

Michał Stręk, Arkadiusz Telesiński

Zmiana aktywności wybranych enzymów oksydoredukcyjnych wytwarzanych przez mikroorganizmy w glebie lekko zanieczyszczonej benzyną w obecności jonów selenu

Eksploracja złóż ropy naftowej, a zwłaszcza awarie podczas jej wydobycia, magazynowania, transportu i przetworu, to główne przyczyny zanieczyszczenia środowiska produktami naftowymi. Ich szkodliwe działanie wynika głównie z oleistej konsystencji – warstwa węglowodorów na powierzchni gleby utrudnia dostęp tlenu do niżej położonych warstw gruntu. Natlenienie gleby jest ważnym czynnikiem wpływającym na występowanie w danym środowisku określonej populacji drobnoustrojów, w tym mikroorganizmów biorących udział w rozkładzie węglowodorów naftowych [1]. Drobnoustroje tlenowe wykorzystują tlen cząsteczkowy, jako akceptor elektronów i wodoru odebranego od substratu. Źródłem tlenu w procesach oddychowych może być powietrze atmosferyczne dostające się do gruntu w sposób bierny lub wymuszony [2]. W procesie biodegradacji węglowodorów w środowisku gruntowo-wodnym bierze udział wiele grup mikroorganizmów, od wybitnie tlenowych do bezwzględnych beztlenowców. Biodegradacja większości węglowodorów przebiega jednak szybciej w warunkach tlenowych i jest bardziej kompletna [3].

Do reakcji zachodzących podczas asymilacji i rozkładu węglowodorów przez drobnoustroje należą: acylowanie, alkilowanie, dealkilowanie, dehalogenacja, hydroliza estrów lub amidów, utlenianie, redukcja, hydroksylacja pierścienia aromatycznego, kondensacja oraz tworzenie koniugatów. Działanie drobnoustrojów ujawnia się przede wszystkim utlenieniem cząsteczki węglowodoru, rozerwaniem wiązań C–C, atakiem na grupy funkcyjne zawierające np. metal lub siarkę oraz biokrakingiem węglowodorów cięższych [4]. Reakcje te katalizowane są w większości przez enzymy z klasy oksydoreduktaz [5]. W wielu pracach wykazano jednak inhibujące działanie węglowodorów naftowych na aktywność enzymów oksydoredukcyjnych [6–8]. Mikrobiologiczne oksydoreduktazy biorą udział w humifikacji substancji fenolowych, powstających w środowisku glebowym podczas rozkładu lignin. Mogą one również uczestniczyć w detoksykacji ksenobiotyków organicznych, poprzez reakcje polimeryzacji i kopolimeryzacji produktów ich rozkładu do substancji humusowych [9].

Wielu autorów wskazuje na stymulujące działanie związków selenu na aktywność oksydoreduktaz w organizmach roślinnych i zwierzęcych [10–12]. Zaczynają pojawiać się również doniesienia o stymulującym wpływie jonów selenu na aktywność enzymów produkowanych przez mikroorganizmy glebowe, np. katalazy i peroksydazy [13] oraz dehydrogenaz [14]. Dlatego też celem podjętych badań była ocena zmian aktywności enzymów oksydoredukcyjnych – dehydrogenaz (EC 1.1.1.x), peroksydaz (EC 1.1.3.x), katalazy (EC 1.11.1.6) i oksydazy o-difenolowej (EC 1.10.3.1) – w glebie zanieczyszczonej benzyną po wprowadzeniu do niej związków selenu na +IV i +VI stopniu utlenienia.

Materiał i metody badań

Badania przeprowadzono w warunkach laboratoryjnych z użyciem gleby pobranej z poziomu ornopróchnicznego (0÷30 cm) ziem rdzawych typowych na terenie Rolniczej Stacji Doświadczalnej w Lipniku (woj. zachodniopomorskie). Gleba ta charakteryzuje się składem granulometrycznym piasku gliniastego oraz zawartością węgla organicznego 8,7 gC/kg. Do części ziemistych pobranego materiału glebowego wprowadzono w różnych kombinacjach benzynę bezołowiową (Statoil) oraz selen w postaci H_2SeO_3 i H_2SeO_4 (Fluka). Dawki wprowadzonych substancji podano w tabeli 1.

Tabela 1. Dawki benzyny i związków selenu wprowadzone do gleby
Table 1. Gasoline and selenium amounts added to soil

Benzyna % wag.	Se(IV)		Se(VI)	
	Se mmol/kg	H_2SeO_3 mg/kg	Se mmol/kg	H_2SeO_4 mg/kg
0,2	0,05	6,45	0,05	7,25
1				
5				

Następnie doprowadzono wilgotność gleby do 60% maksymalnej pojemności wodnej. Glebę dokładnie wymieszano i przechowywano w szczelnie zamkniętych szklanych reaktorach w temperaturze 20°C. We wszystkich kombinacjach w trzech powtórzeniach badano aktywność dehydrogenaz [15], oksydazy o-difenolowej [16], peroksydaz [17]

Tabela 2. Zmiana aktywności enzymów oksydoredukcyjnych w glebie w obecności benzyny i jonów selenu
Table 2. Change in oxidoreductive enzyme activities in soil in presence of gasoline and selenium

Próbka	1. doba	7. doba	14. doba	28. doba	56. doba	112. doba
dehydrogenazy, mgTPF/(kg·16 h)						
Próbka kontrolna	5,77 bc	6,05 c	47,14 b	15,74 b	22,78 bc	48,51 b
Benzyna 0,2%	13,26 a	14,77 a	55,45 ab	18,14 b	34,15 a	47,62 b
Benzyna 1%	6,80 bc	0,96 d	5,15 cde	4,87 cd	0,82 e	0,82 c
Benzyna 5%	5,29 bc	0,48 d	0,62 de	0,48 d	0,01 e	0,08 c
Se(IV)	7,83 b	12,06 ab	57,58 a	34,29 a	34,22 a	62,05 b
Benzyna 0,2% + Se(IV)	13,47 a	11,13 b	47,83 b	32,02 a	30,44 ab	90,43 a
Beznyna 1% + Se(IV)	5,60 bc	5,63 c	5,84 cde	2,27 d	2,70 e	47,83 b
Beznyna 5% + Se(IV)	5,70 bc	0,13 d	0,62 de	0,25 d	0,14 e	0,35 c
Se(VI)	5,43 bc	3,16 cd	10,17 c	5,63 cd	7,08 de	105,07 a
Benzyna 0,2% + Se(VI)	8,80 ab	5,15 c	6,21 cd	13,53 bc	15,53 cd	94,01 a
Benzyna 1% + Se(VI)	2,47 c	0,76 d	1,10 de	2,33 d	0,48 e	1,92 c
Benzyna 5% + Se(VI)	5,70 bc	0,20 d	0,14 e	0,62 d	0,41 e	0,34 c
oksydaza o-difenolowa, mmol utlenionego katecholu/(kg·10 min)						
Próbka kontrolna	7,75 b	7,93 a	6,28 ab	3,38 a	6,05 b	3,84 ab
Benzyna 0,2%	8,05 ab	8,11 a	6,13 b	3,48 a	6,30 ab	4,08 ab
Benzyna 1%	8,53 ab	7,66 a	6,12 b	3,36 a	6,55 ab	2,21 c
Benzyna 5%	6,23 c	7,57 a	6,07 b	3,16 a	5,95 b	3,61 ab
Se(IV)	8,19 ab	8,31 a	6,85 ab	3,24 a	6,95 ab	4,42 a
Benzyna 0,2% + Se(IV)	8,14 ab	8,47 a	6,82 ab	3,19 a	7,44 ab	4,28 a
Benzyna 1% + Se(IV)	8,42 ab	8,78 a	7,23 ab	3,24 a	7,16 ab	3,73 a
Benzyna 5% + Se(IV)	8,90 a	8,25 a	7,42 ab	2,99 a	5,61 b	3,34 b
Se(VI)	7,85 b	8,68 a	8,10 a	3,24 a	7,32 ab	4,00 ab
Benzyna 0,2% + Se(VI)	8,58 ab	8,66 a	7,70 ab	3,58 a	6,74 ab	3,70 ab
Benzyna 1% + Se(VI)	8,92 a	7,97 a	7,20 ab	3,37 a	8,05 a	3,64 ab
Benzyna 5% + Se(VI)	8,93 a	7,63 a	6,76 ab	3,32 a	5,64 b	3,21 b
katalaza, mmol H ₂ O ₂ /(kg·min)						
Próbka kontrolna	2,65 ab	1,78 ab	2,18 ab	3,19 ab	2,99 a	2,75 a
Benzyna 0,2%	2,40 ab	2,13 a	2,22 ab	2,81 bc	2,73 ab	1,78 ab
Benzyna 1%	2,31 ab	1,79 ab	2,26 ab	2,98 b	2,52 abc	1,86 ab
Benzyna 5%	1,69 b	1,73 ab	1,95 b	1,74 d	1,64 cd	0,98 b
Se(IV)	2,84 ab	1,77 ab	3,15 a	4,00 a	3,32 a	2,05 ab
Benzyna 0,2% + Se(IV)	3,37 a	1,78 ab	2,04 b	2,63 bcd	1,76 bcd	2,62 a
Benzyna 1% + Se(IV)	2,31 ab	1,76 ab	1,96 b	2,72 bcd	2,98 a	2,00 ab
Benzyna 5% + Se(IV)	1,91 b	1,15 b	1,55 b	1,87 cd	1,22 d	1,73 ab
Se(VI)	2,75 ab	1,60 ab	2,44 ab	2,73 bcd	3,07 a	2,05 ab
Benzyna 0,2% + Se(VI)	2,66 ab	1,86 ab	2,17 ab	3,36 ab	3,08 a	2,04 ab
Benzyna 1% + Se(VI)	2,64 ab	1,33 b	1,95 b	3,99 a	1,81 bcd	2,03 ab
Benzyna 5% + Se(VI)	2,49 ab	1,24 b	1,73 b	1,91 cd	1,72 bcd	1,38 b
peroksydazy, mg purpurogaliny/(kg·30 min)						
Próbka kontrolna	0,34 e	0,38 e	0,40 de	0,37 f	0,47 de	0,42 de
Benzyna 0,2%	0,48 cd	0,56 ab	0,41 de	0,61 c	0,55 c	0,35 e
Benzyna 1%	0,45 cde	0,54 abc	0,58 a	0,83 a	0,72 ab	0,71 a
Benzyna 5%	0,44 de	0,40 de	0,47 cd	0,61 c	0,59 c	0,55 b
Se(IV)	0,44 de	0,41 de	0,37 e	0,47 de	0,46 e	0,47 cd
Benzyna 0,2% + Se(IV)	0,51 cd	0,49 bcd	0,46 cd	0,51 d	0,55 c	0,45 d
Benzyna 1% + Se(IV)	0,47 cde	0,55 abc	0,50 ab	0,61 c	0,75 a	0,35 e
Benzyna 5% + Se(IV)	0,49 cd	0,53 abc	0,44 cde	0,44 def	0,67 b	0,48 bcd
Se(VI)	0,57 abc	0,47 cde	0,52 abc	0,40 ef	0,58 c	0,71 a
Benzyna 0,2% + Se(VI)	0,55 bcd	0,55 abc	0,25 f	0,45 def	0,53 cd	0,47 cd
Benzyna 1% + Se(VI)	0,66 ab	0,58 a	0,54 ab	0,72 b	0,75 a	0,76 a
Benzyna 5% + Se(VI)	0,68 a	0,62 a	0,44 cde	0,62 c	0,71 ab	0,55 b

Wartości w obrębie kolumn dotyczące danego enzymu, oznaczone tymi samymi literami, tworzą grupy jednorodne wyznaczone testem post-hoc Tukey HSD

oraz katalazy [18] w 1., 7., 14., 28., 56. i 112. dobie eksperymentu. Substratami do oznaczania aktywności dehydrogenaz był chlorek 2,3,5-trifenyloctetrazolu (TTC) (Fluka), katalazy – nadtlenek wodoru (POCH SA), oksydazy o-difenolowej – katechol i prolina (Fluka), peroksydazy – pirogalol (Sigma). Do sporządzania roztworów wykorzystano wodę zdejonizowaną (demineralizator HLP Smart 2000, Hydrolab) o średniej przewodności właściwej 0,15 $\mu\text{S}/\text{cm}$ i napięciu powierzchniowym 72,3 mN/m w temperaturze 25°C. W oznaczeniach spektrofotometrycznych zastosowano spektrofotometr UV-1800 (Shimadzu).

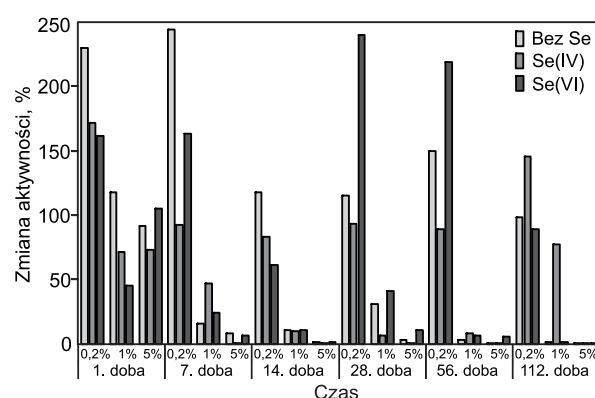
Dyskusja wyników

Wprowadzenie selenu(IV) do gleby niezanieczyszczonej benzyną spowodowało przez większość czasu trwania doświadczenia istotną stymulację aktywności dehydrogenaz w 7., 14., 28. i 56. dobie doświadczenia, podczas gdy dodanie selenu(VI) istotnie zmniejszyło aktywność tej grupy enzymów w 14., 28. i 56. dobie doświadczenia, przy czym w 112. dobie stwierdzono istotną aktywację dehydrogenaz o ponad 100%. Aktywność peroksydaz w 1., 14., 56. i 112. dobie doświadczenia uległa natomiast istotnemu zwiększeniu w glebie z dodatkiem Se(VI) w porównaniu do gleby kontrolnej. W przypadku katalazy i oksydazy o-difenolowej nie odnotowano istotnych zmian ich aktywności po wprowadzeniu selenu na obu stopniach utlenienia (tab. 2).

W celu określenia zmian aktywności badanych enzymów po wprowadzeniu do gleby związków selenu, wartości rzeczywiste przedstawiono w procentach, przyjmując 100% w przypadku gleby bez dodatku benzyny. W odpowiednich kombinacjach punktem odniesienia była gleba kontrolna, gleba z dodatkiem Se(IV) i gleba z dodatkiem Se(VI). Pozwoliło to ocenić tendencję zmian aktywności oksydoreduktaz pod wpływem benzyny w zależności od obecności związków selenu w glebie.

Wprowadzenie benzyny w ilości 0,2% do gleby niezawierającej selenu spowodowało w dwóch pierwszych terminach pomiarów oraz w 56. dobie doświadczenia istotną stymulację aktywności dehydrogenaz. Obecność benzyny w ilości 0,2% w glebie z dodatkiem Se(IV) również spowodowała stymulację aktywności tej grupy enzymów, jednak była ona zdecydowanie mniejsza w porównaniu do gleby bez jonów selenu. Większa ilość benzyny (1% i 5%) hamowała aktywność dehydrogenaz (jedynie po wprowadzeniu 1% benzyny w pierwszej dobie doświadczenia stwierdzono około 22% stymulację aktywności). W próbkach gleby, do których wcześniej dodano zarówno selen(IV), jak i selen(VI), po wprowadzeniu benzyny w trakcie trwania doświadczenia wielokrotnie odnotowano większą aktywność dehydrogenaz, w porównaniu do gleby bez tego pierwiastka (rys. 1). Zwiększenie aktywności dehydrogenaz w glebie z dodatkiem jonów selenu może świadczyć o poprawie przebiegu metabolizmu oddechowego mikroorganizmów glebowych, głównie bakterii i promieniowców [19]. Aktywność dehydrogenaz w glebie powiązana jest z czynnością wielu enzymów lub systemów enzymatycznych, powszechnie występujących w drobnoustrojach glebowych [15], a czynne dehydrogenazy występują w glebie jako integralna część nienaruszonych komórek mikroorganizmów [20].

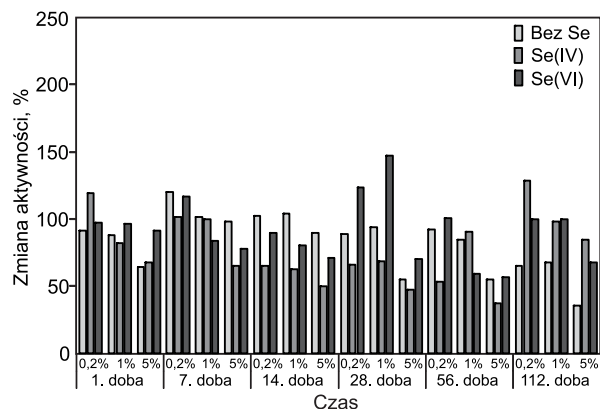
Aktywność katalazy w glebie niezawierającej jonów selenu uległa przez większość czasu trwania doświadczenia zmniejszeniu po wprowadzeniu benzyny we wszystkich ilościach. Ponadto w poszczególnych terminach pomiarów zauważono tendencję do zwiększania inhibicji aktywności



Rys. 1. Zmiana aktywności dehydrogenaz wywołana obecnością benzyny w zależności od postaci selenu w glebie

Fig. 1. Change in dehydrogenase activity due to gasoline presence as a function of soil selenium oxidation state

enzymu wraz ze wzrostem ilości benzyny. W pierwszej dobie doświadczenia, a także w trakcie dalszych pomiarów (28., 56. i 112. doba doświadczenia) wykazano, że po wprowadzeniu benzyny do gleby z dodatkiem zwłaszcza selenu(VI), aktywność katalazy była większa niż w glebie bez tego pierwiastka. Jedynie w 7. i 14. dobie doświadczenia stwierdzono odwrotną zależność (rys. 2). Podobnie jak w przypadku dehydrogenaz, zwiększenie aktywności katalazy w glebie z dodatkiem jonów selenu może wskazywać na stymulację metabolizmu tlenowego drobnoustrojów, gdyż enzym ten jest obecny tylko w komórkach mikroorganizmów wykorzystujących tlen do procesów oddechowych (tlenowce, fakultatywne beztlenowce). Beztlenowce obligatoryjne wykazują bardzo małą aktywność katalazy lub jej brak [21].

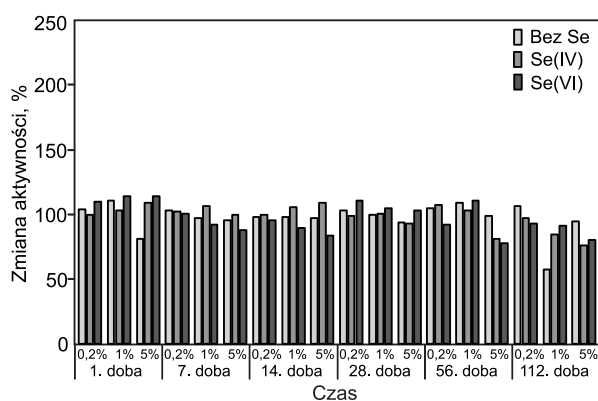


Rys. 2. Zmiana aktywności katalazy wywołana obecnością benzyny w zależności od postaci selenu w glebie

Fig. 2. Change in catalase activity due to gasoline presence as a function of soil selenium oxidation state

Aktywność oksydazy o-difenolowej w większości terminów pomiarów po wprowadzeniu do gleby benzyny we wszystkich ilościach, była zbliżona do próbek kontrolnych. Stwierdzona niewielka stymulacja bądź inhibicja aktywności enzymu nie przekraczała zazwyczaj kilku procent. Dotyczyło to zarówno gleby bez jonów selenu, jak i zawierającej ten pierwiastek na obu stopniach utlenienia (rys. 3).

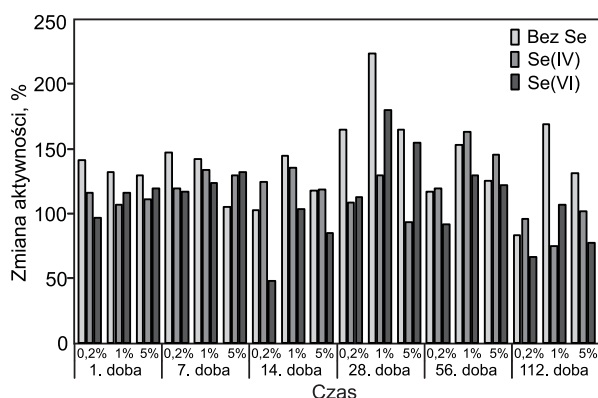
Aktywność peroksydazy w glebie bez dodatku jonów selenu w trakcie trwania prawie całego doświadczenia uległa znacznej stymulacji pod wpływem benzyny zastosowanej we wszystkich ilościach, natomiast po wprowadzeniu benzyny do gleby zawierającej selen na obu stopniach utlenienia wykazana stymulacja ich aktywności była wielokrotnie



Rys. 3. Zmiana aktywności oksydazy o-difenolowej wywołana obecnością benzyny w zależności od postaci selenu w glebie

Fig. 3. Change in o-diphenol oxidase activity due to gasoline presence as a function of soil selenium oxidation state

mniej, w porównaniu do gleby bez tego pierwiastka. Ponadto w glebie z dodatkiem selenu(VI) w 14., 28. i 112. dobie doświadczenia odnotowano inhibicję aktywności peroksydazy pod wpływem benzyny, przede wszystkim w ilości 0,2% (rys. 4).



Rys. 4. Zmiana aktywności peroksydazy wywołana obecnością benzyny w zależności od postaci selenu w glebie

Fig. 4. Change in peroxidase activity due to gasoline presence as a function of soil selenium oxidation state

Mogło to prawdopodobnie wynikać z przeciwutleniających właściwości selenu, a także obecności tego pierwiastka w budowie peroksydaz glutationowych, które stanowią ważny element antyoksydacyjnego układu enzymatycznego i uczestniczą w pierwszej i drugiej linii obrony przed reaktywnymi formami tlenu. Białka te konstrytuują rodzinę enzymów mających zdolność redukcji nadtlenków nieorganicznych (H_2O_2) i nadtlenków organicznych (ROOH), z wytworzeniem kwasu selenowego jako produktu pośredniego [22]. Ponadto wykazano, że przy udziale pozakomórkowych peroksydaz ligninolitycznych zachodzi rozkład pierścieni węglowodorów mono- i poliaromatycznych, a także koutlenianie cykloalkanów do cykloalkanonów [3, 23].

Podsumowanie

Badania wykazały, że zanieczyszczenie gleby lekkiej benzyną spowodowało zmiany aktywności oksydoreduktaz glebowych, a rodzaj i wielkość tych zmian zależały w dużym stopniu od obecności związków selenu w glebie. Wielu autorów wskazuje na silny wpływ jonów selenu na oksydoreduktazy, takie jak katalaza, peroksydaza glutationowa i dysmutaza ponadtlenkowa w organizmach zwierzęcych,

a niewiele badań dotyczy udziału selenu w procesach biochemicznych zachodzących w glebie i roślinach. Wprowadzenie do gleby selenu, zarówno na stopniu utlenienia +IV, jak i +VI w znaczącym stopniu zniwelowało oddziaływanie benzyny na aktywność dehydrogenaz oraz peroksydaz glebowych, czyli enzymów będących integralną częścią nienaruszonych komórek mikroorganizmów oraz enzymów chroniących przed reaktywnymi formami tlenu i uczestniczącymi w przebiegu humifikacji. Można zatem wywnioskować, że nawożenie selenowe jest czynnikiem ograniczającym negatywne oddziaływanie benzyny na metabolizm mikroorganizmów glebowych. Jest to również istotne z tego powodu, że większość gleb w Polsce jest objętych hiposelenozą, czyli niedoborem selenu.

LITERATURA

1. Y. SONG, S.P. DENG, V. ACOSTA-MARTINEZ, E. KAT-SALIROU: Characterization of redox-related soil microbial communities along a river floodplain continuum by fatty acid methyl ester (FAME) and 16S rRNA genes. *Applied Soil Ecology* 2008, Vol. 4, No. 3, pp. 499–509.
2. B. KOLWZAN: Usuwanie zanieczyszczeń naftowych z gruntu metodą pryzmowania (Removal of petroleum products from soil by the prism method). *Ochrona Środowiska* 2009, vol. 31, nr 2, ss. 3–10.
3. E. KWAPISZ: Szlaki tlenowej biodegradacji węglowodorów ropy naftowej. *Biotechnologia* 2006, vol. 2 (73), ss. 166–188.
4. E.T. PREMIZIC, M.S. LIN, L.K. RACANELLO, B. MANOWITZ: Chemical markers of induced microbial transformations in crude oils. *Developments in Petroleum Science* 1993, Vol. 39, pp. 37–54.
5. R. MARCHAL, S. PENET, F. SOLANO-SERENA, J.P. VANDECASTEELE: Gasoline and diesel oil biodegradation. *Oil and Gas Science and Technology* 2003, Vol. 58, No. 4, pp. 441–448.
6. J. WYSZKOWSKA, J. KUCHARSKI: Biochemical properties of soil contaminated by petrol. *Polish Journal of Environmental Studies* 2000, Vol. 9, No. 6, pp. 479–485.
7. S. BARAN, E.J. BIELIŃSKA, P. OLESZCZUK: Enzymatic activity in an airfield soil polluted with polycyclic aromatic hydrocarbons. *Geoderma* 2004, Vol. 118, No. 3–4, pp. 221–232.
8. M. TEJADA, J.L. GONZALEZ, M.T. HERNANDEZ, C. GARCIA: Application of different organic amendments in a gasoline contaminated soil: Effect on soil microbial properties. *Bioresour. Technology* 2008, Vol. 99, No. 8, pp. 2872–2880.
9. J.-W. PARK, B.-K. PARK, J.-E. KIM: Remediation of soil contaminated with 2,4-dichlorophenol by treatment of minced shepherd's purse roots. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 2006, Vol. 50, No. 2, pp. 191–195.
10. A. TELESINSKI, M. ŚNIOSEK, D. MUSIK, W. PASZUN, G. HURY: Określenie rodzaju interakcji pomiędzy oddziaływaniem związków selenu i fluoru na aktywność katalazy w roślinach soi (*Glycine max* L. Merr.). *Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych* 2009, nr 41, ss. 227–235.
11. P. CARTES, A.A. JARA, L. PINILLA, S. ROSAS, M.L. MORA: Selenium improves the antioxidant ability against aluminium-induced oxidative stress in ryegrass roots. *Annals of Applied Biology* 2010, Vol. 156, No. 2, pp. 297–307.
12. S.J. RAMOS, V. FAQUIN, L.R.G. GUILLERME, E.M. CASTRO, F.W. AVILA, G.S. CARVALHO, C.E.A. BASTOS, C. OLIVEIRA: Selenium biofortification and antioxidant activity in lettuce plants fed with selenate and selenite. *Plant, Soil and Environment* 2010, Vol. 56, No. 12, pp. 584–588.
13. J. NOWAK, K. KĄKLEWSKI, M. LIGOCKI: Influence of selenium on oxidoreductive enzymes activity in soil and in plants. *Soil Biology and Biochemistry* 2004, Vol. 36, No. 10, pp. 1553–1558.

14. K. BOROWSKA, M. GRABOWSKA, K. KOZIK: Selenium content and enzymatic activity of soil after applying farmyard manure and mineral nitrogen *Environmental Protection and Natural Resources* 2013, Vol. 24, No. 2(56), pp. 5–10.
15. A. THALMANN: Zur Methodik der Bestimmung der Dehydrogenaseaktivität im Boden mittels Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC). *Landwirtschaftliche Forschung* 1968, No. 21, S. 249–258.
16. R. PERUCCI, C. CASUCCI, S. DUMONET: An improved method to evaluate the o-diphenol oxidase activity of soil. *Soil Biology and Biochemistry* 2000, Vol. 32, No. 8–9, pp. 1927–1933.
17. R. BARTHA, L. BORDELEAU: Cell-free peroxidases in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 1969, Vol. 1, No. 2, pp. 139–143.
18. J.I. JOHNSON, K.L. TEMPLE: Some variables affecting measurement of catalase activity in soil. *Soil Science Society of America Proceedings* 1964, Vol. 28, pp. 207–209.
19. PRAVEEN-KUMAR, J.C. TARAFDAR: 2,3,5-Triphenyltetrazolium chloride (TTC) as electron acceptor of culturable soil bacteria, fungi and actinomycetes. *Biology and Fertility of Soils* 2003, Vol. 38, pp. 186–189.
20. M. BRZEZIŃSKA, T. WŁODARCZYK: Enzymy wewnątrzkomórkowych przemian redoks (oksydoreduktazy). *Acta Agrophysica, Rozprawy i Monografie* 2005, nr 3, ss. 11–26.
21. J. FIEDUREK, J. SZCZODRAK: Katalaza – właściwości, rola fizjologiczna i zastosowanie. *Postępy Mikrobiologii* 1997, nr 36, ss. 71–84.
22. R. WŁODARCZYK, B. BIRKLE: Selen chroniony – najbardziej efektywna forma podażu selenu w żywieniu przeżuwaczy. *Życie Weterynaryjne* 2010, vol. 85, nr 3, ss. 238–243.
23. O. MARCHUT-MIKOŁAJCZYK, E. KWAPISZ, T. ANT-CZAK: Enzymatyczna bioremediacja ksenobiotyków. *Inżynieria i Ochrona Środowiska* 2013, vol. 16, nr 1, ss. 39–55.

Strek, M., Telesinski, A. Change in Oxidoreductase Activity of Selected Microbial Enzymes in Gasoline-contaminated Light Soil in Presence of Selenium. *Ochrona Środowiska* 2015, Vol. 37, No. 1, pp. 43–47.

Abstract: The effect of gasoline as a function of selenium (IV and VI) on activity of four oxidoreductive enzymes produced by soil microorganisms (dehydrogenase, catalase, o-diphenol oxidase and peroxidase) was assessed in laboratory settings. The experiment was carried out on loamy sand with organic carbon content of 8.7 gC/kg. Different combinations of gasoline (0.2%, 1% and 5%) and selenium (IV and VI) in the amount

of 0.05 mmol/kg were used. The activity of oxidoreductases was determined in all the combinations tested after 1 to 112 days of the experiment. The presence of selenium (both oxidation states) eliminated impact of gasoline on soil dehydrogenases and peroxidases, enzymes characteristic for intact cells, protecting against reactive oxygen species and involved in humification. Selenium compounds were demonstrated to limit negative effect of petroleum products on metabolism of soil microorganisms.

Keywords: Petroleum products, soil pollution, dehydrogenases, catalase, peroxidase, o-diphenol oxidase.