

## БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ПУЛУ ОРГАНІЧНОГО КАРБОНУ В НАФТОЗАБРУДНЕНОМУ ҐРУНТІ У ПРОЦЕСІ ФІТОРЕМЕДІАЦІЇ

М. Мекіч\*, Л. Буньо, О. Терек

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна  
e-mail: horon.marta@gmail.com*

В умовах мікроділянкового експерименту досліджено вплив фіторемедіації нафтового забруднення ґрунту на вміст різних форм органічного Карбону у ґрунті. Як ремедіанти вирощували рослини кукурудзи (*Zea mays* L.) сорту Закарпатська жовта зубоподібна та бобу кормового (*Vicia faba* var. Minor). Тривалість дослідження деградації нафти 95 днів, із яких перші 22 дні без рослин. Біохімічні та хімічні характеристики ґрунту, такі як ґрунтова мікробна біомаса ( $C_{\text{biom}}$ ), інтенсивність дихання ґрунту ( $V_{\text{basal}}$ ), метаболічний коефіцієнт ( $q\text{CO}_2$ ), коефіцієнт мікробного дихання ( $Q_r$ ), вміст органічного Карбону ( $C_{\text{org}}$ ), концентрація вуглеводнів нафти, були використані як індикатори змін пулу органічного Карбону ґрунту.

Встановлено негативний вплив нафтового забруднення ґрунту на розвиток досліджуваних рослин. Показано значний стимулювальний вплив нафти і рослин на  $C_{\text{biom}}$  та  $V_{\text{basal}}$ , порівняно з контролем. За дії нафти зростали також значення екофізіологічних параметрів –  $q\text{CO}_2$  та  $Q_r$ , тоді як вплив рослин-фіторемедіантів не був достовірним. Збільшення значення  $Q_r$  у нафтозабрудненому ґрунті, порівняно із ґрунтом без нафти, свідчить про менший дефіцит С. Тенденція до зменшення значень  $Q_r$  та  $q\text{CO}_2$  протягом досліджуваного періоду для нафтозабрудненого ґрунту є ознакою відновлення балансу в екосистемі. За результатами трифакторного дисперсійного аналізу встановлено ефекти взаємодії між факторами нафта–рослина–час. Виявлено, що ефект впливу рослин на  $C_{\text{biom}}$  та  $V_{\text{basal}}$  зростав за дії нафти і на  $C_{\text{biom}}$  – з часом, що свідчить про інтенсифікацію утилізації органічного Карбону нафти мікробіотою.

Внесення нафти у ґрунт призвело до зростання вмісту органічного Карбону майже утричі порівняно із ґрунтом без нафти. На 95-ту добу досліді вміст органічного Карбону ґрунту знижувався у всіх варіантах, що пов'язано з деструкцією нафти і процесами дегуміфікації. Концентрація нафти у ґрунті зменшилася на 45 % протягом усіх 3 місяців досліді, порівняно з початковим забрудненням, тоді як рослини не мали достовірного впливу. Очевидно, залишкова концентрація нафтопродуктів у ґрунті не завжди слугує чутливим індикатором ефективності проведеної ремедіації, тоді як біохімічні параметри, зокрема  $C_{\text{biom}}$  та  $V_{\text{basal}}$ , чутливіше реагують на вплив фіторемедіації нафтового забруднення ґрунту.

*Ключові слова:* нафтове забруднення, фіторемедіація, органічний Карбон ґрунту, біологічна активність ґрунту

Сукупність живої біомаси та решток рослин, тварин і мікроорганізмів різного ступеня трансформації складає органічну речовину ґрунту, яка визначає якість ґрунту [5, 11]. Розрізняють різні форми органічної речовини у ґрунті: лабільну та стабільну. За тривалістю циклу деградація-синтез органічної речовини ґрунту виділяють три пули: лабільний пул – від кількох діб до одного року, повільний пул – десятки років, пасивний пул – тисячі років [11, 24].

Кореневі виділення рослин, відмерла біомаса, яка легко розкладається, та мікроорганізми становлять лабільний, або активний, пул органічної речовини ґрунту.

Активний пул органічної речовини є головним джерелом енергії та елементів живлення для мікроорганізмів [11]. Основним показником інтенсивності руху Карбону в лабільному пулі із ґрунту в атмосферу є ґрунтове дихання. Основними продуцентами  $\text{CO}_2$  є корені рослин, мікоризна мікрофлора та гетеротрофні мікроорганізми, а основним субстратом – органічна речовина, яка легко розкладається [32]. Дихання ґрунту без збагачення доступними джерелами енергії називають базальним, або фоновим ( $V_{\text{basal}}$ ), а після збагачення ґрунту глюкозою та іншими мінеральними сполуками ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{NH}_4\text{SO}_2$ ) – субстрат-індукованим диханням, або потенційним ( $V_{\text{sir}}$ ) [15]. Ґрунтова мікробна біомаса ( $C_{\text{biom}}$ ) та інтенсивність дихання ґрунту належать до індикаторів біологічної активності ґрунту. За їхньою допомогою розраховують інтегральні екофізіологічні параметри: метаболічний коефіцієнт або питому дихальну активність ґрунтової мікробіоти ( $q\text{CO}_2 = V_{\text{basal}}/C_{\text{biom}}$ ) і коефіцієнт мікробного дихання ( $Q_r = V_{\text{basal}}/V_{\text{sir}}$ ) [10, 15].

Повільний пул відіграє важливу роль у підтриманні стабільності вмісту органічного Карбону у ґрунті. Цей запас включає сильно розкладені органічні рештки та продукти гуміфікації. За відсутності надходження органічних залишків у ґрунт запаси органічної речовини стабілізуються на певному нижньому рівні, на якому не розкладаються повністю. Це свідчить про наявність більш стабільних органічних сполук Карбону із кругообігом у сотні років, що формують гумус [5, 24]. Вміст гумусу в ґрунті належить до стабільних характеристик певного типу ґрунту, який сформувався під впливом набору специфічних факторів: клімат, рельєф, рослинність, материнська порода [30].

Поклади нафти й вугілля теж належать до сильно стабілізованого, або інертного, пулу Карбону і можуть зберігатись у ґрунті мільйони років. Однак за потрапляння на поверхню ґрунту вуглеводні нафти швидко зазнають деградації за участю мікроорганізмів, поповнюючи таким чином лабільний пул Карбону [12]. Це запускає низку процесів, які мають довготривалий негативний вплив на баланс органічної речовини у ґрунті. Перш за все, легкодоступний Карбон вуглеводнів призводить до швидкого розмноження вуглеводнеоокислювальних бактерій, чисельність яких може зростати в тисячі разів [19]. По-друге, Карбон нафти спричинює зростання співвідношення C/N у ґрунті, призводячи до дефіциту N. За участю бактерій відбувається іммобілізація доступного Нітрогену та поповнення потреби в N шляхом мінералізації органічної речовини ґрунту [25].

Крім того, нафтове забруднення супроводжується збідненням або зникненням рослинного покриву [14]. Зникнення рослин як основного продуцента органічної речовини ґрунту призводить до гострого порушення балансу органічного Карбону. Тому одним із напрямів відновлення нафтозабруднених ґрунтів є проведення фіторемедіації. Основні механізми впливу рослин на стан нафтозабруднених ґрунтів полягають у стимулюванні активності мікрофлори [2, 6], покращенні фізико-хімічних властивостей ґрунту [3, 7]. Відомо, що внесення у ґрунт свіжої біомаси рослин або у вигляді соломи теж стимулює мікробіологічну активність та інтенсивність деградації нафтопродуктів [19]. Таким чином рослини оптимізують процеси очищення нафтозабруднених ґрунтів, сприяючи також відновленню балансу органічної речовини у ґрунті.

З метою ремедіації нафтозабрудненого ґрунту ми використовували рослини кукурудзи (*Zea mays* L.) сорту Закарпатська жовта зубоподібна та бобу кормового (*Vicia faba* var. Minor). Відомо, що ці види рослин є толерантними до дії нафтового забруднення [6, 21, 27]. Завданням нашого дослідження було оцінити вплив нафти і фіторемедіації на:

1) запаси органічного Карбону у ґрунті ( $C_{\text{org}}$ ) як індикатора родючості та якості ґрунту;

- 2) лабільний пул Карбону ( $C_{\text{biom}}$ ) як найбільш чутливої ланки колообігу Карбону;
- 3) інтенсивність мікробіологічних процесів, пов'язаних із деградацією органічних сполук Карбону ( $V_{\text{basal}}$ );
- 4) екофізіологічні параметри ( $q\text{CO}_2$  та  $Q_r$ ) для оцінки збалансованості процесів мінералізації органічної речовини.

#### Матеріали та методи

**Схема досліджу.** Нами було закладено дрібноділянковий дослід у польових умовах (м. Судова Вишня). Розмір ділянки  $1 \times 0,5 \times 0,25$  м у трьох повторностях. Дно ділянки вистеляли поліетиленовою плівкою з прорізами. Яму засипали ґрунтом (вологість 13,4 %) і перемішували з нафтою (густина нафти  $0,87 \text{ г/см}^3$ ) у кількості 50 мл на кг ґрунту, що відповідає концентрації 4,2 % (маса нафти до маси ґрунту). Контролем слугував ґрунт без внесення нафти. На 22-гу добу після внесення нафти висівали насіння рослин кукурудзи та бобу. Проби ґрунту відбирали на 22-гу, 65-ту (4 тижні вегетації рослин) і 95-ту (8 тижнів вегетації рослин) добу після внесення нафти. Досліджували вплив трьох факторів: нафтове забруднення (нафта), фітореMediaція (рослини), термін деструкції нафти (час).

**Варіанти досліджуваних проб ґрунту:** 1) контроль – ґрунт без нафти і без рослин; 2) ґрунт без нафти з рослинами *Z. mays*; 3) ґрунт без нафти з рослинами *V. faba*; 4) нафтозабруднений ґрунт без рослин; 5) нафтозабруднений ґрунт із рослинами *Z. mays*; 6) нафтозабруднений ґрунт із рослинами *V. faba*.

Розміщення ділянок із нафтою – шахматне – для того, щоб забезпечити рівномірний вплив нафтового забруднення (випаровування токсичних вуглеводнів) на варіанти без нафти; розміщення ділянок із рослинами – рендомізоване [8].

Проби ґрунту відбирали на глибині 3–7 см із кореневмісного шару ґрунту і на відповідній глибині у варіантах без рослин. З кожної ділянки досліджу брали одну змішану пробу, яку готували із 5 індивідуальних проб, відібраних методом конверта. Зразки ґрунту готували відповідно до методики аналізу [13]. У пробах ґрунту визначали: інтенсивність дихання ґрунту ( $V_{\text{basal}}$ ), ґрунтову мікробну біомасу ( $C_{\text{biom}}$ ), метаболічний коефіцієнт ( $q\text{CO}_2$ ), коефіцієнт мікробного дихання ( $Q_r$ ), вміст органічного Карбону ( $C_{\text{opr}}$ ), концентрацію вуглеводнів нафти.

Визначення  $V_{\text{basal}}$  та  $V_{\text{sir}}$  проводили методом адсорбції вуглекислого газу  $0,1 \text{ М}$  розчином КОН і відтитруванням залишку луґу НСІ. Для встановлення  $V_{\text{sir}}$  до  $40 \text{ г}$  вологого зразка ґрунту додавали  $2 \text{ мл}$  концентрованої глюкозо-мінеральної суміші, яка містить  $200 \text{ мг}$  глюкози,  $20 \text{ мг}$   $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $20 \text{ мг}$   $\text{NH}_4\text{SO}_2$  в  $1 \text{ мл}$  розчину.  $C_{\text{biom}}$  розраховували за величиною  $V_{\text{sir}}$  [17],  $C_{\text{opr}}$  – шляхом мокрого озонення за методикою Тюріна [13], концентрацію вуглеводнів нафти – методом спалювання [1],  $q\text{CO}_2$  – за співвідношенням  $V_{\text{basal}}/C_{\text{biom}}$  і  $Q_r = V_{\text{basal}}/V_{\text{sir}}$  [15].

**Статистичні методи.** Отримані дані було опрацьовано за допомогою серій дисперсійного аналізу:

1) двофакторний дисперсійний аналіз для оцінки впливу терміну деструкції нафти і нафтового забруднення ґрунту на ознаки біологічної активності ґрунту за експериментальними даними для 22-ї, 65-ї та 95-ї доби досліджень;

2) двофакторний дисперсійний аналіз для оцінки впливу нафтового забруднення ґрунту і фітореMediaції на ознаки біологічної активності ґрунту; виконано по 2 серії двофакторного дисперсійного аналізу для кожного з показників за експериментальними даними для 65-ї та 95-ї доби досліджень;

3) трифакторний дисперсійний аналіз для оцінки впливу нафтового забруднення ґрунту, фітореMediaції й терміну деструкції нафти на ознаки біологічної активності ґрунту за експериментальними даними для 65-ї та 95-ї доби досліджень,

4) однофакторний дисперсійний аналіз для оцінки простого ефекту впливу рослин на показники біологічної активності ґрунту.

Для опрацювання даних використовували мову програмування R, створену спеціально для статистичного аналізу даних. Оцінка достовірності впливу фокусного фактора й ефекту взаємодії проводилася за критерієм F-Фішера. Обчислювали простий ефект впливу (simple effect  $\eta^2$ ) – показник частки мінливості результативної ознаки, зумовленої досліджуваним фактором А для кожного рівня фактора Б, за даними дисперсійного аналізу за формулою:

$\eta^2 = SS_{\text{effect}} / (SS_{\text{effect}} + SS_{\text{residuals}})$ , де  $SS_{\text{effect}}$  – міжгрупова сума квадратів відхилень для фокусного фактора,  $SS_{\text{residuals}}$  – внутрішньогрупова сума квадратів відхилень. Для порівняння середніх значень варіантів проведено тест Tukey's HSD [29].

### Результати і їхнє обговорення

**Інтенсивність дихання** належить до чутливих індикаторів якості ґрунту, його біологічної активності [17]. З'ясовано, що  $V_{\text{basal}}$  залежить від кількості та якості легкодоступного джерела Карбону [20], метаболічної активності рослин і мікроорганізмів [20, 32], температури та вологості ґрунту [15].

Нами встановлено, що на початкових етапах забруднення ґрунту (22-га доба) інтенсивність дихання зростала за дії нафти майже утричі порівняно з контролем, а на 65-ту та 95-ту добу значення  $V_{\text{basal}}$  було більшим, відповідно, у 5,7 та 7,2 разу щодо контролю. Рослини теж мали стимулювальний вплив на  $V_{\text{basal}}$  (табл. 1).

Таблиця 1

Інтенсивність дихання нафтозабрудненого ґрунту ( $\text{мкг C-CO}_2 \times \text{г}^{-1} \times \text{год}^{-1}$ )

Варіанти	Доба деструкції нафти			
	22-га доба	65-га доба	95-га доба	
Ґрунт без нафти	Без рослин			
	Кукурудза	2,50±0,23a	1,99±0,35a	4,44±0,50b
	Біб		4,50±0,10b	1,98±0,23a
Ґрунт + нафта	Без рослин			
	Кукурудза	6,47±0,22f	4,65±1,50b	3,35±0,60a
	Біб		11,35±0,53c	18,30±2,70d
			17,90±0,57d	22,7±2,23e
			17,45±0,11d	24,00±1,10e

**Примітка:** значення з однаковими буквеними позначеннями статистично не відрізняються між собою ( $p < 0,05$ )

Нафтове забруднення, як правило, виявляє стимулювальний вплив на інтенсивність дихання ґрунту, що пов'язано з надходженням додаткового джерела Карбону – вуглеводнів. Встановлено, що  $V_{\text{basal}}$  значно зросло для супіщаного ґрунту, забрудненого дизельним паливом у концентрації 10 г/кг ґрунту протягом перших 100 днів після забруднення [31]. Зростання інтенсивності дихання – це неспецифічна реакція на стрес [23].

Рослини створюють сприятливі умови для розвитку мікроорганізмів і збільшення їхньої активності завдяки секреції поживних речовин коренями, покращення властивостей ґрунту, поповнення запасів відмерлої органіки. Досліджено [32], що у прикореневій зоні рослин інтенсивність ґрунтового “дихання” тісно пов'язана з ростом і розвитком рослин і залежить від фаз їхньої вегетації. Відомо, що такі фази розвитку кукурудзи, як проростання, елонгація та викидання волоті, супроводжуються зростанням видового різноманіття мікрофлори ризосфери. Тоді як у фазах закінчення цвітіння та достигання зерен чисельність майже всіх груп мікроорганізмів зменшується [22]. У нашому досліді рослини *Z. mays* на 4-й тиждень вегетації перебували на ювенільному етапі розвитку (у контролі домінувала фаза 6 листків (V6), за дії нафти – 5 листків (V5). На 95-ту добу в контролі спостерігали перехід рослин у генеративний етап у контролі (викидання волотей), тоді як за дії нафти генеративних органів не було.

Для рослин *V. faba* на 4-й тиждень вегетації відмічено генеративний етап у контролі (цвітіння, V8), а за дії нафти рослини перебували ще на ювенільному етапі (V6-7). Через 8 тижнів вегетації у контролі спостерігалось завершення фази цвітіння, утворення зелених бобів, а за дії нафти – цвітіння. Для обох видів рослин-фіторемедіантів спостерігали відставання фаз розвитку за дії нафти порівняно із ґрунтом без нафти.

Ґрунтова мікробна біомаса є водночас пулом органічної речовини і активним агентом колообігу Карбону [25]. Значення мікробної біомаси, визначені методом субстрат-індукованого дихання, представляють активну ґрунтову біомасу [17].

Таблиця 2

Вміст ґрунтової мікробної біомаси у нафтозабрудненому ґрунті (мг  $C_{biom} \times g^{-1}$ )

Варіанти	Доба деструкції нафти			
	22-га доба	65-та доба	95-та доба	
Ґрунт без нафти	Без рослин	1,03±0,04a	1,03±0,21a	1,97±0,05c
	Кукурудза		1,59±0,21b	2,40±0,04e
	Біб		1,72±0,12b	2,55±0,18e
Ґрунт + нафта	Без рослин		1,27±0,13abd	3,04±0,06f
	Кукурудза	1,37±0,04d	2,63±0,32e	3,33±0,08g
	Біб		2,90±0,46e	3,62±0,05g

**Примітка:** значення з однаковими буквеними позначеннями статистично не відрізняються між собою ( $p < 0,05$ )

Встановлено, що у ґрунті без рослин значення  $C_{biom}$  зростало за дії нафти на 22-гу добу на 7 % порівняно з контролем, на 65-ту добу поверталось до рівня контролю, а на 95-ту добу знову зростало на 54 % щодо контролю (табл. 2). Встановлено флуктацію значень ґрунтової мікробної біомаси (тривалість 105 днів) під час забруднення нафтовими вуглеводнями у концентрації 7,5 г/кг ґрунту [26]. Для фактора “рослини” теж виявлено достовірний стимулювальний вплив на біомасу мікроорганізмів. Більшістю досліджень виявлено зростання чисельності й активності ґрунтової вуглеводнеокислювальної мікрофлори у відповідь на нафтове забруднення [16, 28].

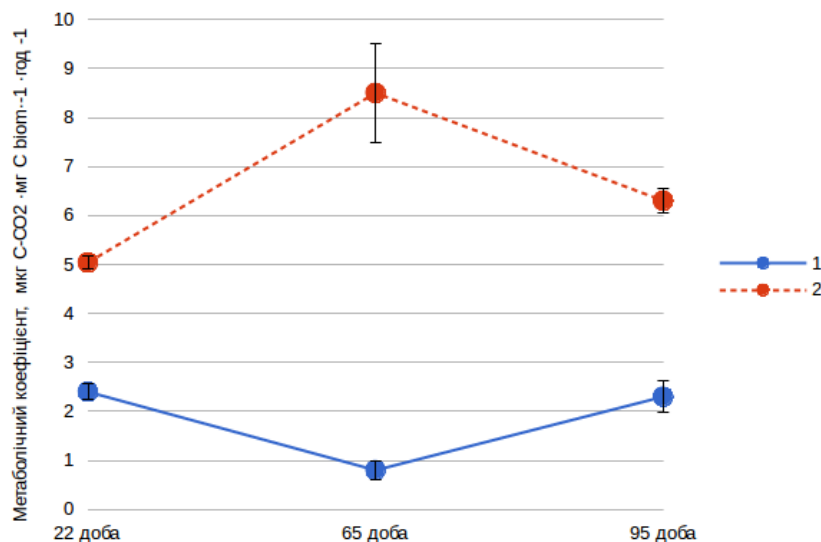
**Екофізіологічні параметри.** Загальна тенденція зростання  $V_{basal}$  та  $C_{biom}$  за впливу нафти важко піддається оцінці з точки зору загального стану екосистеми. Зростання інтенсивності дихання свідчить про інтенсифікацію мінералізаційних процесів у екосистемі, що, залежно від інших факторів, може мати позитивний або руйнівний вплив на розвиток екосистеми [9]. Вважається, що  $V_{basal}$  є хорошим індикатором метаболізму екосистеми, але поганим індикатором змін запасів пасивного пулу Карбону в ґрунті [32]. Для характеристики процесів мінералізації органічної речовини у природних екосистемах і її змін під впливом ендо- чи екзогенних факторів використовують екофізіологічні характеристики, зокрема,  $Q_r$  і  $qCO_2$  [15]. Вважається, що органічний Карбон ґрунту належить до лімітуючих факторів дихання. Якщо значення  $Q_r$  близьке до 1, то мікробне дихання не лімітується доступним Карбоном, менше 1 – Карбон є лімітуючим фактором інтенсивності дихання [20].

За результатами нашого дослідження значення коефіцієнта мікробного дихання було меншим 1 у всіх досліджуваних варіантах і зменшувалося з часом: на 22-гу добу для ґрунту без нафти  $Q_r = 0,14 \pm 0,01$ , для нафтозабрудненого ґрунту –  $Q_r = 0,40 \pm 0,02$ , на 65-ту добу, відповідно,  $0,17 \pm 0,06$  та  $0,49 \pm 0,04$ , на 95-ту добу, відповідно,  $0,13 \pm 0,01$  та  $0,23 \pm 0,05$ .

Таким чином, у всіх варіантах органічний Карбон був лімітуючим фактором інтенсивності дихання. Проте завдяки вуглеводням нафти дефіцит С був меншим. Зменшення значень  $Q_r$  для всіх варіантів ділянок із часом свідчить про вичерпання запасів доступного Карбону.

У ризоплані та ризосфері створюються умови постійного надходження сполук Карбону, які продукуються корінням рослин. Як наслідок зростає щільність мікробної популяції та формується особливий склад мікрофлори [18]. За результатами нашого дослідження значення  $Q_r$  для кореневмісного шару ґрунту і ґрунту без рослин не відрізнялися. Хоча, згідно з літературними даними, значення  $Q_r$  у ризоплані та ризосфері рослин *Triticum aestivum* L. було близьке до 1 (дослід у горщиках, ґрунт не забруднений) [20]. У нашому дослідженні відсутність значущого впливу рослин, очевидно, пов'язана з особливостями відбору проб ґрунту, зокрема, тривалістю преінкубації ґрунту і віддаленістю від коріння. Так, встановлено, що значення  $V_{\text{basal}}$  знижуються після відокремлення ґрунту від коріння: швидше у ризосферному ґрунті та повільніше у ґрунті без коріння, що свідчить про вичерпування запасів Карбону мікроорганізмами [20].

Для метаболічного коефіцієнта відмічено зростання його за дії нафти порівняно із контрольним варіантом протягом усього досліджуваного періоду (див. рисунок). Вплив рослин на  $q\text{CO}_2$  не був статистично достовірний. Найбільше значення  $q\text{CO}_2$  відмічено на 65-ту добу, що пов'язано зі зменшенням  $C_{\text{biom}}$  і може свідчити про найбільш несприятливі умови для мікробіоти.



Вплив нафтового забруднення на метаболічний коефіцієнт мікробіоти ґрунту; 1 – контроль, 2 – ґрунт+нафта

За теорією Ю. Одума, екосистема прямує до зменшення значення метаболічного коефіцієнта. Зростання  $Q_r$ , як і  $q\text{CO}_2$ , свідчить про порушення в екосистемі [20]. Нафтове забруднення призводить до зміни балансу процесів мінералізації щодо біомаси ґрунтової мікробіоти. Тенденція до зменшення значень екофізіологічних параметрів із часом свідчить про відновлення екосистеми.

**Частки впливу досліджуваних факторів і ефекти взаємодії.** Під час дослідження сумісної дії кількох факторів можливий ефект взаємодії, коли вплив досліджуваного фактора залежить від рівня впливу іншого. Тому під час дослідження впливу нафтового забруднення на біологічну активність ґрунту важливо враховувати ефекти взаємодії між факторами. Встановлено синергетичний ефект взаємодії між факторами “нафта” і “рослини”. Простий ефект впливу (simple effect  $\eta_2$ ) рослин на  $V_{\text{basal}}$  зростав за дії нафти

порівняно із ґрунтом без нафти: на 65-ту добу із 72 до 89 %, на 95-ту добу – із 49 до 53 %. Для ознаки  $C_{\text{biom}}$  встановлено достовірний синергетичний ефект взаємодії між факторами “нафта” і “час”. Ефект впливу нафти зростав від 77 % на 10-ту добу до 94 % на 95-ту добу. Встановлено також взаємодію факторів нафта-рослини-час. Унаслідок цього простий ефект впливу рослин на  $C_{\text{biom}}$  зростав з часом із 37 до 64 % для ґрунту без нафти і з 61 до 67 % для нафтозабрудненого ґрунту.

Такий ефект підсилення, очевидно, виникає за сумісної дії двох факторів – нафти і рослин – на мікроорганізми. Останні можуть інтенсивніше використовувати вуглеводні нафти “за сприяння” рослин. Таке явище позитивно впливає на процес біоремедіації. Досліджено, що нафтові виливи зазнають деградації значно швидше за умови вегетації рослин, ніж за її відсутності [7, 26].

Для характеристики стабільного пулу органічної речовини ґрунту використовують як показник вмісту органічного Карбону, з якого за допомогою коефіцієнта обчислюють вміст гумусу [13]. Нами встановлено, що у ґрунті без нафти вміст органічного Карбону становив 1,36 % (табл. 3), а вміст гумусу – 2,34 %, що характеризує ґрунт як низькогумусний [10].

Внесення нафти у ґрунт призвело до зростання вмісту органічного Карбону майже утричі порівняно з ґрунтом без нафти (табл. 3). Джерелом такого зростання є Карбон нафти, який становить 83–87 % складу нафти [12].

Таблиця 3

## Вміст органічного Карбону у ґрунті, %

Варіант	Доба деструкції нафти (термін відбору проб ґрунту)	
	22-га доба	95-та доба
Ґрунт без нафти	Без рослин	1,13±0,04c
	Кукурудза	1,11±0,07c
	Біб	1,11±0,05c
Ґрунт + нафта	Без рослин	3,23±0,22d
	Кукурудза	3,14±0,10d
	Біб	3,29±0,07d

**Примітка:** значення з однаковими буквеними позначеннями не відрізняються статистично між собою ( $p < 0,05$ )

На 95-ту добу деструкції нафти вміст органічного Карбону ґрунту знижувався у всіх варіантах. Для ґрунтів без нафти це зниження становило 0,23–0,25 %, порівняно із вихідним значенням (22-га доба). Зниження вмісту  $C_{\text{орг}}$  пов’язане зі зниженням запасів гумусу в ґрунті унаслідок процесів дегуміфікації.

За дії нафти зниження вмісту  $C_{\text{орг}}$  у ґрунтах перебувало в межах 0,46–0,61 %, порівняно із початковим значенням. Такий результат є сумарним значенням двох процесів: дегуміфікації та деструкції вуглеводнів нафти. Також потрапляння легкодоступної органічної речовини у ґрунт у вигляді вуглеводнів нафти може сильно збільшувати розклад дуже стабільних форм С завдяки явищу праймін ефекту (priming effect). Суть феномена полягає у зміні трансформації органічної речовини ґрунту (пришвидшення або гальмування) у відповідь на внесення легкодоступного субстрату, порівняно із ґрунтом без додатків. Основним механізмом праймін ефекту є зростання активності мікроорганізмів у відповідь на внесення легкодоступного субстрату [5, 19, 25]. Вплив рослин на стабільний пул Карбону є відчутним лише у довготривалій часовій перспективі.

**Вміст нафти у ґрунті.** Відомо, що концентрація нафти у ґрунті після забруднення поступово знижується внаслідок процесів деградації, випаровування та вимивання.

Результатами нашого дослідження встановлено, що концентрація нафти у ґрунті без рослин знижувалася: на 36 % протягом перших 2 місяців і на 45 % протягом усіх 3

місяців досліджу, порівняно з початковим забрудненням (табл. 4). Подібні рівні зниження вмісту нафти виявлено і в інших дослідженнях [12, 31], що пов'язують перш за все із випаровуванням летких фракцій нафти і біодеградацією легкодоступних вуглеводнів.

Таблиця 4

## Вміст нафти у ґрунті, %

Варіанти	Доба деструкції нафти			
	Вихідне забруднення	22-га доба	65-та доба	95-та доба
Ґрунт із нафтою без рослин			2,6±0,2a	2,3±0,2b
Ґрунт із нафтою з рослинами <i>Z. mays</i>	4,2	3,9±0,1	2,3±0,1a	2,1±0,2b
Ґрунт із нафтою з рослинами <i>V. faba</i>			2,4±0,1a	2,0±0,1b

**Примітка:** значення з однаковими буквеними позначеннями не відрізняються статистично між собою ( $p < 0,05$ )

Концентрація нафти у варіантах із рослинами теж знижувалася, але не відрізнялася достовірно від нафтозабрудненого ґрунту без рослин ( $p < 0,3$ ). Вплив рослин на зменшення концентрації нафтопродуктів у ґрунті встановлено для таких видів як *Carex hirta* L., *Vicia faba* var. Minor, *Zea mays* L. [6, 27]. Проте величина різниці залишкової концентрації нафтопродуктів між ґрунтом без рослин і з рослинами залежала від таких факторів як внесення добрив, рівень забруднення. Слід відмітити, що за високих концентрацій нафтового забруднення вирощування рослин, навпаки, призводило до зниження рівнів деструкції нафтопродуктів. Це пов'язують із явищем негативної взаємодії між мікроорганізмами-деструкторами та рослинами завдяки конкуренції за основні елементи живлення [28]. Залишкова концентрація нафтопродуктів у ґрунті не завжди слугує чутливим індикатором ефективності проведеної ремедіації.

Таким чином, нафтове забруднення призводить до збільшення вмісту органічного Карбону у ґрунті, поповнюючи лабільний пул органічної речовини. Рослини відстають у фазах розвитку за дії нафти, порівняно з незабрудненим ґрунтом. Інтенсивність дихання ґрунту і ґрунтова мікробна біомаса зростають у нафтозабрудненому ґрунті. Досліджувані фіторемедіанти стимулюють показники біологічної активності ґрунту –  $V_{\text{basal}}$  та  $C_{\text{biom}}$ .

Збільшення значень екофізіологічних параметрів  $q\text{CO}_2$  та  $Q_r$  для нафтозабрудненого ґрунту, очевидно, свідчить про дестабілізацію активності мікробіоти і мінералізаційних процесів органіки.

За результатами дисперсійного аналізу встановлено ефекти взаємодії для досліджуваних факторів: 1) зростання впливу рослин на  $V_{\text{basal}}$  за дії нафти та на  $C_{\text{biom}}$  за сумісної дії нафти і часу 2) зростання впливу нафти на  $C_{\text{biom}}$  за дії часу.

Як індикатори впливу нафтового забруднення на стан органічної речовини ґрунту доцільно використовувати хімічні показники (вміст органічного Карбону, вміст нафти у ґрунті) й біохімічні (інтенсивність дихання ґрунту, ґрунтова мікробна біомаса, коефіцієнт мікробного дихання, метаболічний коефіцієнт), тоді як для впливу фіторемедіації для досліджуваних умов – лише  $V_{\text{basal}}$ ,  $C_{\text{biom}}$ . За індикації та фіторемедіації треба враховувати ефекти взаємодії між факторами.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бетелев Н. П. Методы определения загрязнения ґрунтов углеводородами // Геоэкология. Инженерная геология. Гидрогеология. Геокриология. 1998. № 1. 121 с.
2. Буньо Л. В., Цвілинюк О. М., Микієвич І. М. та ін. Активність мікрофлори нафтозабрудненого ґрунту у ризосферній зоні рослин *Carex hirta* L. // Біологічні Студії. 2010. Вип. 4 (3). С. 55–62.



3. Буньо Л. В., Цвілинюк О. М., Терек О. І. Вміст недоступної води для рослин-фітомеліорантів *Carex hirta* L. у нафтозабрудненому ґрунті // Агробіологія. 2014. № 2. С. 55–59.
4. Величко О. І. Роль білків в адаптації рослин конюшини лучної, інокульованої *Rhizobium leguminosarum* bv. trifolii, до умов нафтозабрудненого ґрунту // Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол. 2014. № 3 (60). С. 58–60.
5. Гамкало З. Г. Екологічна якість ґрунту: навч. посіб. Львів: Вид. центр ЛНУ ім. І. Франка, 2008. 232 с.
6. Джура Н. М., Мороз О. М., Русин І. Б. та ін. Вплив рослин бобу кормового (*Vicia faba* var. minor) на функціонування мікробних асоціацій метаболізму азоту в забрудненому нафтою ґрунті // Ґрунтознавство. 2010. Т. 11. № 3–4. С. 105–112.
7. Джура Н. М., Романюк О. І., Гонсьор Ян та ін. Використання рослин для рекультиватії ґрунтів, забруднених нафтою і нафтопродуктами // Екологія та ноосферологія. 2006. Т. 17. № 1–2. С. 55–60.
8. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). М.: Агропромиздат, 1985. 51 с.
9. Звягинцев Д. І., Бабьева І. П., Зенова Г. М. Біологія почв: учебник. М.: Изд-во МГУ, 2005. 445 с.
10. Казеев К. Ш., Колесников С. И., Вальков В. Ф. Биологическая диагностика и индикация почв: методология и методы исследований. Ростов-на-Дону: Изд-во Рост. ун-та, 2003. 204 с.
11. Партика Т. В., Гамкало З. Г., Бедернічек Т. Ю. Застосування методу багатоступеневого хемодеструкційного фракціонування для оцінки якісного складу органічної речовини ґрунтів // Передгірне та гірське землеробство і тваринництво. 2015. Вип. 58 (II). С. 78–86.
12. Пиковский Ю. И. Трансформация техногенных потоков нефти в почвенных экосистемах // Восстановление нефтезагрязненных почвенных экосистем. М.: Наука, 1988. С. 7–22.
13. Практикум по агрохимии: учеб. пособ. 2-е изд. / под ред. акад. В.Г. Менеева. М.: Изд-во МГУ, 2001. 689 с.
14. Цайтлер М. Й. Відновлення рослинного покриву і зміни структури ценопопуляцій трав'яних рослин на нафтозабруднених територіях Бориславського нафтового родовища: автореф. дис. ... канд. біол. наук. Дніпропетровськ, 2001. 16 с.
15. Шпаківська І. М. Екофізіологічні параметри ґрунтових мікроорганізмів буроземів бореального ряду на верхній межі лісу Чорногори (Українські Карпати) // Наукові основи збереження біотичної різноманітності. 2010. Т. 1 (8). № 1. С. 307–322.
16. Bahrampour T., Moghanlo V. Evaluation of soil biological activity after soil contaminating by crude oil // Int. J. Agr. Res. Review. 2012. Vol. 2. N 6. P. 671–679.
17. Bloem J., Hopkins D. W., Benedetti A. Microbiological methods for assessing soil quality. Wallingford: CABI Publishing, 2005. 300 p.
18. Cavaglieria L., Orlando J., Etcheverrya M. Rhizosphere microbial community structure at different maize plant growth stages and root locations // Microbiol. Res. 2009. Vol. 164. P. 391–399.
19. Chaineau C. H., Mor J. L., Oudo J. Biodegradation of fuel oil hydrocarbons in the rhizosphere of maize // J. Environ. Qual. 2000. Vol. 569. P. 3–88.
20. Cheng W., Zhang Q., Coleman D. C. et al. Is limiting microbial respiration in the rhizosphere? // Soil Biol. Biochem. 1996. Vol. 28. P. 1283–1288.

21. Diab A. E. Phytoremediation of oil contaminated desert soil using the rhizosphere effects // GJER. 2008. Vol. 2 (2). P. 66–73.
22. Edwards J. Maize growth & development. State of New South Wales: NSW Department of Primary Industries, 2009. 148 p.
23. Franco I., Contin M., Bragato G., De Nobili M. Microbiological resilience of soils contaminated with crude oil // Geoderma. 2004. Vol. 121. P. 17–30.
24. Gleixner G. Soil organic matter dynamics: a biological perspective derived from the use of compound-specific isotopes studies // Ecol. Res. 2013. Vol. 28. P. 683–695.
25. Kuzyakov Y., Friedel J. K., Stahr K. Review of mechanisms and quantification of priming effects // Soil Biol. Biochem. 2000. Vol. 32 P. 1485–1498.
26. Lee E., Banks M. K. Bioremediation of petroleum contaminated soil using vegetation: a microbial study // J. Environ. Sci. Health. 1993. Vol. 28. P. 2187–2198.
27. Marinescu M., Dumitru M., Lăcătușu A. et al. The evolution of maize biomass in a crude oil polluted soil according to applied treatment // Scientific Papers Series. Agronomy. 2011. Vol. LIV. P. 287–293.
28. Margesin R., Zimmerbauer A., Schinner F. Monitoring of bioremediation by soil biological activities // Chemosphere. 2000. Vol. 40. P. 339–346.
29. McDonald J. H. Handbook of biological statistics (3rd ed.) <http://www.biostathandbook.com/index.html>.
30. Murphy B. W. Soil organic matter and soil function – review of the literature and underlying data. Canberra: Department of the Environment, 2014. 155 p.
31. Riffaldi R., Leviminzi R., Cardelli R. et al. Soil biological activities in monitoring the bioremediation of diesel oil-contaminated soil // Water Air Soil Pollut. 2006. Vol. 170. P. 3–15.
32. Ryan M. G., Law B. Interpreting, measuring, and modeling soil respiration // Biogeochemistry. 2005. Vol. 73. P. 3–27.
33. Vinther F. P., Dahlmann-Hansen L. Effects of ridging on crop performance and symbiotic N<sub>2</sub> fixation of fababean (*Vicia faba* L.). // Soil Use Manag. 2005. Vol. 21. P. 205–211.

Стаття: надійшла до редакції 07.05.18

доопрацьована 14.11.18

прийнята до друку 20.11.18

## BIOCHEMICAL PARAMETERS OF ORGANIC CARBON POOL IN OIL POLLUTED SOIL DURING PHYTOREMEDIATION

**M. Mekich, L. Bunjo, O. Terek**

*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskyyi St., Lviv 79005, Ukraine  
e-mail: horon.marta@gmail.com*

There were investigated the effects of phytoremediation of oil contaminated soil on content of diverse organic Carbon forms in soil. The plants *Zea mays* L. and *Vicia faba* var. Minor were used for soil remediation. The experiment lasted for 95 days at all, including the first 22 days without plants. Biochemical and chemical soil properties such as soil microbial biomass (C<sub>biom</sub>), soil respiration (V<sub>basal</sub>), metabolic quotient (qCO<sub>2</sub>), carbon availability index (Q<sub>c</sub>), total organic Carbon (C<sub>org</sub>), oil content in soil were used as indicators of soil organic Carbon pool.

It was found that soil contamination by oil adversely affected development of tested plants. Oil contamination and plants significantly stimulated  $C_{\text{biom}}$  and  $V_{\text{basal}}$  relatively control. Oil presence also caused increase of  $q\text{CO}_2$  and  $Q_r$ , whereas the effect of plants was insignificant. The increase of  $Q_r$  in oil contaminated soil reveals lower C deficiency compared to control. The decrease of  $Q_r$  and  $q\text{CO}_2$  in oil contaminated soil during experiment is a mark of balance recovery in ecosystem. There were determined interaction effects between oil, plants and time by a three way ANOVA. It was shown that effect of plants on  $C_{\text{biom}}$  та  $V_{\text{basal}}$  was greater in oil contaminated soil than in the non-polluted soil, and its effect was greater on  $C_{\text{biom}}$  by the time scale. It indicates the intensification of oil Carbon utilization by microorganisms.

Oil contamination caused the increase of soil organic C content in soil relatively to control. After 95 day of experiment content of soil organic C decrease in all experiment series that is related to oil degradation and humus mineralization.

The concentration of oil in soil decreased on 45 % during three months of experiment, but effect of plants was insignificant. Thereby oil concentration is not a sensitive indicator of effectiveness of phytoremediation treatment. While biochemical measurements, including  $C_{\text{biom}}$  та  $V_{\text{basal}}$ , are more sensitive to detect the effects of phytoremediation of oil contaminated soil.

*Keywords:* oil contamination, phytoremediation, soil organic Carbon, soil biological activity