

## Торф и продукты его переработки

УДК 544.77.052.5

### ВЛИЯНИЕ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ В ПРИСУТСТВИИ МИКРООРГАНИЗМОВ-НЕФТЕДЕСТРУКТОРОВ РОДА *RHODOCOCCLUS* НА ПОСЕВНЫЕ КАЧЕСТВА КРЕСС-САЛАТА В УСЛОВИЯХ НЕФТЯНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

© М.М. Герцен, Е.Д. Дмитриева\*

Тульский государственный университет, пр. Ленина, 92, Тула, 300012  
(Россия), e-mail: dmitrieva\_ed@rambler.ru

Методом биотестирования установлено, что добавление в загрязненную углеводородами почву микроорганизмов – нефтедеструкторов рода *Rhodococcus* оказывает положительный эффект на морфогенез и посевные качества тест-культуры – кресс-салата, что связано с микробиологическим окислением нефти бактериями исследуемых штаммов. Выявлено, что при совместном внесении гуминовых кислот и микроорганизмов положительный эффект наблюдается в 5 из 8 вариантов опыта на среде с гексадеканом. В условиях нефтяного загрязнения внесение в субстрат микроорганизмов *Rh. erythropolis X5* и *Rh. erythropolis S67* с добавлением гуминовых кислот в целом оказывает стимулирующее действие на морфогенез и посевные качества кресс-салата. Следует отметить, что именно в варианте «нефть + гуминовые кислоты + микроорганизм» были получены показатели, максимально превышающие значения загрязненного контроля. Снижение токсичности нефти и гексадекана, а в ряде случаев и полное снятие негативного влияния токсикантов по отношению к тест-культуре связаны, по-видимому, с интенсификацией процесса биодegradации нефти за счет стимулирующего влияния гуминовых кислот на жизнедеятельность микроорганизмов. Доказано, что внесенные гуминовые кислоты выступают адаптогенами по отношению к микроорганизмам *Rh. erythropolis X5* и *Rh. erythropolis S67*, повышая их резистентность к стрессовым нагрузкам в условиях нефтяного стресса. Таким образом, полученные результаты показывают, что внесение гуминовых кислот может способствовать более эффективной биодegradации нефтяного загрязнения почв. При этом с целью направленного повышения эффективности применения гуминовых кислот более перспективным представляется использование гуминовых кислот сфагнового переходного торфа + *Rh.erythropolisX5*, гуминовых кислот сфагнового верхового торфа + *Rh. erythropolis X5*, гуминовых кислот тростникового низинного торфа + *Rh. erythropolis S67* в условиях загрязнения нефтью. На субстрате с гексадеканом целесообразным считаем применение гуминовых кислот сфагнового верхового торфа, так как в этом варианте были отмечены параметры, максимально превышающие загрязненный контроль.

**Ключевые слова:** гуминовые кислоты, микроорганизмы-нефтедеструкторы, *Rhodococcus*, нефть, углеводороды нефти, биокомпозиция, эмульгирование нефти, стимулирующий эффект.

#### Введение

Нефть и нефтепродукты являются одними из распространенных и наиболее опасных загрязнителей окружающей среды. В процессе добычи, переработки нефти, производства нефтепродуктов, их транспорта и хранения неизбежно происходят значительные потери вещества. При попадании в окружающую среду углеводороды нефти оказывают губительное действие на многие экологические системы, изменяя условия обитания организмов или вызывая их угнетение. При этом процессы восстановления природных систем после нефтяного загрязнения продолжительны по времени. Существуют различные механические, физико-химические, термические методы очистки почв от последствий нефтяных загрязнений [1], основным недостатком которых является их высокая стоимость и недостаточная эффективность, проявляющаяся лишь при определенном уровне загрязнения. Среди мер, предпринимаемых с целью охраны окружающей среды от

Герцен Мария Михайловна – аспирант,  
e-mail: mani.leontyeva@gmail.com

Дмитриева Елена Дмитриевна – кандидат химических наук, доцент кафедры химии,  
e-mail: dmitrieva\_ed@rambler.ru

указанного типа загрязнений, наиболее перспективным и экологически безопасным является метод биоремедиации почв, основанный на способности некоторых микроорганизмов к дegradации

\* Автор, с которым следует вести переписку.

углеводородов нефти [1]. Микробиологическая рекультивация загрязненных нефтью почв основывается на двух подходах: активизации аборигенной микрофлоры почвы, происходящей благодаря введению в токсичную среду биологически активных веществ, представляющих собой питательную среду для роста и развития микроорганизмов-деструкторов нефти, или отдельной интродукции адаптированных к загрязнителю и условиям внешней среды штаммов нефтеокисляющих микроорганизмов [1]. Природные полимеры – гуминовые кислоты (ГК) благодаря своей сложной внутримолекулярной организации могут служить сорбентом нефтяных углеводородов, их деструктором и субстратом, повышающим метаболическую активность микроорганизмов-нефтедеструкторов [2]. Кроме того, микробиотические особенности гуминовых кислот способствуют проявлению сильной деструктивной активности при попадании в почвенную среду, загрязненную углеводородами нефти.

Характерной особенностью нефти является ее способность разрушаться при попадании в почвенную среду, поскольку составляющие ее углеводороды подвержены вымыванию, выветриванию, частичному химическому окислению и микробной деструкции. Процесс микробиологического разрушения нефтяных углеводородов в почве приводит к образованию серии кислородсодержащих органических соединений и, в конечном счете, к окислению исходных соединений до воды и углекислого газа. При этом количество выделенного  $\text{CO}_2$  характеризует процесс полной минерализации и максимальной утилизации углеводородов почвенными микроорганизмами [1–3]. Другим важным и, возможно, главным показателем степени очистки почвы от нефтяного загрязнения является урожайность растений, так как основным критерием качества почвы, по мнению многих исследователей, следует считать ее фитотоксичность [4–6]. В условиях нефтезагрязнения растения, являясь чувствительными индикаторами экологической обстановки, могут дать объективную информацию о состоянии окружающей среды.

Цель работы – определить совместное влияние гуминовых кислот торфов и микроорганизмов-нефтедеструкторов рода *Rhodococcus* на посевные качества семян кресс-салата в условиях нефтяного загрязнения.

### **Экспериментальная часть**

Объектами исследования являлись гуминовые кислоты (ГК) торфов Тульской области: тростникового низинного торфа (ТНТ), черноольхового низинного торфа (ЧНТ), сфагнового верхового торфа (СВТ) и сфагнового переходного торфа (СПТ) [7–9]. Модельные загрязнители: гексадекан – представитель легкой фракции нефти, дизельное топливо с заправки Роснефть и нефть с нефтеперерабатывающего завода АО «ГАЗПРОМНЕФТЬ-МНПЗ». Штаммы бактерий *Rhodococcus erythropolis S67*, *Rhodococcus erythropolis X5* получены из лаборатории плазмид Института биохимии и физиологии микроорганизмов имени Г.К. Скрыбина РАН (Пушино). Бактерии входят в состав биопрепарата «МикроБак», который используют для биоремедиации нефтезагрязненных территорий [10]. Тест-объект – кресс-салат «Забава». Тест-отклик – длина и биометрические показатели проростков кресс-салата. Растворы гуминовых кислот готовили по методике, описанной в работе [11]. Микроорганизмы культивировали в полноценной среде Лурия-Бертани (ЛБ) [12]. Готовые среды стерилизовали автоклавированием в течение 30 мин при 1200 °С. Бактерии выращивали в жидкой питательной среде ЛБ в течение 24 ч для получения инокулята [13].

В качестве модельного грунта использовали песок, который просеивали через сито с диаметром пор 0.5–1.0 см, затем отбирали нужную фракцию, промывали ее водой до значения pH 6.5. Грунт прокаливали при температуре 200 °С. Для обогащения модельного грунта гуминовыми кислотами его выдерживали в течение суток в растворе ГК концентрации 50 мг/л. Затем в 250 г модельного грунта вносили токсикант (гексадекан, дизельное топливо и нефть) 2% масс, хорошо перемешивали, помещали 50 штук семян кресс-салата и обильно поливали дистиллированной водой. Опыт проводили при ежедневном поливе и непрерывном освещении, через каждые 3 суток варианты опыта поливали соответствующими растворами: гуминовыми кислотами, микроорганизмами-нефтедеструкторами или гуминовыми кислотами и микроорганизмами *Rh. erythropolis S67* и *X5*. Длительность эксперимента составляла 14 суток, после чего определяли длину проростков кресс-салата «Забава», а также их биометрические характеристики [14].

### **Обсуждение результатов**

В литературе доминирует представление о контактном механизме транспорта углеводородов нефти в клетки [15]. Клетки потребляют эмульгированный субстрат с помощью поверхностно-активных веществ

(ПАВ). Способность к синтезу естественных поверхностно-активных веществ (биосурфактантов), обнаруженная у многих микроорганизмов-деструкторов, имеет решающее значение для эффективности процесса биодegradации и обуславливает способность бактерий усваивать углеводороды [16].

Первым этапом работы являлось изучение влияния микроорганизмов-деструкторов нефти на посевные качества семян кресс-салата (всхожесть и энергию прорастания) в условиях загрязнения токсикантами. Результаты вегетационного опыта в варианте с загрязнителем и микроорганизмами-нефтедеструкторами *Rh. erythropolis S67* и *X5* показали, что наиболее выраженный положительный эффект от внесения указанных микроорганизмов наблюдается в условиях загрязнения нефтью: энергия прорастания и всхожесть превышают аналогичные показатели контрольной группы в 2.5–2.8 раза (*Rh. erythropolis X5*) и в 3.3–3.9 раза (*Rh. erythropolis S67*) соответственно. Внесение *Rh. erythropolis S67* в грунт привело к частичному снятию токсичности нефти по отношению к семенам кресс-салата (рис. 1а–б).

В опыте с гексадеканом установлено, что внесение в грунт микроорганизмов рода *Rh. Erythropolis X5* оказывало угнетающее действие на семена кресс-салата, что приводило к снижению энергии прорастания и всхожести на 50% по сравнению с контролем (рис. 2). В опыте при совместном применении ГК, микроорганизмов-нефтедеструкторов и загрязнителей проросших семян на 3 и 7 день после начала эксперимента было больше, чем во всех остальных вариантах опыта.

Наибольший стимулирующий эффект по сравнению с контролем был выявлен в следующих вариантах: ГК (ТНТ) + *Rh. erythropolis S67* + гексадекан; ГК (СВТ) + *Rh. erythropolis X5* + нефть; ГК (СПТ) + *Rh. erythropolis X5* + нефть; ГК (ТНТ) + *Rh. erythropolis S67* + нефть. Энергия прорастания и всхожесть в данных вариантах опыта превышала контроль (загрязнитель + песок) на 36–70% (рис. 3). Микроорганизмы *Rh. erythropolis X5* давали лучшие посевные показатели в сочетании с гуминовыми кислотами сфагнового торфа, а микроорганизмы *Rh. erythropolis S67* – с гуминовыми кислотами тростникового низинного торфа.

Эксперимент показал, что совместное применение ГК и микроорганизмов – нефтедеструкторов *Rh. erythropolis S67* в условиях загрязнения субстрата дизельным топливом не приводит к значимому изменению энергии прорастания или всхожести семян кресс-салата (рис. 3).

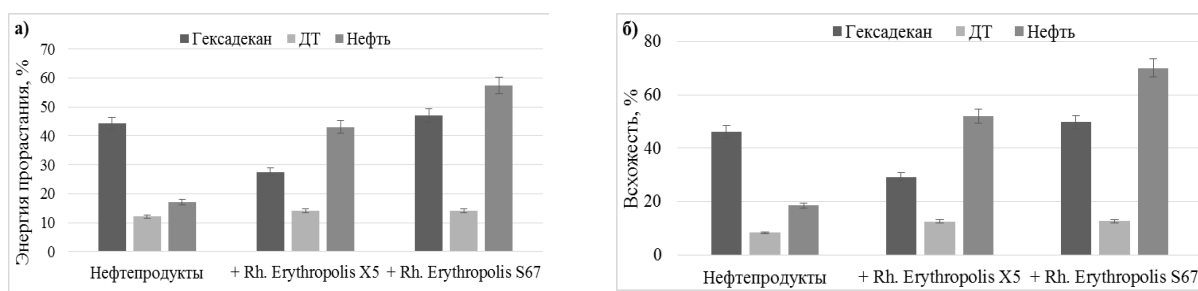


Рис. 1. Влияние загрязнителя в присутствии микроорганизмов-нефтедеструкторов *Rh. erythropolis S67* и *X5* на посевные качества семян: а) энергия прорастания; б) всхожесть

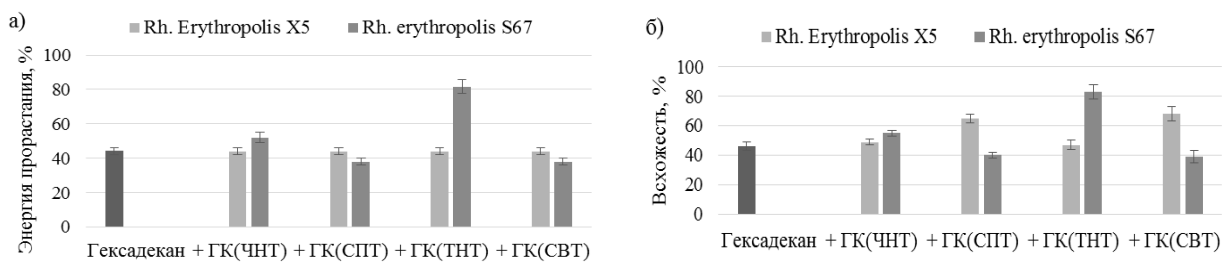


Рис. 2. Влияние гексадекана при совместном присутствии гуминовых веществ и микроорганизмов рода *Rhodococcus* на посевные качества семян: а) энергия прорастания; б) всхожесть

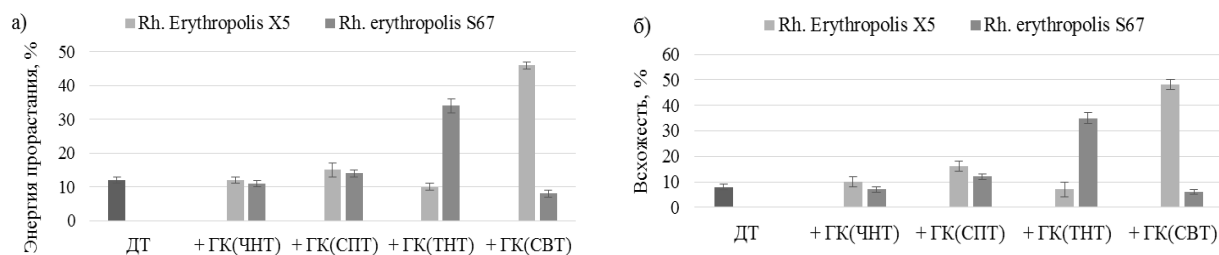


Рис. 3. Влияние ДТ при совместном присутствии гуминовых веществ и микроорганизмов рода *Rhodococcus* на посевные качества семян: а) энергия прорастания; б) всхожесть

Полученные в ходе эксперимента данные показали перспективность совместного применения ГК (СВТ) + *Rh. erythropolis X5*, ГК (СПТ) + *Rh. erythropolis X5*, ГК (ТНТ) + *Rh. erythropolis S67* в условиях нефтяного загрязнения (рис.4). Следует отметить, что максимально выраженный эффект наблюдали в варианте ГК(ТНТ) + *Rh. erythropolis S67* с внесением гексадекана, что связано со стимулированием микробиологических эффектов данного штамма микроорганизмов фракциями гуминовых кислот тростникового торфа.

Анализ биометрических параметров показал, что внесение в грунт с загрязнителем микроорганизмов-нефтедеструкторов вызывало незначительный стимулирующий эффект на рост и развитие проростков кресс-салата (рис. 5).

Внесение микроорганизмов-нефтедеструкторов в загрязненный субстрат приводило к достоверному снижению ингибирующего действия загрязнителя по отношению к растениям кресс-салата в варианте с нефтью. При этом отмечалось значимое увеличение длины побега, превышающее аналогичный параметр, полученный в условиях загрязнения без внесения микроорганизма до 64% (рис. 6б).

Совместное применение ГК (ЧНТ) + *Rh. erythropolis S67* и ГК(ТНТ) + *Rh. erythropolis S67* в условиях загрязнения гексадеканом в равной степени способствовало увеличению длины гипокотыля кресс-салата относительно варианта с одним гексадеканом, в то время как внесение ГК(СВТ) и *Rh.erythropolis S67* оказывало ингибирующее действие на величину тест-отклика (рис. 6а). Следует отметить, что применение ГК (СВТ) с *Rh. erythropolis X5* в субстрате с внесением гексадекана оказало наиболее выраженное стимулирующее влияние на рост побега (рис. 6а).

В условиях загрязнения нефтью применение ГК(СПТ) было в равной степени эффективным как с *Rh. erythropolis S67*, так и с *Rh. erythropolis X5*. Совместное внесение ГК(ТНТ) и *Rh. erythropolis S67* оказывало положительное влияние на величину тест-отклика, в то время как ГК(ЧНТ) + *Rh. erythropolis S67* и ГК(СВТ) + *Rh. erythropolis S67* угнетали рост побега кресс-салата.

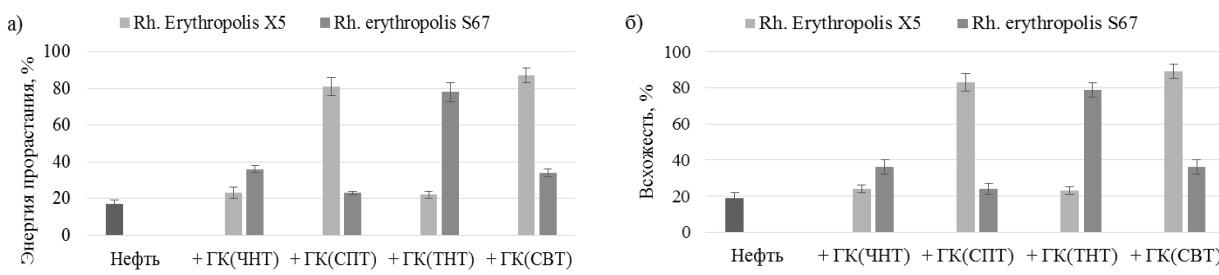


Рис. 4. Влияние нефти при совместном присутствии гуминовых веществ и микроорганизмов рода *Rhodococcus* на посевные качества семян: а) энергия прорастания; б) всхожесть

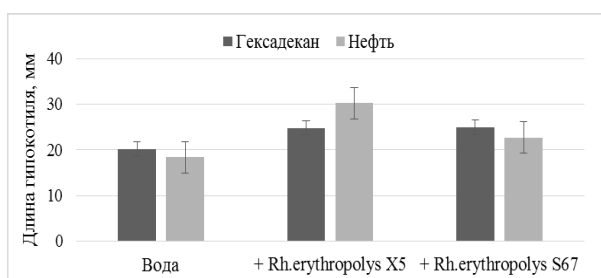


Рис. 5. Длина надземной части гипокотыля при внесении микроорганизмов рода *Rhodococcus*

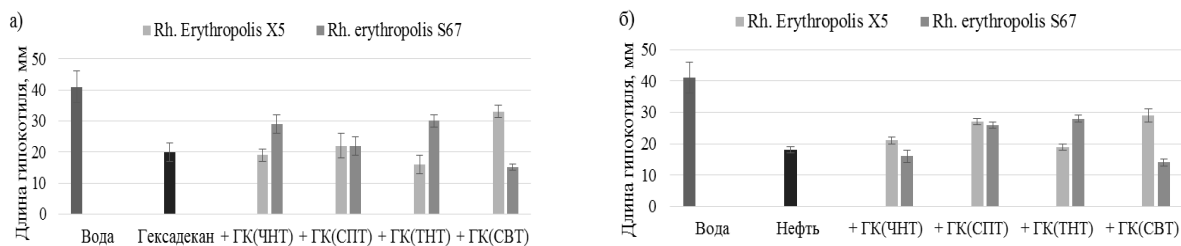


Рис. 6. Длина надземной части растений кресс-салата при комбинированном применении ГК и микроорганизмов рода *Rhodococcus* в условиях загрязнения: а) гексадеканом; б) нефтью

Результаты эксперимента показали, что выраженное стимулирующее действие на рост корней кресс-салата оказывало внесение ГК сфагнового верхового торфа: длина корней превышала контрольные значения на 60% (рис. 7).

Среди использованных показателей длина корней проростков оказалась менее чувствительна к присутствию углеводородных загрязнителей, чем длина побегов. Так, при внесении в субстрат гексадекана угнетение роста побегов составило 51%, а роста корней – 4.5%. Следует отметить, что в присутствии нефти наблюдали значения тест-отклика, незначительно превышающего контрольные показатели (рис. 7). Результаты вегетационного опыта показали, что наличие в загрязненном гексадеканом субстрате микроорганизмов-нефтедеструкторов *Rh. erythropolis S67* и *X5* не оказывало действия на рост корней (рис. 8).

В варианте с совместным применением ГК (СВТ) и *Rh. erythropolis X5*: отмечали увеличение показателя на 56% относительно загрязненного контроля; в случае с ГК (ЧНТ) и *Rh. erythropolis X5* в тех же условиях наблюдалось незначительное угнетение развития корней на 8% относительно контроля (рис. 9).

Внесение *Rh. erythropolis S67* и ГК в субстрат, загрязненный нефтью, во всех вариантах опыта оказывало ингибирующее действие на длину корней кресс-салата. При внесении *Rh. erythropolis X5* в тех же условиях получили неоднозначные данные: показатели тест-отклика варьировали в пределах от 91 до 108% от контроля. Следует заметить, что тест-параметры, оцениваемые различными исследователями в лабораторном фитотестировании [17], зачастую дают неоднозначные показатели. Несмотря на то, что практически во всех работах в ходе биометрического исследования оценивают и длину hypocotyle, и длину корня, мы рекомендуем во всех дальнейших экспериментах по оценке детоксицирующей способности ГК и микроорганизмов-нефтедеструкторов на модельном грунте в качестве тест-отклика использовать длину hypocotyle.

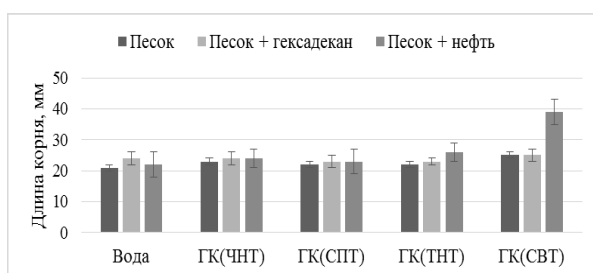


Рис. 7. Длина корней растений кресс-салата

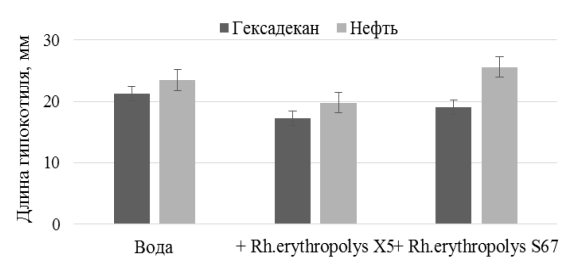


Рис. 8. Длина корней проростков кресс-салата при внесении микроорганизмов рода *Rhodococcus* на загрязненном нефтепродуктами субстрате

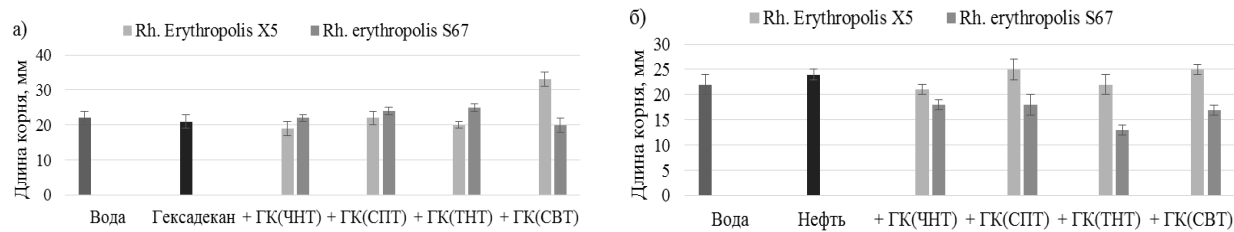


Рис. 9. Длина корней растений кресс-салата при комбинированном внесении ГК и микроорганизмов рода *Rhodococcus* в условиях загрязнения: а) гексадеканом; б) нефтью

Многие авторы отмечают [17–20], что одним из важнейших механизмов утилизации компонентов нефти, которые слабо- или нерастворимы в воде, является образование микроорганизмами биосурфактантов или биоэмульгаторов. Они способствуют солубилизации углеводов, образованию мелкодисперсной эмульсии, в результате чего облегчается контакт микробных клеток с гидрофобным субстратом. Данному факту способствуют уникальные биологические, физиологические и биохимические особенности этой группы микроорганизмов. Широкий спектр метаболических возможностей обуславливает способность родококков трансформировать и деградировать разнообразные по химической структуре углеводороды (алифатические, ароматические, нитроароматические, поли- и гетероциклические) и их производные (пестициды, полихлорированные бифенилы, фенолы, нитрилы). При внесении бактерий-деструкторов на загрязненный субстрат, они прикрепляются к пленке нефти на разделе фаз нефть-вода или нефть-почва и включаются в процесс биодеградации углеводов [20].

### Выводы

Выявлено, что при совместном внесении гуминовых кислот и микроорганизмов положительный эффект наблюдается в 5 из 8 вариантов опыта на среде с гексадеканом. В условиях нефтяного загрязнения внесение в субстрат микроорганизмов *Rh. erythropolis X5* и *Rh. erythropolis S67* с добавлением гуминовых кислот в целом оказывает стимулирующее действие на морфогенез и посевные качества кресс-салата. Следует отметить, что именно в варианте «нефть + гуминовые кислоты + микроорганизм» были получены показатели, максимально превышающие значения загрязненного контроля. Снижение токсичности нефти и гексадекана, а в ряде случаев и полное снятие негативного влияния токсикантов по отношению к тест-культуре связаны, по-видимому, с интенсификацией процесса биодеградации нефти за счет стимулирующего влияния гуминовых кислот на жизнедеятельность микроорганизмов.

Доказано, что внесенные гуминовые кислоты выступают адаптогенами по отношению к микроорганизмам *Rh. erythropolis X5* и *Rh. erythropolis S67*, повышая их резистентность к стрессовым нагрузкам в условиях нефтяного стресса. Таким образом, полученные результаты показывают, что внесение гуминовых кислот может способствовать более эффективной биодеградации нефтяного загрязнения почв. При этом с целью направленного повышения эффективности применения гуминовых кислот более перспективным представляется использование гуминовых кислот сфагнового переходного торфа + *Rh. Erythropolis X5*, гуминовых кислот сфагнового верхового торфа + *Rh. erythropolis X5*, гуминовых кислот тростникового низинного торфа + *Rh. erythropolis S67* в условиях загрязнения нефтью. На субстрате с гексадеканом целесообразным считаем применение гуминовых кислот сфагнового верхового торфа, так как в этом варианте были отмечены параметры, максимально превышающие загрязненный контроль.

### Список литературы

1. Вагапова М.Н., Мирошниченко А.А. Биотехнологическая очистка почвы от нефти и нефтепродуктов // Молодежный научный форум: Естественные и медицинские науки: электр. сб. ст. по мат. XXXVIII междунар. студ. науч.-практ. конф. М., 2016. №9(37). С. 73–76.
2. Dercova K., Sejkáková Z., Skokanova M. et al Bioremediation of soil contaminated with pentachlorophenol (PCP) using humic acids bound on zeolite // Chemosphere. 2007. Vol. 66. Pp. 783–790. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2006.06.061.
3. Чугунова М.В., Маячкина Н.В., Бакина Л.Г., Капелькина Л.П. Особенности биодеградации нефти в почвах Северо-Запада России // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. 2011. №5(1). С. 110–117.
4. Гашева М.Н., Гашев С.Н., Сороматин А.В. Состояние растительности как критерий нарушенности лесных биоценозов при нефтяном загрязнении // Экология. 1990. №2. С. 77–78.
5. Фомченков В.М., Холоденко В.П., Ирхина И.А., Петухов В.Н., Байдусь О.А. Биотестирование интегральной токсичности загрязненных почв и вод. М., 1996. 31 с.
6. Капелькина Л.П. Экосистемный подход к установлению региональных нормативов допустимого остаточного уровня содержания нефтепродуктов в почвах болотных ландшафтов // Тез. докл. конф. «Экобиотехнология. Борьба с нефтяным загрязнением окружающей среды». Пушино, 2001. С. 9–10.
7. Бойкова О.И., Волкова Е.М. Химические и биологические свойства торфов Тульской области // Известия ТулГУ. Естественные науки. 2013. №3. С. 253–264.
8. Акатова Е.В., Дмитриева Е.Д., Сяндюкова К.В., Леонтьева М.М., Музафаров Е.Н. Биологическая активность гуминовых веществ сапропеля реки Упы Тульской области // Химия растительного сырья. 2016. №1. С. 119–127. DOI: 10.14258/jcprm.2017011418.

9. Дмитриева Е.Д., Горячева А.А., Сюндюкова К.В., Акатова Е.В. Фракционирование гуминовых веществ, выделенных из торфов различного происхождения электрофоретическим методом // Известия ТулГУ. Естественные науки. 2015. №3. С. 243–248.
10. Нечаева И.А. Биodeградация углеводов нефти психротрофными микроорганизмами-деструкторами: дисс. ... канд. биол. наук. Пушино, 2009. 175 с.
11. Дмитриева Е.Д., Сюндюкова К.В., Леонтьева М.М., Глебов Н.Н. Влияние pH среды на связывание ионов тяжелых металлов гуминовыми веществами и гиматомелановыми кислотами торфов // Ученые записки Казанского университета. Естественные науки. 2017. Т. 159. №4. С. 575.
12. Evans C.G.T., Herbert D., Tempest D.W. The continuous cultivation of micro-organisms. 2. Construction of a chemostat // Methods Microbiol. 1970. Vol. 2. P. 277.
13. Гречищева Н.Ю. Разработка научных основ применения гуминовых веществ для ликвидации последствий нефтезагрязнения почвенных и водных сред: дисс. ... канд. хим. наук. М., 2016. 326 с.
14. Салеев К.М. Использование гуминовых препаратов для детоксикации и биodeградации нефтяного загрязнения: автореф. дис. ... канд. хим. наук. М., 2004. 30 с.
15. Minaei-Tehrani D., Herfatmanesh A. Biodegradation of aliphatic and aromatic fractions of heavy crude oil-contaminated soil a pilot study bioremediation // Biotechnol. Lett. 2007. Vol. 11. N2. Pp. 71–76. DOI: 10.1080/10889860701351589.
16. Петриков К.В. Биологические поверхностно-активные вещества, продуцируемые микроорганизмами-нефтедеструкторами родов *Pseudomonas* и *Rhodococcus*: автореф. дис. ... канд. хим. наук. М., 2011. 136 с.
17. Аренс В.Ж., Саушкин А.З., Гридин О.М., Гридин А.О. Очистка окружающей среды от углеводородных загрязнений. М., 1999. 371 с.
18. Бирюков В.В. Методы повышения эффективности работы дизеля при использовании этанола в качестве экологической добавки к дизельному топливу: дисс. ... канд. техн. наук. М., 2017. 173 с.
19. Chen Y., Aviad T. Effects of humic substances on plant growth // Humic Substances in Soil and Crop Sciences: Selected Reading. Soil Sci. Soc. Am., Madison, WI, 1990. Pp. 161–186.
20. Korotkova E.I., Karbainov Y.A., Avramchik O.A. Investigation of antioxidant and catalytic properties of some biologically active substances by voltammetry // Analyt. Bioanalyt. Chem. 2003. Vol. 375. Pp. 465–468. DOI: 10.1023/B:PHAC.0000008256.12455.84.

Поступила в редакцию 20 мая 2019 г.

После переработки 27 ноября 2019 г.

Принята к публикации 29 ноября 2019 г.

**Для цитирования:** Герцен М.М., Дмитриева Е.Д. Влияние гуминовых кислот в присутствии микроорганизмов-нефтедеструкторов рода *Rhodococcus* на посевные качества кресс-салата в условиях нефтяного загрязнения // Химия растительного сырья. 2020. №2. С. 291–298. DOI: 10.14258/jcrpm.2020025552.

*Gertsen M.M., Dmitrieva E.D.* \* THE INFLUENCE OF HUMIC ACIDS IN THE PRESENCE OF OIL-DEGRADING MICROORGANISMS OF THE GENUS *RHODOCOCCUS* ON THE SOWING QUALITIES OF COCKWEED IN OIL POLLUTION

*Tula State University, pr. Lenina, 92, Tula, 300012 (Russia), e-mail: dmitrieva\_ed@rambler.ru*

By the method of biotesting, it has been established that the addition of oil-degrading microorganisms of the genus *Rhodococcus* to the soil contaminated with hydrocarbons has a positive effect on morphogenesis and sowing qualities of the cockweed test culture, which is associated with the microbiological oxidation of oil by bacteria of the studied strains. It was revealed that a positive effect was observed in 5 of 8 variants of the experiment on the medium with hexadecane with the joint introduction of humic acids and microorganisms. Under the conditions of oil pollution, the introduction of *Rh. erythropolis X5* and *Rh. erythropolis S67* microorganisms into the substrate with the addition of humic acids as a whole has a stimulating effect on the morphogenesis and sowing qualities of cockweed. It should be noted that it was in the “oil + humic acids + microorganism” variant that the indicators were obtained that maximally exceeded the values of the contaminated control. Reducing the toxicity of oil and hexadecane, and in some cases, the complete removal of the negative effects of toxicants in the relation to the test culture are apparently

\* Corresponding author.

connected with the intensification of the process of oil biodegradation due to the stimulating effect of humic acids on the microorganisms. It is proved that the introduced humic acids act as adaptogens in the relation to the microorganisms *Rh. erythropolis X5* and *Rh. erythropolis S67*, increasing their resistance to stress loads under conditions of oil stress. Thus, the results show that the introduction of humic acids can contribute to more effective biodegradation of oil pollution of soils. At the same time, in order to increase the efficiency of humic acids, the use of humic acids of sphagnum transitional peat + *Rh. erythropolis X5*, humic acids of sphagnum high-moor peat + *Rh. erythropolis X5*, humic acids of reed fen peat + *Rh. erythropolis S67* in the conditions of oil pollution seems more promising. On a substrate with hexadecane, it is advisable to consider the use of humic acids of sphagnum high-moor peat, because in this variant, the parameters that maximally exceed the contaminated control were noted.

**Keywords:** humic acids, oil-degrading microorganisms, *Rhodococcus*, petroleum, petroleum products, biocomposition, oil emulsification, stimulating effect.

## References

1. Vagapova M.N., Miroshnichenko A.A. *Molodezhnyy nauchnyy forum: Yestestvennyye i meditsinskiye nauki: elektronnyy sbornik statey po materialam XXXVIII mezhdunarodnoy studencheskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii*. [Youth Scientific Forum: Natural and Medical Sciences: an electronic collection of articles based on materials from the XXXVIII International Student Scientific and Practical Conference]. Moscow, 2016, no. 9(37), pp. 73–76. (in Russ.).
2. Dercova K., Sejáková Z., Skokanova M. et al. *Chemosphere*, 2007, vol. 66, pp. 783–790. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2006.06.061.
3. Chugunova M.V., Mayachkina N.V., Bakina L.G., Kapel'kina L.P. *Vestnik Nizhegorodskogo universiteta im. N.I. Lobachevskogo*, 2011, no. 5(1), pp. 110–117. (in Russ.).
4. Gasheva M.N., Gashev S.N., Soromatin A.V. *Ekologiya*, 1990, no. 2, pp. 77–78. (in Russ.).
5. Fomchenkov V.M., Kholodenko V.P., Irkhina I.A., Petukhov V.N., Baydus' O.A. *Biotestirovaniye integral'noy toksichnosti zagryaznennykh pochv i vod*. [Biological testing of integrated toxicity of contaminated soils and waters]. Moscow, 1996, 31 p. (in Russ.).
6. Kapel'kina L.P. *Tezisy dokladov konferentsii «Ekobiotehnologiya. Bor'ba s neftyanym zagryazneniyem okruzhayushchey sredy»*. [Abstracts of the conference «Ecobiotechnology. Combating oil pollution»]. Pushchino, 2001, pp. 9–10. (in Russ.).
7. Boykova O.I., Volkova E.M. *Izvestiya TulGU. Yestestvennyye nauki*, 2013, no. 3, pp. 253–264. (in Russ.).
8. Akatova Ye.V., Dmitriyeva Ye.D., Syundyukova K.V., Leont'yeva M.M., Muzafarov Ye.N. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2016, no. 1, pp. 119–127. DOI: 10.14258/jcprm.2017011418. (in Russ.).
9. Dmitriyeva Ye.D., Goryacheva A.A., Syundyukova K.V., Akatova Ye.V. *Izvestiya TulGU. Yestestvennyye nauki*, 2015, no. 3, p. 243–248. (in Russ.).
10. Nechayeva I.A. *Biodegradatsiya uglevodorodov nefiti psikhrotrofnymi mikroorganizmami-destruktorami: diss. ... kand. biol. nauk*. [Biodegradation of oil hydrocarbons by psychrotrophic microorganisms-destructors: diss. ... cand. biol. of sciences]. Pushchino, 2009, 175 p. (in Russ.).
11. Dmitriyeva Ye.D., Syundyukova K.V., Leont'yeva M.M., Glebov N.N. *Uchenyye zapiski Kazanskogo universiteta. Yestestvennyye nauki*. 2017, vol. 159, no. 4, p. 575. (in Russ.).
12. Evans C.G.T., Herbert D., Tempest D.W. *Methods Microbiol.*, 1970, vol. 2, p. 277.
13. Grechishcheva N.Yu. *Razrabotka nauchnykh osnov primeneniya guminovykh veshchestv dlya likvidatsii posledstviy neftezagryazneniya pochvennykh i vodnykh sred: diss. ... kand. khim. nauk*. [Development of the scientific basis for the use of humic substances to eliminate the effects of oil pollution of soil and water: diss. ... cand. Chem. of sciences]. Moscow, 2016, 326 p. (in Russ.).
14. Saleyem K.M. *Ispol'zovaniye guminovykh preparatov dlya detoksikatsii i biodegradatsii neftyanogo zagryazneniya: avtoref. dis. ... kand. khim. nauk*. [The use of humic preparations for detoxification and biodegradation of oil pollution: abstract. dis. ... cand. Chem. of sciences]. Moscow, 2004, 30 p. (in Russ.).
15. Minai-Tehrani D., Herfatmanesh A. *Biotechnol. Lett.*, 2007, vol. 11, no. 2, pp. 71–76. DOI: 10.1080/10889860701351589.
16. Petrikov K.V. *Biologicheskkiye poverkhnostno-aktivnyye veshchestva, produtsiruyemye mikroorganizmami-nefedestruktorami rodov Pseudomonas i Rhodococcus: avtoref. dis. ... kand. khim. nauk*. [Petrikov K.V. Biological surfactants produced by microorganisms-oil destructors of the genera *Pseudomonas* and *Rhodococcus*: abstract. dis. ... cand. Chem. of sciences]. Moscow, 2011, 136 p.
17. Arens V.Zh., Saushkin A.Z., Gridin O.M., Gridin A.O. *Ochistka okruzhayushchey sredy ot uglevodorodnykh zagryazneniy*. [Cleaning the environment from hydrocarbon pollution]. Moscow, 1999, 371 p. (in Russ.).
18. Biryukov V.V. *Metody povysheniya effektivnosti raboty dizelya pri ispol'zovanii etanola v kachestve eko-logicheskoy dobavki k dizel'nomu toplivu: diss. ... kand. tekhn. nauk*. [Methods to improve the efficiency of diesel when using ethanol as an environmental additive to diesel fuel: Diss. ... cand. tech. of sciences]. Moscow, 2017. 173 c. (in Russ.).
19. Chen Y., Aviad T. *Humic Substances in Soil and Crop Sciences: Selected Reading*. Soil Sci. Soc. Am., Madison, WI, 1990, pp. 161–186.
20. Korotkova E.I., Karbainov Y.A., Avramchik O.A. *Analyt. Bioanalyt. Chem.*, 2003, vol. 375, pp. 465–468. DOI: 10.1023/B:PHAC.0000008256.12455.84.

Received May 20, 2019

Revised November 27, 2019

Accepted November 29, 2019

**For citing:** Gertsen M.M., Dmitrieva E.D. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2020, no. 2, pp. 291–298. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2020025552.