



УДК 631.46: 665.61

АКТИВНІСТЬ МІКРОФЛОРИ НАФТОЗАБРУДНЕНОГО ҐРУНТУ У РИЗОСФЕРНІЙ ЗОНІ РОСЛИН *CAREX HIRTA* L.

Л. В. Буньо, О. М. Цвілинюк, І. М. Микієвич, О. І. Величко, О. І. Терек

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: bioza@ukr.net

Досліджено вплив рослин *Carex hirta* на мікрофлору нафтозабрудненого ґрунту. Виявлено деякі групи мікроорганізмів за допомогою модифікованого методу обростання скелець. Встановлено позитивний вплив рослин *Carex hirta* на мікрофлору ґрунту, забрудненого нафтою (50 г/кг).

Ключові слова: ґрунт, нафтове забруднення, мікрофлора, *Carex hirta*, ризосфера, симбіоз.

ВСТУП

Вуглеводні нафти визнані у світі пріоритетними забруднювальними речовинами ґрунту [9]. Ґрунт має ключове значення для існування наземних екосистем. Він є центральною ланкою біотичної трансформації речовини і головним депо забруднювальних речовин. Техногенний вплив за потужністю дії можна порівняти з основними природними факторами ґрунтоутворення, проте в окремих випадках він сильніший. Тому головною проблемою є стійкість ґрунтів і напрям їхньої еволюції у процесі техногенезу.

Ґрунт виконує своє функціональне призначення як геохімічний бар'єр. Здатність здійснювати бар'єрну функцію визначається стійкістю до забруднення системи ґрунт-ґрунтова вода; здатність перешкоджати надходженню токсикантів до біологічного кругообігу – стійкістю системи ґрунт-рослина; здатність забезпечувати умови мешкання організмів – стійкістю ґрунтового мікробіоценозу [3].

Існує так званий „поріг стійкості” ґрунту [18], „діапазон стійкості” [17], або „таксономічний діапазон толерантності” [19], який відповідає тому чи іншому обсягові й характерові зовнішніх впливів, вище якого ґрунт еволюціонує до нового стану із набуттям інших якостей і режимів функціонування.

Про „здоров'я” ґрунту свідчить активність його мікрофлори. Ґрунтові мікроорганізми здатні чутливо реагувати на зміну умов середовища, екологічного стану ґрунту в умовах антропогенного навантаження, що супроводжується перебудовою в мікробному ценозі та його функціональній діяльності [6].

Біологічний метод очищення – біоремедіація – передбачає використання потенціалу мікроорганізмів-деструкторів, здатних повністю розкласти речовини-забруднювачі. У нафтозабрудненому ґрунті було виділено такі роди мікроорганізмів: *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Proteus*, *Bacillus*, *Actinomyces*, *Corynebacterium*,

Enterobacter, *Brevibacterium* і *Citrobacter* [21]. Для мікрофлори ґрунту нафта виступає, з одного боку, як джерело вуглецю, а з іншого – як стороння речовина з токсичними властивостями. Внаслідок цього, залежно від рівня навантаження, нафтове забруднення може викликати як посилення активності певних груп мікроорганізмів, так і їхнє пригнічення. Перевага одного з цих процесів визначається якісним складом нафти, її кількістю і терміном перебування у ґрунті.

Однак біоремедіацію використовують лише у 5–10% випадків очищення забруднених територій. Одна з причин обмеженого застосування біоремедіації – підвищена токсичність забруднених ґрунтів для мікроорганізмів-деструкторів, когезія нафтових молекул і їхня мала розчинність. Тому найкращих результатів можна досягти в комплексі з рослинами, які створюють своїми підземними органами сприятливі умови для росту мікроорганізмів.

Walton та ін. [36] висунули гіпотезу про те, що стійкість рослин до забруднювача може бути викликана мікроорганізмами ризосфери, які розкладають цей забруднювач. Колонії мікроорганізмів і їхня дія можуть бути у 5–100 разів більшими в ризосферній зоні, ніж за її межами [23]. Позитивна дія ризосфери пояснюється кореневи ми виділеннями рослин, які стимулюють розвиток мікроорганізмів у прикореневій зоні [14, 37]. Видовий склад ризосферної мікрофлори визначається складом корневих виділень, специфічних для кожної рослини [13, 35].

Взаємозв'язки між рослинами та мікроорганізмами їхньої ризосфери регулюються специфічними рослинними і бактеріальними генами [2]. Співіснування рослин і мікроорганізмів розглядається як функціонування єдиної (загальної) генетичної системи, котра є новою спільнотою мікро- і макроорганізмів [11].

Тому метою наших досліджень було вивчення мікробних угруповань і динаміки їхнього росту на нафтозабрудненому ґрунті у ризосферній зоні рослин *C. hirta*, для подальшого наукового обґрунтування комплексу рекультивацийних заходів у складних екологічних ситуаціях.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

На території міста Борислава було закладено на дослідній площі розміром 30 м² модельні польові досліді (травень 2009 р.). У рови (дно яких вистелено поліетиленовою плівкою з дірками) розміром 4×1×0,25 м вносили по 1000 кг ґрунту (вологість ґрунту на час зважування становила 15%). Одна ділянка була контролем – чистий дерново-підзолистий ґрунт міста Борислава. Інша, дослідна ділянка – цей той самий ґрунт, але із внесенням у нього нафти з розрахунку 50 г нафти на 1 кг ґрунту. Через 20 днів після внесення нафти у ґрунт (необхідний термін для вивітрювання летких токсичних нафтопродуктів) [15] висаджували вегетативні особини *Carex hirta*, попередньо викопані з чистої території. Рослини були однакові за віком і розмірами. Вологість ґрунту підтримували у межах 60% від повної вологоємності. Дана вологість сприяє найкращому розвитку мікроорганізмів ґрунту [33].

Для опису динамічних змін мікробних пейзажів у чистому ґрунті і нафтозабрудненому використовували модифікований метод скелець обростання Холодного [16]. На поверхні ґрунту робили ножем перпендикулярний розріз. У нього вставляли чисті знежирені (спирт з ефіром 1:1) предметні скельця. Їх щільно притискали до ґрунту на 3–4 см нижче поверхні, засипали землею. Скельця закладали відразу після виливу нафти паралельно вздовж усієї ділянки. Коли була висаджена осока шорстковолосиста, то частина скелець містилася у ризосферній зоні *C. hirta*, інша – у ділянках ґрунту, де не було рослин.

Періодично – через 10, 20, 30, 40, 50, 60 діб – витягували по двоє паралельних скельць із чистого ґрунту і ґрунту, забрудненого нафтою, фарбували за Грамом і піддавали мікробіологічному аналізу [16].

Для кількісної характеристики мікроорганізмів на скельці визначали площу скельця (P) і площу поля зору (p), обчислювали коефіцієнт K ($P/p=K$), на який множили середню кількість колоній у полі зору. Для виведення середньої кількості колоній підраховували у 25 полях зору. Підрахунки проводили у трикратній повторності.

Морфометричні виміри й анатомічні дослідження проводили за загальноприйнятими методиками [4, 7].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ І ЇХНЕ ОБГОВОРЕННЯ

Антропогенне навантаження на ґрунт у вигляді розливів нафти призводить до порушення функціонування ґрунтових угруповань мікроорганізмів. Нафтове забруднення викликає перебудову у структурі угруповання мікроорганізмів ґрунту (перехід із зони гомеостазу в зону резистентності).

Мікробний пейзаж (відбиток) відображає активну мікрофлору даного ґрунту в його природному розподілі та дає змогу визначити відносну кількість мікробів, густину (щільність) обростання і домінуючі форми мікроорганізмів у даному ґрунті. Виявлені таким методом мікробні пейзажі мають екологічне значення.

Результати мікробіологічного аналізу загальних груп грамозитивних і грамегативних бактерій, що з'явилися на скельцях обростання, представлені в таблиці.

Як бачимо (табл.) найбільш поширеними є мікрококи. Це перші мікроорганізми, які з'являються на скельцях обростання. Це можуть бути як справжні мікрококи, так і мікроорганізми сферичної форми зменшених розмірів, котрі утворюються за несприятливих умов. За дії нафти відбувається різке зменшення чисельності мікрококів на 20-ту добу досліджень, далі стабілізація і навіть зростання їхньої чисельності. Поява рослин *C. hirta* на нафтозабрудненому ґрунті веде, починаючи з 40-ї доби досліджень, до зменшення кількості мікрококів порівняно з нафтозабрудненим ґрунтом без рослин. Водночас вони зникають із контрольного ґрунту без рослин та з ризосферної зони осоки, що росла на чистому ґрунті. Це може свідчити про те, що це не особлива група мікрококів, а група коків, які зменшились у розмірах під впливом несприятливих умов.

Встановлено, що за дії стресових факторів клітини грамегативних бактерій зменшуються [27]. Також відомо, що у стресових умовах у мікробних популяціях часто з'являються маленькі, сферичної форми, некульторабельні клітини (вони не ростуть на звичайних живильних середовищах), які зберігають свою метаболітичну активність, але не здатні до безперервного клітинного поділу. Їхнє повернення до розмноження і росту можуть викликати природні фактори: ґрунтові одноклітинні, фітогормони з ризосфер рослин [12]. Коли ж у наших дослідженнях умови покращуються за рахунок появи рослин *C. hirta* на нафтозабруднених ґрунтах, то припускаємо, що так звані мікрококи повертаються до своїх вихідних розмірів, і ми їх ідентифікуємо як мікроорганізми сферичної форми.

Неспорові бактерії — переважаюча група ґрунтової мікрофлори в ризосфері. Поява організмів паличкоподібної форми у нафтозабрудненому ґрунті свідчить про несприятливі умови існування (табл.). Утворення спор сприяє збереженню виду і не є способом розмноження у бактерій. Спора може довго зберігатися завдяки наявності багат шарової оболонки, дипіколініату кальцію, низького вмісту води і повільних процесів метаболізму [12]. Серед спороздатних форм бактерій є мікроорганізми-супресори, які утруднюють розвиток фітопатогенних форм мікобіоти [20]. До таких мікроор-

ганізмів-супресорів відносять представників бактерій з роду *Vacillus* [10, 24]. Завдяки особливостям росту і фізіологічним властивостям, вони відіграють важливу роль у формуванні мікробіоценозів ризосфери і ґрунту, а також у рості й розвитку рослин [28].

Як бачимо з таблиці, у ризосферній зоні *Carex hirta* в нафтозабрудненому ґрунті менша кількість спороносних сферичних бактерій, ніж у нафтозабрудненому ґрунті без рослин. Можливо, коренева система рослини покращує умови настільки, що допомагає неспоривим бактеріям вижити у складних екологічних умовах. Про збільшення спороносних бактерій у нафтозабрудненому ґрунті повідомляють також інші автори [31].

Таблиця

Вплив рослин *C. hirta* на основні групи мікроорганізмів у нафтозабрудненому ґрунті
Effect of *C. hirta* plants on the basic groups of microorganisms in oil polluted soil

Доба	Варіанти	Мікрококи	Мікроорганізми сферичної форми	Паличкоподібні форми	Мікроскопічні гриби	Актиноміцети
10	Контроль	$(58,1 \pm 0,32) \cdot 10^4$				
	Ґрунт+нафта	$(84,2 \pm 0,27) \cdot 10^4$				
20	Контроль	$(123,3 \pm 0,21) \cdot 10^4$	$(44,5 \pm 0,28) \cdot 10^4$			
	Ґрунт+нафта	$(21,4 \pm 0,28) \cdot 10^4$		$(0,26 \pm 0,31) \cdot 10^4$		
30	Контроль	$(64,3 \pm 0,33) \cdot 10^4$	$(41,6 \pm 0,36) \cdot 10^4$			
	Ґрунт+нафта	$(24,1 \pm 0,24) \cdot 10^4$		$(0,31 \pm 0,21) \cdot 10^4$	$(35,1 \pm 0,22) \cdot 10^4$	
	Контроль+ <i>C. hirta</i>	$(5,4 \pm 0,31) \cdot 10^4$	$(6,7 \pm 0,29) \cdot 10^4$			20%±1,5%
	Ґрунт+нафта+ <i>C. hirta</i>	$(23,4 \pm 0,28) \cdot 10^4$	$(7,9 \pm 0,22) \cdot 10^4$			25%±2,0%
40	Контроль	$(38,3 \pm 0,24) \cdot 10^4$	$(39,1 \pm 0,27) \cdot 10^4$			22%±1,4%
	Ґрунт+нафта	$(27,3 \pm 0,31) \cdot 10^4$	$(2,3 \pm 0,24) \cdot 10^4$	$(4,5 \pm 0,24) \cdot 10^4$	$(18,2 \pm 0,25) \cdot 10^4$	
	Контроль+ <i>C. hirta</i>		$(4,3 \pm 0,31) \cdot 10^4$			42%±2,2%
	Ґрунт+нафта+ <i>C. hirta</i>	$(7,9 \pm 0,29) \cdot 10^4$	$(7,1 \pm 0,23) \cdot 10^4$	$(3,7 \pm 0,22) \cdot 10^4$		37%±1,8%
50	Контроль		$(7,8 \pm 0,24) \cdot 10^4$			28%±1,3%
	Ґрунт+нафта	$(31,5 \pm 0,25) \cdot 10^4$		$(8,7 \pm 0,26) \cdot 10^4$	$(6,7 \pm 0,26) \cdot 10^4$	
	Контроль+ <i>C. hirta</i>		$(0,21 \pm 0,26) \cdot 10^4$		$(0,68 \pm 0,29) \cdot 10^4$	53%±0,6%
	Ґрунт+нафта+ <i>C. hirta</i>	$(6,1 \pm 0,30) \cdot 10^4$	$(6,8 \pm 0,32) \cdot 10^4$	$(6,2 \pm 0,27) \cdot 10^4$	$(1,1 \pm 0,29) \cdot 10^4$	40%±2,0%
60	Контроль		$(4,8 \pm 0,24) \cdot 10^4$	$(7,3 \pm 0,23) \cdot 10^4$	$(1,5 \pm 0,21) \cdot 10^4$	31%±1,5%
	Ґрунт+нафта	$(23,4 \pm 0,32) \cdot 10^4$	$(21,6 \pm 0,21) \cdot 10^4$	$23,5 \pm 0,31) \cdot 10^4$	$(5,7 \pm 0,31) \cdot 10^4$	
	Контроль+ <i>C. hirta</i>				$(1,6 \pm 0,27) \cdot 10^4$	75%±2,5%
	Ґрунт+нафта+ <i>C. hirta</i>	$(5,9 \pm 0,32) \cdot 10^4$	$(5,7 \pm 0,27) \cdot 10^4$	$(4,4 \pm 0,21) \cdot 10^4$	$(14,2 \pm 0,24) \cdot 10^4$	60%±1,5%

В нафтозабруднених ґрунтах часто домінують мікроскопічні гриби, серед них дріжджі та дріжджоподібні клітини [16]. Вже на 30-ту добу після внесення нафти у ґрунт ми виявили ці мікроорганізми. А на нафтозабруднених ґрунтах, де росла осока шорстковолосиста, дріжджоподібні організми поселилися тільки на 50-ту добу досліджень, і їхня кількість була майже в 4 рази меншою порівняно із нафтозабрудненими ґрунтами без рослин.

Комплекс інформативних показників екологічної оцінки стану ґрунту включає чисельність актиноміцетів. Відомо, що актиноміцети стають помітними на нафтозабруднених ґрунтах тільки після того, як вивітряться леткі форми нафти [22]. Ці мікроорганізми також відіграють ключову роль у подальших стадіях деструкції нафти. У нашому випадку актиноміцети з'являються на 30-ту добу від моменту закладання досліду і тільки у ризосферній зоні *Carex hirta* (табл.). На подальших етапах досліду їхня кількість у ризосферній зоні є майже удвічі більшою як у чистому, так і в забрудненому ґрунтах порівняно з ґрунтом без рослин. Це позитивний момент, бо актиноміцети як продуценти антибіотиків [8, 25] протистоять патогенній мікрофлорі, кількість якої, як правило, у стресових умовах зростає [34].

Відсутність актиноміцетів у нафтозабрудненому ґрунті без рослин можна пояснити малим терміном деструкції нафти. Бактеріальний ріст, метаболізм і, відповідно, біодеградація органічних речовин відбуваються поступово та часто досягають максимуму тільки після кількох місяців росту бактерій [30]. Зниження їхньої чисельності у ґрунтах, забруднених нафтою, може свідчити про сукцесію мікроорганізмів [5].

Деструкція нафти у ґрунті відбувається в часі. Певні вуглеводні нафти можуть сповільнювати ріст бактерій, які розкладають інші вуглеводні нафти [32]. Відомий ефект вибіркового розкладу органічних речовин [32]. Таким чином, оскільки бактерії здатні швидко передавати генетичну інформацію один одному (мутувати), то це допомагає їм швидко пристосовуватися до змін середовища, а це означає – і до нових забруднювачів [26].

Отже, ризосферна зона рослин *Carex hirta* має позитивний вплив на усі виявлені групи мікроорганізмів ґрунту як на чистому, так і на нафтозабрудненому ґрунтах, незважаючи на те, що нафтове забруднення інгібує ріст кореня цих рослин. Проте інгібується ріст кореня лише у довжину, а ріст у товщину стимулюється майже удвічі (рис.1).



Контроль



Ґрунт + нафта 50 г/кг

Рис. 1. Коренева система *Carex hirta* за дії нафтового забруднення ґрунту

Fig. 1. Rootage of *Carex hirta* plants under oil contamination of soil

Поперечний зріз кореня у зоні диференціації засвідчив, що причиною зростання його товщини на нафтозабруднених ґрунтах є утворення великих міжклітинників у паренхімі, тобто з'являється аеренхіма (рис. 2).



Контроль



Ґрунт + нафта 50 г/кг

Рис. 2. Поперечний зріз у зоні диференціації живого кореня рослин *Carex hirta*, які росли в умовах нафтового забруднення ґрунту

Fig. 2. Cross section in zone of differentiation of alive root of *Carex hirta* plants grown under oil contamination of soil

Порожнини в аеренхімі, а також порожнини у ґрунті, які утворюють мертві корені (корені деяких видів рослин здатні рости в напрямку до забруднювального чинника, де вони і відмирають), покращують аерацію нафтозабрудненого ґрунту й тим самим активізують ріст, мікробну діяльність і, відповідно, деструкцію нафти, створюючи сприятливі умови для виживання цілої рослини [29].

На основі отриманих даних можна зробити такі висновки:

1. Ризосферна зона рослин *Carex hirta* сприяє збільшенню чисельності коків і актиноміцетів як на чистому, так і на нафтозабрудненому ґрунтах.
2. За дії нафти у ризосферній зоні осоки шорстковолосистої знижується кількість спороносних бактерій і дріжджоподібних мікроорганізмів порівняно із нафтозабрудненим ґрунтом без рослин.
3. Ризосферна зона осоки шорстковолосистої виконує роль своєрідної „буферної” системи, яка протидіє негативному впливові нафтозабрудненого ґрунту на ґрунтову мікрофлору за рахунок особливостей анатомічної будови та, очевидно, хімічного складу кореневих виділень.
4. Мікроорганізми ризосферної зони рослин *Carex hirta*, які, можливо, є деструкторами нафти, виявляють більшу стійкість до нафтозабрудненого ґрунту порівняно з мікроорганізмами ґрунту без рослин. Це дало би змогу використовувати дану рослину для фітореMediaції нафтозабруднених ґрунтів.

ПОДЯКА

Висловлюємо щирю подяку Західно-Українському біомедичному дослідницькому центру (WUBMRC, 2009–2010) за грант, наданий на проведення досліджень.

1. Алексеев Ю.Е. **Осоки (морфология, биология, онтогенез, эволюция)**. Москва: Агрус, 1996. 251 с.
2. **Биопрепараты в сельском хозяйстве. Методология и практика применения микроорганизмов в растениеводстве и кормопроизводстве** / Под. ред. И. А. Тихоновича, Ю.В. Круглова. Москва: Россельхозакадемия, 2005. 154 с.
3. Битюкова Л.Б., Драч Ю.О. Мікробіологічні основи відтворення родючості ґрунтів, їх екологічної стійкості в системах ландшафтної землеробства. **Збірник наукових праць Інституту землеробства УААН**, 2005; 3–4: 25–30.
4. Дженсен У. **Ботаническая гистохимия**. Москва: Мир, 1965. 377 с.
5. Звягинцев Д.Г., Зенова Г.М., Судницин И.И., Дорошенко Е.А. Способность почвенных актиномицетов развиваться при экстремально низкой влажности. **ДАН**, 2005; 405(5): 702–704.
6. Канивец В.І. **Життя ґрунту**. Київ: Аграрна наука, 2001. 131 с.
7. Клейн Р.М. **Методы исследования растений**. Москва: Колос, 1974. 527 с.
8. Козар С.Ф. Мікробні комплекси за участю азоспірил як регулятори росту рослин. **Агроекологічний журнал**, 2008. Спец. випуск: 109–111.
9. Коронелли Т.В. Принципы и методы интенсификации биологического разрушения углеводов в окружающей среде. **Прикладная биохимия и микробиология**, 1996; 32(6): 579–585.
10. Ленглер И., Дрекса Г.М. **Современная микробиология. Прокариоты**. Москва: Мир, 2009: 23–153.
11. Малиновська І.М., Черниш О.О., Романчук О.П. **Особенности микробных комплексов сирого лісового ґрунту перелогів**. Збірник наукових праць національного наук. центру „Інститут землеробства УААН”, 2007; 2: 29–35.
12. **Медицинская микробиология, вирусология и иммунология**. Под. ред. А.А. Воробьева. Москва: Медицинское информационное агентство, 2008: 42–69.
13. Мергель А.А., Тимченко А.В. Интенсивность процессов, протекающих в ризосфере под влиянием корневых выделений растений **С.-х. биология. Сер. Биология растений**, 1998; 3: 92–104.
14. Молотков И.В., Касьяненко В.А. Фиторемедиация. **НефтьГазПромышленность**, 2005; 1(13): 307–311.
15. Пиковский Ю.И., Геннадиев А.Н., Чернянский С.С., Сахаров Г.Н. Проблема диагностики и нормирования загрязнения почв нефтью и нефтепродуктами. **Почвоведение**, 2003; 9: 1132–1140.
16. Сидоренко О.Д., Павлюков Т.А. Микробные пейзажи в почвах, загрязненных нефтью. **Известия РАН. Сер. биол.**, 2007; 1: 106–108.
17. Смагин А.В. К теории устойчивости почв. **Почвоведение**, 1994; 12: 26–33.
18. Трускавецький Р.С. **Буферна здатність ґрунтів та їх основні функції**. Харків: ППВ „Нове слово”, 2003. 224 с.
19. Фрид А.С. Методология оценки устойчивости почв к деградации. **Почвоведение**, 1999; 3: 399–404.
20. Хамова О. Ф., Юшкевич Л.В., Леонова В.В. Биологическая активность чернозема выщелоченного при минимизации основной обработки почвы в Южной лесостепи Западной Сибири. **Агрехимия**, 2002; 4: 11–16.
21. Akpor O.B., Igbinsa O.E., Igbinsa O.O. Studies on the effect of petroleum hydrocarbon on the microbial and physico-chemicals characteristics of soil. **African Journal of Biotechnology**, 2007; 6(13): 1529–1535
22. Alexander M., Hatzinger P.B., Kelsey J.W. et al. Sequestration and realistic risk from toxic chemicals remaining after bioremediation. **Annals New York Academy of Sciences**, 1997; 1–5: 829
23. Atlas R.M., Bartha R. **Microbial Ecology: Fundamentals and Applications**. Don Mills: Benjamin / Cummings Publishing Company, Inc., 1998. 27–57 p.
24. Benitez T., Rincon A. M., Limon M. C., Codon A. C. Biocontrol mechanisms of Trichoderma strains. **International Microbiology**, 2004; 7: 249–260.
25. Berg G., Krechel A., Ditz M. et. al. Endophytic and ectophytic potato-associated bacterial communities differ in structure and antagonistic function against plant pathogenic fungi. **FEMS Microbiol. Ecol**, 2005; 51(2): 215–229.
26. Bollag J.-M., Mertz T., Otjen L. Chapter 1 Role of Microorganisms in soil bioremediation. Bioremediation Through Rhizosphere Technology. T. A. Anderson and J. R. Coats. **American Chemical Society**, D.C. ACS Symposium Series, 1994; 563: 2–10.
27. Holmquist L., Kjelleberg S. Changes in viability, respiratory activity and morphology of the marine *Vidrio* sp. Strain S14 during starvation of individual nutrients and subsequent recovery. **FEMS Microbiol. Ecol**, 1993; 12: 215–224
28. Howell C.R., Puckhaber L.S. A study of the characteristics of „P” and „Q” strains of Trichoderma viridis to account for differences in biological control efficacy against cotton seedling diseases. **Biological Control**, 2005; 33: 217–222.

29. Fletcher J.S., Donnelly P.K., Hegde R.S. et al. The plant root, a natural injector system to stimulate microbial degradation of recalcitrant soil contaminants, PCBs and PAHs. **Meeting 2 Phytoremediation 2**. Leipzig, 2001. 26 S.
30. Kuzyakov Y., Friedel J.K., Stahr K. Mechanisms and quantification of priming-effects. Review. **Soil Biol. Biochem.**, 2000; 35(11–12): 1485–1498
31. Odu (1972), Colwell and Walker (1977), Atlas et al. (1978), Amadi (1980) and Stephen et al. (1980). **African Journal of Biotechnology**, August 2007; 6(16, 20): 1939–1943
32. Shuttleworth K.L., Cerniglia C E. Bacterial degradation of low concentrations of phenanthrene and inhibition by naphthalene. **Microbial Ecology**, 1996; 31: 305–317.
33. Siddiqui I.A., Shaikat S.S. Resistance against damping-off fungus *Rhizoctonia solani* systematically induced by the plant growth promoting rhizobacteria *Pseudomonas aeruginosa* (1E-6S (+)) and *P. fluorescens* (CHAO). **J. Phytopathol.**, 2002; 150: 500–506.
34. Van Veen J.A., van Overbeek L.S., van Elsas J.D. Fate and Activity of Microorganisms introduced into soil. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, 1997; 61(2): 121–135
35. Wall L.G., Gimenez M.S., Favelukes G. An early recognition even in alfalfa – *Rhizobium mililoti* symbiosis involves a protein factor present in root exudates and seed extracts. **Int. Symbiosis Congr.**, Yerusalem, 1991: 17–22.
36. Walton B. T., Guthrie W.A., Hoylman A.M. Toxicant degradation in the rhizosphere. T.A. Anderson and J.R. Coats. **Bioremediation Through Rhizosphere Technology**. American Chemical Society, DC. 1994b: 11–26.
37. Zehirov G.T., Georgiev G.I. Growth, chemotaxis and nodulation to host roots of *Bradyrhizobium japonicum* 639 in response to the effect of root exudates released from boron deficient soybean plants. **Докл. Българ. АН**, 2002; 55(4): 87–92.

MICROFLORA ACTIVITY OF CRUDE OIL CONTAMINATED SOIL IN RHIZOSPHERE OF *CAREX HIRTA* L. PLANTS

L. V. Bunio, O. M. Tsvilynjuk, I. M. Mykiyevych, O. I. Velychko, O. I. Terek

Ivan Franko National University of Lviv, 4, Hrushevskiyi St., 79005 Lviv, Ukraine
e-mail: bioza@ukr.net

The influence of *Carex hirta* plants on microflora of the petroleum polluted soil was investigated. Some groups of microorganisms were detected by the modified method of glasses encrustation. Positive influence of *Carex hirta* plants on microflora of crude oil contaminated soil (50 g/kg) was estimated.

Key words: soil, crude oil contamination, microflora, *Carex hirta*, rhizosphere, symbiosis.

АКТИВНОСТЬ МИКРОФЛОРЫ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННОЙ ПОЧВЫ РИЗОСФЕРНОЙ ЗОНЫ РАСТЕНИЙ *CAREX HIRTA* L.

Л. В. Буньо, О. М. Цвильнюк, І. М. Микієвич, О. І. Величко, О. І. Терек

Львовский национальный университет имени Ивана Франко
ул. Грушевского, 4, 79005 Львов, Украина
e-mail: bioza@ukr.net

Исследовано влияние растений *Carex hirta* на микрофлору нефтезагрязненной почвы. Обнаружены некоторые группы микроорганизмов с помощью модифицированного метода стекол обрастания. Установлено положительное влияние растений *Carex hirta* на микрофлору почвы, загрязненной нефтью (50 г/кг).

Ключевые слова: почва, нефтяное загрязнение, микрофлора, *Carex hirta*, ризосфера, симбиоз.

Одержано: 08.11.2010