

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ОЛЕСЯ ГОНЧАРА

ШЕВЧИК ЛЕСЯ ЗЕНОВІЇВНА



УДК 504.53.054:665.7+504.064.3:581

**ЕКОЛОГІЧНА ОЦІНКА ТА ФІТОРЕМЕДІАЦІЯ
НАФТОЗАБРУДНЕНИХ ҐРУНТІВ**

03.00.16 – екологія

Автореферат

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Дніпро – 2017

Дисертацією є рукопис

Робота виконана у Відділенні фізико-хімії горючих копалин Інституту фізико-органічної хімії і вуглехімії ім. Л. М. Литвиненка НАН України

Науковий керівник: кандидат хімічних наук,
старший науковий співробітник
Романюк Ольга Іванівна,
Відділення фізико-хімії горючих копалин
Інституту фізико-органічної хімії і вуглехімії
імені Л. М. Литвиненка НАН України,
відділ хімії і біотехнології горючих копалин,
старший науковий співробітник

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, доцент
Жуков Олександр Вікторович,
Дніпропетровський національний університет
імені Олеся Гончара,
кафедра зоології і екології, професор

кандидат біологічних наук,
старший науковий співробітник
Гришко Віталій Миколайович,
Криворізький ботанічний сад НАН України,
відділ оптимізації техногенних ландшафтів,
старший науковий співробітник.

Захист відбудеться «11» травня 2017 року о 10 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 08.051.04 у Дніпропетровському національному університеті імені Олеся Гончара за адресою: 49010, м. Дніпро, пр. Гагаріна, 72, корпус 17, факультет біології, екології та медицини, ауд. 711.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Дніпропетровського національного університету імені Олеся Гончара Міністерства освіти і науки України за адресою: 49010, м. Дніпро, вул. Казакова, 8.

Автореферат розісланий «5» квітня 2017 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради
кандидат біологічних наук, доцент



А. О. Дубина

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Нафтове забруднення ґрунтів є значною екологічною проблемою сьогодення. Негативний вплив нафтовидобутку обумовлений як безпосередньою деградацією ґрунтового покриву на ділянках розливу нафти, так і впливом її компонентів на суміжні середовища, внаслідок чого продукти трансформації нафти виявляються в різних об'єктах біосфери.

Ефективний захист навколишнього середовища неможливий без достовірної інформації про екологічний стан забрудненого ґрунту. Хіміко-аналітичні методи не оцінюють екосистеми з біологічних позицій, не враховують ефекти синергізму, антагонізму і сумарної дії токсикантів (Саксонов и др., 2005; Бубнов и др., 2007; Маячкина, Чугунова, 2009; Васильев и др., 2012). Тому сучасний екологічний моніторинг при нафтовому забрудненні оптимально має включати не лише дослідження рівня нафтохімічного забруднення та змін фізико-хімічних властивостей ґрунтів, а й екологічну оцінку, проведену методами біотестування та біоіндикації. Перспективним в цьому плані є використання рослинних тест-об'єктів завдяки доступності, простоті проведення досліджень, економічності, достовірності, і які уже широко використовуються для оцінки забруднених ґрунтів важкими металами (Шунелько, Федорова, 2000; Di Salvatore, Carafa, Carrat, 2008; Горова, Кулина, 2008). Однак, на сьогоднішній день питання екологічної оцінки нафтозабруднених ґрунтів з використанням рослин залишається не вирішеним.

Перспективним та екологічно-прийнятним є також використання рослин для відновлення забруднених ґрунтів (Джура, 2011; Flathman, Lanza, 1998; Schnoor, 2002; Schroder, Harvey, Schwitzguebel, 2002). Їх позитивна роль пов'язана зі здатністю покращувати властивості ґрунтів, активувати діяльність мікробних угруповань, і, як наслідок, інтенсифікувати процеси видалення забруднюючих речовин. Проте, полікомпонентність нафтового забруднення, його низька біодоступність, висока стійкість, гідрофобність та токсичність вимагає комплексного підходу у проведенні фіторе mediaції, зокрема, визначення оптимальних умов та застосування стійких рослин.

У зв'язку з цим актуальним напрямком наукових досліджень є екологічна оцінка нафтозабруднених ґрунтів з використанням рослинних тест-об'єктів, що повинна стати першим етапом діагностики якості ґрунту і можливих наслідків його впливу на живі організми, та розробка методу відновлення нафтозабруднених ґрунтів, що зведе до мінімуму вплив забруднення на довкілля, відновить екологічну рівновагу, буде екологічно-безпечним та економічно доцільним.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконувалася у Відділенні фізико-хімії горючих копалин Інституту фізико-органічної хімії і вуглехімії ім. Л. М. Литвиненка НАН України в рамках держбюджетної теми «Розробка наукових основ комплексного екологічного моніторингу та методології відновлення техногенно зміненого довкілля в районах нафтовидобутку» (№ державної реєстрації 0111U009476) та договірної «Проведення екологічного моніторингу підземних вод, загазованості, забруднення ґрунтів території м. Борислава» (№ державної реєстрації 0114U004627).

Мета і завдання дослідження. Мета роботи – екологічна оцінка нафтозабруднених ґрунтів з використанням рослинних тест-об'єктів та розробка науково-практичних заходів фіторе mediaції ґрунтів, забруднених нафтою.

Для досягнення мети були поставлені наступні **завдання**:

- виявити рослинні тест-об'єкти чутливі до нафтового забруднення на ранніх стадіях проростання. Встановити взаємозв'язок між вмістом нафти у ґрунті та початковими ростовими параметрами тестових рослин;
- встановити рослину-індикатор нафтового забруднення, яка реагує на низький вміст нафти у ґрунті, на рівні орієнтовно допустимої концентрації;
- провести кількісну оцінку фітотоксичності та запропонувати шкалу токсичності нафтозабруднених ґрунтів;
- здійснити апробацію розробленого способу біоіндикації та біотестування і шкали токсичності в системі екологічного моніторингу нафтозабруднених ґрунтів озокеритової шахти м. Борислава;
- дослідити часову динаміку випаровування нафти з ґрунту, латеральну та вертикальну міграції нафти у ґрунт та визначити оптимальні умови для проведення фіторе mediaції;
- запропонувати багаторічну рослину-фіторе mediaнт, стійку до нафтового забруднення;
- здійснити фіторе mediaцію нафтозабруднених ґрунтів озокеритової шахти м. Борислава та оцінити її ефективність.

Об'єкт дослідження – штучно забруднені нафтою ґрунти та нафтозабруднені ґрунти озокеритової шахти м. Борислава.

Предмет дослідження – екологічна оцінка ґрунтів забруднених нафтою, процеси фіторе mediaції нафтозабруднених ґрунтів.

Методи дослідження. У процесі виконання роботи використовували наступні методи: 1) польові – для встановлення впливу фіторе mediaнтів на деструкцію нафти у ґрунті та для підтвердження біоіндикаторних ознак рослин (закладання дослідних ділянок, відбір проб ґрунтів і рослин, їх пробопідготовка); 2) лабораторні: а) морфо-фізіологічний – визначення біометричних показників рослин; б) біохімічні – визначення вмісту хлорофілу із використанням методів екстрагування, спектрофотометрії; визначення стерильності пилку ацетокармінним методом; в) мікробіологічні – визначення гетеротрофних мікроорганізмів, деструкторів нафти та азотфіксаторів у ґрунті; г) хімічні – дослідження вмісту азоту та фосфору у ґрунтах іонометричним, колориметричним, спектрометричним методами; визначення вмісту нафти у ґрунті методом ІЧ-спектроскопії та гравіметричним методом; 3) методи математично-статистичної обробки результатів досліджень з використанням Microsoft Excel та застосування кореляційного, регресійного та дисперсійного аналізів. Картографічну інтерполяцію даних проводили з використанням програми Surfer компанії Golden Software.

Наукова новизна отриманих результатів

Вперше:

- встановлено, що льон звичайний (*Linum usitatissimum* L.), соняшник однорічний (*Helianthus annuus* L.) та гречка посівна (*Fagopyrum vulgare* St.) є

чутливими тест-об'єктами до нафтового забруднення і придатні для біотестування нафтозабруднених ґрунтів у широкому діапазоні концентрацій політанта 0-20 %;

- виявлено придатність гречки посівної для індикації нафтового забруднення ґрунту, навіть на рівні орієнтовно допустимої концентрації нафти у ґрунті (0,4 %);
- розроблено та обґрунтовано шкалу токсичності нафтозабруднених ґрунтів, яка встановлює зв'язок між кількісним значенням токсичності та вмістом нафти у ґрунті;
- визначено інтервали нафтового забруднення для оптимального вибору тест-об'єкта з *L. usitatissimum*, *H. annuus*, *F. vulgare*;
- доведено доцільність використання обліпихи крушиновидної (*Hipporhae rhamnoides* L.) для фіторе mediaції нафтозабруднених ґрунтів. Встановлено, що під дією рослин *H. rhamnoides* усувається токсичність ґрунту, зростає кількість мікроорганізмів-гетеротрофів, деструкторів нафти, азотфіксаторів, підвищується вміст загального та амонійного азоту;
- встановлено стійкість обліпихи до нафтового забруднення.

Удосконалено методичні підходи щодо оцінки стану нафтозабруднених ґрунтів та їх відновлення.

Набули подальшого розвитку: – методи біотестування та біоіндикації для екологічного моніторингу нафтозабруднених територій;

- уявлення про вертикальну і латеральну міграції нафти у ґрунті та часову динаміку випаровування нафти з ґрунту.

Практичне значення отриманих результатів. Розроблений спосіб біотестування та біоіндикації нафтозабруднених ґрунтів з використанням рослин *L. usitatissimum*, *H. annuus*, *F. vulgare* може застосовуватись для визначення фітотоксичності ґрунтів, забруднених нафтою, у широкому діапазоні концентрації політанта 0-20 %, в екологічному моніторингу нафтозабруднених територій. На даний спосіб отримано патент України № 103601.

Доведена ефективність використання *H. rhamnoides* для фіторе mediaції нафтозабруднених ґрунтів озокеритовидобутку м. Борислава (патент України № 86572). Обліпиха крушиновидна може використовуватись для відновлення ґрунтів нафтозабруднених територій України.

Матеріали дисертації використовуються у навчальному процесі на кафедрі екології біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка при викладанні дисциплін «Методи екологічних досліджень», «Моніторинг довкілля», «Фітомеліорація».

Особистий внесок здобувача. Дисертація є особистою науковою працею автора. Мету та завдання дослідження визначено при безпосередній участі дисертанта. Автором самостійно зібрано, систематизовано і проведено аналіз наявних літературних даних за темою дисертації, виконано експериментальні дослідження. Планування експериментів та обговорення усіх результатів проведено спільно з науковим керівником к.х.н., с.н.с. Романюк О. І.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи було висвітлено у доповідях на: VI, VII, VIII, IX, X, XI, XII Міжнародних конференціях студентів та аспірантів “Молодь і поступ біології” (Львів, 2010, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016); III міжнародній студентській науково-практичній

конференції «Захист навколишнього середовища. Збалансоване природокористування», (Львів, 2010); IX, X, XI Наукових конференціях «Стан і біорізноманіття екосистем Шацького національного природного парку», (Шацьк, 2013, 2014, 2015); Четвертому Всеукраїнському з'їзді екологів з міжнародною участю (Екологія / Ecology – 2013), (Вінниця, 2013); 3rd International Conference of Young Scientists CCT-2013 «Chemistry and Chemical Technology», (Lviv, 2013); 19th International scientific conference “EcoBalt 2014”, (Riga, Latvia, 2014); 9 Internatoinal Forum Science and Technology days Poland-East, (Suprasl, 2015); Міжнародній науково-технічній конференції «Форум гірників – 2015», (Дніпропетровськ, 2015); Другій Всеукраїнській науково-практичній конференції за міжнародною участю «Екологічні проблеми природокористування та охорона навколишнього середовища», (Рівне, 2015); IV Міжнародній науковій конференції студентів, аспірантів і молодих вчених «Фундаментальні та прикладні дослідження в біології та екології», (Вінниця, 2016).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 28 наукових праць: 7 статей (з них 1 – у іноземному виданні), 2 патенти, 19 тез доповідей та матеріалів міжнародних і всеукраїнських науково-практичних конференцій.

Структура і обсяг роботи. Дисертаційна робота складається зі вступу, п'яти розділів, висновків, рекомендацій і списку використаної літератури, який містить 334 найменування. Робота викладена на 166 сторінках, містить 19 таблиць і 48 рисунків.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

НАФТОВЕ ЗАБРУДНЕННЯ ҐРУНТІВ: ПРОБЛЕМИ ТА ШЛЯХИ ВИРІШЕННЯ (АНАЛІТИЧНИЙ ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

У першому розділі систематизовано та узагальнено літературні дані про особливості нафтового забруднення ґрунту. Проаналізовано загальні дані про склад нафти та її вплив на структуру, фізичні, хімічні і біологічні властивості ґрунту. Подано сучасні методики оцінки стану ґрунту, особливу увагу приділено методам біотестування та біоіндикації забруднених ґрунтів з використанням рослинних тест-об'єктів. Представлено інформацію про існуючі способи очищення нафтозабруднених ґрунтів. Детально висвітлено методи фіторемедіації, наведено найпопулярніші види рослин, здатні рости в умовах нафтового забруднення ґрунту та відновлювати його.

На основі проведеного аналізу літературних джерел визначена необхідність розробки інформативних методів екологічної оцінки стану ґрунту та ефективних, екологічно безпечних методів його очищення при нафтовому забрудненні.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У другому розділі описано методики експериментальних досліджень. Наведено характеристику опробуваних видів рослинних тест-об'єктів та фіторемедіантів, описано підготовку матеріалу для дослідження та схеми дослідів.

Морфометричні показники рослин визначали загальноприйнятими методами. Проби ґрунту відбирали згідно ГОСТу 17.4.4.02.84. Фітотоксичність ґрунту визначали за допомогою рослинних тест-об'єктів: *L. usitatissimum*, *H. annuus*,

F. vulgare. Токсичність обчислювали за величиною ефективної токсичності (Романюк, 2016). Вміст нафтопродуктів у ґрунтах визначали згідно з модифікованою методикою (Дмитриев, 1989) шляхом екстракції нафтопродуктів з проб ґрунту тетрахлоридом вуглецю з наступним ІЧ-спектрофотометричним визначенням. 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 (Ілюна, 2003). Чисельність олігонітрофільних мікроорганізмів та азотфіксаторів визначали на середовищі Ешбі (Гудзь 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), рН водної та сольової витяжки ґрунту – потенціометричним методом (ДСТУ ISO 10390:2007).

Вміст хлорофілів та каротиноїдів у листках рослин визначали спектрофотометрично (Мусієнко та ін., 2001). Стерильність та фертильність пилоквих зерен – ацетокарміновим методом (Мэннинг, Федер, 1985; Паушева, 1988).

Експерименти проводили щонайменше у трьох біологічних та трьох аналітичних повторях. Отримані результати опрацьовували статистично з використанням програми Microsoft Excel. Використовували дисперсійний, кореляційний і регресійний аналізи. Порівняння середніх арифметичних і визначення достовірної різниці між вибірками проводили за допомогою t-критерію Стюдента. Розбіжності між значеннями вважали достовірними на рівні значущості 95 % ($P < 0,05$) (Зайцев, 1990; Лакин, 1990). Картографічну інтерполяцію даних проводили з використанням програми Surfer компанії Golden Software.

ЕКОЛОГІЧНЕ ОЦІНЮВАННЯ НАФТОЗАБРУДНЕНИХ ҐРУНТІ

Підбір рослин, чутливих до нафтового забруднення. Важливим етапом у розробці способу біотестування та біоіндикації є пошук тест-об'єктів чутливих до нафтового забруднення. Досліджено 10 видів рослин і показано різну чутливість їх початкових ростових параметрів до нафтового стресу. Встановлено, що ріпак озимий (*Brassica napus* L.), просо ди́ке (*Panicum miliaceum* L.), крес-салат (*Lepidium sativum* L.), огірок звичайний (*Cucumis sativus* L.) кріп городній (*Anethum graveolens* L.), конюшина лучна (*Trifolium pratense* L.), овес посівний (*Avena sativa* L.) є чутливими до дії нафти у ґрунті, але дають неоднозначну реакцію, а також для них характерна висока мінливість ростових параметрів в середині вибірки. Найкращі результати отримано при використанні льону звичайного (*Linum usitatissimum* L.), соняшника однорічного (*Helianthus annuus* L.) та гречки посівної (*Fagopyrum vulgare* St.), які виявилися чутливим до вмісту нафти, давали однозначну реакцію, а дані всередині вибірки були однорідними. Коефіцієнт варіації майже всіх досліджуваних тест-параметрів льону, соняшника та гречки не перевищував 30 %. Все це дало підстави використовувати *L. usitatissimum*, *H. annuus* та *F. vulgare* для подальших досліджень.

Вплив нафти на початкові ростові параметри рослин льону, соняшника та гречки. Вивчали закономірності впливу нафти на початкові ростові параметри рослинних тест-об'єктів, що необхідно для подальшої розробки методів біотестування та біоіндикації нафтозабруднених ґрунтів. Встановлено, що *L. usitatissimum*, *H. annuus* та *F. vulgare* є чутливі до нафтового забруднення на ранніх стадіях проростання у широкому діапазоні концентрації поллютанта 0-20 %. Визначено, що використання для оцінки токсичності даних початкових ростових параметрів цих рослин, отриманих на 5 добу росту в темноті, в умовах термостатування + 24 °С є оптимальним. У всіх досліджуваних пробах відмічено достовірне зменшення тест-показників у порівнянні з контрольними значеннями (табл.1).

Таблиця 1

Залежність ростових параметрів досліджуваних рослин від вмісту нафти у ґрунті (достовірність $\geq 0,95$ ($P < 0,05$), коефіцієнт Ст'юдента – 2,0) (5 доба)

Ростові параметри досліджуваних рослин		Вміст нафти у ґрунті, %									
		0	0,4	1	2,5	5	8	10	15	17	20
Льон звичайний	Довжина кореня, мм	52,1	40,1	36,0	30,4	31,6	29,1	26,9	20,1	14,2	12,2
	¹ ΔX	4,8	3,5	2,9	3,1	2	1,8	2	1,9	1,1	1,7
	² S_x	2,4	1,7	1,4	1,5	1,0	0,9	1,0	0,9	0,6	0,8
	Висота пагона, мм	74,1	57,7	57,8	52,3	52,3	42,4	41,5	26,9	10,5	8,6
	ΔX	3,5	3	4,3	2,9	2,1	2,5	2,6	3,6	0,7	1,1
	S_x	1,8	1,5	2,1	1,5	1,1	1,3	1,3	1,8	0,4	0,5
Соняшник Однорічний	Довжина кореня, мм	89,2	83,0	49,2	63,9	52,3	50,2	41,3	36,8	18,2	13,2
	ΔX	11,7	12,4	10,6	12,4	7,9	8,0	11,5	6,9	4,4	5,1
	S_x	5,3	5,9	5,0	6,0	3,8	3,9	5,5	3,3	2,1	2,3
	Висота пагона, мм	45,1	44,7	30,3	27,9	22,9	20,4	16,6	14,9	9,1	6,4
	ΔX	7,3	6,1	8,4	5,9	4,1	3,4	5,8	2,5	2,4	3,0
	S_x	3,6	2,9	4,0	2,9	2,0	1,6	2,8	1,2	1,1	1,4
Гречка посівна	Довжина кореня, мм	68,2	60,4	48,2	46,1	45,1	41,7	38,6	26,5	14,7	0
	ΔX	4,9	5,7	5,1	6,2	4,1	4,6	4,3	4,4	4,3	0
	S_x	2,4	2,8	2,5	3,1	2,0	2,3	2,2	2,1	2,0	0
	Висота пагона, мм	65,3	33,0	23,0	22,7	14,3	17,1	13,2	13,2	10,1	0
	ΔX	6,7	5,8	3,7	2,7	1,9	2,3	1,7	2,0	1,1	0
	S_x	3,3	2,9	1,8	1,4	1,0	1,2	0,8	1,0	0,5	0

Примітки: ¹межі довірчого інтервалу, ²середня квадратична похибка середнього арифметичного. Інструментальна похибка $\pm 0,5$ мм.

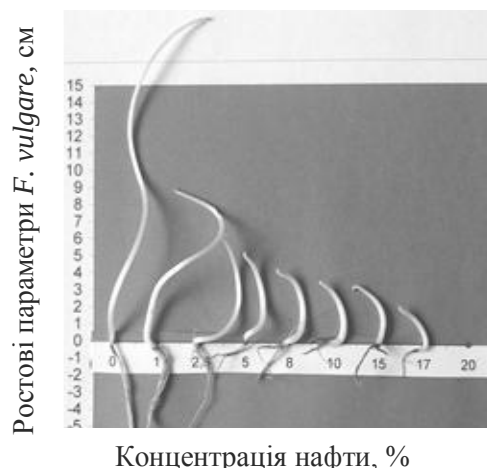


Рис. 1. Проростки *F. vulgare* за дії різних концентрацій нафти у ґрунті (5 доба)

Встановлено, що гречка має більш високу чутливість до дії нафти, ніж соняшник та льон. Відносна схожість насіння *L. usitatissimum* та *H. annuus* при вмісті нафти від 0,4 % до 8 % суттєво не змінюється порівняно з контролем, в той час, як схожість насіння *F. vulgare* на даному проміжку знижується до 60 %. Результати дослідження свідчать також про більш виражену реакцію пагона гречки на вміст нафти у ґрунті. Так, при низькій концентрації нафти, на рівні орієнтовно допустимої концентрації (0,4 %),

відносна висота пагона гречки знижується вдвічі до 50,48 %, в той час як для льону – до 77,87 %, а для соняшника залишається на рівні контролю (рис. 1, 2). Подальше збільшення концентрації нафти у ґрунті веде до поступового зниження росту пагона досліджуваних рослин. Така ж залежність спостерігається і для довжини кореня, маси сирих та сухих рослин.

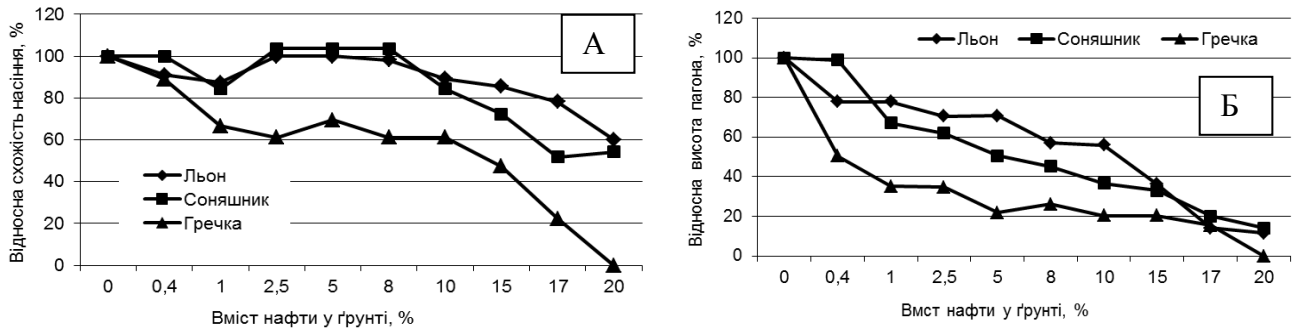


Рис. 2. Залежність відносної схожості насіння (А) і висоти пагонів (Б) льону звичайного, соняшника однорічного та гречки посівної від вмісту нафти у ґрунті (5 доба)

Встановлені залежності між концентрацією нафти і початковими ростовими параметрами льону звичайного, соняшника однорічного, гречки посівної є близькими до лінійних (рис. 2) і можуть бути використані для біотестування нафтозабруднених ґрунтів.

Вперше виявлена висока чутливість гречки посівної до низьких концентрацій нафти, на рівні орієнтовно допустимої (ОДК) (0,4 % нафти у ґрунті), пропонується до використання для біоіндикації нафтового забруднення ґрунтів.

Гречка як біоіндикатор нафтозабруднених ґрунтів. Для підтвердження біоіндикаторних властивостей *F. vulgare* досліджували вплив нафти на зміну морфометричних показників гречки посівної, яку вирощували в польових умовах до стадії цвітіння, протягом 45 діб. Встановлено, що вже на перших етапах росту рослини є видимі ознаки зменшення висоти пагона. Цей показник добре видимий, зручний і миттєвий. При подальшому розвитку рослин закономірність достовірного зниження ростових параметрів гречки зберігається. Так, на 45 добу висота пагона *F. vulgare* при концентрації нафти у ґрунті 0,4 % є у 3,5 рази меншою, ніж у контролі, що добре помітно без будь-яких вимірювань. Це характерно і для довжини кореня, сирої та сухої маси рослин.

При висадці насіння гречки посівної у нафтозабруднені ґрунти, через 1 рік після забруднення, спостерігали зниження висоти пагона вдвічі, при початковому забрудненні 0,4 %, та втричі, при забрудненні ґрунту нафтою 5 %. Отримані дані підтверджують, що гречка є чутливим біоіндикатором нафтозабруднених ґрунтів.

Оцінка токсичності нафтозабруднених ґрунтів. Для біотестування використано початкові ростові параметри тест-об'єктів *L. usitatissimum*, *H. annuus* та *F. vulgare* на 5 добу росту (табл. 1), коли вже достатньо проявляється токсична дія нафти, але ще не встигають проявитись інші, генеровані нею, пошкоджуючі фактори. Аналіз достовірно значущої різниці ($P < 0,05$) для ростових параметрів експерименту і контролю та між експериментальними даними всередині інтервалів:

0–0,4; 0,4–1,0; 1,0–2,5; 2,5–5,0; 5,0–8,0; 8,0–10,0; 10,0–15,0; 15,0–17,0 % вказав на інтервали нафтового забруднення, для яких є оптимальним використання того чи іншого тест-об'єкта (табл. 2). Встановлено, що при низьких концентраціях нафти у ґрунті < 1 % доцільно використовувати *F. vulgare*, що дає можливість зафіксувати токсичність слабозабрудненого ґрунту, навіть на рівні ОДК (0,4 % нафти у ґрунті). При вищих концентраціях нафти у ґрунті 2,5–10,0 %; 15,0–17,0 % можливе використання будь-якої із трьох запропонованих рослин.

Таблиця 2

Рекомендовані тест-об'єкти до використання при різному вмісті нафти у ґрунті

Тест-об'єкти	Вміст нафти у ґрунті, %					
	0-0,4	0,4-1,0	1,0-2,5	2,5-10,0	10,0-15,0	15,0-17,0
<i>Linum usitatissimum</i> L.	—	—	+	+	+	+
<i>Helianthus annuus</i> L.	—	—	+	+	—	+
<i>Fagopyrum vulgare</i> St.	+	+	—	+	+	+

+ - використання тест-об'єкта

Для отримання цифрової оцінки токсичності проведено обрахунок ефективної токсичності, яка є сумою коефіцієнтів пригнічення схожості, росту кореня та пагона, зменшену на кількість врахованих параметрів (Романюк, 2016). При такій обробці даних та проведенні регресійного аналізу встановлено чіткий лінійний зв'язок між вмістом нафти у ґрунті та ефективною токсичністю для кожного з тест-об'єктів (рис. 3)

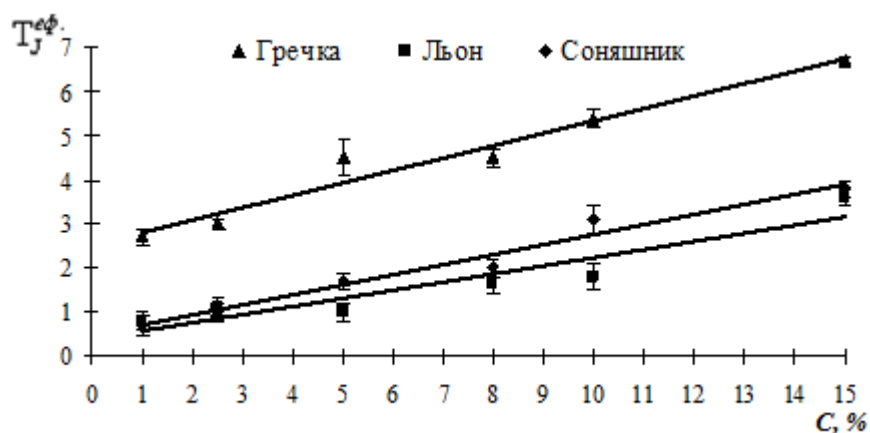


Рис. 3. Залежність ефективної токсичності (T_J^{ef}) від концентрації нафти у ґрунті (C) для гречки, льону, соняшника

Ефективна токсичність по гречці є вдвічі більшою, ніж по соняшнику та льону (рис. 3), тому зведену оцінку токсичності пропонуємо проводити за величиною фітотоксичності ($T_{фит.}$):

$$T_{фит.} = T_{Льон}^{ef} = T_{Соняшник}^{ef} = \frac{1}{2} T_{гречка}^{ef}.$$

Ефективна токсичність (T^{ef}) визначається за будь-яким із запропонованих тест-об'єктів, а сумісне використання підвищує точність досліджень.

На основі нагромадженого досвіду по оцінці токсичності, встановленого зв'язку між фітотоксичністю, вмістом нафти у ґрунті та рівнем забруднення вперше пропонуємо шкалу токсичності нафтозабруднених ґрунтів (табл. 3), що містить п'ять рівнів забруднення ґрунтів нафтою, які узгоджені з відповідними інтервалами вмісту нафти у ґрунті та інтервалами значень фітотоксичності ґрунтів, отриманими при використанні рослин *L. usitatissimum*, *H. annuus*, *F. vulgare*.

Шкала токсичності нафтозабруднених ґрунтів

Фітотоксичність	Вміст нафти у ґрунті, %	Рівень забруднення
<0,6	<0,4	Допустимий
0,6–1,5	0,4–2,5	Загрозливий
1,5–3,0	2,5–10,0	Передкризовий
3,0–4,0	10,0–15,0	Кризовий
>4,0	>15,0	Катастрофічний

Отже, оцінка фітотоксичності нафтозбруднених ґрунтів при використанні початкових ростових параметрів *L. usitatissimum*, *H. annuus*, *F. vulgare*, обрхована за величиною ефективної токсичності, забезпечує отримання конкретного цифрового значення величини токсичності і найповніше відображає стан ґрунту – визначається фітотоксичність, рівень забруднення та наближений вміст нафти у ґрунті. Це робить запропоновану методику привабливою для використання у моніторингу нафтозабруднених територій.

ЕКОЛОГІЧНИЙ МОНІТОРИНГ НАФТОЗАБРУДНЕНИХ ҐРУНТІВ

Дослідження нафтозабруднених ґрунтів на прикладі відвальних ґрунтів озокеритової шахти м. Борислава. Проведено екологічний моніторинг нафтозабруднених ґрунтів озокеритової шахти м. Борислава. Хіміко-аналітичними методами встановлено, що досліджувані ґрунти забруднені нафтопродуктами в межах 0-6 %. Це слабо та середньо забруднені нафтою ґрунти, які здебільшого голі, подекуди з черговими порціями нафти чи озокериту, що час від часу просочуються на поверхню. Дані ґрунти підлучнені, рН їх водної та сольової витяжок коливається в межах 7,3-7,9 та 7,2-7,7. Температура ґрунту піднімається до + 30-36 °С у сонячні дні, при температурі повітря + 28 °С. Такі умови утруднюють самозаростання нафтозабруднених ґрунтів, вони швидко піддаються ерозії. Нафта та її похідні разом з атмосферними опадами мігрують у ґрунті та підземні води, леткі вуглеводні інтенсивно випаровуються з поверхні і забруднюють атмосферу.

Самоочищення відбувається відносно повільно, у ґрунтах залишаються важкі фракції нафти, які слабо піддаються подальшим фізико-хімічним перетворенням під впливом природних чинників. Аналітична оцінка таких забруднень проблематична і малоінформативна, необхідним є застосування методів біотестування.

Фітотоксичність ґрунтів озокеритової шахти м. Борислава. У процесі проведення екологічного моніторингу ґрунтів озокеритовидобутку м. Борислава здійснено апробацію запропонованої методики екологічної оцінки нафтозабруднених ґрунтів. Побудовано екологічні карти токсичності ґрунтів з використанням тест-об'єктів: *L. usitatissimum*, *H. annuus*, *F. vulgare* (рис. 4). Ізолініями виділені ділянки з однаковим рівнем забруднення. Співставлення контурів ізоліній фітотоксичності на всіх трьох картах вказує на однаковий характер розподілу нафтового забруднення. Це підтверджує достовірність використаної методики. На основі співставлення отриманих даних зі шкалою токсичності нафтозабруднених ґрунтів (табл. 3), встановлено, що для досліджуваних ґрунтів характерний, здебільшого, загрозливий та

передкризовий рівні забруднення, що відповідають значенням токсичності 0,6-1,5 та 1,5-3,0 та вмісту нафтопродуктів 0,4-2,5 % та 2,5-10 %, відповідно. Результати біотестування з використанням чутливих рослинних тест-об'єктів: льону, соняшника та гречки корелюють з аналітичними даними кількісного вмісту нафти у ґрунті.

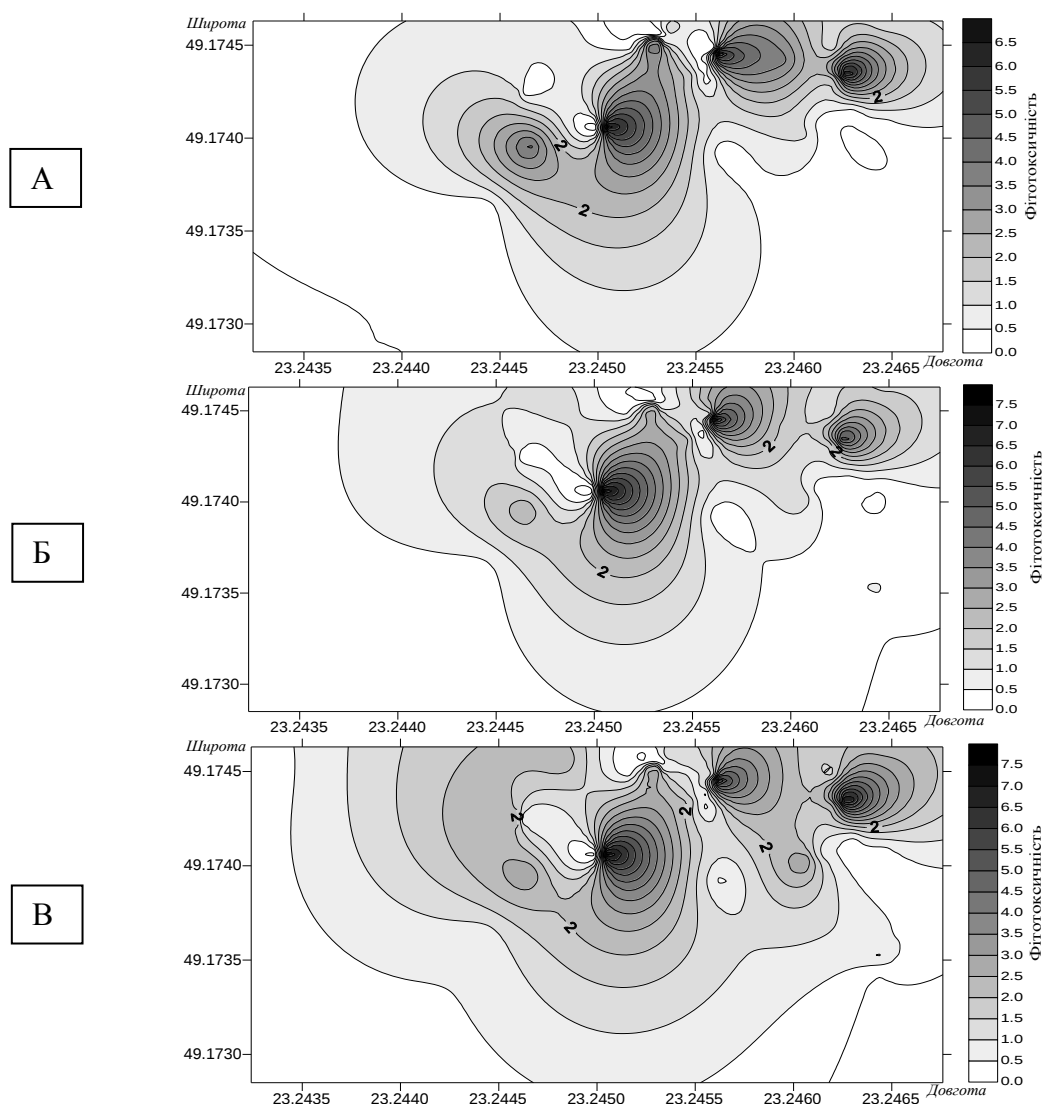


Рис. 4. Екологічні карти фітотоксичності нафтозабруднених ґрунтів озокеритової шахти м. Борислава (липень, 2014 р.), Тест-об'єкти: *L. usitatissimum* (А), *H. annuus* (Б), *F. vulgare* (В)

Отже, моніторинг з використанням методики біотестування та шкали токсичності найповніше відображає стан ґрунту, дозволяє оконтурити ділянки з загрозливим, передкризовим чи кризовим станом, на яких в подальшому можуть проводитись більш прецизійні фізико-хімічні дослідження. Такий підхід забезпечує екологічну оцінку досліджуваної території і зменшує собівартість моніторингових досліджень.

ФІТОРЕМЕДІАЦІЯ НАФТОЗАБРУДНЕНИХ ҐРУНТІВ

Оцінка характеру нафтового забруднення для встановлення оптимальних умов ремедіації. Для встановлення оптимальних умов проведення фіторемедіації вивчали динаміку випаровування нафти з нафтозабрудненого ґрунту, вертикальну та

латеральну міграцію нафти у ґрунт та зміну його фітотоксичності, зміну рН і температури ґрунту при нафтовому забрудненні.

Встановлено, що в перші тижні після забруднення ґрунту нафтою відбувається інтенсивне вивітрювання її летких фракцій і, відповідно, зниження токсичності ґрунту, як за рахунок зменшення кількості летких токсичних сполук, так і загальної кількості нафти. Починаючи з 45 доби, інтенсивне випаровування нафти припиняється (рис. 4). Така закономірність спостерігається для двох типів досліджуваних ґрунтів: дерново-підзолистого та чорноземного.

Тому перед проведенням фіторе mediaції, свіжозабруднені нафтою ґрунти пропонуємо витримувати не менше, ніж 45 діб для максимального задіяння абіотичних чинників самоочищення. Це здешевить подальшу рекультивацію ґрунтів, оскільки найбільш токсичні компоненти нафти вже будуть видалені.

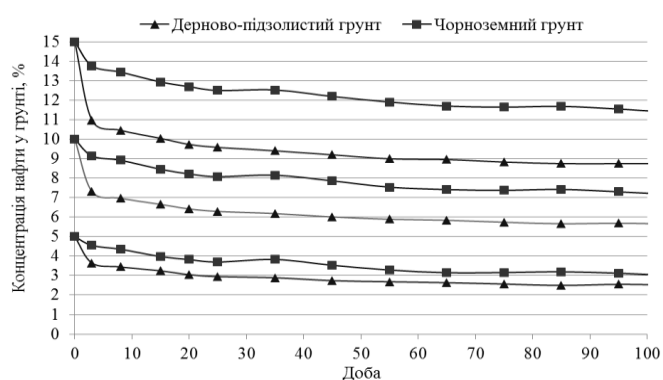


Рис. 4. Часова динаміка зменшення кількості нафти у дерново-підзолистому та чорноземному ґрунтах при різних ступенях забруднення ґрунту нафтою (5, 10, 15%) і температурі повітря 15-20 °С

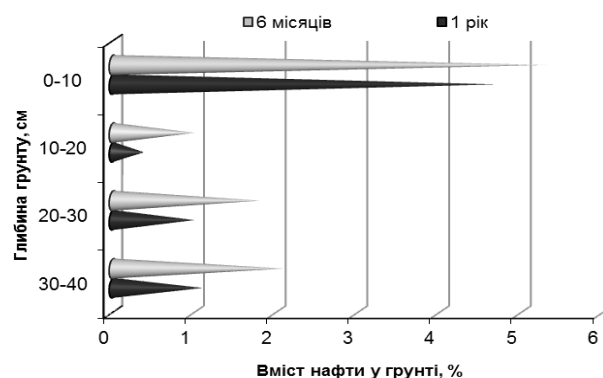


Рис. 5. Вертикальне проникнення нафтового забруднення у дерново-підзолистий ґрунт, при початковому забрудненні верхнього шару ґрунту нафтою у кількості 10 %

При нафтовому забрудненні (10 % нафти у 10 см шарі ґрунту) спостерігається проникнення нафтопродуктів в нижні шари ґрунту, і вже через 6 місяців нафтопродукти у кількості 2,1 % фіксуються на глибині 40 см (рис. 5). Розподіл нафти по профілю ґрунту не однаковий, найменш забрудненим є шар на глибині 10-20 см, як через 6 місяців, так і через 1 рік після забруднення. Така закономірність характерна і для фітотоксичності досліджуваних ґрунтів. Таким чином, висадка фіторе mediaнтів на глибині 10-20 см є оптимальною.

Крім вертикальної міграції нафти у ґрунт, відбувається і латеральний її розподіл в ґрунтовій масі. Ми досліджували швидкість та інтенсивність латеральної міграції нафти у ґрунт, використовуючи тест-об'єкти: льон звичайний, соняшник однорічний, гречку посівну. Встановлено, що в перший місяць після потрапляння нафти у ґрунт відбувається її латеральна міграція на відстань до 20 см. Подальше розповсюдження нафти за межі 30 см навіть через рік є незначним.

Температура нафтозабрудненого ґрунту є в середньому вища на 1-5 °С, в порівнянні з не забрудненим ґрунтом. Причому, чим вища концентрація нафти у ґрунті, тим більша інтенсивність прогрівання. Тому потрібно підібрати такі види

рослин, які будуть затіняти забруднений ґрунт в сонячні дні, що забезпечить зниження фотохімічного перетворення нафтопродуктів та температури ґрунту, його пересушування і ерозії. Відмерлі рештки рослин утворюватимуть підстилку та створять оптимальні умови для рекультивації та подальшого поселення інших видів рослин із меншими пристосувальними можливостями.

На основі одержаних результатів пропонується висаджувати фіторемедіанти не раніше, ніж через 45 діб, а з точки зору найменшого забруднення – на глибині 10-20 см.

Використання обліпихи крушиновидної для фіторемедіації нафтозабруднених ґрунтів. Нами вперше доведено, що для очищення техногенних нафтозабруднених ґрунтів доцільно використовувати обліпиху крушиновидну (*Hippophae rhamnoides* L.), яка є багаторічною, швидко росте, розростається в куртину, невибаглива до ґрунтових умов та здатна забезпечувати себе джерелом мінерального живлення, завдяки симбіозу кореневої системи з азотфіксаторами (рис. 7). Польові дослідження проводили на території Бориславського нафтового родовища, техногенних нафтозабруднених відвальних ґрунтах озокеритовидобутку, на яких вирощували *H. rhamnoides*. Закладали дослідні ділянки на ґрунтах різного ступеню забруднення нафтою: 97, 123, 150 г/кг (9,7 %, 12,3 %, 15 %), в які ранонавесні без додаткового внесення добрив, мікроорганізмів чи поливу висаджували двома рядами у шаховому порядку відсадки висотою до 30-40 см обліпихи крушиновидної в лунки глибиною 15-20 см, відстань між рослинами 1,5 м, відстань між рядами 1 м. Польові дослідження для забруднення 123 г/кг проводили у трьох повторностях: закладали три фіторемедіаційні ділянки, кожна площею 10 м², на яких висаджували 14 саджанців *H. rhamnoides* за вищеописаною схемою.

Дослідження показали, що рослини обліпихи стовідсотково приживаються на сильнозабруднених нафтою ґрунтах, 97-150 г нафти на 1 кг ґрунту (9,7-15 %), і суттєво прискорюють процес біодеградації нафти. На четвертий рік росту *H. rhamnoides*, ступінь очистки ґрунту сягає 92,7 %, за початкового забруднення ґрунту нафтою 123 г/кг (табл. 4).

Таблиця 4

Вплив рослин *H. rhamnoides*. на біодеградацію нафти у ґрунті впродовж 1-4 років зростання, початкове забруднення ґрунту 123 г/кг

	Часовий період ремедіації			
	0-й рік	1-й рік	2-й рік	4-й рік
Вміст нафти у ґрунті, г/кг	123	26,5	13,9	9,0
Сумарне очищення ґрунту, %	0	77,5	88,7	92,7

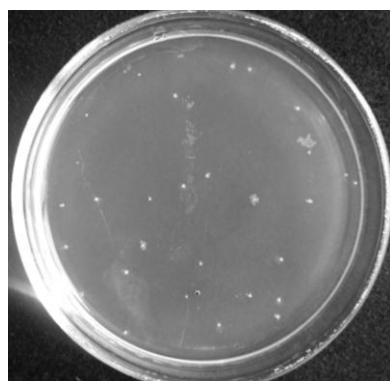
У процесі фіторемедіації знижується токсичність ґрунту, проте не лише на ділянці, де росте обліпиха, але й на відстані 4-6 м від ділянки, завдяки розростанню кореневої системи *H. rhamnoides* (табл.5). Покращуються і мікробіологічні властивості ґрунту. Так, на четвертий рік росту обліпихи на нафтозабрудненому ґрунті кількість ґрунтових мікроорганізмів значно зростає: гетеротрофів у 10⁴ раз, деструкторів нафти у 6×10² раз. Покращується якість ґрунту і на відстані 4-6 м від фіторемедіаційної ділянки: кількість гетеротрофів збільшується у 2×10² раз, деструкторів нафти у 10³ раз (табл.5).

Встановлено, що під дією рослин *H. rhamnoides* збільшується кількість та видова різноманітність азотфіксаторів. Так, після чотирьох років фітореMediaції кількість азотфіксуючих мікроорганізмів зростає на один порядок. Для забрудненого ґрунту характерні однотипні невеликі колонії, а у ґрунті, після фітореMediaції обліпихою спостерігаються колонії різного розміру, форми, кольору, консистенції (рис. 6). Збільшується і вміст загального та амонійного азоту у ґрунті. Це важливо для нафтозабруднених ґрунтів, так як у них порушується співвідношення між азотом і вуглецем.

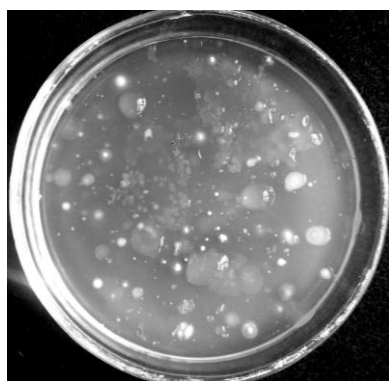
Таблиця 5

Вплив нафти і *H. rhamnoides* на фітотоксичність нафтозабрудненого ґрунту на четвертий рік ремедіації. Початкове забруднення 123 г нафти на 1 кг ґрунту

Варіанти	Токсичність по <i>L.usitatissimum</i>			Ґрунтові мікроорганізми, КОУ/г ґрунту	
	Відносна схожість насіння, %	Відносна довжина кореня, %	Відносна висота пагона, %	Гетеротрофи	Деструктори нафти
Забруднений ґрунт	0	0	0	2×10^4	5×10^2
Ґрунт після чотирьох 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



А



Б



Рис. 6. Колонії олігонітрофілів та азотфіксаторів на нафтозабруднених ґрунтах: (А) – до фітореMediaції, (Б) – після фітореMediaції *H. rhamnoides*

Рис. 7. Симбіоз *H. rhamnoides* з азотфіксуючими мікроорганізмами у нафтозабрудненому ґрунті

Отже, завдяки симбіозу кореневої системи обліпихи з мікроорганізмами (рис. 7) і мінералізації рослинних решток, відбувається збагачення ґрунту та забезпечення рослин азотом, як наслідок – успішне заростання нафтозабруднених територій в процесі фітореMediaції. Рослинний покрив сприяє утриманню вологи у ґрунті та запобігає його перегріванню. В сонячні дні, при температурі повітря 28 °С,

температура поверхневого шару техногенного нафтозабрудненого ґрунту на 10 °С вища, ніж фіторекультивованого обліпихою.

Завдяки поверхневій кореневій системі обліпихи, добре розвиненим шнуроподібним кореням, що дають кореневі паростки, рослина успішно поширюється на сусідні території, розпушуючи забруднений ґрунт, покращує його водно-повітряні властивості, сприяє швидкому накопиченню біомаси, гумусоутворенню та забезпечує пролонгацію фітомеліоративної дії. Так, фіторе mediaційна ділянка за чотири роки розростається в куртину, площа якої у 3 рази перевищує вихідну ділянку.

Обліпиха створює умови для прискореної біодеградації нафти у ґрунті та сприяє вторинному заростанню нафтозабруднених ґрунтів. Виявлено, що серед рослин вторинного заростання найбільш поширені види: осока (*Carex* sp.), кульбаба лікарська (*Taraxacum officinale*), люцерна хмелевидна (*Medicago lupulina* L.), конюшина лучна (*Trifolium pratense* L.), і ін.

Стійкість обліпихи підтверджено дослідженнями стану пилку та пігментного фонду у хлоропластах листків рослин *H. rhamnoides* в умовах нафтового забруднення ґрунту. Встановлено, що стерильність пилку та вміст каротиноїдів у її листках не відрізняється від контролю, що підтверджує толерантність рослин обліпихи до даного забруднювача.

Показано, що *H. rhamnoides* є не лише ефективною, а й економічно вигідною культурою для відновлення нафтозабруднених ґрунтів. Здійснено техніко-економічне обґрунтування доцільності посадки обліпихи. Витрати на фіторе mediaцію нафтозабрудненої території 1 га складають 20 тис. грн. Насадження обліпихи на техногенно порушених землях виконують протиерозійну, водоохоронну, санітарно-гігієнічну, рекреаційну та ґрунтовідновлюючу роль. Очікуваний розрахунковий економічний ефект буде значно вищий, якщо враховувати не лише захисну, санітарно-гігієнічну та рекреаційну ролі рекультиваційних насаджень, а також прибуток від реалізації рослинної біомаси на паливо (Романюк ін., 2015). Обліпиха має високу теплотворну здатність – 4785,5 кал/кг, що переважає показники більшості видів деревини. Одна тонна обліпихової деревини еквівалентна по теплоті згорання 0,68 тонні вугілля. *H. rhamnoides* виробляє максимально біомасу на шостий рік. Після вирубки обліпихи з її кореневої системи виростають нові рослини. Тим самим, одноразова посадка може постачати біомасу на тривалий період, яку можна використовувати в якості самостійного палива або для отримання рідкого пального. Обліпиху рекультиваційних ділянок слід періодично зрубувати на біомасу не доводячи до стадії плодоношення (на четвертий рік) або ж використовувати посадки чоловічих особин.

Отже, обліпиха крушиновидна є перспективною, як з екологічної, так і економічної точки зору культурою для відновлення нафтозабруднених ґрунтів.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі відповідно до поставленої мети та завдань розроблено екологічну оцінку нафтозабруднених ґрунтів з використанням рослинних тест-об'єктів та ефективний метод їх фіторе mediaції.

1. Встановлено, що льон звичайний (*Linum usitatissimum* L.), соняшник однорічний (*Helianthus annuus* L.) та гречка посівна (*Fagopyrum vulgare* St.) є

чутливими до нафтового забруднення на ранніх стадіях проростання (5 доба) у широкому діапазоні концентрацій поллютанта 0-20 %. Лінійний характер залежності ростових характеристик цих рослин від вмісту нафти у ґрунті є основою для біотестування нафтозабруднених ґрунтів.

2. Виявлено високу чутливість гречки посівної до нафтового забруднення ґрунту. В польових умовах, при вмісті нафти у ґрунті на рівні орієнтовно допустимої концентрації 0,4 % гречка реагує зниженням висоти пагона у 3,5 рази порівняно з контролем на 45 добу. *F. vulgare* запропоновано для біоіндикації нафтозабруднених ґрунтів.

3. Обґрунтовано, що оцінку фітотоксичності нафтозабруднених ґрунтів доцільно проводити за величиною ефективної токсичності. Встановлено лінійну залежність між вмістом нафти у ґрунті та ефективною токсичністю і запропоновано шкалу токсичності нафтозабруднених ґрунтів (0,4-15 % нафти у ґрунті), яка пов'язує фітотоксичність з рівнем нафтового забруднення для п'яти градацій.

4. За результатами практичного використання доведена ефективність розробленого способу біоіндикації та біотестування нафтозабруднених ґрунтів і шкали токсичності у моніторингу нафтозабруднених ґрунтів озокеритової шахти м. Борислава. Аналітичний вміст нафти у ґрунті корелює з величиною фітотоксичності, визначеною з допомогою тест-об'єктів: *L. usitatissimum*, *H. annuus*, *F. vulgare*.

5. Показано, що на 45 добу процес інтенсивного випаровування нафти з ґрунту завершується, при цьому фітотоксичність нафтозабруднених ґрунтів знижується. Відбувається розподіл нафти по профілю ґрунту і найменш забрудненим є шар на глибині 10-20 см. Тому фіторемедіанти доцільно висаджувати не раніше, ніж через 45 діб після забруднення і на глибині 10-20 см.

6. Стерильність пилку та вміст каротиноїдів у листках обліпихи крушиновидної (*Hippophae rhamnoides* L.), вирощеної в умовах нафтового забруднення знаходиться в межах норми, що свідчить про толерантність цього виду до нафтового забруднення.

7. Доведена доцільність використання *H. rhamnoides* для фіторемедіації нафтозабруднених ґрунтів. Обліпиха крушиновидна стовідсотково приживається на сильно забруднених нафтою ґрунтах ≤ 123 г/кг і забезпечує високий рівень очищення 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.

РЕКОМЕНДАЦІЇ

Природоохоронним установам, а також установам, які проводять екологічний моніторинг рекомендується здійснювати оцінку стану нафтозабруднених ґрунтів методами біотестування та біоіндикації з використанням рослинних тест-об'єктів *L. usitatissimum*, *H. annuus*, *F. vulgare*, насіння яких висаджують у чашки Петрі на забруднений ґрунт у кількості 20 г, зволожений 10 мл води до вологості 33,3 %. Закривають чашки і ставлять в термостат при температурі + 24 °C. Через 5 діб визначають кількість пророслого насіння, вимірюють довжину коренів та висоту пагонів. Обрахунок фітотоксичності проводять за величиною ефективної

токсичності. Отримані значення фітотоксичності співставляють із запропонованою шкалою токсичності нафтозабруднених ґрунтів, яка вкаже на вміст нафти у ґрунті та рівень забруднення.

Для відновлення нафтозабруднених ґрунтів рекомендується біологічний метод – фіторе mediaція з використанням рослин обліпихи крушиновидної (*Hippophae rhamnoides* L.). Метод полягає в тому, що на нафтозабруднених ґрунтах висаджують відсадки обліпихи висотою до 30-40 см у лунки глибиною 15-20 см у шахматному порядку широкорядно-вузькорядним способом, де відстань між широкими рядами 4-4,5 м, вузькими 1 м, відстань між рослинами 1,5 м. Висаджування проводять рано-навесні, коли у ґрунті ще достатньо вологи без додаткового внесення добрив, мікроорганізмів чи поливу. Запропонований спосіб є дешевим, доступним та екологічно безпечним заходом, що значно пришвидшує відновлення техногенних деградованих територій.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

У наукових періодичних виданнях інших держав

1. Shevchik L. The optimal way of biological cleaning of oil-contaminated soils / L. Shevchik, O. Romaniuk // *Mediterranean Journal of Biosciences*. – 2016. – 1(3). – P.109-113. Режим доступу: <http://ojs.medjbio.com/index.php/medjbio/article/view/396>. (Особистий внесок здобувача: проведення експериментів, обговорення, підготовка та написання статті).

У наукових фахових виданнях України, які включені до міжнародних наукометричних баз

2. Горон М. Фітотестування як експрес-метод оцінки токсичності нафтозабруднених ґрунтів / М. Горон, Н. Джура, О. Романюк, Л. Шевчик, Н. Сенечин, О. Терек // *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*. – 2012. – Вип. 58. – С. 185–192.

(Особистий внесок здобувача: участь у проведенні експериментів, обговоренні і написанні статті).

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

(Особистий внесок здобувача: проведення експериментальної частини, підготовка та написання статті).

4. Романюк О. І. Комплексний екологічний моніторинг нафтозабруднених територій на прикладі м. Борислава / О. І. Романюк, Л. З. Шевчик // *Вісник Вінницького політехнічного інституту. Екологія, екологічна кібернетика та хімічні технології*. – 2013. – №5. – С. 19–22.

(Особистий внесок здобувача: проведення експериментів по визначенню нафтопродуктів у ґрунті, фітотоксичності, обговорення та написання статті).

5. Романюк О. І. Рослинна біомаса – перспективна сировина для отримання синтетичних рідких палив / О. І. Романюк, І. В. Ощатовський, Л. З. Шевчик // *Вісник Вінницького політехнічного інституту. Екологія, екологічна кібернетика та хімічні технології*. – 2015. – №1. – С.22–28.

(Особистий внесок здобувача: участь у пошуку і аналізі літературних даних та написанні статті).

6. Романюк О. І. Методика екологічного оцінювання нафтозабруднених ґрунтів / О. І. Романюк, Л. З. Шевчик, І. В. Ощеповський, Т. В. Жак // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія. – 2016. – 24(2). – С. 264–269. *(Особистий внесок здобувача: проведення експериментів, аналіз та узагальнення даних, підготовка та написання статті).*

7. Шевчик Л. З. Використання обліпихи крушиновидної для фіторе mediaції нафтозабруднених ґрунтів / Л. З. Шевчик, О. І. Романюк // Biological Bulletin of Bogdan Chmelnytskyi Melitopol State Pedagogical University. – 2016. – Vol. 6(3). – Р. 472–480. *(Особистий внесок здобувача: проведення експериментів, аналіз даних, підготовка та написання статті).*

Патенти України

8. Патент 103601 Україна, МПК G01N 33/24 200A01H 5/00 A01C 1/00 Спосіб біотестування та біоіндикації забруднення ґрунтів нафтою / О. І. Романюк, Л. З. Шевчик, Т. В. Жак – №u 201505597; заявл. 08.06.2015, опубл. 25.12.2015; Бюл. № 24. *(Особистий внесок здобувача: підбір і критичний аналіз літературних даних, проведення експериментів, обробка, аналіз та узагальнення результатів).*

9. Патент 86572 Україна, МПК A01B 79/00-79/02 B09C 1/00. Спосіб очищення техногенних ґрунтів, забруднених нафтою / О. І. Романюк, Л. З. Шевчик, О. І. Терек – №u 2013 05665; заявл. 30.04.2013; опубл. 10.01.2014; Бюл. №1. *(Особистий внесок здобувача: проведення експериментів на четвертий рік рекультивації, участь у обробці, аналізі та узагальненні результатів).*

Матеріали наукових конференцій

10. Джура Н. Екотоксикологічний моніторинг нафтозабруднених ґрунтів / Н. Джура, Л. Шевчик, О. Романюк, О. Терек // Молодь і поступ біології: Збірник тез VII міжнар. конф. студентів та аспірантів (м. Львів, 5–8 квітня 2011 р.) – Львів, 2011. – С. 318–319.

11. Шевчик Л. Вплив абіотичних факторів на випаровування нафти з ґрунту / Л. Шевчик, Н. Джура, О. Романюк, О. Цвілинюк, О. Терек // Молодь і поступ біології: Збірник тез VIII міжнар. конф. студентів та аспірантів (м. Львів, 3–6 квітня 2012 р.). – Львів, 2012. – С. 182–183.

12. Шевчик Л. З. Вплив абіотичних факторів і фіторе mediaнтів на біодеградацію нафти у ґрунті / Л. З. Шевчик, Н. М. Джура, О. І. Романюк, О. І. Терек // Захист навколишнього середовища. Збалансоване природокористування: Матер. III міжнар. студ. наук.-практ. конф. (м. Львів, 16–17 листопада 2010 р.) – Львів, 2010. – С. 60–62.

13. Шевчик Л. Біотестування нафтозабрудненого ґрунту / Л. Шевчик, Н. Джура, О. Романюк, О. Цвілинюк, О. Терек // Молодь і поступ біології: Збірник тез VI міжнар. конф. студентів та аспірантів (м. Львів, 21–24 вересня 2010 р.). – Львів, 2010. – С. 123–124.

14. Шевчик Л. Застосування експрес-методу оцінки токсичності нафтозабруднених ґрунтів у комплексному екологічному моніторингу території м. Борислава / Л. Шевчик, О. Романюк // Молодь і поступ біології: Збірник тез IX міжнар. конф. студентів та аспірантів (м. Львів, 16–19 квітня 2013 р.). – Львів, 2013. – С. 234–235.

15. Романюк О.І. Перспективи використання обліпихи крушиновидної для фіторе mediaції нафтозабруднених ґрунтів / О. І. Романюк, Л. З. Шевчик // Стан і

біорізноманіття екосистем Шацького національного природного парку: Матер. наук. конф. (12-15 вересня 2013 р., смт. Шацьк). – Львів: СПОЛОМ, 2013. – С.67–68.

16. Романюк О. І. Комплексний екологічний моніторинг нафтозабруднених територій на прикладі м. Борислава / О. І. Романюк, Л. З. Шевчик // IV Всеукраїнський з'їзд екологів з міжнар. участю (Екологія/Ecology – 2013): Збірник наукових статей (м. Вінниця, 25-27 вересня, 2013 р.). – Вінниця: ДІЛО, 2013. – С.177–179.

17. Shevchyk L. Developing technology of remediation of oil-contaminated soils / L. Shevchyk, O. Romaniuk // Chemistry and Chemical Technology: Proceedings of the 3rd International Conference of Young Scientists CCT-2013. – Lviv: Lviv Polytechnic Publishing House, 2013. – P. 74-75.

18. Шевчик Л., Вивчення впливу нафти на початкові ростові параметри рослинних тест-об'єктів / Л. Шевчик, О. Романюк // Молодь і поступ біології: Збірник тез X міжнар. наук. конф. студентів і аспірантів (м. Львів, 8-11 квітня 2014р.). – Львів, 2014. – С. 130–131.

19. Шевчик Л. З. Дослідження зміни токсичності нафтозабруднених ґрунтів під дією абіотичних факторів / Л. З. Шевчик, О. І. Романюк // Стан і біорізноманіття екосистем Шацького національного природного парку: Матер. наук. конф., (11-14 вересня 2014 р., смт. Шацьк) – Львів: СПОЛОМ, 2014. – С.101-102.

20. Романюк О. І. Дослідження динаміки самоочищення нафтозабруднених ґрунтів / О. І. Романюк, Л. З. Шевчик, Р. І. Вільданова, Н. С. Щеглова, О. М. Шульга, О. В. Карпенко, М. В. Пристай // Стан і біорізноманіття екосистем Шацького національного природного парку: Матер. наук. конф., (11-14 вересня 2014 р., смт. Шацьк) – Львів: СПОЛОМ, 2014. – С.72–73.

21. Oshchapovsky I. Remediation of oil-contaminated soils: development and application / I. Oshchapovsky, O. Romanyuk, L. Shevchyk // 19th International scientific conference “EcoBalt 2014”, October 8-10, 2014. – Riga, Latvia, University of Latvia press. – P.45.

22. Шевчик Л. Використання гречки посівної для екологічного моніторингу нафтозабруднених ґрунтів / Л. Шевчик, О. Романюк, І. Подан // Молодь і поступ біології: Збірник тез XI міжнар. наук. конф. студентів і аспірантів (м. Львів, 20–23 квітня 2015 р.). – Львів, 2015. – С. 236–237.

23. Романюк О. І. Розробка методу оцінки токсичності нафтозабруднених ґрунтів для екотоксикологічного моніторингу / О. І. Романюк, Шевчик Л. З. // Екологічні проблеми природокористування та охорона навколишнього середовища: збірник наукових праць Другої Всеукр. наук.-практ. конф. за міжнародною участю (Рівне, 21-23 жовтня 2015 р.). – Рівне: РДГУ, 2015. – С. 157–158.

24. Шевчик Л. З. Оцінка стану пилку та пігментів у листках рослин обліпихи крушиновидної, вирощеної в умовах нафтового забруднення / Л. З. Шевчик, О. І. Романюк // Стан і біорізноманіття екосистем Шацького національного природного парку: Матер. наук. конф., (10–13 вересня 2015р., смт. Шацьк) – Львів: СПОЛОМ, 2015. – С.114–115.

25. Романюк О. І. Запровадження та проведення комплексного екологічного моніторингу на території м. Борислава / О. І. Романюк, Л. З. Шевчик // Форум гірників – 2015: Матер. міжнар. конф., (м. Дніпропетровськ, 30 вересня – 03 жовтня 2015 р.). – Д.: Національний гірничий університет, 2015. – С. 210–215.

26. Oshchapovsky I. Remediation of oil-contaminated soils: development and application / I. Oshchapovsky, O. Romaniuk, L. Shevchyk // 9th International Forum Science and Technology days Poland-East, (Suprasl, 2015). – p16.

27. Стецишин В. Вплив нафтового забруднення ґрунту на ріст рослин *Helianthus annuus* L., *Fagopyrum esculentum* Moench. і *Linum usitatissimum* L. / В. Стецишин, М. Градович, І. Подан, Р. Гальчук, Н. Джура, Л. Шевчик, О. Романюк // Молодь і поступ біології: збірник тез XII Міжнар. наук. конф. студентів і аспірантів (м. Львів, 19–21 квітня 2016 р.). – Львів, 2016. – С. 176–177.

28. Шевчик Л. З. Дослідження латеральної міграції нафтової плями за участю тестових рослин / Л. З. Шевчик, Т. В. Жак, О. І. Романюк, Н. М. Джура, І. І. Подан, Р. І. Гальчук // Фундаментальні та прикладні дослідження в біології та екології. Матер. IV Міжнар. наук. конф., (м. Вінниця, 12–14 квітня, 2016 р.). – Вінниця: ДРУК, 2016. – С. 146–147.

АНОТАЦІЯ

Шевчик Л. З. Екологічна оцінка та фіторе mediaція нафтозабруднених ґрунтів. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.16 – екологія. – Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, Дніпро, 2017.

Дисертація присвячена екологічній оцінці нафтозабруднених ґрунтів з використанням рослинних тест-об'єктів та розробці науково-практичних заходів фіторе mediaції ґрунтів, забруднених нафтою. Встановлено, що льон звичайний (*Linum usitatissimum* L.), соняшник однорічний (*Helianthus annuus* L.) та гречка посівна (*Fagopyrum vulgare* St.) є чутливими до нафтового забруднення на ранніх стадіях проростання (5 доба) у широкому діапазоні концентрацій поллютанта 0–20 %, залежності між концентрацією нафти і ростовими параметрами цих рослин близькі до лінійних, а тому *L. usitatissimum*, *H. annuus* та *F. vulgare* можуть використовуватися для біотестування нафтозабруднених ґрунтів. Виявлено високу чутливість гречки посівної до нафтового забруднення ґрунту, навіть на рівні орієнтовно допустимої концентрації нафти у ґрунті (0,4 %). *F. vulgare* запропоновано для біоіндикації нафтозабруднених ґрунтів.

Розроблено шкалу токсичності нафтозабруднених ґрунтів, в якій відображено зв'язок між фітотоксичністю та вмістом нафти у ґрунті. Здійснено апробацію розробленої методики екологічної оцінки нафтозабруднених ґрунтів на забруднених нафтою відвальних ґрунтах озокеритової шахти м. Борислава та доведено її ефективність. Визначено оптимальні умови для проведення фіторе mediaції.

Доведено доцільність використання обліпихи крушиновидної (*Hippophae rhamnoides* L.) для фіторе mediaції нафтозабруднених ґрунтів, яка успішно адаптується до несприятливих умов забруднених нафтою ґрунтів, забезпечує високий рівень очищення до 92,7 %, покращує фізичні, хімічні і біологічні властивості ґрунту. Проведено еколого-економічну оцінку фіторе mediaції нафтозабруднених ґрунтів при використанні обліпихи крушиновидної.

Ключові слова: нафтозабрудненні ґрунти, біотестування, фітотоксичність, екологічна оцінка, фіторе mediaція, *Linum usitatissimum*, *Helianthus annuus*, *Fagopyrum vulgare*, *Hippophae rhamnoides*.

АННОТАЦИЯ

Шевчик Л. З. Экологическая оценка и фиторемедиация нефтезагрязненных почв. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.16 – экология. – Днепропетровский национальный университет имени Олеся Гончара, Днепр, 2017.

Диссертация посвящена экологической оценке нефтезагрязненных почв с использованием растительных тест-объектов и разработке научно-практических мероприятий фиторемедиации почв, загрязненных нефтью. Впервые установлено, что лен обыкновенный (*Linum usitatissimum* L.), подсолнечник однолетний (*Helianthus annuus* L.) и гречиха посевная (*Fagopyrum vulgare* St.) чувствительны к нефтяному загрязнению на ранних стадиях прорастания в широком диапазоне загрязнения почвы нефтью 0-20 %. Установлено, что для оценки токсичности оптимально использовать начальные ростовые параметры *L. usitatissimum*, *H. annuus*, *F. vulgare*, полученные на 5 сутки при росте в темноте, в условиях термостатирования + 24°C. Зависимости между концентрацией нефти и начальными ростовыми параметрами близки к линейным, поэтому лен, подсолнечник, гречиха могут использоваться для биотестирования нефтезагрязненных почв. Впервые установлено высокую чувствительность гречихи посевной к нефтяному загрязнению, так, что даже на уровне ориентировочно допустимой концентрации 0,4 % нефти в почве высота ее побега снижается в 3,5 раз по сравнению с контролем на 45 сутки. Гречиха посевная предлагается для биоиндикации нефтезагрязненных почв. Установлены интервалы нефтяного загрязнения, для которых предпочтительно применение определенного тест-объекта из перечисленных: *L. usitatissimum*, *H. annuus*, *F. vulgare*. При низких концентрациях нефти в почве < 1 % целесообразно использование *F. vulgare*. При более высоких концентрациях 2,5-10 %; 15,0-17,0 % возможно применение каждого из трех растений. Показано, что величина эффективной токсичности дает оптимальную оценку фитотоксичности. Установлена линейная связь между содержанием нефти в почве и эффективной токсичностью. Предложено шкалу токсичности нефтезагрязненных почв, в которой отражена связь между фитотоксичностью и содержанием нефти в почве. Проведена апробация разработанной методики экологической оценки нефтезагрязненных почв на отвальных нефтезагрязненных почвах озокеритовой шахты г. Борислава и доказана ее эффективность. Проведен экологический мониторинг нефтезагрязненных почв озокеритовой шахты г. Борислава. Аналитическое содержание нефти в почве коррелирует с величиной фитотоксичности, определенной с помощью тест-объектов: *L. usitatissimum*, *H. annuus*, *F. vulgare*. Определены условия успешного осуществления фиторемедиации. Показано, что на 45 сутки процесс интенсивного испарения нефти из почвы завершается, фитотоксичность нефтезагрязненных почв снижается. Происходит распределение нефти по профилю почвы и наименее загрязненным является слой на глубине 10-20 см. Поэтому фиторемедианты целесообразно высаживать не раньше, чем через 45 суток после загрязнения, на глубину 10-20 см. Доказана эффективность использования облепихи крушиновидной (*Hipporhae rhamnoides* L.) для фиторемедиации нефтезагрязненных почв. Показано, что растения *H. rhamnoides* успешно адаптируются к неблагоприятным условиям

нефтезагрязненных почв, приживаются на сильнозагрязненных нефтью почвах ≤ 123 г/кг и обеспечивают высокий уровень очистки до 92,7% на четвертый год роста. Под влиянием облепихи 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. Проведена эколого-экономическая оценка фиторемедиации нефтезагрязненных почв при использовании облепихи крушиновидной.

Ключевые слова: нефтезагрязненные почвы, биотестирование, фитотоксичность, экологическая оценка, фиторемедиация, *Linum usitatissimum*, *Helianthus annuus*, *Fagopyrum vulgare*, *Hippophae rhamnoides*.

SUMMARY

Shevchyk L. Z. Ecological assessment and phytoremediation of oil-contaminated soil. – Manuscript.

Thesis for the scientific degree of candidate of biological sciences in speciality 03.00.16 – Ecology. – Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Dnipro, 2017.

The thesis is devoted to environmental assessment and restoration of oil-contaminated soils using higher plants. *Linum usitatissimum* L., *Helianthus annuus* L. and *Fagopyrum vulgare* St. are sensitive to oil pollution and are suitable for biotesting of the oil-contaminated soils at early stages of germination in the wide range of concentrations of oil in soil (0–20%). High sensitivity of *F. vulgare* to low concentrations of oil in the soil near approximately admissible level (0.4% of oil in the soil) was discovered and proved for the first time. *F. vulgare* is recommended to use for bioindication of oil-contaminated soils.

A scale of toxicity of oil-contaminated soils is suggested, which shows the relationship between phytotoxicity, content of oil in soil and pollution level. The method of environmental assessment of oil-contaminated soils was tested on the oil-contaminated soils – dumps of Borislav Ozokerite Mine and its efficiency is proved. Optimum conditions for carrying out a phytoremediation are determined.

The expediency of using *Hippophae rhamnoides* for phytoremediation of oil-contaminated soils was proved. *Hippophae rhamnoides* plants successfully adapt to adverse conditions of the oil-contaminated soils and improve physical, chemical and biological properties of soils, reduce oil content in the soil. The degree of soil cleaning from oil pollution reaches 92.7%. An ecological-economic evaluation of phytoremediation of oil-contaminated soils using *Hippophae rhamnoides* was carried out.

Keywords: oil-contaminated soil, biological testing, phytotoxicity, ecological assessment, phytoremediation, *Linum usitatissimum*, *Helianthus annuus*, *Fagopyrum vulgare*, *Hippophae rhamnoides*.

Підписано до друку 22.03.17
Формат 60х84/16. Папір офсетний.
Друк на різнографі. Зам. №22/03-1
Ум. друк. арк. 0,9
Наклад 100 прим.

Друк ФОП Король І.В.
м. Львів, вул. Гнатюка, 17
Ел. пошта: lvivprint@ukr.net. Тел. 096-59-88-924
Код ДРФО 2814706601
Витяг з реєстру платників єдиного податку
№1613073402716 від 26.02.2016