Біологічний вісник МДПУ імені Богдана Хмельницького 6 (3), стор. 472–480, 2016
Biological Bulletin of Bogdan Chmelnitskiy Melitopol State Pedagogical University, 6 (3), pp. 472–480, 2016

ARTICLE ***УДК 581.6+665.6***

ВИКОРИСТАННЯ ОБЛІПИХИ КРУШИНОВИДНОЇ ДЛЯ ФІТОРЕМЕДІАЦІЇ НАФТОЗАБРУДНЕНИХ ҐРУНТІВ

Л.З. Шевчик, О.І. Романюк
Відділення фізико-хімії горючих копалин Інституту фізико-органічної хімії і вуглехімії імені Л. М. Литвиненка НАН України, Львів, Україна
E-mail: lesyashevchik@gmail.com

Доведено, що обліпиха крушиновидна стовідсотково приживається на сильнозабруднених нафтою ґрунтах (123 г/кг) і забезпечує високий рівень очищення (до 92,7 %) на четвертий рік росту. Під впливом *Hippophae rhamnoides* покращуються мікробіологічні показники ґрунту: зростає кількість мікроорганізмів-гетеротрофів у 10^4 раз, деструкторів нафти – у 6×10^2, азотфіксаторів – у 10 раз, усувається токсичність ґрунту, підвищується вміст загального та амонійного азоту. Стерильність пилку та вміст каротиноїдів у листках обліпихи крушиновидної, вирощеної в умовах нафтового забруднення, знаходиться в межах норми, що свідчить про толерантність цього виду до нафтового забруднення.
Ключові слова: нафтозабруднені ґрунти, фіторемедіація, рослини-ремедіанти, Hippophae rhamnoides,

ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ОБЛЕПИХИ КРУШИНОВИДНОЙ ДЛЯ ФИТОРЕМЕДИАЦИИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ

Л.З. Шевчик, О.І. Романюк
Отделение физико-химии горючих ископаемых Института физико-органической химии и углехимии имени Л. М. Литвиненка НАН Украины
E-mail: lesyashevchik@gmail.com

Показано, что облепиха крушиновидная приживается на сильнозагрязненных нефтью почвах (123 г/кг) и обеспечивает высокий уровень очистки (до 92,7%) на четвертый год роста. Под влиянием *Hippophae rhamnoides* улучшаются микробиологические показатели почвы: возрастает количество микроорганизмов-гетеротрофов в 10^4 раз, деструкторов нефти – в 6×10^2, азотфиксаторов – в 10 раз, устраняется токсичность почвы, повышается содержание общего и аммонийного азота. Стерильность пыльцы и содержание каротиноидов в листьях облепихи крушиновидной, выращенной в условиях нефтяного загрязнения, находится в пределах нормы, что свидетельствует о толерантности этого вида к нефтяному загрязнению.
Ключевые слова: нефтезагрязненные почвы, фитотоксичность, растения-ремедианты, Hippophae rhamnoides

Citation:
Shevchyk, L.Z., Romaniuk, O.I. (2016). Phytoremediation of oil contaminated soil using Sea Buckthorn. *Biological Bulletin of Bogdan Chmelnitskiy Melitopol State Pedagogical University,* 6 (3), 472–480.
Поступило в редакцию / Submitted: 05.10.2016
Принято к публикации / Accepted: 25.12.2016
crossref http://dx.doi.org/10.15421/2016120
© ***Shevchyk, Romaniuk, 2016***
Users are permitted to copy, use, distribute, transmit, and display the work publicly and to make and distribute derivative works, in any digital medium for any responsible purpose, subject to proper attribution of authorship.
(cc) BY
This work is licensed under a Creative Commons Attribution 3.0. License

PHYTOREMEDIATION OF OIL CONTAMINATED SOIL USING SEA BUCKTHORN

L.Z. Shevchyk, O.I. Romaniuk
Department of Physics and Chemistry of Combustible Minerals, Institute of Physical Organic and Coal Chemistry im. L.M. Lytvynenka, National Academy of Sciences of Ukraine, Lviv, Ukraine
E-mail: lesyashevchik@gmail.com

Here we presented the potential phytoremediation of oil contaminated soil using Sea Buckthorn. Sea Buckthorn successfully adapts to adverse conditions of the oil-contaminated soils and provides the high level of cleaning oil-contaminated soils from oil up to 92.7%, on the fourth year of growth. Sea Buckthorn improves microbiological properties of soil: increases the heterotroph microorganisms by 10^4 times, oil destructive microorganisms – by 6×10^2, nitrogen-fixing microorganisms by 10 times; moreover, it eliminates soil toxicity, increases content of total nitrogen and ammonia. The surface root system of Sea Buckthorn forms well developed root sprouts, that successfully extends to neighboring areas, improves water-air properties, contributes to the rapid formation of dense soil cover, biomass accumulation, formation of humus and provides prolongation of phytoremediation action. Sterility of pollen and content of carotenoid in Sea Buckthorn leaves in the conditions of oil-contamination were within normal range and testifies to the plant tolerance towards oil contamination. Sea Buckthorn improves the physical, chemical and biological properties of soils, reduces oil contamination, protects the oil contaminated soils from erosion. We could recommend this species for the phytoremediation of oil contaminated soil.
Keywords: oil contaminated soil, phytoremediation, soil remediation plant, Hippophae rhamnoides.

ВСТУП

Нафтове забруднення є одним з найбільш небезпечних видів забруднення. Його негативна дія проявляється на всіх етапах промислового освоєння нафтових родовищ: буріння, переробки, зберігання, транспортування і ліквідації обладнання. Серед компонентів наземних екосистем нафтою, насамперед, забруднюються ґрунти, які завдяки високій адсорбуючій здатності надовго акумулюють забруднення, що спричиняє як деградацію земель, так і створює небезпеку проникнення шкідливих речовин у живильні ланцюги, однією з ланок яких є людина. Природне самоочищення ґрунтів – довготривалий і складний процес, який не завжди завершується повним відновленням ґрунтової екосистеми. Тому вивчення і розробка екологічно нешкідливих прийомів прискоренної деградації нафти у ґрунтах є важливим завданням при вирішенні проблем техногенно порушених земель.

Серед традиційних методів ліквідації нафтових забруднень ґрунту відомі механічні – виїмка ґрунтів, збір нафтопродуктів; фізико-хімічні – спалювання, екстракція паром, промивання забрудненого нафтою ґрунту, сорбція, відновлення територій за допомогою ініційованого гумінового сорбенту, використання активованого торфу, очищення твердих поверхонь за допомогою гідрофобного органомінерального нафтового сорбенту та ін.; біологічні – біоремедіація, фіторемедіація. Механічні, хімічні та фізичні методи трудомісткі, довготривалі, потребують великих витрат, не забезпечують повноти очищення і часто приводять до вторинного забруднення навколишнього середовища іншими хімічними агентами. Крім цього вони ефективні лише при використанні на невеликих локальних територіях і при рівнях забруднення, як правило, більших 1 % нафти у ґрунті (Другов, Родин, 2011; Singh et al., 2009). Ці способи дають одноразовий ефект, в той час як біологічні характеризуються тривалішим впливом і стабільним покращенням екологічної ситуації.

Методи біоремедіації нафтозабруднених ґрунтів передбачають активізацію існуючої мікрофлори шляхом створення оптимальних умов за рахунок оранки, розпушування, внесення мінеральних добрив, сорбентів та ін., або використання мікроорганізмів-нафтодеструкторів, які вносять у забруднений ґрунт в значних кількостях (Вельков, 1995; Vasudevan, Rajaram, 2001; Lee et al., 2011). Біоремедіацією утилізуються нафтові вуглеводні досить успішно. Однак, цей метод має ряд недоліків, зокрема, багатостадійність, висока собівартість, обумовлена додатковими витратами на підготовчі роботи, та на створення оптимальних умов біоремедіації. Крім того, штучне внесення мікроорганізмів у нафтозабруднені ґрунти пов'язане з певним біологічним ризиком – пригнічується місцевий біоценоз, а це, в своєю чергу, змінює середовище. Велику небезпеку представляє також утворення мутагенів і генотоксичних сполук.

Ці недоліки нехарактерні для методів фіторемедіації, які приваблюють своєю природністю, екологічністю, простотою і економічністю, характеризуються тривалішим впливом і стабільним покращенням екологічної ситуації (Cunningham et al., 1996; Banks et al., 2003; Gerhardt et al., 2009). Однак, успішне проведення фіторемедіації нафтозабруднених ґрунтів є непростим завданням через гідрофобність та високу токсичність нафти, значне порушення водоповітряного балансу та співвідношення основних мікроелементів ґрунту Вуглецю та Азоту, що робить неможливим зростання більшості рослин. Нафтозабруднені грунти внаслідок своєї гідрофобності втрачають здатність утримувати вологу, а тому або пересушені або перезволожені, що висуває жорсткі умови до рослин фіторемедіантів.

Позитивний ефект використання злакових обумовлений великою площею поверхні кореня, за рахунок якої збагачується ґрунт кореневими виділеннями, що стимулює ріст мікроорганізмів і відповідно інтенсифікує розкладання нафти і нафтопродуктів. Довгокореневищні види здатні отримувати вологу зі значних глибин 3-5 м, що дозволяє їм виживати в умовах гідрофобності ґрунту (Aprill, Sims, 1990; Джура і ін., 2006; Kaimi et al., 2007). Бобові (*Fabaceae*) завдяки здатності фіксувати атмосферний азот забезпечують себе джерелом мінерального живлення у нафтозабрудненому ґрунті (Киреева и др., 2004; Merkl et al., 2005; Джура, 2011). Однак, використання цих рослин передбачає: необхідність ретельної попередньої обробки ґрунту, полив, повторення процесу висаджування насіння у наступні роки, можливість використання лише на рівнинних, відносно невеликих територіях, або не на сильно забруднених нафтою ґрунтах.

Означені рослини мало придатні для очищення деградованих земель нафтовидобутку, що містять збіднену породу різного гранулометричного складу, засолені пластовими водами і є насипними, відвальними. Тому ми продовжили пошук рослин-фіторемедіантів, здатних забезпечити стійкий ефект відновлення при зменшенні стадійності робіт. Перспективним з цієї точки зору є використання багаторічних рослин - дерев і кущів, завдяки пролонгації їх ремедіаційної дії та можливості використання отриманої біомаси, як джерела вторинного палива. З цією метою опробувані береза, верба, обліпиха крушиновидна (Романюк і ін., 2008). Найкращі результати отримані при використанні обліпихи крушиновидної (*Hippophae rhamnoides* L.), яка стовідсотково приживається на сильно забруднених ґрунтах, до 12% нафти у ґрунті (Романюк і ін., 2009). *H. rhamnoides* є багаторічною, швидко росте, розростається в куртину, невибаглива до ґрунтових умов та забезпечує себе джерелом мінерального живлення, завдяки симбіозу кореневої системи з азотфіксаторами.

Встановлено, що обліпиха є стійкою до несприятливих умов техногенних нафтозабруднених ґрунтів, які внаслідок набутої гідрофобності періодично можуть бути як підтопленими, так і пересушеними. Коренева система обліпихи має виражені гігроморфні властивості і здатна переносити довготривалі періоди підтоплення та перезволоження. В той же час густе опушення листка, щільна кутикула – захисне пристосування – забезпечують економну витрату води при високих інсоляції і температурі повітря. Надземна частина обліпихи дозволяє переносити рослині внутрішній водний дефіцит, і активно його регулювати швидкими змінами осмотичного тиску клітинного соку (Андрієнко, Роман, 1991). Таке поєднання стійкості до умов підтоплення та посухи роблять рослину оптимальною до використання для фіторемедіації техногенних нафтозабруднених ґрунтів. Метою наших досліджень було встановлення стійких до нафтового забруднення фіторемедіантів та розробка ефективного методу фіторемедіації нафтозабруднених ґрунтів.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження проведені в польових умовах на нафтозабруднених техногенних відвальних ґрунтах озокеритовидобутку м. Борислава. Закладали дослідні ділянки на ґрунтах різного ступеню забруднення нафтою: 97 г/кг, 123 г/кг, 150 г/кг (9,7 %, 12,3 %, 15 %), в які рано-навесні без додаткового внесення добрив, мікроорганізмів чи поливу висаджували двома рядами у шахматному порядку відсадки висотою до 30-40 см обліпихи крушиновидної у лунки глибиною 15-20 см, відстань між рослинами 1,5 м, відстань між рядами 1м. Польові дослідження для забруднення 123 г/кг проводили у трьох повторностях: закладали три фіторемедіаційні ділянки, кожна площею 10 м^2, на яких висаджували 14 саджанців за вищеописаною схемою. Відстань між ділянками складала 4,5 м.

Вміст нафтопродуктів у ґрунтах визначали згідно з модифікованою методикою (Дмитриев, 1989) шляхом екстракції нафтопродуктів з проб ґрунту тетрахлоридом вуглецю з наступним ІЧ-спектрофотометричним визначенням. Фітотоксичність ґрунту визначали за допомогою тест-об'єкту льону звичайного (*Linum usitatissimum* L.) (Шевчик, Романюк, 2014). Чисельність мікроорганізмів у ґрунті визначали методом серійних розведень (Сеги, 1983). Мікроорганізми-деструктори нафти виділяли методом накопичувальної культури на середовищі Шишкіної-Троценко з нафтою і рідкими парафінами як джерелами вуглецю (Ilyina, 2003). Чисельність олігонітрофільних мікроорганізмів та азотфіксаторів визначали на середовищі Ешбі (Ґудзь і ін., 2014). Вміст загального азоту у ґрунті визначали колориметрично з реактивом Неслера (ГОСТ 26107-84). Вміст нітратного азоту – іонометричним методом (ГОСТ 26951-86). Визначення вмісту амонійного азоту у ґрунті проводили за методом ЦІНАО (ГОСТ 26489-85). Вміст рухомого фосфору у ґрунті визначали модифікованим методом Мачигіна (ДСТУ 4114-2002). Вміст хлорофілів та каротиноїдів у листках рослин визначали спектрофотометрично (Мусієнко та ін., 2001). Стерильність та фертильність пилкових зерен – ацетокарміновим методом (Паушева, 1988). Результати досліджень оброблено з використанням критерію Стюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Пошук ефективних рослин фіторемедіантів здійснювали в процесі власних польових досліджень та аналізу літературних джерел, які пропонують для фіторемедіації нафтозабруднених ґрунтів

використовувати злакові, довгокореневищні види та бобові (*Fabaceae*) (Киреева и др., 2004; Merkl et al., 2005; Джура, 2011).

Дослідження показали, що рослини *H. rhamnoides* суттєво прискорюють процес біодеградації нафти у сильно забруднених ґрунтах 97-150 г/кг (9,7-15%) вже у перший рік росту. Сумарне очищення ґрунту складає 76,7-84,6% (Табл.1) (Патент України № 86572).

Таблиця 1. Вплив рослин *Hippophae rhamnoides* на біодеградацію нафти у ґрунті упродовж першого року фіторемедіації (Патент України № 86572)

Вміст нафти у ґрунті (початкове забруднення), г/кг	Вміст нафтопродуктів у ґрунті після ремедіації (залишкове забруднення), г/кг	Сумарне очищення ґрунту, %
97	15,5	84,6
123	26,5	77,5
150	34,9	76,7

На четвертий рік росту обліпихи, ступінь очистки ґрунту підвищується до 92,7% (табл. 2), за початкового забруднення ґрунту нафтою 123 г/кг. Знижується також токсичність, про що свідчить зростання відносної схожості насіння тест-об'єкту льону звичайного від 0 до 100% (табл. 3). При цьому, зменшується токсичність не лише на ділянці, де росте обліпиха, але й на відстані 4-6 м від ділянки, завдяки розростанню кореневої системи обліпихи. Так, відносна схожість насіння *L. usitatissimum* на відстані 4 м від фіторемедіаційної ділянки вже складала 88,57%, в той час як початкова становила 0% (табл. 3).

Таблиця 2. Вплив рослин *Hippophae rhamnoides* на біодеградацію нафти у ґрунті упродовж 1-4 років зростання, початкове забруднення ґрунту 123 г/кг (Патент України № 86572)

	Часовий період ре медіації			
	перший рік	другий рік	третій рік	четвертий рік
Вміст нафти у ґрунті, г/кг	123	26,5	13,9	9,0
Сумарне очищення ґрунту, %	0	77,5	88,7	92,7

Під дією рослин *H. rhamnoides* відбувається не лише зниження токсичності ґрунту, але й покращення його мікробіологічних властивостей. Так, на четвертий рік росту обліпихи на нафтозабрудненому ґрунті кількість ґрунтових мікроорганізмів значно зросла: гетеротрофів у 10^4 раз, деструкторів нафти у 6×10^2 раз в порівнянні з не рекультивованим ґрунтом. Покращилась якість ґрунту і на відстані 4-6м від ділянки: кількість гетеротрофів зросла у 2×10^2 раз, деструкторів нафти у 10^3 раз (табл.3).

Таблиця 3. Вплив нафти і *Hippophae rhamnoides* на фітотоксичність нафтозабрудненого ґрунту на четвертий рік ремедіації. Початкове забруднення 123 г/кг ґрунту (Патент України № 86572)

Проба	Токсичність по *L.usitatissimum*			Чисельність ґрунтових мікроорганізмів КОУ/г ґрунту	
	Відносна схожість насіння,%	Відносна довжина кореня,%	Відносна довжина пагона,%	Гетеро-трофні	Деструктори нафти
Забруднений ґрунт	0	0	0	2×10^4	5×10^2
Ґрунт після 4 років ремедіації	100	100	100	2×10^8	3×10^5
Ґрунт, взятий у радіусі 4-6 м від ремедіаційної ділянки	88,57	100	52,37	4×10^6	6×10^5

Важливою біологічною особливістю обліпихи є її здатність до симбіозу з азотфіксуючими актинобактеріями роду *Frankia* (рис. 1). Ці бактерії фіксують азот шляхом перетворення атмосферного N_2 в біологічно корисний аміак і постачають рослину-господаря джерелом відновленого азоту. Симбіоз з *Frankia* дозволяє актиноризним рослинам-господарям рости в суворих умовах, на бідних поживними речовинами ґрунтах, до того ж *Frankia* має здатність протистояти та розкладати поліароматичні вуглеводні, нафталін, феноли (Rehan et al., 2016).

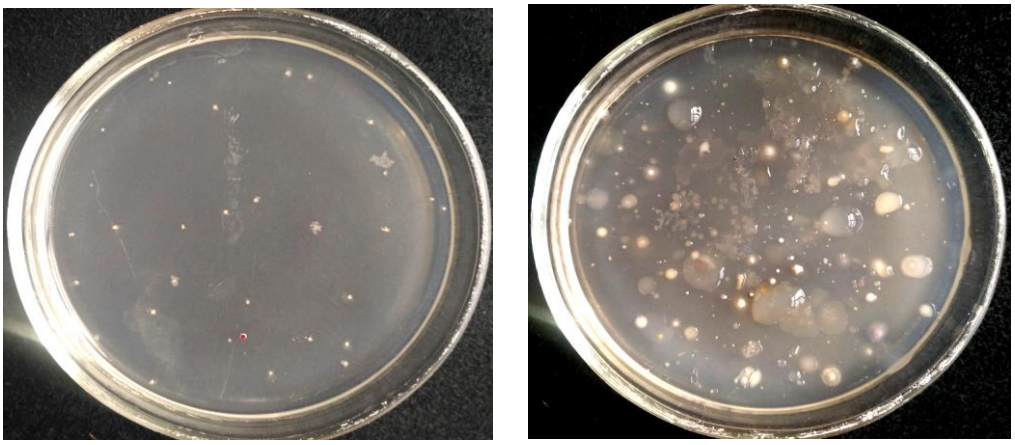


Рис. 1. Симбіоз обліпихи крушиновидної з азотфіксуючими мікроорганізмами у нафтозабрудненому ґрунті

Нами було встановлено, що в процесі фіторекультивації нафтозабрудненого ґрунту рослинами *H. rhamnoides* збільшувалась кількість та видова різноманітність олігонітрофілів, у тому числі азотфіксаторів (*Azotobacter, Achromobacter, Azospirillum, Rhizobium, Bradyrhizobium, Frankia, Azotomonas, Beijerinckia, Klebsiella, Derxia*). Після чотирьох років фіторекультивації кількість азотфіксуючих мікроорганізмів зростала на порядок (табл. 4). Для нерекультивованого ґрунту ьули характерні однотипні невеликі колонії, а у фіторекультивованому обліпихою ґрунті спостерігались колонії різного розміру, форми, кольору та консистенції (рис. 2).

Таблиця 4. Вплив нафти і *Hippophae rhamnoides* на чисельність азотфіксуючих мікроорганізмів

Варіанти	Азотфіксуючі мікроорганізми, КОУ/г ґрунту
Нафтозабруднений ґрунт	$2{,}9 \times 10^7$
Ґрунт після ремедіації *H. rhamnoides*	$2{,}2 \times 10^8$



А Б

Рис. 2. Колонії олігонітрофілів та азотфіксаторів на нафтозабруднених ґрунтах: (А) – до фіторемедіації, (Б) – після фіторемедіації *H. rhamnoides*

Нами було визначено, що після чотирьох років ремедіації кількість рухомого фосфору у ґрунті не збільшилась, а навпаки була дещо нижчою, ніж у нерекультивованих ґрунтах. Це можна пояснити тим, що проби ґрунту були відібрані у вересні, в період інтенсивного росту обліпихи. Оскільки обліпиха росте на ґрунтах, багатих на фосфор, то можна припустити, що відбулось засвоєння фосфору обліпихою із значним виносом його із ґрунту. Спостерігали також нагромадження нітратів у нафтозабрудненому ґрунті, кількість яких після фіторемедіації істотно знижувалась – вміст нітратного азоту у нафтозабрудненому ґрунті після 4 років росту обліпихи зменшився у 2,6 рази в порівнянні з нерекультивованим ґрунтом (табл.

5). Явище підвищення вмісту нітратного азоту на фоні нафтового забруднення є відомим фактом (Величко, 2011).

На кількість нітратного азоту у ґрунті впливають також процеси денітрифікації, здійснювані мікроорганізмами денітрифікаторами, здатними відновлювати іон NO^{3-} до молекулярного азоту. Унаслідок цього процесу наявний нітратний азот у ґрунті втрачається. Попри інтенсивний ріст обліпихи та засвоєння нею органічних елементів із ґрунту, в останньому спостерігали збільшення загального і амонійного азоту. Так, вміст амонійного азоту у не рекультивованому ґрунті сягав 23,6 мг/кг, а у нафтозабрудненому ґрунті, рекультивованому обліпихою становив 30,00 мг/кг. Збільшується і мінеральний азот, який є сумою нітратного і амонійного та характеризує забезпеченість ґрунтів азотом та його доступність для рослин (табл.5).

Таблиця 5. Вміст фосфору та азоту у нафтозабруднених ґрунтах до і після фіторемедіації обліпихою крушиновидною (дані наведено як середнє значення та квадратне відхилення)

Вміст фосфору та азоту	Нафтозабруднений ґрунт (123г нафти на 1 кг) до фіторемедіації	після чотирьох років фіторемедіації
P_2O_5 (рухомий), мг/кг	6,0±0,3	5,0±0,4
$N\text{-}NO_3$, мг/кг	5,90±0,2	2,19±0,3
$N\text{-}NH_4^+$, мг/кг	23,6±0,3	30,00±0,2
N (Мінеральний) ($N\text{-}NO_3$ + $N\text{-}NH_4^+$), мг/кг	29,5±0,2	32,19±0,2
N (загальний), %	0,05±0,01	0,15±0,02

Отже, завдяки симбіозу кореневої системи обліпихи з мікроорганізмами, мінералізації рослинних решток відбувається збагачення ґрунту азотом і, як наслідок, покращення умов для успішного розвитку рослин та заростання нафтозабруднених територій.

Рослинний покрив сприяє утриманню вологи у ґрунті, запобігає його перегріванню. У сонячні дні, при температурі повітря 28 ºС, температура поверхневого шару техногенного нафтозабрудненого ґрунту на 10 ºС вища, ніж фіторекультивованого обліпихою (табл. 6).

Таблиця 6. Температура на поверхні ґрунту нерекультивованої та рекультивованої ділянок з *Hippophae rhamnoides*

Ділянки	Температура на поверхні ґрунту, ºС
Не рекультивована	34,9±0,8
Рекультиваційна ділянка з *H. rhamnoides*	24,6±0,3

Завдяки поверхневій кореневій системі обліпихи, добре розвиненим шнуроподібним кореням, що дають кореневі паростки вона успішно поширюється на сусідні території, тим самим розпушує забруднений ґрунт, покращує його водно-повітряні властивості, сприяє швидкому утворенню щільного ґрунтового покриву, накопиченню біомаси, гумусоутворенню та забезпечує пролонгацію фітомеліоративної дії. Так, фіторемедіаційна ділянка за чотири роки розрослася в куртину, площа якої вже у 3 рази перевищувала вихідну ділянку (рис.3).



Рис. 3. Розростання рослин обліпихи крушиновидної упродовж чотирьох років фіторемедіації

Обліпиха сприяє вторинному заростанню нафтозабруднених ґрунтів. Виявлено, що серед рослин вторинного заростання найбільш поширені види: осока (*Carex* L.), кульбаба лікарська (*Taraxacum officinale*), люцерна хмелевидна (*Medicago lupulina* L.), конюшина лучна (*Trifolium pratense* L.).

Стійкість обліпихи до нафтового забруднення підтверджено дослідженнями стану пилку та пігментного фонду у хлоропластах листків. Виявлено, що стерильність пилкових зерен обліпихи, вирощеної в умовах нафтового забруднення, статистично достовірно не відрізняється від контролю (табл. 7), що і підтверджує її стійкість до забруднення (рясне зростання і плодоношення).

Таблиця 7. Стерильність пилку обліпихи крушиновидної, вирощеної в умовах нафтового забруднення

Варіант	Стерильність пилку, M±m, %
Контроль	2,30±0,21
Нафтозабруднений ґрунт	2,65±0,09

При дослідженні вмісту хлорофілів і каротиноїдів у рослинах обліпихи крушиновидної, яка росла в умовах нафтового забруднення, встановлено, що вміст хлорофілів *а* та *в* у її листках знижувався порівняно з контролем, вміст каротиноїдів не змінювався (рис.4). Зазначимо, що вміст каротиноїдів свідчить про толерантність рослин до різних видів забруднення (Джура, 2006). Каротиноїди виконують захисну функцію у рослинах під час оксидативного стресу, спричиненого стресовими чинниками, у наших дослідженнях – нафтовим забрудненням. Отримані дані (табл. 7, рис. 4) свідчать, що *H. rhamnoides* є толерантною до даного забруднювача.

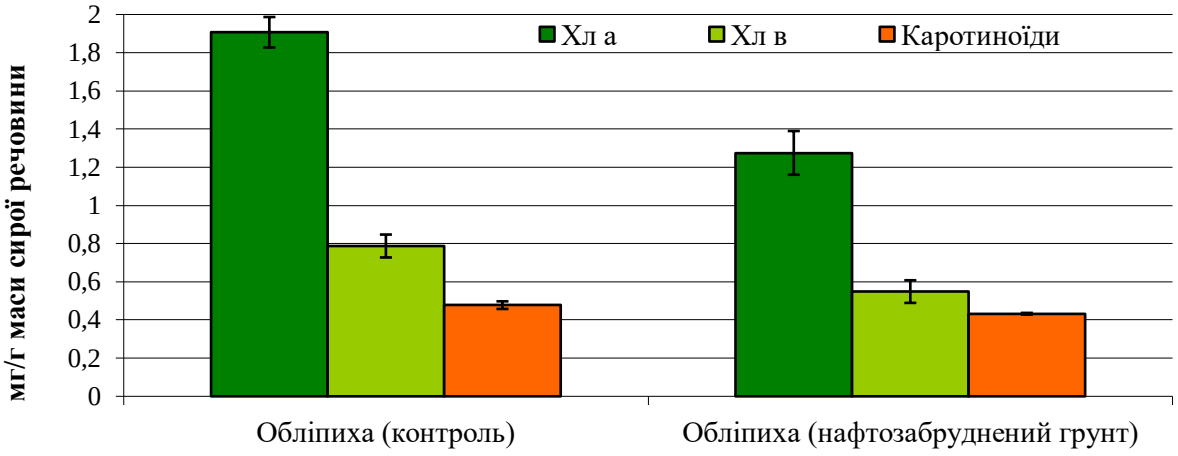


Рис. 4. Вміст хлорофілів та каротиноїдів у рослинах обліпихи крушиновидної, вирощеної в умовах нафтового забруднення

Таким чином, обліпиха крушиновидна є перспективною рослиною для очистки сильнозабруднених нафтою ґрунтів, так як покращує їх фізико-хімічні, мікробіологічні показники, усуває токсичність, забезпечує багаторічну пролонгацію фітомеліоративної дії та сприяє високій ступені очистки від нафтопродуктів.

ВИСНОВОК

Встановлено перспективну рослину-ремедіант, стійку до нафтового забруднення – обліпиху крушиновидну. *Hippophae rhamnoides* стовідсотково приживається на сильно забруднених нафтою ґрунтах (123 г/кг) і забезпечує високий рівень очищення (до 92,7 %) на четвертий рік росту. Під впливом цього фіторемедіанта покращуються мікробіологічні показники ґрунту: зростає кількість мікроорганізмів-гетеротрофів у 10^4 раз, деструкторів нафти – у 6×10^2, азотфіксаторів – у 10 раз, усувається токсичність ґрунту, підвищується вміст загального та амонійного азоту. Покращення фізико-хімічних та біологічних властивостей ґрунтів, сприяння високій ступені очистки їх від нафти, захист від ерозії дає підстави рекомендувати обліпиху крушиновидну для фіторемедіації нафтозабруднених ґрунтів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

Андрієнко М. В. Малопоширені плодові і ягідні рослини / М. В. Андрієнко, І. С. Роман – К.: Урожай, 1991. – 168 с.

Величко О. І. Вміст нітратного азоту в ґрунті та органах рослин сої за умов забруднення ґрунту нафтою / О. І. Величко // Науковий вісник НЛТУ України: збірник науково-технічних праць. – Львів: РВВ НЛТУ України. – 2011. – Вип. 21.16. – С. 351-354.

Вельков В. В. Биоремедиация: принципы, проблемы, подходы [Текст] / В. В. Вельков // Биотехнология. – 1995. – №3-4. – С. 70-76.

Гудзь С. П. Практикум з мікробіології: Підручник: [для студ. вищ. навч. закл.] / С. П. Гудзь, С. О. Гнатуш, Г. В. Яворська, І. С. Білінська, Б. М. Борсукевич – Львів: ЛНУ імені Івана Франка, 2014. – 436 с.

Джура Н. Використання рослин для рекультивації ґрунтів забруднених нафтою і нафтопродуктами [Текст] / Н. Джура, О. Романюк, Я. Гонсьор, О. Цвілинюк, О. Терек // Екологія та ноосферологія. – 2006. – Т. 17, №1-2. – С. 55-60.

Джура Н. М. Перспективи фіторемедіації нафтозабруднених ґрунтів рослинами Faba bona Medic. (*Vicia faba* L.) [Текст] / Н. М. Джура // Вісник Львівського університету. Сер. біол. – 2011. – Вип. 57. – С.117-124.

Джура Н. Реакції осоки шершавої на нафтове забруднення [Текст] / Н. Джура, О. Цвілинюк, О. Терек // Вісник Львівського університету. Сер. біол. – 2006. – Вип. 42. – С. 142-146.

Дмитриев М. Т. Санитарно-химический анализ загрязняющих веществ в окружающей среде / М. Т. Дмитриев, Н. И. Казнина, И. А. Пинигина: Справ. изд. – М.: Химия, 1989. – 368с.

Киреева Н. А. Детоксикация нефтезагрязненных почв под посевами люцерны (Medicago sativa L.) [Текст] / Н. А. Киреева, Е. М. Тарасенко, М. Д. Бакаева // Агрохимия. – 2004. – № 10. – С. 68-72.

Логинов О. Н. Биотехнологические методы очистки окружающей среды от техногенных загрязнений [Текст] / Логинов О. Н., Силищев Н. Н., Бойко Т. Ф., Галимзянова Н. Ф. – Уфа: Государственное издательство научнотехнической литературы "Реактив", 2000. – 100 с.

Мусієнко М. М. Спектрофотометричні методи в практиці фізіології, біохімії та екології рослин / М. М. Мусієнко, Т. В. Паршикова, П. С. Славний. – К. : Фітосоціоцентр, 2001. – 200с.

Паушева З. П. Практикум по цитологии растений. М.: Агропромиздат, 1988. – 271 с.

Романюк О. Моніторинг довкілля в зоні озокеритового рудника / звіт про науково-дослідну роботу Д2-09 / О. Романюк [та ін.]. – Львів: Відділення ФХГК ІнФОВ ім. Л. М. Литвиненка НАН України, 2009, 32с.

Романюк О. Проведення екологічного моніторингу підземних вод, загазованості та забруднення ґрунтів на території м. Борислава [Текст]: звіт Д1-08 / О. Романюк та ін. – Львів: Відділення ФХГК ІнФОХВ імені Л. М. Литвиненка НАН України, 2008. – 33 с.

Сэги Й. Методы почвенной микробиологии / Й. Сэги. М.:1. Колос, 1983. – С. 107-109.

Трещевский И. В. Почвоулучшающая роль защитных насаждений на рекультивированных землях Лебединского ГОКа Курской магнитной аномалии [Текст]: автореферат дис. ... кандидата сельскохозяйственных наук: 06.01.02 / Трещевский Игорь Вікторович, – Курск, 2010. – 22 с.

Шевчик Л. Дослідження деяких закономірностей впливу нафти на початкові ростові параметри рослинних тест-об'єктів / Л. Шевчик, О. Романюк // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. – 2014. – 67. – С. 129-137.

Aprill W. Evaluation of the use of prairie grasses for stimulating polycyclic aromatic hydrocarbon treatment in soil [Text] / W. Aprill, R. C. Sims // Chemosphere. – 1990. – 20. – P. 253-265. doi: 10.1016/0045-6535(90)90100-8

Banks M. K. Degradation of crude oil in the rhizosphere of Sorghum bicolor [Text] / M. K. Banks, P. Kulakow, A. P. Schwab, Z. Chen, K. Rathbone // Intern. J. Phytoremediation. – 2003. – Vol. 5, № 3. – P. 225-234. doi: 10.1080/713779222.

Cunningham S. D. Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants [Text] / S. D. Cunningham, T. A. Anderson, A. P. Schwab, F. C. Hsu // Adv.Agron. – 1996. – Vol. 56. – P. 55- 114. doi: 10.1016/S0065-2113(08)60179-0.

Gerhardt K. E. Phytoremediation and rhizoremediation of organic soil contaminants: Potential and challenges [Text] / K. E. Gerhardt, X.-D. Huang, B. R Glick, B. M. Greenberg // Plant Science. – 2009. – 176 (1). – P. 20-30. doi: 10.1016/j.plantsci.2008.09.014.

Ilyina A. Isolation of soil bacteria for bioremediation of hydrocarbon contamination / A. Ilyina, M. I. Castillo Sanchez, J. A. Villarreal Sanchez, G. Ramirez Esquivel // Вестн. Моск. Ун-та. сер. 2. Химия. – 2003. – Т. 44, № 1 – С. 88-91.

Kaimi E. Screening of twelve plant species for phytoremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soil [Text] / E. Kaimi, T. Mukaidani, M. Tamaki // Plant Prod Sci. – 2007. – 10. – P. 211-218. doi: 10.1626/pps.10.211.

Lee E. H. Bioremediation of diesel contaminated soils by natural attenuation, Biostimulation and Bioaugmentation employing Rhodococcus sp. EH831 [Text] / E. H. Lee, Y. S. Kang, K.S. Cho // Korean J. Microbiol. Biotechnol. – 2011. – 39(1). – P. 86-92.

Merkl N. Assessment of tropical grasses and legumes for phytoremediation of petroleum-contaminated soils [Text] / N. Merkl, R. Schultze-Kroft, C. Infant // Water Air Soil Pollut. – 2005. – 165. – P. 195-209. doi: 10.1007/s11270-005-4979-y.

Rehan M. Frankia as a Biodegrading Agent / M. Rehan, E. Swanson, L.S. Tisa // Biochemistry, Genetics and Molecular Biology. – 2016. – Chapter 11. – P. 271-290.

Singh A. Advances in Applied Bioremediation (Soil Biology) [Text] / A. Singh, R. C. Kuhad, O. P. Ward. – Verlag Berl in Heidelberg, 2009. – 361 p.

Vasudevan N. Bioremediation of oil sludge-contaminated soil [Text] / N. Vasudevan, P. Rajaram // Environment International. – 2001. – Vol. 26. – P. 409-411. doi: 10.1016/S0160-4120(01)00020-4

REFERENCES

Andriyenko, M. V., Roman I. S. (1991). Rare fruit and berry plants. Kiev: Urozhay (in Ukrainian).

Aprill, W., Sims, R. C. (1990). Evaluation of the use of prairie grasses for stimulating polycyclic aromatic hydrocarbon treatment in soil. Chemosphere, 20 (1-2), 253–265. doi: 10.1016/0045-6535(90)90100-8.

Banks, M. K., Kulakow, P., Schwab, A. P., Chen, Z., Rathbone, K. (2003). Degradation of crude oil in the rhizosphere of *Sorghum bicolor*. International Journal of Phytoremediation, 5 (3), 225-234. doi: 10.1080/713779222

Cunningham, S. D., Anderson, T. A., Schwab, A. P., Hsu, F. C. (1996). Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. Advances in Agronomy, 56, 55-114. doi: 10.1016/s0065-2113(08)60179-0

Dmitriev, M.T., Kaznina,N. I., Pinigina I. A. (1989). The sanitary and chemical analysis of pollutants in the environment. Moscow: Chemistry (in Russian).

Dzhura, N. M. (2011). Prospects of oil polluted soils phytoremediation by *Faba bona* Medic. (*Vicia faba* L.) plants. Bulletin of Lviv University. Biology Series, 57, 117-124 (in Ukrainian).

Dzhura, N., Romanyuk, O., Honsyor, Ja., Tsvilynyuk, O., Terek, O. (2006). Using plants for restoration of the oil-cut soils. Ecology and Noospherology, 17 (1-2), 55-60 (in Ukrainian).

Dzhura, N., Tsvilynyuk, O., Terek, O. (2006). Reactions of *Carex hirta* L. under soils oil pollution. Bulletin of Lviv University. Biology Series,42, 142-146 (in Ukrainian).

Gerhardt, K. E., Huang, X.-D., Glick, B. R., Greenberg, B. M. (2009). Phytoremediation and rhizoremediation of organic soil contaminants: potential and challenges. Plant Science, 176 (1), 20–30. doi: 10.1016/j.plantsci.2008.09.014.

Gudz, P. C., Hnatush, S. O., Jaworski, G. V., Bilinsky, I. S., Borsukevych B. M. (2014). Workshop on microbiology. Lviv: Ivan Franko National University of Lviv, 436 (in Ukrainian).

Ilyina, A., Castillo Sanchez, M. I., Villarreal Sanchez, J. A., Ramirez Esquivel G. (2003). Isolation of soil bacteria for bioremediation of hydrocarbon contamination. Bulletin of Moscow University. Chemistry Series, 44(1), 88-91.

Kaimi, E., Mukaidani, T., Tamaki, M. (2007). Screening of Twelve Plant Species for Phytoremediation of Petroleum Hydrocarbon-Contaminated Soil. Plant Production Science, 10 (2), 211–218. doi: 10.1626/pps.10.211.

Kyreeva, N. A., Tarasenko, E. M., Bakaeva, M. D. (2004). Detoxification of oil-contaminated soils under crops of alfalfa (*Medicago sativa* L.). Agricultural Chemistry, 10, 68–72 (in Russian).

Lee, E. H., Kang, Y. S., Cho, K.S. (2011). Bioremediation of diesel contaminated soils by natural attenuation, Biostimulation and Bioaugmentation employing *Rhodococcus* sp. EH831. Korean J. Microbiol. Biotechnol, 39(1), 86-92.

Loginov, O. N., Silishhev, N. N., Bojko, T. F., Galimzyanova, N. F. (2000). Biotechnological methods of cleaning of the environment from technogenic pollution. Ufa, Russia: State publishing house of scientific and technical literature " Reaktiv "(in Russian).

Merkl, N., Schultze-Kraft, R., Infante, C. (2005). Assessment Of Tropical Grasses And Legumes For Phytoremediation Of Petroleum-Contaminated Soils. Water, Air, and Soil Pollution, 165 (1-4), 195–209. doi: 10.1007/s11270-005-4979-y.

Musienko, M. M., Parshikova, T. V., Slavny, P. S. (2001). Spectrophotometric methods in practice, physiology, biochemistry and plant ecology. Kiev: Fitosotsiotsentr (in Ukrainian).

Pausheva, Z. P. (1988). Practice on plant cytology. Moscow: Agroprom Izdat (in Russian).

Rehan, M., Swanson, E., Tisa, L. S. (2016). Frankia as a Biodegrading Agent. Chap. 11. Actinobacteria – Basics and Biotechnological Applications, 271–290. doi: 10.5772/61825

Romanyuk, O. et. al. (2008). Conduct environmental monitoring of groundwater, gas contamination of air and pollution of soils in the city Borislav. Lviv: Department of Physical Chemistry of Fossil Fuels InPOCC NAS of Ukraine (in Ukrainian).

Romanyuk, O. et. al. (2009). Environmental monitoring in the area of ozokerite of mine. Lviv: Department of Physical Chemistry of Fossil Fuels InPOCC NAS of Ukraine (in Ukrainian).

Segi, J. (1983). Methods of soil microbiology. Moscow: Kolos, 107-109 (in Russian).

Shevchik, L., Romaniuk, O. (2014). Researching regularities of influence of oil on the initial growth parameters of test-objects plants. Bulletin of Lviv University. Biology Series, 67, 129-137 (in Ukrainian).

Singh, A., Kuhad, R. C., Ward, O. P. (2009). Advances in Applied Bioremediation (Soil Biology). Verlag Berl in Heidelberg.

Treshchevskyy, Y. V. (2010). Soil-improving role of protective plantings on the reclaimed land of Lebedinsky GOK of the Kursk magnetic anomaly. Kursk (in Russian).

Vasudevan, N., Rajaram, P. (2001). Bioremediation of oil sludge-contaminated soil. Environment International, 26, 409-411. doi: 10.1016/S0160-4120(01)00020-4.

Velichko, O. I. (2011). Content of nitrate nitrogen in soil and soybean plants under conditions of soil contamination by oil. Lviv: Scientific Bulletin of UNFU, 21(16), 351-354 (in Ukraine).

Velkov, V. V. (1995). Bioremediation: principles, problems, approaches. Biotechnology, 3-4, 70–76. (in Russian).