

**СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ БИОПРЕПАРАТОВ-НЕФТЕДЕСТРУКТОРОВ
ДЛЯ ОЧИСТКИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННОГО ГРУНТА В ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ**

Л. Г. Бакина^{ORCID}, М. В. Чугунова^{ORCID}, А. О. Герасимов^{ORCID}, Ю. М. Поляк^{ORCID}, К. Л. Якконен^{ORCID}, Н. В. Маячкина^{ORCID},
Е. А. Горбунова^{ORCID}

ORCID

Бакина Л. Г. [0000-0002-0512-5617](https://orcid.org/0000-0002-0512-5617)Чугунова М. В. [0000-0003-0908-8160](https://orcid.org/0000-0003-0908-8160)Герасимов А. О. [0000-0003-2546-623X](https://orcid.org/0000-0003-2546-623X)Поляк Ю. М. [0000-0002-9490-2392](https://orcid.org/0000-0002-9490-2392)Якконен К. Л. [0000-0002-9745-1654](https://orcid.org/0000-0002-9745-1654)Маячкина Н. В. [0000-0003-4584-4736](https://orcid.org/0000-0003-4584-4736)Горбунова Е. А. [0000-0001-5619-1801](https://orcid.org/0000-0001-5619-1801)

*ФГБУН Санкт-Петербургский Федеральный исследовательский центр РАН,
107110, г. Санкт-Петербург, ул. Корпусная, д. 18,
e-mail: bakinalg@mail.ru*

Поступила в редакцию 30.06.2025 г., принята к печати 03.09.2025 г.

Биологические методы санации нефтезагрязненных почв и грунтов наиболее предпочтительны из существующих технологий рекультивации. Методы биоремедиации, наряду с другими мероприятиями (посев трав, стимуляция аборигенной почвенной микробиоты путем внесения удобрений и извести), включают применение бактериальных препаратов, содержащих нефтеокисляющие микроорганизмы. В работе изучена эффективность биопрепаратов-нефтедеструкторов для очистки старозагрязненного грунта от нефтепродуктов (НП) в экстремальных условиях – без внесения удобрений и извести и при пониженной температуре (+15°C). Эксперимент проводили в лабораторных условиях при исходном содержании нефтепродуктов в грунте 3500 мг кг⁻¹, что относится к четвертому уровню загрязнения (высокое). Компостирование проводили в пластиковых контейнерах, масса почвы 300 г. За весь период компостирования (4 недели), в зависимости от варианта опыта, разложилось 260–540 мг кг⁻¹ НП, или 7–15% от исходного содержания. За счет активности аборигенной микробиоты разложилось 7% НП. Два препарата («Дестройл» и «Север») практически не оказали влияния на процессы биодеструкции НП, поскольку уровень разложения нефтепродуктов в них был таким же, как в контроле (без биопрепаратов). Три препарата («Деворойл», «Сойлекс» и «Абориген») усилили процесс разложения НП в 1,6, 1,8 и 2,1 раза, соответственно. После третьей недели компостирования процесс деструкции нефтепродуктов в грунте практически прекратился. Доказана высокая информативность показателя интенсивности почвенного дыхания (продуцирование почвой углекислого газа) в качестве индикатора активности процессов полной минерализации НП микроорганизмами. Установлены коэффициенты корреляции R=0,63–0,88 между интенсивностью почвенного дыхания и убылью нефтепродуктов в загрязненном грунте.

Ключевые слова: нефтезагрязнение почв, нефтепродукты, биопрепараты, биоаугментация, самоочищение почвы, почвенное дыхание

**COMPARATIVE STUDY OF OIL-DESTRUCTOR BIOLOGICAL PRODUCTS EFFICIENCY FOR
CLEANING OIL-CONTAMINATED SOILS IN EXTREME CONDITIONS**

L. G. Bakina, M. V. Chugunova, A. O. Gerasimov, Yu. M. Polyak, K. L. Yakkonen, N. V. Mayachkina,
E. A. Gorbunova

*St. Petersburg Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences,
107110, St. Petersburg, Korpusnaya St., 18, e-mail: bakinalg@mail.ru*

The biological methods of remediation of oil-contaminated soils and grounds are the most preferable of the existing recultivation technologies. Bioremediation methods, along with other measures (sowing grasses, stimulating native soil microorganisms by applying fertilizers and lime), include the use of bacterial preparations containing oil-degrading microorganisms. The paper studies the efficiency of oil-degrading biopreparations for cleaning old-contaminated soil from oil products (OP) under extreme conditions – without applying fertilizers and lime and at low temperatures (+15°C). The experiment was carried out in laboratory conditions with an initial content of oil products in the soil of 3500 mg kg⁻¹, which refers to pollution level 4 (high). Composting was carried out in plastic containers, the soil weight was 300 g. Over the entire composting period (4 weeks), depending on the experimental treatment, 260–540 mg kg⁻¹ OP, or 7–15% of the oil initial content, decomposed. Due to the activity of the native microorganisms, 7% of OP was decomposed. Two preparations («Destroyl» and «Sever») had virtually no effect on the processes of OP biodegradation, since the level of petroleum products decomposition with them was the same as in the

control (without biopreparations). Three preparations («Devoroil», «Soyleks» and «Aborigen») increased the process of OP decomposition by 1,6, 1,8 and 2,1 times, respectively. After the third week of composting, the process of petroleum products destruction in the soil ceased, which confirmed the well-known position on the need for repeated (after 3–4 weeks) application of biopreparations in order to intensify the biodegradation of petroleum products. Soil respiration intensity indicator (production of carbon dioxide by the soil) was proven to be a very valuable indicator of the processes of complete OP mineralization by microorganisms. Correlation coefficients $R=0.63-0.88$ were established between the intensity of soil respiration and the loss of petroleum products from the contaminated soil.

Key words: oil pollution, soils, oil products, biopreparations, bioaugmentation, self-purification, soil respiration

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что проблемы очистки и восстановления загрязненных почв приобретают особую остроту и актуальность при загрязнении их нефтью и нефтепродуктами, нарушающими экологическое равновесие и отрицательно влияющими на почвенный покров. При этом общепризнано, что биологические методы санации (очистки) нефтезагрязненных почв и грунтов являются наиболее предпочтительными из существующих технологий рекультивации (Зильберман и др., 2005; Xuezhí et al., 2020). Они эффективны, экологически безопасны и сравнительно недороги (Sui et al., 2021). Биологические методы подразумевают, наряду с другими мероприятиями (посев трав, стимуляция аборигенной почвенной микробиоты путем внесения удобрений и извести), применение бактериальных препаратов, содержащих нефтеокисляющие микроорганизмы, которые используют компоненты нефти в качестве главного источника углерода и энергии.

Биопрепараты показали себя достаточно действенным средством для удаления нефтезагрязнений, однако наличие неблагоприятных, сложных условий может существенно снизить их эффективность. Старые загрязнения с преобладанием трудно разлагаемых нефтяных углеводородов, а также пониженные температуры воздуха отрицательно влияют на санационную активность биопрепаратов. Кроме того, иногда возникают дополнительные трудности в виде запрета на применение удобрений, например, в водоохраных зонах, что приводит к низкому уровню минерального питания и снижению активности нефтеокисляющих микроорганизмов. В связи с необходимостью учитывать все эти неблагоприятные факторы (старое сложное загрязнение, невозможность использовать минеральные удобрения и средства химической мелиорации, пониженные температуры), возникла необходимость изучить эффективность биопрепаратов в экстремальных условиях. С этой целью был заложен лабораторный опыт по испытанию биопрепаратов для очистки нефтезагрязненного грунта со сроком загрязнения более 50 лет в экстремальных условиях – без применения минеральных удобрений при пониженной температуре.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Нефтезагрязненный грунт весом 6 кг был доставлен с территории Красноярской нефтебазы, которая находилась в эксплуатации более 60 лет и предназначалась для разгрузки и хранения нефтепродуктов (бензин, керосин и т. д.). В настоящее

время нефтебаза закрыта, и на данной территории планируются мероприятия по рекультивации. Особенностью объекта является то, что рекультивация будет проводиться в сложных условиях – старое нефтяное загрязнение, невозможность использования минеральных удобрений, прохладное лето. Загрязненный грунт характеризовался супесчаным гранулометрическим составом с включением мелкохрящеватых частиц (1–3 мм) и имел явно выраженный техногенный (нефтяной) запах. Исходный уровень загрязнения грунта нефтепродуктами составил 3500 мг кг^{-1} , что позволяет отнести его к грунтам с высоким уровнем загрязнения (Околенова, Желтобрюхов, 2013).

При закладке опыта грунт предварительно увлажняли дистиллированной водой до влажности примерно 20% и тщательно перемешивали до состояния однородности. Опыт проводили в пластиковых контейнерах с массой грунта в одном контейнере 300 г. Всего в опыте было изучено пять биопрепаратов: 1) «Дестройл» создан на основе монокультуры аэробной неспорообразующей грамотрицательной бактерии *Acinetobacter species* JN.; 2) «Абориген» создан на основе консорциума аборигенных микроорганизмов (аэробные грамотрицательные неспорообразующие бактерии родов *Acinetobacter* и *Oleomonas*), выделенных из природных нефтезагрязненных почв на территориях «старых» нефтяных разливов; 3) «Деворойл» создан на основе поликультуры, имеющей в своем составе пять видов бактерий родов *Rhodococcus* (аэробные неспорообразующие грамположительные бактерии) и *Pseudomonas* (аэробные неспорообразующие грамотрицательные бактерии), а также – представителей аэробных одноклеточных микроскопических грибов – дрожжи *Yarrowia (Candida) lipolytica*; 4) «Север» – данные о его микробиологическом составе отсутствуют в открытом доступе; 5) «Сойлекс» создан на основе ассоциации аэробных неспорообразующих грамотрицательных бактерий семейства *Pseudomonaceae*: *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida* и *Xantomonas sp.* Используемые биопрепараты представляли собой порошки, состоящие из вегетативных микробных клеток, остатков питательной среды, а также стабилизирующих добавок и наполнителей, состав которых в сопроводительных документах указан не был. Количество биопрепаратов рассчитывалось согласно рекомендациям производителей. Из биопрепаратов приготавливали суспензии согласно инструкциям; концентрация микроорганизмов была примерно одинаковой для всех вариантов опыта и

составила $3 \times 10^6 - 10 \times 10^6$ клеток мл^{-1} суспензии. Дозы внесенных препаратов – 10–15 мл на контейнер (300 г почвы), также согласно инструкции производителей. Повторность опыта – 3-кратная.

Испытание препаратов проходило на нефтезагрязненном грунте без внесения минеральных удобрений, несмотря на то что это рекомендовано практически всеми разработчиками биопрепаратов, и при пониженной температуре ($+15^\circ\text{C}$). При компостировании влажность образцов поддерживалась на уровне 16–20% (от массы грунта), для обеспечения аэрации компостируемые грунты регулярно перемешивали. Образцы для проведения анализов определения нефтепродуктов и почвенного дыхания отбирали раз в неделю. Всего было изучено 4 срока и таким образом общий период компостирования составил 28 дней.

Почвенное дыхание в отобранных образцах определялось в лабораторных условиях адсорбционным способом – по интенсивности выделения углекислого газа (Alef, 1995). Влажные почвенные образцы, отобранные из контейнеров, инкубировали 24 часа. Определение микробного дыхания из одного контейнера проводилось в 4-кратной повторности; полученные результаты обрабатывались методом дисперсионного анализа. Изменения микробиологического состояния загрязненных почв определяли на основе статистически значимых изменений уровня почвенного микробного дыхания по сравнению с контрольным субстратом. Контролем служила почва, в которую не вносились биопрепараты.

Содержание нефтепродуктов определяли по методике ПНД Ф 16.1:2.2.22-98. «МВИ массовой доли нефтепродуктов в минеральных, органоминеральных почвах и донных отложениях методом ИК-спектрометрии» с извлечением нефтепродуктов четыреххлористым углеродом и ИК-спектрометрическим окончанием на анализаторе АН-2

(страна-производитель Россия). Нефтепродукты в грунте из каждого контейнера определяли в двух аналитических повторностях. В таблицах приведены данные среднего арифметического с ошибкой выборочной средней. Для оценки значимости различий между показателями проводили однофакторный дисперсионный анализ с расчетом F-критерия в пакете программ SPSS. В случае значимости F-критерия далее проводили разделение средних на гомогенные группы на основе наименьшей существенной разницы (НСР). При обработке данных, выраженных в процентах к контролю, статистическому анализу подвергали исходные абсолютные величины, а затем полученные величины представляли в процентах.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что микроорганизмы являются одним из важнейших индикаторов экологического состояния почв. Интегральным показателем биологической активности почв, то есть суммарной активности протекающих в почвах деструкционных процессов, вызываемых микроорганизмами, является выделение почвой углекислого газа, так называемое почвенное дыхание. Почвенное дыхание в настоящее время считается одним из наиболее важных индикаторов состояния как микробного комплекса почв, так и почвенной экосистемы в целом. Его широко используют при биоиндикации различных почв с целью их экологической оценки (Смагин и др., 2006; Ананьева и др., 2021). Особенно важен этот показатель при изучении нефтезагрязненных почв и грунтов, так как скорость выделения ими углекислоты количественно характеризует процесс полной минерализации НП микроорганизмами до углекислого газа и воды (Mariano et al, 2010; Wolińska et al, 2016).

Результаты определения микробного дыхания грунтов с внесенными биопрепаратами и без них представлены в таблице 1.

Таблица 1. Изменение почвенного дыхания (продуцирования CO_2 , $\text{мг } 100 \text{ г}^{-1}$ грунта в сутки) при компостировании*, $n = 3$; $P = 95\%$

Варианты	Продолжительность компостирования, дни				
	0 (исходный грунт)	7	14	21	28
Контроль		$6,7 \pm 0,5a$	$5,2 \pm 1,2a$	$4,2 \pm 0,2a$	$4,1 \pm 0,1a$
Дестройл		$8,6 \pm 0,7ab$	$6,6 \pm 0,6a$	$5,2 \pm 0,7b$	$4,9 \pm 0,3ab$
Абориген	$6,9 \pm 0,4$	$10,0 \pm 0,7b$	$11,4 \pm 1,1c$	$9,4 \pm 1,1c$	$9,2 \pm 1,0c$
Деворойл		$9,2 \pm 1,5b$	$11,5 \pm 1,2c$	$8,6 \pm 1,1c$	$10,7 \pm 1,2c$
Север		$6,6 \pm 1,2a$	$8,4 \pm 0,6b$	$3,0 \pm 0,4a$	$5,9 \pm 0,7b$
Сойлекс		$11,7 \pm 0,5c$	$11,4 \pm 1,0c$	$8,3 \pm 0,9c$	$9,9 \pm 0,8c$

* **Примечание (табл. 1 и 2):** Число повторностей в опыте $n=3$, уровень значимости для величины почвенного дыхания (табл. 1) и содержания НП (табл. 2) $P=95\%$. В таблицах указана средняя арифметическая величина параметра со средней ошибкой выборки ($\pm$). В каждом столбце разными буквами обозначены подгруппы со значимыми различиями между средними.

Установлено, что исходная интенсивность дыхания контрольной почвы (без внесения биопрепаратов) составляла около $7 \text{ мг } \text{CO}_2 \text{ } 100 \text{ г}^{-1}$ грунта в сутки. В течение срока наблюдений количество продуцируемой аборигенными микроорганизмами углекислоты постепенно

снижалось, и к концу эксперимента составило около $4 \text{ мг } \text{CO}_2 \text{ } 100 \text{ г}^{-1}$ грунта в сутки.

Дыхание грунтов после внесения биопрепаратов усилилось во всех вариантах опыта, однако в течение первой недели это увеличение было достоверным для трех препаратов из пяти, а через две недели усиление дыхания стало достоверным уже для

всех вариантов опыта. По интенсивности продуцирования CO_2 через четыре недели эксперимента лидировали препараты «Деворойл», «Абориген» и «Сойлекс». Выделение CO_2 в этих вариантах опыта было, соответственно, на 121, 141 и 164% больше контрольного уровня.

Известно, что биопрепараты различаются используемыми в их составе штаммами микроорганизмов, имеющими различные физиолого-биохимические свойства (Бортников и др., 2014; Белик, Морозова, 2016). При изготовлении биопрепаратов используют большое количество различных родов бактерий (*Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Clostridium*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Rhodococcus*, *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Pseudoxanthomonas*, *Ochrobactrum*), дрожжей (*Candida*) и микромицетов (*Fusarium*, *Mucor*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Aspergillus*) (Ягафарова, Гатауллина, Барахнина, 1999; Varjani et al., 2015; Zhang et al., 2016; Al-Hawash et al., 2018; Jabbarov et al., 2020; Ablicieva et al., 2021). Состав исследуемых в

эксперименте биопрепаратов был многокомпонентным, поэтому различия в интенсивности дыхания грунта после внесения исследованных биопрепаратов логичны и объяснимы.

Результаты определения нефтепродуктов приведены в таблице 2. Установлено, что, по сравнению с исходным содержанием нефтепродуктов в грунте, убыль их содержания в течение первой недели наметилась во всех вариантах опыта (включая контроль без биопрепаратов), однако все различия были статистически недостоверны. Через две недели эксперимента различия по содержанию НП между опытными вариантами и исходным грунтом были достоверны почти для всех биопрепаратов, за исключением препаратов «Дестройл» и «Север», в которых уровень содержания НП остался на уровне контрольного (без биопрепаратов) варианта. К концу опыта снижение содержания НП, по сравнению с исходным грунтом, было достоверным для всех вариантов опыта, включая контроль (без биопрепаратов).

Таблица 2. Изменение содержания нефтепродуктов (мг кг^{-1}) в загрязненном грунте при самоочищении и биоаугментации, $n = 3$; $P = 95\%$

Варианты	Продолжительность компостирования, дни					Минерализовавшиеся НП, % от исходного
	0 (исходный грунт)	7	14	21	28	
Контроль		3368±53a	3229±103a	3213±52a	3257±32a	7
Дестройл		3336±92a	3225±60a	3270±56a	3234±52a	8
Абориген		3377±155a	3114±75ab	2990±46b	2979±64b	15
Деворойл	3515±55	3380±67a	3197±56ab	3091±46b	3092±70b	12
Север		3388±81a	3262±78a	3170±96a	3212±23a	8
Сойлекс		3230±154a	3194±43ab	3039±15b	3056±50b	13

При сравнении вариантов опыта было установлено, что различия между ними стали проявляться со второй недели компостирования, когда наметилось разделение их на две группы. В первую группу попали контрольный вариант (без препаратов, самоочищение) и варианты с внесением биопрепаратов «Дестройл» и «Север», которые практически не отличались по убыли НП от контрольного варианта. Вторую группу составили

варианты с препаратами «Деворойл», «Абориген» и «Сойлекс», действие которых на интенсификацию процессов биоразложения нефти было несомненным и хорошо выраженным.

Сравнительная эффективность биопрепаратов для разложения нефти в исследуемом грунте выявилась при обобщении полученных результатов (рис.).

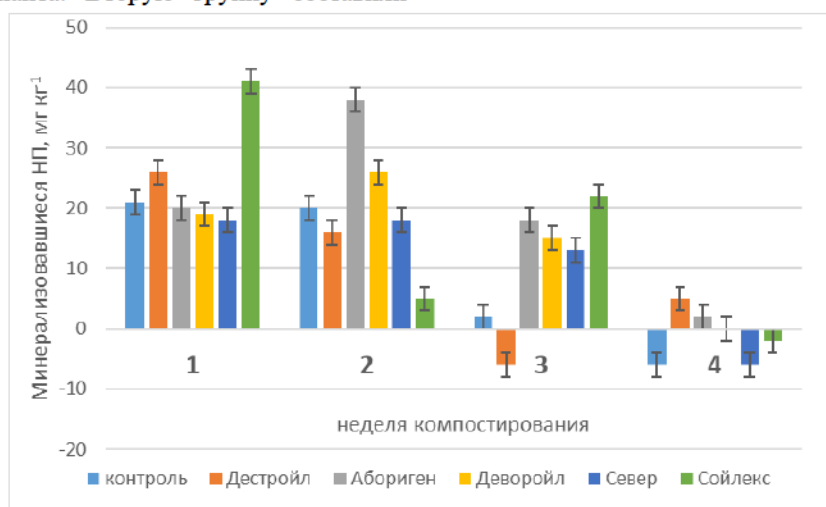


Рис. Изменение скорости минерализации нефтепродуктов в грунте при внесении биопрепаратов за 4 недели компостирования

Интенсивность процессов биодеструкции НП существенно изменялась в течение сравнительно небольшого (четыре недели) срока компостирования. Наиболее активно процессы разложения нефти проходили в первые две недели, различаясь в зависимости от варианта опыта: аборигенной микробиотой разлагалось около 20 мг кг^{-1} НП в сутки, а при внесении препаратов эти процессы либо оставались на уровне контроля (препараты «Дестройл» и «Север»), либо ускорялись почти в два раза – до $38\text{--}41 \text{ мг кг}^{-1}$ за сутки (препараты «Абориген» и «Сойлекс»). С третьей недели началось затухание процессов биодеструкции нефти, особенно в вариантах, в которых разложение происходило за счет аборигенной микробиоты (контроль) и с внесением препаратов «Дестройл» и «Север». Остальные три препарата отличались сравнительно более устойчивым и продолжительным действием и активно разлагали НП весь третий срок. После третьей недели компостирования процесс деструкции НП прекратился во всех вариантах опыта, поскольку разницы по содержанию НП в 3 и 4 срок отбора образцов практически не наблюдалось. Это подтверждает известное положение о необходимости повторного (через 3–4 недели) внесения биопрепаратов с целью интенсификации биоразложения нефтепродуктов.

В итоге за весь период компостирования (4 недели) старозагрязненного нефтепродуктами грунта в условиях пониженной температуры ($+15^\circ\text{C}$) и без внесения минеральных удобрений и извести, в зависимости от варианта опыта, разложилось $260\text{--}540 \text{ мг кг}^{-1}$ НП или 7–15% от исходного содержания. За счет аборигенной микробиоты разложилось 7% НП, два препарата («Дестройл» и «Север») не оказали никакого влияния на процессы биодеструкции НП, а три препарата («Деворойл», «Сойлекс» и «Абориген») увеличили процесс разложения НП в 1,6, 1,8 и 2,1 раза, соответственно. Причиной существенных различий в эффективности используемых биопрепаратов могли быть особенности их микробиологического состава. Известно, что ни один отдельный штамм не способен окислять весь спектр фракций нефти и нефтепродуктов, поэтому использование консорциумов нефтеразлагающих микроорганизмов оказалось более эффективным в удалении загрязняющих веществ из почв по сравнению с монокультурой (Mrozik, Piotrowska-Sege, 2010). Вероятно, именно по этой причине препарат «Дестройл», созданный на основе одного бактериального вида, характеризовался практически отсутствием нефтеокисляющей активности в отличие от препаратов «Деворойл», «Сойлекс» и «Абориген», в состав которых входили ассоциации различных микроорганизмов. В ряду трех эффективных биопрепаратов наилучший результат показал «Абориген», что по всей видимости, было обусловлено наличием в его составе сложного консорциума нефтеокисляющих микроорганизмов, выделенных непосредственно из природных почв с длительным нефтяным загрязнением. А как известно, наибольшей активностью по окислению нефтяных углеводородов обладают именно аборигенные микроорганизмы, развивающиеся в почвах исторически

нефтезагрязненных территорий (Франк и др., 2020). Установить причину отсутствия нефтеокисляющей активности у препарата «Север» не представляется возможным ввиду отсутствия сведений о его свойствах.

Полученные результаты отображают общую картину, которая проявляется при анализе научной литературы по изучению биопрепаратов-нефтедеструкторов. За последние годы выпущено значительное количество различных биопрепаратов, показавших неодинаковую эффективность при очистке нефтезагрязненных почв и грунтов. Среди исследованных биопрепаратов чаще других в литературе упоминаются «Родер», «Альбит», «Аркойл», «Биоприн», «Деворойл», «Дестройл», «Дизойл», «Агроил», «Инипол», «Файерзайм», «Деградойлас», «Ремедиаст», «Биоойл-Югра», «Псевдомин», «Родотрин-2», «Ленойл» и «Нафтокс». При выборе биопрепаратов учитывают особенности загрязненного объекта – тип почвы, «старость» загрязнения, его уровень и характер, а также геолого-климатические условия. Предпочтительно, чтобы биопрепараты состояли из сложных микробсообществ, включающих аэробные и анаэробные формы. Целесообразно многократное внесение биопрепаратов в почву, поскольку микроорганизмы в их составе со временем утрачивают в почве свою деструктивную активность и ассимилируются с аборигенной микробиотой.

Биопрепараты для удаления нефти и нефтепродуктов вносят в основном в свежезагрязненные почвы после сбора и откачки свободной нефти. Однако в литературе имеются сведения и об особенностях очистки почв, с момента загрязнения которых прошло несколько лет, как в грунте, который был использован в данной работе в качестве объекта исследований. Большинство научных статей посвящено рекультивации почв с небольшим сроком нефтезагрязнения; данные же об использовании биопрепаратов для очистки почв и грунтов при длительном загрязнении (более 3–5 лет) немногочисленны и противоречивы.

При очистке почв со «старым» загрязнением с помощью микробных биопрепаратов уже исключаются такие факторы превращения углеводородов, как сорбция и десорбция нефтяных компонентов, их растворение, испарение, вымывание атмосферными осадками, так как эти процессы, как правило, происходят в первые месяцы после загрязнения нефтью. В старозагрязненной почве преобладают фракции, состоящие в основном из высокомолекулярных углеводородов, которые с трудом разлагаются микроорганизмами (Khan et al., 2018). Поэтому в таких почвах процессы микробиологической деструкции нефтяного загрязнения происходят уже именно под действием биопрепаратов (Глязнецова, 2021).

Полученные нами результаты в целом хорошо согласуются с данными исследователей, которые считают биоаугментацию малоэффективной при реабилитации старозагрязненных почв. Так, С. Малетич с соавторами установили, что из общего количества нефтяных углеводородов (12 г кг^{-1}) в почве

с 8-летним загрязнением только 33% потенциально доступны для микроорганизмов, в то время как в свежезагрязненной почве их доля составляла почти 90% (Maletić et al., 2013). Низкий уровень биodeградации углеводов авторы объяснили депонированием более устойчивых нефтепродуктов в почвенных порах и почвенном органическом веществе в результате длительного пребывания в почве. Аналогичные данные получены П. Триндаде с коллегами, которые очищали старозагрязненную глинистую почву из Сан-Паулу при содержании нефтепродуктов 5,4%. Консорциум аборигенных нефтеокисляющих микроорганизмов (бактерии и дрожжи) снизил общее содержание нефтепродуктов в исследованной почве за 41 день лишь на 11,5%. Столь невысокий уровень биodeградации авторы также объяснили спецификой свойств (устойчивостью) нефтяных углеводов в старозагрязненной почве (Trindade et al., 2005).

Сопоставимыми с полученными нами результатами являются данные зарубежных исследователей о сравнении по эффективности методов биоаугментации и биостимуляции, полученные при очистке чилийских почв с хроническим (80 лет) загрязнением нефтяными углеводородами (500–800 ppm) (Orellana et al., 2017), а также о том, что сочетание биостимуляции (внесение минеральных удобрений) с биоаугментацией (внесение консорциума бактерий) является почти вдвое более эффективным, чем применение биоаугментации или биостимуляции по отдельности. Этот вывод был сделан исследователями при очистке старозагрязненной (более 50 лет) супесчаной глеевой почвы. Внесенная бактериальная биомасса, дополнительно стимулированная питательными элементами, на 67% уменьшила первоначальное количество нефтяных соединений (39000 мг кг^{-1}) за 72 дня (Morales-Guzmán et al., 2022).

Исследования, проводимые в экстремальных условиях холодного климата на мерзлотной почве Якутии, выявили эффективность биопрепарата на основе комплекса аборигенных углеводородокисляющих микроорганизмов. За три месяца внесенный биопрепарат способствовал деструкции 56,6% нефтяных углеводов в почве, загрязненной 10 лет назад сырой нефтью (34594 мг кг^{-1}). По мнению авторов, несмотря на показанную эффективность биопрепарата, однократной обработки препаратом было

недостаточно для полного восстановления нарушенных почв на Крайнем Севере, поскольку остаточный уровень загрязнения оставался достаточно высоким (15000 мг кг^{-1}) (Глязнецова, 2021).

Новым перспективным направлением для очистки почв со «старым» нефтяным загрязнением является использование микроскопических грибов (Medaura et al., 2021). Ряд исследований показал их более высокую эффективность при деградации трудноразлагаемых углеводов, преобладающих в старых загрязнениях, по сравнению с бактериями (Covino et al., 2015; Prenafeta-Boldú et al., 2019; Becarelli et al., 2021). Поэтому использование микроскопических грибов можно рассматривать как новую биоремедиационную стратегию борьбы с наиболее трудноразлагаемыми углеводородами в старых нефтезагрязненных почвах. Полученные нами данные хорошо согласуются с этими выводами, так как препарат «Деворойл», который содержит как бактерии, так и грибы, оказался одним из наиболее эффективных.

Таким образом, полученные результаты подтвердили данные большинства авторов о возможности использования биопрепаратов для очистки грунта со старым загрязнением нефтепродуктами. Дешевизна методов биоаугментации и их экологическая безопасность, возможность использовать их в водоохранных зонах делают применение биопрепаратов-нефтедеструкторов одним из наиболее перспективных способов рекультивации техногенно загрязненных почв и грунтов.

В заключение эксперимента для подтверждения тезиса о том, что почвенное дыхание напрямую отображает интенсивность процессов деструкции нефтепродуктов, то есть их полной минерализации до углекислого газа и воды, были рассчитаны коэффициенты корреляции Пирсона между величинами выделенной грунтом углекислоты и убыли нефтепродуктов для каждого срока компостирования. Полученные результаты приведены в таблице 3. Полученные расчеты показали, что коэффициент корреляции R колеблется в зависимости от срока эксперимента от 0,63 до 0,88 и, таким образом, между почвенным дыханием (продуцированием углекислоты) и биодеструкцией (разложением) нефтепродуктов в почве существует достоверная корреляция средней тесноты.

Таблица 3. Коэффициент корреляции Пирсона между показателями почвенного дыхания и величиной «сработки» нефтепродуктов почвы при саморазложении НП и при биоаугментации

Срок отбора образцов	Дни эксперимента	r
1	0–7	$0,72 \pm 0,17$
2	7–14	$0,63 \pm 0,21$
3	14–21	$0,78 \pm 0,13$
4	21–28	$0,88 \pm 0,18$

ВЫВОДЫ

Интенсивность почвенного дыхания или количество выделяющейся при компостировании углекислоты является прямым показателем биодеструкции нефтепродуктов и их минерализации до CO_2 и H_2O . Установлены достоверные коэффициенты корреляции $R=0,63-0,88$ между интенсивностью почвенного дыхания и убылью нефтепродуктов в загрязненном грунте.

За весь период компостирования (4 недели) старозагрязненного нефтепродуктами грунта в условиях пониженной температуры ($+15^\circ\text{C}$) и без внесения минеральных удобрений и извести разложилось, в зависимости от варианта опыта, 260–540 мг кг^{-1} НП, или 7–15% от исходного

содержания. За счет аборигенной микробиоты разложилось 7% НП, два препарата («Дестройл» и «Север») практически не оказали влияния на процессы биодеструкции НП, а три препарата («Деворойл», «Сойлекс» и «Абориген») увеличили процесс разложения НП в 1,6, 1,8 и 2,1 раза соответственно.

После третьей недели компостирования процесс деструкции нефтепродуктов в грунте прекратился, поскольку во всех вариантах опыта разницы по содержанию НП в 3 и 4 срок отбора образцов практически не наблюдалось.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена в рамках госбюджетной темы «Разработка методов мониторинга здоровья экосистем Северо-Запада России» FFZF-2025-0018.

Список литературы

- Ананьева Н. Д., Иващенко К. В., Сушко С. В. Микробные показатели городских почв и их роль в оценке экосистемных сервисов (обзор) // Почвоведение. 2021. № 10. С. 1231–1246. <https://doi.org/10.31857/S0032180X21100038>
- Белик Е. С., Морозова Т. Н. Биосорбенты для ликвидации нефтяных загрязнений. Современное состояние и перспективы инновационного развития нефтехимии. Материалы IX международной научно-практической конференции. Нижнекамск: изд-во ПАО «Нижнекамскнефтехим». 2016. С. 215.
- Бортников А. Е., Безденежных А. В., Пудло А. Л., Талипова Е. В., Сайфиев Р. Р., Рядинский В. Ю. Использование отходов бурения для получения строительного материала, пригодного для рекультивации шламовых амбаров на месторождениях ООО «Лукойл-Западная Сибирь» // Геология, геофизика и разработка нефтяных и газовых месторождений. М.: Изд-во ВНИИ ОУЭНП. 2014. № 10. С. 46–49.
- Глязнецова Ю. С. Особенности трансформации старого нефтяного загрязнения в почвах арктической зоны Якутии // Теоретическая и прикладная экология. 2021. № 2. С. 89–94. <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2021-2-089-09>
- Зильберман М. В., Порошина Е. А., Зырянова Е. В. Биотестирование почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами. Пермь: Изд-во Пермского ГТУ. 2005. 110 с.
- Околелова А. А., Желтобрюхов В. Ф. Особенности определения и нормирования нефтепродуктов в почвах // Естественно-гуманитарные исследования. 2013. № 1(1). С. 12–18.
- Смагин А. В., Азовцева Н. А., Смагина М. В., Степанов А. Л., Мягкова А. Д., Курбатова А. С. Некоторые критерии и методы оценки экологического состояния почв в связи с озеленением городских территорий // Почвоведение. 2006. №5. С. 603–615.
- Франк Ю. А., Никитчук К. Л., Сапега А. А., Лукьянова Е. А., Ивасенко Д. А., Косов А. В., Герасимчук А. Л., Евсеева Н. С. Повышение эффективности ремедиации нефтезагрязненных почв в природно-климатических условиях севера Томской области и сопредельных регионов с применением аборигенных микроорганизмов // Известия Томского политехнического университета. Инжиниринг георесурсов. 2020. т. 331. №9. С. 130–139. <https://doi.org/10.18799/24131830/2020/9/2815>
- Ягафарова Г. Г., Гатауллина Э. М., Барахнин В. Б. Биотехнологический способ очистки отходов от нефти и полимерных реагентов // Прикладная биохимия и микробиология. 1999. №2. С. 178–181.
- Ablicieva I., Plyatsuk L., Berezhna I., Malovany M. S. Biotechnological Reclamation of Oil-Polluted Soils // Ecol. Eng. Environ. Technol. 2021. 22(2). 27–38. <https://doi.org/10.12912/27197050/133328>
- Alef K. Soil respiration. In: Alef K., Nannipieri P., Methods in applied soil microbiology and biochemistry. Academic Press, Harcourt Brace & Company. London. 1995. Pp. 214–219.
- Al-Hawash A. B., Alkooranee J. T., Abbood H. A., Zhang J., Sun J., Zhang X., Ma F. Isolation and characterization of two crude oil-degrading fungi strains from Rumaila oil field // Iraq. Biotechnol. Rep. 2018. 17. 104–109. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2017.12.006>
- Becarelli S., Chicca I., la China S., Siracusa G., Bardi A., Gullo M., Petroni G., Levin D. B., Di Gregorio S. A new *Ciboria* sp. for soil mycoremediation and the bacterial contribution to the depletion of total petroleum hydrocarbons // Front. Microbiol. 2021. 12. 647373. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.647373>
- Covino S., D'Annibale A., Stazi S. R., Cajthaml T., Čvančarová M., Stella T., Petruccioli M. Assessment of degradation potential of aliphatic hydrocarbons by autochthonous filamentous fungi from a historically polluted clay soil // Sci. Total Environ. 2015. 505. P. 545–554. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.10.027>
- Jabbarov Z.A., Jobborov B.T., Xalillayev Sh.A., Sherimbetov V.Kh. Oil contaminated soils and their biological recultivation // European Journal of Molecular & Clinical Medicine. 2020. 7(6), 2797.
- Khan M. A. I., Biswas B., Smith E., Naidu R., Megharaj M. Toxicity assessment of fresh and weathered petroleum hydrocarbons in contaminated soil – a review // Chemosphere. 2018. V. 212. P. 755–767. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.08.094>

- Maletić S., Dalmacija B., Rončević S. Petroleum hydrocarbon biodegradability in soil – Implications for Bioremediation // *IntechOpen*. 2013. <https://doi.org/10.5772/50108>
- Medaura M. C., Guivernau M., Moreno-Ventas X., Prenafeta-Boldú F. X., Viñas M. Bioaugmentation of native fungi, an efficient strategy for the bioremediation of an aged industrially polluted soil with heavy hydrocarbons // *Front. Microbiol.* 2021. 12. 713. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.626436>
- Morales-Guzmán G., Ferrera-Cerrato R., Rivera-Cruz M., Torres-Bustillos L. G., Mendoza-López M. R., Esquivel-Cote R., Alarcón A. Phytoremediation of soil contaminated with weathered petroleum hydrocarbons by applying mineral fertilization, an anionic surfactant, or hydrocarbonoclastic bacteria // *International Journal of Phytoremediation*. 2022. <https://doi.org/10.1080/15226514.2022.2083577>
- Mrozik A., Piotrowska-Seget Z. Bioaugmentation as a strategy for cleaning up of soils contaminated with aromatic compounds // *Microbiological Research*. 2010. vol. 165 (5). P. 363–375. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2009.08.001>
- Orellana R., Cumsille A., Rojas C., Cabrera P., Seeger M. Assessing technical and economic feasibility of complete bioremediation for soils chronically polluted with petroleum hydrocarbons // *J Bioremediat Biodegrad.* 2017. 8. P. 396. <https://doi.org/10.4172/2155-6199.1000396>
- Prenafeta-Boldú F. X., de Hoog G. S., Summerbell R. C. Fungal communities in hydrocarbon degradation. In *Microbial communities utilizing hydrocarbons and lipids: Members, Metagenomics and Ecophysiology*, Handbook of hydrocarbon and lipid microbiology. Ed.; Springer: Cham, Switzerland. 2019. P. 1–36.
- Sui X., Wang X., Li Y., Ji H. Remediation of Petroleum-Contaminated Soils with Microbial and Microbial Combined Methods: Advances, Mechanisms, and Challenges // *Sustainability*. 2021. 13. 9267. <https://doi.org/10.3390/su13169267>
- Trindade P. V. O., Sobral L. G., Rizzo A. C. L., Leite S. G. F., Soriano A. U. Bioremediation of a weathered and a recently oil-contaminated soils from Brazil: a comparison study // *Chemosphere*. 2005. V. 58. P. 515–522.
- Varjani S. J., Rana D. P., Jain A. K., Bateja S., Upasani V. N. Synergistic ex-situ biodegradation of crude oil by halotolerant bacterial consortium of indigenous strains isolated from on shore sites of Gujarat, India // *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 2015. 103. 116–124. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.03.030>
- Wolińska A., Kuźniar A., Szafranek-Nakonieczna A., Jastrzębska N., Roguska E., Stępniewska Z. Biological activity of autochthonic bacterial community in Oil-Contaminated Soil // *Water Air Soil Pollut.* 2016. V. 227. P. 130. <https://doi.org/10.1007/s11270-016-2825-z>
- Xuezhai D., Ahmad A. A., Muhammad I., Shah T., Kalwar Q. Remediation Methods of Crude Oil Contaminated Soil // *World Journal of Agriculture and Soil Science*. 2020. 4(3). <https://doi.org/10.33552/WJASS.2020.04.000595>
- Zhang D. C., Mörtelmaier C., Margesin R. Characterization of the bacterial archaeal diversity in hydrocarbon-contaminated soil // *Science of The Total Environment*. 2016. 421–422, 184–196. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.01.043>

References

- Ananyeva N. D., Ivaschenko K. V., Sushko S. V. Mikrobnnye pokazateli gorodskih pochv i ih rol' v ocenke ekosistemnykh servisov (obzor) [Microbial indicators of urban soils and their role in the assessment of ecosystem services (review)]. *Pochvovedenie* [Soil science]. 2021. No. 10. PP. 1231–1246. <https://doi.org/10.31857/S0032180X21100038>
- Belik E. S., Morozova T. N. Biosorbenty dlya likvidacii neftyanykh zagryaznenij [Biosorbents for the elimination of oil pollution]. *Sovremennoe sostoyanie i perspektivy innovacionnogo razvitiya neftekhimii. Materialy IX mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii* [Current state and prospects for innovative development of petrochemistry. Proceedings of the IX international scientific and practical conference]. Nizhnekamsk: publishing house of PAO Nizhnekamskneftekhim. 2016. P. 215.
- Bortnikov A. E., Bezdeneshnykh A. V., Pudlo A. L., Talipova E. V., Saifiyev R. R., Ryadinsky V. Yu. Ispol'zovanie othodov burniya dlya polucheniya stroitel'nogo materiala, prigodnogo dlya rekul'tivacii shlamovykh amбаров na mestorozhdeniyah OOO «Lukoil-Zapadnaya Sibir'» [Use of drilling waste to obtain building material suitable for reclamation of sludge pits at the fields of Lukoil-Western Siberia LLC]. *Geologiya, geofizika i razrabotka neftyanykh i gazovykh mestorozhdenij* [Geology, geophysics and development of oil and gas fields]. Moscow: Publishing house of VNII OUNP. 2014. No. 10. P. 46–49.
- Glyaznetsova Yu. S. Osobennosti transformacii starogo neftyanogo zagryazneniya v pochvakh arkticheskoy zony Yakutii [Features of the transformation of old oil pollution in the soils of the Arctic zone of Yakutia] // *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya* [Theoretical and Applied Ecology]. 2021. No. 2. P. 89–94. <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2021-2-089-09>
- Zilberman M. V., Poroshina E. A., Zyryanova E. V. *Biotestirovanie pochv, zagryaznennykh nef'tyu i nefteproduktami* [Biotesting of soils contaminated with oil and oil products]. Perm: Perm State Technical University Publishing House. 2005. 110 p.
- Okolelova A. A., Zheltobryukhov V. F. Osobennosti opredeleniya i normirovaniya nefteproduktov v pochvakh [Features of determination and standardization of oil products in soils] // *Estestvenno-gumanitarnye issledovaniya* [Natural and humanitarian studies]. 2013. No. 1(1). P. 12–18.
- Smagin A. V., Azovtseva N. A., Smagina M. V., Stepanov A. L., Myagkova A. D., Kurbatova A. S. Nekotorye kriterii i metody ocenki ekologicheskogo sostoyaniya pochv v svyazi s ozeleneniem gorodskih territorij [Some criteria and methods for assessing the ecological state of soils in connection with the greening of urban areas] // *Pochvovedenie* [Soil Science]. 2006. No. 5. P. 603–615.

- Frank Yu. A., Nikitchuk K. L., Sapega A. A., Lukyanova E. A., Ivashenko D. A., Kosov A. V., Gerasimchuk A. L., Evseeva N. S. Povyshenie effektivnosti remediacii neftezagryaznennykh pochv v prirodno-klimaticheskikh usloviyah severa Tomskoj oblasti i sopredel'nykh regionov s primeneniem aborigennykh mikroorganizmov [Improving the efficiency of remediation of oil-contaminated soils in the natural and climatic conditions of the north of the Tomsk region and adjacent regions using indigenous microorganisms] // *Izvestiya Tomskogo politekhnicheskogo universiteta. Inzhiniring georesursov* [Bulletin of Tomsk Polytechnic University. Engineering of Georesources]. 2020. v. 331. No. 9. pp. 130–139. <https://doi.org/10.18799/24131830/2020/9/2815>
- Yagafarova G. G., Gataullina E. M., Barakhnina V. B. Biotekhnologicheskij sposob ochistki othodov ot nefti i polimernykh reagentov [Biotechnological method for cleaning waste from oil and polymer reagents] // *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya* [Applied Biochemistry and Microbiology]. 1999. No. 2. P. 178–181.
- Ablicieva I., Plyatsuk L., Berezhna I., Malovanyy M. S. Biotechnological Reclamation of Oil-Polluted Soils // *Ecol. Eng. Environ. Technol.* 2021. 22(2). 27–38. <https://doi.org/10.12912/27197050/133328>
- Alef K. Soil respiration. In: Alef K., Nannipieri P., Methods in applied soil microbiology and biochemistry. Academic Press, Harcourt Brace & Company. London. 1995. Pp. 214–219.
- Al-Hawash A. B., Alkooranee J. T., Abbood H. A., Zhang J., Sun J., Zhang X., Ma F. Isolation and characterization of two crude oil-degrading fungi strains from Rumaila oil field // *Iraq. Biotechnol. Rep.* 2018. 17. 104–109. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2017.12.006>
- Becarelli S., Chicca I., la China S., Siracusa G., Bardi A., Gullo M., Petroni G., Levin D. B., Di Gregorio S. A new *Ciboria* sp. for soil mycoremediation and the bacterial contribution to the depletion of total petroleum hydrocarbons // *Front. Microbiol.* 2021. 12. 647373. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.647373>
- Covino S., D'Annibale A., Stazi S. R., Cajthaml T., Čvančarová M., Stella T., Petruccioli M. Assessment of degradation potential of aliphatic hydrocarbons by autochthonous filamentous fungi from a historically polluted clay soil // *Sci. Total Environ.* 2015. 505. P. 545–554. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.10.027>
- Jabbarov Z.A., Jobborov B.T., Xalillayev Sh.A., Sherimbetov V.Kh. Oil contaminated soils and their biological recultivation // *European Journal of Molecular & Clinical Medicine.* 2020. 7(6), 2797.
- Khan M. A. I., Biswas B., Smith E., Naidu R., Megharaj M. Toxicity assessment of fresh and weathered petroleum hydrocarbons in contaminated soil – a review // *Chemosphere.* 2018. V. 212. P. 755–767. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.08.094>
- Maletić S., Dalmacija B., Rončević S. Petroleum hydrocarbon biodegradability in soil – Implications for Bioremediation // *IntechOpen.* 2013. <https://doi.org/10.5772/50108>
- Medaura M. C., Guivernau M., Moreno-Ventas X., Prenafeta-Boldú F. X., Viñas M. Bioaugmentation of native fungi, an efficient strategy for the bioremediation of an aged industrially polluted soil with heavy hydrocarbons // *Front. Microbiol.* 2021. 12. 713. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.626436>
- Morales-Guzmán G., Ferrera-Cerrato R., Rivera-Cruz M., Torres-Bustillos L. G., Mendoza-López M. R., Esquivel-Cote R., Alarcón A. Phytoremediation of soil contaminated with weathered petroleum hydrocarbons by applying mineral fertilization, an anionic surfactant, or hydrocarbonoclastic bacteria // *International Journal of Phytoremediation.* 2022. <https://doi.org/10.1080/15226514.2022.2083577>
- Mrozik A., Piotrowska-Seget Z. Bioaugmentation as a strategy for cleaning up of soils contaminated with aromatic compounds // *Microbiological Research.* 2010. vol. 165 (5). P. 363–375. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2009.08.001>
- Orellana R., Cumsille A., Rojas C., Cabrera P., Seeger M. Assessing technical and economic feasibility of complete bioremediation for soils chronically polluted with petroleum hydrocarbons // *J Bioremediat Biodegrad.* 2017. 8. P. 396. <https://doi.org/10.4172/2155-6199.1000396>
- Prenafeta-Boldú F. X., de Hoog G. S., Summerbell R. C. Fungal communities in hydrocarbon degradation. In *Microbial communities utilizing hydrocarbons and lipids: Members, Metagenomics and Ecophysiology*, Handbook of hydrocarbon and lipid microbiology. Ed.; Springer: Cham, Switzerland. 2019. P. 1–36.
- Sui X., Wang X., Li Y., Ji H. Remediation of Petroleum-Contaminated Soils with Microbial and Microbial Combined Methods: Advances, Mechanisms, and Challenges // *Sustainability.* 2021. 13. 9267. <https://doi.org/10.3390/su13169267>
- Trindade P. V. O., Sobral L. G., Rizzo A. C. L., Leite S. G. F., Soriano A. U. Bioremediation of a weathered and a recently oil-contaminated soils from Brazil: a comparison study // *Chemosphere.* 2005. V. 58. P. 515–522.
- Varjani S. J., Rana D. P., Jain A. K., Bateja S., Upasani V. N. Synergistic ex-situ biodegradation of crude oil by halotolerant bacterial consortium of indigenous strains isolated from on shore sites of Gujarat, India // *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 2015. 103. 116–124. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.03.030>
- Wolińska A., Kuźniar A., Szafranek-Nakonieczna A., Jastrzębska N., Roguska E., Stepniewska Z. Biological activity of autochthonic bacterial community in Oil-Contaminated Soil // *Water Air Soil Pollut.* 2016. V. 227. P. 130. <https://doi.org/10.1007/s11270-016-2825-z>
- Xuezhong D., Ahmad A. A., Muhammad I., Shah T., Kalwar Q. Remediation Methods of Crude Oil Contaminated Soil // *World Journal of Agriculture and Soil Science.* 2020. 4(3). <https://doi.org/10.33552/WJASS.2020.04.000595>
- Zhang D. C., Mörtelmaier C., Margesin R. Characterization of the bacterial archaeal diversity in hydrocarbon-contaminated soil // *Science of The Total Environment.* 2012. 421–422, 184–196. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.01.043>