących ryzodegradacji związków organicznych, m.in. WWA, wykazano, że wydzieliny korzeniowe stymulują wzrost i rozwój mikroorganizmów ryzosferowych, przez co wpływają na proces mikrobiologicznego rozkładu zanieczyszczeń [13]. W pracy [14] wykazano, że WWA o małej masie cząsteczkowej w znacznie większym stopniu oddziałują toksycznie na rośliny niż węglowodory o dużej masie. Po dwóch miesiącach uprawy roślin w glebach zanieczyszczonych węglowodorami autorzy ci odnotowali skrócenie długości korzeni roślin, w porównaniu z roślinami z próbek kontrolnych.

Podobne zjawisko zaobserwowano w omawianych badaniach własnych (rys. 1). Dominującym wielopierścieniowym węglowodorem aromatycznym w przeprowanym oleju silnikowym był dwupierścieniowy naftalen, który ze względu na niewielką masę cząsteczkową jest stosunkowo prosto metabolizowany przez mikroorganizmy glebowe, niemniej jednak równie łatwo może być pobierany i akumulowany przez rośliny, co jest związane ze stosunkowo dużą wartością stałej podziału oktanol/woda (K_{ow}) [15, 16]. Obserwacje mikroskopowe korzeni roślin rosnących w glebach zanieczyszczonych węglowodorami wykazały zmniejszenie strefy włośnikowej korzeni i skrócenie ich długości, przy jednoczesnym wzroście średnicy, a także obecność bardzo dużej ilości przestworów powietrznych aerenchymy. Odpowiedź różnych bioindykatorów roślinnych na zanieczyszczenia organiczne zmienia się w zależności od gatunku testowanych roślin [11, 17]. W badaniach opisanych w pracy [18] obserwowano ponad 10-krotną różnicę między wartościami współczynnika inhibicji wzrostu roślin różnych gatunków traw rosnących w glebach zanieczyszczonych substancjami chloroorganicznymi. Według autorów prac [18, 19], wykorzystanie organizmów autochtonicznych jako bioindykatorów powoduje wzrost niezawodności biotestów.

Wpływ oleju silnikowego na zootoksyczność gleby

Substancje olejowe są szczególnie niebezpieczne dla bezkręgowców, gdyż wnikają do ich jam i przewodów, powlekając ich ciała. Węglowodory ropopochodne odkładają się w tkance tłuszczowej, wnikają do krwi, wytrącają się w płynach ustrojowych w postaci kropli, uszkadzają układ nerwowy i układ rozrodczy (najczęściej bogate w tkankę tłuszczową) [20]. W omawianej pracy zaobserwowano negatywne skutki oddziaływania przepracowanego oleju silnikowego na dżdżownicę *Eisenia fetida*. Obserwacje te są zbieżne z wynikami badań opisanych w pracy [21], w których stwierdzono, że zawartość oleju w glebie większa od 1 g/kg uniemożliwiła prawidłowy przyrost biomasy dżdżownic, a powyżej 175 g/kg spowodowała śmierć zwierząt. Podobne wnioski zawarto również w pracy [20], w której badano wpływ przepracowanego oleju na śmiertelność, reprodukcję i unikanie zanieczyszczonego podłoża przez dżdżownicę. W podłożu zanieczyszczonym olejem o zawartości węglowodorów 1 g/kg śmiertelność dżdżownic nie przekraczała 6%, podczas gdy w teście reprodukcji odnotowano przeszło 80% spadek produkcji kokonów i liczby wylęgłego potomstwa. W glebie zanieczyszczonej olejem w ilości 1 g/kg biomasa dżdżownic była o ok. 10% mniejsza, w porównaniu ze zwierzętami rozwijającymi się w próbkach kontrolnych. W teście unikania aż 84% dżdżownic unikało zanieczyszczonego podłoża.

W szczególności węglowodory aromatyczne mogą być odpowiedzialne za toksyczność ostrą gleby (tab. 2). Jak podano w pracach [22–24], toksyczny potencjał węglowodorów wynika z ich zdolności do wiązania się z niepolarnymi składnikami błon biologicznych, co może powodować ich dezintegrację. Mała zawartość węglowodorów w glebie zasobnej w substancje organiczne w niewielkim stopniu wpływa na organizmy grzebiące w glebie, np. dżdżownice, które są zdolne do unikania niedogodnych dla siebie siedlisk glebowych dzięki dużej liczbie chemoreceptorów zlokalizowanych w prostomium.

Zanieczyszczenia zawarte w glebie mogły oddziaływać na organizmy testowe w różny sposób. Przykładowo, związki niepolarne, tj. węglowodory, mogły tworzyć powłokę (warstwę) oblepiającą dżdżownicę i uniemożliwiająca im oddychanie, wskutek czego zwierzęta dusiły się. Bardzo prawdopodobne wydaje się również, że duża toksyczność gleby wobec dżdżownic wynikała z ich bezpośredniego kontaktu z niektórymi zanieczyszczeniami. Teza ta znajduje poparcie w pracach [25, 26], w których wykazano, że spośród zanieczyszczeń wchodzących w skład sztucznej mieszaniny substancji ropopochodnych największą toksycznością charakteryzował się olej napędowy, a w dalszej kolejności – siarczki, amoniak, fenol i chrom.

Wnioski

♦ Zarówno proces samooczyszczania, jak i fitoremediacji przyczynił się do istotnego zmniejszenia toksyczności próbek gleby zanieczyszczonej przepracowanym olejem silnikowym, przy czym próbki gleby poddane fitoremediacji charakteryzowała mniejsza toksyczność, w porównaniu z próbkami poddanymi jedynie samooczyszczaniu.

♦ Testy z wykorzystaniem zwierząt były bardziej czuły niż testy z wykorzystaniem roślin w ocenie toksyczności gleby zanieczyszczonej przepracowanym olejem silnikowym aniżeli testy fitotoksyczności. Jednocześnie korzenie roślin były bardziej wrażliwe na badane zanieczyszczenia aniżeli ich łodygi.

♦ Najbardziej czułym wskaźnikiem toksyczności gleby zanieczyszczonej olejem silnikowym, spośród wykorzystanych w badaniach, okazał się test rozmnażania, w którym w 91. dobie procesu samooczyszczania gleby zanieczyszczonej olejem w ilości 10% wag. zaobserwowano aż 88% inhibicję wylęgu młodych dżdżownic, natomiast w glebie poddanej fitodegradacji inhibicja wynosiła ok. 58% (w porównaniu z próbkami kontrolnymi), podczas gdy w teście toksyczności ostrej (przy takiej samej ilości zanieczyszczeń) nie zaobserwowano skutków toksycznych.

LITERATURA

1. B. KOŁWZAN: Ocena przydatności inokulantów do bioremediacji gleby zanieczyszczonej produktami naftowymi. *Ochrona Środowiska* 2008, vol. 30, nr 4, ss. 3–14.
2. B. KOŁWZAN: Effect of bioremediation on genotoxicity of soil contaminated with diesel oil. *Environment Protection Engineering* 2009, Vol. 35, No. 1, pp. 95–105.
3. B. KOŁWZAN: Usuwanie zanieczyszczeń naftowych z gruntu metodą pryzmowania. *Ochrona Środowiska* 2009, vol. 31, nr 2, ss. 3–10.
4. D.A. SALT, R.D. SMITH, I. RASKIN: Phytoremediation. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 1998, Vol. 49, pp. 643–668.
5. A. KIEPAS-KOKOT, E. FUDALI, B. KARASIEWICZ: Fitorremediacja gleby – nadzieje, możliwości, zastosowania i kontrowersje. *Aura* 2000, nr 8, ss. 4–5.
6. PN-ISO 11268-1, 1997.
7. PN-ISO 11269-1, 1998.
8. PN-ISO 11268-2, 2001.
9. Procedura PB-07: Oznaczenie węglowodorów alifatycznych metodą spektrometrii w podczerwieni. Instytut Ekologii Terenów Przemysłowych, Katowice 1999.
10. Procedura PB-06: Oznaczenie wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej. Instytut Ekologii Terenów Przemysłowych, Katowice 1999.
11. W. WANG: Literature review on higher plants for toxicity testing. *Water, Air and Soil Pollution* 1991, Vol. 59, No. 3–4, pp. 381–400.
12. H. RÓŻAŃSKI: Zaburzenia składu chemicznego roślin leczniczych z gleb zanieczyszczonych ropą naftową i jej pochodnymi. Mat. „I krajowej konferencji PTMS”, Polskie Towarzystwo Medycyny Środowiskowej, Ustroń 1998, ss. 73–75.
13. S. CORGIE, E. JONER, C. LEYVAL: Rhizospheric degradation of phenanthrene is a function of proximity roots. *Plant and Soil* 2003, Vol. 257, pp. 143–150.
14. P. HENNER, M. SCHIAVON, V. DRUELLE, E. LICHTFOUSE: Phytotoxicity of ancient gaswork soils. Effect of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) on plant germination. *Organic Geochemistry* 1999, Vol. 30, pp. 963–969.
15. N. COFIELD, M.K. BANKS, A.P. SCHWAB: Lability of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere. *Chemosphere* 2008, Vol. 70, pp. 1644–1652.
16. J. REZEK, C. WIESCHE, M. MACKOVA, F. ZADRAZIL, T. MACEK: The effect of ryegrass (*Lolium perenne*) on decrease of PAH content in long term contaminated soil. *Chemosphere* 2008, Vol. 70, pp. 1603–1608.
17. S. SICILIANO, J. GERMIDA, J. HEADLEY: Evaluation of prairie grass species as bioindicators of halogenated aromatics in soil. *Environmental Toxicology and Chemistry* 1997, Vol. 16, pp. 521–527.
18. J. CAIRNS: Environmental science and resource management in the 21st century: Scientific perspective. *Environmental Toxicology and Chemistry* 1993, Vol. 12, pp. 1321–1329.
19. P. CHAPMAN: Extrapolating laboratory toxicity results to the field. *Environmental Toxicology and Chemistry* 1995, Vol. 14, pp. 927–930.
20. M. SCHAEFER: Earthworms in crude oil contaminated soils: Toxicity tests and effects on crude oil degradation. *Soil, Sediment and Water* 2001, Vol. 8, pp. 35–37.

21. A. MAŁACHOWSKA-JUTISZ: Wpływ skażenia gleby pracowanym olejem silnikowym na przeżywalność i aktywność dżdżownic *Eisenia fetida*. *Inżynieria i Ochrona Środowiska* 2002, vol. 1, t. 5, ss. 37–44.
22. P. DORN, J. SALANITRO: Temporal ecological assessment of oil contaminated soils before and after bioremediation. *Chemosphere* 2000, Vol. 40, pp. 419–426.
23. J. TANG, H. LISTE, M. ALEXANDER: Chemical assays of availability to earthworms of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil. *Chemosphere* 2002, Vol. 48, No. 1, pp. 35–42.
24. A.D. TOMLIN: The earthworm bait market in North America. In: J. SATCHELL [Ed.]: *Earthworm Ecology*. Chapman and Hall, London 1983, pp. 331–338.
25. H. WAKE: Oil refineries: A review of their ecological impacts on the aquatic environment. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 2005, Vol. 62, pp. 131–140.
26. A.L. BUIKEMA, B.R. NIEDERLEHNER, J. CAIRNS Jr.: The effects of a simulated refinery effluent and its components on the estuarine crustacean, *Mysidopsis bahia*. *Archives of Environmental Contamination Toxicology* 1981, Vol. 10, pp. 231–240.

Małachowska-Jutisz, A., Janosz, W., Rudek, J. Toxicity of Engine Oil Contaminated Soil Made Subject to Natural Attenuation and Phytoremediation. *Ochrona Środowiska* 2012, Vol. 34, No. 1, pp. 15–20.

Abstract: Soil samples contaminated with spent engine oil were tested for toxicity during natural attenuation and phytodegradation processes involving earthworms (*Eisenia fetida*) and white clover (*Trifolium repens*) as test organisms. Although the toxicity of the soil towards the test organisms was found to decrease with the progress of either process,

the soil samples treated in the natural attenuation process were characterized by higher toxicity levels. The test animals were more responsive to the xenobiotic introduced into the soil than the test plants. The roots of the plants showed a more sensitive reaction to the presence of the contaminant than did their stalks. According to the Reproduction Test, the number of hatched juvenile earthworms is the most sensitive toxicity index.

Keywords: Spent engine oil, toxicity, bioremediation, earthworm, plants.