
RECLAMATION OF DISTURBED SOILS



L. V. Bunio
O. M. Tsvilynjuk Cand. Sci. (Biol.), Assos. Prof.
O. L. Karpyn Cand. Sci. (Biol.)
O. I. Terek Dr. Sci. (Biol.), Professor

UDK 631.465:632.15:
628.516:622

Ivan Franko National University of Lviv, Lviv, Ukraine,
e-mail: *bioza@ukr.net*

ENZYMATIC ACTIVITY OF OIL-CONTAMINATED SOIL IN THE ROOT ZONE OF *CAREX HIRTA* L. PLANTS

Abstract. In this study we investigated enzymatic activity in crude oil contaminated soil of Boryslav city and the influence on it *Carex hirta* L. plant, which were used for phytorecultivation.

Boryslav is unique city where oil extraction conducts directly in the city territory. This has led to a total contamination of soil by oil and oil products. Since recultivation of soil should be safe for the health of city population, the most ecologic way of soil restoration is phytorecultivation.

Carex hirta L. plants are resistant to oil contamination, and thus can be used for phytoremediation of oil polluted soil. Roots of these plants form mycorrhiza. The roots of plants with mycorrhiza, show very high enzymatic activity. At the same time, studies of enzyme activity changes in the plants root area under oil contamination are scarce.

Activity of soil enzymes may serve as a diagnostic parameter of the contamination degree, and in the case of phytoremediation of oil contaminated soil may be the key to understanding the mechanism of natural purification of the soil. Our task was to study the activity of enzymes from the group of oxidoreductases and hydrolases in the rhizosphere of *C. hirta* L. plants in soil artificially contaminated with crude oil.

We conducted our field research on the territory of Boryslav city. Oil was added in soil in concentration 5 %. *C. hirta* L. plants were planted 20 days after the oil spill. After 30 days of plant growth we selected soil samples from the rhizosphere and edaphosphere and determined the enzymatic activity.

We have found that oil inhibited most of soil enzymes: catalase, polyphenol oxidase, protease and dehydrogenase activity. The most sensitive to oil pollution appeared dehydrogenase and catalase, their activity was the lowest in comparison with uncontaminated soil. Obviously, the inhibitory effect of oil associated with the presence of toxic components in it, as well as anaerobic conditions of soil that prevent normal passage of redox processes and formation of humic substances in contaminated soils.

However oil pollution led to increased activity of some enzymes, namely – phosphatase and cellulase. Perhaps this activation could appear due to active demise of plant roots tissues in oil polluted soil. Also stimulatory effect on the activity of these enzymes have n- paraffins and cyclic hydrocarbons of oil. Since decomposition of oil between rows occur slower due to anaerobic conditions, and these hydrocarbons remain stable in soil for very long period, this can be another reason for increased activity of the enzymes activity in this area.

C. hirta plants presence in oil polluted soil practically did not effect activity of such enzymes as catalase and polyphenol oxidase. Activity of peroxidase, urease, invertase increased in root zone of

© L. V. Bunio, O. M. Tsvilynjuk, O. L. Karpyn, O. I. Terek, 2013

plants. Perhaps this is due to the fact that plants improved soil aeration through root growth, which led to cracking of the asphalt cover and flow of air into the soil.

Oil pollution of soil also had different effect on the activity of nitrogen metabolism enzymes. Crude oil had stimulating effect on carboanhydrases. Under crude oil influence phosphatase activity in plants spacing increased, and decreased in the root zone.

Key words: enzymatic activity of soils, crude oil contamination, oxidoreductases, hydrolases, Carex hirta L.

УДК 631.465:632.15:
628.516:622

Л. В. Буньо
О. М. Цвилюк канд. биол. наук, доц.
О. Л. Карпин канд. биол. наук
О. И. Терек д-р биол. наук, проф.
*Львовский национальный университет им. И. Франка,
г. Львов, Украина,
e-mail: bioza@ukr.net*

ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕФТЕЗАГРЕЗНЕННОЙ ПОЧВЫ В КОРНЕВОЙ ЗОНЕ РАСТЕНИЙ CAREX HIRTA L.

В полевом модельном опыте исследовано влияние нефтяного загрязнения (5 %) на ферментативную активность дерново-подзолистой почвы г. Борислава. Установлено снижение активности ферментов окислительно-восстановительной группы: каталазы, дегидрогеназы, полифенолоксидазы. А также увеличение активности этой группы ферментов – пероксидазы. Также нефтяное загрязнение почвы неоднозначно влияет на активность ферментов азотного обмена. Выявили активирующее действие нефти на уреазу, ингибирующее – на протеазу. На карбогидролазы нефть влияет стимулирующе – увеличивается активность целлюлазы и инвертазы. Фосфатазная активность под влиянием нефти в междурядье увеличивается, а в корневой зоне – уменьшается.

Ключевые слова: ферментативная активность почвы, оксидоредуктазы, гидролазы, Carex hirta L., нефтяное загрязнение.

УДК 631.465:632.15:
628.516:622

Л. В. Буньо
О. М. Цвилюк канд. биол. наук, доц.
О. Л. Карпин канд. биол. наук
О. И. Терек д-р биол. наук, проф.
*Львівський національний університет ім. І. Франка,
м. Львів, Україна,
e-mail: bioza@ukr.net*

ФЕРМЕНТАТИВНА АКТИВНІСТЬ НАФТОЗАБРУДНЕНОГО ҐРУНТУ В КОРЕНЕВІЙ ЗОНІ РОСЛИН CAREX HIRTA L.

(дослідження виконано в рамках гранту ЗУБМДЦ на 2010–2011 рр.)

В польовому модельному досліді досліджено вплив нафтового забруднення (5 %) на ферментативну властивість дерново-підзолистого ґрунту м. Борислава. Встановлено зниження активності ферментів окисно-відновної групи: каталази, дегідрогенази, поліфенолоксидази. А також збільшення активності з цієї групи ферментів – пероксидази. Також нафтове забруднення ґрунту неоднозначно впливає на активність ферментів азотного обміну. Виявлено активуючу дію нафти на уреазу, інгібуючу – на протеазу. На карбогидролази нафта має стимулюючий вплив – збільшується активність целюлази та інвертази. Фосфатазна активність за дії нафти у міжрядді збільшується, а у кореневій зоні – зменшується.

Ключові слова: ферментативна активність ґрунту, оксидоредуктази, гідролази, Carex hirta L., нафтове забруднення.

ВСТУП

Негативними наслідками тривалих і інтенсивних антропогенних впливів є розвиток деградаційних процесів у ґрунтах. Антропогенна деградація ґрунту – це його вторинні зміни, обумовлені діяльністю людини, які супроводжуються частковою та/або повною утратою ферментативної активності, і відповідно, родючості ґрунту.

Багатьма дослідниками тривалий час вивчався вплив нафтового забруднення на властивості ґрунтів та їхню ферментативну та біологічну активності (Азнаурьян, 2009; Кабиров, 2009; Мифтахова, 2006; Новоселова, 2008; Сакаева, 2009; Nigerian Societe for Experimental Biology, 2009; Global NEST Jornal, 2009). Зустрічаються роботи, присвячені аналізу ґрунтів, забруднених нафтопродуктами: бензином, соляркою, гасом (Kucharski, Jastrzebska, 2006), моторним маслом (Pora, 2000), мазутом (Гайворонский, 2009; Почвоведение, 2010; Ротина, 2010); поліциклічними ароматичними вуглеводнями, флуораном і бенз(а)піреном, поліхлорованими біфенілами (Wilke, Koch, 1998), продуктами окиснення нафти (Киреева, 1998).

На різних етапах деструкції нафти у ґрунті беруть участь різні групи мікроорганізмів. Як правило, мікроорганізми одного виду починають процес, а продовжують його представники іншого виду (Буньо, 2010). Тому при руйнуванні токсиканта в ґрунті спостерігається зміна видового та кількісного складу мікроорганізмів, і, відповідно, ферментативної активності ґрунту (Киреева, 2001).

Основні шляхи надходження ферментів в ґрунт – це прижиттєво виділені ферменти мікроорганізмів і коренів рослин, також внутрішньоклітинні ферменти, що поступають в ґрунт після відмирання ґрунтових організмів і рослин.

Виділення ферментів в ґрунт мікроорганізмами і коренями рослин має адаптивний характер у формі реакції-відповіді на присутність чи відсутність субстрату для роботи ферменту. Саме тому активність ґрунтових ферментів може слугувати діагностичним показником рівня антропогенного впливу на педосферу та ступеня забруднення токсикантами (Вальков, 2004), а у випадку проведення фітореMediaції забруднених ґрунтів може бути ключем до розуміння механізму процесу природного очищення екосистем.

Тому нашим завданням було вивчення ферментативної активності ферментів з групи оксидоредуктаз і гідролаз у ризосфері стійких рослин *Carex hirta* L. у ґрунті штучно забрудненому нафтою (5 %) (польовий модельний експеримент).

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження проводили через 30 діб після висаджування рослин осоки шорстковолосою у нафтозабруднений ґрунт (Буньо, 2010). Відбір ґрунтових зразків проводили згідно з існуючими методиками (Ґрунтово-геохімічні обстеження урбанізованих територій, 2004) та діючим ДСТУ 4287-2004 (Якість ґрунту. Відбір проб, 2005). Зразки відбирали з кореневої зони і з міжряддя (20–25 см від кореня). Відбирали по 3 зразки, які склались із трьох змішаних проб.

Для визначення ферментативної активності використовували загальноприйняті в біології ґрунту методи (Казеев, 2003). Активність каталази визначали газометричним методом (Федорц, 2009); інвертази, целюлази, поліфенооксидази – титруванням (Грицаєнко, 2003); уреазі, фосфатази, дегідрогенази, пероксидази, протеази – колориметруванням (Булатов, 1999; Малахов, 1984; Грицаєнко, 2003).

Всі аналізи проводились у 3-кратній повторності. Для проведення математичної обробки результатів дослідження використовували програму Statistica 9.0.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Результати проведених досліджень ферментативної активності дерново-підзолистого ґрунту м. Борислав за дії нафти у ризосферній зоні рослин *C. hirta* та в міжрядді представлені в таблиці.

Ферментативна активність нафтозабрудненого ґрунту (5 %) м. Борислава на 30 добу після висадження рослини *S. hirta* у ґрунт

ґрунт	ОКСИДОРЕДУКТАЗИ						ГІДРОЛАЗИ				
	Каталаза мл O ₂ за 1хв./1 г ґрунту	Детроргеназа, мг ТФФ/г ґрунту за 24 години	Пероксидаза, мкмоль гвокюлу	Поліфенолоксидаз, мг 0,01Н, розчину K ₂ O ₃ /100 г ґрунту	Протеаза, мг гілцину/100г ґрунту за 72 год	Уреаза, мг N-NH ₃ /г ґрунту за годину	Фосфатаза, мг фенолфталейна / г ґрунту за годину	Інвертази, мг глюкози /100 г ґрунту за 48 год	Целюлази, мкг глюкози/г ґрунту		
Еталон-ний (конт-рольний) ґрунт	Р 2,9 ± 0,1	17,51 ± 0,94	0,69 ± 0,03	7,2 ± 0,15	0,0257 ± 0,0005	0,015 ± 0,002	0,264 ± 0,007	82,32 ± 0,09	266,6 ± 5,2		
Модель-ний (забруднений нафто: 50 г/кг) ґрунт	Р 1,9 ± 0,11	9,39 ± 0,53	1,37 ± 0,04	6,6 ± 0,32	0,0187 ± 0,0009	0,032 ± 0,006	0,246 ± 0,027	109,34 ± 0,23	320,2 ± 7,9		
	М 1,2 ± 0,09	3,50 ± 0,47	1,62 ± 0,04	3,2 ± 0,12	0,0161 ± 0,0007	0,041 ± 0,004	0,361 ± 0,009	85,03 ± 0,17	286,7 ± 8,3		

Р – ризосферна зона;

М – міжряддя (20–25 см від кореневої системи).

Відомо (Киреева, 2001), що розклад нафтових вуглеводнів в ґрунті пов'язаний з окисно-відновними процесами, які відбуваються за участі різних ферментів. Оксидоредуктази є каталізаторами процесів деструкції органічних ксенобіотиків (Гулько, 1992).

За рівнем каталазної активності дерново-підзолистий ґрунт за шкалою градації відноситься до бідних (Хазиев, 1982). Як бачимо з таблиці показники каталазної активності як у еталонному, так і в модельному ґрунтах є досить низькими – в межах від 1,2 до 2,9 мл $O_2 \times хв^{-1} \times г^{-1}$ ґрунту. Проте ті показники у нафтозабрудненому ґрунті є меншими на 35 % у ризосфері та на 43 % у міжрядді відносно контролю. Це свідчить про те, що розклад пероксиду водню при забрудненні нафтою відбувається більш повільно, ніж у чистому ґрунті. При цьому є у 1,2 рази меншим у міжрядді у порівнянні з ризосферою рослин *C. hirta*.

Зниження каталазної активності у ґрунті за дії нафти збігається з літературними даними (Киреева, 2001, 2002). Можливо, зниження активності каталази пов'язано з наявністю фенолу у нафті (Долгова, 1975), важких металів (Киреева, 2001), надлишком органічної речовини нафти, збагаченої сіркою, сірководнем, меркаптанами, які є інгібіторами цього ферменту, а також зменшення концентрації кисню і зниження аеробних груп мікроорганізмів в результаті закупорки повітряних пор і порожнин ґрунту.

Дегідрогенази – одні з найчутливіших до нафтового забруднення ферменти. Вони беруть участь в біодеградації нафтових вуглеводнів (Киреева, 2001). Є експериментальні підтвердження можливості дегідрогеназного окислення вуглеводнів (Киреева, 2002).

За дії нафти у наших модельних дослідах рівень дегідрогеназної активності зменшився на 46 % у кореневій зоні та на 41 % у міжрядді в порівнянні до контролю (див. табл.). Це підтверджується даними літератури (Akubugwo, 2009), які свідчать про те, що при забрудненні ґрунту нафтою відбувається інгібування інтенсивності процесів ферментативного дегідрування (Киреева, 2001). До зниження дегідрогеназної активності при забрудненні нафтою, можливо, призводить значне збільшення відношення C : N (Киреева, 2002), так як відомо (Киреева, 2001), що дегідрогеназна активність відображає метаболізм ґрунту в циклі вуглеводнів. Крім цього, зниження дегідрогеназної активності при нафтовому забрудненні, напевно, обумовлено інгібуючою дією ароматичних компонентів, якими багата нафта, що підтверджується дослідженнями Н. А. Кіреєвої (Киреева, 2002) і Л. Г. Долгової (Долгова, 1975), які показали інгібуючу дію фенолу на активність дегідрогенази.

Більше інгібування активності дегідрогенази у ризосферній зоні можливе завдяки тому, що у ній швидше відбувається деградація нафти, оскільки ця зона багата мікроорганізмами, стійкими до нафтового забруднення. За даними У. Франкенберга з співавтр. та Н. М. Ісмаїлова з співавтр. (цитата з Киреева, 2001), ґрунтові дегідрогенази, інгібуються в більшій мірі не самими вуглеводнями, а продуктами їх деградації, які можуть акумулюватися в ґрунті і довгий час мати токсичний вплив, не дивлячись на зниження в ґрунті вмісту вуглеводнів.

ґрунтові фенолоксидази відіграють важливу роль в розкладанні різних ксенобіотиків. Ферменти поліфенолоксидаза і пероксидаза беруть участь в окисленні ароматичних сполук фенолів до хінонів і в наступному їх конденсації в молекули гумусових речовин (Киреева, 2001).

Рівень переоксидази у нафтозабрудненому ґрунті як у міжрядді, так і в кореневій зоні рослин *C. hirta* зріс, приблизно, у 2 рази (див. табл.). Можливо, однакове збільшення даного ферменту у кореневій і позакореневій зонах пов'язано із різними формами переоксидази. В кореневій зоні – завдяки позаклітинній формі (джерелами є виділення коренями рослин протягом вегетації та мікроорганізмами у процесі їх життєдіяльності); міжрядді – внутрішньоклітинна форма (після відмирання рослин, мікроорганізмів). Відомо, що нафта призводить до загибелі мікроорганізмів

та відмирання рослин. Підвищення активності переоксидази пов'язано із тим, що нафта містить у собі багато циклічних речовин. Показано, що типовою для цього ферменту є реакція розщеплення ароматичного кільця, що відіграє важливу роль при розпаді гетероциклічних сполук (Гулько, 1992). За даними Р. К. Андресона та Ф. Х. Хазієва (цитата з Киреева, 2001), збільшення активності переоксидаз у нафтозабрудненому ґрунті пов'язане із значним вмістом фенольних сполук в нафті.

Виявлено зниження активності поліфенолоксидази у ризосфері осоки в середньому на 8,3 %, а в міжрядді – на 11 % порівняно з контрольним варіантом. Очевидно, інгібуюча дія нафти пов'язана із наявністю в ній інших, більш токсичних компонентів, а також створенням ними із-за високої густини та в'язкості, анаеробних умов, які перешкоджають нормальному проходженню окисно-відновних процесів і формування гумусових речовин в забруднених ґрунтах (Киреева, 2001).

Згідно даним літератури (Мамедзаде, 2005; Хазієв, 2005), активність уреазі є одним з найбільш чутливих показників, що реагують на стресову ситуацію в ґрунті, яка характеризується високою стійкістю проти інгібуючих факторів. Наші результати засвідчують, що рівень уреазної активності за дії нафти збільшився у 2 рази в ризосфері і в 1,5 рази в міжрядді порівняно з контролем. Збільшення активності уреазі в нафтозабруднених ґрунтах спостерігали й інші автори (Киреева, 2001). Активність уреазі пов'язана прямим корелятивним зв'язком із вмістом органічного вуглеводню в ґрунті і збільшенням окисно-відновного потенціалу в бік переважання відновлюючих процесів, що і спостерігається в нафтозабрудненому ґрунті. Стимулюючу дію на урезну активність мають н-парафінові вуглеводні і циклічні вуглеводні, які входять в склад нафти (Киреева, 2001).

Нами виявлено, що протеазна активність у ризосфері рослин *C. hirta* за дії нафти зменшилась на 27 % і лише на 19 % у міжрядді відносно контролю. Можливо таке різке зниження активності у нафтозабрудненому ґрунті пов'язане із температурою ґрунту, оскільки активність протеаз залежить від температур навколишнього середовища. Відомо, що ґрунт, забруднений нафтою, має на кілька градусів вищу температуру у порівнянні із чистим. Оскільки від забруднення він набуває темнішого забарвлення, що і сприяє його швидшому нагріванню, а також токсичною дією нафти і її компонентів, особливо важких металів, що впливають на активність цього ферменту (Хазієв, 1982).

Фосфатаза, що широко поширена в ґрунтах, неспецифічно гідролізує різноманітні фосфомоноєфіри і, таким чином, відіграє значну роль в надходженні рухомих форм фосфору в ґрунт. Проте в забрудненому нафтою ґрунті процеси гідролізу фосфатних сполук порушуються (Киреева, 2001).

Вартим уваги є те, що фосфатазна активність у ризосфері рослин зменшувалась, а у міжрядді, навпаки, збільшувалась (див. табл.) у нафтозабрудненому ґрунті по відношенню до контрольного.

Зниження активності фосфатази при нафтовому забрудненні виявлено дослідженнями С. А. Алієва, Д. А. Гаджієва (Алиев, 1977). Причиною такого зниження активності фосфатази може бути як обгортання ґрунтових часточок нафтою, що перешкоджає надходженню субстрату, так і інгібуюча дія важких металів (Киреева, 2001), концентрація яких в нафтозабрудненому ґрунті збільшується. Значний вплив має зсув у співвідношенні С : N в результаті надходження великої кількості органічного карбону, який входить до складу нафти, що обумовлює іммобілізацію неорганічного фосфору і зменшує кількість екстрагуючого фосфору. Крім цього обгортання ґрунтових часточок нафтовою плівкою перешкоджає міграції рухомих форм фосфору в розчин. А також деяка частина розчинного фосфору зв'язується з компонентами нафти, які багаті реактивними функціональними групами.

Збільшення активності даного ферменту у міжрядді пов'язано, скоріш за все, із наявністю важкорозкладаючих фракцій нафти – н-парафінових і циклопарафінових вуглеводнів, які стимулюють активність фосфатази (Киреева, 2001).

Із всіх ґрунтових ферментів інвертаза досліджена найбільш повно. Активність цього ферменту різними авторами пропонується використовувати як показник ступеня окультуреності, придатності ґрунту до заселення рослинами (Киреева, 1998), еродованності, забруднення ґрунту (Хазиев, 1982).

Розкладання карбоновмісних речовин з перетворенням їх у гумусні сполуки найбільше проходило у ґрунті забрудненому нафтою в кореневій зоні рослин осоки, про що свідчить рівень інвертазної активності, який був на 33 % більшим в порівнянні із ризосферною зоною еталонного ґрунту. У міжрядді за дії нафти спостерігали збільшення лише на 7 % відносно контролю.

Підвищення активності в зразках із забрудненням, можливо, пов'язане з інтенсивністю розкладу відмерлих рослинних залишків, а також завдяки продуктам метаболізму нафти, які, можливо, є стимуляторами (Киреева, 2001).

Менша активність у міжрядді, ймовірно, пов'язана із створенням анаеробіозису в більшій мірі, ніж у ризосферній зоні, оскільки ріст коріння розпушує ґрунт, а це в свою чергу створює лімітуючі умови для розвитку аеробних целюлозоруйнівних мікроорганізмів при надлишку субстрату (Долгова, 1975).

У ризосферній зоні целюлазна активність ґрунту забрудненого нафтою була у 1,2 рази більшою відносно контролю. У міжрядді спостерігали ще вищу активність – у 2,3 рази вищу відносно контролю. Можливо це пов'язано з більш активним відмиранням рослинних залишків у ґрунті, забрудненому нафтою. Також стимулюючи дію на активність даних ферментів мають n-парафінові і циклічні вуглеводні, які входять до складу нафти (Киреева, 2001). Оскільки розклад нафти у міжрядді відбувається повільніше (анаеробні умови), а дані вуглеводні взагалі найдовше зберігаються у ґрунті, то, можливо, це ще одна із причин збільшення активності ферменту у міжрядді.

ВИСНОВКИ

Нафтове забруднення призводило до зменшення ферментативної активності каталази, поліфенолоксидази, протеази та дегідрогенази. Ферментативна активність уреази, інвертази, целюлази, пероксидази за дії нафти, навпаки, збільшувалась. Вартий уваги той факт, що у кореневій зоні рослин *C. hirta* ферментативна активність не завжди є вищою у порівнянні з міжряддям як за дії нафти, так і у чистому ґрунті, що не суперечить даним літератури.

* * *

Висловлюємо щиро подяку Західно-Українському Біомедичному Дослідницькому Центру (WUBMRC) за наданий грант для проведення наших досліджень. А також щиро дякуємо президенту міжнародної інституції DISOP Еми Какельбергу за можливість проведення досліджень у Центрі екології та здоров'я людини.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ / REFERENCES

- Азнаурьян Д. К.** Изменение эколого-биологических свойств почв юга России при загрязнении нефтью. Дис. к.б.н. 03.00.16. / Д. К. Азнаурьян – Ростов-на-Дону, 2009. – 151 с.
- Azauryan, D. K., 2009, "Changing of ecological properties of soil in South Russia under oil pollution", Dis. PhD 03.00.16, Rostov-on-Don, 151 p.*
- Алиев С. А.** Влияние загрязнения нефтяным органическим веществом на активность биологических процессов почв / С. А. Алиев, Д. А. Гаджиев // Изд. АН АзССР. Сер. биол. наук, 1977. – № 2. – С. 46-49.
- Aliiev, S. A., Hajiyevev, D. A., 1977, "Effect of oil organic substances pollution on the activity of biology soil processes", Ed. An AzSSR. Ser. biol. sci., no. 2, pp. 46-49.*
- Булатов А. И.** Справочник инженера-эколога нефтедобывающей промышленности по методам анализа загрязнителей окружающей среды / А. И. Булатов, П. П. Макаренко, В. Ю. Шеметов. – М. : ООО "Недра-Бизнесцентр", 1999. – Ч. 2: Почва. – 634 с.
- Bulatov, A. I., Makarenko, P. P., Shemetova, V. Y., 1999, "Handbook of engineer-ecologist of oil industry on methods of environment*

pollutants analysis”, Moscow, OOO “Nedra-Businesscenter”, part 2: Soil, 634 p.

Буньо Л. В. Активність мікрофлори нафтозабрудненого ґрунту у ризосферній зоні рослин *Carex hirta* L. / Л. В. Буньо, О. М. Цвілінюк, О. І. Терек та ін. // *Біологічні студії*. – 2010. – Т. 4. – № 3. – С. 55-62.

Bunyo, L. V., Tsvilynyuk, O. M., Terek, O. I., Velychko, O. I., Mykiyevych, I. M., 2010, “Activity of oil contaminated soil microflora in the rhizosphere area of *Carex hirta* L. plants”, *Biological Studies*, 4, no. 3, pp. 55–62.

Вальков В. Ф. Почвоведение / В. Ф. Вальков, К. Ш. Казеев, С. И. Колесников – М. : ИКС «МарТ», Ростов н/Д. : Изд-кий центр «МарТ», 2004. – 496 с.

Val'kov, V. F., Kazeev, K. S., Kolesnikov, S. I., 2004, “Soil Science”, Moscow, IKS “MarT”, Rostov-on-Don, Publishing centre “MarT”, 496 p.

Временные методические рекомендации по контролю загрязнения почв. Ч. II / под редакцией С. Г. Малахова. – Москва : Московское отделение гидрометеоздата, 1984. – 35 с.

“Temporary methodological recommendations for monitoring of soil pollution”, 1984, Part II / editors S. G. Malakhov, Moscow, Moscow department of Gidrometeoizdat, 35 p.

Гайворонский В. Г. Оценка устойчивости почв юга России к загрязнению мазутом по биологическим показателям: в условиях модельного эксперимента. Дис. к. б. н. 03.00.16 / В. Г. Гайворонский – Ростов-на-Дону, 2009. – 138 с.

Gayvoronsky, V. G., 2009, “Evaluation of soils in Southern Russia stability under fuel oil pollution by biological indicators: in model experiment”, *Dis. PhD 03.00.16, Rostov-on-Don, 138 p.*

Грицаенко З. М. Методи біологічних та агрохімічних досліджень рослин та ґрунтів / З. М. Грицаенко, А. О. Грицаенко, В. П. Карпенко – К. : ЗАТ «НІЧЛАВА», 2003. – 230 с.

Grytsaenko, Z. M., Grytsaenko, A. O., Karpenko, V. P., 2003, “Methods of biological and agrochemical research of plants and soil”, *Kyiv, Nichlava, 230 p.*

Ґрунтово-геохімічні обстеження урбанізованих територій. – Харків : ННЦ «ІГА ім. О. Н. Соколовського», 2004. – 54 с.

“Soil and geochemical monitoring of urban areas”, 2004, *Kharkiv, NSC “IGA after O. N. Sokolovsky”, 54 p.*

Гулько А. Е. Фенолоксидази почв: продуцирование, иммобилизация, активность / А. Е. Гулько, Ф. Х. Хазиев // *Почвоведение*. – 1992. – № 11. – С. 55-65.

Gulko, A. E., Hazyev, F. H., 1992, “Soil phenooxidases : production, immobilisation, activity”, *Eurasian Soil Science*, no. 11, pp. 55–65.

Долгова Л. Г. Биохимическая активность почв при загрязнении / Л. Г. Долгова // *Почвоведение*. – 1975. – № 4. – С. 113-118.

Dolgova, L. G., 1975, “Biochemical activity of soil under pollution”, *Eurasian Soil Science*, no. 4, pp. 113–118.

ДСТУ 4287-2004 Якість ґрунту. Відбір проб. – К. : Держспоживстандарт України, 2005. – 5 с.

DSTU 4287-2004 “Soil quality. Sampling”, 2005, *Kyiv, State Committee of Ukraine, 5 p.*

Кабилов Т. Р. Использование многоуровневой системы индикации биологической активности почв для оценки эффективности методов биорекультивации нефтезагрязненных территорий. Дисер. к.б.н. 03.00.16; 03.00.23 / Т. Р. Кабилов – Уфа, 2009. – 176 с.

Kabyrov, T. R., 2009, “Using of multilevel system indication of biology activity of soil for evaluation of effectiveness of biorecultivation methods on oil polluted territories”, *Dis. PhD 03.00.16; 03.00.23, Ufa, 176 p.*

Казеев К. Ш. Биологическая диагностика и индикация почв: методология и методы исследований / К. Ш. Казеев, С. И. Колесников, В. Ф. Вальков – Ростов-на-Дону: Изд-во Рост. ун-та, 2003. – 204 с.

Kazeev, K. S., Kolesnikov, S. I., Valkov, V. F., 2003, “Biological diagnosis and indication of soil: Methodology and methods of research”, *Rostov-on-Don, Rostov University, 204 p.*

Казеев К. Ш. Биология почв России / К. Ш. Казеев, С. И. Колесников, В. Ф. Вальков – Ростов-на-Дону: Изд-во ЦВВР, 2004. – 350 с.

Kazeev, K. S., Kolesnikov, S. I., Valkov, V. F., 2004, “Biology of soils of Russia”, *Rostov-on-Don, TSVVR, 350 p.*

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

Kireeva, N. A., Vodop'yanov, V. V., Myftahova, A. M., 2001, “Biological activity of oil polluted soil”, *Ufa, Hylem, 376 p.*

Киреева Н. А. Активность каталазы и дегидрогеназы в почвах, загрязненных нефтью и нефтепродуктами / Н. А. Киреева, Е. И. Новоселова, Т. С. Онегова // *Агрохимия*. – 2002. – № 8. – С. 64-72.

Kireeva, N. A., Novoselova, E. I., Onehova, T. S., 2002, “Catalase and dehydrogenase activity in soils polluted with oil and oil products”, *Agrochemistry*, no. 8, pp. 64–72.

Киреева Н. А. Активность карбогидраз в нефтезагрязненных почвах / Н. А. Киреева,

Е. И. Новоселова, Ф. Х. Хазиев // Почвоведение. – 1998. – № 12. – С. 1444-1448.

Kireeva, N. A., Novoselova, E. I., Haziyev, F. H., 1998, "Carboanhydrase activity in oil polluted soils", *Eurasian Soil Science*, no. 12, pp. 1444–1448.

Колесников С. И. Оценка устойчивости почв юга России к загрязнению мазутом по биологическим показателям (в условиях модельного эксперимента) / С. И. Колесников, В. Г. Гайворонский, Е. Н. Ротина, К. Ш. Казеев, В. Ф. Вальков // Почвоведение. – 2010. – № 8. – С. 995-1000.

Kolesnikov, S. I., Gayvoronskiy, V. G., Rotyna, E. N., Kazeev, K. S., Valkov, W. F., 2010, "Evaluation of soils stability in South Russia under fuel pollution by biological indicators (in model experiment)", *Eurasian Soil Science*, no. 8, pp. 995–1000.

Мамедзаде В. Т. Взаимосвязь между биологической активностью и плодородием желтоземных почв Ленкоранской области / В. Т. Мамедзаде // Мат-лы междунауч. конф. «Экология и биология почв» – Ростов-на-Дону, 2005. – С. 284-288.

Mamedzade, V. T., 2005, "Connection between biological activity and soil fertility in Lenkoransky region", *Materials of Intl. scientific. conf. "Ecology and Biology of soil"*, Rostov-on-Don, pp. 284–288.

Мифтахова А. М. Самоочищение и восстановление плодородия почв природных и антропогенных экосистем в условиях нефтяного загрязнения: Дис. д-ра биол. наук: 03.00.16 / А. М. Мифтахова. – Уфа, 2006. – 361 с.

Muftahova, E. I., 2006, "Self-purification and restoration of soil fertility in natural and anthropogenic ecosystems under oil pollution", *Dis. Doct. biol. sci. 03.00.16, Ufa*, 361 p.

Новоселова Е. И. Экологические аспекты трансформации ферментного пула почвы при нефтяном загрязнении и рекультивации: Дис. д-ра биол. наук: 03.00.27; 03.00.16 / Е. И. Новоселова. – Уфа, 2008. – 334 с.

Novoselova, E. I., 2008, "Environmental aspects of enzyme pool transformation oil pollution and recultivation", *Dis. Doct. biol. sci. 03.00.16, Ufa*, 334 p.

Ротина Е. Н. Оценка состояния загрязненных мазутом почв по биологическим показателям. Дис. к. б. н. 03.00.16 / Е. Н. Ротина. – Ростов-на-Дону, 2010. – 143 с.

Rotyna, E. N., 2010, "Evaluation of fuel oil polluted soil condition by biological indicators", *Dis. PhD 03.00.16, Rostov-on-Don*, 143 p.

Сакаева Э. Х. Совершенствование технологии биоремедиации нефтезагрязненных почв. Дис. к.тех.наук. 03.00.16 / Э. Х. Сакаева. – Пермь, 2009. – 173 с.

Sakaeva, E. H., 2009, "Improvement of oil polluted soil bioremediation technologies", *Dis. PhD. 03.00.16, Perm*, 173 p.

Федорц Н. Г. Методика исследования почв урбанизированных территорий / Н. Г. Федорц, М. В. Медведев. – Петрозаводск, 2009. – 84 с.

Fedorits, N. G., Medvedev, M. V., 2009, "Methods of soils study on urban territories", *Petrozavodsk*, 84 p.

Хазиев Ф. Х. Методы почвенной энзимологии / Ф. Х. Хазиев – М.: Наука, 2005. – 252 с.

Hazyev, F. H., 2005, "Methods of soil enzymology", *Moscow, Science*, 252 p.

Хазиев Ф. Х. Системно-экологический анализ ферментативной активности почв / Ф. Х. Хазиев. – М.: Наука, 1982. – 204 с.

Hazyev, F. H., 1982, "System ecological analysis of enzymatic activity of soils", *Moscow, Science*, 204 p.

Akubugwo, E. I., Ogbuji, G. C., Chinyere, C. G., Ugbogu, E. A., 2009, "Physicochemical Properties and Enzymes Activity Studies in a Refined Oil Contaminated Soil in Isiukwuato, Abia State, Nigeria", *Nigerian Societe for Experimental Biology*, 21, no. 2, pp. 79–84.

Kucharski, J., Jastrzebska, E., 2006, "Effect of heating oil on the activity of soil enzymes and the yield of yellow lupine", *Plant soil environ*, 52, no. 5, pp. 220–226.

Millioli, V. S., Servulo, E-L. C., Sobral, L. G. S., Carvalho, D. D., 2009, "Bioremediation of crude oil-bearing soil: evaluating the effect of rhamnolipid addition to soil toxicity and to crude oil biodegradation efficiency", *Global NEST Journal*, 11, no. 2, pp. 181–188.

Popa, A., 2000, "Inductia enzimatica in sol ca lest ecotoxicologic-pentru poluanti anorganici si organici", *Stud. Univ. Babes-Bolyai. Biol.*, 1, no. 45, pp. 129–138.

Wilke, B.-M., Koch, G., 1998, "Combination effects of selected PAHs, PCBs and heavy metals on bacteria and dehydrogenase activity of sewage farm soils", *Res. 16 Coner. Mondial Sci. Soil. Montpellier*, 2, p. 685.

Стаття надійшла в редакцію: 11.04.2013

Рекомендує до друку: д-р біол. наук, проф. В. М. Зверковський