

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ВІДДІЛЕННЯ ФІЗИКО-ХІМІЇ ГОРЮЧИХ КОПАЛИН
ІНСТИТУТУ ФІЗИКО-ОРГАНІЧНОЇ ХІМІЇ І ВУГЛЕХІМІЇ
ІМ. Л. М. ЛИТВИНЕНКА

На правах рукопису

ШЕВЧИК ЛЕСЯ ЗЕНОВІЇВНА

УДК 504.53.054:665.7+504.064.3:581

ЕКОЛОГІЧНА ОЦІНКА ТА ФІТОРЕМЕДІАЦІЯ
НАФТОЗАБРУДНЕНИХ ҐРУНТІВ

03.00.16 — екологія

Дисертація на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Науковий керівник:
кандидат хімічних наук,
старший науковий співробітник
Романюк Ольга Іванівна

Львів – 2017

ЗМІСТ

ВСТУП	5
РОЗДІЛ 1 НАФТОВЕ ЗАБРУДНЕННЯ ҐРУНТІВ: ПРОБЛЕМИ ТА ШЛЯХИ ВИРІШЕННЯ (АНАЛІТИЧНИЙ ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....	11
1.1. Особливості нафтового забруднення ґрунтів.....	11
1.2. Екологічне оцінювання. Біоіндикація та біотестування	20
1.3. Рослини як тест-системи для екологічної оцінки забруднених територій ..	25
1.4. Відновлення нафтозабруднених ґрунтів.....	31
Висновки до розділу	41
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	43
2.1. Характеристика району досліджень.....	43
2.2. Рослинні тест-об'єкти та фіторемедіанти.....	48
2.3. Методики лабораторних та польових досліджень.....	51
2.3.1. Біотестування та біоіндикація нафтозабруднених ґрунтів	51
2.3.2. Випаровування нафтопродуктів із забрудненого ґрунту	52
2.3.3. Вертикальна міграція нафти у ґрунт	53
2.3.4. Латеральна міграція нафти у ґрунт	53
2.3.5. Моніторингові дослідження нафтозабруднених ґрунтів	54
2.3.6. Фіторемедіація нафтозабруднених ґрунтів	54
2.3.7. Відбір проб ґрунтів	55
2.3.8. Визначення морфометричних показників	55
2.3.9. Визначення фітотоксичності ґрунту	55
2.3.10. Визначення вмісту нафтопродуктів у ґрунтах	56
2.3.11. Визначення чисельності мікроорганізмів у ґрунті	57
2.3.12. Визначення вмісту азоту у ґрунті	58
2.3.13. Визначення вмісту рухомого фосфору у ґрунті.....	58
2.3.14. Визначення рН ґрунту	58
2.3.15. Фотометричний метод кількісного визначення пігментів.....	58
2.3.16. Метод визначення стерильності пилку.....	59

2.4. Статистично-математичне опрацювання результатів досліджень	60
РОЗДІЛ 3 ЕКОЛОГІЧНЕ ОЦІНЮВАННЯ НАФТОЗАБРУДНЕНИХ ҐРУНТІВ.....	
3.1. Підбір рослин, чутливих до нафтового забруднення	61
3.2. Вплив нафти на початкові ростові параметри рослин льону, соняшника та гречки	67
3.3. Гречка як біоіндикатор нафтозабруднених ґрунтів.....	73
3.4. Оцінка токсичності нафтозабруднених ґрунтів	76
Висновки до розділу	81
РОЗДІЛ 4 ЕКОЛОГІЧНИЙ МОНІТОРИНГ НАФТОЗАБРУДНЕНИХ ҐРУНТІВ.....	
4.1. Дослідження нафтозабруднених ґрунтів на прикладі відвальних ґрунтів озокеритової шахти м. Борислава.....	83
4.2. Фітотоксичність ґрунтів озокеритової шахти м. Борислава.....	87
Висновки до розділу	90
РОЗДІЛ 5 ФІТОРЕМЕДІАЦІЯ НАФТОЗАБРУДНЕНИХ ҐРУНТІВ.....	
5.1. Оцінка характеру нафтового забруднення для розробки оптимальної схеми ремедіації	92
5.1.1. Дослідження динаміки випаровування нафти з нафтозабрудненого ґрунту та зміни його фітотоксичності	92
5.1.2. Дослідження зміни токсичності ґрунту при вертикальній та латеральній міграції нафти	97
5.1.3. Температурна характеристика нафтозабрудненого ґрунту	105
5.1.4. Зміна рН нафтозабруднених ґрунтів	106
5.2. Використання обліпихи крушиновидної для фітореemedіації нафтозабруднених ґрунтів.....	107
5.2.1. Вплив рослин на біодеградацію нафти у ґрунті.....	107
5.2.2. Стерильність та фертильність пилкових зерен обліпихи в умовах нафтового забруднення.....	116

5.2.3. Пігментний фонд у хлоропластах листків рослин обліпихи в умовах нафтового забруднення ґрунту	118
5.3. Еколого-економічна ефективність фітореMediaції	119
Висновки до розділу	123
ВИСНОВКИ.....	125
РЕКОМЕНДАЦІЇ	127
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	128

ВСТУП

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 [18, 24, 116, 183]. 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 [37, 241, 266]. 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 [53, 274, 315, 316]. 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 із 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 фіторемедіації 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 фіторемедіації;
- запропонувати багаторічну рослину-фіторемедіант, стійку до нафтового забруднення;
- здійснити фіторемедіацію 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 фіторемедіації нафтозабруднених ґрунтів.

Методи дослідження. У процесі виконання роботи використовували наступні методи: 1) польові – для встановлення впливу фіторемедіантів 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 застосуванням 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 поліюганта 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 (*Hippophae 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 поліюганта 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). Обліпіха 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.

РОЗДІЛ 1

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

1.1. Особливості нафтового забруднення ґрунтів

Нафтове забруднення є одним з найбільш небезпечних видів забруднення навколишнього середовища. Його негативна дія на ґрунтово-рослинний покрив, атмосферне повітря, поверхневі та підземні води, здоров'я людей відзначається на всіх етапах промислового освоєння нафтових родовищ: буріння, переробки, зберігання, транспортування і ліквідації обладнання. Найбільшого впливу зазнають водні та наземні екосистеми. Серед компонентів наземних екосистем нафтою, насамперед, забруднюється ґрунт. Завдяки високій адсорбуючій здатності, нафта та нафтопродукти тривалий час зберігаються у ньому, спричиняючи як деградацію земель, так і створюють небезпеку проникнення поліутантів у живильні ланцюги, однією з ланок яких є людина. Природне самоочищення ґрунту – довготривалий і складний процес, який не завжди завершується повним відновленням ґрунтової екосистеми.

Нафта – рідкий природний розчин, що складається з великої кількості вуглеводнів різної будови і високомолекулярних смолисто-асфальтенових речовин. У її склад входить майже 3000 інгредієнтів, більшість з яких легко окислюються. Головними нафтоутворюючими компонентами є: вуглець (83-87 %), водень (12-14 %), азот, сірка, кисень (1-2 %, рідше 3-6 % за рахунок сірки). Десяті та соті частини процента нафти складають мікроелементи [103, 111].

В якості еколого-геохімічних характеристик основного складу нафти прийнято вміст: легкої фракції (початок кипіння 200°C), метанових вуглеводнів (включаючи тверді парафіни), циклічних вуглеводнів, смол, асфальтенів і сірчистих сполук.

До складу легкої фракції входять найбільш прості за будовою низькомолекулярні вуглеводні: метанові (алкани), нафтенові (циклопарафіни) і

ароматичні. Легка фракція нафти є найбільш рухомою та токсичною. Вона мігрує по ґрунтовому профілю і водоносних горизонтах, значно розширюючи ареал первинного забруднення. Метанові вуглеводні легкої фракції виявляють наркотичну і токсичну дії на живі організми. Особливо швидко діють алкани з коротким вуглеводневим ланцюгом. Ці вуглеводні краще розчиняються у воді, легко проходять в клітини організмів через мембрани. Вважається [25, 48, 139, 218], що прямий токсичний ефект визначається саме легкими фракціями нафти. Внаслідок летючості і більш високої розчинності низькомолекулярних алканів їх дія, як правило, не є довготривалою. Зі зменшенням вмісту легкої фракції токсичність нафти знижується, але зростає токсичність ароматичних сполук, відносний вміст яких збільшується [124, 224].

До циклічних вуглеводнів у складі нафти відносяться нафтеніві (циклоалкани) та ароматичні (арени). Ароматичні вуглеводні – найбільш токсичні, багато з них характеризуються яскраво вираженою мутагенністю і канцерогенністю [283]. Про токсичність нафтенів відомостей майже не має. Разом з тим є дані про нафтени як стимулюючі речовини при дії на живі організми. Циклічні вуглеводні з насиченими зв'язками окислюються дуже важко. Біодеградацію циклоалканів утруднює їх мала розчинність та відсутність функціональних груп. Основні продукти окислення нафтових вуглеводнів – кислоти та окисикислоти. В процесі ущільнення кислих продуктів частково можуть утворюватися продукти окисної конденсації – вторинні смоли та незначна кількість асфальтенів.

Смоли та асфальтени відносяться до високомолекулярних неуглеводневих компонентів нафти. В її складі вони відіграють важливу роль, визначаючи фізичні властивості та хімічну активність. Шкідливий екологічний вплив смолисто-асфальтенових сполук на ґрунт полягає не так у їх хімічній токсичності, як у зміні водно-фізичних властивостей ґрунту. Зазвичай, смолисто-асфальтенові компоненти сорбуються у верхньому, гумусовому горизонті, пори в ґрунті при цьому зменшуються. Гідрофобні компоненти, покриваючи коріння рослин, різко погіршують надходження до них вологи та

поживних речовин, спричинюючи їх загибель [8, 124, 212]. Потенційно екологічно-небезпечними компонентами нафти є сполуки сірки, які суттєво підвищують її токсичність.

При забрудненні нафтопродуктами відбувається порушення структурних та функціональних характеристик ґрунтової екосистеми, зниження продуктивності земель, зміна морфологічних характеристик, фізико-хімічних та біологічних властивостей ґрунтів [81, 91, 111, 212].

До морфологічних змін відносять: більш темний колір в порівнянні з незабрудненим ґрунтом, велика щільність, наявність масляних плівок, поява стовпчастої структури в нижній частині профілю ґрунтів, посилення оглеєння [224]. У нафтозабруднених ґрунтах переважають чорні, сіро-коричневі відтінки в верхній частині профілю і темно-бурі, коричнево-бурі, буро-охристі – в нижній [196]. Зміна кольору поверхні ґрунту в результаті обгортання ґрунтових частинок нафтовою плівкою призводить до зниження його спектральної відбивної здатності. Зміна кольору забрудненого ґрунту сприяє також більшому його прогріванню [79].

Характер розподілу нафти і нафтопродуктів у ґрунтовому профілю залежить від властивостей ґрунту та складу нафти – співвідношення високомолекулярних і низькомолекулярних компонентів [190].

Вертикальне просування нафти вздовж ґрунтового профілю створює хроматографічний ефект диференціації складу нафти: у верхньому, гумусовому горизонті сорбуються високомолекулярні компоненти, які містять багато смолисто-асфальтенових речовин та циклічних сполук; в нижні горизонти проникають, в основному, низькомолекулярні сполуки, які володіють більш високою розчинністю у воді, ніж високомолекулярні компоненти [8, 64, 190].

В умовах лабораторних досліджень встановлено [44, 322], що основними процесами, які визначають міграцію вуглеводнів, є сорбція і водопроникність ґрунту. Зі збільшенням щільності ґрунту кількість адсорбованої нафти зростає. Зі зростанням вологості ґрунту спостерігається зменшення сорбції нафти, але збільшується глибина її вертикальної міграції [209]. При надходженні нафти в

грунти піщаного гранулометричного складу, спостерігається її активна міграція з подальшим накопиченням в нижніх горизонтах, а також вихід у ґрунтові і підземні води [11, 140]. Повідомляється, що на території нафтових родовищ Апшеронського півострова Азербайджанської Республіки глибина забруднення ґрунту нафтою сягає більше 1,5 м [289].

Витоки нафтопродуктів з високим вмістом важких фракцій вуглеводнів утворюють на поверхні ґрунту щільну, в'язку бітумінозну кірку. Ґрунти, насичені нафтопродуктами, втрачають здатність вбирати і утримувати вологу, для них характерні більш низькі значення гігроскопічної вологості, водопроникності, вологоємності [10, 109, 111, 145, 154, 167, 216].

В результаті забруднення нафтою змінюється кількість і співвідношення макро- і мікроелементів. Зокрема, різко зростає співвідношення між вуглецем і азотом за рахунок вуглецю нафти, що погіршує азотний режим ґрунтів [138, 197]. Крім того, нафта має негативний вплив на бактерії, що беруть участь у кругообігу азоту [76].

Сорбція нафти на частинках ґрунту перешкоджає міграції рухомих форм поживних елементів: азоту, фосфору та калію у розчини, чим зменшує доступність для рослин елементів мінерального живлення [1, 82, 133, 138, 210].

Нафтове забруднення веде до перебудови ґрунтового-вбирного комплексу [2, 109, 210], що призводить до зміщення лужно-кислотних умов ґрунту – спостерігається підлужнення початково кислих і слабо-кислих ґрунтів [2, 107, 190] або підкислення близьких до нейтральних і нейтральних ґрунтів на 0,1-0,3 одиниці рН [109]. При забрудненні нафтою початково нейтрального лужно-алювіального ґрунту спостерігали підкислення ґрунтового розчину на 0,8-1,6 одиниць рН [197].

У ґрунтах нафтопромислів відзначається підвищення концентрації важких металів. Зокрема, дослідники вказують на перевищення фонового вмісту As, Pb, Cu, Zn, V і Ni [169, 289].

Біологічні властивості ґрунтів теж різко змінюються у відповідь на нафтове забруднення [34, 138, 196, 242]. Відбувається зниження активності

більшості ґрунтових ферментів [91, 138, 216]. Проте існують публікації, в яких вказується на збільшення активності каталази [242], дегідрогенази [2, 64, 118, 242], уреази [64, 138, 197, 242], інвертази [74].

Повідомляється, що ароматичні вуглеводні пригнічують активність ферментів, парафінові – активізують [216, 310, 330]. Зміна активності ґрунтових ферментів зазвичай корелює з чисельністю мікроорганізмів [34, 88].

Вуглеводні нафти впливають на мікроорганізми через трансформацію фізико-хімічних властивостей ґрунту: зменшення доступності елементів мінерального живлення, погіршення водного і повітряного режимів, зміна реакції ґрунтового середовища і структури ґрунту [132], та прямий токсичний вплив, який пов'язаний, в першу чергу, з летючими ароматичними вуглеводнями (бензолом, толуолом, ксилолом і ін.), нафталіном і деякими іншими водорозчинними сполуками [281].

Аналіз публікацій показав неоднозначний вплив нафти на комплекс ґрунтових мікроорганізмів. Так, нафтове забруднення стимулює зростання певних видів і пригнічує розвиток інших, що залежить від концентрації і складу забруднювача та біологічних особливостей організмів [86]. Найбільш чутливі до нафтового забруднення актиноміцети, нітрифікатори [76, 86, 147], целюлозоруйнуючі мікроорганізми [79, 94]. На противагу зниженню чисельності або ж повному випаданню найбільш чутливих ланок мікробного угруповання ґрунту, відбувається збільшення чисельності нафтоокислюючих мікроорганізмів [111] і мікроміцетів, які використовують вуглеводні нафти як поживний субстрат [34, 105].

У роботах [83, 114] повідомляється про збільшення числа фітопатогенних та фітотоксичних ґрунтових грибів, накопичуються потенційно небезпечні та алергенні для людини види [99, 273].

Альгофлора ґрунтів реагує на забруднення нафтопродуктами багато в чому так само, як мікрофлора. Низька концентрація сирової нафти (0,01 %) стимулює зростання зелених водоростей *Chlorella homosphaera* і *Chlorella vulgaris* (на 16 і 15 %), тоді як більш висока концентрація (0,3 %) викликає

істотне скорочення (15 і 20 %) чисельності [272]. Найбільш стійкими до нафтопродуктів виявилися представники синьо-зелених водоростей, або ціанобактерій, які домінували на забруднених ґрунтах: види *Nostoc punctiforte*, *Nostoc linckia*, *Anabaena oscillarioides*, *Phormidium autumnale* і *Plectonema gracillimum* [71, 153, 238]. Є припущення, що ціанобактерії здатні засвоювати вуглеводні нафти [77].

Мезофауна (дощові черв'яки, багатоніжки, молюски, імаго і личинки комах) вважається однією з найбільш чутливих компонентів екосистем до вуглеводневого забруднення ґрунтів. Найчутливішими виявились молюски, а найстійкішими багатоніжки класу *Chilopoda*, здатні виживати на ділянках з забрудненням нафтою понад 20 % нафти. Проміжне становище займають дощові черв'яки, павуки і комахи [91, 102, 192].

Вплив нафтового забруднення на рослини відбувається двома шляхами: безпосередньо, внаслідок проникнення компонентів нафти через кореневу систему або продихи листків і включення їх в метаболізм, та опосередковано, через зміни фізико-хімічного складу ґрунту і відповідно порушення його біотичних властивостей. Проникнення компонентів рідких фракцій нафтопродуктів у рослинний організм через кореневу систему зумовлює мутагенні реакції, морфогенетичні і фенологічні відхилення від нормального розвитку [33, 133].

Виявлено, що невисокі концентрації нафти у ґрунті (за різними даними до 5 %) не чинять істотного впливу або навіть можуть стимулювати ріст рослин, збільшуючи такі показники, як схожість, біомасу, довжину надземної чи підземної частини, вміст хлорофілів у листках [69, 109, 118, 139]. При подальшому збільшенні вмісту нафти у ґрунті починає проявлятися істотний пригнічуючий вплив або ж повна загибель рослин [2, 25, 57, 88, 109, 186].

Важливе значення мають роботи, спрямовані на вивчення впливу забруднення нафтою і нафтопродуктами на рослинні угруповання в природних умовах. Показано [222], що збереження ґрунтового покриву визначається глибиною проникнення нафти у ґрунт, а також глибиною розміщення в ґрунті

органів вегетативного розмноження рослин. Так, повідомляється, що при рівні забруднення $1,5 \text{ л/м}^2$ нафта проникає в лісову підстилку на глибину не більше 2 см, що викликає загибель лишайників, сходів сосни і кедра. Внесення нафти в кількості 5 л/м^2 приводить до повного просочення лісової підстилки нафтою і викликає загибель не тільки мохів та лишайників, а й чагарників – брусниці і чорниці. При дозах 10 і 20 л/м^2 нафта проникає у ґрунт на глибину до 20 см. Всі представники ґрунтового покриву відчувають сильне пригнічення, зберігаються лише окремі особини. Концентрації нафти від 50 до 100 л/м^2 призводять до відмирання трав'яно-мохового покриву більш ніж на 98 % [222]. За деякими даними повна загибель трав'янистих рослин відбувається при обсязі витoku $1,1 \text{ л/м}^2$, тобто вмісті 0,5 % нафти в 15 см шарі ґрунту, а припинення росту рослин спостерігається, зазвичай, при вмісті нафти $> 3500 \text{ мг/кг}$, що становить 0,35 % [133]. В результаті нафтового забруднення зменшується число видів рослин, загальне проективне покриття видів і продуктивність фітомаси [107], відбувається перебудова у видовій структурі ґрунтового покриву, змінюється співвідношення видів і груп рослин [77].

В різних кліматичних умовах період відновлення рослинності на ґрунтах при їх сильному забрудненні може становити 10-20 років і більше [52, 113, 133].

У ґрунті можливі перетворення нафти в більш токсичні сполуки, що можуть у ньому адсорбуватися і накопичуватись. Як наслідок, такий ґрунт стає джерелом надходження токсикантів в організм людини трофічними ланцюгами: ґрунт – рослина – продукти харчування, ґрунт – ґрунтові води – людина, ґрунт – атмосферне повітря – людина, що збільшує ризик виникнення екологічно обумовлених захворювань [34].

Небезпечним вважається рівень забруднення ґрунту, який перевищує межу потенціалу самоочищення. Інакше кажучи, ґрунти вважаються забрудненими, коли концентрація нафтопродуктів у них досягає такого значення, при якому починаються негативні екологічні зміни в навколишньому середовищі: порушується екологічна рівновага в ґрунтовій екосистемі, гине ґрунтова біота, падає продуктивність або настає загибель рослин, відбувається

зміна морфології, водно-фізичних властивостей ґрунтів, знижується їх родючість, створюється небезпека забруднення підземних і поверхневих вод. Тому першочерговим завданням під час виконання аналізу рівня забрудненості ґрунтів є визначення допустимих або безпечних норм умісту цього типу забруднення. Основною проблемою є власне те, що таких загальноприйнятих нормативів немає [144].

У Європі прийнято вважати верхнім безпечним рівнем вмісту нафтопродуктів у ґрунті 1-3 г/кг, початком серйозної екологічної шкоди – 20 г/кг і вище. В країнах ближнього зарубіжжя граничнодопустимі концентрації (ГДК) нафтопродуктів у ґрунті не розроблені, за винятком Татарстану (Росія). Для Татарстану ГДК нафтопродуктів у ґрунті становить 1,5 г/кг, що відповідає транслокаційному (фітоаккумуляційному) показнику шкідливості. Використовують також міграційний водний показник шкідливості (13,1 г/кг), міграційний повітряний (більше 5 г/кг) і загально-санітарний (більше 5 г/кг) [214].

В Україні ГДК нафти і продуктів її переробки у ґрунті не визначена, є лише посилення на орієнтовно допустиму концентрацію (ОДК) 0,2 мг/кг [121]. У інших джерелах [46, 165] визначена ОДК для ґрунту – 4 г/кг, яка широко використовується для аналізу забрудненості ґрунтів нафтопродуктами. Орієнтування на цей показник не може гарантувати отримання об'єктивних оцінок, особливо зважаючи на те, що кларк вмісту нафтових вуглеводнів у ґрунті в європейських країнах коливається в межах 0,01-0,5 г/кг, а у великих містах України досить звичні показники 1-3 г/кг. На територіях, прилеглих до підприємств переробки, видобування та зберігання нафтопродуктів, фон досягає 6 г/кг [214].

Відповідно до [52] для чорноземної зони України пропонується встановити такі градації забруднення ґрунтів нафтою та нафтопродуктами: незабруднені – менше 400 мг/кг (0,4 г/кг); слабо забруднені – 3000-6000 мг/кг (3-6 г/кг); середньо забруднені – 6000-12000 мг/кг (6-12 г/кг); сильно забруднені – 12000-25000 мг/кг (12-25 г/кг); дуже сильно забруднені – понад 25000 мг/кг (> 25 г/кг).

М. М. Мірошніченко [122] пропонує систему екологічних, господарських і меліоративних нормативів у випадку вуглеводневого забруднення ґрунтів. Так, для визначення ступеню нафтового забруднення ґрунтів суглинистого і глинистого гранулометричного складу автором запропоновано використовувати наступні градації: 400-1000 мг/кг (0,4-1 г/кг) – незначне забруднення; слабке – 1000-4000 мг/кг (1-4 г/кг); середнє забруднення – 4000-20000 мг/кг (4-20 г/кг); сильне – 20000-100000 мг/кг (20-100 г/кг); дуже сильне забруднення – понад 100000 мг/кг (>100 г/кг).

Враховуючи фізико-географічні умови України (клімат, типи і склад ґрунту, рослинність та ін.), а також характер землекористування, які впливають на процеси самоочищення у разі забруднення нафтопродуктами, В. І. Соловйов [191] пропонує прийняти такі ступені градації забруднення ґрунтів нафтою і нафтопродуктами (з урахуванням кларку): незабруднені – до 1,5 г/кг; слабо забруднені – від 1,5 до 5,0 г/кг; середньо забруднені – від 5,0 до 13,0 г/кг; сильно забруднені – від 13,0 до 25,0 г/кг; дуже сильно забруднені – більше 25,0 г/кг. Результати відповідного дослідження свідчать, що слабке забруднення може бути ліквідоване у процесі самоочищення ґрунту протягом наступних 2-3 років, середнє – протягом 4-5 років. Початком серйозного екологічного ушкодження є забруднення ґрунту нафтою в концентраціях, що перевищують 13 г/кг, оскільки за цих умов починається міграція нафтопродуктів у підземні води, істотно порушується екологічна рівновага у ґрунтовому біоценозі.

Отже, нафтова галузь, відіграючи важливу роль у світовій економіці, є одним з найбільш інтенсивних джерел забруднення навколишнього середовища. Видобуток, транспортування, зберігання та збут нафти і нафтопродуктів значно впливають на стан довкілля, приводячи до глибокої зміни всіх його компонентів. Складність проблеми полягає не тільки в масштабах нафтового виливу, але й у розробці критеріїв оцінки і методів ліквідації наслідків цього не постійного за своїм складом забруднення.

1.2. Екологічне оцінювання. Біоіндикація та біотестування

Полікомпонентність нафтового забруднення, його трансформація у часі, комулятивність, висока стійкість та токсичність, мінливість вуглеводневого складу, відсутність для більшості з нафтопродуктів встановлених нормативів ГДК, неможливість урахування екологічної небезпеки сумісної дії вуглеводнів, продуктів їх розкладу та взаємодії з присутніми у воді та ґрунті іншими хімічними речовинами потребує комплексного підходу до вирішення проблеми. Ефективним у цьому плані є проведення екологічного моніторингу, що включає не лише виявлення змін фізико-хімічних властивостей ґрунтів, дослідження рівня нафтохімічного забруднення, а й визначення токсичної дії цього забруднення на живі організми та в кінцевому результаті вибір оптимального методу відновлення навколишнього середовища.

Традиційна аналітична оцінка ступеню екологічної небезпеки, що здійснюється шляхом визначення в довкіллі концентрації окремих потенційно шкідливих речовин та порівняння отриманих результатів з гранично допустимими є не завжди достатньою, особливо, коли йдеться про вплив на живі системи. Хімічні методи свідчать лише про концентрацію забруднювача. Вони є трудомісткими, не завжди експресними, потребують дорогого обладнання і реактивів. Але найголовнішим їх недоліком є неможливість оцінити реальні біологічні ефекти як окремих забруднюючих речовин, так і їх компонентів, ефекту комбінованої дії, а також продуктів трансформації і метаболізму. У зв'язку із цим сучасний екологічний моніторинг здійснюється з обов'язковим використанням біологічних методів: біоіндикації та біотестування, що враховують весь комплекс негативних факторів дії на живий організм як множини первинних токсикантів, що потрапили в довкілля, так і сукупності продуктів реакцій між первинними хімічними сполуками [18, 21, 24, 65, 110, 116, 183].

Біологічні методи дають інтегральну оцінку якості середовища проживання будь-якої біологічної популяції, включаючи людину. Вони показують загальний індекс токсичності зразка і дозволяють у короткі терміни

відповісти на запитання: присутні чи ні у середовищі токсичні агенти в небезпечній для живого організму концентрації [22]. Постійна присутність поліутантів навіть в низьких концентраціях, на рівні ГДК, може призводити до негативних змін у довкіллі [14], тому доцільність використання біологічних методів є очевидною.

Біоіндикація забруднень, що ґрунтується на вивченні різноманітних біологічних, фізіологічних, анатомічних та інших відхилень у розвитку організмів, а також їх спільнот, які виникають під дією зовнішніх чинників, широко використовують в системі моніторингу. Ці методи відрізняються дешевизною і можливістю одночасно охопити великі території, що підлягають індикації, а також відносною простотою інтерпретації. Основною умовою успішної індикації є чітко виражена реакція-відповідь на фізичну чи хімічну дію, яка є специфічною, легко реєструється візуально чи з допомогою приладів [62, 211].

Спорідненим методом біоіндикації є біотестування, що використовується для встановлення сумарної токсичності середовища і на відміну від біоіндикації характеризує ступінь впливу забруднення на екосистему в конкретний момент відбору проби. Ці методи близькі до методів хімічного аналізу і дозволяють дати реальну оцінку токсичності при комплексному забрудненні хімічними речовинами. Повідомляється [141], що використання біологічних тест-систем дозволяє визначити негативні зміни в екосистемах на дуже ранній стадії, коли вони ще не проявляються у вигляді морфологічних і структурних змін і їх не можна виявити іншими методами. Це дає можливість передбачити порушення екосистеми і завчасно вжити відповідних заходів. За словами Е. І. Єгорової [63] кумулятивний ефект всього різноманіття поєднань різних впливів можливо оцінити лише за допомогою біотестування.

Завдяки простоті, оперативності й доступності біотестування отримало широке визнання в усьому світі і його все частіше використовують в системі сучасного екологічного моніторингу. Біотести рекомендовані для неперервного експрес-контролю стану навколишнього середовища промислових районів і

природно-господарських комплексів, контролю шкідливих викидів підприємств, для оцінки ефективності застосовуваних методів детоксикації навколишнього середовища та роботи очисних споруд, екологічної паспортизації підприємств і окремих районів. Крім того, вони використовуються при сертифікації різних біопрепаратів, сорбентів нафтопродуктів, а також контролі якості ремедіації води і ґрунту [202].

Методи біотестування повинні відповідати наступним вимогам: експресність, доступність і простота здійснення; відтворюваність і достовірність отриманих результатів; економічність, як у матеріальному відношенні, так і по трудовитратах; об'єктивність отриманих даних [110, 116].

Основний принцип біологічного тестування зводиться до оцінки достовірної різниці будь-якого показового параметра тест-об'єкту, що вказує на повне або часткове пригнічення життєвих функцій тест-організмів у досліді (токсичне середовище) і контролі (чисте середовище).

На сучасному етапі відома значна кількість методів біотестування, з використанням різноманітних тест-організмів і тест-параметрів. Стандартизованими є тест-системи визначення гострої та хронічної токсичності природних і стічних вод з використанням гідробіонтів: бактерії *Photobacterium phosphoreum*, представника найпростіших – інфузорії *Tetrahynema pyriformis*, водорості *Scenedesmus quadricauda*, ракоподібних *Daphnia magna* та *Ceriodaphnia affinis*, риби *Poecillia reticulata*, а також плодової мушки *Drosophila melanogaster* для аналізу генотоксичності навколишнього середовища [65].

Однак, використання гідробіонтів для біомоніторингу ґрунтів обмежується тим, що водні витяжки можна отримати лише для гідрофільних речовин. Для оцінки токсичності гідрофобних забруднювачів, наприклад, нафтопродуктів, цей метод не є ефективним.

Для екологічної оцінки ґрунтів доцільно використовувати ґрунтові організми – педобіонти, при чому для різних видів забруднень необхідно підбирати методи з урахуванням діапазону їх чутливості.

Відомо, що кількісний та якісний склад ґрунтової мікробіоти віддзеркалює ступінь антропогенного навантаження [4, 152]. Мікроорганізми реагують на зміни навколишнього середовища – їх розвиток і активність знаходяться в прямій залежності від складу органічних та неорганічних речовин у середовищі. Як індикатори часто використовують бактерії родів *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Staphylococcus*, актиноміцети [166]. Повідомляється про використання мікроміцетів для екологічної оцінки ґрунтів, в тому числі і нафтозабруднених [48, 204].

Однак, мікробіологічні тести мають певні недоліки, зокрема вплив нафти на ґрунтові мікроорганізми є неоднозначним, а тому дані щодо екологічної оцінки ґрунтів з допомогою мікроорганізмів часто є суперечливими. Крім того, досить висока здатність мікроорганізмів до утворення стійких мутантних штамів може приводити до отримання недостовірних результатів.

Як діагностичний показник, що пов'язаний з ґрунтовою мікробіотою, для характеристики стану ґрунтів використовують активність ґрунтових ферментів. Найбільш інформативні, в цьому плані, виявилися каталаза, інвертаза, дегідрогеназа, уреаза [50, 74, 77, 197, 242]. Проте, так як і мікробіологічні тести, ґрунтові ферменти по-різному реагують на вміст нафти, тому суперечливість літературних даних не дає можливість обрати оптимальний показник, що відображав би стан ґрунту при нафтовому забрудненні.

Зміна структури угруповання ґрунтових водоростей також може бути індикатором нафтового забруднення [71].

Автори [69, 269, 285, 314] для біомоніторингу ґрунтів пропонують використовувати ґрунтові безхребетні. Зокрема, дощові черв'яки, що мають відповідні тест-реакції на дозу та тривалість забруднення. Переваги дощових черв'яків як тест-об'єктів полягають у чутливості до змін в ґрунті, що пов'язано із особливостями їх життєдіяльності: газообмін через шкірні покриви, заковтування часточок ґрунту [91]. Ґрунтові ногохвістки (*Collembola*) чутливі до дії органічних речовин [207, 267] і їх використовують для оцінки зоотоксичності ґрунтів, в тому числі нафтозабруднених [85].

Проте, використання ґрунтової мезофауни обмежується токсичною відповіддю у вузькому діапазоні концентрації забруднювача та високою смертністю в перші дні, внаслідок потрапляння ароматичних вуглеводнів у організм з ґрунтовим повітрям через шкіряні покриви.

Значний інтерес представляє використання рослин для біомоніторингу, адже вони характеризують стан середовища, в якому ростуть, швидко розмножуються, по-різному реагують на дію шкідливих факторів і тим самим дають змогу вибирати найдоцільнішу відповідну реакцію для конкретного дослідження [57, 252, 262, 266, 296, 302]. З допомогою рослин можна проводити біомоніторинг всіх природних середовищ: повітря, води, ґрунту і тому все частіше їх використовують сучасні дослідники.

На даний час є тенденція використання для біоіндикації і біотестування не окремих біотестів, а так званих тест-батареї, що включають тест-організми різних трофічних рівнів: мікроорганізми, ґрунтові безхребетні та вищі рослини [74, 158, 297].

Так, при оцінці токсичності нафтозабруднених ґрунтів повідомляється про використання тест-батареї: дощових черв'яків, ногохвісток і вищих рослин [283], редису і дегідрогеназної активності [158], вищих рослин: *Avena sativa* L., *Raphanus sativa* L., каталазної і ліпазної активності та ногохвісток: *Folsomia candida* і *Onychiurus stachianus* [85].

Отже, перехід до більш надійного екологічного контролю якості навколишнього середовища можливий тільки при умові розширення списку вимірюваних показників забруднення і обов'язкового використання методів біомоніторингу з використанням чутливих тест-об'єктів. Немає універсальних тест-об'єктів, в рівній мірі чутливих до різних токсикантів. З введенням кожного додаткового об'єкту надійність схеми випробувань підвищується, проте безмежне розширення асортименту обов'язкових об'єктів неможливе. У зв'язку з цим для кожного пропонованого методу біотестування має бути визначене строге цільове призначення, означена сфера застосування і очевидні переваги перед рекомендованими раніше.

1.3. Рослини як тест-системи для екологічної оцінки забруднених територій

Рослини вважаються найбільш зручними об'єктами для біомоніторингу ґрунтів, оскільки вони є первинними ланками трофічних ланцюгів, виконують основну роль у поглинанні різноманітних забруднювачів і постійно зазнають їх впливу внаслідок закріплення на субстраті. Вони вирізняються доступністю, простотою культивування, високою чутливістю до ряду забруднювачів, можливістю оцінки сумарної дії шкідливих речовин на ґрунтову екосистему. Здійснювані з допомогою них дослідження короткотривалі, прості у виконанні, не потребують складного лабораторного обладнання [280, 294, 295]. Рослини є дешевим ресурсом біологічного матеріалу, не вибагливі до поживного середовища на початкових етапах онтогенезу, оскільки проростки і насіння самі містять потрібну кількість запасних речовин [104].

Через генетичну неоднорідність рослин, їх різні види і сорти по-різному реагують на вплив забруднюючих речовин. Одні види можуть певним чином реагувати на вплив лише однієї забруднюючої речовини, інші – на вплив двох, або більше речовин, деякі не реагують взагалі, або реакція їх дуже слабка чи не однозначна [142]. Тому, при виборі того чи іншого виду рослин, для використання його в якості об'єкта біомоніторингу необхідно враховувати певні вимоги – наявність чітко вираженої реакції на вплив забруднюючої речовини, а саме помітних ознак ушкодження, змін швидкості росту, морфологічних змін, порушень цвітіння, змін продуктивності або врожайності. Доцільним є відбір рослин, невибагливих до умов вирощування і догляду та тих, які мало піддаються впливу шкідників та хвороб [89, 131, 226]. Спеціальні біотести для визначення забруднення навколишнього середовища поліютантами зводяться до оцінки ступеня зміни морфологічних показників тест-рослини.

Відомі різні підходи і масштаби експериментального фітотестування. В основному фітотести можна об'єднати в три групи методів: лабораторні, вегетаційні і мікроділянкові. Особливої актуальності в екологічному контролі

набувають лабораторні методи фітотестування, як найбільш експресні та економічні. Існують публікації, які вказують на їх вищу чутливість в порівнянні з мікроділянковими і вегетаційними [31, 203], і це зрозуміло, адже лабораторні методи дозволяють проводити дослідження в контрольованих умовах, що забезпечує їх високу надійність.

Біотестування та біоіндикацію нафтозабруднених ґрунтів у агроєкосистемах проводять на основі реакцій сільськогосподарських рослин із різною чутливістю до даного фактора [37, 45, 125, 133, 134, 155].

Існує чимало методичних рекомендацій з використання того чи іншого виду рослин. Деякі дослідники для екологічної оцінки забруднених ґрунтів, в тому числі нафтою, використовують насіння пшениці (*Triticum spp.*) [23, 97]. Інші [85, 127] в лабораторних фітотестах, пропонують застосовувати для цих цілей насіння вівса (*Avena spp.*), оскільки воно, на думку розробників, давало найбільш стабільні та відтворювані результати в порівнянні з насінням інших культур (pp. *Pisum*, *Cucumis*, *Triticum*, *Daucus* та ін.).

У багатьох роботах вітчизняних і зарубіжних авторів показана ефективність застосування насіння крес-салату (*Lepidium sativum*). Це один з найбільш часто використовуваних тест-об'єктів, що застосовується для біотестування вод, донних відкладень, ґрунтів, природних і техногенних субстратів, радіаційного впливу, впливу синтезованих хімічних речовин і їх сумішей [70]. Дана тест-культура інформативна при забрудненні середовища поліювантами різних типів (важкими металами, вуглеводнями, радіоактивними речовинами та ін.) і при комплексному забрудненні.

Повідомляється про метод визначення сумарної токсичності ґрунту з використанням насіння редису посівного (*Raphanus sativus* var. *radicula* Pers.), що пов'язано з високою чутливістю насіння до токсичних речовин [16, 243]. З допомогою редису також оцінюється фітотоксичність нафтозабруднених ґрунтів [85, 181].

Сорго (*Sorghum bicolor* L.) та квасоля (*Phaseolus vulgaris* L.) використовуються для визначення токсичності реактивного палива та

гербіцидів. Ріст кореня проса (*Panicum miliaceum* L.) служить для визначення токсичності фенолів та хлорфенолів [329]. Показана ефективність застосування насіння цибулі ріпчастої (*Allium cepa* L.), як ефективної тест-культури для дослідження токсичного впливу широкого спектру хімічних речовин [104], в тому числі і нафтового забруднення [14].

С. А. Ілларіонов і ін. [75], вивчаючи фітотоксичність нафтозабруднених ґрунтів, як тест-об'єкт використовували конюшину. Показниками фітотоксичності були зниження схожості і виживання насіння, а також вага сухої біомаси вирощених рослин.

Згідно з міжнародним стандартом ISO 11269-1 для біотестування рекомендується використовувати ячмінь звичайний (*Hordeum vulgare*). Одночасно вказується, що можна застосовувати насіння й інших рослин. Міжнародний стандарт ISO 11269-2 регламентує вибирати мінімум два види рослин, при цьому один повинен бути однодольним, а інший дводольним [213].

Варто відзначити, що насіння різних видів вибірково реагують на певні види полютантів. У публікаціях іноземних дослідників [264] цей ефект продемонстрований відносно чутливості насіння салату, сорго та гірчиці на ґрунтах, забруднених комплексом важких металів і нафтопродуктів, у тому числі ПАВ. Показано, що рослини по зниженню чутливості до токсичності ґрунтів розташовуються в наступному порядку: *Lepidium sativum* < *Sinapis alba* < *Sorghum saccharatum*. При дослідженні фітотоксичності річкових відкладень, забруднених переважно важкими металами і пестицидами, спостерігалася тенденція більшої чутливості дводольних рослин (*Lepidium sativum*, *Sinapis alba*), ніж однодольних (*Sorghum*) [110]. Разом з тим публікації інших авторів [252] показують, що на нафтозабруднених ґрунтах більшою чутливістю володіє сорго цукрове (*Sorghum saccharatum*), однодольна рослина.

У інших дослідженнях фітотестування забруднень (відходів фосфогіпсу, біоґрунту, наноматеріалів), проведених на насінні гірчиці білої (*Sinapis alba*), була показана доцільність застосування цієї культури, так як вона продемонструвала добру схожість і відтворюваність результатів у дослідях [203].

Показана можливість використання *Sinapis* L. для оцінки токсичності ґрунтів гірничопромислового району [37]. Досліджено фітотоксичність нафтозабруднених бурого та сірого лісових ґрунтів з використанням трьох рослин: крес-салат, гірчиця звичайна, жито [43]. Кореляційна залежність між дозою забруднення ґрунтів нафтою і зміною тест-реакцій встановлена для гірчиці звичайної, що дозволило авторам рекомендувати гірчицю звичайну у якості тест-культури для діагностики стану нафтозабруднених ґрунтів.

Авторами [181] встановлено відмінність реакцій насіння сільськогосподарських рослин на дію нафтопродуктів. За зменшенням чутливості до нафтопродуктів, вивчені рослини розміщуються в наступному порядку: ячмінь, редис, салат.

Підсумовуючи вищесказане, вважаємо, що перспективним є підхід з використанням кількох видів рослин в якості фітотестів, який з більшою ймовірністю дозволяє вловити «мінімально» діючий токсичний компонент в умовах комплексного забруднення середовищ. Однак, слід підкреслити, що чутливість певного виду рослин до одного забруднювача часто не поширюється на інші речовини. Тому, незважаючи на досить велику кількість рослинних тест-систем, питання про можливість використання рослин для біотестування певного класу речовин залишається відкритим і потребує розробки оптимальних тест-систем до конкретних забруднень.

Для діагностування й оцінки токсичності нафтозабруднених ґрунтів, зазвичай, враховуються такі показники, як висота рослин, кількість, довжина і ширина листків, довжина черешків, кількість і довжина пагонів, кількість квіток, розміри частин оцвітини, кількість плодів і насінин у плоді, загальна маса рослини і маса окремих її частин тощо. Фізіолого-біохімічні та цитогенетичні параметри рослинних тест-систем є придатними для кількісної оцінки дії факторів в умовах техногенного забруднення [37, 45, 125, 134, 155].

Тест-параметри, що використовуються дослідниками фітотоксичності нафтового забруднення досить неоднозначні. Так, в роботах [278] оцінюється довжина коренів і пагонів молодих рослин; деякі дослідники аналізують

схожість і довжину коренів проростків [307, 330]. У ряді робіт оцінюється тільки довжина коренів проростків [252]. Автори [181] при вивченні фітотоксичної дії полютантів, в доповнення до таких показників, як схожість і довжина кореня проростків, рекомендують враховувати також динаміку і енергію проростання, що дозволить більш повно оцінити негативну дію.

Суперечливі результати були отримані при впливі нафти на проростання насіння рослин. У ряді робіт нафта чинить значний негативний вплив [84, 88, 186, 268, 317]. В окремих роботах відзначено відсутність впливу нафтового забруднення на проростання насіння [255]. Як правило, в польових умовах нафтове забруднення ґрунту діє негативно на проростання [136], в лабораторних умовах негативна дія є слабшою [6, 88, 218]. Даний негативний вплив пояснюється не тільки токсичністю нафти, але і набуттям ґрунту гідрофобних властивостей, крім того, вуглеводні нафти сорбуються на поверхні насіння, перешкоджають надходженню до нього води [136].

В даний час більшість дослідників використовують водні витяжки для тестування ґрунтів. При цьому еталонним об'єктом, щодо якого оцінюється токсичність, в більшості випадків є дистильована вода. Однак, постановка фітотеста на водних витяжках може давати занижені результати токсичності [9, 256]. Очевидно, що аналіз водної витяжки із забруднених ґрунтів не в повній мірі відображає ступінь потенційної небезпеки забруднених зразків, оскільки частина токсичних компонентів зв'язується в ґрунті і не переходить у розчин. Крім того, важливий гранулометричний склад досліджуваного об'єкта. Очевидно, що при однаковій концентрації речовини, токсичний ефект глинистих об'єктів буде менший, ніж піщаних через меншу доступність токсичних компонентів рослинам.

Як було показано [116], результати визначення токсичності ґрунтів і водних витяжок з них методом біотестування в деяких випадках істотно відрізняються. Наприклад, токсичність ґрунтів, що визначається методом пророщування насіння вищих рослин безпосередньо в ґрунті вища, ніж токсичність водних витяжок з цих же ґрунтів, яка визначається на традиційних

для водної токсикології тест-об'єктах. Різниця результатів особливо велика при забрудненні ґрунтів токсикантами, малорозчинними у воді. Так, проведення аналізу нафтового забруднення на водних витяжках не є ефективним, оскільки більшість вуглеводнів нафти нерозчинні у воді, тому не всі токсичні сполуки перейдуть з ґрунтової фази у водну, і відповідно токсичність водної витяжки нафтозабрудненого ґрунту не відповідатиме його токсичності [178]. Тому вплив нерозчинних забруднювачів може бути оцінений лише контактним способом.

Згідно з міжнародними стандартами ISO 11269-1 та ISO 11269-2 тест-культура вирощується в умовах безпосереднього контакту з тест-об'єктом. При цьому контрольний і забруднений ґрунти повинні бути як можна більше схожі один на одного по структурі і складу (за винятком досліджуваних хімікатів і забруднювачів) [213]. У зв'язку з цим доцільним є проведення тесту не на водному екстракті, а безпосередньо на ґрунті.

Проте, автори методики по біотестуванню ISO 11269-1 [213] для швидкої оцінки якості ґрунту рекомендують пророщувати насіння рослин в горщиках діаметром 8 см і висотою 11 см. Це означає, що для одного варіанта досліду з триразовою повторністю потрібна проба ґрунту масою 1,5-2 кг. Однак у багатьох випадках у дослідників немає таких обсягів проб. Крім того, описані стандарти не передбачені для застосування на нафтозабруднених ґрунтах, є довготривалими – виконуються протягом 14-21 доби, працюють у вузькому діапазоні концентрацій забруднювача – 1-1000 мг/кг.

Отже, рослини є перспективними тест-об'єктами для біомоніторингу завдяки високій чутливості до змін довкілля, що відбуваються під впливом антропогенних чинників. За допомогою рослин і їх угруповань можна оцінити дію та наслідки антропогенних впливів: порушення природних ландшафтів, забруднення повітря, водного середовища та ґрунтів; обґрунтувати заходи з організації екологічного моніторингу. Простота обліку ефектів та інтерпретації результатів, їх чутливість і відтворюваність робить доцільним застосування рослинних тест-систем для діагностування та оцінки токсичності нафтозабруднених ґрунтів.

1.4. Відновлення нафтозабруднених ґрунтів

Природна трансформація нафти у ґрунті є довготривалим процесом і становить приблизно 40-45 років [190]. Тому вивчення і розробка екологічно нешкідливих прийомів прискорення деградації нафти є важливим завданням у вирішенні проблеми ремедіації техногенно порушених земель.

Ремедіація, як комплекс робіт, спрямованих на очищення території від небезпечних забруднювачів, відновлення продуктивності, народногосподарської цінності земель та поліпшення умов навколишнього середовища [182] включає: ліквідацію розливу нафти, як джерела вторинного забруднення природного середовища, нейтралізацію залишкової нафти у ґрунті до рівня фітотоксичності і відновлення родючості забруднених ґрунтів до прийнятної господарської значущості [32]. Ліквідацію нафтових забруднень ґрунту здійснюють різноманітними методами: механічними – виїмка ґрунтів, збір нафтопродуктів; фізико-хімічними – спалювання, екстракція паром, промивання забрудненого нафтою ґрунту, сорбція, відновлення територій за допомогою ініційованого гумінового сорбенту, використання активованого торфу, очищення твердих поверхонь за допомогою гідрофобного органомінерального нафтового сорбенту та ін.; біологічними – біоремедіація, фіторемедіація.

Відомі механічні, хімічні та фізичні методи трудомісткі, довготривалі, потребують великих витрат і не забезпечують повноти очищення. До того ж вони часто приводять до вторинного забруднення навколишнього середовища, а також ефективні лише при використанні на невеликих локальних територіях і при певному рівні забруднення, як правило, не менше 1% нафти у ґрунті [61, 111, 323]. Такі способи очищення забруднених ґрунтів мають одноразовий ефект, в той час як біологічні характеризуються тривалішим впливом і стабільним покращенням екологічної ситуації.

Одним із сучасних методів біологічної очистки нафтозабруднених ґрунтів є біоремедіація, що ґрунтується на використанні мікроорганізмів-деструкторів нафти та нафтопродуктів (бактерій, дріжджів, грибів, плісневих грибів тощо)

та їх рекомбінантних штамів, а також асоціацій мікроорганізмів-деструкторів, біосурфактантів (поверхнево-активних речовин мікробного походження, здатних емульгувати вуглеводні нафти).

Виділяють два основних підходи до здійснення біоремедіації: біостимуляцію та біоаугментацію [32, 257, 292]. Біостимуляція, що основана на активізації існуючої мікрофлори в середовищі, використовується скрізь, де природний мікробіоценоз зберіг життєздатність і характеризується достатнім видовим різноманіттям. Активізацію мікрофлори здійснюють шляхом створення оптимального середовища для розвитку певних груп мікроорганізмів-нафтодеструкторів. В цьому випадку в ході лабораторних випробувань з використанням зразків ґрунту, забрудненого нафтою і нафтопродуктами, встановлюють які саме добрива і в яких кількостях слід внести, щоб стимулювати зростання мікроорганізмів, здатних утилізувати забруднювач [29, 86, 327]. Відомо, що нафтозабруднений ґрунт характеризується дефіцитом азоту, фосфору, мікроелементів, містить мало води і кисню [34, 81]. У мікроорганізмів, які відчувають нестачу тих чи інших елементів, спостерігається різке зниження вуглеводоокислюючої активності, що призводить до зупинки процесу біоремедіації [298]. Поліпшення повітряного, водного і поживного режиму ґрунтів досягається оранкою, розпушуванням, внесенням поживних речовин, сорбентів [96, 313]. В якості поживних речовин рекомендують досить широке коло субстратів: мінеральні та органічні добрива [82, 184], соломі і тирсу, пептонну воду, відходи дріжджових виробництв, біогумус, сидерати, білково-вітамінний концентрат, гній [199], пташиний послід з додаванням торфу [20] і ін., внесення яких призводить до значного зниження загальної кількості вуглеводнів за рахунок прискорення зростання мікробної популяції.

За даними R. Voorthuy [257] вологість і температура ґрунту визначальні при проведенні біоремедіації. Оптимізація водного режиму ґрунтів забезпечується відкачуванням ґрунтових вод для зняття затоплення ґрунту або, навпаки, застосуванням зрошувальних систем для запобігання висихання, а

також використанням поліетиленової плівки, для збереження необхідного рівня вологості [282]. На територіях з холодними кліматичними умовами пропонується покриття забруднених територій темною поліетиленовою плівкою [282] або використання пристосувань для закачування пари [284].

Численні публікації [137, 306] вказують на перспективність біоаугментації, що полягає в додаванні у забруднений ґрунт відносно великої кількості спеціальних мікроорганізмів, які заздалегідь виділяють з різних забруднювачів або генетично модифіковані [156]. Вибирають саме той мікроорганізм, який найбільш ефективно утилізує даний забруднювач [253]. При відборі мікроорганізмів-нафтодеструкторів для впровадження у середовище враховують загальну здатність мікроорганізмів до зростання на вуглеводневому субстраті і їх стійкість до токсичної дії вуглеводнів [120, 311].

Один мікроорганізм не здатний володіти всім спектром ферментів, необхідних для біодеградації нафти, що по суті є багатокомпонентною сумішшю. Тому, в більшості, пропонується використання декількох штамів, що відрізняються за спектром поживаних субстратів і можуть призводити до повної деструкції нафти [90]. В умовах природного мікробіоценозу спостерігається одночасна асиміляція різних фракцій нафти різними групами мікроорганізмів [237]. У ґрунтах поширені вуглеводоокислюючі бактерії, що відносяться до родів *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Mycobacterium*, *Arthrobacter*, *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes* *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Desulfovibrio*, *Enterobacteriaceae*, *Sarcina*, *Serratia*, *Spirillum*, *Streptomyces*, *Thiobacillus* [36, 82]. При спільному використанні декількох штамів-деструкторів в консорціумі їх нафтоутилізуюча дія посилюється [126].

Хоча, більшість досліджень сконцентовано на бактеріях, повідомляється про використання грибів, зокрема родів *Candida*, *Yarrowia*, *Pichia* як ефективних деструкторів нафти [259].

Отже, вдало підібрана культура або суміш штамів мікроорганізмів при сприятливих умовах середовища: оптимальна температура, солоність, рН,

достатня аерація, забезпеченість елементами мінерального живлення – здатні утилізувати нафтові вуглеводні. Проте, поряд з очевидними перевагами застосування біоремедіації, виділяється і ряд недоліків, а саме – багатостадійність біохімічних процесів розкладання вуглеводнів різними групами мікроорганізмів, додаткові витрати на підготовчі роботи та на створення оптимальних умов, витрати на створення оригінальної технології і суворого її виконання в процесі використання препарату, причому для кожної ґрунтово-кліматичної зони дана технологія повинна коригуватися. Крім того, необхідно знати фізіологічні особливості інтродуцента, а також враховувати мікробні взаємодії, оскільки основний недолік використання мікробіологічних препаратів зумовлений певним біологічним ризиком. Внесення чужорідних бактерій пригнічує місцевий біоценоз, що, своєю чергою, змінює середовище. Очевидно, що найсерйознішу небезпеку представляє використання для біоремедіації мікроорганізмів, які можуть виявитися патогенними для людини і навколишнього середовища або які зможуть обумовлювати утворення токсичних сполук, наприклад, в результаті неповного окислення забруднювачів [240]. Так, серед активних мікроорганізмів-нафтодеструкторів, які розвиваються на нафтових розливах, нерідко зустрічаються види, патогенні або умовно патогенні для людини і тварин [66].

У зв'язку з цим виникає необхідність вивчення і розробки альтернативних методів ремедіації нафтозабруднених земель.

Найбільш перспективним методом для очищення забруднень у промислово розвинених країнах вважається фіторемедіація – використання рослин для очищення ґрунтів та ґрунтових вод від полютантів: важких металів, радіонуклідів, вуглеводнів та інших шкідливих сполук [226, 274, 315, 316]. Перевагами фіторемедіації в порівнянні з традиційними ремедіаційними технологіями є відсутність або невелика кількість, виникаючих вторинних відходів, мінімальні порушення природних екосистем; можливість застосування, як на малих так і на великих територіях; естетичність, відносна простота реалізації, економічність [251, 263, 277, 328]. Крім того, вирощування

рослин призводить до поліпшення властивостей ґрунту і запобігає ерозії. Економічна ефективність фіторемедіації є вагомим аргументом на користь цієї технології. Причина порівняно низької вартості у тому, що рослини є природними установками з очищення ґрунту, які працюють на сонячній енергії. За оцінками американських фахівців фіторемедіація однієї тонни забрудненого ґрунту обходиться в 10-35 доларів, біоремедіація *in situ* – в 50-150 доларів, відмивання ґрунту в 80-200 доларів, екстракція розчинниками в 360-440 доларів, а спалювання в 200-1500 доларів [315].

Спочатку фіторемедіація, як метод очищення, була розроблена для усунення забруднення важкими металами. Виявлено, що деякі види рослин здатні не тільки витримувати наявність, але і поглинати й нагромаджувати значні кількості іонів свинцю, ртуті, цинку або інших токсичних металів [270]. Іншим напрямком, перспективність якого вже доведена, і який має великий потенціал розвитку, є очищення вуглеводневих забруднень (нафта і нафтопродукти) за допомогою рослин [263, 268, 271, 276, 277, 325].

Сучасні фіторемедіаційні технології можуть ґрунтуватися на різних методологічних підходах – це фітостабілізація, фітодеградація, фітовипар, ризодеградація та інші [245, 300]. Вважається, що ефективним є очищення, коли рослина поєднує здатність до фітовипару й фітодеградації [226]. Тоді в повітря виводяться лише безпечні продукти розкладу нафтопродуктів. Особливе місце займає здатність рослин до ризодеградації, коли забруднюючі вуглеводні розкладає не безпосередньо сама рослина, а мікроорганізми, що живуть поблизу кореня, тобто в ризосфері [259, 308]. Повідомляється, що коріння слугують мікроорганізмам поверхнею прикріплення і збільшують концентрацію органічних речовин в ризосфері [291, 324]. Так, завдяки кореневим виділенням рослин у ґрунт потрапляє складна суміш органічних аніонів, цукрів, вітамінів, амінокислот, пуринів, нуклеозидів, ферментів і ін. [265].

На сьогодні проблеми фіторемедіації нафтозабруднених територій торкаються чимало дослідників. Багато з них пропонують використовувати трав'янисті рослини зі злакових [249 258, 287, 290]. Повідомляється, що

головною перевагою трав є їх велика волокниста коренева система, яка має велику площу поверхні кореня, порівняно з іншими видами, а також може проникати у ґрунт на глибину до 3 м [249, 276]. Позитивний вплив багаторічних трав пояснюється тим, що своєю розвиненою кореневою системою вони сприяють поліпшенню газоповітряного режиму забрудненого ґрунту, збагачують його біологічно активними сполуками, які виділяються кореневою системою в процесі їх життєдіяльності. Все це стимулює ріст мікроорганізмів і відповідно інтенсифікує розкладання нафти і нафтопродуктів.

Довгокореневищні види відзначаються високою стійкістю до несприятливих умов нафтозабруднених екотопів [53]. Експериментально показано, що рослини осоки шорстковолосої *Carex hirta* L., приживаючись у нафтозабрудненому ґрунті, сприяють покращенню його властивостей, а зокрема – позитивно впливають на сорбційні властивості ґрунту, оптимізують його рН, спричиняють доступність елементів мінерального живлення, а також сприяють функціонуванню нафтоокислюючих мікроорганізмів, унаслідок чого зменшується кількість нафти у забрудненому ґрунті. Так, впродовж 2-ох місяців росту рослин *Carex hirta* на ґрунтах, забруднених нафтою у кількості 48 г/кг, вміст нафтопродуктів знижувався на 6,1 % [54, 148, 271].

Численні дослідження [58, 220, 334] вказують на стійкість бобових (*Fabaceae*) до нафтового забруднення, внаслідок здатності фіксувати атмосферний азот і таким чином забезпечувати себе джерелом мінерального живлення у нафтозабрудненому ґрунті [246]. Серед інших чинників стійкості називають властивості симбіотичних мікроорганізмів бобових *Rhizobium* поряд із азотфіксувальною здатністю розкладати вуглеводні нафти [275, 276]. Зокрема встановлено, що *Vicia faba* L. підвищує ступінь очищення ґрунтів на середньо і сильно забруднених нафтою ділянках, знижує їх фітотоксичність, забезпечує ріст і розвиток трав'яної рослинності за один вегетаційний період після посадки, без додаткового внесення мікробіологічних препаратів, органічних чи мінеральних добрив. Спосіб дозволяє очищати сильнозабруднені нафтою ґрунти (105 г/кг) до 65,7 % [150].

Люцерна посівна (*Medicago sativa* L.) також широко використовується для фіторе mediaції нафтозабруднених територій, оскільки вона стійка до нафти, володіє добре розвиненою кореневою системою, збагачує ґрунт азотом, в її ризосфері створюються сприятливі умови для розвитку мікроорганізмів-деструкторів нафти і нафтопродуктів [84, 129, 193, 201, 318].

Позитивні результати по використанню бобових та злаків підтверджено багатьма іноземними дослідниками [249, 287, 301, 334]. Показано, що у кореневих виділеннях злаків переважають органічні кислоти, тоді як кореневі виділення бобових більш багаті амінокислотами та іншими органічними сполуками, до складу яких входить симбіотично фіксований азот. Також показано [279], що коріння деяких рослин родин бобових, злакових і пасльонових виділяють достатню кількість оксидоредуктаз, щоб брати активну участь в деградації ґрунтової органіки. Рослини, які використовувалися для ремедіації забрудненого нафтовими вуглеводнями ґрунту, стимулювали активність ґрунтових ферментів дегідрогеназ і пероксидаз, що беруть участь в детоксикації і деградації забруднювача [156].

Соя (*Glicine hispida* Maxim) також внесена у список рослин, здатних рости на нафтозабруднених ґрунтах і відновлювати їх [27, 302].

Показана можливість використання чорнобривців (*Tagetes erecta*), дягеля лікарського (*Archangelica officinalis*) і стоколоса безостого (*Bromopsis intermis*) як фітомеліорантів нафтозабруднених ґрунтів [87].

Іноземні вчені [325] досліджуючи здатність різних однорічних і багаторічних рослин рости на торф'яному штучно забрудненому нафтопродуктами (1-5 %) субстраті, встановили, що протестовані однорічні рослини відповідно до їх толерантності по відношенню до нафтового забруднення розміщуються наступним чином: кукурудза > овес > люпин > боби > гірчиця. Багаторічні – тимофіївка > райграс > червона конюшина > люцерна.

Часто деякі дослідники пропонують посилювати та пришвидшувати ефект фіторе mediaції внесенням у нафтозабруднений ґрунт мінеральних добрив [7] чи інокуляцією рослин бактеріями [27], або ж пропонують посадку дорослих

рослин, які, на їх думку, володіють більш високою стійкістю до нафти, ніж проростки [135]. Так, Г. М. Салахова пропонує рекультивувати нафтозабуднений ґрунт (3-6 %) насінням культурних рослин (пшениця, жито, чорнобривці, звіробій, базилік) спільно з біопрепаратом “Баціспецин” [184]. Повідомляється і про фіторе mediaційну систему озимого жита з додатковим посівом люцерни, збагаченням ґрунту азотними добривами та інокуляцію рослин мікроорганізмом *Azospirillum brasilense* SR80. Такий підхід дозволив досягти 70 % деградації забруднювача [128].

Вважається, що рослини для фіторе mediaції повинні бути придатними для кліматичних і ґрунтових умов забруднених ділянок [309] та переносити умови стресу [321]. Загалом, фіторе mediaція повинна здійснюватися за допомогою місцевих рослин, особливо тих, які ростуть на забруднених ділянках, а не іноземних або генетично модифікованих видах [293].

Способи фіторе mediaції з використанням вищеперелічених рослин є зручними, якщо йдеться про очищення рівнинних, відносно невеликих територій, або ж малозабруднених та добре зволжених ґрунтів. Однак, вони мало придатні для очищення деградованих земель нафтовидобутку, що містять збіднену породу різного гранулометричного складу, засолені пластовими водами і є насипними, відвальними, горбистого рельєфу.

Найпоширенішим способом фіторе mediaції та фіторе культивації кар’єрів є лісопосадки. Деревні види, завдяки потужній і розгалуженій кореневій системі, здатні витягувати елементи мінерального живлення, що знаходяться у розсіяному стані у товщі літосфери, акумулюючи їх на поверхні. На відміну від трав’янистої рослинності, багаторічні дерева і кущі концентрують і зберігають елементи живлення у деревині тривалий час, створюють велику масу «живої речовини». Продуктивність деревостанів, на відміну від сільськогосподарських культур і трав, менше залежить від родючості ґрунтів, адже ліси часто займають території, що мало придатні для зростання, а також ростуть на скелястих ґрунтах та за різних несприятливих екологічних умов [123].

В ідеальних умовах для фіторекультивуації відвалів необхідно провести виположування схилів та нанесення на всю поверхню екрануючого шару пухких гірських порід та шару родючого ґрунту. Але це також не завжди економічно доцільно, тому на практиці, останнім часом, впроваджуються технології «прямої фіторекультивуації», під час якої безпосередньо в субстрат відвалів проводять посадку стійких і невибагливих культур, зростання яких в обмежені терміни сприяє формуванню чистого шару ґрунту [108, 182].

Дослідження з вивчення стану і росту рослин підтверджують перспективність окремих порід для біологічної ремедіації та рекультивуації відвалів. Основна увага звертається на низьку вимогливість до родючості ґрунту, посухостійкість рослин, їх меліоративні функції і відносно високу продуктивність. Хороші результати росту і розвитку мають: тополя, осика, в'яз присадкуватий, обліпіха крушиновидна, шипшина, верба, свидина, терен, клен, акація, маслинка, береза [2, 182, 206].

Лісові насадження, вирощені на техногенно порушених землях, виконують протиерозійну, водоохоронну, полезахисну, санітарно-гігієнічну, рекреаційну, меліоративну та ґрунтопокращуючу роль. В роботі И. В. Трещевского [206] оцінено ґрунтопокращуючу роль деревних порід і чагарників як:

- високу (швидкозростаючі та азотонакопичувальні види: акація і обліпіха);
- середню (види, які добре розмножуються насіннєвим способом і з багатим листовим опадом: клен);
- низьку (види, що мають нерозгалужену кореневу систему і повільно ростуть: береза і верба).

Тому перевагу слід віддавати швидкозростаючим видам, що розмножуються кореневими паростками, та таким, які разом із симбіотичними мікроорганізмами здатні трансформувати токсичну частину забруднень, переводячи їх у менш рухому та активну форму.

Відомі способи використання деревних та чагарникових насаджень, розроблені для техногенних ландшафтів та шахтних відвалів. Зокрема проведені рекультиваційні роботи з відновлення териконів Донбасу [68, 98],

техногенних ландшафтів Криворіжжя [112], родовищ сірки та інших техногенно-змінених ґрунтів [16].

Деревні та чагарникові види рослин також можна використовувати і при нафтовому забрудненні. Відомо, що стійкість рослин до нафтового забруднення сильно залежить від стадії їх розвитку та біомаси. Найбільш стійкі до токсичного впливу нафтопродуктів багаторічні дорослі рослини, так як у них відбувається відростання нових органів зі сплячих бруньок після загибелі частини рослин внаслідок забруднення. Тому ділянки, забруднені нафтою і нафтопродуктами, заселяють, перш за все, види рослин здатні до вегетативного розмноження, при якому утворюються вже цілком розвинені рослини малочутливі до нафти у ґрунті [113].

Проте, дослідження з використання дерев та чагарників для фіторе mediaції нафтозабруднених ґрунтів практично не проведені. Зустрічаються лише поодинокі повідомлення про ріст тополі та верби в умовах нафтового забруднення [261, 288, 332]. Зовсім новим і ще не достатньо вивченим є використання актиноризних рослин – тих, що здатні до симбіозу з азотфіксуючими актинобактеріями. Зокрема, широко вивчається асоціація *Frankia–Alnus* для фіторекультивуації забруднених ґрунтів, в тому числі і нафтопродуктами [312]. Тому використання деревних порід для фіторе mediaції нафтозаруднених ґрунтів представляє особливий інтерес.

Отже, фіторе mediaція має істотні переваги, як технологія очищення нафтозабрудненого ґрунту. З економічного погляду вона вигідніша від інших технологій, не передбачає великих одноразових капіталовкладень, пов'язані з нею витрати можуть бути розподілені на кілька років. Фіторе mediaція не вимагає екскавації ґрунту й може застосовуватись на великих площах, що особливо важливо для вітчизняної нафтової промисловості. Вона сприяє збереженню й відновленню навколишнього середовища, оскільки пов'язана з вирощуванням рослин, поліпшенням ґрунтів і захистом їх від ерозії. Це найестетичніша технологія очищення ґрунту, що теж важливо.

Висновки до розділу

Аналіз літературних джерел показує наступне:

1. В результаті забруднення ґрунтів нафтою відбувається: порушення екологічної рівноваги в ґрунтовій системі; зміна морфологічних, фізичних, хімічних і біологічних характеристик ґрунту і будови ґрунтового профілю; порушення природного співвідношення між окремими групами і фракціями органічної речовини ґрунтів; проникнення нафти і нафтопродуктів у ґрунтові води; зниження ґрунтової родючості і виникнення токсикологічно небезпечних ситуацій.

2. У біогеохімічному впливі нафти на екосистеми приймає участь багато вуглеводних та неуглеводних компонентів, у тому числі мінеральні солі і мікроелементи. Токсичні дії одних компонентів можуть бути нейтралізовані присутністю інших, а також токсичність суміші вуглеводнів вища за токсичність її окремих компонентів, тому токсичність нафти не визначається токсичністю окремих сполук, що входять до її складу. Необхідно оцінювати наслідки впливу комплексу сполук в цілому. Оцінка екологічної небезпеки забруднення повинна здійснюватися не лише на основі результатів вимірювання концентрацій нафтопродуктів, а й з урахуванням впливу забруднення на біоценоз ґрунтової екосистеми, від нормального функціонування якого у значній мірі залежить інтенсивність процесів самовідновлення якості ґрунтового покриву.

3. Для екологічної оцінки стану ґрунту найдоцільніше використовувати рослинні тест-організми, адже вони характеризують стан середовища, в якому ростуть, швидко розмножуються, по-різному реагують на дію шкідливих факторів і тим самим дають змогу вибирати найдоцільнішу відповідну реакцію для конкретного дослідження. Проте, питання екологічної оцінки нафтозабруднених ґрунтів, з використанням рослин є не вирішеним. Не встановлено рослинні тест-об'єкти, селективно чутливі до нафтового забруднення, не в'яснено на якій стадії проростання рослин найдоцільніше

вимірювати ростові параметри, яка чутливість тест-об'єктів при різних рівнях забруднення, та як провести цифрову оцінку токсичності.

4. Серед перспективних, екологічно прийнятних, та економічно вигідних методів відновлення нафтозабруднених ґрунтів пріоритетними є біологічні, зокрема очищення за допомогою рослин. Проте, низька біодоступність забруднювача, гідрофобність та токсичність робить фіторекультивуацію часто малоефективною. Тому потрібно вдосконалити спосіб фітоочищення нафтозабруднених ґрунтів шляхом підбору і використання стійких до нафтового забруднення багаторічних рослин, здатних акумулювати азот атмосфери, рости на рівнинних та на насипних, відвальних ґрунтах, забезпечувати очищення нафтозабруднених ґрунтів з мінімальними затратами коштів.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експериментальна частина дослідження виконана протягом 2008-2015 рр. у Відділенні фізико-хімії горючих копалин Інституту фізико-органічної хімії і вуглехімії імені Л. М. Литвиненка НАН України. Апробацію розробленої екологічної оцінки нафтозабруднених ґрунтів здійснювали при виконанні НДР «Проведення екологічного моніторингу підземних вод, загазованості, забруднення ґрунтів території м. Борислава» (№ державної реєстрації 0114U004627). Фіторе mediaційну ділянку закладали на нафтозабруднених відвальних ґрунтах озокеритовидобутку м. Борислава.

Для здійснення модельних забруднень використано нафту Бориславського родовища мікрорайону Потік, густиною 0,826 г/мл і два типи ґрунту: дерново-підзолистий та чорнозем, для яких проблема нафтового забруднення є актуальною. Дерново підзолисті ґрунти поширені на території найстарішого в Європі Бориславського нафтогазового родовища, чорноземи – на більшості території України, зокрема на Полтавщині, яка є провідним нафтогазовидобувним регіоном.

2.1. Характеристика району досліджень

Частина досліджень, що представлені у дисертації, а саме екологічний моніторинг та фіторе mediaція нафтозабруднених ґрунтів, проведена на відвалах Бориславського озокеритового родовища, які розміщені у 500 м від центральної частини м. Борислава.

Територія м. Борислава та його околиць розташована на зчленуванні орографічних областей Передкарпаття і Зовнішніх Карпат. Понад 2/3 території міста знаходиться у межах Дрогобицької передгірної скульптурної височини, яка входить до складу Передкарпаття. Борислав – місто обласного значення у Львівській області. Розташоване на півдні центральної частини Дрогобицького

району, на річці Тисмениця. На сході межує з містом Трускавець, на півночі – з містом Дрогобич, на півдні – з селом Опака та на заході – з селом Попелі. До складу Бориславської міської ради входить також бальнеологічний курорт смт Східниця (рис. 2.1).

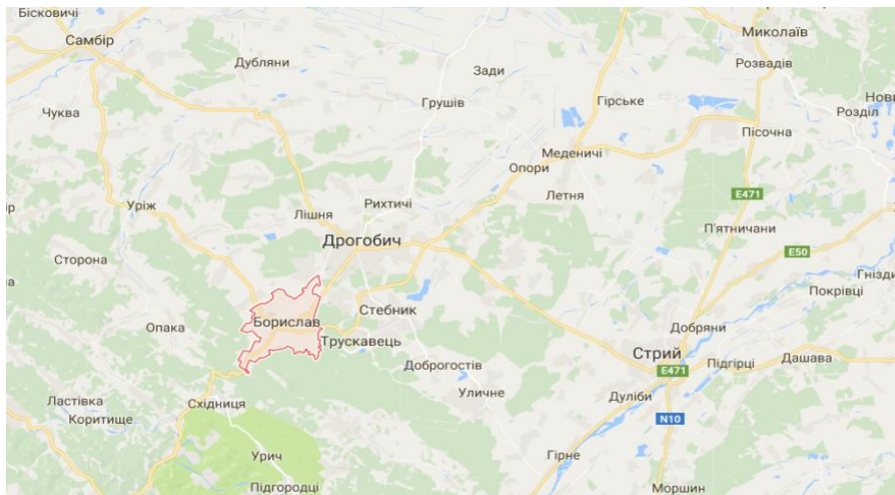


Рис. 2.1. Місто Борислав на карті області

Клімат району помірно-континентальний, м'який, (помірно теплий та вологий). Середньорічна температура повітря $+7,5^{\circ}\text{C}$ (середньомісячна температура в січні $-4,3^{\circ}\text{C}$, в липні $+18,2 - +22^{\circ}\text{C}$). Середньорічна кількість опадів становить 759-912 мм на рік [160]. Переважна кількість опадів припадає на теплий період року (понад 70%). Сумарна кількість опадів перевищує величину випаровування, територія міста знаходиться в зоні надлишкового зволоження.

Територією міста протікають: ліва притока Тисмениці – р. Раточина, та її права притока – р. Вишниця, а також р. Лошань, потічок Крушельниця та інші. Більшість приток мають північно-східний напрямок. Густота річкової мережі на території міста складає 1,5 км на км². Спостерігається три підняття рівнів води на всіх водотоках: весняна повінь (березень-квітень), літні паводки (червень-серпень), зимові відлиги (грудень-лютий).

Ґрунтовий покрив міста досить строкатий. На території Борислава виявлено 6 типів ґрунтів [239]:

- дерново-підзолисті поверхнево глеюваті легкосуглинкові;

- дернові глибокі глеюваті легкосуглинкові;
- буроземно-підзолисті, дерново-буроземно-підзолисті не глеюваті і глеюваті легкосуглинкові;
- дерново-буроземні глеюваті, слабо щебенюваті легкосуглинкові;
- бурі гірсько-лісові та дерново-буроземні, щебенюваті легкосуглинкові;
- змиті та розмиті ґрунти, виходи порід, рівняки в комплексі з лучно-болотними.

Довготривала господарська діяльність, що пов'язана з видобутком корисних копалин, істотно вплинула на природний ґрунтовий покрив м. Борислава. Найбільш екологічно неблагополучними є ділянки, що безпосередньо прилягають до об'єктів нафтопромислового комплексу, зокрема озокеритової шахти, район Потоку (рис. 2.2).

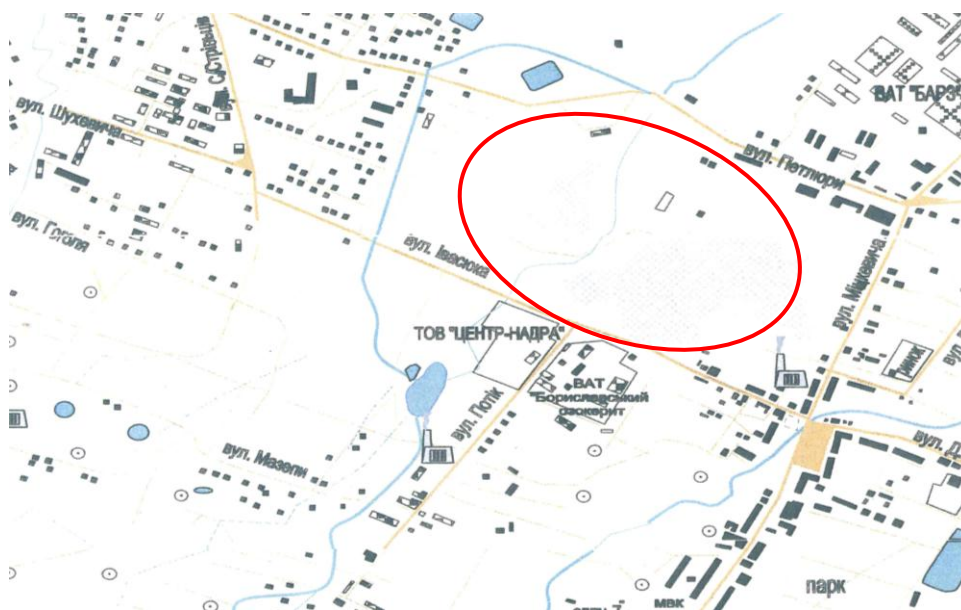


Рис. 2.2. Карта-схема розташування відвалів озокеритовидобутку м. Борислава

Ці території не підлягають для використання під забудову чи інше освоєння. Відвали озокеритовидобутку розміщуються на площі понад 20 га і характеризуються несприятливими фізичними, хімічними, водними та агрохімічними показниками, містять включення залишків озокериту і нафти. Залишки вуглеводнів надають субстрату специфічний запах. У складі відвалів міститься значна кількість шкідливих та токсичних речовин і вони є складними

для біологічного освоєння, важко піддаються рекультивації, а природне заростання рослинами відбувається дуже повільно, особливо на нових відвалах. Відвали озокеритового родовища різняться між собою за способом і часом добування озокериту: 1) старі відвали, з породи яких вилучали озокерит шляхом випаровування і які містять його залишкову кількість до 0,9%; 2) нові відвали, з породи яких озокерит екстрагували бензиновими фракціями і які містять 0,3-0,4% озокериту, для них характерне вторинне нафтове забруднення – 1-12% нафти у ґрунті [161]. Нові відвали чітко виділяються як оголені ділянки різного рельєфу, позбавлені рослинного покрив (рис. 2.3).



Рис. 2.3. «Нові» відвали озокеритовидобутку різного рельєфу (м. Борислав): А – рівнинного; Б, В – горбистого зі слідами ерозії

Нафтозабруднені відвальні техногенні ґрунти озокеритовидобутку містять підвищений вміст важких металів [169] та засолені, що також ускладнює їх заростання (рис. 2.4, 2.5).



Рис. 2.4. Соляне дзеркало на поверхні відвальних нафтозабруднених ґрунтів понижених ділянок (м. Борислав)



Рис. 2.5. Соляна кірка на поверхні відвальних нафтозабруднених ґрунтів озокеритовидобутку (м. Борислав)

Таким чином, відвали озокеритовидобутку забруднені нафтопродуктами, важкими металами, засолені, є насипними, «голими», легко піддаються процесам ерозії. Відсутність рослинного покриву зумовлює випаровування,

вивітрювання та вимивання шкідливих речовин, що призводить до забруднення повітря, поверхневих та підземних вод. Тому проведення екологічного моніторингу та заліснення даної території є раціональним шляхом у вирішенні екологічних проблем.

2.2. Рослинні тест-об'єкти та фіторемедіанти

Льон звичайний (*Linum usitatissimum* L.) – однорічна трав'яниста рослина родини Льонових (*Linaceae*). Стебло голе, циліндричне, заввишки 0,7-1,5 м, гіллясте у верхній частині. Коренева система стрижнева. Листки чергові, сидячі, вузьколанцетні або лінійні. Квітки правильні, двостатеві, небесно-сині або фіолетові, на квітконіжках зібрані на верхівці стебла у розлогі щіткоподібні суцвіття. Чашечка п'ятичленна, віночок – п'ятипелюстковий, тичинок п'ять або десять. Плід – яйцеподібна або куляста розтріскана коробочка з численним дрібним блискучим насінням. Цвіте у червні – серпні, плоди досягають у серпні – вересні. Насіння містить слизисті речовини (близько 12 %), пектин, жирну олію (30-40 %), протеїн (20-25 %), цукри, каротин тощо. Рослина не вимоглива до умов середовища [143]. Для досліджень використовували сорт “Зоря 86”.

Соняшник однорічний (*Helianthus annuus* L.) – рід рослин родини Айстрові (*Asteraceae*). Коренева система стрижнева, досить розгалужена. Стебло пряме, здебільшого нерозгалужене, кругле або ребристе, вкрите шорсткими волосками, всередині виповнене губчастою тканиною. Листки черешкові, великі. Всі листки вкриті короткими шорсткими волосками. Суцвіття – багатоквітковий кошик. Плід – сім'янка з шкірястим оплоднем (лушпиння), в якій міститься ядро. Насінина (ядро) вкрита тонкою прозорою оболонкою і складається із зародка з сім'ядолями й корінця. Вміст олії в насінні становить 47-52 %, а в ядрі 65-67 %. Соняшник теплолюбна і посухостійка рослина [143]. Для досліджень використовували сорт “Чумак”.

Ріпак озимий (*Brassica napus* L.) – однорічна олійна рослина родини Капустяних (*Brassicaceae*). Коренева система стрижнева. Стебло циліндричне, добре гілкується. Листки темно-зелені, з восковим нальотом. Суцвіття нещільне китицеподібне. Квітки жовті, чотирипелюсткові. Плід - стручок завдовжки 6-12 см. Насіння темно-коричнєве, майже чорне, кругле, дрібне, містить 48-52 % олії [143]. Для досліджень використовували сорт “Дембо”.

Огірок звичайний (*Cucumis sativus* L.) – однорічна трав'яниста рослина родини Гарбузові. Коренева система складається з короткого стрижневого кореня і численних бічних коренів. Стебло у більшості огірків стелеться, забезпечене вусиками. Листова пластина з добре вираженим поділом на п'ять лопатей. Квітка жовта, лійкокоподібна. Плід багатонасінний, подовжений, зеленого кольору різного відтінку, при дозріванні набуває жовто-коричневого забарвлення [143]. Для досліджень використовували сорт “Кущовий”.

Просо звичайне (*Panicum miliaceum* L.) – вид однолітніх трав'янистих рослин родини Тонконогових. Коренева система мичкувата. Стебло пряме, циліндричне, вкрите м'якими волосками. Суцвіття проса – розлога, стиснута (поникла) або кім'яста волоть. Зерно дрібне, овальне або круглясте за формою, світло-жовтого, кремового, брудно-жовтого, червоного забарвлення. Це теплолюбна, посуховитривала, жаростійка рослина [143]. Для досліджень використовували сорт “Веселоподільське 16”.

Крес-салат (*Lepidium sativum* L.) – однорічна рослина родини Хрестоцвітих. Стебло пряме, висотою 30-60 см. Нижні листки черешкові перисто-розсічені, стеблові – цільні, гострі, сидячі, синювато-зелені. Численні дрібні білі або блідо-рожеві квітки зібрані в подовжені розгалужені рихлі суцвіття-кисті. Плоди – округло-яйцевидні стручечки. Насіння дрібні, гладкі, злегка сплюснуті, зберігає схожість 3-4 роки. Це дуже скоростигла та холодостійка культура, що добре росте на будь-яких ґрунтах [143]. Для досліджень використовували сорт “Ажур”.

Кріп городній (*Anethum graveolens* L.) – однорічна трав'яниста рослина родини Зонтичних *Apiaceae*. Корінь веретеноподібний, слаборозгалужений.

Стебло прямостояче, круглясте, борозенчасте, посмуговане, розгалужене у верхній частині, висотою до 120 см. Листки чергові 3-4-перисторозсічені на лінійно-ниткоподібні сегменти, нижні – черешкові, верхні – сидячі, з білооблямованими піхвами і зменшеними пластинками. Квітки дрібні, двостатеві, жовті, у складних зонтиках, без обгортки. Плід – плескатий, широкоеліптичний, сірувато-бурий, запашний, пряно-гіркуватий на смак [143]. Для досліджень використовували сорт “Кибрай”.

Конюшина лучна (*Trifolium pratense* L.) – багаторічна рослина родини Бобових *Fabaceae*. Коренева система стрижнева, добре розвинена. Стебло пряме, розгалужене, заввишки 50-80 см (на одній рослині розвивається по 20-30 стебел). Листок трійчастий, переважно заокруглений, часто з білуватою плямою. Квітки конюшини лучної зібрані у червоно-фіолетові кулясті головки-суцвіття. Плід, здебільшого, однонасінний біб [143]. Для досліджень використовували сорт “Передкарпатська 6”.

Овес посівний (*Avena sativa* L.) – однорічна трав'яниста рослина роду овес, родини Злакові. Коренева система мичкувата. Стебло – порожниста соломину, заввишки 80-140 см, завтовшки 4-4,5 мм, поділена на 4-7 міжвузлів. Листки вівса ланцетно-загострені, зелені або сизі, часто з війчастими краями, без вушок, але з добре розвиненим язичком (у деяких форм вівса він відсутній), нерідко вони покриті восковим нальотом. Суцвіття вівса волоть. Плід – плівчаста або гола зернівка [143]. Для досліджень використовували сорт “Чернігівський 28”.

Гречка посівна (*Fagopyrum vulgare* St.) підвид гречки звичайної (*F. esculentum* Moench) – однорічна трав'яниста рослина. Коренева система стрижнева, має багато бічних тонких корінців. Стебло поздовжньоребристе, всередині порожнисте, гілкується. Висота його 40-110, товщина – 2-10 мм. З освітленого боку має червоне забарвлення. Листки на нижній частині стебла черешкові, з серцеподібною основою, на верхній – сидячі, серцеподібно-стрілоподібні, голі. Квітки утворюють на верхівках стебел суцвіття щиток, або

напівзонтик, на бічних гілках – пазушні китиці. Плід – тригранний горішок [180]. Для досліджень використовували сорт “Оранта”.

Для фіторе mediaції нафтозабруднених ґрунтів використовували рослини обліпихи крушиновидної.

Обліпиха крушиновидна (*Hippophae rhamnoides* L.) – кущ висотою 0,5-4 м, рідше деревце заввишки до 10 м родини маслинкових *Elaeagnaceae* з колючими гілками, вкритими сірою корою. Молоді пагони з дрібними кулястими бруньками, вкриті сріблястими лусочками, а багатолітні гілки – іржаво-бурі, бурі, або темно-бурі. Листки прості, чергові, вузькі, лінійно-ланцетні, 3-8 см завдовжки, 0,3-0,8 см завширшки, на верхівці затуплені, без прилистків, зверху сріблясто-зелені, знизу сріблясто-сірі. Рослина дводомна, вітрозапильна. Квітки одностатеві. Цвіте у квітні-травні, до розпускання листя або одночасно з ними. Плід – овальна кістянка 0,7-0,8 см завдовжки. Плоди дозрівають у серпні – вересні. Рослина має слабомичкувату шнуровидну поверхневу кореневу систему, яка дає кореневі пагони-зачатки. На корінні формуються клубочки, кореневі шишечки, за допомогою яких обліпиха засвоює атмосферний азот [223].

2.3. Методики лабораторних та польових досліджень

2.3.1. Біотестування та біоіндикація нафтозабруднених ґрунтів

При розробці методів біотестування та біоіндикації нафтозабруднених ґрунтів проводили пошук рослин, чутливих до нафтового забруднення і встановлювали залежності між концентрацією нафти у ґрунті та морфометричними показниками чутливих фітотестів. Дослідження проводили за методикою [178]: наважку сухого ґрунту 20 г поміщали у чашку Петрі, зволожували 10 мл води (до вологості 33,3 %) і розтирали до однорідної консистенції, до утворення легенького водяного дзеркальця. Далі висаджували насіння тест-рослин, закривали чашки та ставили у термостат при температурі + 24 °C на 5 діб. Для досліджень використовували штучно-забруднені нафтою

грунти (0,4-20% нафти у ґрунті), які готували за наступною схемою: у повітряно-сухий дерново-підзолистий чистий ґрунт, просіяний через сито з отворами 1 мм, вносили сиру нафту (густиною 0,826 г/мл):

- контроль: 100 г чистого ґрунту + 0 г нафти (0 % забруднення);
- 99,6 г чистого ґрунту + 0,4 г нафти (0,4 % забруднення);
- 99,0 г чистого ґрунту + 1,0 г нафти (1 % забруднення);
- 97,5 г чистого ґрунту + 2,5 г нафти (2,5 % забруднення);
- 95,0 г чистого ґрунту + 5,0 г нафти (5 % забруднення);
- 92,0 г чистого ґрунту + 8,0 г нафти (8 % забруднення);
- 90,0 г чистого ґрунту + 10,0 г нафти (10 % забруднення);
- 85,0 г чистого ґрунту + 15,0 г нафти (15 % забруднення);
- 83,0 г чистого ґрунту + 17,0 г нафти (17 % забруднення);
- 80,0 г чистого ґрунту + 20,0 г нафти (20 % забруднення).

Повторюваність дослідів 5-ти кратна.

Для підтвердження біоіндикаторних властивостей гречки посівної закладали польовий дослід. У сформовані в малопроникному ґрунті лунки діаметром 25 см і глибиною 20 см вносили ґрунт різного ступеню забруднення нафтою (0; 0,4; 2,5; 5,0; 8,0 %), в який висаджували насіння рослин гречки посівної. За біоіндикаційними ознаками спостерігали візуально та на 45 добу визначали ростові параметри, сиру та суху масу рослин.

2.3.2. Випаровування нафтопродуктів із забрудненого ґрунту

Для дослідження динаміки випаровування нафтопродуктів з нафтозабрудненого ґрунту забруднювали дерново-підзолистий та чорноземний ґрунти нафтою у концентраціях 5, 10, 15 % за попередньо описаною схемою і залишали на тривалий час в кімнатних умовах, за середньої температури 15-20 °С для природного вивітрювання нафтопродуктів. Періодично визначали вміст нафти в досліджуваних ґрунтах гравіметричним методом та зміну його фітотоксичності.

2.3.3. Вертикальна міграція нафти у ґрунт

Для дослідження вертикального проникнення нафтового забруднення у ґрунт було змодельовано розлив нафти (поверхнєве нафтове забруднення): порожнисту посудину циліндричної форми (самовиготовлену трубу) діаметром 17 см, висотою 50 см, зі встановленою лінійкою по всій довжині, ставили у малопроникний ґрунт в природних умовах і засипали дерново-підзолистим ґрунтом, так, що від 10 до 50 см труби містився незабруднений ґрунт, а верхній шар ґрунту 0-10 см був забруднений нафтою 10 % (рис. 2.6). Через 6 та 12 місяців відбирали проби ґрунтів по висоті труби через кожні 10 см, що відповідає проникненню нафти у ґрунт на глибину: 0-10 см, 10-20 см, 20-30 см, 30-40 см.



Рис. 2.6. Модельний дослід вертикальної міграції нафти у ґрунт

2.3.4. Латеральна міграція нафти у ґрунт

Горизонтальне поширення нафтового забруднення вивчали з допомогою чутливих до нафтового забруднення рослин льону, соняшника та гречки. Було змодельовано розлив нафти у польових умовах. Закладено ділянку у формі півкола, діаметром 2 м, у центр якого вносили нафтозабруднений ґрунт, об'ємом 3л, що містив 20 % нафти (рис. 2.7). Діаметр нафтової плями становив 25 см. Від центру внесення нафтозабрудненого ґрунту по радіусу формували три дослідні сектори, в які по чергові висаджували рослини через 10, 20, 30 та 365 днів. Проби рослин для аналізу відбирали на 45-ий день після висадки у

чотирьох сегментах кожного сектора на відстані: 0-10 см, 10-20 см, 20-30 см, 30-50 см від центру розливу нафти.



Рис. 2.7. Модельний дослід латеральної міграції нафти у ґрунт

2.3.5. Моніторингові дослідження нафтозабруднених ґрунтів

Моніторингові дослідження проводили на відвальних нафтозабруднених ґрунтах озокеритової шахти м. Борислава. Було відібрано 50 проб ґрунту. Середня щільність контрольних точок відбору 25×25 м. Для кожної точки визначено точні координати системою GPS. Аналізували вміст нафтопродуктів у ґрунтах, їх рН, температуру та фітотоксичність.

2.3.6. Фіторемедіація нафтозабруднених ґрунтів

Фіторемедіацію проводили в польових умовах на нафтозабруднених відвальних ґрунтах озокеритовидобутку м. Борислава. Закладали дослідні ділянки на ґрунтах різного ступеню забруднення нафтою: 97 г/кг, 123 г/кг, 150 г/кг (9,7 %, 12,3 %, 15 %) [151, 161], в які рано-навесні без додаткового внесення добрив, мікроорганізмів чи поливу висаджували двома рядами у шахматному порядку відсадки висотою до 30-40 см обліпихи крушиновидної в лунки глибиною 15-20 см, відстань між рослинами 1,5 м, відстань між рядами 1 м (рис. 2.8). Польові дослідження для забруднення 123 г/кг проводили у трьох повторностях: закладали три фіторемедіаційні ділянки, кожна площею 10 м², на яких висаджували 14 саджанців за вищеописаною схемою (рис. 2.8). Відстань між ділянками складала 4,5 м.

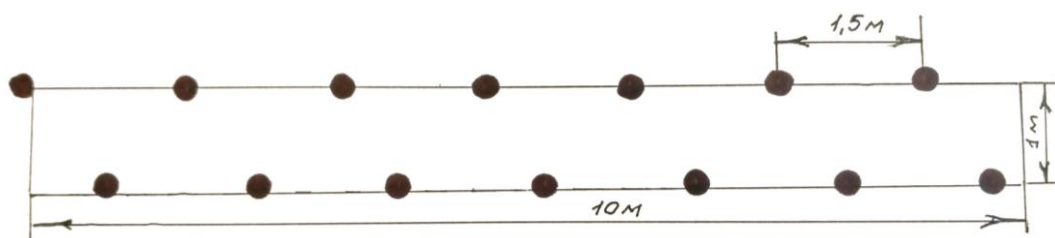


Рис. 2.8. Схема посадки обліпихи крушиновидної на фіторе mediaційній ділянці

2.3.7. Відбір проб ґрунтів

Проби ґрунту відбирали згідно ГОСТу 17.4.4.02.84 [39]. Точкові проби відбирали методом конверта, по діагоналі, виходячи з того, щоб кожна проба була частиною ґрунту типовою для генетичних горизонтів. Загальну пробу готували з точкових проб, які відбирали на глибині до 20 см, масою до 0,2 кг. Відібрані проби поміщали в скляні ємності і герметично закривали.

2.3.8. Визначення морфометричних показників

Довжину кореня та пагона дослідних рослин вимірювали за допомогою лінійки. Похибка вимірювання 0,5 мм. Вагу кореневої системи та надземної частини визначали на електронній вазі з точністю до 0,01 г.

2.3.9. Визначення фітотоксичності ґрунту

Фітотоксичність ґрунту визначали за допомогою рослинних біотестів: *Linum usitatissimum* L., *Helianthus annuus* L., *Fagopyrum vulgare* St. (див. підрозділ 2.2.1).

Визначали відносну схожість насіння (ВСН), відносну довжину кореня (ВДК) та висоту пагона (ВВП) фітотестів:

- $\text{ВСН} = (\text{К-сть пророслого насіння в досліді} / \text{К-сть пророслого насіння в контролі}) \times 100 \%$;
- $\text{ВДК} = (\text{Довжина кореня в досліді} / \text{Довжина кореня в контролі}) \times 100 \%$;
- $\text{ВВП} = (\text{Висота пагона в досліді} / \text{Висота пагона в контролі}) \times 100 \%$;

Обраховували ефективну токсичність за формулою (2.1) [178]:

$$T_J^{ef} = \sum_{i=1}^n K_i - n = (K_N + K_l + K_h) - n \quad (2.1)$$

де T_J^{ef} – ефективна токсичність відповідно по льону, соняшнику чи гречці;

K_N – коефіцієнт пригнічення схожості;

K_l – коефіцієнт пригнічення росту кореня;

K_h – коефіцієнт пригнічення росту пагона;

n – кількість врахованих параметрів: схожість, довжина кореня, висота пагона ($n=3$).

Коефіцієнт пригнічення схожості визначали, як відношення кількості пророслого насіння у контролі (N_0) до кількості пророслого насіння у досліді (N_i):

$$K_N = N_0 / N_i \quad (2.2)$$

Коефіцієнт пригнічення росту кореня відповідно за формулою (2.3):

$$K_l = l_0 / l_i, \quad (2.3)$$

де l_0 – середня довжина кореня у контролі;

l_i – середня довжина кореня у досліді.

Коефіцієнт пригнічення росту пагона визначали аналогічно за формулою (2.4):

$$K_h = h_0 / h_i, \quad (2.4)$$

де h_0 – середня висота пагона у контролі;

h_i – середня висота пагона у досліді.

2.3.10. Визначення вмісту нафтопродуктів у ґрунтах

Вміст нафтопродуктів у ґрунтах визначали за модифікованою методикою [13]. Вуглеводні з проб ґрунту екстрагували тетрахлоридом вуглецю. Отриману суміш пропускали через лабораторну колонку, діаметром 1 см, висотою 0,5 м, заповнену адсорбентом Al_2O_3 для розділення нафтопродуктів від домішок не нафтового походження з наступним спектрофотометричним визначенням в інфрачервоній області спектру (в області хвильових чисел 2860; 2930 і 2960 cm^{-1}).

Розрахунок концентрацій проводили за інтенсивністю піків поглинання з використанням калібрувального графіку.

Також визначали сумарну кількість нафтопродуктів гравіметричним методом за спалюванням.

Наважку повітряно-сухого ґрунту (~ 20 г), зважену на аналітичних вагах, поміщають у муфельний стаканчик і прокалюють при температурі 200 °С протягом доби для видалення залишків вологи. На наступну добу цю ж наважку ґрунту прокалюють у муфелі при 400 °С при подачі кисню до постійної ваги (3-4 доби) для видалення нафтопродуктів. При даній температурі ще не відбувається розкладання солей, що містяться у ґрунті, в той же час температура є достатньою для повного усунення нафтопродуктів з ґрунту. Метод передбачає калібровку з використання нульового, незабрудненого ґрунту з метою усунення впливу гумусної складової ґрунту та вологи [13, 60].

2.3.11. Визначення чисельності мікроорганізмів у ґрунті

Чисельність мікроорганізмів у ґрунті визначали методом серійних розведень за кількістю колоній, що виростили на твердому поживному середовищі після висіву суспензії мікроорганізмів з серійних десятикратних розведень. Початкову суспензію мікроорганізмів готували з 1 г дослідженого ґрунту, який вносили у 100 мл стерильної води [200].

Мікроорганізми-деструктори нафти виділяли методом накопичувальної культури на середовищі Шишкіної-Троценко з нафтою і рідкими парафінами як джерелами вуглецю [286].

Чисельність олігонітрофільних мікроорганізмів та азотфіксаторів визначали на середовищі Ешбі [48].

Результати чисельності мікроорганізмів представляли кількістю колонієутворюючих одиниць в 1 г повітряно-сухого ґрунту (КУО/г).

2.3.12. Визначення вмісту азоту у ґрунті

Вміст загального азоту у ґрунті визначали колориметрично з реактивом Неслера згідно ГОСТу 26107-84 [40].

Вміст нітратного азоту визначали іонометричним методом згідно ГОСТу 26951-86 [42].

Визначення вмісту амонійного азоту у ґрунті проводили за методом ЦІНАО згідно ГОСТу 26489-85 [41].

2.3.13. Визначення вмісту рухомого фосфору у ґрунті

Вміст рухомого фосфору у ґрунті визначали модифікованим методом Мачигіна згідно ДСТУ 4114-2002 [50]. Метод базується на вилученні рухомих сполук фосфору з ґрунту розчином вуглекислого амонію концентрації 10 г/дм³ при відношенні ґрунту до розчину 1:20 і подальшому визначенні фосфору у вигляді синього фосфорномолібденового комплексу на спектрофотометрі.

2.3.14. Визначення рН ґрунту

Визначення рН водної та сольової витяжки ґрунту здійснювали потенціометричним методом [244]. Пробу ґрунту масою 20,0 г поміщали у колбу на 250-300 мл, доливали 50 мл дистильованої води чи 1 М розчину KCl і збовтували. В одержаному фільтраті рН-метром вимірювали значення рН.

2.3.15. Фотометричний метод кількісного визначення пігментів

Наважку свіжого рослинного матеріалу масою 0,2 г подрібнювали і переносили у ступку, додавали на кінчику скальпеля CaCO₃ для нейтралізації кислот клітинного соку. Зволожували матеріал незначною кількістю розчинника (в нашому випадку 96 %-ний спирт), розтирали до гомогенної маси і кількісно перенести на фільтр Шотта або паперовий фільтр, вставлений у колбу Бунзена, змиваючи багаторазово ступку невеликими порціями спирту. Розчини відфільтровували, змиваючи стінки фільтра невеликими порціями розчинника доти, поки відфільтрована рідина не стала безбарвною. Екстракт

переносили у мірну колбу на 25 мл і доводили об'єм спиртом до мітки. Колбу зкривали, ретельно перемішували вміст і до визначення зберігали у темноті на холоді.

Заміри оптичної густини проводили відносно 96 %-ного спирту на спектрофотометрі Shimadzu UVmini-1240, при довжині хвиль 665, 649 та 440 нм, що відповідає поглинанню світла хлорофілом *a*, хлорофілом *b* та каротиноїдами.

Концентрації пігментів (мг/л) розраховували за формулами (для 96%-ного спирту) (2.5-2.8):

$$C_a = 13,70 * D_{665} - 5,76 * D_{649} \quad (2.5)$$

$$C_b = 25,80 * D_{649} - 7,60 * D_{665} \quad (2.6)$$

$$C_{a+b} = 6,10 * D_{665} + 20,04 * D_{649} \quad (2.7)$$

$$C_{\text{карот.}} = 4,695 * D_{440} - 0,268 * C_{a+b} \quad (2.8)$$

Вміст пігментів у рослинному матеріалі (*A*, мг/г сирової речовини) визначали за формулою (2.9):

$$A = \frac{C * V}{H * 1000}, \quad (2.9)$$

де *C* – концентрація пігментів, мг/л; *V* – об'єм екстракту, мл (25 мл); *H* – наважка рослинного матеріалу, г (0,2 г) [130].

2.3.16. Метод визначення стерильності пилку

Відбір пилку проводили у суху погоду з неушкоджених, здорових рослин середнього ярусу. Для визначення стерильності та фертильності пилкових зерен використовували ацетокарміновий метод.

Пилок, витягнутий із бутону, поміщали в пробірку з невеликою кількістю фіксатора. Фіксацію свіжого матеріалу здійснювали у фіксаторі Карнуа з використанням етилового спирту-ректифікату і льодяної оцтової кислоти у співвідношенні 3:1 протягом 3 годин. Після закінчення фіксації матеріал ретельно промивали двічі по 1 год в 70 %-ному етаноловому спирті для видалення фіксуючої речовини і зафарбовували. Для цього спирт зливали і

заливали барвник (ацетокармін) на час від 3 до 24 годин. Після закінчення зафарбовування барвник зливали, а матеріал поміщали в 70 %-ний етаноловий спирт, готували препарати і розглядали під мікроскопом. Переглядали від 1000 до 3000 пилкових зерен, які розділяли на фертильну та стерильну групи. Фертильні пилові зерна забарвлюються в червоні кольори, а стерильні – зовсім не забарвлюються, або фрагментарно (на 20-30 %) набувають слабого, майже прозорого жовтого тону.

Стерильність пилкових зерен визначали у відсотках за формулою (2.10):

$$M = G \cdot 100 / N \quad (2.10)$$

де G – кількість стерильних пилкових зерен;

N – кількість досліджених пилкових зерен.

Потім знаходили помилку розрахунку за виразом (2.11):

$$m = \pm \sqrt{\frac{M \cdot (100 - M)}{N}} \quad (2.11)$$

При цьому слідкували, щоб виконувалась умова $3 \cdot m < M$ [131, 154].

2.4. Статистично-математичне опрацювання результатів досліджень

Експерименти проводили щонайменше у трьох біологічних та трьох аналітичних повторях. Статистичну обробку результатів проводили, використовуючи пакет програм Microsoft Office Excel. В якості статистичних показників брали середнє арифметичне, середньоквадратичну похибку середнього арифметичного (S_x) та довірчий інтервал (ΔX). Були використані: 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 % ($P < 0,05$) [67, 106].

Картографічну інтерполяцію даних проводили з використанням програми Surfer компанії Golden Software.

РОЗДІЛ 3

ЕКОЛОГІЧНЕ ОЦІНЮВАННЯ НАФТОЗАБРУДНЕНИХ ҐРУНТІВ

3.1. Підбір рослин, чутливих до нафтового забруднення

Проблема нафтового забруднення потребує розробки ефективних методів екологічної оцінки стану ґрунтової екосистеми. Перспективними у цьому плані є біотестування та біоіндикація з використанням рослинних тест-об'єктів, як найбільш зручних, дешевих та інформативних. Однак, опубліковані методики оцінки токсичності ґрунтів за участю рослин стосуються, переважно, забруднення важкими металами [22, 37, 241, 266]. Питання екологічної оцінки ґрунтів, забруднених нафтою, залишається не вирішеним. Нечисленні публікації [43, 134, 252, 283, 296] із цього питання важко співставити, через різну техніку виконання досліджень та відмінні параметри, що використовуються для екологічної оцінки. Не виясненим залишається питання рослинних тест-об'єктів, селективно чутливих до нафтового забруднення, не встановлено, на якій стадії проростання рослин доцільно вимірювати ростові параметри, яка чутливість тест-об'єктів при різних рівнях забруднення, та як провести цифрову оцінку токсичності.

Важливим етапом у розробці методу біотестування та біоіндикації є пошук рослинних об'єктів, чутливих до нафтового забруднення. Тому на першому етапі ми проводили підбір рослин, які мають достовірний відгук на зміну концентрації нафти у ґрунті, серед доступних сільськогосподарських насіннєвих культур. Були опробовані: льон звичайний (*Linum usitatissimum* L.), соняшник однорічний (*Helianthus annuus* L.), ріпак озимий (*Brassica napus* L.), просо дике (*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.), гречка посівна (*Fagopyrum vulgare* St.), насіння яких пророщували в чашках Петрі на нафтозабрудненому ґрунті у концентрації 5 %.

Чутливість біотестів до забруднення проявляється значним відхиленням від фізіологічної норми [47]. Для досліджуваних рослин визначали схожість насіння, довжину кореня, висоту пагона, їх відносні величини, коефіцієнти варіації морфометричних параметрів. Показано різну чутливість досліджуваних фітотестів до нафтового стресу. Зокрема, відносна схожість насіння для всіх тест-об'єктів, крім крес-салату, конюшини та гречки не відрізнялася статистично від контролю. Для *L. sativum* відносна схожість була меншою на 14,3 %, *T. pratense* на 20 %, *F. vulgare* на 30,56 %, порівняно з контролем ($p < 0,05$) (рис. 3.1).

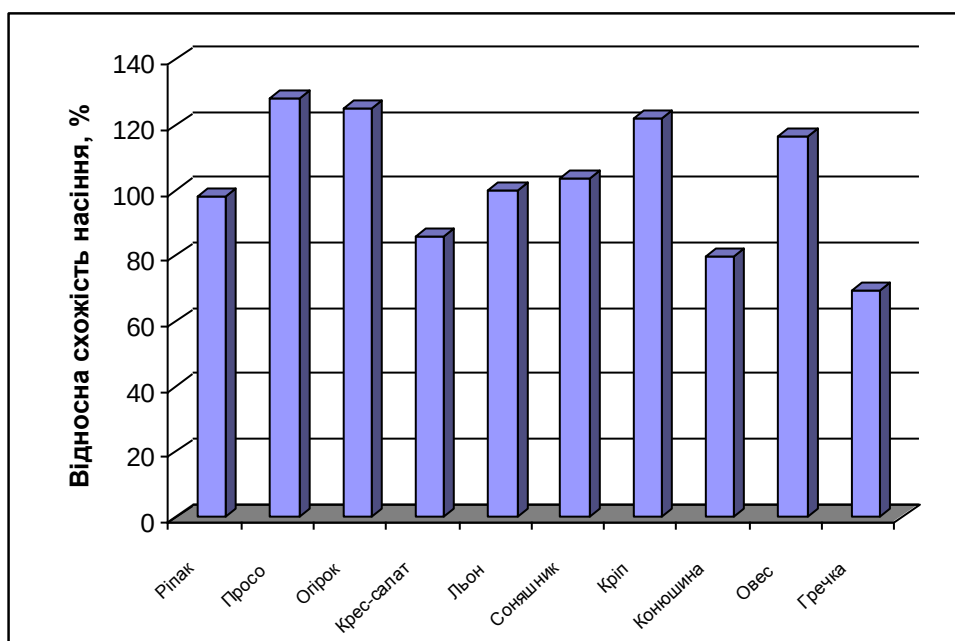


Рис. 3.1. Чутливість схожості насіння різних видів рослин до забруднення ґрунту нафтою (5 % нафти у ґрунті)

Встановлено високу вразливість ріпаку та крес-салату до дії нафти при її вмісті у ґрунті 5 %. Про це свідчить зменшення відносної довжини кореня та пагона (табл. 3.1, 3.2). Отримані результати узгоджуються із літературними даними [331]. Дослідники проводили тестування фітотоксичності вуглеводнів нафти з використанням *B. napus* і показали, що цей вид характеризується великою вразливістю до нафтового забруднення.

Щодо крес-салату, то даний вид є класичним тест-об'єктом і широко використовується у біотестуванні забруднень важкими металами та неорганічними сполуками [70]. Однак, нами встановлено, що вже при середній ступені нафтового забруднення (5 %) відбувалося значне інгібування росту *L. sativum*: зменшення відносної довжини кореня на 85 % та відносної висоти пагона на 68 % порівняно з контролем, що робить даний тест-об'єкт малопридатним для тестування нафтозабруднених ґрунтів (табл. 3.1, 3.2).

В умовах нафтового забруднення нами виявлено неоднозначність різних тест-реакцій проса звичайного: відносна довжина кореня залишалася на рівні контролю, а відносна висота пагона становила лише 26,9 %. Для останнього параметра характерний високий рівень мінливості – коефіцієнт варіації 81,6 % (табл. 3.1, 3.2). Саме тому ми не можемо використовувати даний фітотест для подальших досліджень.

Таблиця 3.1.

Чутливість довжини кореня різних видів рослин до забруднення ґрунту нафтою (5 % нафти у ґрунті)

Тест-об'єкти	Довжина кореня, мм	Коефіцієнт варіації, %	Рівень достовірності (p<)	Відносна довжина кореня, %
<i>Brassica napus</i> L.	46,4±2,8	39,4	0,05	59,70
<i>Panicum miliaceum</i> L.	42,8±1,4	32,5	–	115,50
<i>Cucumis sativus</i> L.	59,9±2,2	56,9	0, 01	45,41
<i>Lepidium sativum</i> L.	19,0±1,1	22,5	0,001	15,60
<i>Linum usitatissimum</i> L.	31,6±1,0	23,1	0,001	60,67
<i>Helianthus annuus</i> L.	52,3±1,8	30,5	0,001	58,57
<i>Anethum graveolens</i> L.	26,2±1,5	38,1	–	112,15
<i>Trifolium pratense</i> L.	15,8±1,0	39,5	–	98,14
<i>Avena sativa</i> L.	36,9±2,0	23,1	0,001	37,77
<i>Fagopyrum vulgare</i> St.	45,1±1,9	30,4	0,001	66,17

Встановлено, що у *T. pratense* при середньому ступені нафтового забруднення довжина кореня статистично достовірно не відрізнялася від контролю, а відносна висота пагона становила 67,36 % (табл. 3.1, 3.2). Тобто, нафта в цілому пригнічує ростові параметри конюшини лучної, але цей вплив є неоднозначним.

У літературі зустрічаються дані про використання огірка звичайного для встановлення токсичності важких металів, галогеновмісних сполук, фенолів [252]. Нами показано, що *C. sativus* є більш чутливий до дії нафти порівняно з *P. miliaceum* та *T. pratense*: відносна довжина кореня становила 45,4 %, відносна висота пагона – 54 %. Проте, для даних ознак характерна висока мінливість, значення коефіцієнта варіації становить відповідно 56,9 % та 68,4 % (табл. 3.1, 3.2). Саме тому не доцільно використовувати даний фітотест для розробки методу оцінки токсичності нафтозабруднених ґрунтів.

Таблиця 3.2.

Чутливість висоти пагона різних видів рослин до забруднення ґрунту нафтою (5 % нафти у ґрунті)

Тест-об'єкти	Висота пагона, мм	Коефіцієнт варіації, %	Рівень достовірності (p<)	Відносна висота пагона, %
<i>Brassica napus</i> L.	44,1 ± 2,5	54,0	0,001	20,70
<i>Panicum miliaceum</i> L.	40,9 ± 3,2	81,6	0,05	26,90
<i>Cucumis sativus</i> L.	56,5 ± 2,9	68,4	0,05	54,00
<i>Lepidium sativum</i> L.	23,4 ± 1,7	38,1	0,05	32,50
<i>Linum usitatissimum</i> L.	52,5 ± 1,1	14,9	0,001	70,83
<i>Helianthus annuus</i> L.	22,9 ± 1,0	40,1	0,001	50,65
<i>Anethum graveolens</i> L.	23,3 ± 2,5	61,9	0,01	139,80
<i>Trifolium pratense</i> L.	28,4 ± 2,0	24,5	0,001	67,36
<i>Avena sativa</i> L.	30,9 ± 2,0	24,6	0,001	56,76
<i>Fagopyrum vulgare</i> St.	14,3 ± 1,0	32,3	0,001	21,85

Нами вперше досліджено вплив нафти на початкові ростові параметри кропу городнього. Відносна схожість насіння, довжина кореня та висота пагона *A. graveolens* перевищують контроль (рис. 3.1., табл. 3.1, 3.2). Це свідчить про те, що кріп є нечутливим до нафтового забруднення. Дані неоднорідні, коефіцієнт варіації становив 38,5 % та 62,0 % для довжини кореня та висоти пагона відповідно. Тому використання кропу городнього для подальших досліджень є не доцільним.

Виявлено, що достатньо чутливим до дії нафти є *A. sativa*. При вмісті нафти у ґрунті 5 % відносна довжина кореня та відносна висота пагона сягали 37,8 % та 56,76 % відповідно, а коефіцієнт варіації не перевищував 25 % для двох показників (табл. 3.1, 3.2). Наші дослідження перекликаються з літературними даними [127], де в якості лабораторних фітотестів рекомендовано використовувати насіння вівса, оскільки він давав найбільш стабільні і відтворювані результати в порівнянні з насінням інших культур (пр. *Pisum*, *Cucumis*, *Triticum*, *Daucus* і ін.).

Проте, при подальшому вивченні впливу різних концентрацій нафти на початкові ростові параметри *A. sativa* виявлено, що при зростанні концентрації нафти у ґрунті від 0 % до 5 % тест показники поступово знижуються, а при вмісті нафти від 5 % до 10 % подальшого зменшення довжини кореня та висоти пагона не спостерігається (рис 3.2).

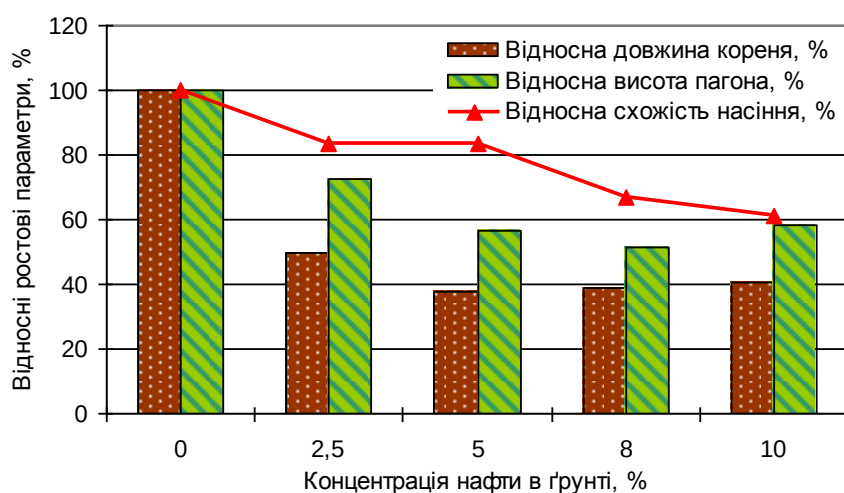


Рис. 3.2. Залежність ростових параметрів *A. sativa* від концентрації нафти у ґрунті (5доба).

Таким чином, при високих концентраціях нафти у ґрунті (більше 5 %) реакція тест-показників *A. sativa* є маловираженою. Отже, лінійна залежність початкових ростових параметрів вівса посівного від концентрації нафти у ґрунті спостерігається у вузькому діапазоні концентрацій (0-5 %), що не дозволило нам використовувати *A. sativa* для розробки методу оцінки токсичності нафтозабруднених ґрунтів.

Результати дослідження показали чутливість льону звичайного до нафтового забруднення ґрунту: відносна довжина кореня становила 60,67 %, відносна висота пагона – 70,83 %, дані всередині вибірки були однорідними – коефіцієнт варіації менший 30 %. (див. табл. 3.1, 3.2). Це дало нам підстави використовувати *L. usitatissimum* для подальших досліджень.

За літературними джерелами соняшник однорічний відзначається стійкістю та ремедіаційним потенціалом в умовах нафтового забруднення ґрунту [331]. Нашими дослідженнями виявлено чутливість початкових ростових параметрів *H. annuus* до дії нафти у ґрунті: значення відносної довжини кореня та висоти пагона становили 58,57 % і 50,65 % відповідно. Дані були однорідними – коефіцієнт варіації для довжини кореня сягав 30 %, для висоти пагона дещо перевищував бажані значення (див. табл. 3.1, 3.2).

Нами вперше досліджено вплив нафти на початкові ростові параметри *F. vulgare* і встановлено її чутливість до даного полютанта. Показано, що при забрудненні ґрунту нафтою у концентрації 5 % відносна довжина кореня сягає 66,17 %, відносна висота пагона 21,85 %. Коефіцієнт варіації для довжини кореня сягав 30 %, а для висоти пагона 32,3 % (див. табл. 3.1, 3.2). Таке зниження висоти пагона зацікавило нас в якості індикаторного показника на нафтове забруднення.

На основі проведеного аналізу встановлено, що чутливими фітотестами на нафтове забруднення є *L. usitatissimum*, *H. annuus* та *F. vulgare*. Тому, для розробки методики екологічної оцінки нафтозабруднених ґрунтів, в подальших дослідженнях ми використовували дані види.

3.2. Вплив нафти на початкові ростові параметри рослин льону, соняшника та гречки

Чимало літературних даних засвідчують чутливість морфометричних показників проростків до дії різних забруднювачів. Нафта впливає на всі етапи онтогенезу рослин, серед яких найбільш чутливими є ранні етапи. Тому вивчення закономірностей впливу нафти на початкові ростові параметри рослинних тест-об'єктів необхідне для подальшої розробки методів біотестування та біоіндикації нафтозабруднених ґрунтів.

Нами встановлено, що чутливими до дії нафти є: *Linum usitatissimum* L., *Helianthus annuus* L. та *Fagopyrum vulgare* St., які реагують на присутність низьких концентрацій нафти у ґрунті, навіть на рівні орієнтовно допустимої (ОДК=0,4 %). Зі зростанням концентрації нафти у ґрунті схожість насіння та досліджувані ростові параметри цих рослин суттєво знижуються (табл. 3.3, рис. 3.3, 3.4).

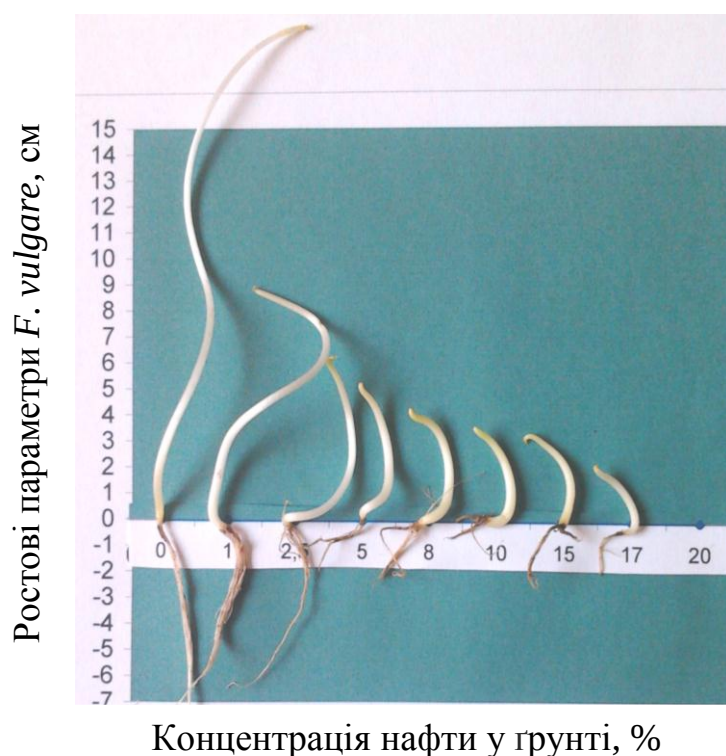


Рис. 3.3. Проростки *F. vulgare* за дії різних концентрацій нафти у ґрунті (5 доба).

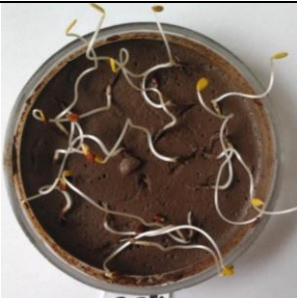
Вміст нафти у ґрунті, %	Льон звичайний	Соняшник однорічний	Гречка посівна
0			
2,5			
5			
10			
15			

Рис. 3.4. Проростки тест-рослин на нафтозабруднених ґрунтах, вміст нафти у ґрунті 0; 2,5; 5; 10; 15 % (5 доба).

Таблиця 3.3.

Залежність ростових параметрів досліджуваних рослин від вмісту нафти у ґрунті (достовірність $\geq 0,95$ ($P < 0,05$), коефіцієнт Стюдента – 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.

Встановлено неоднозначність впливу нафти на схожість насіння залежно від концентрації нафти та виду рослин. Виявлено, 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 %. При вищих концентраціях кількість пророслого насіння зменшувалася, що свідчить про значну фітотоксичність ґрунтів. Так, при вмісті нафти у ґрунті 17 % схожість гречки падає до 22 %

(соняшника – до 51 %, льону – до 78 %), а при концентраціях більше 20 % насіння гречки не проростає (рис. 3.5).

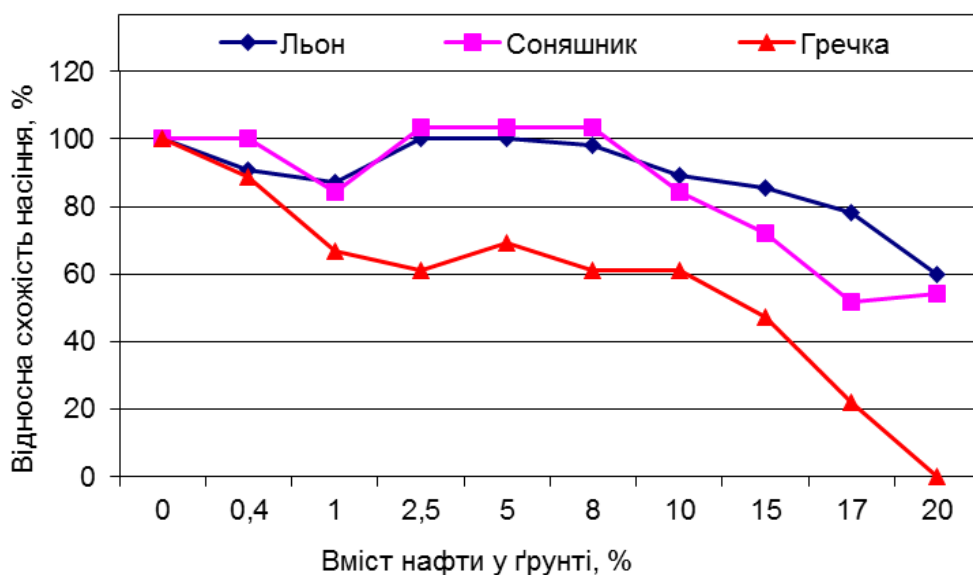


Рис. 3.5. Залежність відносної схожості насіння льону звичайного (*Linum usitatissimum* L.), соняшника однорічного (*Helianthus annuus* L.) та гречки посівної (*Fagopyrum vulgare* St.) від вмісту нафти у ґрунті (5 доба).

Результати дослідження свідчать також про більш виражену реакцію пагона гречки на вміст нафти у ґрунті. Так, при низькій концентрації нафти, на рівні ОДК (0,4 %), відносна висота пагона гречки знижується до 50,48 %, в той час як для льону – до 77,87 %, а для соняшника залишається на рівні контролю (рис. 3.6). При зростанні концентрації нафти в ґрунті від 0 % до 10 % відносна висота пагона гречки знижується від 100 % до 20,26 %, для соняшника – до 36,72 %, а для льону – до 55,94 %. Подальше збільшення концентрації нафти у ґрунті веде до поступового зниження росту пагона досліджуваних рослин, і при концентрації 17 % нафти у ґрунті їх відносні величини стають близькими: відносна висота пагона льону становить 14,16 %, соняшника – 20,10 %, гречки – 15,51 % (рис. 3.6).

Нами встановлено, що зростання забруднення ґрунту нафтою веде також до поступового зменшення довжини коренів *L. usitatissimum*, *H. annuus*,

F. vulgare, і відповідні залежності для досліджуваних рослин є близькими (рис. 3.7).

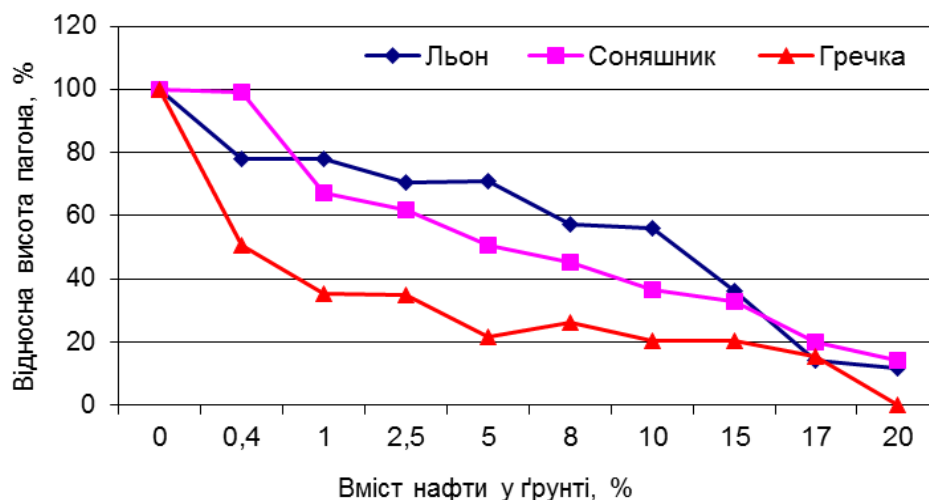


Рис. 3.6. Залежність відносної висоти пагонів льону звичайного (*Linum usitatissimum* L.), соняшника однорічного (*Helianthus annuus* L.) та гречки посівної (*Fagopyrum vulgare* St.) від вмісту нафти у ґрунті (5 доба).

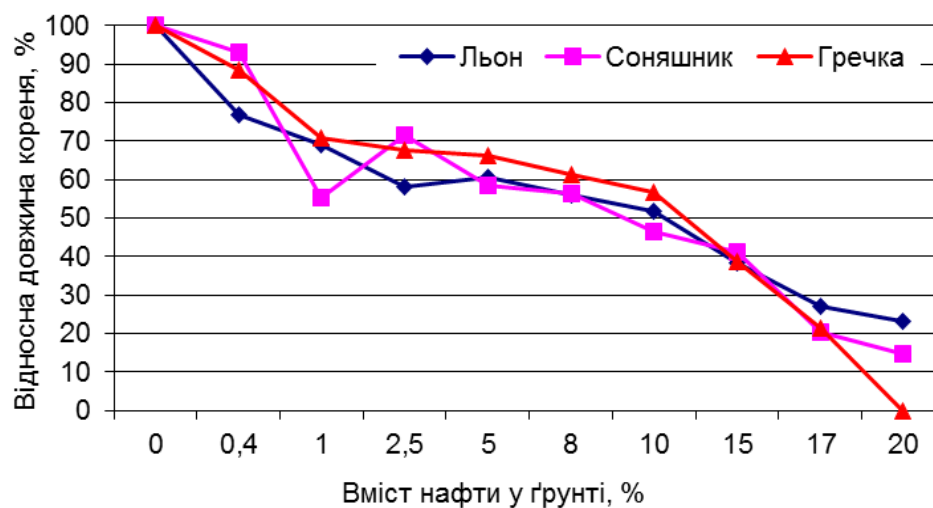


Рис. 3.7. Залежність відносної довжини коренів льону звичайного (*Linum usitatissimum* L.), соняшника однорічного (*Helianthus annuus* L.) та гречки посівної (*Fagopyrum vulgare* St.) від вмісту нафти у ґрунті (5 доба).

Таким же є характер залежностей відносної маси сирих та сухих рослин від концентрації нафти у ґрунті (рис. 3.8, 3.9). Зі збільшенням концентрації

нафти маса сирих та сухих рослин *L. usitatissimum*, *H. annuus*, *F. vulgare* зменшується. Для гречки ці залежності мають більш стрімкий характер, ніж для соняшника і льону, що перекликається з відповідними залежностями для відносної висоти пагона.

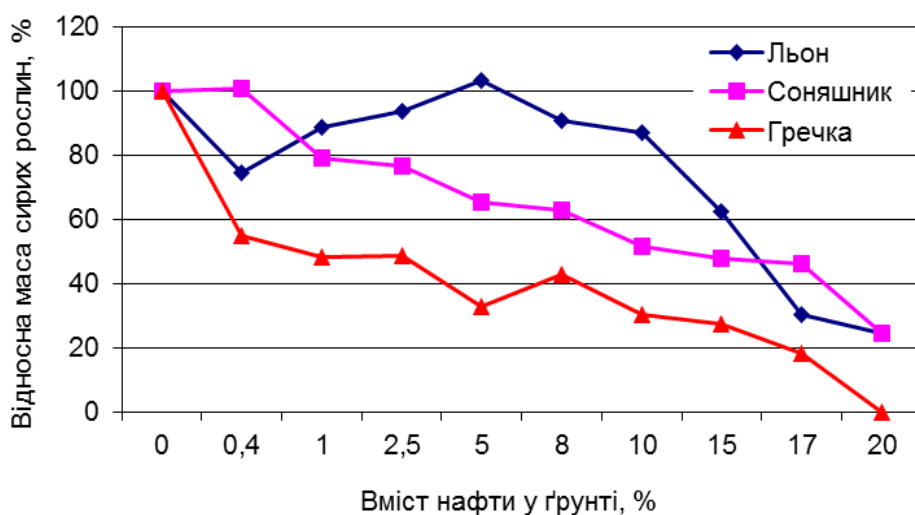


Рис. 3.8. Залежність відносної маси сирих рослин льону звичайного (*Linum usitatissimum* L.), соняшника однорічного (*Helianthus annuus* L.) та гречки посівної (*Fagopyrum vulgare* St.) від вмісту нафти у ґрунті (5 доба).

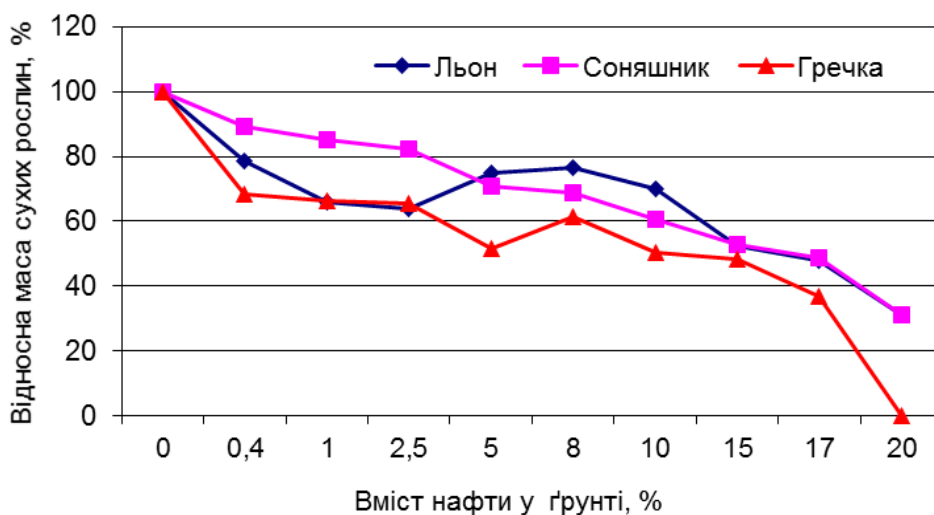


Рис. 3.9. Залежність відносної маси сухих рослин льону звичайного (*Linum usitatissimum* L.), соняшника однорічного (*Helianthus annuus* L.) та гречки посівної (*Fagopyrum vulgare* St.) від вмісту нафти у ґрунті (5 доба).

Отже, встановлені залежності між концентрацією нафти і початковими ростовими параметрами льону звичайного, соняшника однорічного, гречки посівної є близькими до лінійних і можуть бути використані для біотестування нафтозабруднених ґрунтів.

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

3.3. Гречка як біоіндикатор нафтозабруднених ґрунтів

Рослина-індикатор – це та, у якої ознаки ушкодження з'являються при впливі на неї фітотоксичної концентрації однієї забруднюючої речовини чи суміші таких речовин. Нами вперше виявлено високу чутливість пагона гречки до дії нафти, висота якого знижувалась вдвічі вже при орієнтовно допустимій концентрації нафти у ґрунті. Цей показник є добре видимим, зручним і миттєвим, що дало нам можливість використання *F. vulgare* для біоіндикації на присутність нафти у ґрунті. Для підтвердження біоіндикаторних властивостей ми вивчали вплив нафти на зміну морфометричних показників гречки посівної в польових умовах до стадії цвітіння, протягом 45 діб.

Встановлено, що вже на перших стадіях росту рослин гречки є видимі ознаки зменшення висоти пагона. Як видно з рис. 3.10, розвиток рослин *F.vulgare* після посадки у свіжозабруднений ґрунт в природних умовах є можливий лише до 5 % нафти у ґрунті. При чому при вмісті нафти у ґрунті 5 %, рослини проростають, але не розвиваються і з часом гинуть.

При подальшому розвитку рослин закономірність достовірного зниження ростових параметрів гречки при зростанні вмісту нафти у ґрунті 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 (рис. 3.11, 3.13). Така ж залежність характерна для довжини кореня, сирі та сухої маси рослин (рис. 3.11, 3.12).



Контроль 0,4 % 2,5 % 5 %

Рис. 3.10. Проростки рослин гречки посівної при різному вмісті нафти у ґрунті (13 доба) (липень, 2015 р.).

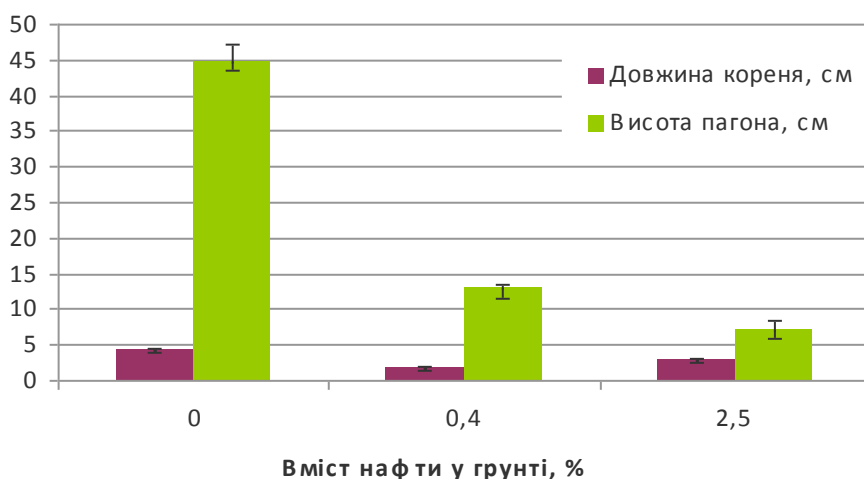
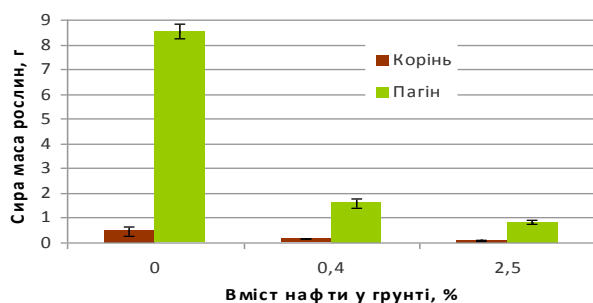
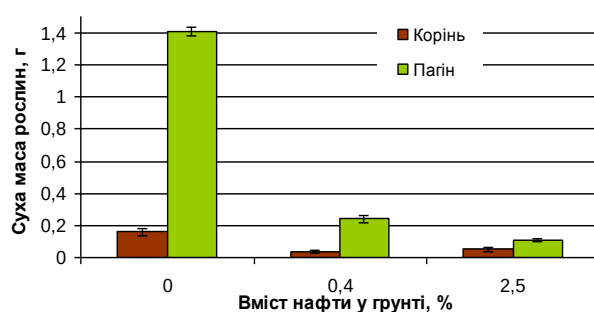


Рис. 3.11. Залежність висоти пагонів та довжини коренів *F. vulgaris* від концентрації нафти у ґрунті (45 доба, серпень, 2015 р.).



А



Б

Рис. 3.12. Залежність маси сирих (А) та сухих (Б) рослин *F. vulgaris* від вмісту нафти у ґрунті (45 доба, серпень, 2015 р.).



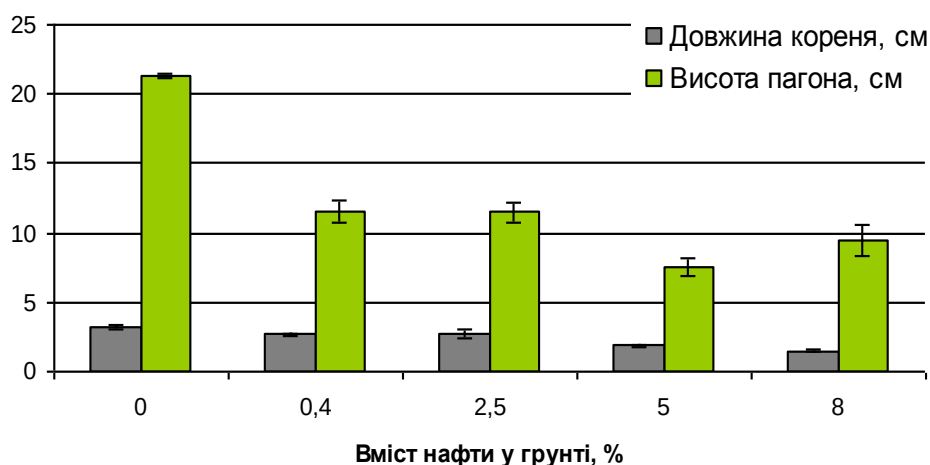
Контроль

0,4%

2,5%

Рис. 3.13. Проростки гречки посівної на 45 добу (серпень, 2015 р.).

При дослідженні впливу нафти на зміну морфометричних показників гречки посівної в польових умовах через рік після забруднення спостерігалось її проростання у всіх досліджуваних варіантах початкового нафтового забруднення (0,4-8 %). Проте, ростові параметри *F. vulgare* були значно нижчими за контроль, що вказувало на присутність нафти у ґрунті. Так, через рік після забруднення ґрунту нафтою 0,4 % відносна висота пагона гречки була нижчою вдвічі, а при забрудненні нафтою 5 % – втричі (рис. 3.14). Дані дослідження підтверджують, що гречка є чутливим біоіндикатором нафтозбруднених ґрунтів.

Рис. 3.14. Залежність висоти пагонів та довжини коренів *F. vulgare* від вмісту нафти у ґрунті через рік після забруднення (45 доба, серпень, 2016).

Індикаторну можливість висоти пагона гречки ми використали при дослідженні природних нафтозабруднених ґрунтів м. Борислава. Аналітичним методом встановлено, що досліджувані ґрунти є забруднені нафтою (див. підрозділ 4.1). Це підтвердилось і нашим біоіндикатором *F. vulgare*. Майже у всіх досліджуваних пробах ґрунтів виявлено зниження висоти пагона щодо контролю (рис. 3.15) Це вказує на те, що рослини *F. vulgare* придатні для біоіндикації давнього нафтового забруднення.

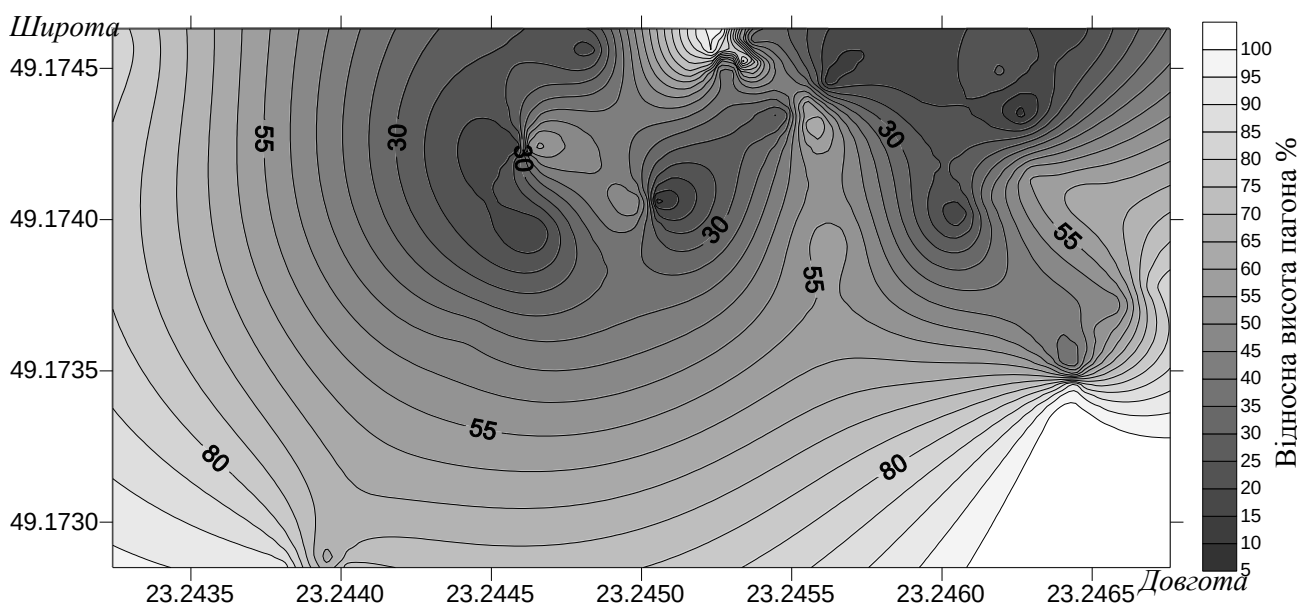


Рис. 3.15. Карта токсичності ґрунтів озокеритової шахти м. Борислава, вираженої відносною висотою пагона гречки посівної (липень, 2014 р.).

Отже, гречка посівна є чутливим тест-об'єктом на нафтове забруднення. Тому пропонуємо використовувати її як для біотестування, так і для біоіндикації нафтозабруднених ґрунтів при проведенні екологічного моніторингу.

3.4. Оцінка токсичності нафтозабруднених ґрунтів

Для об'єктивної екологічної оцінки стану нафтозабруднених ґрунтів необхідна розробка достовірних методів оцінювання їх токсичності, які б найповніше відображали екологічну ситуацію на досліджуваній території.

Найінформативнішим при нафтовому забрудненні є моніторинг з використанням методів біоіндикації та біотестування, що дають інтегральну оцінку якості середовища проживання будь-якої біологічної популяції, включаючи людину.

Найбільш придатними для біотестування нафтозабруднених ґрунтів показали себе: льон звичайний, соняшник однорічний та гречка посівна, які чутливі до нафтового забруднення на ранніх стадіях проростання у широкому діапазоні концентрації поллютанта 0-20 %. Було визначено, що використання для оцінки токсичності даних початкових ростових параметрів цих рослин, отриманих на 5 добу росту в темноті, в умовах термостатування + 24 °C є оптимальним. У всіх досліджуваних пробах відмічено достовірне зменшення довжини кореня та висоти пагона в порівнянні з контрольними значеннями (див. підрозділ 3.2).

Зазвичай чим вища доза, тим сильніша реакція. Проте, інколи, поряд із фізіологічним впливом не спостерігається статистичного впливу фактора. Статистичний вплив має місце, коли різні градації чинника неоднаково впливають на ознаку. Для розуміння, як кількісно одна ознака міняється в міру зміни іншої, проводять регресійний аналіз. Останній дозволяє оцінити вид залежності між ознаками та отримати кількісну оцінку ступеня біологічного пошкодження при певній концентрації.

При проведенні регресійного аналізу встановлено, що залежність між тест-параметрами досліджуваних рослин та концентрацією нафти у ґрунті відповідає лінійній, а тому отримані залежності між схожістю, відносною довжиною коренів та висотою пагонів *L. usitatissimum*, *H. annuus*, *F. vulgare* та концентрацією нафти в ґрунті придатні в якості калібрувальних для екологічної оцінки нафтозабруднених ґрунтів.

Вважаємо, що вимірювання схожості насіння, довжини кореня та висоти пагона є основними і оптимальними тест-параметрами, що відображають ступінь нафтового навантаження на ґрунт.

Аналіз достовірно значущої різниці ($P < 0,05$) для ростових параметрів експеримента 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. 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 (табл. 3.4).

Таблиця 3.4

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 ми провели обрахунок ефективної токсичності ($T^{ef.}$), що характеризує ефект сумарного впливу токсиканта на ростові параметри тест-об'єкта (див. розділ. 2) [176]. Здійснений регресійний аналіз отриманих даних вказав на чіткий лінійний зв'язок між вмістом нафти у ґрунті та ефективною токсичністю для кожного з тест-об'єктів. При цьому ефективна токсичність по гречці виявилась вдвічі більшою, ніж по соняшнику та льону (рис. 3.16). Тому зведену оцінку токсичності пропонуємо проводити за величиною фітотоксичності ($T_{fit.}$):

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

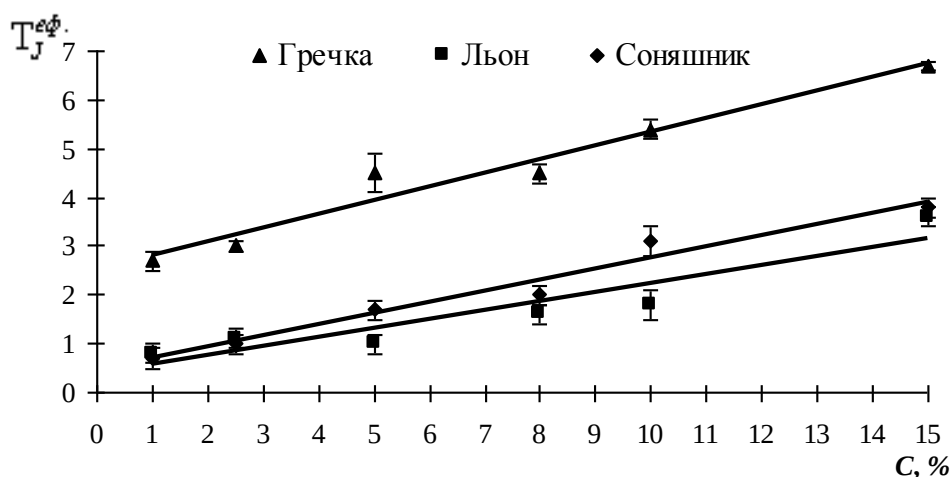


Рис. 3.16. Залежність ефективної токсичності $T_J^{эф.}$ від концентрації нафти у ґрунті (C) для гречки посівної, льону звичайного, соняшника однорічного.

Фітотоксичність ($T^{фим.}$) може визначатись за будь-яким із запропонованих тест-об'єктів, а використання усіх трьох – підвищує точність досліджень.

Встановлена лінійна залежність між вмістом нафти у ґрунті та фітотоксичністю (рис.3.16), може використовуватись, як калібрувальна, для визначення вмісту нафти у свіжозабруднених ґрунтах.

На основі з'ясованого зв'язку між фітотоксичністю і вмістом нафти у ґрунті, нагромадженого досвіду по оцінці токсичності при різних рівнях забруднення вперше пропонуємо шкалу токсичності нафтозабруднених ґрунтів (табл. 3.5).

Таблиця 3.5

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

Запропонована шкала 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*. Встановлено, що для ґрунтів, забруднених нафтою менше 0,4 % (згідно діючих нормативів це орієнтовно-допустима концентрація нафти у ґрунті) рівень забруднення характеризується як допустимий, а значення фітотоксичності є меншим за 0,6. Дані ґрунти, протягом одного року відновлюють свою продуктивність, а негативні наслідки для ґрунтового біоценозу самостійно ліквідуються [61]. При значенні фітотоксичності – 0,6-1,5, вмісті нафти у ґрунті 0,4-2,5 %, рівень забруднення – загрозовий. Це середнього ступеня забруднені ґрунти, для очищення яких потрібно задіювати процеси природної біодеградації (розпушування, внесення азотних добрив і ін..) протягом 3-5 річного періоду рекультивації [122].

При фітотоксичності 1,5-3,0, вміст нафти у ґрунті є в межах 2,5-10 %, рівень забруднення передкризовий. Це сильно забруднені нафтою ґрунти, для відновлення яких необхідні ефективні методи біо- та фіторекультивації.

Для ґрунтів, забруднених нафтою 10-15 %, фітотоксичність – 3,0-4,0, рівень – кризовий. Це дуже сильно забруднені ґрунти, для відновлення яких потрібна спеціальна рекультивація або ж очищення на стаціонарних установках.

При фітотоксичності більше 4, вміст нафти у ґрунті більше 15 %, а рівень забруднення – катастрофічний. При такому забрудненні відбувається повна деградація ґрунтів, які надовго стають джерелом забруднення повітря, поверхневих та підземних вод. Для відновлення таких ґрунтів та запобігання екологічній катастрофі необхідна негайна ліквідація нафтового забруднення комбінованими технологіями ремедіації.

Таким чином, оцінка фітотоксичності нафтозбруднених ґрунтів здійснена при використанні початкових ростових параметрів тест-об'єктів *L. usitatissimum*, *H. annuus*, *F. vulgare* та обрахована за величиною ефективної токсичності, забезпечує отримання конкретного цифрового значення величини токсичності і

найповніше відображає стан ґрунту – визначається фітотоксичність, рівень забруднення та вміст нафти у ґрунті. Це робить запропоновану методику привабливою для використання у моніторингу нафтозабруднених територій.

Висновки до розділу

1. Встановлено, що льон звичайний (*Linum usitatissimum* L.), соняшник однорічний (*Helianthus annuus* L.) та гречка посівна (*Fagopyrum vulgare* St.) є чутливим до вмісту нафти у ґрунті на ранніх стадіях проростання в широкому діапазоні концентрації політанта 0-20 %.

2. Визначено, що для оцінки токсичності вимірювання початкових ростових параметрів цих рослин, отриманих на 5 добу росту в темноті, в умовах термостатування + 24 °C є оптимальним.

3. Показано, що збільшення концентрації нафти у ґрунті веде до поступового зниження росту пагона, кореня, маси сирих та сухих рослин. Залежності між концентрацією нафти у ґрунті і початковими ростовими параметрами *L. usitatissimum*, *H. annuus*, *F. vulgare* є близькими до лінійних, а тому можуть застосовуватися при біотестуванні нафтозабруднених ґрунтів.

4. Вперше виявлено високу чутливість гречки посівної до нафтового забруднення. Відносна висота пагона *F. vulgare* в лабораторних умовах на 5 добу знижувалася вдвічі, в природних умовах на 45 добу висота пагона була нижчою у 3,5 рази в порівнянні з контролем. Цей показник є добре видимим, зручним, миттєвим та відтворюваним. Тому пропонуємо гречку посівну використовувати не лише для біотестування нафтозабруднених ґрунтів, а й в якості біоіндикатора на нафтове забруднення.

5. Встановлено інтервали нафтового забруднення для яких оптимальне використання для біотестування того чи іншого тест-об'єкта. При низьких концентраціях нафти у ґрунті < 1 % доцільно застосовувати *F. vulgare*, а при вищих концентраціях 2,5-10,0 %; 15,0-17,0 % – будь-яку із трьох запропонованих рослин.

6. Для отримання цифрової оцінки токсичності проведено обрахунок ефективної токсичності. Встановлено чіткий лінійний зв'язок між вмістом нафти у ґрунті та ефективною токсичністю для кожного з тест-об'єктів: *L. usitatissimum*, *H. annuus* та *F. vulgare*. Запропоновано шкалу токсичності нафтозабруднених ґрунтів, що відображає зв'язок між фітотоксичністю, вмістом нафти у ґрунті та рівнем забруднення.

Отримані результати, представлені у 3 розділі дисертаційної роботи, в достатній мірі відображені у публікаціях [38, 149, 175, 176, 230, 236] і увійшли в звіт по держбюджетній темі Відділення фізико-хімії горючих копалин ІнФОХВ імені Л. М. Литвиненка НАН України [168].

РОЗДІЛ 4

ЕКОЛОГІЧНИЙ МОНІТОРИНГ НАФТОЗАБРУДНЕНИХ ҐРУНТІВ

4.1. Дослідження нафтозабруднених ґрунтів на прикладі відвальних ґрунтів озокеритової шахти м. Борислава

Інтенсивне видобування нафти і газу в останні роки привело до значного техногенного впливу на довкілля. Наслідки використання нафти, газу та продуктів їх переробки у теплоенергетиці, транспорті, промисловості і т. д. носять не тільки позитивний характер, але й мають негативний вплив, внаслідок накопичення різних за природою токсичних відходів, зокрема висококиплячих вуглеводнів, важких металів, фенолів та ін. Прикладом критичного забруднення довкілля є Бориславське нафтове родовище, одне з найстаріших в Європі, експлуатація якого почалась ще в середині XIX століття. Борислав виріс на місці цього родовища і територіально співпадає з ним. Внаслідок цього на сьогоднішній день має всі ознаки нафтохімічного забруднення, обумовленого як природними, так і техногенними причинами [18].

У зв'язку із цим потрібний постійний моніторинг даної території та вибір оптимальних методів ремедіації. З цією метою нами здійснене впровадження екологічного моніторингу на нафтозабруднених ділянках озокеритовидобутку, ґрунти яких потерпають від нафтохімічного забруднення. В ході моніторингових досліджень відібрано 50 проб ґрунту, які, на першому етапі, аналізували фізико-хімічними методами.

Для отримання повної картини нафтового забруднення досліджуваної території Бориславського нафтового та озокеритового родовища нами побудована карта забрудненості ґрунтів (рис. 4.1).

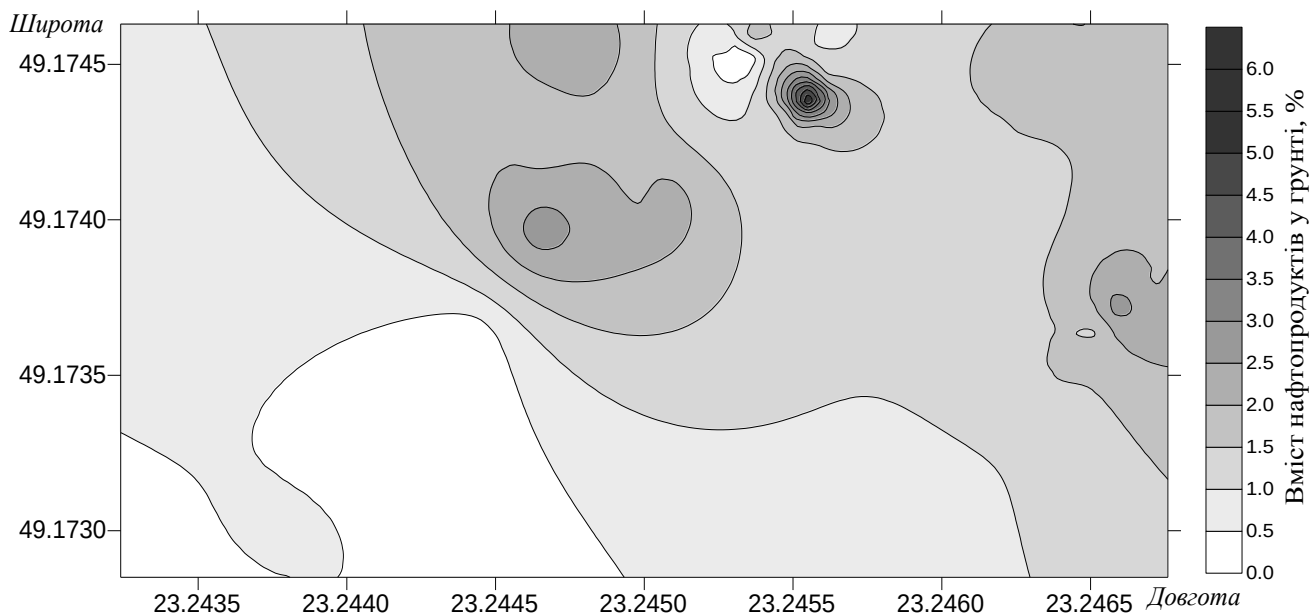


Рис. 4.1. Карта забруднення ґрунтів озокеритової шахти м. Борислав нафтопродуктами (липень, 2014 р.).

Встановлено, що ґрунти на території озокеритовидобутку забруднені нафтопродуктами в межах 0-6 % (рис. 4.1). Це слабо- та середньозабруднені нафтою ґрунти, які здебільшого голі, подекуди з нафтою чи озокеритом, що час від часу просочуються на поверхню (рис. 4.2).



Рис. 4.2. Просочування нафти та озокериту на поверхню відвальних ґрунтів озокеритової шахти м. Борислава (липень, 2014 р.).

Зміни в ґрунтово-вбирному комплексі в результаті забруднення ґрунту нафтою (особливо сирію, з високим вмістом мінеральних солей) призводять до зміщення лужно-кислотних умов – спостерігається підлужнення початково кислих і слабо-кислих ґрунтів [2, 107, 190]. Показано, що нафтозабруднені ґрунти з великим умістом високомінеральних попутних вод містять високі концентрації солей натрію. Натрій, включаючись у ґрунтовий поглинальний комплекс, витісняє катіони, які визначають ґрунтову кислотність, викликаючи тим самим підлужнення ґрунтів (рН водної витяжки ґрунту може підніматися від 5,0 до 8,3)

Нами встановлено, що рН водної та сольової витяжок нафтозабруднених ґрунтів озокеритової шахти м. Борислав коливається в межах 7,3-7,9 та 7,2-7,7 відповідно, тобто ґрунти є слаболужні (рис. 4.3, 4.4).

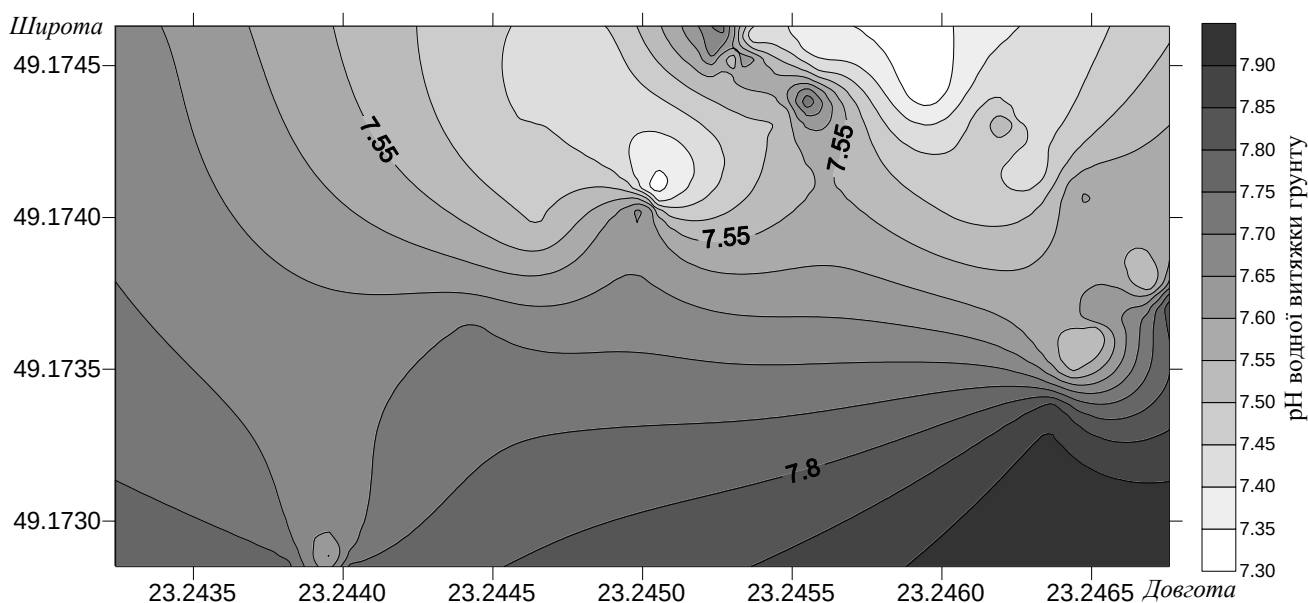


Рис. 4.3. рН водної витяжки нафтозабруднених ґрунтів озокеритової шахти м. Борислава (липень, 2014 р.).

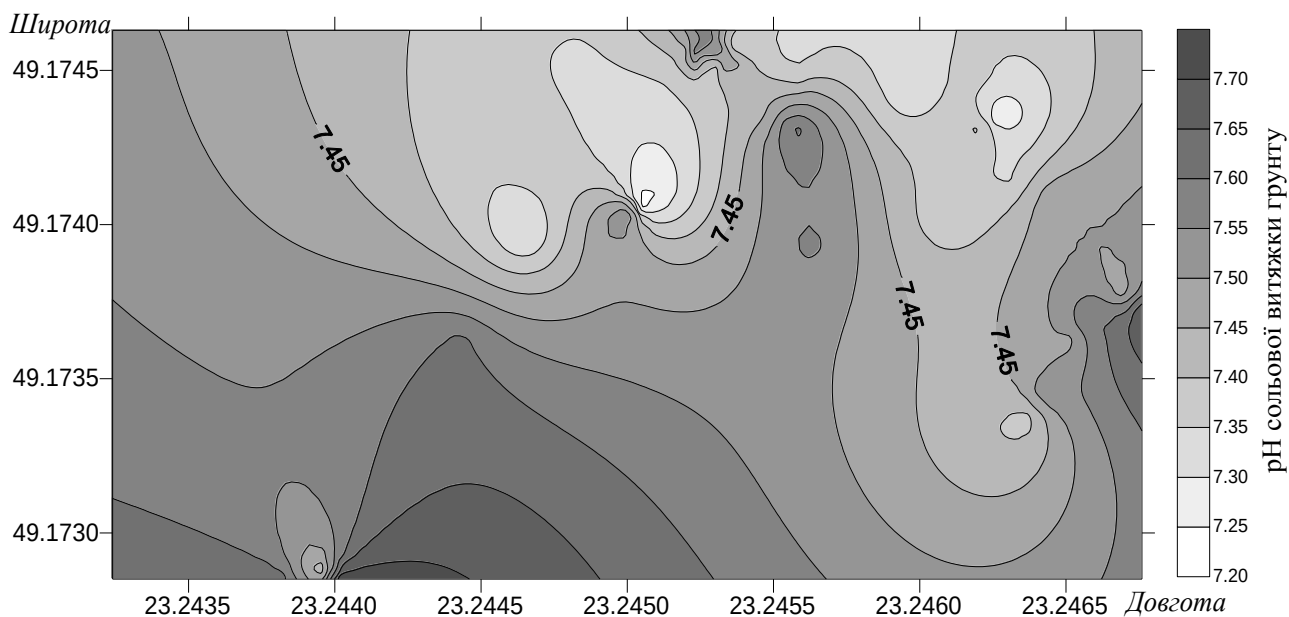


Рис. 4.4. рН сольової витяжки нафтозабруднених ґрунтів озокеритової шахти м. Борислава (липень, 2014 р.).

Вимірювали температуру на поверхні ґрунту (3см). Температура досліджуваних ґрунтів коливається в межах 30-36 °С, при температурі повітря 28 °С (рис. 4.5).

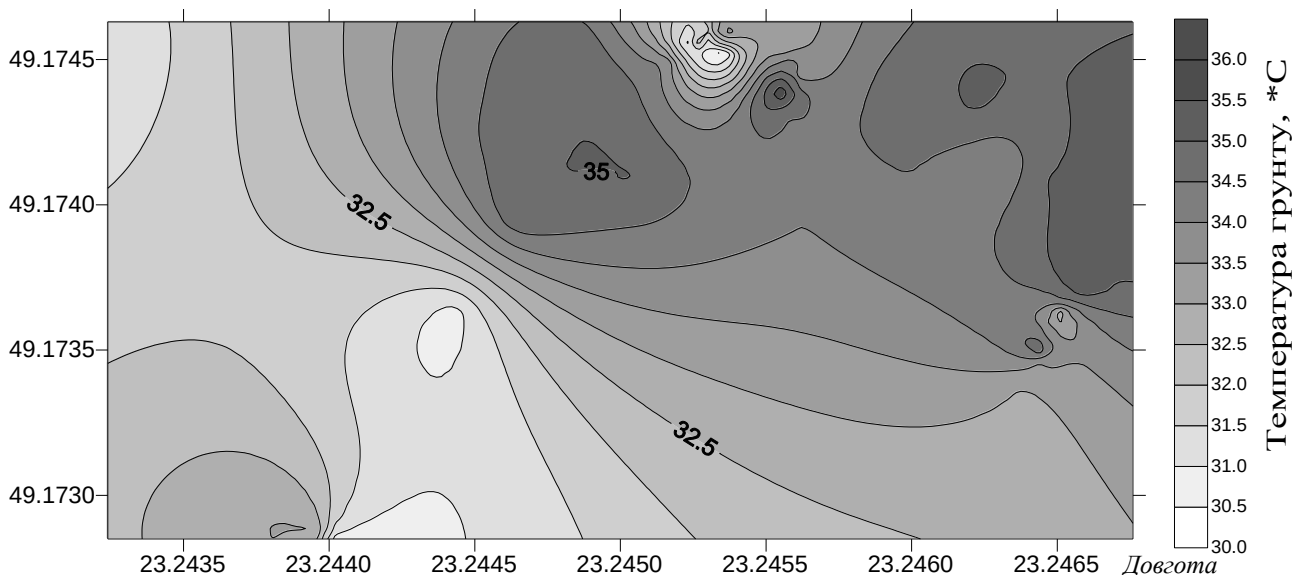


Рис.4.5. Температурна карта нафтозабруднених ґрунтів озокеритової шахти м. Борислава (температура повітря 28 °С на висоті 80см, 15⁰⁰ година, липень 2014 р.).

Отже, відвальні ґрунти на території озокеритової шахти м. Борислава нафтозабруднені і є джерелом забруднення повітря, поверхневих та підземних вод. Самоочищення відбувається відносно повільно, у ґрунтах залишаються важкі фракції нафти, які слабо піддаються подальшим фізико-хімічним перетворенням під впливом природних чинників. Також можливе часте просочення на поверхню ґрунту чергових порцій нафти чи озокериту. Аналітична оцінка таких забруднень проблематична і малоінформативна, необхідним є застосування методів біотестування.

4.2. Фітотоксичність ґрунтів озокеритової шахти м. Борислава

Як вже зазначалось, екологічний моніторинг нафтозабруднених територій потребує розроблення та впровадження ефективних методів екологічної оцінки забрудненого ґрунту. Розроблений нами такий метод (див. Розділ 3) був апробований на нафтозабруднених відвалах озокеритової шахти м. Борислава. На основі отриманих даних побудовано екологічні карти фітотоксичності ґрунтів, які відображають сучасну екологічну ситуацію досліджуваної території (рис. 4.6-4.8).

На картах 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 отриманих результатів. На основі співставлення останніх зі шкалою токсичності нафтозабруднених ґрунтів (див. розділ 3, табл. 3.7), 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 відповідно (рис. 4.6-4.8) та вмісту нафтопродуктів 0,4-2,5% та 2,5-10% відповідно.

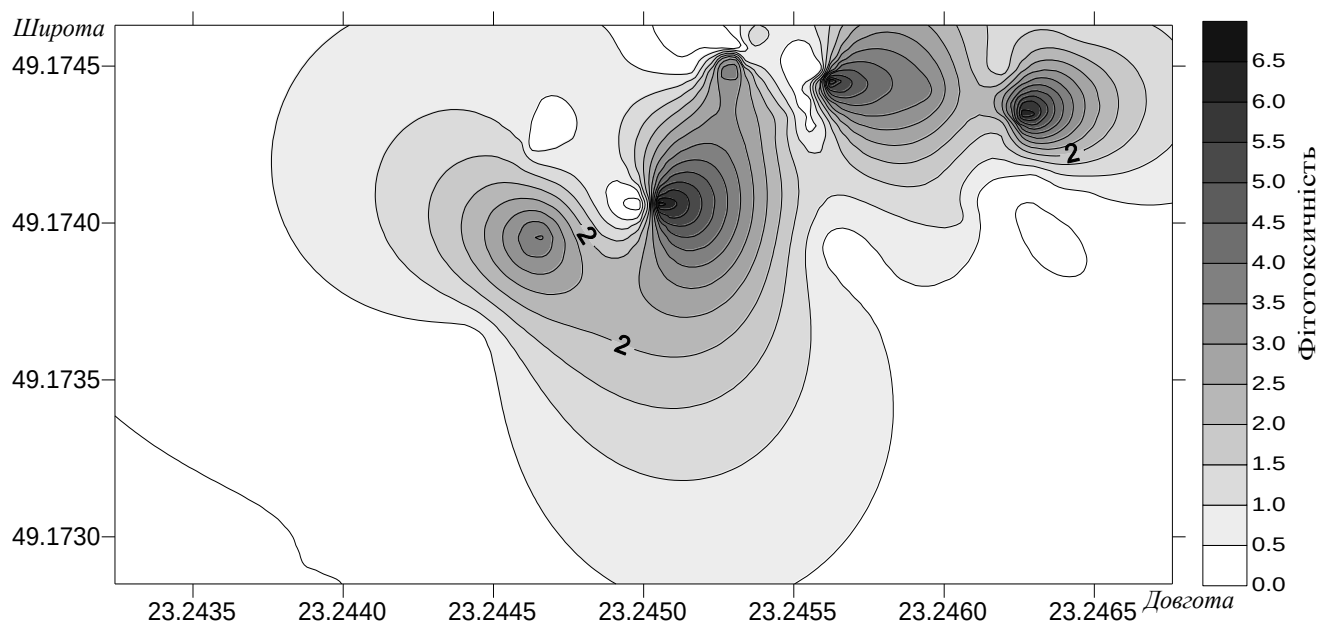


Рис.4.6. Екологічна карта фітотоксичності нафтозабруднених ґрунтів озокеритової шахти м. Борислава. Тест-об'єкт *L. usitatissimum* (липень, 2014 р.).

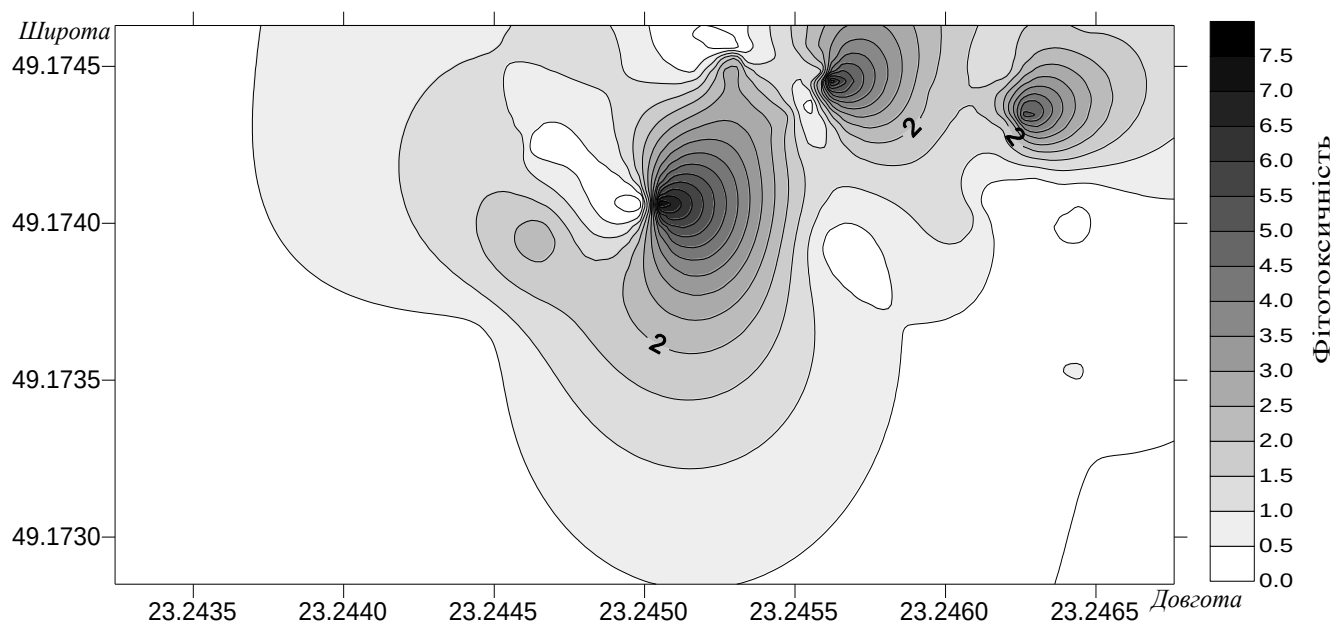


Рис. 4.7. Екологічна карта фітотоксичності нафтозабруднених ґрунтів озокеритової шахти м. Борислава. Тест-об'єкт *H. annuus* (липень, 2014 р.).

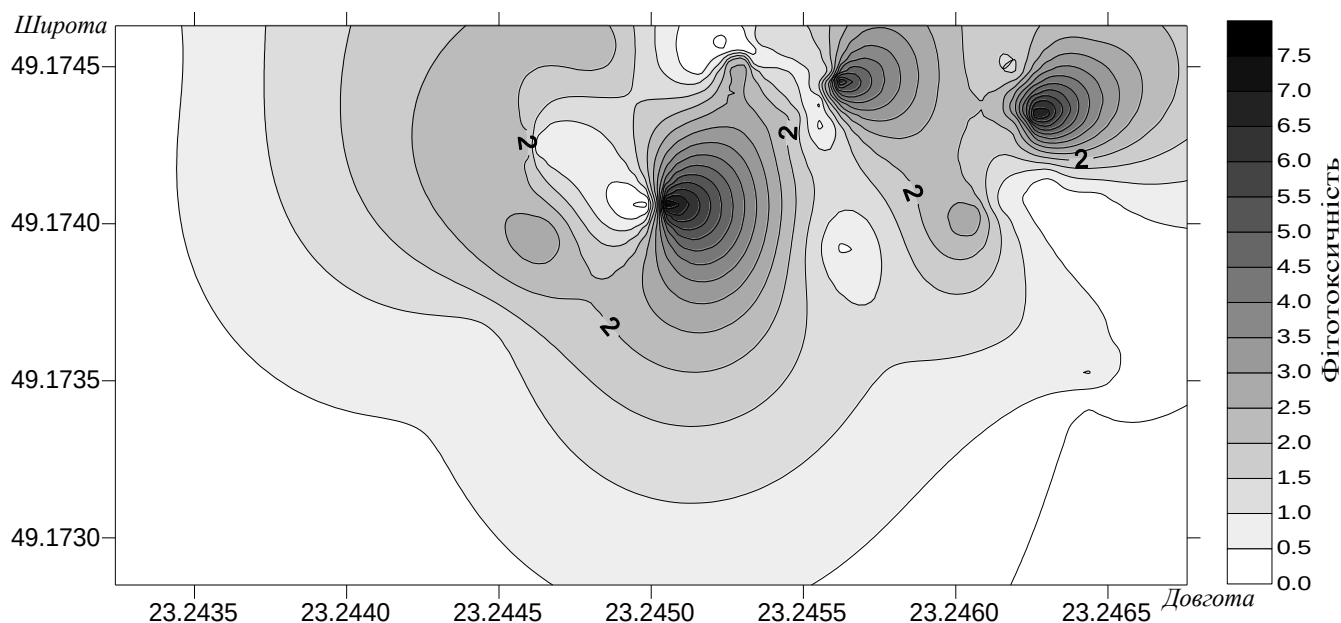


Рис. 4.8. Екологічна карта фітотоксичності нафтозабруднених ґрунтів озокеритової шахти м. Борислава. Тест-об'єкт *F. vulgare* (липень, 2014 р.).

Встановлено, що результати біотестування з використанням чутливих рослинних тест-об'єктів: льону, соняшника та гречки корелюють з аналітичними даними кількісного вмісту нафти у ґрунті (див. рис. 4.1, 4.6-4.8): ізолінії слабого та середнього ступенів збруднення ґрунту нафтою, оцінені аналітично та з допомогою біотестування, знаходяться в одних і тих же межах системи координат. Проте, з допомогою розробленого методу оцінки токсичності нафтозабруднених ґрунтів, виявлено ділянки, що вказують на сильне забруднення та катастрофічний рівень і які не були помічені аналітичним методом. Це можна пояснити тим, що досліджувані ґрунти є давно забруднені, засолені пластовими водами і, крім нафтопродуктів, містять інші токсиканти, зокрема, важкі метали, феноли, і ін [169]. Для дослідження таких територій потрібне ширше коло використовуваних аналітичних методів визначення забруднень. А це, як відомо, додаткові та значні затрати часу і коштів. Таким чином, на першому етапі, пропонуємо проводити екологічний моніторинг з використанням методики біотестування та шкали токсичності, що дозволяє оконтурити ділянки з загрозливим, передкризовим, кризовим чи катастрофічним рівнем забруднення, на яких в подальшому можуть

проводитись більш прецизійні фізико-хімічні дослідження. Такий підхід забезпечує екологічну оцінку досліджуваної території, зменшує собівартість моніторингових досліджень та дозволяє підібрати та застосувати ефективні ремедіаційні заходи.

Отже, при проведенні екологічного моніторингу нафтозабруднених територій доцільно використовувати метод біотестування з допомогою рослин льону, соняшника та гречки та шкалу токсичності, які є достовірними, оптимальними і придатними в реальних умовах.

Висновки до розділу

Матеріали, що представлені у розділі 4 присвячені апробації розробленого способу біотестування та біоіндикації і шкали токсичності. Апробація здійснена при проведенні екологічного моніторингу нафтозабруднених територій озокеритової шахти м. Борислава.

1. На основі аналізу досліджуваних ґрунтів фізико-хімічними методами, встановлено, що досліджувані ґрунти є нафтозабрудненими, підлуженими та інтенсивно прогріваються.

2. Аналіз ґрунтів методом біотестування та біоіндикації і з застосуванням шкали токсичності показав, що ґрунти озокеритової шахти м. Борислава є токсичними, що відповідає загрозливому та передкризовому рівням забруднення.

3. Побудованими екологічними картами токсичності ґрунтів, при використанні тест-об'єктів: *L. usitatissimum*, *H. annuus*, *F. vulgare* показано ділянки з однаковим рівнем забруднення. Співставлення контурів ізоліній фітотоксичності на всіх трьох картах показує однаковий характер розподілу нафтового забруднення, що підтверджує достовірність отриманих результатів.

4. Використання запропонованої методики забезпечує оптимальну екологічну оцінку нафтозабруднених ґрунтів – кількісне визначення токсичності, вмісту поллютанта у ґрунті, рівня забруднення та дозволяє виділити

небезпечні ділянки, що зменшує матеріальні та часові затрати на подальші дослідження.

Отримані результати, представлені у 4 розділі дисертаційної роботи, в достатній мірі відображені у публікаціях [56, 173-175, 235] і увійшли в звіт по держбюджетній темі Відділення фізико-хімії горючих копалин ІнФОВ імені Л. М. Литвиненка НАН України [168].

РОЗДІЛ 5

ФІТОРЕМЕДІАЦІЯ НАФТОЗАБРУДНЕНИХ ҐРУНТІВ

Проблема забруднення нафтопродуктами ґрунтів зумовлює необхідність розробки методів їх відновлення. Природне самоочищення ґрунтових екосистем – довготривалий і складний процес, обумовлений токсичністю нафти, її гідрофобністю, полікомпонентністю складу, низькою біодоступністю.

Тому проблема нафтового забруднення є складною у вирішенні і потребує комплексного підходу, зокрема дослідження змін, що відбуваються з ґрунтом при потраплянні в нього різних кількостей нафти, динаміки вертикального та латерального поширення забруднювача, вкладу абіотичних факторів у процес самовідновлення, зміни токсичності при різних ступенях забруднення та використання стійких рослин.

5.1. Оцінка характеру нафтового забруднення для розробки оптимальної схеми ремедіації

5.1.1. Дослідження динаміки випаровування нафти з нафтозабрудненого ґрунту та зміни його фітотоксичності

Випаровування – один із фізичних процесів, що визначають поведінку нафти у ґрунті в початковий період після її розливу. У перші тижні після забруднення ґрунту відбуваються переважно фізичні процеси міграції й розсіювання вуглеводнів нафти в результаті випаровування й вилуговування [64, 190]. Швидкість вивітрювання залежить від властивостей середовища, погодних умов та складу нафти. При випаровуванні нафти зростає в'язкість залишкової частини, і сповільнюється міграція, збільшується кількість вуглеводнів з довжиною ланцюга більше ніж C_{10} , ароматичних і циклічних вуглеводнів, оскільки випаровуються переважно низькомолекулярні вуглеводні. У результаті видалення найтоксичніших легких вуглеводнів зменшується токсичний вплив залишкової суміші на мікроорганізми-

деструктори, що полегшує мікробіологічну деградацію, але підвищується частка компонентів, менш летких і розчинних, тобто стійкіших до розкладання [226]. Важкі фракції нафти можуть виводитись з ґрунту десятками років.

Нами показано, що значний вплив на процеси випаровування нафти з ґрунту має не лише температура, а й тип ґрунту та рівень забруднення.

У дослідженні були задіяні два типи ґрунту різного ступеню забруднення (5, 10, 15 % нафти у ґрунті). Встановлено, що із дерново-підзолистого нафтозабрудненого ґрунту нафта випаровується більш активно, ніж з нафтозабрудненого чорноземного (рис. 5.1). Це помітно вже з перших діб впливу абіотичних чинників на нафтозабруднені ґрунти. Так, при забрудненні ґрунту нафтою в кількості 10 % на 8 добу кількість залишкової нафти у нафтозабрудненому чорноземному становила 8,90 %, а у дерново-підзолистому ґрунті лише – 6,97 %. Причому швидкість випаровування нафти з більш забруднених ґрунтів є вищою, ніж з менш забруднених (рис. 5.1).

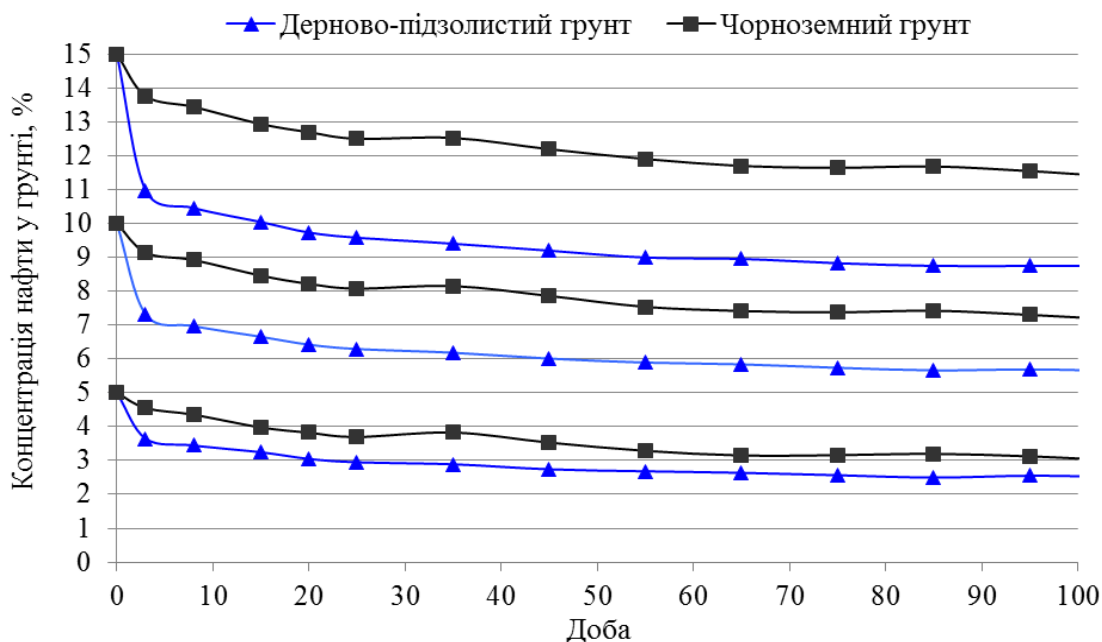


Рис.5.1. Часова динаміка зміни кількості нафти у дерново-підзолистому та чорноземному ґрунтах в процесі випаровування, при початковій концентрації нафти у ґрунті 5, 10, 15 %

Проведеними дослідженнями встановлено, що починаючи з 45 доби інтенсивне випаровування нафти припиняється (рис. 5.1), і це може вказувати на те, що леткі сполуки вже вивітрилися, а у ґрунті залишилися важка фракція, смоли, асфальтени тощо. Тому, наступний етап деградації нафти належить біотичним чинникам (мікроорганізмам, рослинам), які здатні розкласти більш важкі компоненти нафти.

В процесі природного випаровування нафти з ґрунту не тільки знижується її вміст, але й зменшується фітотоксичність нафтозабрудненого ґрунту. Тест-показники льону звичайного, соняшника однорічного та гречки посівної на нафтозабруднених ґрунтах, які піддавалися вивітрюванню, є вищими за тест-показники на свіжозабруднених нафтою ґрунтах при тій же концентрації (варіанти 4 та 2, рис. 5.2-5.4). Така закономірність спостерігається для двох типів досліджуваних ґрунтів (рис. 5.2 - 5.4).

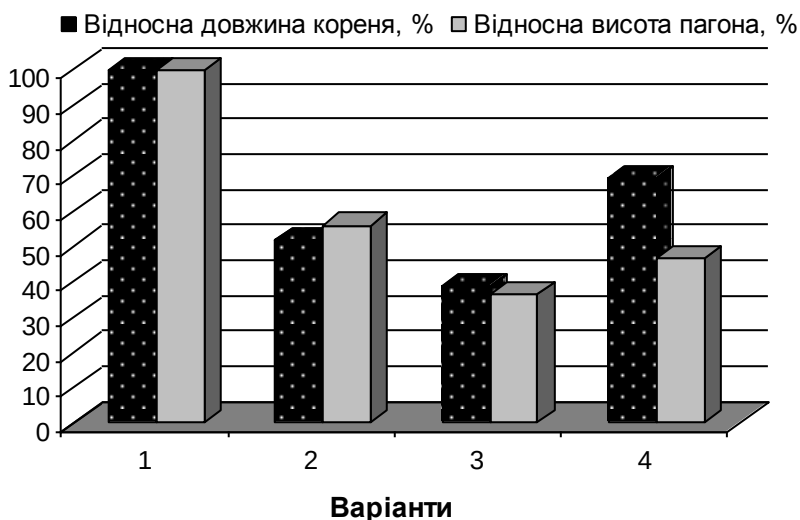


Рис. 5.2. Фітотоксичність дерново-підзолистих нафтозабруднених ґрунтів до і після випаровування нафти, визначена за допомогою тест-об'єкта *L. usitatissimum*.

- 1 - контроль, 2 - свіжозабруднений нафтою ґрунт – 10 % нафти у ґрунті,
- 3 - свіжозабруднений нафтою ґрунт – 15 % нафти у ґрунті,
- 4 - нафтозабруднений ґрунт (початкове забруднення 15 % нафти у ґрунті) після 25 діб вивітрювання, залишковий вміст нафти 10 %.

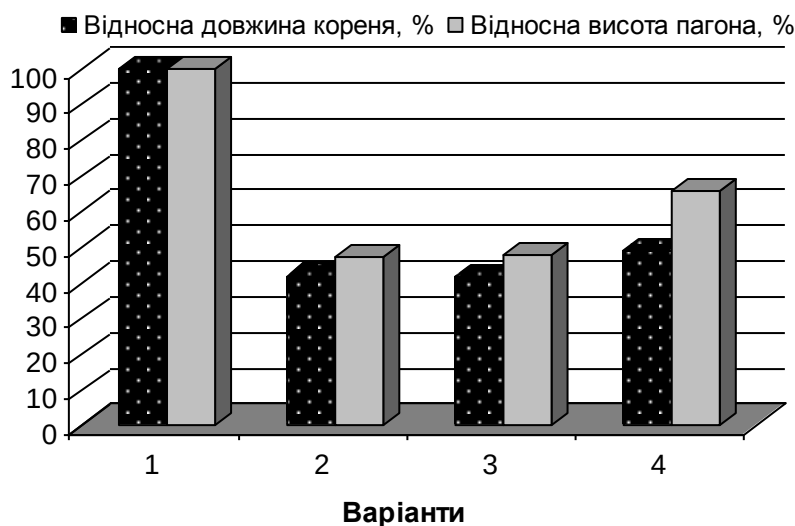


Рис. 5.3. Фітотоксичність нафтозабруднених чорноземних ґрунтів до і після випаровування нафти, визначена за допомогою тест-об'єкта *H. annuus*.

1 - контроль, 2 - свіжозабруднений нафтою ґрунт – 8 % нафти у ґрунті,

3 - свіжозабруднений нафтою ґрунт – 10 % нафти у ґрунті,

4 - нафтозабруднений ґрунт (початкове забруднення 10 % нафти у ґрунті) після 25 діб вивітрювання, залишковий вміст нафти 8 %.

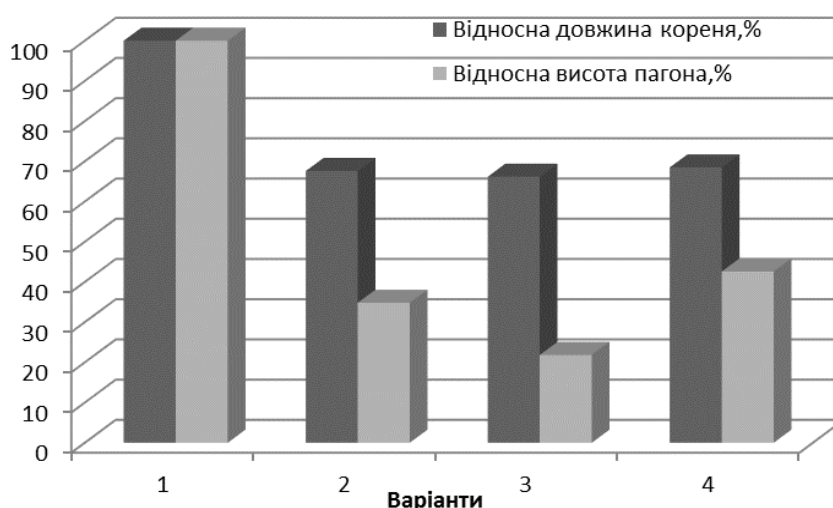


Рис. 5.4. Фітотоксичність нафтозабруднених дерново-підзолистих ґрунтів до і після випаровування нафти, визначена за допомогою тест-об'єкта *F. vulgare*.

1 - контроль, 2 - свіжозабруднений нафтою ґрунт – 2,5 % нафти у ґрунті,

3 - свіжозабруднений нафтою ґрунт – 5 % нафти у ґрунті,

4 - нафтозабруднений ґрунт (початкове забруднення 5 % нафти у ґрунті) після 95 діб вивітрювання, залишковий вміст нафти 2,5 %.

Оскільки в природних умовах потрапляння нафти у ґрунт відбувається при певній природній вологості ($\sim 20\%$), то важливим було дослідити також випаровування нафти з вологого ґрунту. Нами встановлено, що при потраплянні нафти (10%) у вологий ґрунт (20% вологості) відбувається інтенсивне випаровування води разом із нафтою протягом перших 10 діб. Подальша інтенсивність випаровування знижується і поступово затухає до 45 доби. Варто зазначити, що залишковий вміст нафти після її випаровування з сухого та вологого нафтозабруднених ґрунтів (10% нафти у ґрунті) є близьким і в середньому коливається в межах $6-8\%$ для двох типів ґрунтів (рис. 5.1, 5.5). Тобто, до 45 доби, як з сухого так і з вологого ґрунту вивітрюється до 40% нафти.

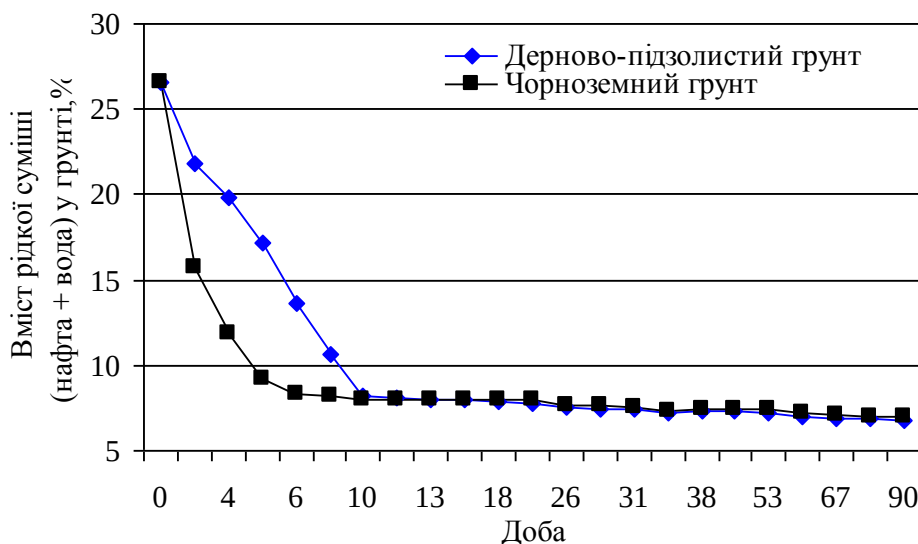


Рис. 5.5. Часова динаміка зміни кількості рідкої суміші (нафта + вода) у дерново-підзолистому та чорноземному ґрунтах в процесі випаровування. Початковий вміст (у перерахунку на сухий ґрунт) нафти 10% , води 20% .

Отже, 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. Тому перед проведенням фіторе mediaції свіжо забруднені нафтою ґрунти пропонуємо витримувати не менше, ніж 45 діб,

для максимального задіяння абіотичних чинників самоочищення. Це здешевить подальшу ремедіацію ґрунтів, оскільки найбільш токсичні компоненти нафти вже будуть видалені.

5.1.2. Дослідження зміни токсичності ґрунту при вертикальній та латеральній міграції нафти

При потраплянні у ґрунт сирової нафти у його товщі відбувається вертикальне і латеральне (горизонтальне) розділення забруднювача. Нафта і нафтопродукти, будучи багатокомпонентними сумішами, при внутрішньогрунтовій міграції піддаються диференціації: високомолекулярні компоненти сорбуються у верхньому, гумусовому горизонті, а низькомолекулярні надходять в нижні шари через більш високу їх розчинність у воді. Таким чином, концентрація смолистих речовин у верхніх горизонтах ґрунту в кілька разів більше, ніж у нижніх генетичних горизонтах. Багатьма дослідженнями в різних країнах було встановлено, що на акумуляцію і трансформацію вуглеводнів нафти у ґрунті, впливає дуже велика кількість факторів. Зокрема, важливе значення має інтенсивність забруднення, склад самої нафти, гранулометричний склад ґрунту, його вологість, щільність, структурність, рельєф місцевості, температура, рівень засолення ґрунтових вод, тип водного режиму та ін.

Оскільки кінцевою метою екологічного моніторингу нафтозабруднених ґрунтів є розробка заходів по їх реабілітації, то важливим було вивчити, як швидко і на які глибини проникає нафта у ґрунт, так як фіторемедіація передбачає висаджування рослин на різні глибини та використання рослин з різним проникненням кореневої системи у ґрунт. Для цього було змодельовано «нафтовий вилив» на ґрунт в природних умовах (див. Розділ 2) таким чином, що початковий вміст нафти у 10 см поверхневому шарі ґрунту становив 10 %.

Встановлено, що при такому забрудненні нафта проникає в нижні шари ґрунту, і вже через 6 місяців нафтопродукти у кількості 2,1 % фіксуються на глибині 40 см. Розподіл нафти по ґрунтовому профілю є не однаковим: вміст

нафтопродуктів на глибині 30-40 см є у два рази більший, ніж на глибині 10-20 см. Через 1 рік вміст нафти зменшується у всіх горизонтах (рис. 5.6) і становить 1 % на глибинах 20-30 см і 30-40 см та 0,4 % на глибині 10-20 см. Кількість нафти зменшується і у верхньому нафтозабрудненому шарі ґрунту (0-10 см) – через 1 рік її вміст складає 4,8 %. Все це вказує на те, що низькомолекулярні компоненти нафти інтенсивно мігрують вглиб ґрунту.

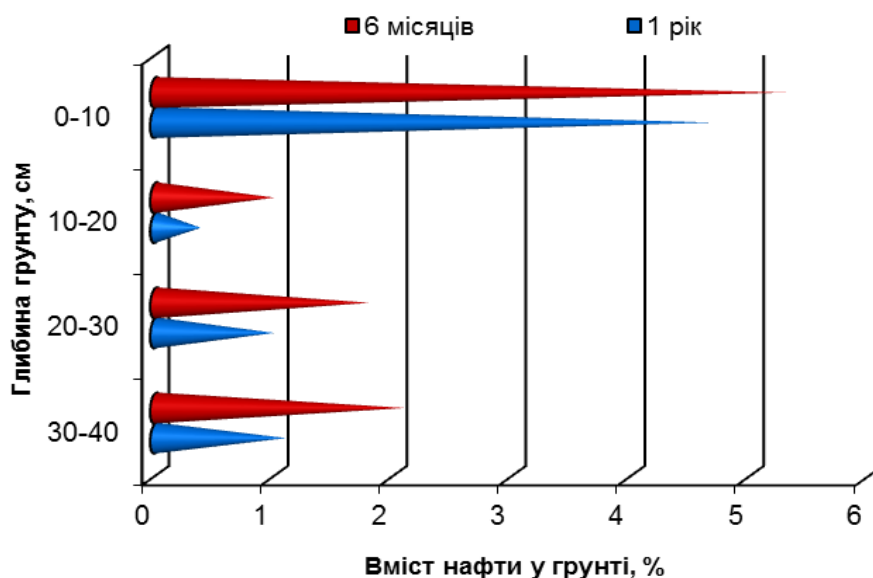
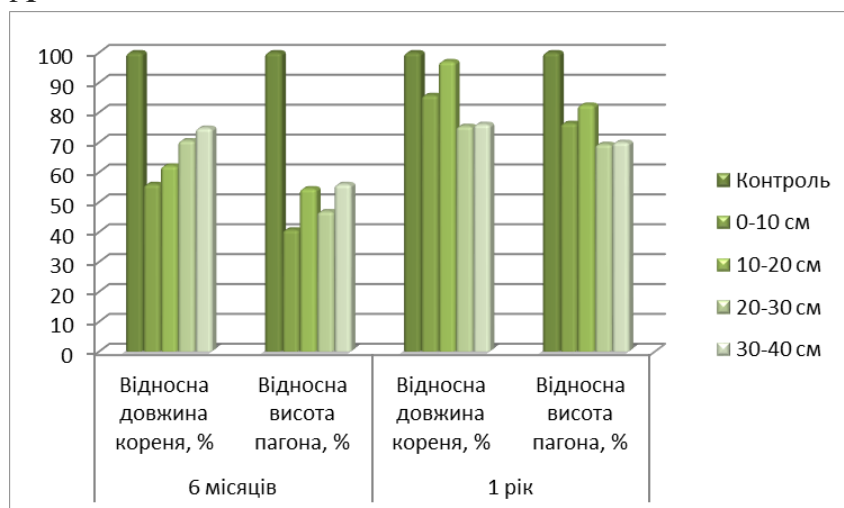


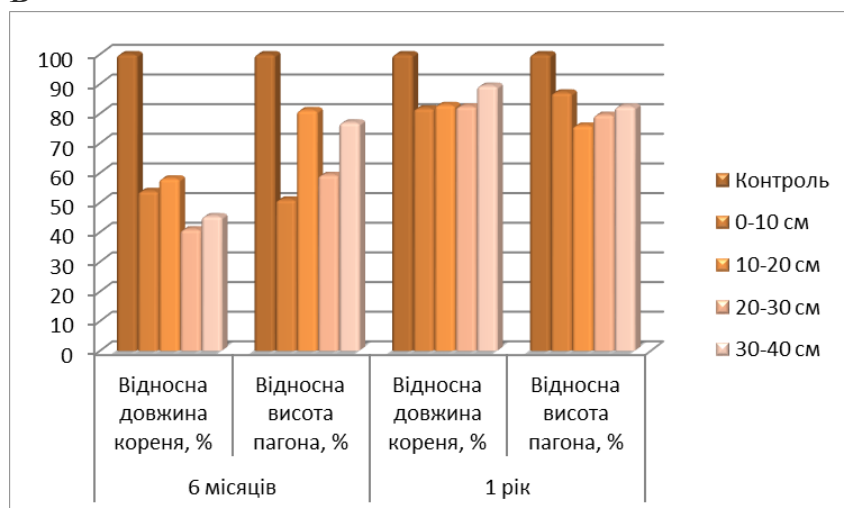
Рис. 5.6. Вертикальне проникнення нафтового забруднення у ґрунту (початкове забруднення 10 %) (травень, 2013 р. – травень, 2014 р.)

Внаслідок вертикальної міграції нафти у ґрунт після 6 місяців всі досліджувані його горизонти є токсичними – тест-показники фітотестів *L. usitatissimum*, *H. annuus*, *F. vulgare* є значно нижчими за контроль. При чому, чим глибше від джерела забруднення, тим токсичність ґрунту є нижчою: відносні довжини коренів та висоти пагонів *L. usitatissimum*, *H. annuus*, *F. vulgare*, отримані на ґрунтах, взятих на глибині 30-40 см, є вищими, ніж такі на ґрунтах, взятих на глибині 10-20 см. Через 1 рік токсичність всіх досліджуваних горизонтів ґрунту знижується (рис. 5.7).

А



Б



В

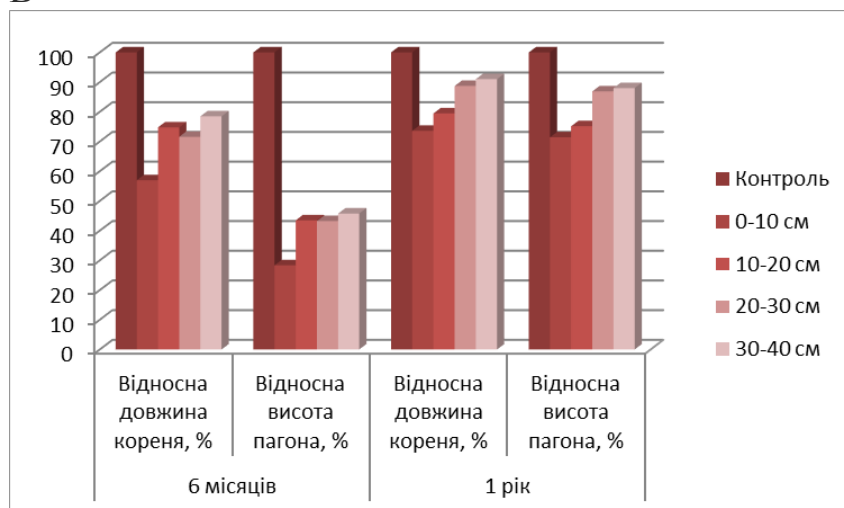


Рис. 5.7. Зміна токсичності ґрунту при вертикальному проникненні нафти у ґрунт. Фітотестування: А – *L. usitatissimum*, Б – *H. annuus*, В – *F. vulgare* (червень, 2015 р. – червень, 2016 р.).

Отже, при нафтовому забрудненні (10 % нафти у 10 см шарі ґрунту) спостерігається проникнення нафтопродуктів в нижні шари ґрунту. 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. Таким чином, висадка фіторемедіантів на глибині 10-20 см є оптимальною.

Крім вертикальної міграції нафти у ґрунті, відбувається і латеральний її розподіл в ґрунтовій масі. Ми досліджували швидкість та інтенсивність латеральної міграції нафти у дерново-підзолистому ґрунті, використовуючи тест-об'єкти: льон звичайний, соняшник однорічний та гречку посівну, які висаджували секторами з розбивкою на сегменти 0-10 см, 10-20 см, 20-30 см, 30-50 см від центру розливу нафти, відповідно на 10, 20, 30, 365 добу після внесення нафти у ґрунт. Стресова відповідь рослин з сегментів 0-10 см, 10-20 см проявилася зниженням ростових параметрів, що свідчить про поширення поллютанта на відстань до 20 см вже на 10 день (рис. 5.8, 5.9). Подальше латеральне розповсюдження забруднення за межі цієї відстані призупиняється і через 30 днів достовірної різниці між ростовими параметрами рослин з сегменту 20-30 см і контролю не спостерігається (рис. 5.8, 5.9, 5.10). В той же час інтенсивність забруднення у сегментах 0-10 см, 10-20 см через 20 і 30 днів після забруднення продовжувала зростати, відносні ростові параметри соняшника та гречки зменшилися в середньому у 1,1-2 та 1,4-1,7 раз відповідно. Через 1 рік (365 діб) нафта дифундувала у сегмент 20-30 см, і продовжувала накопичуватися у сегментах 0-10 см, 10-20 см. На відстані більше 30 см ознак поширення нафти не спостерігалось (рис. 5.8-5.11).

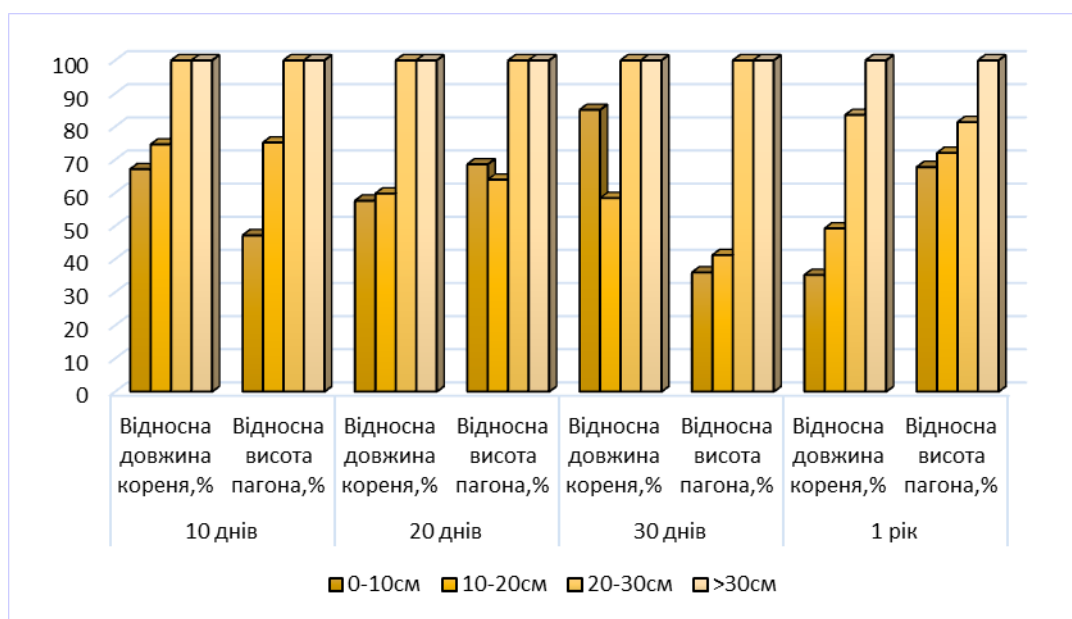


Рис. 5.8. Латеральна міграція нафти у ґрунті, представлена зміною ростових показників *H. annuus* (червень, 2015 р. – червень, 2016 р.).

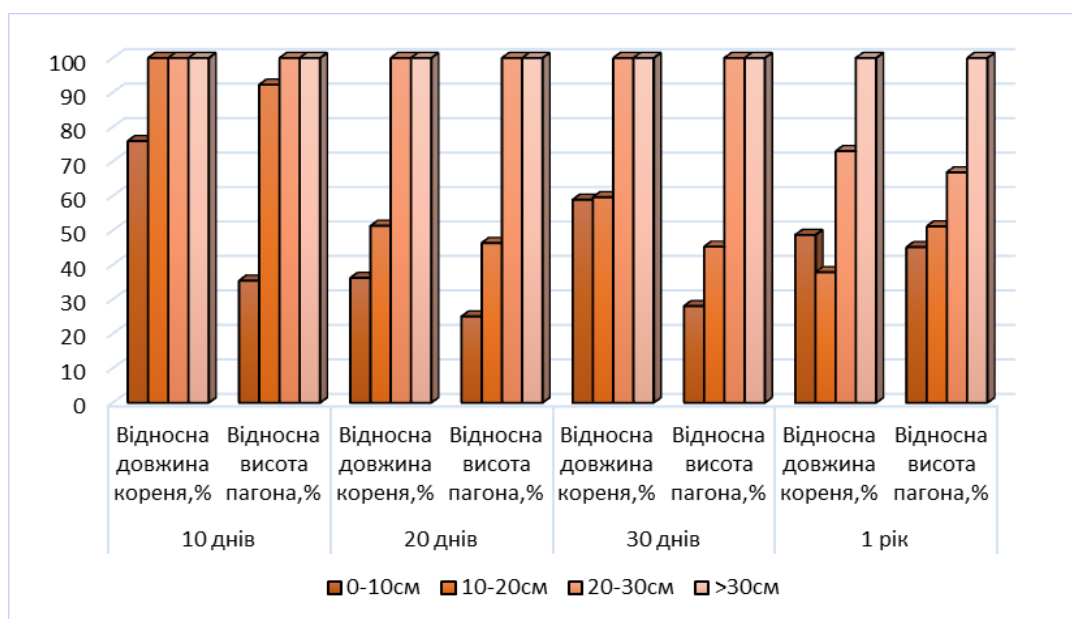


Рис. 5.9. Латеральна міграція нафти у ґрунті, представлена зміною ростових показників *F. vulgare* (червень, 2015 р. – червень, 2016 р.).

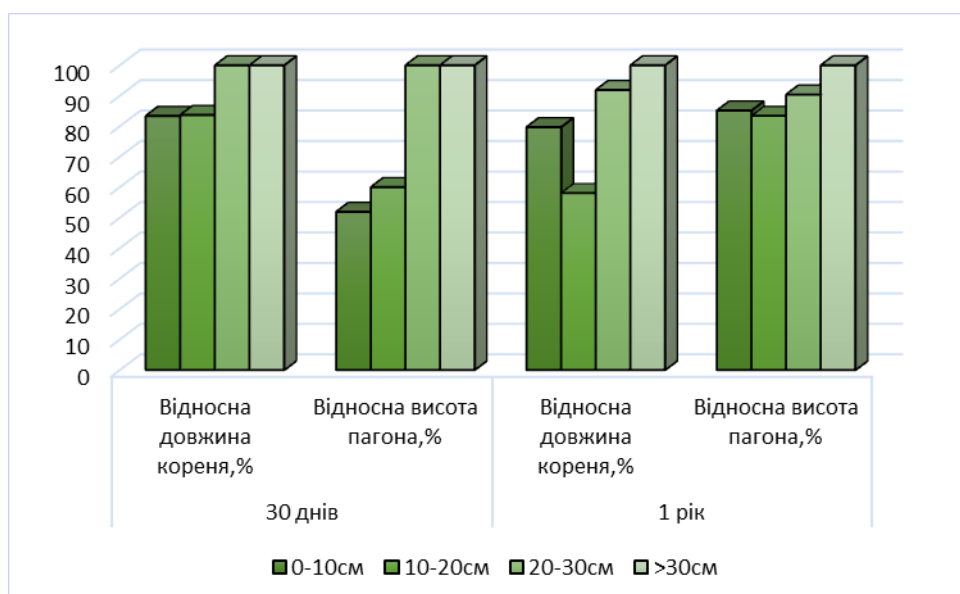


Рис. 5.10. Латеральна міграція нафти у ґрунті, представлена зміною ростових показників *L. usitatissimum* (червень, 2015 р. – червень, 2016 р.).

А



Б



Рис. 5.11. Дослідження латеральної міграції нафти у ґрунт за участю рослин соняшника, льону та гречки. А – у рік забруднення (липень, 2015 р.) Б – через рік після внесення забруднення (липень, 2016 р.).

Залежність зміни вмісту пігментів у листках досліджуваних рослин узгоджувалася з залежністю їх ростових параметрів у сегментах: зменшення хлорофілу а, хлорофілу б та каротиноїдів відбувалося зі збільшенням часу після розливу нафти, у рослинах, котрі росли на відстані до 30 см від джерела забруднення (табл. 5.1, 5.2). Спостерігали підвищення рН ґрунту (водна і сольова витяжка) у сегменті 10-20 см через 1 рік після забруднення (табл. 5.3).

Таблиця 5.1

Вміст пігментів фотосинтезу (мг/г сирої маси) в листках рослин соняшника та гречки при латеральній міграції нафти у ґрунті (червень, 2015 р.- 2016 р.)

Доба	Тест-об'єкти	Соняшник однорічний					Гречка посівна				
	Сегменти, см Пігменти	Контроль	0-10	10-20	20-30	>30	Контроль	0-10	10-20	20-30	>30
10	Хлорофіл а	1,28	1,27	1,19	1,27	1,27	1,18	1,05	1,54	1,19	1,19
	Хлорофіл б	0,37	0,46	0,36	0,38	0,38	0,32	0,28	0,66	0,32	0,32
	Каротиноїди	0,43	0,37	0,36	0,41	0,41	0,44	0,38	0,47	0,45	0,45
20	Хлорофіл а	0,75	0,84	0,95	0,71	0,71	1,40	1,02	0,90	1,39	1,39
	Хлорофіл б	0,25	0,37	0,38	0,26	0,26	0,50	0,37	0,34	0,49	0,50
	Каротиноїди	0,26	0,28	0,30	0,25	0,25	0,47	0,36	0,30	0,45	0,45
30	Хлорофіл а	1,17	0,57	0,94	1,15	1,15	1,08	0,79	0,98	1,04	1,04
	Хлорофіл б	0,46	0,24	0,36	0,44	0,44	0,39	0,32	0,36	0,40	0,40
	Каротиноїди	0,40	0,30	0,34	0,41	0,41	0,43	0,32	0,41	0,39	0,39
365	Хлорофіл а	1,20	0,97	1,18	1,07	1,22	0,80	0,48	0,82	0,85	0,78
	Хлорофіл б	0,52	0,42	0,48	0,44	0,50	0,39	0,37	0,45	0,43	0,34
	Каротиноїди	0,40	0,29	0,35	0,31	0,39	0,38	0,20	0,32	0,31	0,33

Таблиця 5.2

Вміст пігментів фотосинтезу (мг/г сирової маси) в листках рослин льону
звичайного при латеральній міграції нафти у ґрунті
(червень, 2015 р. – червень, 2016 р.)

Доба	Тест-об'єкт	Льон звичайний				
	Сегменти, см Пігменти	Контроль	0-10	10-20	20-30	>30
30	Хлорофіл а	1,34	1,37	1,18	1,33	1,33
	Хлорофіл б	0,55	0,52	0,52	0,52	0,52
	Каротиноїди	0,45	0,44	0,39	0,45	0,45
365	Хлорофіл а	1,49	0,98	1,01	0,92	1,44
	Хлорофіл б	0,66	0,57	0,43	0,46	0,64
	Каротиноїди	0,48	0,28	0,32	0,30	0,45

Таблиця 5.3

Зміна рН водної та сольової витяжки ґрунтів при латеральній міграції
нафти у ґрунті (червень, 2015 р. – червень, 2016 р.)

Сегменти, см	10 днів		1 рік	
	рН водна	рН сольова	рН водна	рН сольова
Контроль	7,90±0,3	7,45±0,4	7,90±0,3	7,44±0,3
0-10	7,89±0,3	7,48±0,2	7,96±0,3	7,55±0,2
10-20	7,91±0,2	7,45±0,2	8,20±0,6	7,65±0,5
20-30	7,91±0,5	7,48±0,4	7,97±0,4	7,56±0,5
>30	7,90±0,3	7,46±0,5	7,91±0,4	7,46±0,3

Отже, 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. Проте, нафтове забруднення має здатність швидко поширюватися вглиб ґрунту і вже через пів року сягає 40 см. Дослідження проникнення нафти у ґрунт, що потрапила туди у результаті

розливів або аварійних витоків, потрібне для розуміння механізмів самоочищення й відновлення ґрунтів, що дозволить здійснити обґрунтований пошук оптимальних шляхів відновлення нафтозабрудненого ґрунту.

5.1.3. Температурна характеристика нафтозабрудненого ґрунту

Температура є одним із основних чинників зовнішнього середовища, який безпосередньо впливає на процеси міграції і трансформації нафти у ґрунті. Нафтозабруднені ґрунти мають темніший колір, це сприяє інтенсивнішому поглинанню сонячної радіації та підвищенню температури на поверхні. Нами встановлено, що температура нафтозабрудненого ґрунту є в середньому вища на 1-5°C, порівняно з контролем (табл. 5.4). Причому, чим вища концентрація нафти у ґрунті, тим більша інтенсивність прогрівання.

Таблиця 5.4

Температура на поверхні нафтозабрудненого ґрунту
(липень-серпень, 2014 р.)

Вміст нафти у ґрунті, %	Температура ґрунту, °C
0,0	25,0±0,4
0,4	26,2±0,7
2,5	27,1±1,0
5,0	27,0±1,2
8,0	28,5±0,9
10,0	29,0±1,1
15,0	29,9±0,9

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.

5.1.4. Зміна рН нафтозабруднених ґрунтів

Однією з важливих характеристик ґрунту є його рН. За значенням рН судять про придатність того чи іншого субстрату для росту рослин та життя інших ґрунтових організмів. Досліджувалось як змінюється рН ґрунту при забрудненні нафтою. Для цього вимірювали актуальну і потенційну кислотність нафтозабрудненого ґрунту при різному вмісті нафти у ньому (0,4; 2,5; 5,0; 8,0 %) через 1 рік після забруднення. Встановлено, що рН соляної та водної витяжок нафтозабруднених ґрунтів істотно не відрізняються від контролю (табл. 5.5).

Таблиця 5.5

Кислотність ґрунтів, при різному ступені забруднення нафтою
(липень-серпень, 2014 р.)

Вміст нафти у ґрунті, %	рН соляної витяжки	рН водної витяжки
0,0	7,25±0,3	7,59±0,2
0,4	7,24±0,2	7,62±0,2
2,5	7,13±0,5	7,56±0,6
5,0	7,06±0,7	7,45±0,3
8,0	7,01±0,5	7,43±0,7

Подібні результати зустрічаються і в інших дослідженнях, де нафтове забруднення практично не змінює реакцію ґрунтового розчину [145]. Проте, не поодинокі дослідження вказують на його підлужнення при забрудненні нафтою [2, 107, 190].

Отже, нафта неоднозначно впливає на реакцію ґрунтового розчину. Тому для ефективного проходження процесів ремедіації, які часто найбільш оптимальні в певних межах рН, пропонуємо враховувати даний показник.

5.2. Використання обліпихи крушиновидної для фітореMediaції нафтозабруднених ґрунтів

5.2.1. Вплив рослин на біодеградацію нафти у ґрунті

Техногенні нафтозабруднені ґрунти повинні бути ізольовані від вітрової та водної ерозії, просякання нафтопродуктів у товщу ґрунту, ґрунтові та підземні води. Для цього ідеально підходить рослинний покрив, правильно підібравши який, можна ефективно очистити забруднену ділянку до нормативних показників. Необхідно підібрати такі види рослин, які б максимально швидко і ефективно вбирали токсичні речовини і перетворювали їх в нетоксичні, були невибагливими до умов середовища, давали швидкий приріст біомаси, накопичували азот та утворювали гумусовий шар.

Провівши аналіз літературних даних та на основі власних досліджень [58,148, 150], де в якості фітореMediaнтів використовуються різні вищі рослини, перспективність яких доведена, а саме бобів кормових *Vicia faba* L., осоки шорстко волосистої *Carex hirta* L., сої щетинистої *Glicine hispida* Maxim і ін. ми виявили певні недоліки їх використання для техногенних нафтозабруднених ґрунтів: багатостадійність, трудоємкість, необхідність ретельної попередньої обробки ґрунту, поливу рослин, необхідності повторення процесу висажування насіння у наступні роки, можливість використання лише на рівнинних, відносно невеликих територіях, або на не сильнозабруднених ґрунтах. Вище перелічені рослини мало придатні для очищення деградованих земель нафтовидобутку, що містять збіднену породу різного гранулометричного складу, засолені пластовими водами і є насипними, відвальними. Тому ми продовжили пошук рослин-фітореMediaнтів.

Нами вперше для очищення техногенних нафтозабруднених ґрунтів обрано обліпиху крушиновидну (*Hipporphae rhamnoides* L.), яка є багаторічною, швидко росте, розростається в куртину, невибаглива до ґрунтових умов та забезпечує себе джерелом мінерального живлення, завдяки симбіозу кореневої системи з азотфіксаторами.

Польові дослідження проводили на території Бориславського нафтового родовища, техногенних нафтозабруднених відвальних ґрунтах озокеритовидобутку, на яких вирощували *H. rhamnoides*. На нафтозабруднених ґрунтах відвалів висаджували 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 за вищеописаною схемою (див. Розділ 2). Висаджування проводили рано-навесні, коли у ґрунті є ще достатньо вологи без додаткового внесення добрив, мікроорганізмів чи поливу.

Відомо, що коренева система *H. rhamnoides* має виражені гігоморфні властивості і здатна переносити довготривалі періоди підтоплення та перезволоження. В той же час густе опушення листка, щільна кутикула – захисне пристосування, що забезпечують економну витрату води при високих інсоляції і температурі повітря. Надземна частина обліпихи дозволяє переносити рослині внутрішній водний дефіцит, і активно його регулювати швидкими змінами осмотичного тиску клітинного соку [5]. Таке поєднання стійкості до умов підтоплення та посухи роблять рослину оптимальною до використання для фіторемедіації техногенних нафтозабруднених ґрунтів.

Нами встановлено, що обліпиха є стійкою до несприятливих умов техногенних нафтозабруднених ґрунтів, які внаслідок набутої гідрофобності періодично можуть бути як підтопленими, так і пересушеними. Дослідження показали, що рослини *H. rhamnoides* стовідсотково приживаються на сильнозабруднених нафтою ґрунтах, 97-150 г нафти на 1 кг ґрунту (9,7-15 %), і суттєво прискорюють процес біодеградації нафти вже у перший рік росту. Сумарне очищення ґрунту складає 76,7-84,6 % (табл. 5.6).

Таблиця 5.6

Вплив рослин *H. rhamnoides* на біодеградацію нафти у ґрунті упродовж першого року (вересень, 2009 р.)

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

На четвертий рік росту обліпихи ступінь очистки ґрунту підвищується до 92,7 % (табл. 5.7), за початкового забруднення ґрунту нафтою 123 г/кг. Знижується також токсичність, про що свідчить зростання відносної схожості насіння тест-об'єкту льону звичайного від 0 до 100 % (табл. 5.8). При цьому зменшується токсичність не лише на ділянці, де росте обліпиха, але й на відстані 4-6 м від ділянки, завдяки розростанню кореневої системи обліпихи. Так, відносна схожість насіння *L. usitatissimum* на відстані 4 м від фіторемедіаційної ділянки вже складала 88,57 %, в той час як початкова становила 0 % (табл.5.8).

Таблиця 5.7

Вплив рослин *H. rhamnoides* на біодеградацію нафти у ґрунті упродовж 1-4 років зростання, початкове забруднення ґрунту 123 г/кг (2009-2012 рр.)

	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

Під дією рослин *H. rhamnoides* відбулось не лише зниження токсичності ґрунту, але й покращення його мікробіологічних властивостей. Так, на четвертий рік зростання обліпихи на нафтозабрудненому ґрунті кількість ґрунтових мікроорганізмів значно зросла: гетеротрофів у 10^4 раз, деструкторів нафти у 6×10^2 раз в порівнянні з не рекультивованим ґрунтом. Покращилась якість ґрунту і на відстані 4-6м від ділянки: кількість гетеротрофів зросла у 2×10^2 раз, деструкторів нафти у 10^3 раз (табл.5.8).

Таблиця 5.8.

Вплив нафти і *H. rhamnoides* на фітотоксичність нафтозабрудненого ґрунту на 4–й рік ремедіації. Початкове забруднення 123 г нафти на 1кг ґрунту (вересень, 2012 р.)

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 4 років ремедіації	100	100	100	2×10^8	3×10^5
Ґрунт, взятий у радіусі 4-6 м від ремедіаційної ділянки	88,57	100	52,37	4×10^6	6×10^5

Важливою біологічною особливістю обліпихи є її здатність до симбіозу з азотфіксуючими актинобактеріями роду *Frankia* (рис. 5.12). Ці бактерії фіксують азот шляхом перетворення атмосферного азоту в біологічно корисний аміак і постачають рослину-господаря джерелом відновленого азоту. Симбіоз з *Frankia* дозволяє актиноризним рослинам-господарям рости в суворих умовах,

на бідних поживними речовинами ґрунтах. Зовсім недавно іноземні дослідники почали вивчати метаболічний потенціал цих бактерій в контексті біоремедіації і встановили, що *Frankia* має здатність протистояти та розкласти поліароматичні вуглеводні, нафталін, феноли [250, 312].



Рис. 5.12. Симбіоз обліпихи крушиновидної з азотфіксуючими мікроорганізмами у нафтозабрудненому ґрунті.

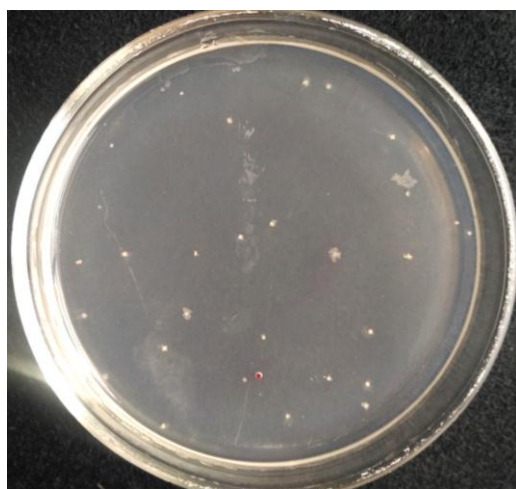
Нами встановлено, що в процесі фіторемедіації нафтозабрудненого ґрунту рослинами *H. rhamnoides* збільшується кількість та видова різноманітність олігонітрофілів, у тому числі азотфіксаторів (*Azotobacter*, *Achromobacter*, *Azospirillum*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Frankia*, *Azotomonas*, *Beijerinckia*, *Klebsiella*, *Derxia* і ін.). Так, після чотирьох років фіторемедіації кількість азотфіксуючих мікроорганізмів зросла на один порядок (табл. 5.9). Для не забрудненого ґрунту характерні однотипні невеликі колонії, а у ґрунті після фіторемедіації обліпихою спостерігали колонії різного розміру, форми, кольору, консистенції (рис. 5.13).

З літературних джерел відомо, що обліпиха є головною ґрунтопокращуючою породою, порівняно з іншими фіторемедіантами: акація, клен, береза, верба. Їй належить утворення потужної лісової підстилки, багатой на азот, збагачення ґрунтосуміші органічною речовиною, фосфором і калієм [206].

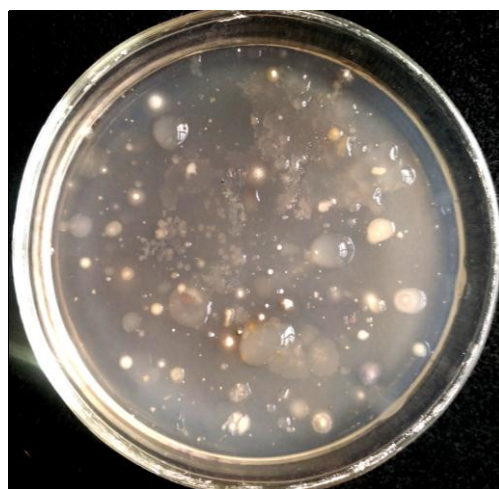
Таблиця 5.9

Вплив нафти і *Hipporphae rhamnoides* на чисельність азотфіксуючих мікроорганізмів (вересень, 2012 р.)

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



А



Б

Рис. 5.13. Колонії олігонітрофілів та азотфіксаторів на нафтозабруднених ґрунтах: (А) – до фіторемедіації, (Б) – після фіторемедіації *H. rhamnoides* (вересень, 2012 р.).

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

порівнянні з не рекультивованим ґрунтом (табл.5.10). Явище підвищення вмісту нітратного азоту на фоні нафтового забруднення є відомим фактом [28, 225].

На кількість нітратного азоту у ґрунті впливають також процеси денітрифікації, здійснювані мікроорганізмами денітрифікаторами, здатними відновлювати іон NO_3^- до молекулярного азоту. Унаслідок цього процесу наявний нітратний азот у ґрунті втрачається.

Попри інтенсивний ріст обліпихи та засвоєння нею органічних елементів із ґрунту, в останньому спостерігали збільшення загального та амонійного азоту. Так, вміст амонійного азоту у забрудненому ґрунті сягав 23,6 мг/кг, а у нафтозабрудненому ґрунті після фітореMediaції обліпихою становив 30,00 мг/кг. Збільшується і мінеральний азот, який є сумою нітратного і амонійного та характеризує забезпеченість ґрунтів азотом та його доступність для рослин (табл.5.10).

Таблиця 5.10

Вміст фосфору та азоту у нафтозабруднених ґрунтах до і після
фітореMediaції обліпихою (вересень, 2012 р.)

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

Отже, завдяки симбіозу кореневої системи обліпихи з мікроорганізмами, мінералізації рослинних решток, відбувається збагачення ґрунту та забезпечення рослин азотом, і як наслідок успішне заростання нафтозабруднених територій в процесі фітореMediaції.

Рослинний покрив сприяє утриманню вологи у ґрунті та запобігає його перегріванню. У сонячні дні, при температурі повітря 28 °С, температура поверхневого шару техногенного нафтозабрудненого ґрунту на 10 °С вища, ніж фіторекультивованого обліпихою (табл. 5.11).

Таблиця 5.11

Температура на поверхні ґрунту нерекультивованої та рекультивованої ділянок з *Hipporhae rhamnoides* (м. Борислав, липень, 2013 р.)

Ділянки	Температура на поверхні ґрунту, °С
Не рекультивована	34,9±0,8
Рекультиваційна ділянка з <i>H. rhamnoides</i>	24,6±0,3

Ґрунти нафтовидобутку часто є засоленими і містять надлишковий вміст важких металів (див. Розділ 2). Обліпиха є толерантною до засолення ґрунту, що підтверджено в ході наших польових досліджень (див. ст.108) – обліпиха стовідсотково приживається на ґрунтах озокеритовидобутку, вміст солей в яких складає 3 % [220].

Дослідження вмісту важких металів у надземній і підземній частинах обліпихи показало, що при надлишковому вмісті важких металів у нафтозабруднених ґрунтах відбувається незначне їх накопичення у рослинах обліпихи на четвертий рік росту (табл. 5.12).

Завдяки поверхневій кореневій системі обліпихи, добре розвиненим шнуроподібним кореням, що дають кореневі паростки, вона успішно поширюється на сусідні території, тим самим розпушує забруднений ґрунт, покращує його водно-повітряні властивості, сприяє швидкому накопиченню біомаси, гумусоутворенню та забезпечує пролонгацію фітомеліоративної дії. Так, фіторемедіаційна ділянка за чотири роки розрослася в куртину, площа якої вже у 3 рази перевищувала вихідну ділянку (рис.5.14, 5.15)

Таблиця 5.12

Вміст важких металів у чотирирічних рослинах обліпихи крушиновидної
(червень, 2012 р.)

Елемент	Вміст важких металів, мкг/г сухого зразка			
	в обліписі, що росла на нафтозабруднених відвальних ґрунтах*		в обліписі, що росла на умовно чистих ґрунтах (дачні угіддя)	
	Надземна Частина	Корінь	Надземна частина	Корінь
Fe	94,08±0,09	183,23±0,34	108,27±0,22	349,83±0,29
Mn	107,71±0,28	27,36±0,0,21	84,96±0,18	32,61±0,09
Cu	10,67±0,02	8,99±0,12	7,15±0,08	7,32±0,06
Zn	29,64±0,08	13,09±0,09	28,06±0,11	10,69±0,09
Ni	1,50±0,04	1,87±0,10	1,80±0,07	8,00±0,04
Co	0,12±0,02	0,12±0,04	0,125±0,06	0,12±0,02
Pb	1,25±0,04	1,25±0,05	1,25±0,04	1,25±0,02
Cd	0,41±0,03	0,39±0,40	0,10±0,02	0,10±0,02

* – вміст у ґрунтах озокеритовидобутку рухомих форм Mn 2-3 ГДК, Zn 1,4 ГДК



Рис. 5.14. Саджанці обліпихи на дослідній ділянці через 1 рік після висаджування (м. Борислав, 2009 р.)



Рис. 5.15. Фіторемедіаційна ділянка з обліпихою на четвертий рік ремедіації (м. Борислав, 2012 р.)

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* L.), кульбаба лікарська (*Taraxacum officinale*), люцерна хмелевидна (*Medicago lupulina* L.), конюшина лучна (*Trifolium pratense* L.), і ін.

Отже, обліпиха крушиновидна є перспективною рослиною для очистки сильно забруднених нафтою ґрунтів, так як покращує їх фізико-хімічні, мікробіологічні показники, знижує токсичність, забезпечує багаторічну пролонгацію фіторемедіаційної дії та сприяє високому ступеню очистки від нафтопродуктів.

5.2.2. Стерильність та фертильність пилкових зерен обліпихи в умовах нафтового забруднення

Фертильність пилку є одним із критеріїв репродуктивної спроможності рослин, що важливо для нормального проходження процесів самовідтворення

фітоценозів. Дані про життєздатність пилкових зерен деревних порід також використовуються в моніторингових дослідженнях стану довкілля [12].

Стерильність – нездатність або знижена здатність організму продукувати нормальні гамети. Відомо, що стерильні (нежиттєздатні) пилові клітини або новоутворення в пилку індукуються хімічними і фізичними забруднювачами атмосфери. Результатом дії забруднювачів навколишнього середовища є зміна фертильності пилку, що несприятливо позначається на життєздатності всієї фітопопуляції.

Найдоступнішим для тестування є чоловічий гаметофіт – пилок, який у великій кількості утворюється на одній особині, що дає змогу легко отримувати статистично достовірні результати.

Відомо, що забруднення навколишнього середовища негативно впливає на стан пилку рослин. Тому нами проведено дослідження фертильності та стерильності пилових зерен обліпихи крушиновидної, вирощеної в умовах нафтового забруднення.

Таблиця 5.13

Стерильність пилку обліпихи крушиновидної, вирощеної в умовах нафтового забруднення (квітень, 2013р.)

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

Виявлено, що стерильність пилових зерен обліпихи, вирощеної в умовах нафтового забруднення, статистично достовірно не відрізняється від контролю (табл. 5.13), що і підтверджує її толерантність до забруднення (рясне зростання і плодоношення). Обліпиха є не придатною для біоіндикації навколишнього середовища методом «Стерильність пилку рослин», оскільки вона виявилася стійкою до даного полютанта.

5.2.3. Пігментний фонд у хлоропластах листків рослин обліпихи в умовах нафтового забруднення ґрунту

Опосередкований вплив нафтового забруднення на рослинні організми внаслідок змін фізико-хімічних властивостей ґрунту зумовлює порушення кореневого живлення. Це призводить до пригнічення фотосинтетичної діяльності, що пов'язано з пігментним фондом рослин, серед яких важливу роль відіграють зелені та жовті пігменти [59]. Вміст хлорофілів у листках рослин є однією з найвиразніших характеристик адаптації фотосинтетичного апарату рослин до несприятливих умов довкілля. Каротиноїди – це поліфункціональні пігменти. Вони відіграють роль допоміжних пігментів під час фотосинтезу, мають захисну функцію, яка полягає у формуванні захисних механізмів фотосинтетичного апарату рослин до несприятливих чинників довкілля. Зокрема, каротини функціонують як антиоксиданти, що виводять вільні радикали з обігу ланцюгових вільнорадикальних реакцій. Зазначимо, що каротиноїди розглядають як один з чинників, що забезпечує толерантність рослин до різних видів забруднення. Вони виконують захисну функцію в рослинах під час оксидативного стресу, спричиненого стресовими чинниками, у наших дослідженнях – нафтовим забрудненням. У цьому разі утворюються гідроксильні радикали та пероксид водню, активується антиоксидантна система. Пероксид водню є сигналом для активації захисних систем, активатором експресії генів і активатором процесів, що приводять до підвищення стійкості рослин [59].

Ми визначали вміст хлорофілів і каротиноїдів у рослинах обліпихи крушиновидної, які зростали в умовах нафтового забруднення. Дослідження показали, що в умовах нафтового забруднення вміст хлорофілів *a* та *b* знижується порівняно з контролем. Вміст каротиноїдів не змінюється, що підтверджує толерантність рослин обліпихи до даного забруднювача (рис. 5.16).

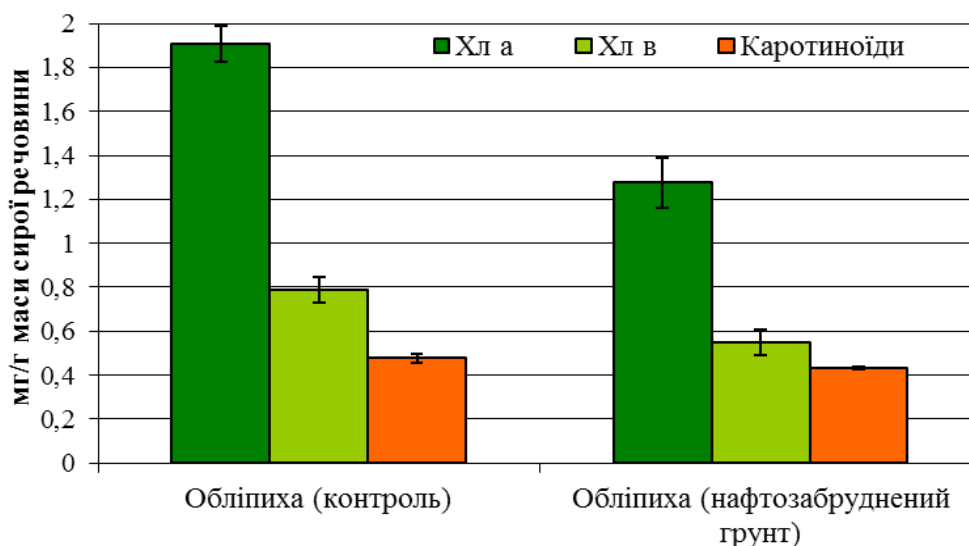


Рис. 5.16. Вміст хлорофілів та каротиноїдів у рослинах обліпихи крушиновидної, вирощеної в умовах нафтового забруднення (липень, 2013р.)

Отже, виживання рослин обліпихи за постійної дії нафтового забруднення ґрунту можливе в разі адаптації метаболізму самої рослини, що досягається шляхом перебудови комплексу морфоанатомічних і фізіолого-біохімічних адаптаційних механізмів. Чим більше механізмів адаптації використовує рослина одночасно на різних рівнях, тим більша стійкість організму. Вивчення фізіолого-біохімічних шляхів адаптації стійких рослин до нафтового забруднення є важливим для наукового обґрунтування рекомендацій щодо способів фіторе mediaції територій, забруднених нафтою і нафтопродуктами.

5.3. Еколого-економічна ефективність фіторе mediaції

Одним із шляхів поліпшення екологічної ситуації в районі техногенних забруднених територій є фіторе mediaція. Проте слід підібрати найбільш ефективні та економічно виправдані технології відновлення ґрунтів та покращення стану довкілля. Нами встановлено, що обліпиха є ефективною та економічно вигідною культурою для відновлення нафтозабруднених ґрунтів. Економічна ефективність природоохоронного заходу виражається

перевищенням еколого-економічного результату над витратами для його досягнення.

Оскільки земля – це в певній мірі товар, то її можна оцінювати відповідними економічними показниками. Ділянка, що підлягає рекультивації, може бути оцінена економічно за формулою (5.1):

$$Од = Зв + Вр + Вб, \quad (5.1)$$

де Од – оцінка ділянки, що підлягає ремедіації, тис. грн.; Зв – збитки від тимчасового вилучення земельної ділянки, тис. грн.; Вр – витрати на гірничотехнічну ремедіацію; Вб – витрати на біологічну ремедіацію.

Значення збитків від вилучення техногенно-порушених та забруднених земель близький до нуля, оскільки дані території не використовуються і є, швидше збитковими.

Витрати на гірничотехнічну ремедіацію передбачають витрати по плануванню робіт, витрати на зняття, транспортування та укладку верхнього шару ґрунту на ремедіаційній ділянці та витрати на будівництво ґрунтозахисних інженерних споруд. У нашому випадку, при використанні обліпихи крушиновидної дані витрати також є близькими до нуля, оскільки посадка обліпихи здійснюється безпосередньо в забруднений ґрунт, без зняття забрудненого чи нанесення родючого шару.

Тому оцінка ремедіаційної ділянки буде складатись лише з витрат на біологічну ремедіацію, яка у нашому випадку включає лише витрати на придбання та висадку саджанців, пов'язані з кількістю саджанців для посадки, їх вартості, а також вартості робіт, пов'язаних з їх висадкою, і можуть бути розраховані за формулою (5.2):

$$Вб = n_c * (C_c + C_{п}), \quad (5.2)$$

де n_c - кількість саджанців, шт. ;

C_c - вартість, грн. / Шт. ;

$C_{п}$ - витрати на посадку дерева-саджанця в ями, грн. / Шт.

Таблиця 5.14

Техніко-економічні показники запровадження ремедіації
земель обліпихою (площа 1га)

Види робіт	Об'єм	Вартість, грн. (C _c)	
		На 1	Всього
Придбання саджанців, шт. (n _c)	400	20	8000
Підготовка лунок і посадка саджанців, шт. (C _п)	400	30	12000
Загальна вартість витрат на створення родючого шару (біологічну ремедіацію) шляхом заліснення (поверхні відвалів), (B ₆)		20000	

Таким чином витрати на запровадження фіторемердіації нафтозабрудненої території 1 га складають 20 тис. грн.(табл. 5.14). Показник відносної еколого-економічної ефективності фіторемердіації на техногенних забруднених землях можна розрахувати, виходячи з відношення величини запобігання шкоди до вкладень на біологічну ремедіацію. Однак величину шкоди від нафтозабруднених відвальних ґрунтів важко оцінити, так як вони, крім неефективно (збитково) зайнятої території є джерелом забруднення повітря, ґрунтових та підземних вод, негативно впливають на всі ланки екосистеми, однією з яких є людина.

Насадження обліпихи на техногенно порушених землях, виконують протиерозійну, водоохоронну, санітарно-гігієнічну, рекреаційну, меліоративну та ґрунтовідновлюючу роль. Економічний ефект від цих насаджень складається з наступних показників:

- скорочення збитків від забруднення повітря пилом та забруднюючими речовинами за рахунок пиловловлюваної здатності рослин;
- скорочення збитку від вітрової ерозії в результаті її припинення на площі, зайнятій рослинністю;
- скорочення збитку від замулення і забруднення річок і водойм продуктами водної та вітрової ерозії;

- поліпшення санітарно-гігієнічних умов місцевості в результаті збагачення повітря киснем і поліпшення його хімічного складу;
- покращення фізико-хімічних і біологічних властивостей ґрунтів на рекультивованій території та прилеглих до неї полях.

Отже, проведення фіторемедіації з допомогою рослин обліпихи включає витрати лише на біологічну ремедіацію (табл. 5.14), які є незначними в порівнянні з іншими типами ремедіації. Обліпіха рекомендована для широкого використання для різних типів ґрунтів в різних кліматичних зонах [2]. Вона не потребує великої кількості посадкового матеріалу, достатнім є лише 400 рослин на 1 гектар, завдяки самостійному розростанню. Через 3-4 роки обліпіха природним шляхом поширюється по всій ділянці [2, 206]. З літературних джерел відомо, що з одного саджанця обліпихи на піску, піщано-гравійній суміші, глині середня кількість кореневих нащадків з однієї рослини в середньому становить 9,8; 12,6; 3,4 штуки відповідно [206]. Це робить спосіб економічно-вигідним.

Очікуваний розрахунковий економічний ефект буде значно вищий, якщо враховувати не лише захисну, санітарно-гігієнічну та рекреаційну ролі ремедіаційних насаджень, а також прибуток від реалізації рослинної біомаси на паливо [177]. Обліпіха має високу теплотворну здатність – 4785,5 кал/кг, це більше, ніж у більшості видів деревини. Одна тонна обліпіхової деревини еквівалентна по теплоті згорання 0,68 тонні вугілля [161]. Обліпіха 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. Обліпіху рекультиваційних ділянок слід періодично зрубувати на біомасу не доводячи до стадії плодоношення (на четвертий рік) або ж використовувати посадки чоловічих особин.

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

Висновки до розділу

1. При потраплянні нафти у сухий чи вологий дерново-підзолистий і чорноземний ґрунти в перші тижні відбувається інтенсивне вивітрювання нафти, яке до 45 доби завершується. Фітотоксичність нафтозабруднених ґрунтів після вивітрювання нафти знижується. Таким чином, перед проведенням фіторе mediaції свіжозабруднені нафтою ґрунти пропонуємо витримувати не менше ніж 45 діб для максимального задіяння абіотичних чинників самоочищення.

2. 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. Розподіл нафти по профілю ґрунту не однаковий і найменш забрудненим є шар на глибині 10-20 см, як через 6 місяців після забруднення, так і через 1 рік. Така закономірність характерна і для фітотоксичності досліджуваних ґрунтів. Таким чином, висадка фіторе mediaнтів на глибині 10-20 см є оптимальною.

3. В перший місяць після потрапляння нафти у ґрунт відбувається її латеральна міграція на відстань до 20 см. Через 1 рік подальше розповсюдження нафти за межі 30 см є незначним.

4. Нафтозабруднені ґрунти інтенсивно прогріваються. Температура нафтозабрудненого ґрунту є в середньому вища на 1-5 °С, порівняно з чистим ґрунтом. Причому, чим вища концентрація нафти у ґрунті, тим вища його температура.

5. Вперше доведена доцільність використання рослин обліпихи крушиновидної для фіторе mediaції нафтозабруднених ґрунтів, яка стовідсотково приживається на сильнозабруднених нафтою ґрунтах (123 г/кг) і забезпечує високий рівень очищення на 92,7 % на четвертий рік зростання.

6. Під дією рослин *H. rhamnoides* усувається токсичність ґрунту; підвищується вміст загального та амонійного азоту, покращуються його мікробіологічні показники: кількість гетеротрофів зростає у 10^4 раз,

деструкторів нафти у 6×10^2 раз, азотфіксаторів у 10 раз, в порівнянні з не рекультивованим ґрунтом.

7. Показано, що стерильність пилку обліпихи крушиновидної, вирощеної в умовах нафтового забруднення та вміст каротиноїдів у її листках не відрізняється від контролю. Це підтверджує стійкість *H. rhamnoides* до нафтового забруднення.

8. Визначено еколого-економічну ефективність фіторемедіації, здійсненої рослинами *H. rhamnoides*. Витрати на фіторемедіацію нафтозабрудненої території, площею 1 га складають 20 тис. грн.

9. Важлива роль обліпихи крушиновидної у покращенні фізико-хімічних та біологічних властивостей ґрунтів, захисту їх від ерозії та зменшення негативного впливу на довкілля дає підстави рекомендувати цей вид як перспективну рослину-фіторемедіанта нафтозабруднених ґрунтів.

Отримані результати, представлені у 5 розділі дисертаційної роботи, в достатній мірі відображені у публікаціях [171, 177, 179, 194, 227, 229, 231-234, 304, 305, 319, 320] і увійшли в звіт по держбюджетній темі Відділення фізико-хімії горючих копалин ІнФОВ імені Л. М. Литвиненка НАН України [168].

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 пилюки 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: льону звичайного (*Linum usitatissimum* L.), соняшника однорічного (*Helianthus annuus* L.) та гречки посівної (*Fagopyrum vulgare* St.), 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 °С. 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 ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Алексеева Т. П. Перспективы использования торфа для очистки нефтезагрязненных почв / Т. П. Алексеева, Т. И. Бурмистрова, Н. Н. Терещенко, Л. Д. Стахина, И. И. Панова // Биотехнология. – 2000. – № 1. – С. 58-64.
2. Алиев И. Н. Естественное облесение и биологическая рекультивация нарушенных земель северного Кавказа (на примере Кабардино-Балкарии): автореф. дис. ... док. с.-х. н.: 06.03.01 / Алиев Игорь Нажафович. – Волгоград, 2012. – 42 с.
3. Андреева Т. А. Интегральная оценка воздействия нефтяного загрязнения на параметры химического и биологического состояния почв таежной зоны Западной Сибири: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.27 / Андреева Татьяна Анатольевна; Томский гос. ун-т. – Т., 2005. – 26 с.
4. Андреюк К. І. Функціонування мікробних ценозів ґрунту в умовах антропогенного навантаження / К. І. Андреюк, Г. О. Іутинська, А. Ф. Антипчук, О. В. Валагурова, В. Є. Козирицька. К. : Обереги, 2001. – 239 с.
5. Андрієнко М. В. Малопоширені плодові і ягідні рослини / М. В. Андрієнко, І. С. Роман – К.: Урожай, 1991. – 168 с.
6. Аниськина М. В. Мутагенный и токсический эффекты у растений *Tradescantia* (clon 02) и *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., индуцированные нефтью и нефтепродуктами: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.16 / М. В. Аниськина. – Сыктывкар, 2006. – 20 с.
7. Архипченко И. А. Очистка нефтезагрязненных почв с помощью биопрепаратов на основе микробных удобрений / И. А. Архипченко, В. К. Загвоздкин, Г. Н. Ерцев // ЭКиП: Экология и промышленность России. – 2004. – № 9. – С. 16-18.
8. Бабаджанова О. Ф. Міграція нафти і нафтопродуктів у поверхневій шарі ґрунту при аварійних розливах / О. Ф. Бабаджанова, Н. М. Гринчишин, Ю. Г. Сукач // Безпека життя і діяльності людини – освіта, наука, практика: зб.

наук. праць X міжнар. наук.-метод. конф. – К.: Національний авіаційний університет, 2011. – С. 22-26.

9. Бакина Л. Г. Изменение гумусового состояния городских почв под влиянием нефтезагрязнения / Л. Г. Бакина, Е. Е. Орлова, Н. Е. Орлова // Международный экологический конгресс "Новое в экологии и безопасности жизнедеятельности": доклады конгресса. Т. 2. – СПб, 2000. – С. 185-187.

10. Басюл Е. В. Методы очистки и рекультивации среды от нефтепродуктов / Е. В. Басюл // II Международная научная конференция «Современные проблемы загрязнения почв»: сборник материалов. Том 2. – М.: Изд-во МГУ, 2007. – С. 262-264.

11. Безносиков В. А. Экологическая оценка почв в районе эксплуатации нефтяных месторождений в условиях Севера / В. А. Безносиков, Е. Д. Лодыгин, Б. М. Кондратенко // Международный экологический форум "Сохраним планету Земля": сборник докладов. – СПб.: Центральный музей почвоведения им. В. В. Докучаева, 2004. – С. 144-148.

12. Бессонова В. П. Оцінка стану ґрунту деревних рослин в урбатехногенній екосистемі / В. П. Бессонова, Є. П. Бессонов, В. М. Зверковський // Питання біоіндикації та екології. – 2013. – Вип. 18, № 1. – С. 70-83.

13. Бетелев Н. П. Методы определения загрязнения грунтов углеводородами. Геоэкология. Инженерная геология. Гидрогеология. Геокриология. №1.1998 г., 121с.

14. Бешлей З. М. Використання рослинних тест-систем для оцінки токсичності техногенно забруднених субстратів / З. М. Бешлей, С. В. Бешлей, В. І. Баранов, О. І. Терек // Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія: Біологія. – 2014. – Вип. 1. – С. 97-102.

15. Биологический контроль окружающей среды: биоиндикация и биотестирование / под ред. О. П. Мелехова, Е. И. Сераульцева. – М.: Издательский центр «Академия», 2010. – 288 с.

16. Блинова З. П. Биотестирование почвенного покрова городских территорий с использованием проростков *Raphanus sativus* // Вестник МГОУ. Серия «Естественные науки». – 2014. – №1 – С. 18-23.

17. Бровко Ф. М. Сучасні проблеми та здобутки лісової рекультивації відвальних ландшафтів в Україні / Ф. М. Бровко // Лісове і садово-паркове господарство. – 2012. – № 1.

18. Бубнов А. Г. Биотестовый анализ – интегральный метод оценки качества объектов окружающей среды : уч.-метод. пособие / [А. Г. Бубнов, С. А. Буймова, А. А. Гущин и др.]; под общ. ред. В. И. Гриневича; Иван. гос. хим.- технол. ун-т. – Иваново, 2007. – 112 с.

19. Бурдина В. М. Анализ эффективности методик биотестирования в экологической оценке загрязненных почв и отходов различного происхождения / В. М. Бурдина, В. А. Терехова // Проблемы биодеструкции техногенных загрязнителей окружающей среды. Мат-лы межд. конф. Саратов, 2005. – С. 125-126.

20. Бухгалтер Э. Б. Рекультивация почвы, загрязненной газовым конденсатом / Э. Б. Бухгалтер, Р. В. Галиулин, В. Н. Башкин, И. Е. Сидорова, А. В. Грунвальд, А. Ю. Семенцов, Р. А. Галиулина // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. – 2008. – №2. – С. 16-18.

21. Вайнерт Э. Биоиндикация загрязнений наземных экосистем: пер. с нем. / [Э. Вайнерт, Р. Вальтер, Т. И. Ветцель и др.; под ред. Р. Шуберта]. – М.: Мир, 1998. – 350 с.

22. Валерко Р. А. Особливості біотестування антропогенно забруднених ґрунтів з метою їх екотоксичної оцінки / Р. А. Валерко // Вісник Харківського національного аграрного університету. Сер.: Ґрунтознавство, агрохімія, землеробство, лісове господарство. – 2013. – № 2. – С. 262-266.

23. Вальков В. Ф. Влияние загрязнения тяжелыми металлами на фитотоксичность чернозема / В. Ф. Вальков, С. И. Колесников, К. Ш. Казеев // Агрохимия. – 1997. – № 6. – С. 50-55.

24. Васильев А. В. Экологический мониторинг токсического загрязнения почвы нефтепродуктами с использованием методов

биотестирования [Электронный ресурс] / А. В. Васильев, В. В. Заболотских, О. В. Тупицына, А. М. Штеренберг // Нефтегазовое дело. – 2012. – №4. – С.242-249. Режим доступа: URL: http://ogbus.ru/authors/VasilyevAV/VasilyevAV_1.pdf

25. Васильконов Е.С. Особенности рекультивации нефтезагрязненных почв Западной Сибири (на примере территории Среднего Приобья): автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.27, 03.00.16 / Васильконов Егор Сергеевич. – М., 2009. – 26 с.

26. Величко О. Вплив нафтового забруднення ґрунту на вміст аскорбінової кислоти та активність аскорбатоксидази в органах рослин люцерни округлої / О. Величко, О. Терек // Наук. вісн. ЛНАВМ ім. С. З. Гжицького. – 2008. – Т. 10, № 3. Ч. 2. – С. 144-148.

27. Величко О. Ефективність функціонування симбіотичної системи *Bradyrhizobium japonicum* - рослини сої у нафтозабрудненому ґрунті / О. Величко // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. – 2012. – Вип. 58. – С. 150-157.

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

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

30. Вільданова-Марцишин Р. І. Скринінг мікроорганізмів-деструкторів вуглеводнів із забруднених нафтопродуктами об'єктів Західної України / Р. І. Вільданова-Марцишин, Т. Я. Покинсьброда, О. Я. Карпенко, В. П. Новіков // Вісн. Нац. ун-ту "Львів. політехніка". – 2008. – № 609. – С. 117-119.

31. Воробейчик Е. Л. Экологическое нормирование техногенных загрязнений наземных экосистем (локальный уровень) / Е. Л. Воробейчик, О. Ф. Садыков, М. Г. Фарафонов. – Екатеринбург: УИФ "Наука", 1994. – 280 с.

32. Воробьев Ю. А. Предупреждение и ликвидация аварийных разливов нефти и нефтепродуктов / Ю. А. Воробьев, В. А. Єкимов, Ю. И. Соколов. – М. : Изд-во "Ин-октаво", 2005. – 368 с.

33. Восстановление нефтезагрязненных почвенных экосистем. / Под ред. М. А. Глазовской. 1988, – 185 с.
34. Габбасова И. М. Деградация и рекультивация почв Башкортостана / И.М. Габбасова; под ред. Ф.Х. Хазиева. – Уфа: Гилем, 2004. – 284 с.
35. Глазовская М. А. Состояние, динамика и диагностика почвенных экосистем, загрязненных нефтью, нефтепродуктами и промышленными водами / М. А. Глазовская // Восстановление нефтезагрязненных почвенных экосистем: Сб. науч. тр. – М.: Наука, 1988. – С. 7–50.
36. Гоголева О. А. Угледородоокисляющие микроорганизмы природных экосистем / О. А. Гоголева, Н. В. Немцева // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН (электронный журнал). – 2012. – № 2; URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2012-2/Articles/GogolevaOA-2012-2.pdf>.
37. Горова А. І. Оцінка токсичності ґрунтів Червоноградського гірничопромислового району за допомогою ростового тесту / А. І. Горова, С. Л. Кулина // Вісник Львівського університету, серія Біологія. – 2008. – Вип. 48. – С. 189-194.
38. Горон М. З. Фітотестування як експрес-метод оцінки токсичності нафтозабруднених ґрунтів / М. З. Горон, Н. М. Джура, О. І. Романюк, Л. З. Шевчик, Н. П. Сенечин, О. І. Терек // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. – 2012. – Вип. 58. – С. 185-192.
39. ГОСТ 17.4.4.02-84. Охрана природы.Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, биологического, гельминтологического анализа // Охрана природы. Почвы. – М.: Издательство стандартов, 1993. – С. 54-64.
40. ГОСТ 26107-84. Почвы. Методы определения общего азота. – М.: Изд-во стандартов, 1984. – 11 с.
41. ГОСТ 26489-85. Почвы. Определение обменного аммония по методу ЦИНАО. – М.: Изд-во стандартов, 1985. – 5 с.

42. ГОСТ 26951-86 Почвы. Определение нитратов ионометрическим методом. М.: Изд-во стандартов, 1986. – 8 с.
43. Гринчишин Н. М. Фітотестування нафтозабруднених ґрунтів / Н. М. Гринчишин, Х. М. Прищеп // Матеріали II Міжнародної науково-практичної конференції “Екологічна безпека як основа сталого розвитку суспільства. Європейський досвід і перспективи”. – Львів, 2015. – С. 58-59.
44. Гринчишин Н. Вертикальна міграція дизельного палива в ґрунтах різного типу / Н. Гринчишин, О. Бабаджанова, Н. Лагуш // Вісник Львівського національного аграрного університету. Серія : Агрономія. – 2014. – № 18. – С. 35-40.
45. Гродзинський Д. М. Застосування рослинних тест-систем для оцінки комбінованої дії факторів різної природи / Д. М. Гродзинський, Ю. В. Шиліна, Н. К. Куцоконь та ін. – Київ: Фітосоціоцентр, 2006. – 60 с.
46. ГСТУ 41-00032626-00-023-2000. “Охорона довкілля. Рекультивація земель під час спорудження нафтових і газових свердловин”, Київ, Міністерство екології та природних ресурсів України, 2000. – 69с.
47. Губачов О. І. Особливості використання рослин для біотестування ґрунтів з метою визначення рівня екологічної безпеки промислових територій / О. І. Губачов // Наук. Вісник КУЕІТУ. Нові технології. – 2010. – № 3 (29). – С. 164–171.
48. Гудзь С. П. Практикум з мікробіології: Підручник: [для студ. вищ. навч. закл.] / С. П. Гудзь, С. О. Гнатуш, Г. В. Яворська, І. С. Білінська, Б. М. Борсукевич – Львів: ЛНУ імені Івана Франка, 2014. – 436 с.
49. Гузев В. С. Техногенные изменения сообщества почвенных микроорганизмов / В. С. Гузев, С. В. Левин // Перспективы развития почвенной биологии: труды всероссийской конференции. – М.: Макс-Пресс, 2001. – С. 178-219.
50. Ґрунти. Визначання рухомих сполук фосфору і калію за модифікованим методом Мачигіна: ДСТУ 4114:2002. – Вид. офіц. – [Чинний

від 01.01.2003]. – К.: Держспоживстандарт України, 2003. – 11с. (Національний стандарт України).

51. Даденко Е. В. Оценка применимости показателей ферментативной активности в биодиагностике и мониторинге почв / Е. В. Даденко, Т. В. Денисова, К. Ш. Казеев, С. И. Колесников // Поволжский экологический журнал. – 2013. – № 4. С. 385-393.

52. Демиденко А. Я. Пути восстановления плодородия нефтезагрязненных почв черноземной зоны Украины / А. Я. Демиденко, В. М. Демурджан // Восстановление нефтезагрязненных почвенных экосистем. М.: Наука, 1988. – С. 197-206.

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

54. Джура Н. М. Вплив нафтового забруднення на вміст макро- та мікроелементів у рослинах *Carex hirta* L. / Н. М. Джура, О. М. Цвілинюк, О. І. Терек // Укр. ботан. журн. – 2007. Т. 64, № 1. – С. 122-131.

55. Джура Н. М. Вплив рослин бобу кормового (*Vicia faba* Var. Minor) на функціонування мікробних асоціацій метаболізму азоту в нафтозабрудненому ґрунті / Н. М. Джура, О. М. Мороз, І. Б. Русин та ін. // Ґрунтознавство. – 2010. – Т. 11, № 3-4. – С. 105-112.

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

57. Джура Н. М. Можливості використання рослинних тест-систем для біомоніторингу нафтозабруднених ґрунтів / Н.М. Джура // Біологічні Студії / Studia Biologica. – 2011. – Том 5, №3. – С. 183-196.

58. Джура Н. М. Перспективи фіторемедіації нафтозабруднених ґрунтів рослинами *Faba bona* Medic. (*Vicia faba* L.) / Н. М. Джура // Вісник Львівського університету. Сер. біол. – 2011. – Вип. 57. – С.117-124.
59. Джура Н. Реакції осоки шершавої на нафтове забруднення / Н. Джура, О. Цвілинюк, О. Терек // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол.. – 2007. – Вип. 42. – С. 142-146.
60. Дмитриев М. Т. Санитарно-химический анализ загрязняющих веществ в окружающей среде / М. Т. Дмитриев, Н. И. Казнина, И. А. Пинигина: Справ. изд. – М.: Химия, 1989. – 368с.
61. Другов Ю. С. Экологические анализы при разливах нефти и нефтепродуктов: практическое руководство / Ю. С. Другов, А. А. Родин. – 2-е издание. – М.: БИНОМ, Лаборатория знаний, 2011. – 270 с.
62. Егорова Е. И. Биотестирование и биоиндикация окружающей среды: учеб. пособие по курсу «Биотестирование» / Е. И. Егорова, В. И. Белолипецкая. – Обнинск: ИАТЭ, 2000. – 80с.
63. Егорова Е. И. Проблемы экологической оценки состояния природной среды в районах размещения атомных электростанций / Е. И. Егорова, Г. В. Козьмин, А. И. Трофимов // Вестн. Рос. акад. естеств. наук. – 2002. – №2. – С. 4-8.
64. Елин Е. С. Биогеохимическая трансформация нефти-загрязнителя и болотного биогеоценоза при их взаимодействии / Е. С. Елин // Вестник экологии, лесоведения и ландшафтоведения. – Тюмень: Изд-во ИПОС СО РАН, 2002. – № 3. – С. 153-166.
65. Єфремова О. О. Біотестування. Сучасний стан практичного використання / О. О. Єфремова, І. П. Крайнов // Вісник Кременчуцького державного політехнічного університету. – 2006. – №6. – С.27 – 30.
66. Загвоздкин В. К. Информационная поддержка управления ликвидацией последствий аварийных разливов нефти и нефтепродуктов: автореф. дис. кандидата технических наук / В.К. Загвоздкин. – Москва, 2007. – 20 с.

67. Зайцев Г. Н. Математика в экспериментальной ботанике / Г. Н. Зайцев. – М.: Наука, 1990. – 296 с.
68. Зверковський В. М. Фітомеліорація шахтних відвалів в Західному Донбасі / В. М. Зверковський // Український ботанічний журнал. – К, 1997. – Вип. 54, № 5. – С. 474-481.
69. Зейферт Д. В. Характер зависимости между концентрацией нефти в почве и ее токсичностью / Д. В. Зейферт, Л. М. Гамерова // Экологический вестник России. – 2012. – №12. – С. 16-19.
70. Зейферт Д. В. Использование кресс-салата как тест-объекта для оценки токсичности природных и сточных вод стерлитамакского промузла / Д. В. Зейферт // Башкирский экологический вестник. – 2010. – № 2. – С. 39-50
71. Зимонина, Н.В. Использование метода альгоиндикации в диагностике нефтезагрязненных торфяных почв [Электронный ресурс] / Н. В. Зимонина // Вестник Института биологии Коми науч. центра УроРАН. – 2002. – №10. – Режим доступа: <http://ib.komisc.ru/add/old/t/ru/ir/vt/02-60/02.html>.
72. Зуев Е. А. Влияние солей тяжелых металлов на биологические показатели злаков: автореф. ...канд. биол. наук. / Е. А. Зуев. Ставрополь, 2002. – 23с.
73. Ибатуллина И. З. Особенности биodeградации нефти в лугово-каштановых почвах Ставропольского края / И. З. Ибатуллина, Т. А. Семенова, А. С. Яковлев // Почвоведение. – 2012. – № 3. – С. 376-384.
74. Ибрагимова С. Т. Биологическое диагностирование нефтезагрязненных почв месторождений Казахстана: автореферат дис. ... канд. биол. наук: 03.00.16 / Ибрагимова Самал Токмагамбетовна. – Алматы, 2009. – 18 с.
75. Илларионов С. А. Роль микромицетов в фитотоксичности нефтезагрязненных почв / С. А. Илларионов, А. В. Назаров, И. Г. Калачникова // Экология. – 2003. – № 5. – С. 341-346.

76. Исмаилов Н. М. Влияние нефтяного загрязнения на круговорот азота в почве / Н. М. Исмаилов // Микробиология. – 1983. – № 6. – С. 1003-1007.

77. Кабиров Р. Р. Оценка биологической активности нефтезагрязненных почв с помощью интегрального показателя / Р. Р. Кабиров, Н. А. Киреева, Т. Р. Кабиров, И. Е. Дубовик, А. Б. Якупова, Л. М. Сафиуллина // Почвоведение. – 2012. – №2. – С. 184-188.

78. Казанцева М. Н. Особенности ответных реакций на слабое нефтяное загрязнение суходольных и заболоченных сосняков южной тайги Западной Сибири / М. Н. Казанцева, Г. А. Размахнина // Вестник экологии, лесоведения и ландшафтоведения. – Тюмень: Изд-во ИПОС СО РАН, 2012. – №12. – С. 42-48.

79. Каралов А. М. Регулирование теплового режима нефтезагрязненных земель в условиях их биологической рекультивации / А. М. Каралов // VIII всесоюз. съезд почвоведов: тезисы докладов. Кн. 1. – Новосибирск, 1989. – С. 37.

80. Касаткина Г. А. Влияние нефтезагрязнения на свойства почв морских террас Финского залива (г. Приморск Ленинградской области) / Г. А. Касаткина, Н. Н. Федорова // Современные проблемы загрязнения: Материалы докладов II Междунар. конференции, Т. II. – Москва: МГУ, 2007. – С. 377-380.

81. Киреева Н. А. Активность карбогидраз в нефтезагрязненных почвах / Н. А. Киреева, Н. И. Новоселова, Ф. Х. Хазиев // Почвоведение. – 1998. № 12. – С. 1444-1448.

82. Киреева Н. А. Биологическая активность нефтезагрязненных почв / Н. А. Киреева, В. В. Водопьянов, А. М. Мифтахова. – Уфа: Гилем, 2001. – 376с.

83. Киреева Н. А. Влияние нефтяного загрязнения на скорость роста микромицетов / Н. А. Киреева, М. Д. Бакаева, Н. Ф. Галимзянова // Проблемы медицинской микологии. – 2005. – Т. 7. №2. – С. 40-41.

84. Киреева Н. А. Детоксикация нефтезагрязненных почв под посевами люцерны (*Medicago sativa* L.) / Н. А. Киреева, Е. М. Тарасенко, М. Д. Бакаева // Агрохимия. – 2004. – № 10. – С. 68-72.
85. Киреева Н. А. Комплексное биотестирование нефтезагрязненных почв / Н. А. Киреева, Т. Р. Кабиров, И. Е. Дубовик // Теоретическая и прикладная экология. – 2007. – 1. – С. 65–69.
86. Киреева Н. А. Микробиологические процессы в нефтезагрязненных почвах. – Уфа: Изд-во БашГУ, 1994. – 171с.
87. Киреева Н. А. Подбор растений для фиторемедиации почв, загрязненных нефтяными углеводородами / Н. А. Киреева, А. С. Григориади, В. В. Водопьянов, А. Р. Амирова // Известия Самарского научного центра РАН. – 2011. – Т. 13, № 5 (2). – С. 184-187.
88. Киреева Н. А. Рост и развитие сорных растений в условиях техногенного загрязнения почвы / Н.А. Киреева, А.М. Мифтахова, Г.Г. Кузяхметов // Вестник Башкирского университета. – 2001. – №1. – С. 32-34.
89. Клименко М. О. Моніторинг довкілля: Підручник / М. О. Клименко, А. М. Прищеп, Н. М. Вознюк. – К.: Видавничий центр “Академія”, 2006. – 360с.
90. Кобзев Е. Н. Исследование устойчивости ассоциации микроорганизмов - нефтедеструкторов в открытой системе / Е. Н. Кобзев, С. Б. Петрикевич, А. Н. Шкидченко // Прикладная биохимия и микробиология. – 2001. – Т. 37, № 4. – С. 413-417.
91. Козлов К. С. Влияние загрязнения почвы нефтепродуктами на дождевых червей: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.16 / К. С. Козлов. – Томск, 2003. – 13с.
92. Колесников С. И. Биодиагностика экологического состояния почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами / С. И. Колесников, К. Ш. Казеев, В. Ф. Вальков, Д. К. Азнаурьян, М. Г. Жаркова. – Ростов-на-Дону: Изд-во ЗАО Ростиздат, 2007. – 192 с.

93. Колесников С. И. Влияние загрязнения нефтью и нефтепродуктами на биологическое состояние чернозема / С. И. Колесников, К. Ш. Казеев, М. Л. Татосян, В. Ф. Вальков // Почвоведение. – 2006. – № 5. – С. 616-620.

94. Колесников С. И. Изменение ферментативной активности чернозема обыкновенного при загрязнении нефтью и нефтепродуктами в модельных экспериментах / С. И. Колесников, М. Л. Татосян, Д. К. Азнаурьян // Доклады Россельхозакадемии. – 2007. – № 5. – С. 32-34.

95. Колесников С. И. Экологическое состояние и функции почв в условиях химического загрязнения / С. И. Колесников, К. Ш. Казеев, В. Ф. Вальков // Ростов н/Д: Изд-во Ростиздат, 2006. – 385 с.

96. Колесниченко А. В. Процессы биodeградации в нефтезагрязнённых почвах / А. В. Колесниченко, А. И. Марченко, Т. П. Побежимова, В. В. Зыкова. – Москва: «Промэкобезопасность», 2004. – 194 с.

97. Колеснікова Л. А. Екотоксикологічна оцінка при вивченні системи ґрунт–рослина / Л. А. Колеснікова // Біологічний вісник Мелітопольського державного педагогічного університету імені Богдана Хмельницького. – 2013. – № 2. – С. 115-127.

98. Кондратюк Е. Н. Исследования и практика рекультивации нарушенных земель в Донбассе / Е. Н. Кондратюк // Интродукция и акклиматизация растений. – 1985. – Вып. 3. – С. 3-6.

99. Корнейкова М. В. Комплексы потенциально патогенных микроскопических грибов в антропогенно загрязненных почвах Кольского Севера / М. В. Корнейкова, Г. А. Евдокимова, Е. В. Лебедева // Микология и фитопатология. – 2012. – Т.46, №5. – С.323-328.

100. Крайнюков О. М. Оцінка екологічної небезпеки нафтохімічного забруднення підземних вод / О. М. Крайнюков // Вісн. Харків. нац. ун-ту ім. В.Н. Каразіна. Сер. Екологія, 2008. – № 801. – С. 52-57.

101. Кузнецов А. Е. Прикладная экобиотехнология: учебное пособие: в 2 т. / А. Е. Кузнецов, Н. Б. Градова, Н. Б. Лушников, М. Энгельхарт, Т. Вайссер, М. В. Чеботаева. – М. : БИНОМ, 2010. – Т. 2. – 485 с.

102. Кузьмин Е. В. Скорость закапывания и выживаемость дождевых червей в условиях нефтяного загрязнения различной интенсивности / Е. В. Кузьмин // Актуальные проблемы экологии Ярославской области: материалы IV научно-практической конференции. Вып. 4. Том 1. – Ярославль: Издание ВВО РАЭ, 2008. – 332 с.
103. Куликов О. В. Техногенные загрязнения нефтепродуктами почв и водных объектов / О. В. Куликов // Бурение. – 2002. – № 12. – С. 24-27.
104. Кучеренко Т. В. Використання біотесту *Allium cepa* L. (цибуля звичайна) для оцінювання антропогенного забруднення навколишнього середовища / Т. В. Кучеренко, Є. О. Головатюк // Агроекологічний журнал. – 2008. – №4. – С. 79-83.
105. Лабутова Н. М. Особенности состояния бактериального и грибного микробоценоза нефтезагрязненной дерново-подзолистой почвы в лабораторных экспериментах / Н. М. Лабутова, А. В. Щерба, А. В. Галова, Е. Е. Орлова // Антропогенная трансформация природной среды: материалы междунар. конференции. – Пермь: Пермский гос. ун-т, 2010. – С. 9-14.
106. Лакин Г. Ф. Биометрия: Учеб. пособие для биол. спец. вузов / Г. Ф. Лакин. – 4-е изд. М.: Высш. шк., 1990. – 352 с.
107. Лапина Г. П. Физико-химические характеристики загрязнения окружающей среды при техногенных катастрофах (разлив нефти) / Г. П. Лапина, Н. М. Чернавская, М. Е. Литвиновский, С. В. Сазанова // Химическая и биологическая безопасность. – 2007. – №1 (31). – С. 24-32.
108. Лебедева Н. А. Возможность рекультивации отвалов Кумертауского угольного разреза без нанесения почвенного слоя / Н. А. Лебедева // Растения и промышленная среда : Сб. науч. тр. – Свердловск, 1984. – С. 78-84.
109. Леднев А. В. Изменение свойств дерново-подзолистых суглинистых почв под действием загрязнения продуктами нефтедобычи и приемы их рекультивации: автореф. дис. ... доктора с-х. наук: 06.01.03 / Леднев Андрей Викторович. – Ижевск, 2008. – 43 с.

110. Лисовицкая О. В. Фитотестирование: основные подходы, проблемы лабораторного метода и современные решения / О. В. Лисовицкая, В. А. Терехова // Доклады по экологическому почвоведению. – 2010. – № 1. – Вып. 13. – С. 1-18.
111. Логинов О. Н. Биотехнологические методы очистки окружающей среды от техногенных загрязнений / Логинов О. Н., Силищев Н. Н., Бойко Т. Ф., Галимзянова Н. Ф. – Уфа: Государственное издательство научнотехнической литературы "Реактив", 2000. – 100 с.
112. Мазур Е. Структура и рекультивация ландшафтов Криворожья / А. Е. Мазур, Н. Г. Сметана // Биологическая рекультивация нарушенных земель. – Екатеринбург : УрО РАН, 1996. – С. 14-16.
113. Максименко О. Е. Динамика восстановления растительности антропогенно нарушенного сфагнового болота на территории нефтепромысла в Среднем Приобье / О. Е. Максименко, Н. А. Червяков, Т. И. Каркишко // Экология. – 1997. – № 4. – С. 243–247.
114. Марфенина О. Е. Антропогенная экология почвенных грибов / Марфенина О. Е. – М.: Медицина для всех. – 2005. – 196 с.
115. Матвеев Ю. М. Проблемы нормирования содержания химических соединений в почве / Ю. М. Матвеев, И. В. Попова, О. В. Чернова // Агрохимия. – 2001. – №12. – С. 54–60.
116. Маячкина Н. В. Особенности биотестирования почв с целью их экотоксикологической оценки / Н. В. Маячкина, М. В. Чугунов // Вестник Нижегородского университета им. Н. И. Лобачевского. – 2009. – № 1. – С. 84-93.
117. Медведева Е. И. Биологическая активность нефтезагрязненных почв в условиях Среднего Поволжья: автореф. дис. ... канд. биол. наук / Медведева Елизавета Игоревна. – Тольятти, 2002. – 18 с.
118. Медведева Е. И. Динамика восстановления нефтезагрязненных почв в условиях Среднего Поволжья / Е. И. Медведева // XII Пущинская школа-конференция молодых ученых «Биология – наука XXI века»: сборник тезисов. – Пущино, 2003 – С. 97.

119. Мельников В. Б. Волновая технология и модульная установка очистки почв и грунтов от загрязнений нефтью и нефтепродуктами / В. Б. Мельников, В. Г. Пименов, В. Г. Андриенко, Е. Г. Горлов // Новые технологии в решении экологических проблем ТЭК: Сборник тезисов 2-ой Международной научно-практической конференции. – Москва, 2007. – С.81-82.

120. Мельников Д. А. Распределение признаков биodeградации углеводородов и оценка технологически важных свойств нефтеокисляющих бактерий: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.23 / Мельников Дмитрий Александрович. – Краснодар, 2005. – 25 с.

121. Методика визначення збитку, обумовленого забрудненням і засміченням земельних ресурсів в результаті порушення природоохоронного законодавства / Міністерство охорони навколишнього природного середовища і ядерної безпеки, Київ. –1998.

122. Мирошниченко Н. Н. Принципы регламентации углеводородного загрязнения почв Украины / Н. Н. Мирошниченко // Почвоведение. – 2008. – №5. – С. 614-622.

123. Міронова Н. Г. Фітомеліорація техногенних водойм Малого Полісся: автореф. дис. ... д-ра с.-г. наук: 06.03.01 / Міронова Наталія Геннадіївна; Держ. ВНЗ Нац. лісотехн. ун-т України. – Львів, 2015. – 40с.

124. Мірошниченко М. М. Зміни родючості ґрунту при вуглеводневому забрудненні / М. М. Мірошниченко, А. І. Фатєєв, Є. В. Панасенко, В. І. Якушко // Вісник аграрної науки. – 2002. – №10. – С. 52-54.

125. Міхєєв О. М. Застосування рослинних тест-систем для оцінки комбінованої дії стресорів різної природи на екосистеми / О. М. Міхєєв, М. І. Гуща, Ю. В. Шиліна, Л. Г. Овсяннікова // Наук. праці. Екологія. – 2006. – 53(40). – С. 56-64.

126. Мокеєва А. В. Ассоциация штаммов бактерий-нефтедеструкторов для ремедиации нефтезагрязненных территорий / А. В. Мокеєва, А. Ю. Алексеев, Е. К. Емельянова, В. А. Забелин, А. В. Заушинцена, А. С. Тараканова,

А. М. Шестопапов, Т. Н. Ильичева // Вестник НГУ. Серия: Биология, клиническая медицина. – 2011. – Т. 9, № 3. – С. 27-34.

127. МР 2.1.7.2297-07. Обоснование класса опасности отходов производства и потребления по фитотоксичности. Методические рекомендации. – Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2007, 15 с.

128. Муратова А. Ю. Использование комплексной фиторемедиации для очистки почвы, загрязненной нефтешламом / А. Ю. Муратова, А. Д. Бондаренкова, Л. В. Панченко, О. В. Турковская // Биотехнология. – 2010. – № 1. – С. 77-84.

129. Муратова А. Ю. Использование люцерны и тростника для фиторемедиации загрязненного углеводородами грунта / А. Ю. Муратова, О. В. Турковская, Т. Хюбнер, П. Кушк // Прикладная биохимия и микробиология. – 2003. – Т. 39 (6). – С. 681-688.

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

131. Мэннинг У. Д. Биомониторинг загрязнения атмосферы с помощью растений / У. Д. Мэннинг, У. А. Федер. – Л. : Гидрометеиздат, 1985. – 144 с.

132. Назаров А. В. Влияние нефтяного загрязнения на бактерии дерновоподзолистой почвы / А. В. Назаров, Л. Н. Ананьина, О. В. Ястребова, Е. Г. Плотникова // Биология почв. – 2010. – № 12. – С. 1489-1493.

133. Назаров А. В. Влияние нефтяного загрязнения почвы на растения / А. В. Назаров // Вестник Пермского университета. – 2007. – Вып. 5 (10). – С. 135–141.

134. Назаров А. В. Изучение причин фитотоксичности нефтезагрязненных почв / А. В. Назаров, С. А. Иларионов // Письма в междунар. науч. журн. „Альтернативная энергетика и экология”. – 2005. – 1. – С. 60-66.

135. Назаров А. В. Использование микробно-растительных ассоциаций для очистки почвы от нефтяного загрязнения / А. В. Назаров // Известия

Самарского научного центра Российской академии наук. – 2013. – Т. 15, № 3(5). – С. 1673-1676.

136. Невзоров В. М. О вредном воздействии нефти на почву / В. М. Невзоров // Известия вузов. Лесной журнал. – 1976. – № 2. – С. 164-165.

137. Нечаева И. А. Стимуляция микробной деструкции нефти в почве путем внесения бактериальной ассоциации и минерального удобрения в лабораторных и полевых условиях / И. А. Нечаева, А. Е. Филонов, Л. И. Ахметов // Биотехнология. – 2009. – № 1. – С. 64-70.

138. Новоселова Е. И. Экологические аспекты трансформации ферментативного пула почвы при нефтяном загрязнении и рекультивации: автореф. дис. ... док. биол. наук / Новоселова Евдокия Ивановна. – Воронеж: ВГУ, 2008. – 42с.

139. Оборин А. А. Биологическая рекультивация нефтезагрязненных земель в условиях таежной зоны / А. А. Оборин, И. Г. Калачникова, Т. А. Масливец, Е. И. Базенкова, О. В. Плещева, А. И. Оглоблина // Восстановление нефтезагрязненных почвенных экосистем: сборник науч. трудов. – М.: Наука, 1988. – С.140-159.

140. Овчинникова И. Н. Экологический риск и загрязнение почв / И. Н. Овчинникова. – М., 2003. – 364 с

141. Оливернусова Л. Оценка состояния окружающей среды методом комплексной биоиндикации / Л. Оливернусова // Биоиндикация и мониторинг. – М: Наука. – 1991. – С. 39-45.

142. Ольхович О. П. Фітоіндикація та фітомоніторинг / О. П. Ольхович, М. М. Мусієнко. – К.: Фітосоціоцентр, 2005. – 64 с.

143. Определитель высших растений Украины // Под ред. Д. Н. Доброчаева, М. И. Котова, и др. – К.: Наук. думка, 1987. – 548 с.

144. Охорона навколишнього середовища від забруднення нафтопродуктами : навч. посібник / О. В. Шестопапов [та ін.]. – Харків : НТУ "ХПІ", 2015. – 116 с.

145. Панасенко Є. В. Вплив агрономеліоративних заходів на відновлення властивостей та родючості нафтозабрудненого чорнозему: автореф. дис... канд. с.-г. наук: 06.01.03 / Панасенко Євгеній Володимирович; Національний науковий центр "Інститут ґрунтознавства та агрохімії ім. О.Н.Соколовського". – Х., 2007. – 24 с.

146. Панасенко Є. В. Вплив вуглеводнів нафти на зміну деяких водних показників чорноземного ґрунту / Є. В. Панасенко // Вісник ХНАУ. Ґрунтознавство. – 2008. – № 2. – С. 132–135.

147. Пархоменко А.Н. Влияние нефти на микроорганизмы круговорота азота в почвах аридной зоны / А. Н. Пархоменко О. Б. Сопрунова // Вестник астраханского государственного технического университета. – 2006. – № 3. – С. 178-182.

148. Патент 16345 Україна, МПК (2006) A01B 79/00 A01B 79/02 (2006.01) A01C 21/00. Спосіб очищення ґрунтів, забруднених нафтою / Н. М. Джура, О. І. Терек, О. М. Цвілинюк. – № U200511816; заявл. 12.12.05; опубл. 15.08.06, Бюл. № 8. – 7с.

149. 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 – №u201505597; заявл. 28.06.2015, опубл. 25.12.2015; Бюл. № 24. – 6 с.

150. Патент 60481 Україна, МПК (2011.01) A01B 79/02 (2006.01) B09C 1/00. Спосіб фітоочищення нафтозабруднених ґрунтів / Н. М. Джура, О. І. Романюк, О. М. Цвілинюк, О. І. Терек. – №u201012943; заявл. 01.11.2010; опубл. 25.06.2011; Бюл. №12. – 4 с.

151. Патент 86572 Україна, МПК A01B 79/00-79/02 B09C 1/00. Спосіб очищення техногенних ґрунтів, забруднених нафтою / Романюк О. І., Шевчик Л. З., Терек О. І. - №u2013 05665; заявл. 30.04.2013; опубл. 10.01.2014; Бюл. №1.

152. Патика В. П. Мікробіологічний моніторинг ґрунту природних та трансформованих екосистем Закарпаття України / В. П. Патика, Л. Ю. Симочко // Мікробіол. журн. – 2013. – 75, № 2. – С. 21-31.

153. Патова Е. Н. Почвенные водоросли в различных зонах влияния нефтеперерабатывающего завода [Электронный ресурс] / Е. Н. Патова // Вестник Института биологии Коми НЦ УрО РАН. – 2002. – №8. – Режим доступа: <http://ib.komisc.ru/add/old/t/ru/ir/vt/02-58/08.html>.

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

155. Петросян А. Г. Біотестування як метод експрес-оцінки токсичності ґрунтів / А. Г. Петросян, С. Є. Дятлов, А. О. Тарасенко, О. С. Дятлова // Вісн. ОНУ. – 2002. – 7(1). – С. 139–145.

156. Плешакова Е. В. Изменение биологической активности загрязненной углеводородами почвы / Е. В. Плешакова, А. Ю. Муратова, О. В. Турковская // Поволжский экологический журнал. – 2011. – № 4. – С. 482-488.

157. Плешакова Е. В. Приемы стимуляции аборигенной нефтеокисляющей микрофлоры / Е. В. Плешакова, Е. В. Дубровская, О. В. Турковская // Биотехнология. – 2005. – №1. – С. 42-50.

158. Плешакова, Е. В. Разработка нового метода определения токсичности нефтезагрязнённой почвы / Е. В. Плешакова // Вестник Саратовского государственного технического университета. – 2010. – № 3, вып. 1. – С. 188-193.

159. Почивалов К. В. Получение и использование сорбентов нефти и нефтепродуктов из отходов полиолефинов / К. В. Почивалов, М. Ю. Бурмистрова, А. В. Владимирова, Р. Ю. Голованов, М. Ю. Юров, Д. Л. Сиганов // Экология и промышленность России. – 2005. – Октябрь. – С. 10-12.

160. Праць-Кравчук Г. Л. Клімат. Природа Львівської області / Г. Л. Праць-Кравчук; за ред. К. І. Геренчука. – Львів: Вид-во при Львів.ун-ті. – 1972. – С.40-59

161. Проведення екологічного моніторингу підземних вод, загазованості та забруднення ґрунтів на території м. Борислава / звіт про науково-дослідну роботу Д1-09 / О. Романюк [та ін.] – Львів: Відділення ФХГК ІнФОХВ імені Л. М. Литвиненка НАН України, 2009. – 33с.

162. Проект конвенции по борьбе с опустыниванием (GTZ CCD) / Катрин Улеманн. – Tulpenfeld 2, D-53113 Bonn. – 40с.
163. Процько Я. І. Вплив нафти та нафтопродуктів на ґрунтовий покрив / Я. І. Процько // Вісник Полтавської державної аграрної академії – 2010. – №2. – С. 189–191.
164. Пукальчик М. А. Экотоксикологическая оценка городских почв и детоксицирующего эффекта нанокпозиционного препарата / М. А. Пукальчик, В. А. Терехова // Вестник МГУ. Серия 17. – Почвоведение. – 2012. – №4. – С. 26-31.
165. РД 41-580 4046-200-91. Охрана окружающей среды при строительстве разведочных и эксплуатационных скважин на нефть и газ. – К.: Госкомгеологии Украины, 1991. – 64 с.
166. Рильський О. Ф. Мікробіологічна біоіндикація довкілля, забрудненого важкими металами та іншими ксенобіотиками / О. Ф. Рильський, Ю. Г. Масікевич // Вісник Запорізького національного університету. Біологічні науки. – 2012. – № 3. – С.139-147.
167. Рогозина Е. А. Некоторые теоретические аспекты восстановления нефтезагрязненных почвенных экосистем [Электронный ресурс] / Е. А. Рогозина, В. К. Шиманский // Нефтегазовая геология. Теория и практика. Т.2. – 2007. – Режим доступа: <http://www.ngtp.ru/rub/7/012.pdf>.
168. Розробка наукових основ комплексного екологічного моніторингу та методології відновлення техногенно зміненого довкілля / звіт по держбюджетній темі / О. Романюк [та ін.] – Львів: Відділення ФХГК ІнФОВ ім. Л. М. Литвиненка НАН України, 2016. – 202 с.
169. Романова К. Н. Трансфер технологий в решении проблемы восстановления нефтезагрязненных почв / К. Н. Романова, М. Д. Назарько, В. Г. Щербаков, В. Г. Лобанов, С. Ю. Ксандопуло, Н. В. Сапрыкина, А. В. Александрова // Известия Вузов. Пищевая технология. – 2007. – № 5-6. – С. 99-97.

170. Романюк О. І. Вплив довготривалої експлуатації Бориславського нафтового родовища на стан ґрунтів м. Борислава / О. І. Романюк, І. В. Дудок, І. В. Ощাপовський, Н. Кучманич // Технології підземного видобутку корисних копалин. Рудникова аерологія та безпека праці. Геологія: Матеріали міжнар. конф. – Дніпропетровськ, 2006. – С. 240-247.

171. 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.

172. 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.

173. Романюк О. І. Комплексний екологічний моніторинг нафтозабруднених територій на прикладі м. Борислава / О. І. Романюк, Л. З. Шевчик // Вісник Вінницького політехнічного інституту. – 2013. – № 5. – С. 19-22.

174. 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), 25-27 вересня, 2013. Збірник наукових статей. – Вінниця: ДІЛО, 2013. – С.177-179.

175. Романюк О. І. Методика екологічного оцінювання нафтозабруднених ґрунтів / О. І. Романюк, Л. З. Шевчик, І. В. Ощাপовський, Т. В. Жак // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія. – 2016. – 24(2). – С. 264–269.

176. Романюк О. І. Розробка методу оцінки токсичності нафтозабруднених ґрунтів для екотоксикологічного моніторингу / О. І. Романюк, Л. З. Шевчик // Екологічні проблеми природокористування та охорона навколишнього

середовища: збірник наукових праць Другої Всеукр наук.-практ. конф. за міжнар. участю (Рівне, 21-23 жовтня 2015). – Рівне: РДГУ, 2015. – С. 157-158.

177. Романюк О. І. Рослинна біомаса – перспективна сировина для отримання синтетичних рідких палив / О. І. Романюк, І. В. Ощеповський, Л. З. Шевчик // Вісник Вінницького політехнічного інституту. – 2015. – №1. – С. 22-28.

178. Романюк О. Розробка методу оцінки токсичності нафтозабруднених ґрунтів / О. Романюк // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. – 2016. – 72. – С. 93-100.

179. 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.

180. Рослинництво: Підручник / С. М. Каленська, О. Я. Шевчук, М. Я. Дмитришак, О. М. Козяр, Г. І. Демидась; За редакцією О. Я. Шевчука. – К.: НАУУ, 2005. – 502 с.

181. Рубин В. М. Оценка фитотоксичности нефтепродуктов в лабораторных условиях / Рубин В. М., Ильюкова И. И. // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2014. – № 1. – С. 73-76.

182. Савосько В. М. Меліорація та фіторекультивация земель: навч. посіб. / В. М. Савосько; Криворіз. держ. пед. ун-т. – Кривий Ріг: Діоніс, 2011. – 187 с.

183. Саксонов М. Н. Экологический мониторинг нефтегазовой отрасли. Физико-химические и биологические методы: учеб. Пособие / М. Н. Саксонов, А. Д. Абалаков, Л. В. Данько, О. А. Бархатова, А. Э. Балаян, Д. И. Стом. – Иркутск: Иркут. ун-т, 2005. – 114 с.

184. Салангинас Л. А. Изменение свойств почв под воздействием нефти и разработка системы мер по их реабилитации / Л. А. Салангинас. – Екатеринбург: Элита-Комплекс, 2003. – 412 с.

185. Салахова Г. М. Изменения эколого-физиологических параметров растений и ризосферной микробиоты в условиях нефтяного загрязнения и рекультивации почвы: автореф. дис. ... к.б.н., – Уфа, 2007. – 23 с.
186. Седых В. Н. Влияние отходов бурения и нефти на физиологическое состояние растений / В. Н. Седых, Л. А. Игнатьев // Сибирский экологический журнал. – 2002. – № 1. – С. 47-52.
187. Середина В. П. Нефтезагрязненные почвы: свойства и рекультивация / В. П. Середина, Т. П. Андреева, Т. П. Алексеева, Т. И. Бурмистрова, Н. Н. Терещенко. – Томск: Изд-во Томский политехнический ун-т, 2006. – 268с.
188. Смольникова В. В. Влияние нефтяного загрязнения на почвенный биоценоз / В. В. Смольникова // XXXVII научно-техническая конференция по итогам работы профессорско-преподавательского состава СевКавГТУ за 2007 год. Том 1. Естественные и точные науки. Технические и прикладные науки: материалы конференции. – Ставрополь: СевКавГТУ, 2008. – 236 с.
189. Собгайда Н. А. Использование отходов производства в качестве сорбентов нефтепродуктов / Н. А. Собгайда, Л. Н. Олышанская, К. Н. Кутукова, Маркарова Ю. А. // Экология и промышленность России. – 2009. – Январь. – С. 36-38.
190. Солнцева Н. П. Добыча нефти и геохимия природных ландшафтов / Н. П. Солнцева. – М.: Изд-во МГУ, 1998. – 376 с.
191. Соловьев В. И. Биоремедиация как основа восстановления нефтезагрязненных почв / В. И. Соловьев, Г. А. Кожанова // Мир экологии. – 2004, – №2. – С. 21-25
192. Соромотин А. В. Влияние нефтяного загрязнения на почвенных беспозвоночных (мезофауны) в таежных лесах Среднего Приобья / А. В. Соромотин // Сибирский экологический журнал. – 1995. – №6. – С. 549-552.
193. Степанова А. Ю. Получение трансгенных растений люцерны посевной (*Medicago sativa* L.) для повышения эффективности фиторемедиации нефтезагрязненных почв / А. Ю. Степанова, Е. В. Орлова, Д. В. Терешонок, Ю. И. Долгих // Экологическая генетика ТОМ XIII – 2015. – № 2. – С. 127-135.

194. 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.
195. Стом Д. И. Трансформация нефти в простейшей трофической цепи / Д. И. Стом, Д. С. Потапов, В. К. Баранская, О. Н. Матвеева, А. Э. Балаян // Проблемы систематики, экологии и токсикологии беспозвоночных. – 2000. – С. 90-95.
196. Сулейманов Р. Р. Изменение буферности почв при загрязнении нефтепромысловыми водами и сырой нефтью / Р. Р. Сулейманов, Ф. И. Назырова // Вестник ОГУ. 2007. – №4. – С. 133-139.
197. Сулейманов Р. Р. Ферментативная активность и агрохимические свойства лугово-аллювиальной почвы в условиях нефтяного загрязнения / Р. Р. Сулейманов, Т. А. Абдрахманов, З. А. Жаббаров, Л. Т. Турсунов // Известия Самарского научного центра РАН. – 2008. – Т.10, №2. – С. 294-298.
198. Суржко Л. Ф. Утилизация нефти в почве и воде микробными клетками / Л. Ф. Суржко, З. И. Финкельштейн, Б. П. Баскунов, М. И. Янкевич, В. И. Яковлев, Л. А. Головлева // Микробиология. – 1995. – Т. 64, № 3. – С. 393-398.
199. Сухонослова А. Н. Очистка почв от нефтяного загрязнения и оценка ее эффективности / А. Н. Сухонослова, В. А. Бурлака, Д. Е. Быков, И. В. Бурлака, Н. В. Бурлака // Экология и промышленность России. – 2009. – октябрь. – С. 18-20.
200. Сэги Й. Методы почвенной микробиологии / Й. Сэги. М.:1. Колос, 1983. – С. 107-109.
201. Терек О. І. Фізіологічні аспекти адаптації рослин до нафтозабрудненого ґрунту / О. І. Терек, О. І. Величко, Н. М. Джура // Фізіологія рослин: проблеми та перспективи розвитку: зб. наук. пр. К.: Логос, 2009. – Т. 1. – С. 217-225.
202. Терехова В. А. Екотоксикологічна оцінка біосорбенту нафти з метою сертифікації / В. А. Терехова, І. Б. Арчегова, Ф. М. Хабибуллина,

В. Г. Пугачов, Г. М. Тулянкін // Экология и промышленность России. – 2006. – № 3. – С.34-37.

203. Терехова В. А. Экотоксикологическая оценка повышенного содержания фосфора в почвогрунте по тест-реакциям растений на разных стадиях развития / В. А. Терехова, Д. Б. Домашнев, М. А. Каниськин, А. В. Степачев // Проблемы агрохимии и экологии. – 2009. – №3. – С. 21-26.

204. Терехова В. А. Микромицеты в экологической оценке водных и наземных экосистем / В. А. Терехова. – М.: Наука, 2007. – 215 с.

205. Травлєєв А. П. Теоретичні основи лісової рекультивації порушених земель у західному Донбасі на Дніпропетровщині / А. П. Травлєєв, Н. А. Белова, В. М. Зверковський // Ґрунтознавство. – 2005. – Т. 16, № 1-2. – С. 19-29.

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

207. Трублаевич Ж. М. Оценка токсичности почв с помощью лабораторной культуры коллембол *Folmosia candida* / Ж. М. Трублаевич, Е. Н. Семенова // Экология. – 1997. – №5. – С. 377- 381.

208. Турковская О. В. Использование активного ила в процессах биоремедиации / О. В. Турковская, Л. В. Панченко, А. Ю. Муратова, Е. В. Дубровская, Е. В. Плешакова, Н. Н. Позднякова // Экобиотехнология: борьба с нефтяным загрязнением окружающей среды. Тез. докл. конф. Пушино: ИБФМ РАН, 2001. – С. 73-74.

209. Тюленева В. А. К вопросу исследования фильтрации нефти в почвах / В. А. Тюленева, В. А. Соляник, И. В. Васькина // Вісник КДПУ. – 2006. – Вип. 2/2006 (37), ч. 2. – С. 110-112.

210. Фарахова И. З. Агрохимические свойства и приемы рекультивации нефтезагрязненных серых лесных почв Предкамья Республики Татарстан: автореф. дисс. ... канд. с/х. наук: 06.01.04 / Фарахова Ильсия Закариевна; Казан. гос. аграр. ун-т. – К., 2009. – 20 с.

211. Федорова А. И. Биоиндикация загрязнения городской среды / А. И. Федорова // Известия РАН. Сер. Геогр. 2002. – № 1. – С. 72-80.
212. Фесенко І. М. Оцінка та контроль впливу відходів буріння нафтогазових свердловин на ґрунти / І. М. Фесенко, І. А. Решетов, М. М. Фесенко // Екологія довкілля та безпека життєдіяльності. – 2003. – № 3. – С. 36-40.
213. Фомин Г. С. Почва. Контроль качества и экологической безопасности по международным стандартам / Г. С. Фомин, А. Г. Фомин. – Справочник. М: «Протектор», 2001. – 304 с.
214. Франчук Г. М. Оцінювання забруднення ґрунтів нафтопродуктами внаслідок діяльності автозаправних станцій / Г. М. Франчук, М. М. Радомська // Вісн. Нац. авіац. ун-ту. – 2009. – № 1. – С. 46-49.
215. Хабибуллина Ф. М. Трансформация сообщества микромицетов в торфяно-глеевых почвах Крайнего Севера при нефтяном загрязнении / Ф. М. Хабибуллина, И. З. Ибатуллина // Теоретическая и прикладная экология. – 2011. – № 3. – С. 76-86.
216. Хазиев Ф. Х. Экология почв Башкортостана / Ф. Х. Хазиев. – Уфа: АН РБ, Гилем, 2012. – 312 с.
217. Халилова А. Ф. Биодegradация углеводов в почве с различной кислотностью и оценка способов ее стимуляции / А. Ф. Халилова, А. П. Денисова // Экология России: на пути к инновациям: Межвуз. Сборник научных трудов. – Астрахань, 2009. – С. 210-214.
218. Халимов Э. Н. Экологические и микробиологические аспекты повреждающего действия нефти на свойства почвы / Э. Н. Халимов, С. В. Левин, В. С. Гузев // Вестник МГУ. Сер. 17. – 1996. – № 2. – С. 59-64.
219. Хлесткин Р. Н. О ликвидации разливов нефти при помощи растительных отходов / Р. Н. Хлесткин, Н. А. Самойлов // Нефтяное хозяйство. – 2000. № 7. – С. 84- 85.
220. Цайтлер М. Й. Відновлення рослинного покриву і зміни структури ценопопуляцій трав'яних рослин на нафтозабруднених територіях

Бориславського нафтового родовища: автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.16. Дніпропетровськ. – 2001. – 16 с.

221. Цайтлер М. Й. Екологічні наслідки озокеритовидобутку на Бориславському родовищі / М. Цайтлер, О. Романюк, Г. Гвоздецька // Проблеми екології та екологічної освіти: матер. II Міжнар.наук. конф. – Кривий Ріг, 2003. – С. 189-190.

222. Чижов Б. Е. Деградационно-восстановительная динамика лесных фитоценозов после нефтяного загрязнения / Б. Е. Чижов, А. И. Захаров, Г. А. Гаркунов // Леса и лесное хозяйство Западной Сибири. Вып. 6: сб. науч. тр. – Тюмень: Изд-во ТюмГУ, 1998. – С. 160-172.

223. Чопик В. И. Дикорастущие полезные растения Украины / В. И. Чопик, Л. Г. Дудченко, А. Н. Краснова. – Киев: Наук. думка, 1983. – 410 с.

224. Шамраев А. В. Влияние нефти и нефтепродуктов на различные компоненты окружающей среды / А. В. Шамраев, Т. С. Шорина // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2009. – № 6(100). – С. 642–645.

225. Шаркова С. Ю. Изменение химических характеристик почвы под действием нефтезагрязнения / С. Ю. Шаркова // Известия ПгПу им. В. Г. Белинского. – 2011. – № 25. – С. 610-613.

226. Швед О. В. Екологічна біотехнологія: Навч.посібник у 2 кн. Кн. I / О. В. Швед, О. Б. Миколів, О. З. Комаровська-Порохнявець, В. П. Новіков. – Львів: Видавництво Національного університету “Львівська політехніка”, 2010. – 424с.

227. Шевчик Л. З. Використання обліпихи крушиновидної для фіторе mediaції нафтозабруднених ґрунтів / Л. З. Шевчик, О. І. Романюк // Biological Bulletin of Bogdan Chmelnytsky Melitopol State Pedagogical University. – 2016. – Vol. 6(3). – P. 472–480.

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

229. Шевчик Л. Вплив абіотичних факторів на випаровування нафти з ґрунту / Л. Шевчик, Н. Джура, О. Романюк, О. Цвілінюк, 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.

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

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

232. 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 2014р., смт. Шацьк). – Львів: СПОЛОМ, 2014. – С.101-102.

233. 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.

234. Шевчик Л. З. Оцінка стану пилку та пігментів у листках рослин обліпіхи 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 2015 р., смт. Шацьк). – Львів: СПОЛОМ, 2015. – С.114-115.

235. 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

VIII міжнар. конф. студентів та аспірантів (м. Львів, 16-19 квітня 2013 р.). – Львів, 2013. – С. 234-235.

236. 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 2014 р.). – Львів, 2014. – С. 130-131.

237. Шкидченко А. Н. Изучение нефтеструктивной активности микрофлоры прибрежной зоны Каспийского моря / А. Н. Шкидченко, М. У. Аринбасаров // Прикл. биохимия и микробиология. 2002. – Т. 38, № 5. – С. 509-512.

238. Штина Э. А. Водоросли загрязненных нефтью почв / Э. А. Штина, К. А. Некрасова // Восстановление нефтезагрязненных почвенных экосистем. – М.: Наука, 1988. – С.57-81.

239. Штогрин О. Д. Підземні води четвертинних відкладів Передкарпаття / О. Д. Штогрин. – Київ: Вид-во АН Укр.РСР. – 1963. – 138 с.

240. Шувалов Ю. В. Очистка грунтов от загрязнения нефтью и нефтепродуктами / Ю. В. Шувалов, Е. А. Синькова, Д. Н. Кузьмин // Горный информационно-аналитический бюллетень. – 2004. – № 12. – С. 107-117.

241. Шунелько Е. В. Экологическая оценка городских почв и выявление уровня токсичности тяжелых металлов методом биотестирования / Е. В. Шунелько, А. И. Федорова // Вестн. Воронеж. Гос. ун-та. География и экология. – 2000. – №4. – С. 77-83

242. Щемелинина Т. Н. Биологическая активность нефтезагрязненных почв Крайнего севера на разных стадиях их восстановления и при рекультивации (на примере Усинского района Республики Коми): автореф. дис. канд. биол. наук: 03.00.27, 03.00.16 / Щемелинина Татьяна Николаевна. – Воронеж, 2008. – 24 с.

243. Экологический мониторинг: учебно-методическое пособие / под ред. Т.Я. Ашихминой. – М.: Академический проект, 2006. – 416 с.

244. Якість ґрунту. Визначання рН (ISO10390:2005, IDT): ДСТУ ISO10390:2007. – Вид. офіц. – [Чинний від 01.10.2009]. – К.: Держспоживстандарт України, 2009. – 12с. (Національний стандарт України).
245. Abdel Ghany T. M. Rhizosphere Microorganisms as Inducers for Phytoremediation a Review / Abdel Ghany T. M., Mohamed A. Al Abboud, Moustafa E. Negm, Abdel-Rahman M. Shater // International Journal of Bioinformatics and Biomedical Engineering. – 2015. – Vol. 1, №1, p. 7-15.
246. Adam G. The effect of diesel fuel on common vetch (*Vicia sativa* L.) plants / G. Adam, H. Duncan // Environ. Geochem. Hlth. – 2003. – V.25. – P. 123-130.
247. Amadi A. Remediation of Oil Polluted Soils. I. Organic and Inorganic Nutrient Supplements on the performans of Maize / A. Amadi, A. A. Dickson, G. O. Maate // Water, Air, and Soil Pollut. – 1993. – V. 66, № 1-2. – P. 59-76
248. Anjana S. Biodegradation of diesel hydrocarbon in soil by bioaugmentation of *Pseudomonas aeruginosa*: a laboratory scale study / S. Anjana, K. Poonam, B. R. Meenal // International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation. – 2014. – Vol. 2, № 4, P. 202-212.
249. Aprill W. Evaluation of the use of prairie grasses for stimulating polycyclic aromatic hydrocarbon treatment in soil / W. Aprill, R. C. Sims // Chemosphere. – 1990. – 20. – P. 253-265.
250. Baker E. Molecular responses of *Frankia* sp. strain QA3 to naphthalene / E. Baker, Y. Tang, F.X. Chu, L.S. Tisa // Canadian Journal of Microbiology. – 2015. – 61(4). – P. 281-292.
251. Banks M. K. Degradation of crude oil in the rhizosphere of *Sorghum bicolor* / M. K. Banks, P. Kulakow, A. P. Schwab, Z. Chen, K. Rathbone // Intern. J. Phytoremediation. – 2003. – Vol. 5, № 3. – P. 225-234.
252. Banks M. K. Comparison of plants for germination toxicity tests in petroleum contaminated soil / M. K. Banks, K. E. Schultz // Water, Air, and Soil Pollution. – 2005. – Vol.167. – P. 211-219.

253. Bartos P. Toxic effect of methyl tert-butyl ether on growth of soil isolate *Pseudomonas veronii* T1/1 / P. Bartos, M. Balazs // World J Microbiol Biotechnol. – 2008. – Vol. 24. – P. 875-878.
254. Belyaev S. S. Halotolerant and extremely halophilic oil-oxidizing bacteria in oil fields / S. S. Belyaev, I. A. Borzenov, E. I. Milekhina, I. S. Zvyagintseva, M.V. Ivanov // Microbial Enhancement of Oil Recovery Recent Advances. – 1993. – 39. – P. 79-88.
255. Blankenship D. W. Plant growth inhibition by the water extract of a crude oil / D. W. Blankenship R. A. Larson // Water, Air and Soil Pollut. – 1978. – Vol. 10, №4. – P. 471-472.
256. Blok C. Microbiotest to Assess the Phytotoxic Potential of Growing Media and Soils / C. Blok, G. Persoone, G. A Wever // Annual Symposium of the International Society of Horticultural Sciences. Book of Abstracts, Angers, France, 2005, poster.
257. Boopathy R. Factors limiting bioremediation technologies / R. Boopathy // Bioresource Technology. – 2000. – Vol. 74. – P. 63-67.
258. Brandt R. Potential of vetiver (*Vetiveria zizanioides* (L.) Nash) for phytoremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soils in Venezuela / R. Brandt, N. Merkl, R. Schultze-Kraft, C. Infante, G. Broll // Int J Phytoremediation. – 2006. – № 8. – P. 273-284.
259. Chaillan F. Identification and biodegradation potential of tropical aerobic hydrocarbon-degrading microorganisms / F. Chaillan, A. Le Fleche, E. Bury, Y. H. Phantavong, P. Grimont, A. Saliot, J. Oudot // Research in microbiology. – 2004. – V. 155 (7). – P. 587-595.
260. Collins C. D. Implementing phytoremediation of petroleum hydrocarbons / C. D. Collins // Phytorem. Methods in Biotechnol. – 2007. – V. 23. – P. 99-108.
261. Cook R. L. Field note: successful establishment of a phytoremediation system at a petroleum hydrocarbon contaminated shallow aquifer: trends, trials, and

tribulations / R. L. Cook, J. E. Landmeyer, B. Atkinson, J. P. Messier, E. G. Nichols // International Journal of Phytoremediation. – 2010. – №12. – P. 716-732.

262. Cruz J. M. Toxicity assessment of contaminated soil using seeds as bioindicators / J. M. Cruz, P. R. M. Lopes, R. N. Montagnolli, I. S. Tamada, N. M. Silva, E. D. Bidoia // Journal of Applied Biotechnology. – 2013. – 1. – P. 1-10.

263. Cunningham S. D. Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants / S. D. Cunningham, T. A. Anderson, A. P. Schwab, F. C. Hsu // Adv.Agron. – 1996. – Vol. 56. – P. 55- 114.

264. Czerniawska-Kusza I. Comparison of the Phytotoxkit microbiotest and chemical variables for toxicity evaluation of sediments / I. Czerniawska-Kusza, T. Ciesielczuk, G. Kusza, A. Cichon // Environmental Toxicology. – 2006. – 21(4). – P. 367-372.

265. Dakora F. D. Root exudates as mediators of mineral acquisition in lownutrient environments / F. D. Dakora, D. A. Phillips // Plant and Soil. – 2002. – Vol. 245. – P. 35-47.

266. Di Salvatore M. Assessment of heavy metals phytotoxicity using seed germination and root elongation tests: A comparison of two growth substrates / M. Di Salvatore, A. M. Carafa, G. Carrat // Chemosphere. – 2008. – 73(9). – P. 1461-1464.

267. Domene X. Ecotoxicological assessment of organic wastes using the soil collembolan *Folsomia candida* / X. Domene, J. M. Alcañiz, P. Andrés // Appl Soil Ecol. – 2007. – 35. – P. 461-472.

268. Dominguez-Rosado E. Phytoremediation of Soil Contaminated with Used Motor Oil: I. Enhanced Microbial Activities from Laboratory and Growth Chamber Studies / E. Dominguez-Rosado, J. Pichtel, M. Coughlin // Environmental Engineering Science. – 2004. – Vol. 21, № 2. – P. 157-168.

269. Dorn P. B. Temporal ecological assessment of oil contaminated soils before and after bioremediation / P. B. Dorn, J. P. Salanitro // Chemosphere. – 2000. – 40. – P. 419-426

270. Dushenkov S. M. Phytoremediation: a novel approach to an old problem / S. M. Dushenkov, Y. Kapulniv, M. Blaylock // *Global Enviromental Biotechnology* Ed. Wise D. Y. Amsterdam. – 1997 – P. 563–572.
271. Dzhura N. Using plants for recultivation of oil-polluted soils / N. Dzhura, O. Romanyuk, I. Oshchapovsky et al. // *J. Environmental protection and ecology*. – 2008. – Vol. 9, № 1. – P. 55–59.
272. El-Sheekh M. M. Comparative Studies on the Green Algae *Chlorella Homosphaera* and *Chlorella Vulgaris* with to Oil Pollution in the River Nile / M. M. El-Sheekh, A. H. El-Naggar, M. E. H. Osman, A. Haieder // *Plant and Soil*. – 2004. – Vol. 267. – P. 191-206.
273. Evdokimova G. A. Complexes of potentially pathogenic microscopic fungi in anthropogenic polluted soils / G. A. Evdokimova, M. V. Korneykova, E. V. Lebedeva // *Environmental science and health. Part A*. – 2013. – Vol. 48. – P.746- 752.
274. Flathman P. E. Phytoremediation: Current views on an emerging green technology / P. E. Flathman, G. R. Lanza // *Journal of Soil Contamination*. – 1998. – 7 (4). – P. 415-432.
275. Frassinetti S. Biodegradation of dibenzothiophene by a nodulating isolate of *Rhizobium meliloti* / S. Frassinetti, L. Setti, A. Corti et. ol. // *Microbiol*. – 1998. – № 44. – P. 289–297.
276. Frick C. M. Assessment of phytoremediation as an in situ technique for cleaning oil-contaminated sites / C. M. Frick, R. E. Farrell, J. J. Germida. – PTAC Petroleum Technology Alliance, Canada, Calgary, 1999. – 88 p.
277. Gerhardt K. E. Phytoremediation and rhizoremediation of organic soil contaminants: Potential and challenges / K. E. Gerhardt, X.-D. Huang, B. R Glick, B. M. Greenberg // *Plant Science*. – 2009. – 176 (1). – P. 20-30.
278. Gorsuch J. Comparative toxicities of six heavy metals using root elongation and shoot growth in three plant species / J. Gorsuch, R. Merrilee, E. Anderson // *Environmental toxicology and risk assessment*. – 1995. – Vol. 3. – P. 377-391.

279. Gramms G. Oxidoreductase enzymes liberated by plant roots and their effects on soil humic material / G. Gramms, K. D. Voigt, B. Kirsche // *Chemosphere*. – 1999. – Vol. 38, № 7. – P. 1481-1494.
280. Grant W. F. The present status of higher plant for the detection of environmental mutagens / W. F. Grant // *Mutation Research*. – 1994. – Vol. 310, №2. – P. 175-185.
281. Griffin L.F. Toxic effect in water-soluble fractions of crude, refined and weathered oils on the growth of a marine bacterium / L. F. Griffin, G. A. Calder // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1997. – V. 33, №5. – P. 1092-1101.
282. Gudin, C. Biological aspects of land rehabilitation following hydrocarbon contamination / C. Gudin, W.J. Syrratt // *Environ. Pollut.* - 1975. - V.8. - P. 107-112.
283. Hentati O. Toxicity assessment for petroleum-contaminated soil using terrestrial invertebrates and plant bioassays / O. Hentati, R. Lachhab, M. Ayadi, M. Ksibi // *Environ Monit Asses.* – 2013. – 185. – P. 2989-2998.
284. Hoeppel R. E. Bioventing soils contaminated with petroleum hydrocarbons / R. E. Hoeppel, R. E. Hinchey, M. F. Arthur // *J. Industr. Microbiol.* – 1991. – V.8. – P. 141-146.
285. Hund-Rinke K. Avoidance Test with *Eisenia fetida* as indicator for the habitat function of soils: results of a laboratory comparison test / K. Hund-Rinke, R. Achazi, J. Rombke, D. Warnecke // *Journal of Soils and Sediments*. – 2003. – 3 (1). – P.1- 6.
286. Ilyina A. Isolation of soil bacteria for bioremediation of hydrocarbon contamination / A. Ilyina, M. I. Castillo Sanchez, J. A. Villarreal Sanchez, G. Ramirez Esquivel // *Вестн. Моск. Ун-та. сер. 2. Химия*. – 2003. – Т. 44, № 1 – С. 88-91.
287. Kaimi E. Screening of twelve plant species for phytoremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soil / E. Kaimi, T. Mukaidani, M. Tamaki // *Plant Prod Sci.* – 2007. – 10. – P. 211-218.

288. Kamath R. Phytoremediation of hydrocarbon-contaminated soils: principles and applications / R. Kamath, J. A. Rentz, J. L. Schnoor, P. J. J. Alvarez // Studies in surface science and catalysis. – 2004. – 151. – P. 447–478.
289. Khalilova H. Kh. The impact of oil contamination on soil ecosystem / H. Kh. Khalilova // J. Biological and Chemical Research. 2015. – 2 (3). – P.133-139.
290. Korade D. L. Effect of organic contaminants on seed germination of *Lolium multiflorum* in soil / D. L. Korade, M. H. Fulekar // Biol Med. – 2009. – 1. – P. 28-34.
291. Kuiper I. Rhizoremediation: a beneficial plant-microbe interaction / I. Kuiper, E. L. Lagendijk, G. V. Bloemberg, Ben J. J. Lugtenberg // Amer. Phytopathol. Soc. – 2004. – V.17, №1. – P. 6-15.
292. Lee E. H. Bioremediation of diesel contaminated soils by natural attenuation, Biostimulation and Bioaugmentation employing *Rhodococcus* sp. EH831 / E. H. Lee, Y. S. Kang, K.S. Cho // Korean Journal Microbiology Biotechnology. – 2011. – 39(1). – P. 86-92.
293. Lopez-Martinez S. Contaminated soil phytoremediation by *Cyperus laxus* Lam. cytochrome P450 Erod-activity induced by hydrocarbons in roots / S. Lopez-Martinez, M. E. Gallegos-Martinez, L. J. Perez-Flores, M. Gutierrez-Rojas // Int. J. Phytorem. – 2008. – 10. – P. 289-301.
294. Ma T. H. Genotoxic agents detected by plant bioassays / T. H. Ma, G. L. Carberra, E. Owens // Reviews on Environ Health. – 2005. – Vol. 20 (5). – P. 1-13.
295. Ma T. H. Tradescantia-micronucleus (TradMCN) tests on 140 health-related agents / T. H. Ma, M. M. Harris, V. A. Anderson, I. A. Mohammad, J. Bare, G. Lin // Mutaiton Research. – 1984. – Vol. 138. – P.157-167.
296. Maila M. P. Germination of *Lepidium sativum* as a method to evaluate polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) removal from contaminated soil / M. P. Maila, T. E. Cloete // International Biodeterioration and Biodegradation. – 2002. – 50. – P. 107-113.

297. Malara A. Application of a battery of biotests for the determination of leachate toxicity to bacteria and invertebrates from sewage sludge-amended soil / A. Malara, P. Oleszczuk // *Environ Sci Pollut Res.* – 2013. – 20 (5). – 3435-3446.
298. Margesin R. Monitoring of bioremediation by soil biological activities / R. Margesin, A. Zimmerbauer, F. Schinner // *Chemosphere.* – 2000. – Vol. 40. – P. 339-346.
299. McGill W.B. Soil restoration following oil spills // *J. Canad. Petrol. Technol.* 1977. – V. 16, №2. – P. 60-67.
300. Meagher R. B. Phytoremediation of toxic elements and organic pollutants / R. B. Meagher // *Curr Opin Plant Biol.* – 2000. – 3. – P. 153-162.
301. Merkl N. Assessment of tropical grasses and legumes for phytoremediation of petroleum-contaminated soils / N. Merkl, R. Schultze-Kroft, C. Infant // *Water Air Soil Pollut.* – 2005. – 165. – P. 195-209.
302. Njoku K. L. Growth and performance of *Glycine max* L. (Merrill) in crude oil contaminated soil augmented with cow dung / K. L. Njoku, M. O. Akinola, B. O. Oboh // *Nat. Sci.* 2008. – 6(1). – P. 48-58.
303. Oleszczuk P. Testing of different plants to determine influence of physico-chemical properties and contaminants content on municipal sewage sludges phytotoxicity / P. Oleszczuk // *Environ Toxicol.* – 2010. – 25. – P. 38-47.
304. Oshchapovskyy I. Remediation of oil-contaminated soils: development and application / I. Oshchapovskyy, O. Romanyuk, L. Shevchyk // 19th International scientific conference “EcoBalt 2014”, October 8-10, 2014. - Riga, Latvia, University of Latvia press. – P.45.
305. Oshchapovskyy I. Remediation of oil-contaminated soils: development and application / I. Oshchapovskyy, O. Romaniuk, L. Shevchyk // 9th International Forum Science and Technology days Poland-East, (Suprasl, 2015). – p16.
306. Ouyang W. Comparison of bio-augmentation and composting for remediation of oily sludge: A field-scale study in China / W. Ouyang, H. Liu, V. Murygina // *Process Biochem.* – 2005. – V. 40, № 12. – P. 3763-3768.

307. Persoone G. Recent new microbiotests for cost-effective toxicity monitoring: the Rapidtoxkit and the Phytotoxkit // 12th International Symposium on Toxicity Assessment - Book of Abstracts, 2005. – P. 112.
308. Phillips L. A. Field- scale assessment of weathered hydrocarbon degradation by mixed and single plant treatments / L. A. Phillips, C. W. Greer, R. E. Farrell, J. J. Germida // Appl. Soil Ecol. – 2009. – V. 42. – P. 9-17.
309. Pivetz B. E. Phytoremediation of Contaminated Soil and Ground water at Hazardous Waste Sites. – EPA Ground Water Issue, EPA/540/S-01/500. – Ada, Ok, 2001. – 36p.
310. Popa A. Activitatea dehidrogenazica in sol ca test ecotoxicologic pentru poluanti anorganici si organic / A. Popa // Studia Univ. Babes-Bolyai, Biol. – 1999. – 64(1-2). – P.169-178.
311. Prince R. C. The primary aerobic biodegradation of gasoline hydrocarbons / R. C. Prince, T. F. Parkerton, C. Lee // Environ. Sci. Technol. – 2007. – Vol.41, №9. – P. 3316-3321.
312. Rehan M. *Frankia* as a Biodegrading Agent / M. Rehan, E. Swanson, L.S. Tisa // Biochemistry, Genetics and Molecular Biology. – 2016. – Chapter 11. – P. 271-290.
313. Rhykerd R. L. Impact of bulking agents, forced aeration and tillage on remediation of oil-contaminated soil // R. L. Rhykerd, B. Crews, K. J. McInnes, R. W. Weaver // Biores Technol. – 1999. – 67. – 279-285
314. Schaefer M. Earthworms in crude oil contaminated soils : Toxicity tests and effects on crude oil degradation / M. Schaefer // Environ. Asses. Remed. 2001. – Vol. 8. – P. 35-37.
315. Schnoor J. L. Phytoremediation of soil and groundwater; Technology Evaluation Report TE-02-01; Groundwater Remediation Technologies Analysis Centre (GWRTAC): Pittsburgh, PA, USA, 2002, 45 p.
316. Schroder P. Prospects for the phytoremediation of organic pollutants in Europe / P. Schroder, P. J. Harvey, J. P. Schwitzguebel // Environ. Sci. Pollut. Res. – 2002. – 9(1). – P. 1-3.

317. Sharifi M. Germination and growth of six plant species on contaminated soil with spent oil / M. Sharifi, Y. Sadeghi, M. Akbarpour // Int. J. Environ. Sci. Tech. – 2007. – № 4 (4). – P. 463-470.
318. Shaw L. J. Biodegradation of organic pollutants in the rhizosphere / L. J. Shaw, R. G. Burns // Advances in applied microbiology. – 2003. – V. 53. – P. 1-47.
319. 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. – Electronic edition on CD-ROM. – P. 74-75.
320. Shevchyk L. The optimal way of biological cleaning of oil-contaminated soils / L. Shevchyk, O. Romaniuk // Mediterranean Journal of Biosciences. – 2016. – 1(3). – P. 109-113. <http://ojs.medjbio.com/index.php/medjbio/article/view/396>.
321. Siciliano S. D. Biolog analysis and fatty acid methyl ester profiles indicate that *Pseudomonas* inoculants that promote phytoremediation alter the root associated microbial community of *Bromus biebersteinii* / S. D. Siciliano, J. J. Germida // Soil Biol. Biochem. – 1998. – 30. – P. 1717-1723.
322. Sikkema J. Mechanisms of Membrane Toxicity of Hydrocarbons / J. Sikkema, A. M. de Bont, B. Poolman // Microbiological REVIEWS. – 1995. – Vol. 59, № 2. – P. 201-222.
323. Singh A. Advances in Applied Bioremediation (Soil Biology) / A. Singh, R. C. Kuhad, O. P. Ward. – Verlag Berl in Heidelberg, 2009. – 361 p.
324. Susarla S. Phytoremediation: an ecological solution to organic chemical contamination / S. Susarla, V.F. Medina, S.C. McCutcheon // Ecol. Engineer. – 2002. – V. 18. – P. 647-658.
325. Telysheva G. Use of plants to remediate soil polluted with oil / G. Telysheva, L. Jashina, G. Lebedeva et al. // Environment. Technology. Resources. Proceedings of the 8th Int. Scientific and Practical Conf. – Vol. 1. – 2011. – P. 38-45.

326. Ting Y. P. Bioremediation of petroleum hydrocarbons in soil microcosms / Y. P. Ting, H. L. Hu, H. M. Tan // *Resource and Environmental Biotechnology*. – 1999. – 2. – P. 197–218.

327. Vasudevan N. Bioremediation of oil sludge-contaminated soil / N. Vasudevan, P. Rajaram // *Environment International*. – 2001. – Vol. 26. – P. 409–411.

328. Wang J. Phytoremediation of petroleum polluted soil / J. Wang, Z. Zhang, Y. Su, W. He, F. He, H. Song // *Petroleum Science*. – 2008. – Vol. 5, № 2. – P. 167–171.

329. Wang W. Use of millet root elongation for toxicity tests of phenolic compounds / W. Wang // *Environ. Int.* – 1985 – Vol.11. – P. 95–98.

330. Wang X., Sun C., Gao S., Wang L., Shuokui H. Validation of germination rate and root elongation as indicator to assess phytotoxicity with *Cucumis sativus* // *Chemosphere*, 2001, Vol. 44, № 8, p. 1711 – 1721.

331. Wojcik T. Biotechnologia w remediacji zanieczyszczen organicznych / T. Wojcik, B. Tomaszewska // *Biotechnologia* – 2005. – Vol.(4)71. – P.156–172.

332. Wyszowska J. Correlation between number of microbes and degree of soil contamination by petrol / J. Wyszowska, J. Kucharski // *Polish Journal of Environmental Studies*. – 2001. – № 3. – P. 175–181.

333. Yan L. The use of plants, including trees to remediate oil contaminated soils: A review and empirical study / L. Yan // M.Sc. Thesis, Department of Forest Sciences, University of Helsinki, Finland, 2012. – 78p.

334. Yateem A. Plants-associated microflora and the remediation of oil-contaminated soil / A. Yateem, M. T. Balba, A. S. El-Nawawy, N. Al-Awadhi // *Int J Phytoremediation*. – 2000. – 2(3). – P. 183–191.