

## Wpływ zanieczyszczenia gleby substancjami ropopochodnymi na występowanie ślimaków

<sup>1</sup>Janina Gospodarek, <sup>2</sup>Henryk Kołoczek

<sup>1</sup>Katedra Ochrony Środowiska Rolniczego – Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Al. Mickiewicza 21, 31-120 Kraków, Polska

<sup>2</sup>Katedra Biochemii – Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Al. 29 Listopada 54, 31-425 Kraków, Polska

**Abstrakt.** Wpływ substancji ropopochodnych na bezkręgowce naziemne należy do zagadnień mało poznanych, chociaż, jak wskazują wyniki badań na bezkręgowcach morskich, w tym ślimakach, mogą one być doskonałymi wskaźnikami tego rodzaju zanieczyszczeń. Celem pracy było określenie oddziaływania wybranych substancji ropopochodnych w trakcie procesu bioremediacji gleby nimi zanieczyszczonej na występowanie ślimaków (Gastropoda).

Doświadczenie przeprowadzono w warunkach gleby sztucznie zanieczyszczonej: benzyną, olejem napędowym i użytym olejem silnikowym, w ilości odpowiadającej 6 000 mg substancji ropopochodnej/kg s.m. gleby, w 2 seriach: z zastosowaniem bioremediacji oraz bez wykonywania tego zabiegu. W okresie od czerwca do października 2010 r. oraz od maja do października 2011 r. prowadzono odłowy ślimaków z wykorzystaniem pułapek Barbera. Zanieczyszczenie gleby substancjami ropopochodnymi przyczyniło się do drastycznego ograniczenia liczby odławianych ślimaków. W okresie od 11 do 16 miesięcy po skażeniu nadal notowano negatywny wpływ skażenia gleby olejem silnikowym i napędowym na populację ślimaków. Korzystny wpływ bioremediacji w przypadku gleby skażonej benzyną, przejawiający się zwiększeniem liczby odławianych ślimaków, odnotowano już w trakcie pierwszego sezonu badawczego (0–5 miesięcy). W drugim sezonie badawczym korzystny wpływ bioremediacji stwierdzono także w odniesieniu do gleby skażonej olejem napędowym.

**słowa kluczowe:** ropopochodne, gleba, bioremediacja, Gastropoda

### WSTĘP

Skutki wycieku węglowodorów naftowych do gruntu wobec bezkręgowców należą do zagadnień mało poznanych. Stosowanie bioremediacji gleb zanieczyszczonych

pozwała znacznie skrócić czas rekultywacji obszaru zanieczyszczonego, ale może także wpływać na bezkręgowce. Wśród bezkręgowców ślimaki stanowią ważną grupę szkodników wielu roślin uprawnych. Informacje związane z oddziaływaniem skażenia środowiska substancjami ropopochodnymi na tę grupę bezkręgowców dotyczą głównie wycieków tych substancji do wód morskich (Millemann i in., 1984; Lee i in., 2002; Stark i in., 2003). Autorzy badań podkreślają przydatność ślimaków jako wskaźników oddziaływania substancji ropopochodnych na środowisko, jak również procesu ich bioremediacji. Wykorzystuje się przy tym zarówno informacje dotyczące zmian w liczebności ich populacji, jak również różne wskaźniki biochemiczne. Wśród makrofauny bezkręgowców narażonej na oddziaływanie zanieczyszczenia wód morskich surową ropą naftową w efekcie awarii tankowca ślimak *Austrocochlea porcata* (A. Adams) okazał się gatunkiem najbardziej wrażliwym. Jego populacja wkrótce po wycieku zanieczyszczeń gwałtownie się obniżyła (MacFarlane, Burchett, 2003). Wybrane parametry biochemiczne u tego gatunku uznano za potencjalne biomarkery skażenia wód surową ropą naftową (Reid, MacFarlane, 2003). Podobnie, parametry określające metabolizm antyoksydacyjny (np. aktywność enzymatyczna katalazy, dysmutazy ponadtlenkowej, peroksydazy glutationowej, reduktazy glutationowej i s-transferazy glutationowej) u małży *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck) związane były z zawartością wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w komórkach ciała przedstawicieli tego gatunku (Lima i in., 2007). Populacja małży (*Rhizophora mangle* L.) zamieszkujących namorzyny uległa drastycznemu obniżeniu w wyniku wycieku 50 000 baryłek ropy naftowej i nie odbudowała się po upływie roku od momentu zanieczyszczenia (Garrity, Levings, 1993). Populacja makrofauny bezkręgowców, m.in. ślimaków, w wodach słodkich narażonych na zrzut substancji ropopochodnych uległa redukcji do 0,1% oczekiwanej liczebności w ciągu 25 dni od momentu zanieczyszczenia. Obecności niektórych przedstawicieli tych

Autor do kontaktu:

Janina Gospodarek  
e-mail: rrjgospo@cyf-kr.edu.pl  
tel. +48 12 662 44 00

Praca wpłynęła do redakcji 13 lipca 2011 r.

bezkęgowców nie notowano jeszcze przez okres nawet 9 miesięcy (Crunkilton, Duchrow, 1990).

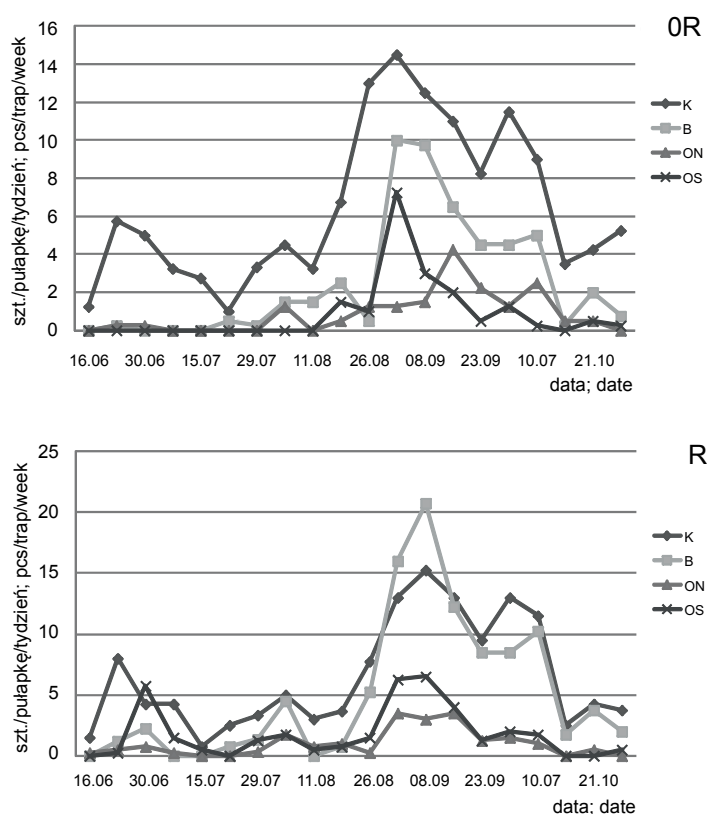
Celem pracy było zbadanie wpływu skażenia gleby substancjami ropopochodnymi (benzyną, olejem napędowym i zużyтым olejem silnikowym) w trakcie procesu ich bioremediacji na dynamikę występowania ślimaków (*Gastropoda*).

## MATERIAŁY I METODY

Badania przeprowadzono na terenie należącym do Stacji Doświadczalnej Uniwersytetu Rolniczego w Mydlnikach k. Krakowa, na obszarze nieużytkowanym rolniczo, porośniętym roślinnością trawiastą. Doświadczenie założono jesienią 2009 roku w 4 powtórzeniach. Gleba rodzima została umieszczona w kontenerach o pojemności 1 m<sup>3</sup> (1 m x 1 m x 1 m), wkopanych równo z otaczającą glebą, tak, aby ich brzeg nie stanowił żadnej przeszkody dla fauny naziemnej. Kontenery były zaopatrzone w specjalny system do odpompowywania odcieku. Przez okres zimy 2009 i wiosny 2010 gleba w kontenerach została pozostawiona bez ingerencji, dla powrotu do naturalnej gęstości i sprawności biologicznej. W czerwcu 2010 r. dokonano sztucznego zanieczyszczenia gleby w kontenerach, poprzez wylanie następujących substancji ropopochodnych: benzyny, oleju napędowego i zużytego oleju silnikowego w ilości odpowiadającej 6 000 mg substancji ropopochodnej/kg s.m. gleby. Po upływie 1 tygodnia połowę kontenerów poddano bioremediacji z wykorzystaniem biopreparatu, specjalnie do tego celu przygotowanego. W jego skład wchodziły wyselekcjonowane mikroorganizmy prokariotyczne, głównie bakterie z rodzajów: *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Alcaligenes*, *Oligella*, *Methylobacterium*, *Stenotrophomonas*, *Morganella*, *Bacillus*, *Corynebacterium*. Każda seria badawcza obejmowała następujące obiekty: kontrola – gleba niezanieczyszczona (K); gleba sztucznie zanieczyszczona benzyną (B); gleba sztucznie zanieczyszczona olejem napędowym (ON); gleba sztucznie zanieczyszczona zużyтым olejem silnikowym (OS). W okresie od czerwca do października 2010 roku oraz od maja do października 2011 roku prowadzono odłowy fauny naziemnej, w tym ślimaków, z wykorzystaniem pułapek Barbera umieszczonych w centralnej części każdego z kontenerów. Pułapki opróżniano raz w tygodniu. Opracowanie statystyczne wyników wykonano przy użyciu programu komputerowego Statistica 9.0 PL. Średnie różnicowano przy pomocy testu NIR Fishera na poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ .

## WYNIKI

Bezpośrednio po wylaniu substancji ropopochodnych do gleby można było zaobserwować drastyczne ograniczenie występowania ślimaków we wszystkich obiektach (rys. 1). Przez około 2 miesiące przedstawiciele tych bezkręgowców odławiano prawie wyłącznie w warunkach gleby niezanieczyszczonej. Do końca października 2010 roku *Gastropoda* także wyraźnie liczniej odławiano w kontroli niż w obiektach z glebą zanieczyszczoną. Najwcześniej od momentu skażenia i najliczniej zaczęto odławiać ślimaki w warunkach gleby skażonej benzyną. Zastosowana bioremediacja gleby skażonej tą substancją sprawiła, że w okresie szczytu liczebności ślimaków odławiano ich w tym obiekcie nawet o około ¼ więcej niż w obiekcie kontrolnym. Natomiast w obiektach z glebą skażoną przezpracowanym olejem silnikowym oraz olejem napędowym przez cały sezon badawczy 2010 odławiano nawet kilkakrotnie mniej przedstawicieli *Gastropoda*. Analiza statystyczna przepro-



OS – gleba skażona zużyтым olejem silnikowym; soil contaminated with used engine oil

ON – gleba skażona olejem napędowym; soil contaminated with diesel fuel

B – gleba skażona benzyną; soil contaminated with petrol

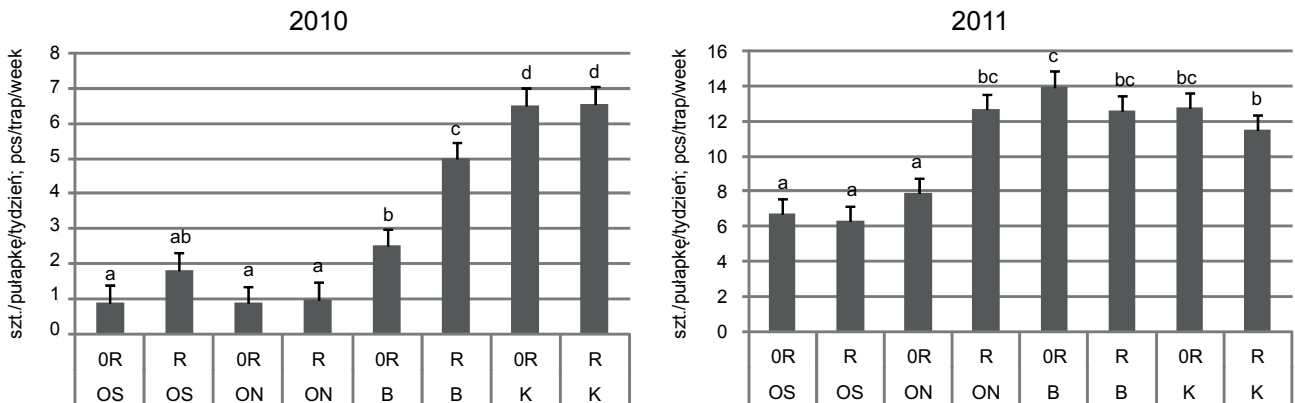
K – gleba niezanieczyszczona; unpolluted soil

OR – seria bez bioremediacji; series without bioremediation

R – seria z bioremediacją; series with bioremediation

Rys. 1. Dynamika liczebności *Gastropoda* w 2010 roku

Fig. 1. Dynamics of *Gastropoda* occurrence in 2010.

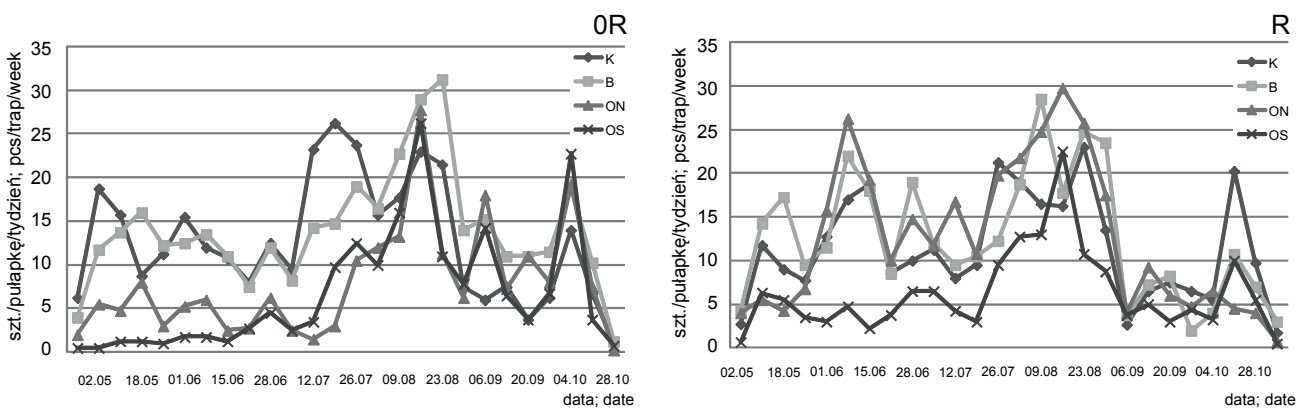


Objaśnienia – patrz rys. 1; Explanation – see Fig. 1.

Średnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie wg testu NIR przy  $\alpha=0,05$ ; Means marked with the same letters do not differ significantly according to LSD test at  $\alpha=0.05$

┌ średnia + błąd standardowy; mean + standard error

Rys. 3. Występowanie Gastropoda średnio w okresach badawczych 2010 i 2011 (czynniki: zanieczyszczenie x bioremediacja)  
Fig. 3. Occurrence of Gastropoda averaged over the investigated periods (factors: contamination x bioremediation).



Objaśnienia – patrz rys. 1; Explanation – see Fig. 1.

Rys. 2. Dynamika liczebności Gastropoda w 2011 roku  
Fig. 2. Dynamics of Gastropoda occurrence in 2011.

wadzona na danych z całego sezonu badawczego 2010 wykazała istotne obniżenie liczebności odławianych ślimaków we wszystkich obiektach z glebą skażoną substancjami ropopochodnymi w porównaniu do kontroli (rys. 2). Najmniej negatywnie oddziaływało skażenie gleby benzyną. Średnio w sezonie 2010 r. odławiano ponad dwukrotnie mniej ślimaków w obiekcie z glebą zanieczyszczoną benzyną niż w kontroli, podczas gdy w obiektach z glebą skażoną olejem napędowym i silnikowym ponad 7-krotnie mniej.

Korzystny wpływ bioremediacji w pierwszym sezonie badawczym (0–5 miesięcy od momentu skażenia) odno-

towano wobec zanieczyszczenia gleby benzyną. Liczba odławianych ślimaków w glebie skażonej benzyną i poddanej bioremediacji wzrosła 2-krotnie w porównaniu do obiektu bez stosowania bioremediacji (rys. 2).

W drugim sezonie badawczym licząc od momentu zanieczyszczenia gleby wykazano już podobną liczebność ślimaków w warunkach gleby kontrolnej i skażonej benzyną (rys. 3). Natomiast przez okres od początku maja do połowy sierpnia 2011 r. nadal wyraźnie niższa niż w obiektach kontrolnych była liczba odławianych ślimaków w warunkach gleby skażonej olejem silnikowym oraz olejem napędowym. W serii poddanej bioremediacji liczebność

Gastropoda w warunkach gleby skażonej benzyną lub olejem napędowym prawie przez cały okres badawczy 2011 kształtowała się podobnie jak w kontroli. Wyraźnie niższa była natomiast liczba odławianych ślimaków w warunkach gleby skażonej olejem silnikowym. Znalazło to potwierdzenie w wyliczonej średniej liczbie odłowionych Gastropoda w poszczególnych obiektach w 2011 roku (rys. 2). W ciągu tego sezonu badawczego (11–16 miesięcy licząc od momentu zanieczyszczenia) nadal utrzymywało się negatywne oddziaływanie skażenia gleby olejem silnikowym, ale różnica w stosunku do kontroli była już tylko około 2-krotna. Nadal widoczne było także negatywne oddziaływanie oleju napędowego, ale w tym przypadku ślimaków odławiano już tylko o około 1/3 mniej niż w kontroli. W ciągu sezonu 2011 uwidocznił się korzystny wpływ bioremediacji w obiekcie z glebą skażoną olejem napędowym. Liczebność odławianych ślimaków kształtowała się tutaj już podobnie jak w przypadku gleby niezanieczyszczonej.

## DYSKUSJA

W przeprowadzonych badaniach benzyna wykazywała najslabszy wpływ na występowanie ślimaków. Podobne rezultaty odnotowano także we wcześniejszych badaniach autora, prowadzonych w warunkach polowych (Jaworska, Gospodarek, 2007), z około 3-krotnie niższą dawką substancji ropopochodnych. Jednak w badaniach laboratoryjnych nad przeżywalnością przedstawicieli ślimaków z rodziny Arionidae w warunkach gleb skażonych wymionymi ropopochodnymi w różnych dawkach, benzyna okazała się najbardziej toksyczna. Różnice wynikały zapewne z warunków doświadczenia, które było prowadzone w pojemnikach i badane zwierzęta nie miały możliwości ucieczki (Gospodarek, 2011). Benzyna, w porównaniu do olejów (napędowego i silnikowego) charakteryzuje się większą zawartością związków lotnych, które mogą wykazywać silnie toksyczne działanie na zwierzęta znajdujące się w bezpośrednim kontakcie z nimi, podczas gdy na otwartej przestrzeni te same związki szybko się ulatniają. Wrażliwość ślimaków na zanieczyszczenie gleby substancjami ropopochodnymi jest uzależniona także od ich sposobu odżywiania. W badaniach nad wykorzystaniem 2 gatunków ślimaków jako biowskaźników przebiegu procesu bioremediacji gleby zanieczyszczonej ropopochodnymi Lee i in. (2002) wykazali, że gatunek będący detrytusozercą (*Viviparus georgianus*, Lea) był bardziej narażony na oddziaływanie zanieczyszczeń niż gatunek roślinożerny (*Pseudosuccinea columella*, Say). Z kolei w badaniach prowadzonych nad oddziaływaniem zanieczyszczeń substancjami ropopochodnymi brzegów strumieni na występowanie bezkręgowców, przedstawicieli Mollusca znajdowano w próbach gleby wyłącznie z brzegów strumienia nie narażonego na oddziaływanie tych zanieczyszczeń (Couceiro i in., 2007).

Proces bioremediacji może różnie oddziaływać na faunę naziemną i glebową. Zastosowana bioremediacja gleby zanieczyszczonej benzyną przyczyniła się do ograniczenia występowania kosarzy, szczególnie w ciągu pierwszego miesiąca po jej przeprowadzeniu, natomiast odnotowano korzystny wpływ tego zabiegu na obecność roztoczy naziemnych w trzecim miesiącu po skażeniu gleby (Gospodarek i in., 2012). Obserwowane różnice w liczbie odławianych ślimaków w warunkach obiektów poddanych bioremediacji mogły być efektem powstawania różnych profili intermediatów w trakcie procesu bioremediacji, zależnie od rodzaju substancji ropopochodnej. Znaczenie mógł mieć również wpływ procesu bioremediacji na pojawianie się roślinności na glebie zanieczyszczonej. Ślimaki preferują miejsca wilgotne i zacienione, poza tym wśród odławianych Gastropoda dominowali przedstawiciele rodzin Arionidae i Helicidae, które odżywiają się głównie pokarmem roślinnym. Z rodziny Helicidae do najczęściej odławianych należały *Helix pomatia* L. oraz *Cepea nemoralis* L. Korzystny wpływ bioremediacji na rozwój roślinności najpierw odnotowano na glebie zanieczyszczonej benzyną, a następnie na glebie skażonej olejem napędowym, co zgadza się z kolejnością pojawiania się ślimaków w wymienionych obiektach. Natomiast gleba zanieczyszczonej olejem napędowym bądź silnikowym i nie poddana procesowi bioremediacji, także w ciągu drugiego okresu badawczego (2011) nadal nie była porośnięta roślinnością i tam liczebność odławianych Gastropoda była najniższa.

## WNIOSKI

1. Zanieczyszczenie gleby każdą z badanych substancji ropopochodnych przyczyniło się do drastycznego ograniczenia liczebności odławianych ślimaków w ciągu pierwszych 5 miesięcy od momentu skażenia. W okresie od 11 do 16 miesięcy po skażeniu nadal notowano negatywny wpływ oleju silnikowego i napędowego na populację ślimaków.
2. Negatywny wpływ skażenia na ślimaki najkrócej utrzymywał się w przypadku benzyny. W trakcie odłowów prowadzonych w drugim okresie badawczym (11–16 miesięcy od momentu zanieczyszczenia) liczba odławianych ślimaków była podobna jak w warunkach gleby niezanieczyszczonej.
3. Korzystny wpływ bioremediacji w przypadku gleby skażonej benzyną, przejawiający się zwiększeniem liczby odławianych ślimaków, odnotowano już w trakcie pierwszego sezonu badawczego (0–5 miesięcy od skażenia). W drugim sezonie badawczym korzystny wpływ bioremediacji stwierdzono w odniesieniu do gleby skażonej olejem napędowym.
4. Uzyskane wyniki sugerują możliwość wykorzystania przedstawicieli Gastropoda jako biowskaźników, zarówno w odniesieniu do zanieczyszczenia gleby substancjami ropopochodnymi, jak i do przebiegu procesu bioremediacji gleby zanieczyszczonej.

## PIŚMIENNICTWO

- Couceiro S.R.M., Hamada N., Ferreira R.L.M., Forsberg B.R. and da Silva J.O., 2007.** Domestic Sewage and Oil Spills in Streams: Effects on Edaphic Invertebrates in Flooded Forest, Manaus, Amazonas, Brazil. *Water Air Soil Pollut.*, 180 (1-4): 249-259.
- Crunkilton R.L., Duchrow R.M., 1990.** Impact of a massive crude oil spill on the invertebrate fauna of a Missouri Ozark stream. *Environ. Pollut.*, 63(1): 13-31.
- Garrity S.D., Levings S.C., 1993.** Effects of an oil spill on some organisms living on mangrove (*Rhizophora mangle* L.) roots in low wave-energy habitats in Caribbean Panama. *Marine Environ. Res.*, 35(3): 251-271.
- Gospodarek J., 2011.** Effect of soil contamination with petrol, diesel oil and engine oil on survival rate of *Arionidae* representatives under laboratory conditions. *Proc. Ecopole*, 5(1): 47-50.
- Gospodarek J., Kołoczek H., Petryszak P., 2012.** Dynamics of *Opiliones* and *Acarina* occurrence in soil contaminated with oil derivatives during bioremediation process. *Proc. Ecopole*, 6(1): 143-149. DOI: 10.2429/proc.2012.6(1)019.
- Jaworska M., Gospodarek J., 2007.** Effect of oil derivatives in soil on selected invertebrates. *Ecol. Chem. Engin.*, 14(11): 1181-1187.
- Lee L.E.J., Stassen J., McDonald A., Culshaw C., Venosa A.D. and Lee K., 2002.** Snails as Biomonitors of Oil-Spill and Bioremediation Strategies. *Bioremed. J.*, 6(4): 373-386.
- Lima I., Moreira S.M., Von Osten J.R., Soares A.M.V.M., Guilhermino L., 2007.** Biochemical responses of the marine mussel *Mytilus galloprovincialis* to petrochemical environmental contamination along the North-western coast of Portugal. *Chemosphere*, 66: 1230-1242.
- MacFarlane, G. R., Burchett, M. D., 2003.** Assessing effects of petroleum oil on intertidal invertebrate communities in Sydney Harbour: preparedness pays off. *Aust. J. Ecotoxicol.*, 9(1): 29-38.
- Millemann R.E., Tumminia S.J., Forte J.L., Daniels K.L. 1984.** Comparative toxicities of coal- and shale-derived crude oils and a petroleum-derived fuel oil to the freshwater snails *Helisoma trivolvis* and *Physa gyrina*. *Environ. Pollut. Ser. A, Ecol. Biol.*, 33(1): 23-38.
- Reid D.J., MacFarlane G.R., 2003.** Potential biomarkers of crude oil exposure in the gastropod mollusc, *Austrocochlea porcata*: laboratory and manipulative field studies. *Environ. Pollut.*, 126: 147-155.
- Stark J.S., Snape I., and Riddle M. J., 2003.** The effects of petroleum hydrocarbon and heavy metal contamination of marine sediments on recruitment of Antarctic soft-sediment assemblages: a field experimental investigation. *J. Exp. Marine Biol. Ecol.*, 283(1-2): 21-50.

*J. Gospodarek, H. Kołoczek*

GASTROPODA OCCURRENCE IN SOILS  
CONTAMINATED WITH OIL DERIVATIVES

Summary

The work aimed at examining the effect of soil contamination with oil derivatives (petrol, diesel oil and used engine oil) during the process of their bioremediation on Gastropoda occurrence.

Soil pollution with all oil derivatives contributed to a drastically limited presence of Gastropoda representatives among the caught epigeal fauna during the first five months from the contamination moment. During the period between 11 and 16 months after contamination a negative effect of soil contamination with engine and diesel oil was still registered. Among the analyzed substances, petrol had the least toxic effect – during the trapping conducted in the second period of investigations (11–16 months) the number of trapped gastropods was similar as under conditions of unpolluted soil. A favourable effect of bioremediation of petrol-polluted soil, visible as increase in the number of trapped gastropods, was registered already during the first season of the research (0–5 months). In the second research season a beneficial effect of bioremediation was found for soil contaminated with diesel oil.

**key words:** oil derivatives, soil, bioremediation, Gastropoda