

Отбор растений и микроорганизмов для дальнейшего применения в ризоремедиации

© 2016. Д. Н. Отрошко, аспирант, Н. Н. Волченко, к. б. н., доцент,
А. А. Самков, к. б. н., преподаватель, А. А. Худокормов, к. б. н., доцент,
Кубанский государственный университет,
350040, Россия, г. Краснодар, ул. Ставропольская, 149,
e-mail: otroshko_dmitrii@mail.ru

Для оценки фитотоксического эффекта сырой нефти и дизельного топлива использовали следующие виды: люцерна посевная (*Medicago sativa*), редис обыкновенный (*Raphanus sativus*), горчица белая (*Sinapis alba*), пшеница озимая (*Triticum durum*), рапс (*Brassica napus*). В ходе экспериментальной работы было показано, что токсическое воздействие дизельного топлива и углеводородов нефти на такие ростовые показатели (энергия прорастания семян, всхожесть и приживаемость) различных видов сельскохозяйственных растений носило зависимый характер от концентрации вносимого токсиканта. Количество взошедших семян снижалось на 50% и более при внесении 5% дизельного топлива и сырой нефти от массы субстрата. При этом токсический эффект ярко проявлялся для дизельного топлива: у растений проявлялся хлороз, вегетативные части имели меньшую длину по сравнению с контролем, на 10 сутки наблюдали гибель проростков. Был проведен скрининг культур нефтеокисляющих микроорганизмов на фитостимулирующую активность. Из 25 коллекционных культур только 9 проявили явные фитостимулирующие свойства по отношению к контрольной группе растений. При этом наибольший эффект на развитие растений был оказан штаммами микроорганизмов *Pseudomonas* sp. J6, *Rhodococcus* sp. J12 и *Rhodococcus erythropolis* B2 (VKM Ac-2017D). Скрининг на способность синтезировать индолил-3-уксусную кислоту этими штаммами бактерий показал, что при наличии в среде триптофана (1 г/л) они продуцировали 12,1, 8,2, 69,9 мкг/мл соответственно. При использовании *Rhodococcus erythropolis* B2 (VKM Ac-2017D) совместно с высевом пшеницы озимой *Triticum durum* и люцерны посевной (*Medicago sativa*) в условиях почвенного эксперимента наблюдалась наибольшая убыль углеводов.

Ключевые слова: фитотестирование, фитотоксичность, нефтеокисляющие бактерии, родококки, фитостимуляция, растительно-микробные взаимодействия.

The screening of plant and microorganisms for further application in rhizoremediation

D. N. Otroshko, N. N. Volchenko, A. A. Samkov, A. A. Khudokormov,
Kuban State University,
149 Stavropolskaya st., Krasnodar, Russia, 350040,
e-mail: otroshko_dmitrii@mail.ru

The following species were used to evaluate the phytotoxicity rate: alfalfa (*Medicago sativa*), radish (*Raphanus sativus*), white mustard (*Sinapis alba*), wheat (*Triticum durum*), rapeseed (*Brassica napus*). The experimental part of the research showed that toxic effect of diesel and petroleum hydrocarbons, which influence growth parameters (the energy germination, germination and survival) of different kinds of agricultural plants, depends on the concentration of fluorine insertion. Moreover, the number of germinating seeds fell by 50% or more by adding 5% diesel and crude oil of the mass medium. Thus, the toxicity of diesel resulted in the observation of the chlorosis in plants. Furthermore, vegetative parts have a smaller length compare to the control, and seedling death appeared on the 10th day. In addition, the culture screening of the oxidizing microorganisms' on phytostimulating activity was also observed. The research determined 9 from 25 collective culture samples with obvious phytostimulating properties. The most effective influence on plant's development was showed by strains of microorganisms *Pseudomonas* sp. J6, *Rhodococcus* sp. J12 and *Rhodococcus erythropolis* B2 (VKM Ac-2017D). Screening of the ability of these bacteria strains to produce indole-3-acetic acid showed that the presence of tryptophan in the medium (1 g/l) affect the production below: 12.1, 8.2, 69.9 µg/ml. The use *Rhodococcus erythropolis* B2 (VKM Ac-2017D) and wheat *Triticum durum* and alfalfa *Medicago sativa* resulted in decline of hydrocarbons in soil.

Keywords: phytoassay method, phytotoxicity, oil-degrading bacteria, rhodococci, phytostimulation, plant-microbial interaction, rhizoremediation

В настоящее время нефть и нефтепродукты играют одну из самых важных ролей в российской экономике. Но при добыче, транспортировке и переработке нефти неизбежно происходят утечки, которые приводят к сильному токсическому воздействию на все трофические звенья почвенной экосистемы [1]. Оказавшись в почве, углеводороды нефти могут оказывать не только прямое токсическое воздействие, но и косвенное, например, вызывают изменения в физико-химических свойствах среды [2]. В почве происходит смещение равновесия баланса углерода и азота, снижение концентрации кислорода и доступной для растительного организма влаги [3]. Важно отметить, что токсичность нефтепродуктов зависит от их химического состава [4].

Кроме изменения в физико-химических свойствах внешней среды наличие нефти оказывает сильное влияние на биологические объекты. Так, происходит подавление прорастания семян, роста и развития подземных и надземных частей проростков, нарушается нормальное протекание физиолого-биохимических процессов в растительном организме [5]. Для некоторых видов, которые произрастают на нефтезагрязнённых почвах, отмечаются также изменения и в морфологии отдельных органов. В клетках растений описаны значительные цитофизиологические изменения, которые приводят к угнетению синтеза ДНК, лизису митохондрий, увеличению количества вакуолей внутри клеток и т. д. [6].

Целью настоящей работы было изучение воздействия различных токсикантов (дизельное топливо, нефть) на показатели энергии прорастания, всхожести и приживаемости исследуемых растений, проведение скрининга культур углеводородокисляющих микроорганизмов на фитостимулирующую активность в условиях нефтяного загрязнения. Основой исследуемой выборки штаммов являлись актинобактерии, в том числе родококки – относительно малоизученная группа в качестве микроорганизмов-фитостимуляторов.

Методы и объекты исследования

Для проведения экспериментов по оценке фитотоксичности использовались следующие виды растений из семейств злаковые, бобовые и капустные: люцерна посевная (*Medicago sativa*), редис обыкновенный (*Raphanus sativus*), рапс (*Brassica napus*), горчица белая (*Sinapis alba*), пшеница озимая (*Triticum durum*). Выбранные растения используются

в технологии фиторемедиации почв, а некоторые считаются весьма перспективными объектами для проведения ризоремедиации – технологии, использующей биохимический потенциал взаимодействия микроорганизмов и растений для очистки загрязнённых территорий [7].

В работе использовались 25 штаммов из коллекции культур нефтеокисляющих бактерий кафедры генетики, микробиологии и биотехнологии Кубанского государственного университета. Ранее была показана для некоторых из них нефтедеструкционная активность, способность к синтезу биосурфактантов, продемонстрирована эффективность при практическом применении в биоремедиации [8]. Микроорганизмы относились к следующим систематическим группам: р. *Rhodococcus* – B2 (ВКМ Ac-2017D), B3, B4, B8, F1, F2, F5, J2, J12, S4, S5, S10, Z5; р. *Pseudomonas* J6; р. *Nocardia* – K5, Z1; р. *Dietzia* – B6, J1, J11; р. *Micrococcus* F3; р. *Arthrobacter* F6; *Gordonia* – K14, Z4, Z8; *Planococcus* S6; Для получения биомассы нефтеокисляющих бактерий использовалась стандартная жидкая минеральная среда следующего состава (г/л): KNO_3 – 4; Na_2HPO_4 – 1,4; KH_2PO_4 – 0,4; $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ – 0,8 [9]. Единственным источником углерода и энергии являлась сахароза. Жидкие культуры бактерий выращивались на орбитальных шейкерах Biosan PSU-20i (Латвия) при 120 об/мин в течение 4 суток. Для скрининга культур на наличие фитостимулирующего эффекта суспензию микроорганизмов объёмом 5 мл вносили в загрязнённый нефтью субстрат, фиксируя изменение роста растений относительно контроля без бактериальной обработки.

Фитотестирование на токсичность углеводородов проводилось в присутствии различных концентраций нефтепродуктов на песчаном субстрате. Песок предварительно промывали от органических остатков, просеивали через сито с диаметром пор 2 мм, стерилизовали в сухожаровом шкафу 3 часа при температуре 180°C. В качестве поллютантов использовали сырую нефть и дизельное топливо. Данные токсиканты вносились в количестве 1 и 5% от массы песка, которая составляла 50 г в чашке Петри. Для равномерного распределения гидрофобных поллютантов их вносили в виде раствора в гексане. Вода вносилась в каждую чашку в объёме 5 мл.

Количество семян тест-растений составляло по 30 на одну чашку. Результаты снимали на 4-е (энергия прорастания), 7-е (всхожесть) и 10-е (приживаемость) сутки. Энергия про-

растения демонстрирует эффект первичного стресса на прорастающие семена. Процент всхожести семян определяется начальным эффектом токсиканта на молодые проростки, тогда как приживаемость позволяет отметить общее количество выживших проростков. Контрольной группой в экспериментах по фитотестированию являлись растения в чашках с песком без наличия в среде поллютанта.

Для обнаружения и определения концентрации в культуральной жидкости фитогормона ауксина проводили реакцию Сальковского на индолилуксусную кислоту и её производные. Согласно методике [10], к супернатанту добавляли реактив (0,05М FeCl₃ в 37% растворе хлорной кислоты HClO₄), после прохождения цветной реакции концентрацию ИУК определяли фотометрически по калибровочному графику.

Для оценки остаточного количества углеводов использовали гравиметрический метод – их экстракцию производили гексаном на 30-е сутки из загрязнённой сырой нефтью (5%) почвы.

Эксперименты проводили в трёхкратной повторности, статистическую обработку проводили с использованием программного обеспечения Microsoft Office Excel 2010 и Statistica 2007. Рассчитаны показатели: среднее ± ошибка среднего ($M \pm m$) и произведена оценка достоверности различий по t-критерию Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

На первом этапе исследования оценивали токсический эффект углеводов на рост тест-растений. Исследуемые растения реагировали на появление в среде поллютанта замедлением прорастания семян. При наличии в среде 1 и 5% нефти, 1% дизельного топлива происходило снижение процента всхожести

семян по сравнению с контрольными группами для люцерны, горчицы, редиса и пшеницы. Энергия прорастания семян на данном этапе была в 1,5 раза меньше, чем таковая в контроле (табл. 1). Наблюдаемый эффект может быть связан с первичной стресс-реакцией растения на наличие в среде токсиканта, а также с биохимическими перестройками внутри клеток прорастающих семян растений (происходит активация антиоксидантной системы, которая участвует в снижении токсического эффекта на клетки) [11]. Для редиса и горчицы наблюдалось большее количество взошедших семян на 4 сутки при наличии в среде 5% дизельного топлива по сравнению с 1%-ным содержанием данного поллютанта в среде. Это можно объяснить тем, что некоторые соединения, входящие в состав дизельного топлива, могут оказывать на ранних стадиях роста фитостимулирующий эффект на прорастающие семена. Наиболее устойчивыми к первичному воздействию токсикантов (нефть и дизельное топливо, 1%) были семена рапса.

На 7-е сутки, по показателю всхожести, картина изменилась. Так нефть в концентрации 1% перестала оказывать статистически значимое токсическое воздействие на все исследуемые тест-растения (табл. 2). Вероятно, это связано с преодолением ими эффекта первичного стресса после биохимических перестроек метаболизма. При наличии 5% нефти семидневные проростки всех культур реагировали сокращением всхожести до 40–50% без внешних морфологических проявлений токсического эффекта. В случае с обработкой дизельным топливом наблюдалась разнообразная картина реакции растений на наличие 1 и 5% поллютанта. Наибольшую устойчивость к обеим концентрациям проявил редис, наименьшую – люцерна.

Оценка показателя приживаемости на заключительные 10-е сутки (табл. 3) показала,

Таблица 1
Энергия прорастания семян при различных концентрациях нефти и нефтепродуктов

Тест-растение	Концентрация токсиканта				
	Контроль, 0%	Нефть 1%	Нефть 5%	Дизельное топливо, 1%	Дизельное топливо, 5%
Люцерна	81,11±5,88	46,67±1,92*	18,89±2,94*	40,00±1,93*	25,57±4,83*
Рапс	60,00±5,77	42,22±2,94	31,11±2,22*	41,11±1,11	38,9±1,10*
Горчица	81,11±5,88	46,67±1,93*	18,89±2,94*	40,00±1,93*	71±2,93
Редис	73,33±5,09	43,33±3,33*	27,78±2,94*	52,22±2,94*	74,33±4,0
Пшеница	71,11±2,94	41,11±1,11*	32,22±2,94*	44,44±2,22*	4,43±1,10*

Примечание: здесь и далее * – $p < 0,05$ в сравнении с показателями контрольной группы.

Таблица 2

Всхожесть семян на 7-е сутки роста при загрязнении нефтью и нефтепродуктами

Тест-растение	Концентрация токсиканта				
	Контроль, 0%	Нефть 1%	Нефть 5%	Дизельное топливо, 1%	Дизельное топливо, 5%
Люцерна	89,00±1,10	86,67±3,33	49,00±1,10*	64,5±3,8*	25,57±4,83*
Рапс	71,00±5,53	62,00±4,43	41,10±4,83*	57,8±5,1*	48,90±2,23*
Горчица	88,67±1,10	77,00±4,83	34,43±2,93*	75,6±5,1	65,60±1,10*
Редис	82,33±4,83	77,67±2,93	52,33±4,00*	73,3±5,8	74,33±4,83
Пшеница	89,00±2,20	76,67±3,83	51,10±2,23*	70,0±5,8*	0±0*

Таблица 3

Приживаемость проростков тест-растений на 10-е сутки роста

Тест-растение	Концентрация токсиканта				
	Контроль, 0%	Нефть 1%	Нефть 5%	Дизельное топливо, 1%	Дизельное топливо, 5%
Люцерна	89,00±1,10	86,67±3,33	49,00±1,10*	69,00±2,93*	16,67±1,93*
Рапс	71,00±5,53	62,00±4,43	41,10±4,83*	57,77±2,93	25,57±2,93*
Горчица	88,67±1,10	77,00±4,83	34,43±2,93*	75,67±2,93	12,23±2,07*
Редис	82,33±4,83	77,67±2,93	52,33±4,00*	73,33±3,33	55,57±4,00*
Пшеница	89,00±2,20	76,67±3,83	51,10±2,23*	70,00±3,33*	0±0*

что статистически значимый подавляющий эффект проявили оба нефтепродукта в концентрации 5% на все тест-растения.

В образцах с дизельным топливом в концентрации 5% у растений, наряду со снижением приживаемости, наблюдались также явные морфологические изменения: снижение длины стебля и корня, многочисленные проявления хлороза листьев. При аналогичной концентрации нефти таких выраженных внешних признаков проявления токсического эффекта на растительный организм не наблюдалось.

Таким образом, для достоверной регистрации степени устойчивости исследованных тест-культур к углеводородному загрязнению целесообразно использовать нефтепродукты в концентрации 5% с фиксацией приживаемости растений на 10-е сутки. Фитотоксический эффект дизельного топлива обусловлен высоким содержанием алканов с длиной цепи C₉-C₁₂, алкенов, разветвлённых циклогексанов и различных ароматических соединений. Данные группы веществ обладают высокой скоростью испарения, проницаемостью через покровы семян, липидных мембран клеток [12].

Следующим этапом исследования был скрининг коллекционных культур нефтеокисляющих микроорганизмов на выявление у них фитостимулирующей активности (рис. 1). Наиболее активные штаммы определяли, инокулируя суспензиями бактерий загрязнённый нефтью песок. В качестве тест-растения был

выбран редис посевной (*Raphanus sativus*), который используется не только в технологии ризоремедиации [13], но и является хорошим объектом для выявления способности к стимуляции роста растений микроорганизмами [14].

Как видно из рисунка 1, после обработки микроорганизмами 9 из 25 штаммов продемонстрировали статистически значимый фитостимулирующий эффект, 11 – отрицательный, 5 – соответственно не значимый. Наиболее ярко фитостимулирующий эффект проявлялся при обработке суспензией клеток *Pseudomonas* sp. J6, *Rhodococcus* sp. J12 и *Rhodococcus erythropolis* B2 (ВКМ Ас-2017D). При обработке суспензией клеток *Rhodococcus erythropolis* B2 показатели всхожести были в 1,5 раза выше, по сравнению с контролем (рис.).

На третьем этапе для оценки возможных механизмов фитостимуляции для наиболее активных штаммов измеряли количество синтезируемой ими индолил-3-уксусной кислоты, которая, как фитогормон, может выступать в качестве стимулятора роста и развития растения в условиях стрессового воздействия. Обнаружено, что в супернатантах штаммов *Pseudomonas* sp. J6, *Rhodococcus* sp. J12 и *Rhodococcus erythropolis* B2 (ВКМ Ас-2017D) было накоплено соответственно 12,1, 8,2 и 69,9 мкг/мл ауксина. Эти значения в целом соответствуют уровням продукции таких извест-



Рисунок. Всхожесть семян редиса в условиях 5%-ного нефтяного загрязнения с инокуляцией суспензиями различных штаммов бактерий

Таблица 4

Остаточное содержание нефти при вегетации различных растений, %

Вид растения	Остаточное содержание нефти, %	
	Без внесения микроорганизмов	С инокуляцией бактериями
Пшеница	69,6±6,2	42,8±4,4*
Редис	72,9±3,1	60,3±2,6*
Люцерна	61,4±1,8	47,8±4,0*
Без растений	88,3±2,6	59,5±5,6*

ных PGPR-микроорганизмов, как *Azospirillum brasiliense* [15], представителей *Azotobacter* и *Pseudomonas* [16]. Следует отметить, что синтез фитогормона в данном эксперименте осуществлялся в достаточно экстремальных для микроорганизмов условиях – на минимальной минеральной среде, с внесением триптофана как метаболита-предшественника ИУК.

Возникает вопрос; какой из механизмов наблюдаемой фитостимуляции играет доминирующую роль – прямой (продукция бактериями фитостимулирующего гормона) или косвенный (ассимиляция ими токсичных для растений нефтепродуктов)? Известно, что представители актинобактерий обладают широким спектром метаболических путей, что позволяет им активно проявлять свой деструктивный потенциал по отношению к различным поллютантам [17–19].

В почвенном эксперименте были использованы семена редиса, пшеницы и люцерны. Такой выбор связан с тем, что в ходе теста на фитотоксичность данные растения показали большую устойчивость по отношению к 5% загрязнению сырой нефтью (табл. 4). Для

пшеницы и штамма бактерии *Rhodococcus erythropolis* B2 (ВКМ Ас-2017D) показано, что при их совместном использовании наблюдалось снижение концентрации нефти в среде до 42% (табл. 4).

Из таблицы 4 видно, что наименьшее остаточное количество углеводов обнаруживалось в среде, в которой произрастала пшеница при обработке культурой *Rhodococcus erythropolis* B2 (ВКМ Ас-2017D). При инокуляции грунта суспензией данного штамма наблюдается убыль остаточного содержания углеводов по сравнению с вариантом без инокуляции бактериями: в случае с пшеницей на 16,8 %; с люцерной – 13,6%; с редисом – 12,6%; без вегетации растений – 28,8 %. Примечательно, что в варианте эксперимента, в котором произрастала люцерна без обработки суспензией микроорганизмов, наблюдалась деструктивная активность, сопоставимая с обработкой *Rhodococcus erythropolis* B2 (ВКМ Ас-2017D). В случае совместного использования люцерны и пшеницы наблюдалась наибольшая убыль поллютанта в среде.

Заключение

В результате исследования был проведён предварительный скрининг пяти видов тест-растений на устойчивость к нефтепродуктам. Показано, что 25 штаммов нефтеокисляющих микроорганизмов были проверены на фитостимулирующую активность в условиях нефтезагрязнения, из которых 9 штаммов оказали значимый стимулирующий эффект на тест-растение. Для трёх из них была проведена оценка концентрации индолил-3-уксусной кислоты, максимальный уровень продукции которой был отмечен для штамма *Rhodococcus erythropolis* B2 (ВКМ Ас-2017D), который составил 69,9 мкг/мл среды. С целью выяснения механизмов стимуляции растений были поставлены эксперименты, после которых производили экстракцию углеводов из среды. Совместное использование штамма *Rhodococcus erythropolis* B2 (ВКМ Ас-2017D) с пшеницей и люцерной ускорило процессы очистки почвы от поллютанта. Остаточное содержание нефти составило 42,8 и 47,8% соответственно. Исходя из полученных результатов, можно заключить, что взаимодействия штамма *Rhodococcus erythropolis* B2 (ВКМ Ас-2017D) с высшими растениями носит мутуалистический характер, который заключается не только в стимуляции роста и развития растений, но и в деструкции поллютанта во внешней среде.

Литература

1. Tang J., Wang M., Wang F., Sun Q., Zhou Q. Ecotoxicity of petroleum hydrocarbon contaminated soil // Journal of Environmental Sciences. 2011. V. 23. № 5. P. 845–851.
2. Хазиев Ф.Х., Тишкина Е.И., Киреева Н.А., Кузяметов Г.Г. Влияние нефтяного загрязнения на некоторые компоненты агроэкосистем // Агробиохимия. 1988. № 2. С. 56–61.
3. Киреева Н.А., Водопьянов В.В., Мифтахова А.М. Влияние нефтяного загрязнения на целлюлозную активность почв // Почвоведение. 2000. № 6. С. 748–753.
4. Смольникова В.В., Емельянов С.А., Дементьев Н.С. Воздействие углеводов нефти на окружающую среду и способы очистки нефтезагрязнённых субстратов // Известия Самарского научного центра РАН. 2009. Т. 11. № 1 (6). С. 1378–1380.
5. Adam G., Duncan H. Influence of diesel fuel on seed germination // Environmental pollution. 2002. V. 120. № 2. P. 363–370.
6. Назаров А.В. Влияние нефтяного загрязнения почвы на растения // Вестник Пермского университета. 2007. № 5. С. 134–141.
7. Shahsavari E., Adetutu E.M., Taha M., Ball A.S. Rhizoremediation of phenanthrene and pyrene contaminated soil using wheat // Journal of environmental management. 2015. V. 155. P. 171–176.
8. Волченко Н.Н., Карасёва Э.В. Скрининг углеводородоокисляющих бактерий-продуцентов поверхностно-активных веществ биологической природы и их применение в опыте по ремедиации нефтезагрязнённой почвы и нефтешлама // Биотехнология. 2006. № 2. С. 57–62.
9. Нетрусов А.И., Егорова М.А., Захарчук Л.М. Практикум по микробиологии. М.: «Академия». 2005. 608 с.
10. Meudt W. J., Gaines T.P., Studies on the oxidation of indole-3-acetic acid by peroxidase Enzymes. Colorimetric Determination of Indole-3-Acetic Acid Oxidation Products // Plant Physiology. 1967. № 42. P. 1395–1399.
11. Marti M.C., Camejo D., Fernandez-Garcia N., Rellan-Alvarez R., Marques S., Sevilla F., Jimenez A. Effect of oil refinery sludges on the growth and antioxidant system of alfalfa plants // Journal of hazardous materials. 2009. V. 171. № 1. P. 879–885.
12. MacKinnon G., Duncan H. J. Phytotoxicity of branched cyclohexanes found in the volatile fraction of diesel fuel on germination of selected grass species // Chemosphere. 2013. V. 90. № 3. P. 952–957.
13. Liste H.H., Alexander M. Plant-promoted pyrene degradation in soil // Chemosphere. 2000. V. 40. № 1. P. 7–10.
14. Frankenberger W.T., Chang A.C., Arshad M. Response of *Raphanus sativus* to the auxin precursor, L-tryptophan applied to soil // Plant and Soil. 1990. V. 129. № 2. P. 235–241.
15. Perrig D., Boiero M.L., Masciarelli O.A., Penna C., Ruiz O.A., Cassan F.D., Luna M. V. Plant-growth-promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and implications for inoculant formulation // Applied microbiology and biotechnology. 2007. V. 75. № 5. P. 1143–1150.
16. Ahmad F., Ahmad I., Khan M.S. Indole acetic acid production by the indigenous isolates of *Azotobacter* and fluorescent *Pseudomonas* in the presence and absence of tryptophan // Turkish Journal of Biology. 2005. V. 29. № 1. P. 29–34.
17. Худокормов А.А., Карасёва Э.В., Волченко Н.Н., Самков А.А., Козицын А.Е. Деструкция углеводов различными морфотипами нефтеокисляющих актинобактерий // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. 2013. № 92. С. 153–175.
18. Худокормов А.А., Карасёва Э.В., Самков А.А., Волченко Н.Н., Карасёв С.Г., Батина Е.В. Влияние источника углерода на устойчивость к тяжёлым металлам штаммов нефтеокисляющих актинобактерий, используемых в процессах биоремедиации // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. 2012. № 83. С. 119–128.

19. Соляникова И.П., Головлева Л.А. Физиолого-биохимические свойства актинобактерий как основа их высокой биодegradативной активности (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. 2015. Т. 51. № 2. С. 132–140.

References

1. Tang J., Wang M., Wang F., Sun Q., Zhou Q. Ecotoxicity of petroleum hydrocarbon contaminated soil // Journal of Environmental Sciences. 2011. V. 23. № 5. P. 845–851.

2. Khaziev F.Kh., Tishkina E.I., Kireeva N.A., Kuzyakhmetov G.G. Effect of oil pollution on some components of agroecosystems // Agrokhimiya. 1988. № 2. P. 56–61 (in Russian).

3. Kireeva N.A., Vodopyanov V.V., Miftakhova A.M. The impact of oil pollution on soil cellulose activity // Pochvovedenie. 2000. № 6. P. 748–753 (in Russian).

4. Smolnikova V.V., Emelyanov S.A., Demytyev N.S. Influence of oil hydrocarbons on the environment and ways of sanitation of the petropolluted substrats // Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra RAN. 2009. T. 11. № 1 (6). P. 1378–1380 (in Russian).

5. Adam G., Duncan H. Influence of diesel fuel on seed germination // Environmental pollution. 2002. V. 120. № 2. P. 363–370.

6. Nazarov A.V. The effect of oil pollution of soil on plants // Vestnik Permskogo universiteta. 2007. № 5. P. 134–141 (in Russian).

7. Shahsavari E., Adetutu E.M., Taha M., Ball A.S. Rhizoremediation of phenanthrene and pyrene contaminated soil using wheat // Journal of environmental management. 2015. V. 155. P. 171–176.

8. Volchenko N.N., Karaseva E.V. Screening of hydrocarbon-oxidizing biosurfactant-producing bacteria and their application in the remediation of oil-polluted soil and sludge // Biotekhnologiya. 2006. № 2. P. 57–62 (in Russian).

9. Netrusov A.I., Egorova M.A., Zakharchuk L.M. Workshop on microbiology. M.: «Akademiya», 2005. 608 p. (in Russian).

10. Meudt W.J., Gaines T.P., Studies on the oxidation of indole-3-acetic acid by peroxidase Enzymes. Colorimetric Determination of Indole-3-Acetic Acid Oxidation Products // Plant Physiology. 1967. № 42. P. 1395–1399.

11. Marti M. C., Camejo D., Fernandez-Garcia N., Rellan-Alvarez R., Marques S., Sevilla F., Jimenez A. Effect of oil refinery sludges on the growth and antioxidant system of alfalfa plants // Journal of hazardous materials. 2009. V. 171. № 1. P. 879–885.

12. MacKinnon G., Duncan H.J. Phytotoxicity of branched cyclohexanes found in the volatile fraction of diesel fuel on germination of selected grass species // Chemosphere. 2013. V. 90. № 3. P. 952–957.

13. Liste H.H., Alexander M. Plant-promoted pyrene degradation in soil // Chemosphere. 2000. V. 40. № 1. P. 7–10.

14. Frankenberger Jr.W.T., Chang A.C., Arshad M. Response of *Raphanus sativus* to the auxin precursor, L-tryptophan applied to soil // Plant and Soil. 1990. V. 129. № 2. P. 235–241.

15. Perrig D., Boiero M.L., Masciarelli O.A., Penna C., Ruiz O.A., Cassan F.D., Luna M.V. Plant-growth-promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and implications for inoculant formulation // Applied microbiology and biotechnology. 2007. V. 75. № 5. P. 1143–1150.

16. Ahmad F., Ahmad I., Khan M.S. Indole acetic acid production by the indigenous isolates of *Azotobacter* and fluorescent *Pseudomonas* in the presence and absence of tryptophan // Turkish Journal of Biology. 2005. V. 29. № 1. P. 29–34.

17. Khudokormov A.A., Karaseva E.V., Volchenko N.N., Samkov A.A., Kozitsyn A.E. Destruction of hydrocarbons with various morphotypes of oil oxidizing actinobacteria // Politematicheskii setevoy elektronnyy nauchnyy zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. 2013. № 92. P. 153–175 (in Russian).

18. Khudokormov A.A., Karasyeva E.V., Samkov A.A., Volchenko N.N., Karasyev S.G., Batina E.V. Effects of carbon source to resistance of heavy metals of oil-destructive strains actinobacteria used for bioremediation // Politematicheskii setevoy elektronnyy nauchnyy zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. 2012. № 83. P. 119–128 (in Russian).

19. Solyanikova I. P., Golovleva L. A. Physiological and biochemical properties of actinobacteria as the basis of their high biodegradative activity (review) // Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya. 2015. T. 51. № 2. P. 132–140 (in Russian).