



УДК: 579.222.2:663.18

## ВПЛИВ БІОГЕННИХ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН І МІКРОБНОГО ПРЕПАРАТУ НА МОРФОМЕТРИЧНІ ПОКАЗНИКИ ПРОРОСТКІВ *RAPHANUS SATIVUS* L. І *PISUM ARVENSE* L.

А. Р. Баня<sup>1</sup>, В. І. Баранов<sup>2</sup>, І. В. Карпенко<sup>1</sup>,  
Н. І. Корецька<sup>1</sup>, Р. І. Вільданова<sup>1</sup>, О. В. Карпенко<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Відділення фізико-хімії горючих копалин ІнФОВ ім. Л. М. Литвиненка НАН України  
вул. Наукова, 3а, Львів, 79053, Україна

<sup>2</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна  
e-mail: [biofr@franko.lviv.ua](mailto:biofr@franko.lviv.ua)

Встановлено, що редька олійна (*Raphanus sativus* L.) і пелюшка (*Pisum arvense* L.) є перспективними рослинами для фіторекультивациї ґрунтів, які забруднені нафтою. Визначено стимулювальний вплив препарату на основі мікроорганізмів-деструкторів і біогенних поверхнево-активних речовин (біоПАР) на ростові показники редьки олійної та пелюшки при вирощуванні на забруднених ґрунтах (2, 5 і 8% нафти). Найбільший ефект виявлено у разі спільного застосування біоПАР і мікроорганізмів: перша стадія – внесення до ґрунту мікробного препарату, друга – висаджування насіння, обробленого розчинами біоПАР (рамноліпідного біокомплексу PS і трегалозоліпідів). Такий комбінований підхід забезпечує попередню часткову деструкцію нафти у ґрунті мікроорганізмами, а біогенні ПАР можуть сприяти кращому засвоєнню поживних речовин і води, впливаючи на проникність клітинних мембран рослин. Показано, що пелюшка є більш стійкою і перспективною рослиною для вирощування її на ґрунтах, забруднених нафтою. Отримані результати свідчать про перспективність комплексного використання препарату на основі мікроорганізмів-деструкторів нафти і біогенних поверхнево-активних речовин для підвищення толерантності рослин до несприятливих умов, зокрема, нафтових забруднень ґрунтів.

**Ключові слова:** мікробний препарат, біогенні поверхнево-активні речовини, рамноліпідний біокомплекс, трегалозоліпіді, нафтові забруднення, фіторекультивация, редька олійна, пелюшка.

### ВСТУП

Видобуток корисних копалин, їх переробка і транспортування часто негативно впливають на стан і родючість ґрунтового покриву Землі. Забруднення ґрунтів

нафтою та нафтопродуктами спричиняють зміни його структури, фізико-хімічних властивостей, порушення водопроникності й аерації, режиму мінерального живлення рослин і функціонування екосистем загалом [3, 9]. Тому проведення рекультивацийних робіт є важливим природоохоронним заходом, спрямованим на відновлення техногенно порушених територій.

Серед сучасних методів відновлення довкілля пріоритетними є біологічні, що передбачають застосування мікроорганізмів і рослин [4, 12]. Актуальним завданням є підбір рослин, які є достатньо стійкими до забруднень ґрунтів, а також розроблення методів підвищення їхньої стійкості [7]. Лімітуючим фактором для рослин є токсичність нафти, гідрофобність, низька мобільність її молекул, їх сорбція на ґрунті. Саме тому основним завданням при розробці технологій ремедіації є підвищення стійкості рослин до забруднень ґрунтів [6]. Серед таких методів, на нашу думку, заслуговує на увагу використання біогенних поверхнево-активних речовин (біоПАР) і мікроорганізмів-деструкторів нафти. БіоПАР, завдяки своїй високій ефективності й унікальності фізико-хімічних і біологічних властивостей, мають низку переваг перед синтетичними: вони є біодеградабельними і малотоксичними, що визначає їх пріоритет в екологічно безпечних технологіях [10]. Відомо, що біоПАР впливають на проникність клітинних мембран, активність ферментів, інших біологічно активних речовин, на ріст і метаболізм мікроорганізмів [11, 15]. Біогенні ПАР є перспективними стимуляторами росту рослин [11, 15].

Як фіторемедіанти доцільно вибирати рослини, котрі поряд з основною функцією, мають здатність збагачувати ґрунти, бути джерелами альтернативного палива тощо, наприклад, редька олійна [8]. Відомо, що вона є кормовою культурою, яка забезпечує високі врожаї зеленої маси 300–700 ц/га [17], проте у процесах фіторемедіації ґрунтів ця рослина практично не використовувалась. Інший об'єкт – пелюшка – є бобовою культурою, вона невибаглива до тепла, проростає за температури +1...+2°C і дає високі врожаї [18]. У попередніх дослідженнях показано, що пелюшка є достатньо стійкою за вирощування на забруднених нафтою ґрунтах [1,5], а це створює передумови її використання у фіторемедіаційних технологіях.

Метою даної роботи було вивчити вплив препарату на основі мікроорганізмів-деструкторів нафти, а також поверхнево-активних речовин бактеріального походження, на морфометричні показники редьки олійної та пелюшки за росту на забруднених ґрунтах із різним вмістом нафти.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У роботі використано насіння редьки олійної (*Raphanus sativus* L.) та пелюшки (*Pisum arvense* L.), препарат на основі мікроорганізмів-деструкторів вуглеводнів (Д), виділених із забруднених ґрунтів з територій нафтогазовидобувного управління „Долинанафтогаз” [2]. У дослідженнях також було застосовано біогенні поверхнево-активні речовини (біоПАР) – продукти мікробного синтезу: рамноліпідний біокомплекс PS штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 (RL), що містить рамноліпіди і полісахарид [13, 16], трегалозоліпідні ПАР штаму *Gordonia rubropertincta* УКМ Ас-122 (TL) [14]. Вплив мікроорганізмів-деструкторів та біоПАР на рослини оцінювали за ростовими (морфометричними) показниками їх проростків. У штучно забруднений ґрунт із концентрацією нафти 2, 5 і 8% вносили препарат мікроорганізмів-деструкторів у кількості 25 мл (титр –  $5 \times 10^6$  КУО/мл) на 0,5 кг ґрунту й витримували протягом 14 діб. Далі насіння замочували у розчинах RL і TL

(за концентрацій 0,01 і 0,05 г/л відповідно) впродовж 3 годин і висаджували в ємності, кожна з яких містила 300 г ґрунту, з вмістом нафти 2, 5 і 8%. Експеримент проводили за такими варіантами: контроль (К), Д, RL, RL + Д, TL, TL + Д. Рослини вирощували у лабораторних умовах за температури +18...+20°C під лампами денного світла впродовж 14 діб, після чого визначали довжину і масу проростків. Статистичну обробку даних проводили у програмах Statist та Exel.

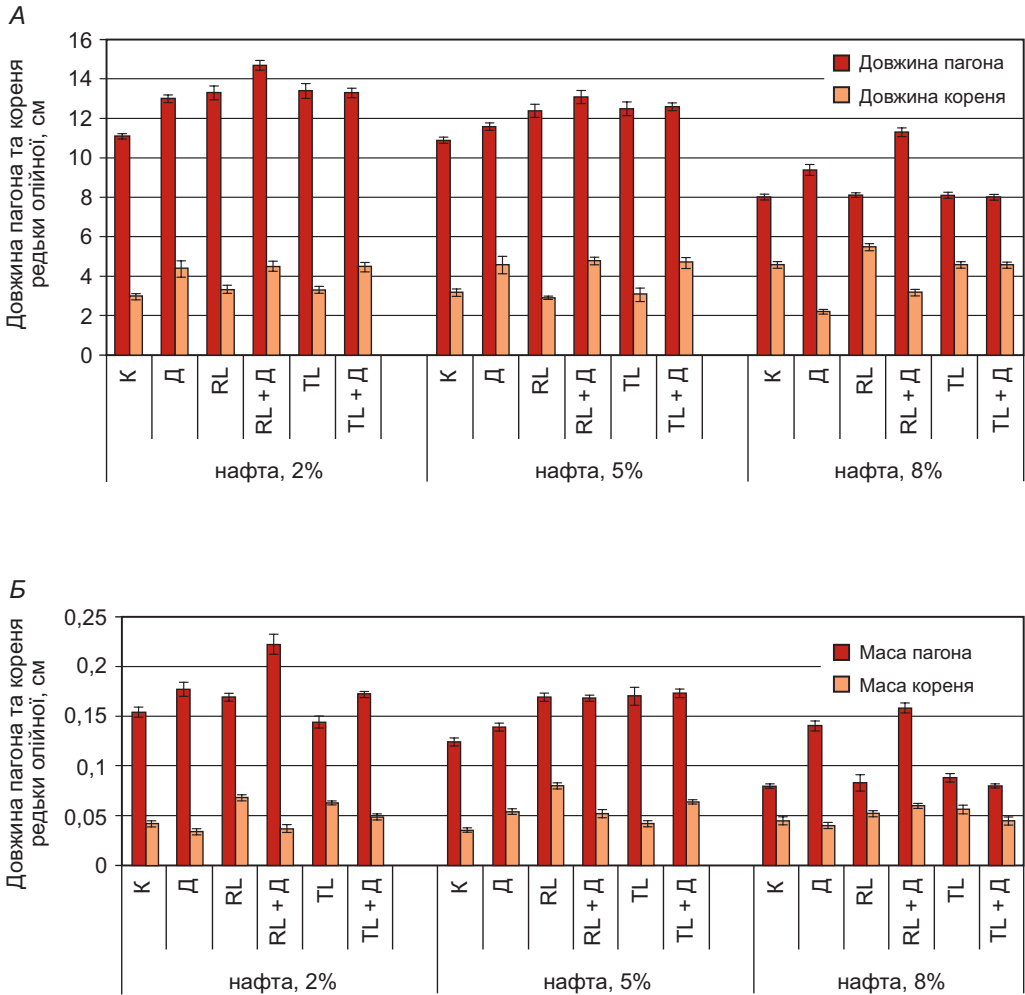
## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ І ЇХНЕ ОБГОВОРЕННЯ

Встановлено, що попереднє внесення у забруднений ґрунт мікробного препарату, а також передпосадкове оброблення насіння редьки олійної та пелюшки розчинами рамноліпідного біокомплексу PS і трегалозоліпідів позитивно впливали на морфометричні показники проростків рослин порівняно з контролем. Показано стимулювальну дію мікробного препарату, біоПАР, значного ефекту досягнуто у разі їх спільного застосування. Так, довжина пагона редьки олійної у варіанті RL + Д збільшилася на 32%, TL+ Д – на 20%; довжина кореня – на 46–50%, маса пагона – на 44 та 11% відповідно (рис.1). Аналогічні закономірності впливу досліджених препаратів одержано для ґрунту із вмістом нафти 5 %: довжина пагона у варіантах з RL + Д зросла на 20%, TL+ Д – на 15%; маса кореня – на 44 і 77% відповідно (рис. 1). За вмісту нафти у ґрунті 8% підвищення ростових параметрів рослин спостерігалось переважно у варіанті RL + Д: довжина пагона збільшилася на 41%, маса пагона – на 97%, маса кореня – на 33%.

Вплив мікроорганізмів і біоПАР на морфометричні показники пелюшки за росту на ґрунті із вмістом нафти 2% був подібним до результатів для редьки олійної: довжина пагона у варіанті RL + Д зросла на 41%; TL+ Д – на 20%, довжина кореня – на 81 і 60% відповідно, маса кореня – на 67 і 57% (рис. 2).

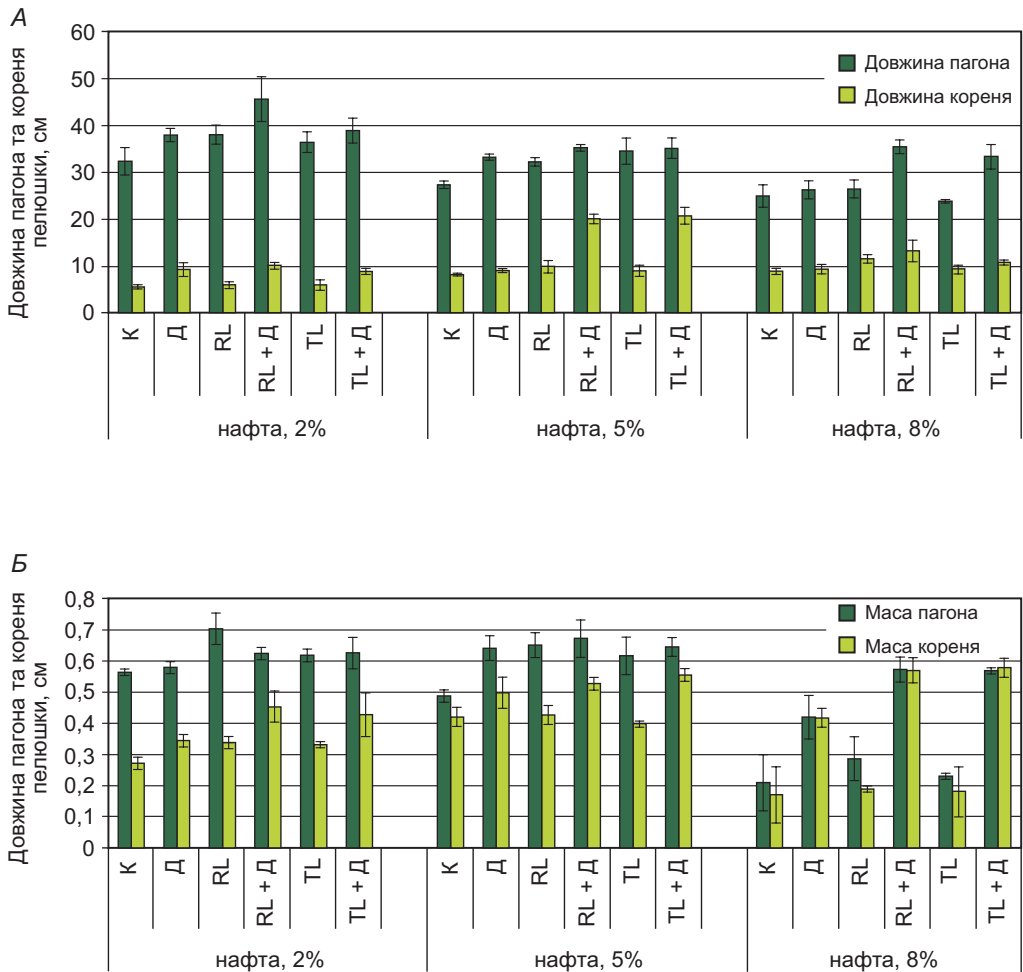
За концентрації 5% нафти найбільшою була довжина коренів за комплексної дії препарату мікроорганізмів-деструкторів вуглеводнів і біоПАР: збільшення у відсотках за дії RL + Д і TL+ Д – 146 і 155% порівняно з контролем, відповідно. Пелюшка за вирощування на ґрунті з вмістом нафти 8% була стійкішою до забруднення, ніж редька олійна: довжина пагона пелюшки у варіанті RL + Д збільшилася на 42%; TL + Д – на 33%; довжина кореня – на 50 і 21% відповідно (рис. 2); маса пагона і кореня – більше, ніж у 2,5 разу.

Отже, показано, що найбільшого ефекту можна досягти при поетапному використанні мікробного препарату і толерантних до забруднення рослин-ремедіантів, які у свою чергу, сприяють розвитку автохтонної мікрофлори ґрунту. Оскільки лімітуючим фактором для рослин є токсичність нафти, її гідрофобність, мала мобільність молекул і їхня сорбція на ґрунті, нам вдалося підвищити стійкість рослин до забруднення ґрунтів шляхом передпосадкового оброблення насіння розчинами біогенних ПАР [5]. Стимулювальну дію біоПАР на рослини, на нашу думку, можна пояснити здатністю до десорбції з ґрунту, солюбілізацією малорозчинних нафтових вуглеводнів, а також їхнім впливом на проникність клітинних мембран. Комплексний підхід, який передбачає застосування мікробного препарату для попереднього оброблення забруднених нафтою ґрунтів та розчинів біоПАР для передпосівного замочування насіння, сприяє збільшенню морфометричних показників проростків пелюшки та редьки олійної, тобто підвищенню їхньої толерантності до несприятливих умов, зокрема, до нафтових забруднень ґрунтів.



**Рис. 1.** Вплив мікробного препарату (Д) та біоПАР – RL і TL на морфометричні показники (довжина пагона та кореня (А) і маса пагона та кореня (Б) проростків редьки олійної (*Raphanus sativus* L.) за росту на ґрунті із вмістом нафти 2, 5 і 8%: К – контроль; Д – мікробний препарат; RL – рамноліпідний біокомплекс PS; TL – трегалозоліпіди; статистично вірогідна різниця щодо контролю за  $p < 0,05$

**Fig. 1.** Effect of microbial preparation (D) and biosurfactants (RL and TL) on morphometric parameters (length of shoot and root (A) and weight of shoot and root (B) of oilseed radish seedlings (*Raphanus sativus* L.) at growth on soil containing 2, 5 and 8% oil: K – control; D – microbial preparation; RL – rhamnolipid biocomplex PS; TL – trehalose lipids; statistically significant difference relative to control  $p < 0.05$



**Рис. 2.** Вплив мікробного препарату (Д) та біоПАР – RL і TL на морфометричні показники (довжина пагона та кореня (А) і маса пагона та кореня (Б) проростків пелюшки (*Pisum arvense* L.) за росту на ґрунті з вмістом нафти 2, 5 і 8%: К – контроль; Д – мікробний препарат; RL – рамноліпідний біокомплекс PS; TL – трегалозоліпіди; статистично вірогідна різниця щодо контролю за  $p < 0,05$

**Fig. 2.** Effect of microbial preparation (D) and biosurfactants – RL and TL – on morphometric parameters (length of shoot and root (A) and weight of shoot and root (B) of field pea (*Pisum arvense* L.) seedlings at growth on soil containing oil 2, 5 and 8% oil: К – control; Д – microbial preparation; RL – rhamnolipid biocomplex PS; TL – trehalose lipids; statistically significant difference relative to control  $p < 0.05$

## ВИСНОВОК

Встановлено стимулювальний вплив препарату на основі мікроорганізмів-деструкторів вуглеводнів і біогенних ПАР (рамноліпідного біокомплексу PS і трегалозоліпідів) на ростові показники редьки олійної та пелюшки при вирощуванні на ґрунтах, забруднених нафтою (2, 5 і 8%). Такий комплексний підхід сприяє підвищенню толерантності рослин до несприятливих умов, зокрема забруднення ґрунту нафтою, і надає перспективу їхнього застосування у фіторе mediaційних технологіях.

Дослідження виконанні за тематикою проекту УНТЦ 4784.

1. Бая А.Р., Вільданова-Марцишин Р.І., Баранов В.І., Карпенко О.В. Вплив мікроорганізмів-деструкторів нафти та біогенних поверхнево-активних речовин на морфометричні показники проростків олійних рослин. **Матеріали XII конференції молодих вчених**. Київ, 2012. С. 226–227.
2. Вільданова-Марцишин Р.І., Покинсьброда Т.Я., Карпенко О.В. Скринінг мікроорганізмів - деструкторів вуглеводнів із забруднених нафтопродуктами об'єктів Західної України. **Вісник Нац. ун-ту «Львівська політехніка»**. Хімія, технологія речовин та їх застосування, 2008; 609: 117–119.
3. Губачов О.І. Особливості використання рослин для біотестування ґрунтів з метою визначення рівня екологічної безпеки промислових територій. **Наук. вісник КУЕІТУ. Нові технології**, 2010; 3(29): 164–171.
4. Джура М.Н., Романюк О.І., Гонсьор Ян та ін. Використання рослин для рекультивації ґрунтів, забруднених нафтою та нафтопродуктами. **Екологія та ноосферологія**, 2006; 17(1–2): 55–60.
5. Карпенко І.В., Баранов В.І., Карпенко О.В. Мікробні поверхнево-активні речовини – перспективні речовини. **Матеріали XII конф. молодих вчених**. Київ, 2012. С. 258–259.
6. Карпенко О., Щеглова Н., Вільданова Р. и др. Использование метаболитов бактерий для повышения толерантности растений к нефтяным загрязнениям почвы. **Всерос. симпозиум „Растение и стресс”**. Москва, 2010. 178 с.
7. Міхеев О.М., Гуца М.І., Шиліна Ю.В. та ін. Застосування рослинних тест-систем для оцінки комбінованої дії стресорів різної природи на екосистеми. **Наук. праці. Екологія**, 2006; 53(40): 56–64.
8. Моїсеева М. **Олійні для біодизеля**. Пропозиція, 2006; 4: 26–29.
9. Процько Я.І. Вплив нафти та нафтопродуктів на ґрунтовий покрив. **Вісник Полтав. держ. аграрн. академії**, 2010; 2: 189–191.
10. Щеглова Н.С., Карпенко О.Я., Покинсьброда Т.Я. та ін. Гліколіпідні ПАР – екологічно безпечні стимулятори росту сільськогосподарських рослин. **Вісн. Нац. ун-ту „Львівська політехніка”**. Хімія, технологія речовин та їх застосування, 2007; 590:133–137.
11. Deka M., Das K. Effect of biosurfactant from two strains of *Pseudomonas* on germinating seedlings of *Cicer arietinum* L. and *Phaseolus mungo* Roxb. **African Journ. of Biotechnology**, 2009; 8 (23): 6621–6626.
12. Frick C., Farrell R., Gemida J., Assessment of Phytoremediation as an In-Situ Technique for Cleaning Oil-Contaminated Sites. **Department of Soil Science University of Saskatchewan Saskatoon**, SK Canada S7N 5A8. 1999: 23–25.
13. Karpenko E.V., Pokin'broda T.Y., Makitra R.G., Pal'chikova E.Y., Optimal Methods of Isolation of Biogenic Ramnolipid Surfactants. **Zhurnal Obshchei Khimii (Rus. Journ. of General Chemistry)**, 2009; 79(12): 2637–2640.
14. Karpenko O., Prystay M., Datsko B. et al. Optimization of biosynthesis of surfactants and exopolysaccharides by strain *Gordonia rubripertincta* UKMAC-122 by mathematical methods. **Biotechnology (Ukrainian)**, 2011; 4 (5): 39–44.

15. USA Patent. No. 60/604,139, filed Aug. 23, 2004. **Microbial biosurfactants as agents for controlling pests.**
16. Пат. 71792 А Україна 7 С12Н1/02 С12R1:38. **Поверхнево-активний біопрепарат/** О.В. Карпенко, Н.В. Мартинюк, О.Н. Шульга, Н.С. Щеглова. Заявл. 25.12.2003; опубл. 15.12.2004, Бюл. № 12, 2004: 4–31.
17. Електронна енциклопедія сільського господарства. AgroScience.com.ua. <http://www.agroscience.com.ua/plant/znachennya-ta-biologichniosoblyvosti-redky-oliinoi>
18. Електронна енциклопедія сільського господарства. AgroScience.com.ua. <http://www.agroscience.com.ua/plant/biologichni-osoblyvosti-gorokhu>

---

## INFLUENCE OF BIOGENIC SURFACE-ACTIVE SUBSTANCES AND MICROBIAL PREPARATION ON THE MORPHOMETRIC PARAMETERS OF SEEDLINGS OF *RAPHANUS SATIVUS* L. AND *PISUM ARVENSE* L.

**A. R. Banya<sup>1</sup>, V. I. Baranov<sup>2</sup>, I. V. Karpenko<sup>1</sup>,  
N. I. Koretska<sup>1</sup>, R. I. Vildanova<sup>1</sup>, O. V. Karpenko<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Department of Physico-Chemistry of Combustive Minerals, L. M. Lytvynenko InPOCC, NAS of Ukraine, 3a, Naukova St., Lviv 79053, Ukraine

<sup>2</sup>Ivan Franko National University of Lviv, 4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine  
e-mail: biofr@franko.lviv.ua

It was determined that oilseed radish (*Raphanus sativus* L.) and field pea (*Pisum arvense* L.) are promising plants for phytoremediation of oil contaminated soils. The stimulating effect of the preparation based on oil-degrading microorganisms and biogenic surfactants (biosurfactants) on growth parameters of oilseed radish and field pea seedlings when grown in contaminated soils (2, 5 and 8% of crude oil) was determined. The greatest effect was detected for joint application of biosurfactants and microorganisms: the first stage – introduction of microbial preparation into the soil, second stage – planting of the seeds treated with biosurfactant solutions (rhamnolipid biocomplex PS or trehalose lipids). Such combined approach provides preliminary partial degradation of oil in soil by microorganisms, while biogenic surfactants can promote better assimilation of nutrients and water influencing the permeability of cell membranes of plants. It was shown that field pea is more stable and perspective plant for cultivation on oil contaminated soil.

The obtained results testify to the prospects of combined use of the preparation based on oil-degrading microorganisms and biogenic surfactants for enhancement of plant tolerance to adverse conditions such as petroleum contamination in soils.

**Keywords:** microbial preparation, biogenic surfactants, rhamnolipid biocomplex, trehalose lipids, oil contamination, phytoremediation, oilseed radish, field pea.

## ВЛИЯНИЕ БИОГЕННЫХ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ И МИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПРОРОСТКОВ *RAPHANUS SATIVUS* L. И *PISUM ARVENSE* L.

А. Р. Баня<sup>1</sup>, В. И. Баранов<sup>2</sup>, И. В. Карпенко<sup>1</sup>,  
Н. И. Корецкая<sup>1</sup>, Р. И. Вильданова<sup>1</sup>, О. В. Карпенко<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Отделение физико-химии горючих ископаемых ИнФОУ им. Л. М. Литвиненко НАН Украины, ул. Научная, За, Львов 79053, Украина

<sup>2</sup>Львовский национальный университет имени Ивана Франко ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина  
e-mail: biofr@franko.lviv.ua

Установлено, что редька масличная и пелюшка являются перспективными растениями для фиторекультивации почв, загрязненных нефтью. Показано стимулирующее влияние препарата на основе микроорганизмов-деструкторов и биогенных поверхностно-активных веществ (биоПАВ) на ростовые показатели редьки масличной и пелюшки при выращивании на загрязненных почвах (2, 5 и 8% нефти). Наибольший эффект выявлен при совместном применении биоПАВ и микроорганизмов: первая стадия – внесение в почву микробного препарата, вторая – высадка семян, обработанных растворами биоПАВ (рамнолипидного биокомплекса PS и трегалозолипидов). Такой комбинированный подход обеспечивает предварительную частичную деструкцию нефти микробным препаратом, а биоПАВ могут способствовать лучшему усвоению питательных веществ и воды, влияя на проницаемость клеточных мембран растений. Показано также, что пелюшка является более перспективным и стойким растением для выращивания на почве, загрязненной нефтью. Полученные результаты свидетельствуют о перспективе комплексного использования препарата на основе микроорганизмов-деструкторов нефти и биогенных поверхностно-активных веществ для повышения толерантности растений к неблагоприятным условиям, в частности, нефтяным загрязнениям почв.

**Ключевые слова:** микробный препарат, биогенные поверхностно-активные вещества, рамнолипидный биокомплекс, трегалозолипиды, нефтяные загрязнения, фиторекультивация, редька масличная, пелюшка.

Одержано: 31.01.2013