

ОКСИДОРЕДУКТАЗНА АКТИВНІСТЬ ҐРУНТІВ В УМОВАХ НАФТОВОГО ЗАБРУДНЕННЯ ТА ФІТОРЕМЕДІАЦІЇ

М. Мекіч*, Л. Буньо, О. Терек

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: Horon.Marta@gmail.com; olha.terek@lnu.edu.ua

Досліджено вплив нафтового забруднення і фітореємедіації за участю рослин кукурудзи (*Zea mays* L.) та бобу (*Vicia faba* var. Minor) на оксидоредуктазну активність ґрунтів. Дрібноділянковий дослід проведено в польових умовах. Нафту вносили у ґрунт у кількості 50 мл на 1 кг ґрунту (4,2 %). Ферментативну активність ґрунту визначали на першому етапі дослідження – до висаджування рослин і появи сходів (10-та, 22-га і 30-та доба) та другому етапі з вегетацією фітореємедіантів (65-та і 95-та доба). Показано, що каталазна активність (КА) ґрунту знижувалася на початковому етапі забруднення та зростала на другому за дії нафтового забруднення ґрунту порівняно з контролем. Зниження ферментативної активності ґрунту може свідчити про пригнічення активності мікрофлори ґрунту внаслідок токсичного впливу нафтових вуглеводнів для мікрофлори ґрунту, відновлення ферментативної активності – про зменшення токсичного впливу нафти зі зростанням тривалості забруднення. Встановлено головний ефект впливу рослин, тобто КА була більшою для ґрунтів із рослинами, ніж без рослин. Ефект впливу рослин кукурудзи на КА для нафтозабрудненого ґрунту був більший, ніж для ґрунту без рослин (достовірний ефект взаємодії $p < 0,01$). Дегідрогеназна активність (ДА) нафтозабрудненого ґрунту знижувалася протягом усього досліджуваного періоду порівняно з контрольним ґрунтом. Головний ефект впливу рослин на ДА ґрунту був статистично значущим ($p < 0,05$). Для нафтозабрудненого ґрунту стимулюючий вплив рослин бобу був більший, ніж для ґрунту без нафти (достовірний ефект взаємодії $p < 0,05$). Ефект взаємодії між нафтою та рослинами може бути пов'язаний із оптимізацією умов ґрунтового середовища у кореневій зоні рослин для життєдіяльності мікроорганізмів, що інтенсифікує використання останніми нафтових вуглеводнів як субстрату для живлення.

Поліфенолоксидазна активність ґрунту (ПФО) знижувалася на 95-ту добу за дії нафтового забруднення ґрунту порівняно з контролем. У ґрунті без нафти стимулювальний вплив на активність даного ферменту мали рослини *Z. mays* та *V. faba* порівняно з ґрунтом без рослин, для нафтозабрудненого ґрунту – лише рослини *Z. mays* порівняно із забрудненим ґрунтом з рослинами. Збільшення ферментативної активності ґрунту за участю рослин свідчить про практичну доцільність використання їх для реємедіації нафтозабруднених ґрунтів.

Ключові слова: фітореємедіація, нафтове забруднення ґрунту, каталаза, дегідрогеназа, поліфенолоксидаза

Нафта, потрапляючи у ґрунт, включається в такі процеси, як вимивання у нижні горизонти ґрунту, сорбція органічною речовиною ґрунту, біотична деградація [20]. В основі біотичної деградації лежить здатність мікроорганізмів включати нафтові вуглеводні у свій метаболізм. Вона проходить через дві фази: початкова швидка фаза та наступна

повільна фаза. Швидку фазу деградації нафти лімітує рівень утилізації мікроорганізмами легкодоступних і вільних вуглеводнів нафти, тоді як повільну фазу – десорбція вуглеводнів із ґрунту і їхня біодоступність [22, 24]. Біотична деградація, в основному, відбувається за участю бактерій і грибів. Стверджують, що змішані популяції мікроорганізмів із широким ензиматичним спектром є необхідними, щоб розкласти складну суміш нафтових вуглеводнів [22]. У процесі деградації нафти відбуваються зміни у мікробному угрупованні (чисельність, видовий склад), що позначається на ферментному пулі ґрунту [24].

Початковим етапом деструкції органічних забруднювачів є окисдатовний процес, який каталізують ферменти класу оксидоредуктаз. Загальний шлях деградації вуглеводнів нафти мікроорганізмами відбувається через послідовне окислення до спиртів, альдегідів, а потім кислот. Подальші процеси можуть проходити різними шляхами: деградація з утворенням метаболічних прекурсорів (ацетил-СоА тощо) або деградація до вуглекислого газу та води [21, 22]. Ключовими ґрунтовими оксидоредуктазами є каталаза, дегідрогеназа, поліфенолоксидаза [17].

Одним зі способів стимулювання біоремедіаційних процесів є використання рослин, стійких до нафтового забруднення, – фіторемедіантів. Зростання рівня біодеградації нафти за участю рослин показано кількома дослідниками. Фіторемедіаційний ефект пов'язаний зі створенням сприятливих умов для функціонування мікрофлори в кореневій зоні рослин [5, 23, 28]. Вплив рослин на ґрунтову екосистему має континуальний характер і розширюється за рахунок мікоризи. Мікоризосфера включає в себе ризосферу як зону впливу коріння та асоційованих мікроорганізмів і гіфосферу як зону впливу міцелію. Відомо, що ґрунтові бактерії здатні колонізувати міцелій і утворювати біоплівки [1, 22].

З метою ремедіації нафтозабрудненого ґрунту ми використовували рослини кукурудзи (*Zea mays* L.) сорту Закарпатська жовта зубоподібна та бобу кормового (*Vicia faba* var. Minor). Відомо, що ці види рослин толерантні до дії нафтового забруднення і сприяють зростанню чисельності мікроорганізмів-деградаторів нафти й інтенсифікації деградації нафтових вуглеводнів у ризосфері [5, 6, 23, 28, 31, 32].

Завдання нашого дослідження - оцінити вплив нафти і фіторемедіації на оксидоредуктазну активність ґрунтів – каталазну, дегідрогеназну, поліфенолоксидазну.

Матеріали та методи

Нами було закладено дрібноділянковий дослід у польових умовах (м. Судова Вишня). Розмір ділянки $1 \times 0,5 \times 0,25$ м³ у 3 повторностях. Дно ділянки вистеляли поліетиленовою плівкою з прорізами. Яму засипали ґрунтом (вологість 13,4 %) і перемішували з нафтою (густина нафти 0,87 г/см³) у кількості 50 мл на кг ґрунту (4,2 %). Контролем слугував ґрунт без внесення нафти. На 22-гу добу після внесення нафти (цей термін необхідний для вивітрювання найбільш токсичних вуглеводнів нафти) [15] висівали насіння рослин кукурудзи та бобу. Проби ґрунту відбирали на 10-ту, 22-гу, 30-ту добу (перший етап досліду до появи сходів рослин) і на 65-ту (4 тижні вегетації рослин) та 95-ту (8 тижнів вегетації рослин) добу після внесення нафти (другий етап із вегетацією фіторемедіантів).

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

Розміщення ділянок із нафтою у шаховому порядку – для того, щоб забезпечити рівномірний вплив нафтового забруднення (випаровування токсичних вуглеводнів, вимивання) на варіанти без нафти; розміщення ділянок із рослинами – рендомізоване [7].

Проби ґрунту відбирали на глибині 3–7 см із кореневмісного шару ґрунту і на відповідній глибині у варіантах без рослин. На кожній ділянці досліду брали одну змішану пробу, яку готували із 5 індивідуальних проб, відібраних методом конверта. Зразки ґрунту готували відповідно до методики аналізу [9].

Ферментативну активність визначали у ґрунтах, висушених до повітряно-сухого стану. Каталазну активність визначали газометричним методом за кількістю виділеного O_2 при розкладанні H_2O_2 , дегідрогеназну активність – фотоколориметрично за концентрацією утвореного трифеніл формазону (ТФФ) [16], поліфенолоксидазну активність – титруванням залишку аскорбінової кислоти йодометричним методом [4].

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

Досліджували вплив таких факторів як нафтове забруднення та фіторемедіація. Під фактором “нафтове забруднення” розуміємо комплекс умов (фізико-механічних і хімічних), які формуються у ґрунті за потрапляння нафти (порушення водних властивостей ґрунту й повітряного режиму, дефіцит елементів живлення тощо).

Під фактором “фіторемедіація” розуміємо технологію, яка застосовується для елімінації забруднення з ґрунту за допомогою різних механізмів [18].

1) однофакторний дисперсійний аналіз для оцінки впливу нафтового забруднення ґрунту на показники оксидоредуктазної активності ґрунту за експериментальними даними для 10-ї, 22-ї, 30-ї доби досліджень;

2) двофакторний дисперсійний аналіз для оцінки впливу нафтового забруднення ґрунту і фіторемедіації на досліджувані показники для 65-ї та 95-ї доби досліджень;

3) однофакторний дисперсійний аналіз для оцінки ефекту впливу фіторемедіації на оксидоредуктазну активність ґрунту;

4) ефект взаємодії факторів нафтове забруднення та фіторемедіація: як вплив рослин на досліджувані показники ґрунту залежить від наявності нафти (за результатами двофакторного й однофакторного дисперсійного аналізу).

Для опрацювання даних використовували мову програмування R, створену спеціально для статистичного аналізу даних [29]. Оцінку достовірності впливу фокусного фактора й ефекту взаємодії проводили за критерієм F-Фішера. Обчислювали розмір ефекту (η^2) – показник частки мінливості результативної ознаки, зумовленої досліджуваним фактором на фоні впливу всіх факторів (контрольованих і неконтрольованих) [19]. Simple effect η^2 – простий ефект впливу (для кожного рівня фактора) та partial η^2 – частковий ефект, або частка впливу (враховуючи вплив фокусного фактора і неконтрольованих факторів) за даними дисперсійного аналізу за формулами:

$$\eta_{simple}^2 = \frac{SS_{treatment}}{SS_{total}}$$

де $SS_{treatment}$ – міжгрупова сума квадратів відхилень (мінливість зумовлена досліджуваним фактором), SS_{total} – загальна сума квадратів відхилень.

$$\eta_{partial}^2 = \frac{SS_{effect}}{SS_{effect} + SS_{residuals}}$$

де SS_{effect} – міжгрупова сума квадратів відхилень для фокусного фактора, $SS_{residuals}$ – внутрішньогрупова сума квадратів відхилень. Для порівняння середніх значень варіантів проведено тест Tukey’s HSD [29].

Результати і їхнє обговорення

Деградація вуглеводнів нафти у ґрунті пов'язана з активністю окисно-відновних ферментів. Активність цих ферментів може бути одним із індикаторів процесу деградації нафти й очищення ґрунту. КА залежить від дози забруднення, типу нафти, властивостей ґрунту [13, 16].

За результатами двофакторного дисперсійного аналізу для першого етапу дослідження встановлено достовірний вплив нафти ($p < 0,05$), а вплив рослин (всіяного насіння) – недостовірний. Ця умова дає змогу обчислити вплив нафти як головного фактора за функцією дисперсійного аналізу (main effect). Відповідно подано середні значення для незабрудненого ґрунту (варіанти 1, 2, 3) і нафтозабрудненого ґрунту (4, 5, 6) (див. таблицю).

Активність оксидоредуктаз нафтозабруднених ґрунтів (початковий етап дослідження)

Варіант	Активність каталази, мл O_2 /хв×г ґрунту		Активність дегідрогенази, мг ТФФ/ 10 г ґрунту		Активність поліфенолоксидази, мл 0,01 KJO_3 / 100 г ґрунту	
	ґрунт	ґрунт	ґрунт	ґрунт	ґрунт	ґрунт
	без нафти*	з нафтою**	без нафти*	з нафтою**	без нафти*	з нафтою**
10-та доба	6,31±0,45a	5±0,45a	0,25±0,04a	0,09±0,01b	4±0,6a	3,9±0,5a
22-га доба	4,25±0,55b	1,37±0,25c	0,23±0,02a	0,07±0,008b	3,3±0,9a	4,6±0,6a
30-та доба	3,25±0,55b	1,62±0,39c	0,22±0,02a	0,05±0,005b	3,6±0,7a	3,1±0,7a

Примітки: Результати обчислені за функцією дисперсійного аналізу “головний ефект” (main effect) для фактора нафта.

* середнє значення для варіантів 1, 2 і 3

** середнє значення для варіантів 4, 5 і 6

Дані, позначені однією літерою, вірогідно не відрізняються, $p < 0,05$.

Comments: Data are product of function “main effect” for factor oil

*average mean for treatments 1, 2 and 3

**average mean for treatments 4, 5 and 6

Data marked by the same letter do not differ significantly, $p < 0,05$.

Нами встановлено, що на 10-ту добу дослідження каталазна активність ґрунту не змінювалася порівняно з контролем. Однак на 22-гу добу КА ґрунту становила 34 % від контролю, на 30-ту добу – 50 % (див. таблицю). Зниження КА свідчить про токсичний вплив нафти на ґрунтову біоту. Зниження каталазної активності у ґрунті пов'язують із наявністю фенолу в нафті, важких металів, надлишком органічної речовини нафти, збагаченої сіркою, сірководнем, меркаптанами, які є інгібіторами цього ферменту, а також зі зменшенням концентрації кисню і зниженням кількості аеробних груп мікроорганізмів у результаті закупорення повітряних пор і порожнин ґрунту [10]. Встановлено зниження КА за дії нафти, кореляцію КА із рівнем деградації нафтових вуглеводнів [3, 30, 34].

Проте пізніше КА ґрунту зростала: на 65-ту добу – на 160 %, на 95-ту добу – на 151 % порівняно з контролем (рис. 1).

Зростання каталазної активності може бути пов'язане зі зменшенням токсичного ефекту нафти і стимулюючим впливом вуглеводнів на життєдіяльність мікроорганізмів [2], зокрема, піридину, гідрохінону й альфа-нафтолу [13]. Зростання каталазної активності ґрунту за дії нафти спостерігали у низці досліджень: за 1 % і 5 % для чорнозему та для сірого лісового ґрунту [2], за 3 % і 6 % для чорнозему [8], за 10 л/м² для сірого лісового ґрунту [11]. Висока каталазна активність ґрунту важлива для підтримання оптимальних умов життєдіяльності мікроорганізмів у ґрунті, зокрема, для знешкодження токсичних сполук пероксиду водню. Кисень, що утворюється за участю каталази, можуть використовувати ґрунтові мікроорганізми, які є деструкторами нафти [14].

Вплив рослин на КА ґрунту на 65-ту добу був недостовірним, на 95-ту – вплив рослин кукурудзи залежав від нафтового забруднення ($p < 0,01$) – ефект впливу кукурудзи

зростає, вплив рослин бобу – недостовірний. КА зростала у ґрунті без нафти за дії кукурудзи на 11 % порівняно із ґрунтом без рослин (варіант 1 щодо варіанта 3), $\eta^2=0,12$; за дії нафти – на 37 % щодо нафтозабрудненого ґрунту без рослин (варіант 4 щодо варіанта 6), $\eta^2=0,35$. Зростання ефекту впливу кукурудзи на активність каталази за дії нафти свідчить про інтенсифікацію оксидоредуктазної активності мікробіоти в кореневій зоні рослин.

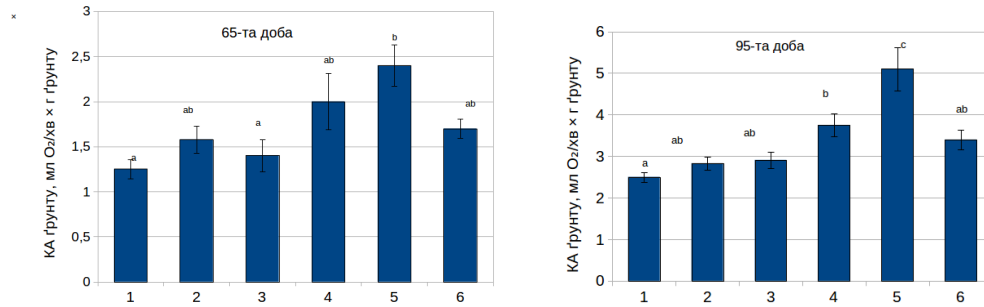


Рис. 1. Каталазна активність ґрунту за умов нафтового забруднення та фітореMediaції.

Варіанти: 1 – ґрунт без нафти (контроль), 2 – ґрунт без нафти + рослини *Z. mays*, 3 – ґрунт без нафти + рослини *V. faba*, 4 – нафтозабруднений ґрунт без рослин (4,2 %), 5 – нафтозабруднений ґрунт + рослини *Z. mays*, 6 – нафтозабруднений ґрунт + рослини *V. faba*. Дані, позначені однією літерою, вірогідно не відрізняються, $p < 0,05$

Fig. 1. Soil catalase activity in the oil-polluted soil during phytoremediation.

Effect of oil contamination and phytoremediation on dehydrogenase soil activity. Treatments: 1 – soil without oil (control), 2 – soil planted with *Z. mays*, 3 – soil planted with *V. faba*, 4 – oil contaminated soil, 5 – oil contaminated soil planted with *Z. mays*, 6 – oil contaminated soil planted with *V. faba*. Data marked by the same letter do not differ significantly, $p < 0,05$

Стимулюючий вплив на КА ґрунту за дії нафти показано для рослин *Carex hirta* L. [3], кукурудзи [12]. Корені рослин виділяють оксидоредуктази, які можуть брати участь у деградації забрудників ґрунту [18].

Дегідрогенази є ключовими ферментами дихального циклу мікроорганізмів; їх використовують як індикатор оксидативної активності мікроорганізмів у ґрунті [27]. Ці ферменти локалізовані лише в інтактних клітинах, тому можуть відображати лише активну мікробну біомасу [36]. Є дані, що дегідрогенази беруть участь у біодеградації нафтових вуглеводнів [10].

Нами встановлено, що протягом початкового періоду нафтового забруднення ДА ґрунту була зниженою: середнє значення активності ферменту за 10-ту, 22-ту і 30-ту доби становило 30 % щодо контролю (див. таблицю). Інгібуючий вплив нафти на 65-ту добу – зниження ДА на 57 %, на 95-ту – на 22 % порівняно з контролем (рис. 2). Встановлено позитивний ефект взаємодії між нафтою і рослинами бобу на 65-ту добу ($p < 0,05$). Встановлено стимулювання ДА для незабрудненого ґрунту з рослинами кукурудзи удвічі (варіант 1 щодо варіанта 3) ($\eta^2=0,71$), із рослинами бобу – в 1,8 разу (варіант 1 щодо варіанта 3) ($\eta^2= 0,66$). За дії нафти вплив рослин кукурудзи на ДА був недостовірним ($p < 0,54$, $\eta^2=0,43$), за дії нафти і бобу – ферментативна активність зростала у 2,8 разу порівняно з нафтозабрудненим ґрунтом без рослин ($\eta^2=0,73$).

На 95-ту добу ефект взаємодії між факторами нафта і фітореMediaція недостовірний ($P < 0,2$). У ґрунті без нафти з рослинами кукурудзи ДА зростала удвічі ($\eta^2= 0,41$), з рослинами бобу – в 2,4 разу ($\eta^2= 0,68$). За дії нафти і рослин кукурудзи ДА ґрунту не змінювалася ($\eta^2=$

0,44), за дії нафти і бобу – зростала на 78 % порівняно з нафтозабрудненим ґрунтом без рослин ($\eta^2=0,73$).

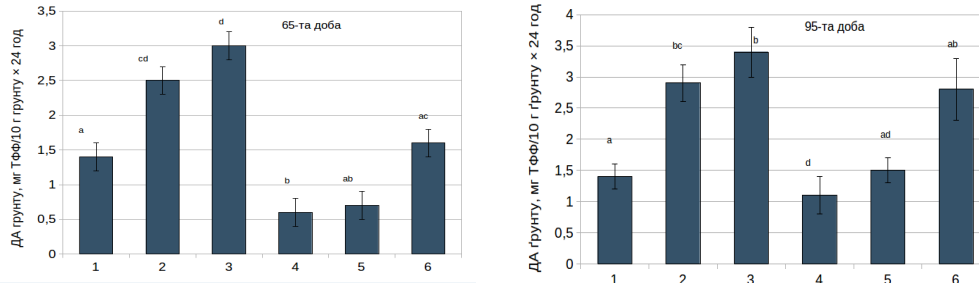


Рис. 2. Дегідрогеназна активність ґрунту за умов нафтового забруднення та фітореMediaції. Варіанти: 1 – ґрунт без нафти (контроль), 2 – ґрунт без нафти + рослини *Z. mays*, 3 – ґрунт без нафти + рослини *V. faba*, 4 – нафтозабруднений ґрунт без рослин (4,2 %), 5 – нафтозабруднений ґрунт + рослини *Z. mays*, 6 – нафтозабруднений ґрунт + рослини *V. faba*. Дані, позначені однією літерою, вірогідно не відрізняються, $p < 0,05$

Fig.2. Soil dehydrogenase activity in the oil-polluted soil during phytoremediation

Effect of oil contamination and phytoremediation on dehydrogenase soil activity. Treatments: 1 – soil without oil (control), 2 – soil planted with *Z. mays*, 3 – soil planted with *V. faba*, 4 – oil contaminated soil, 5 – oil contaminated soil planted with *Z. mays*, 6 – oil contaminated soil planted with *V. faba*. Data market by the same letter do not differ significantly, $p < 0,05$

Інгібуючий вплив нафтозабрудненого ґрунту, очевидно, пов'язаний із токсичною дією нафтових вуглеводнів на мікроорганізми. Виявлено негативний зв'язок між активністю дегідрогенази і наявністю деяких токсичних сполук, наприклад, фенолів, ароматичних вуглеводнів, органічних кислот (бензойна, пальмітинова, саліцилова кислоти) у концентрації 1 % [27]. Показано зниження ДА за забруднення ґрунту 50 г/кг ґрунту як у міжрядді, так і в ризосфері рослин *Carex hirta* [3].

Деякі дослідження вказують на позитивну кореляцію між ДА ґрунту, рівнем деградації вуглеводнів і дихальною активністю мікроорганізмів [26, 27]. Зростання ДА на нафтозабруднених ґрунтах пов'язують з адаптацією і розмноженням деструкторів. Встановлено, що сира нафта, н-гексадекан та л-гексадеканол, очищені нафтопродукти стимулювали активність дегідрогенази [34].

Активність дегідрогенази зростала у нафтозабрудненому ґрунті через рік вегетації рослин *Bromus biebersteinii* Rohman і Schult та *Medicago sativa* L. порівняно з контрольним ґрунтом без рослин [33]. В умовах нафтового забруднення ДА ґрунту була більшою в ризосфері представників роду *Panicum*, рослин *Eleusine indica* (L.) Gaerth, *Festuca arundinacea* Schreb порівняно з варіантом без рослин, тоді як КА відповідно була нижчою [36]. Стимулювання ДА ґрунту за умов фітореMediaції пов'язане зі збільшенням активності ґрунтової мікрофлори у прикореневому шарі рослин. Відомо, що коренева система рослин покращує фізичні властивості ґрунту (щільність, аерованість); кореневі виділення мікроорганізми використовують як додаткове джерело поживних речовин [18, 25].

ґрунтові фенолоксидази відіграють важливу роль у розкладанні різних ксенобіотиків. Ферменти поліфенолоксидаза (ПФО) і пероксидаза беруть участь в окисленні ароматичних сполук фенолів до хінонів і в подальшій їхній трансформації - в молекули гумусових речовин [10].

За умов нафтового забруднення ПФО активність ґрунту була така ж, як у контролі, протягом початкового періоду від внесення нафти і на 65-ту добу (див. таблицю, рис. 3). На 95-ту добу нафта мала інгібуючий вплив на активність ПФО: зниження ПФО активності у 3 рази порівняно з контрольним ґрунтом.

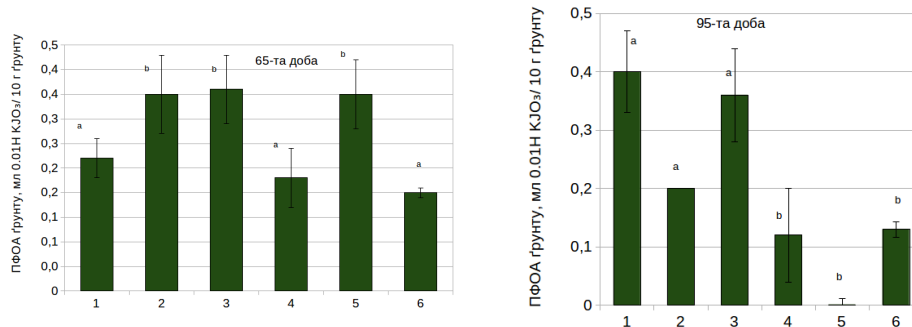


Рис. 3. Поліфенолоксидазна активність ґрунту за умов нафтового забруднення та фіторе mediaції.

Варіанти: 1 – ґрунт без нафти (контроль), 2 – ґрунт без нафти + рослини *Z. mays*, 3 – ґрунт без нафти + рослини *V. faba*, 4 – нафтозабруднений ґрунт без рослин (4,2 %), 5 – нафтозабруднений ґрунт + рослини *Z. mays*, 6 – нафтозабруднений ґрунт + рослини *V. faba*. Дані, позначені однією літерою, вірогідно не відрізняються, $p < 0,05$

Fig. 3. The soil polyphenol oxidase enzyme activity in the oil-polluted soil during phytoremediation

Treatments: 1 – soil without oil (control), 2 – soil planted with *Z. mays*, 3 – soil planted with *V. faba*, 4 – oil contaminated soil, 5 – oil contaminated soil planted with *Z. mays*, 6 – oil contaminated soil planted with *V. faba*. Data market by the same letter do not differ significantly, $p < 0,05$

Рослини стимулювали ПФО активність ґрунту на 65-ту добу в 1,5 разу порівняно із ґрунтом без рослин, за умов нафтового забруднення стимулюючий вплив мали тільки рослини кукурудзи – в 1,7 разу (варіант 5 щодо варіанта 4). Ефект взаємодії між нафтою і рослинами не встановлено. На 95-ту добу вплив рослин був статистично незначний.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Антоняк Г. Л., Калинець-Мамчур З. І., Дудка І. О. та ін. Екологія грибів: монографія. Львів: ЛНУ імені Івана Франка, 2013. 628 с.
2. Бородулина Т. С. Влияние нефтезагрязнения окружающей среды на ростовые и физиологические характеристики опытных живых организмов // Проблемы современной аграрной науки: Материалы Междунар. заочной науч. конф. Красноярск, 2010. С. 39–41.
3. Буньо Л. В. Ферментативна активність нафтозабрудненого ґрунту в кореневій зоні рослин *Carex hirta* L. // Gruntoznavstvo. 2013. Vol. 14. № 3–4. С. 43–51.
4. Грицаєнко З. М., Грицаєнко А. О., Карпенко В. П. Методи біологічних та агрохімічних досліджень рослин і ґрунтів. К.: Нічлава, 2003. 320 с.
5. Джура Н. М., Романюк О. І., Гонсьор Ян та ін. Використання рослин для рекультиватії ґрунтів, забруднених нафтою і нафтопродуктами // Екологія та ноосферологія. 2006. Т. 17. № 1–2. С. 55–60.
6. Джура Н. М., Мороз О. М., Русин І. Б. та ін. Вплив рослин бобу кормового (*Vicia faba* var. minor) на функціонування мікробних асоціацій метаболізму азоту в забрудненому нафтою ґрунті // Ґрунтознавство. 2010. Т. 11. № 3–4. С. 105–112.

7. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). 5-е изд., доп. и перераб. М.: Агропромиздат, 1985. 351 с.
8. Ермакова О. Ю., Шорина И. А., Мисетов И. А. и др. Оценка фитотоксичности чернозема южного Оренбургской области в условиях разных доз нефтяного загрязнения // Вестн. Оренбургск. гос. ун-та. 2011. Вып. 20. № 12. С. 399–403.
9. Казеев К. Ш., Колесников С. И., Вальков В. Ф. Биологическая диагностика и индикация почв: методология и методы исследований. Ростов н/Д: Изд-во Рост. ун-та, 2003. 204 с.
10. Киреева Н. А., Водолятов В. В., Мифтахова А. М. Биологическая активность нефтезагрязненных почв. Уфа: Гилем, 2001. 376 с.
11. Мекіч М., Джура Н., Терек О. Ферментативна активність нафтозабруднених ґрунтів у процесі фіторекультивациі рослинами кукурудзи (*Zea mays* L.) // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2015. Вип. 69. С. 140–147.
12. Мекіч М., Карпін О., Цвілинюк О. та ін. Каталазна активність нафтозабруднених ґрунтів у процесі фіторекультивациі // Молодь та поступ біології: Міжнар. наук. конф. студентів і аспірантів. Львів: ЛНУ ім. І. Франка, 2013. Т. IX. С. 214–215.
13. Новоселова Е. И. Экологические аспекты трансформации ферментного пула почвы при нефтяном загрязнении и рекультивации: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Воронеж, 2001. 334 с.
14. Новоселова Е. И., Киреева Н. А. Ферментативная активность почв в условиях нефтяного загрязнения и её биодиагностическое значение // Теоретическая и прикладная экология. 2009. № 2. <http://envjournal.ru/ari/v2009/v2/09201.pdf>
15. Пиковский Ю. И. Трансформация техногенных потоков нефти в почвенных экосистемах // Восстановление нефтезагрязненных почвенных экосистем. М.: Наука, 1988. С. 7–22.
16. Хазиев Ф. Х. Методы почвенной энзимологии. М.: Наука, 2005. 252 с.
17. Хазиев Ф. Х. Системно-экологический анализ ферментативной активности почв. М.: Наука, 1982. 203 с.
18. Alkorta I., Garbisa C. Phytoremediation of organic contaminants in soils // Bioresource Technology. 2001. Vol. 79. P. 273–276.
19. Brown J. D. Effect size and eta squared // Shiken: JALT Testing & Evaluation. SIG Newsletter. 2008. Vol. 12 (2). P. 38–43.
20. Chaîneau C. H., Yepremian C., Vidalie J. F. et al. Bioremediation of a crude oil-polluted soil: biodegradation, leaching and toxicity assessments // Water Air Soil Pollut. 2003. Vol. 144. P. 419–440.
21. Chi-Yuan Fan, Krishnamurthy S. Enzymes for enhancing bioremediation of petroleum-contaminated soils: a brief review // J. Air Waste Manag. Assoc. 1995. Vol. 45. N 6. P. 453–460.
22. Das N., Chandran P. Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: an overview // Biotechnol Res Int. 2010. Vol. 2011. P. 13.
23. Diab E. Phytoremediation of oil contaminated desert soil using the rhizosphere effects // Global J. Environ. Res. 2008. Vol. 2. N 2. P. 66–73.
24. Kaplan Ch. W., Kitts Ch. L. Bacterial succession in a petroleum land treatment unit // Appl. Environ. Microbiol. 2004. Vol. 70. No. 3. P. 1777–1786.
25. Kirk J. L., Klironomos J. N., Hung Lee, Trevors J. T. The effects of perennial ryegrass and alfalfa on microbial abundance and diversity in petroleum contaminated soil // Environ. Pollut. 2005. Vol. 133. P. 455–465.

26. *Maila M. P., Cloete T. E.* The use of biological activities to monitor the removal of fuel contaminants – perspective for monitoring hydrocarbon contamination: a review // *Int. Biodeterior. Biodegradation*. 2005. Vol. 55. P. 1–8.
27. *Margesin R., Zimmerbauer A., Schinner F.* Monitoring of bioremediation by soil biological activities // *Chemosphere*. 2000. Vol. 40. P. 339–346.
28. *Marinescu M., Dumitru M., Lăcătușu A.* et al. The evolution of maize biomass in a crude oil polluted soil according to applied treatment // *Scientific Papers Series. Agronomy*. 2011. Vol. LIV. P. 287–293.
29. *McDonald J. H.* Handbook of Biological Statistics (3rd ed.). Sparky House Publishing: Baltimore, Maryland, 2014. <http://www.biostathandbook.com/index.html>
30. *Onwosi C. O., Odimba J. N., Igbokwe V. C.* et al. Principal component analysis reveals microbial biomass carbon as an effective bioindicator of health status of petroleum-polluted agricultural soil // *Environ. Technol.* 2020. Vol. 41. P. 3178–3190.
31. *Qianxin Lin, Mendelssohn I. A.* The combined effects of phytoremediation and biostimulation in enhancing habitat restoration and oil degradation of petroleum contaminated wetlands // *Ecological Engineering*. 1998. Vol. 10. P. 263–274.
32. *Telysheva G., Jashina L., Lebedeva G.* et al. Use of plants to remediate soil polluted with oil // *Environment. Technology. Resources. Proceedings of the 8th International Scientific and Practical Conference*. 2011. Vol. 1. P. 38–45.
33. *Timmernan L. G., Fuller, Burton D. L.* The effects of a crude oil spill on microbiological indices of soil biological quality // *Can. J. Soil. Sci.* 2003. Vol. 83. P. 173–181.
34. *Sang-Hwan Lee, Bang-Il Oh, Jeong-Gyu Kim.* Effect of various amendments on heavy mineral oil bioremediation and soil microbial activity // *Bioresour. Technol.* 2007. Vol. 99. P. 2578–2587.
35. *Xin Lin, Xiao Jun, Sun Peiju T.* et al. Changes in Microbial Populations and Enzyme Activities During the Bioremediation of Oil-Contaminated Soil // *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 2009. Vol. 83. P. 542–547.
36. *Wang Jing, Zhang Zhongzhi, Su Youming* et al. Phytoremediation of petroleum polluted soil // *Petroleum Science*. 2008. Vol. 5. P. 167–171.
37. *Wolińska A., Stepniewska Z.* Dehydrogenase activity in the soil environment/ In: *Dehydrogenases*. 2012. P. 183–210. <https://www.intechopen.com/books/dehydrogenases/dehydrogenase-activity-in-the-soil-environment>

Стаття надійшла до редакції 23.08.21

доопрацьована 25.10.21

прийнята до друку 29.10.21

**SOIL OXIDOREDUCTASE ACTIVITY IN CONDITIONS OF OIL
CONTAMINATION AND PHYTOREMEDIATION****M. Mekich, L. Bunyo, O. Terek***Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine**e-mail: Horon.Marta@gmail.com; olha.terek@lnu.edu.ua*

The effect of oil pollution and phytoremediation with *Zea mays* L. and *Vicia faba* var. Minor on soil oxidoreductase activity was investigated. The experiment was carried out under field conditions. Soil was artificially contaminated by oil at rate 4.2 % (50 ml of oil per 1 kg of soil). Soil sampling was performed at 10th, 22th, 30th days (the first experiment stage) before sowing plants and seedlings emergence and at 65th, 95th days (second experiment stage) with plants vegetation. Results showed that soil catalase activity (CA) was reduced during the first experiment stage and increased later under oil contamination conditions compared to control. The reduction of soil enzyme activity can be related to inhibition of soil microbial activity by hydrocarbons toxic influence. On the other hand recovery of enzyme activity can be due to decrease of toxicity of soil conditions over time. A two-way analysis of variance yielded a main effect for the phytoremediation ($p < 0,01$), such that the average CA was significantly higher for soil with plants than for unplanted soil. The interaction effect was significant between oil contamination and phytoremediation with *Z. mays* ($p < 0,01$), indicating that the plants' effect was greater in the oil contamination condition than without oil contamination. Soil dehydrogenase activity (DA) in oil contamination conditions decreased during all experiment compared to control. A main effect of phytoremediation on DA was significant ($p < 0,05$), the interaction effect between oil contamination and phytoremediation was significant too ($p < 0,05$). Interaction effect between oil contamination and phytoremediation can indicate improving conditions for microbial activity in the rooting zone. The plant's exudates may create more feasible conditions for utilisation of carbohydrates by microorganisms.

Polyphenol oxidase (PPOA) activity decreased on the 95th day in oil contaminated soil compared to control. PPOA was stimulated by *Z. mays* and *V. faba* plants in soil without oil, and only by *Z. mays* in oil contaminated soil. Soil phytoremediation treatment was related to the increase of enzyme activity. Such plants can be feasible for oil contaminated soil remediation.

Keywords: phytoremediation, oil contaminated soil, catalase, dehydrogenase, polyphenol oxidase