

DOI: 10.17516/1998-2836-0293

УДК 544.77.052.5

## **Effect of the Biosorbent “Unisorb-Bio” with Immobilized Microflora of the Genera *Bacillus* and *Trichoderma* on Soil Restoration Under Conditions of Oil Pollution**

**Olga S. Fedorova,  
Polina N. Bondar and Tat`iana V. Riazanova\***  
*Siberian State University of Science and Technology  
named after Academician M. F. Reshetnev  
Krasnoyarsk, Russian Federation*

Received 19.10.2021, received in revised form 18.04.2022, accepted 21.04.2022

**Abstract.** The article uses the example of artificially polluted soil to consider the effect of a urea sorbent – biological product “Unisorb-Bio” with an immobilized mixed culture of *Bacillus* bacteria and *Trichoderma* micromycetes on the biodegradation of oil, followed by phyto-control of the soil with a test culture of cress-salad.

It was shown that during 9 weeks of exposure of “Unisorb-Bio” with immobilized oil-oxidizing strains, the oil content in the soil decreased by 10 times, which is 5 times higher compared to the control. The low level of soil toxicity after processing it with “Unisorb-Bio” is indicated by the results of the test control, which showed that the sowing quality (germination energy, seed germination) of cress-salad is 72.5 %. The observed sowing qualities and morphophysiological indicators give grounds to conclude that the biological product “Unisorb-Bio” with immobilized microflora is able to restore the soil even with a high level of initial contamination.

**Keywords:** oil, soil, oil pollution, biological product “Unisorb-Bio”, bioremediation, phytocontrol, cress-salad (*Lepidium sativum*).

---

*Citation:* Fedorova, O.S., Bondar, P.N. and Riazanova, T.V. Effect of the biosorbent “Unisorb-Bio” with immobilized microflora of the genera *Bacillus* and *Trichoderma* on soil restoration under conditions of oil pollution. J. Sib. Fed. Univ. Chem., 2022, 15(2), 289–297. DOI: 10.17516/1998-2836-0293

---

---

© Siberian Federal University. All rights reserved

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0).

\* Corresponding author E-mail address: tatyana-htd09@mail.ru

## **Влияние биосорбента «Унисорб-Био» с иммобилизованной микрофлорой родов *Bacillus* и *Trichoderma* на восстановление почвы в условиях нефтяного загрязнения**

**О. С. Федорова, П. Н. Бондарь, Т. В. Рязанова**

*Сибирский государственный университет науки и технологий  
имени академика М. Ф. Решетнева  
Российская Федерация, Красноярск*

**Аннотация.** В статье на примере искусственно загрязненной почвы рассмотрено влияние карбамидного сорбента – биопрепарата «Унисорб-Био» с иммобилизованной смешанной культурой бактерий рода *Bacillus* и микромицетов рода *Trichoderma* на биодеструкцию нефти с последующим фитоконтролем почвы тест-культурой кресс-салата.

Показано, что за девять недель экспонирования «Унисорб-Био» с иммобилизованными нефтеокисляющими штаммами содержание нефти в почве снизилось в 10 раз, что в 5 раз выше по сравнению с контролем. О низком уровне токсичности почвы после обработки ее «Унисорб-Био» свидетельствуют результаты тест-контроля, которые показали, что посевные качества (энергия прорастания, всхожесть семян) у кресс-салата составляют 72,5 %.

Наблюдаемые посевные качества и морфофизиологические показатели дают основание сделать вывод о том, что биопрепарат «Унисорб-Био» с иммобилизованной микрофлорой способен восстановить почву даже с высоким уровнем начального загрязнения.

**Ключевые слова:** нефть, почва, загрязнение нефтью, биопрепарат «Унисорб-Био», биоремедиация, фитоконтроль, кресс-салат.

Цитирование: Федорова, О. С. Влияние биосорбента «Унисорб-Био» с иммобилизованной микрофлорой родов *Bacillus* и *Trichoderma* на восстановление почвы в условиях нефтяного загрязнения / О. С. Федорова, П. Н. Бондарь, Т. В. Рязанова // Журн. Сиб. федер. ун-та. Химия, 2022, 15(2). С. 289–297. DOI: 10.17516/1998-2836-0293

В настоящее время нефть – основной источник получения энергии человеком, но добыча и переработка нефти приводят к загрязнению окружающей среды. Для решения проблемы загрязнения природной среды, особенно почвы, нефтепродуктами могут применяться различные физические, физико-химические, химические и биотехнологические методы. Наиболее перспективным и безопасным принципом ликвидации нефтезагрязнений является как биодegradация с использованием интродуцированной нефтеокисляющей микрофлоры, так и интенсификация процессов естественного очищения почв и воды. Использование аборигенных, адаптированных или отобранных консорциумов микроорганизмов для биоремедиации может быть эффективным подходом, поскольку большинство химических соединений нефти и нефтепродуктов биодegradируемы, а микроорганизмы-деструкторы весьма разнообразны и широко распространены [1–4].

Происходящее в результате загрязнения почвы нарушение в ней воздушного режима, усиление деятельности анаэробных микроорганизмов, а также изменение водного баланса в системе «почва – растение» и образование токсичных продуктов окисления углеводов приводят к подавлению роста растений, появлению у них морфологических и физиологических изменений, которые служат индикаторными признаками нефтяного загрязнения [5–7].

Для устранения последствий негативного влияния нефтегенных веществ на почву разработан широкий спектр методов, которые отличаются по способу деструкции нефтепродуктов, аппаратному оформлению, длительности и эффективности процесса и экономическим затратам. Одной из распространенных технологий, которая практически применяется при всех способах очистки нефтезагрязненных почв, является биоремедиация, эффективность и длительность которой зависят от уровня начального загрязнения, применяемых методов сбора и ликвидации загрязнений, климатических условий и других факторов, вследствие чего интенсификация данного процесса представляет важную экологическую и технологическую задачу [8–11].

Установлено, что для биологической очистки нефтезагрязненных почв значительному ускорению разложения нефтепродуктов способствует применение штаммов нефтеразрушающих микроорганизмов, которые всегда есть в микробиоценозе. Однако их рост при избытке содержания углерода лимитируется недостатком кислорода, азота и фосфора, что требует первоначального анализа состава почв и загрязнителя, периодического внесения извне недостающих источников биогенных элементов, а также стимуляторов роста микроорганизмов, обеспечение доступности кислорода и воды, что усложняет технологию очистки от нефтяного загрязнения и значительно удорожает данный процесс.

Одни из главных и приоритетных направлений в области охраны окружающей среды и рационального природопользования – разработка и внедрение инновационных технологий восстановления почв методом биоремедиации.

Экспериментально установлено, что в почве, загрязненной нефтепродуктами в концентрации менее 1 %, накапливается разнообразное сообщество углеводородокисляющей микрофлоры, которое обеспечивает ее самоочищение. В этом случае экономически преимущественны биотехнологические разработки на основе стимуляции процессов жизнедеятельности аборигенной микрофлоры, внесение лимитирующих компонентов среды и создание условий для интенсификации процессов биоокисления в условиях *in situ*. Но при интенсивном загрязнении почвы (свыше 5 %) нефтепродукты ингибируют ферментативные активности практически всех микроорганизмов. В этом случае перспективным может быть применение сорбентов и биопрепаратов, в частности «Унисорб-Био» – карбамидного сорбента типа «Унисорб» с иммобилизованной аборигенной микрофлорой, обладающего комбинированным действием: сбор, сорбция нефти, перевод ее из объемного в пленочное состояние, наличие в составе биогенных компонентов (углерод, азот, фосфор, микроэлементы) и биоокисление углеводов *in situ* с участием привнесенной микрофлоры и активированной аборигенной.

Иммобилизация микрофлоры на пористом материале, помимо закрепления микроорганизмов в загрязненной экосистеме, способствует повышению ферментативной активности и устойчивости их к неблагоприятному воздействию факторов окружающей среды и ускоряет процессы биодegradации нефтяных углеводов [12–14]. Следует отметить еще одно важное

свойство, которое придает микрофлоре иммобилизация, – она предотвращает ее вымывание из зоны загрязнения, что значительно увеличивает эффективность биодеструкции.

Истощение ресурсов экосистемы, связанное с нефтяным загрязнением, определенным образом влияет на видовой состав растительного сообщества. Наиболее нефтотолерантными видами растений являются (по степени уменьшения): ежа сборная, полевица белая, тимофеевка луговая, овсяница луговая, костер безостый, бекмания восточная, а из бобовых – люпин многолетний, лядвенец рогатый, клевер шведский, клевер луговой, ползучий [15–17].

Кроме того, эти растения, в особенности бобовые, могут создавать в прикорневой зоне особую микрофлору, которая способна к деградации самых разнообразных загрязнителей, причем процессы разрушения токсичных веществ протекают здесь гораздо быстрее, чем в почве без растений. Для осуществления мониторинга экологического состояния почв в первую очередь оценивают изменения интегральных показателей состояния почв, к которым относится биологическая активность, в частности оценка фитотоксичности. Основными параметрами, изучаемыми в процессе биотестирования на фитотоксичность, являются всхожесть и энергия прорастания семян. Прорастание семян – наиболее уязвимый этап индивидуального развития высших растений. Эта фаза развития растения представляет собой наиболее привлекательный объект тестирования [18–19].

### Экспериментальная часть

Объектами исследования были карбамидный сорбент «Унисорб-Био» – биопрепарат, полученный методом капельного орошения сорбента типа «Унисорб» («Сорбенты полимерные» по ТУ 2223–001–02067907–1996, с изменениями № 1 2006 г., производство ООО «НПФ ЭКОСОРБ») суспензией аборигенных штаммов *Bacillus cereus* «12М», *Bacillus subtilis* «2сн», *Trichoderma koningii* «ТСЛ-06», *Trichoderma asperellum* «ГН-11». Условия получения модифицированных сорбентов приведены в [14]. Молекулярно-генетическая идентификация выделенных штаммов выполнена на основании ПЦР-амплификации и секвенирования гена 16S рРНК с использованием стандартных методов молекулярной биологии (полимеразная цепная реакция, выделение фрагментов ДНК из агарозного геля, определение и анализ нуклеотидных последовательностей). Для уточнения видовой принадлежности чистых культур проводили анализ нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК. Секвенирование проводили в институте Микробиологии РАН (г. Москва).

Для получения биомассы жидкофазное культивирование производили на минеральных средах, содержащих разный набор солей и одинаковый процент нефти (1 % от объема среды). Культивирования производились на среде для бактерий рода *Bacillus*, г/л:  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  – 1,0;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 1,0;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 1,0;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,2;  $\text{CaCl}_2$  – 0,02;  $\text{FeCl}_3$  – две капли.

Состав среды для грибов рода *Trichoderma* г/л:  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 1,0;  $\text{MgSO}_4$  – 0,5;  $\text{NaNO}_3$  – 2,0;  $\text{FeSO}_4$  – 0,01;  $\text{KCl}$  – 0,5. Полученную активную биомассу, находящуюся в экспоненциальной фазе роста, использовали для иммобилизации.

Испытания проводили в нестерильных условиях, моделирующих естественные, в двух повторностях, в контейнерах с искусственно внесенной нефтью. Навеску загрязненной нефтью почвы 200 г помещали в пластиковый контейнер объемом 500 см<sup>3</sup>, затем вносили в количе-

стве, % от а.с.м. почвы, нефть – 5 и 10 и «Унисорб-Био» – 1, содержащий разные комбинации исследуемых штаммов в количестве  $10^8$  кл/г сорбента.

Почву увлажняли до относительной влажности 60–65 %. После внесения всех компонентов все тщательно перемешивали. Полив и рыхление почвы осуществляли через каждые три дня. В качестве контроля использовали почву, загрязненную нефтью, без внесения биопрепарата.

Эксперимент проводили в течение девяти недель при 30–33 °С.

По завершении процесса экспонирования определяли степень деструкции нефти гравиметрически, после экстракции УВ хлороформом [20].

По истечении девяти недель применения иммобилизованного биопрепарата в контейнеры с незагрязненной и загрязненной почвой производили посев воздушно-сухих семян кресс-салата (по 10 штук), увлажняли до 60 % от полной влагоемкости почвы. Увлажнение осуществляли каждые 2 дня. Эксперимент проводился в условиях естественной освещенности при комнатной температуре в двух повторностях. Энергию прорастания и всхожесть семян учитывали на 7-й и 14-й день соответственно. Морфологическую оценку состояния растений проводили на 21-е сутки.

По окончании опыта растения осторожно отделяли от земли, просушивали, стряхивали остатки почвы и определяли морфометрические показатели растений: длину наземной части и длину корней [21].

### Обсуждение результатов

О том, насколько эффективно прошла биодеструкция нефти в условиях модельных опытов с использованием разных штаммов иммобилизованной микрофлоры, можно судить по результатам изменения содержания остаточной нефти в почве после обработки ее «Унисорб-Био» с иммобилизованными смешанными и монокультурами рода *Bacillus* и грибов рода *Trichoderma*.

Максимальное снижение содержания нефти в почве, при ее начальной концентрации 5 %, за 9 недель инкубирования наблюдалось при использовании монокультуры *Bacillus subtilis* «2сп» и смешанной культуры *Bacillus subtilis* «2сп» + *Bacillus cereus* «12М», оно составило 87,5 %, что выше по сравнению с контрольным вариантом в 1,5 раза (рис. 1).

Подобный характер имеет динамика изменения содержания нефти в почве и при более высоком уровне начального загрязнения. Так, при ее начальной концентрации 10 % максимальное снижение содержания нефти за 9 недель инкубирования наблюдалось при использовании смешанной культуры *Bacillus subtilis* «2сп» + *Bacillus cereus* «12М», и эффективность очистки почвы с применением бактериальных штаммов по сравнению с контролем была выше в 1,4 раза.

В случае применения монокультур штаммов *Trichoderma asperellum* «ТН-11» и *Trichoderma koningii* «ТСЛ-06» количество остаточной нефти после 9 недель культивирования при ее начальном содержании 5 % снизилось на 80,7 и 85,7 % соответственно, а при концентрации нефти в почве 10 % – на 78 и 84 % соответственно. По сравнению с контрольными вариантами биодеструкция с применением микромицетов была выше в 1,4 и 1,2 раза при начальной концентрации 5 и 10 % соответственно.

Применение консорциума бактерий рода *Bacillus* и грибов рода *Trichoderma* показало, что максимальная степень биодеструкции составила 88,8 % при внесении биосорбента с им-

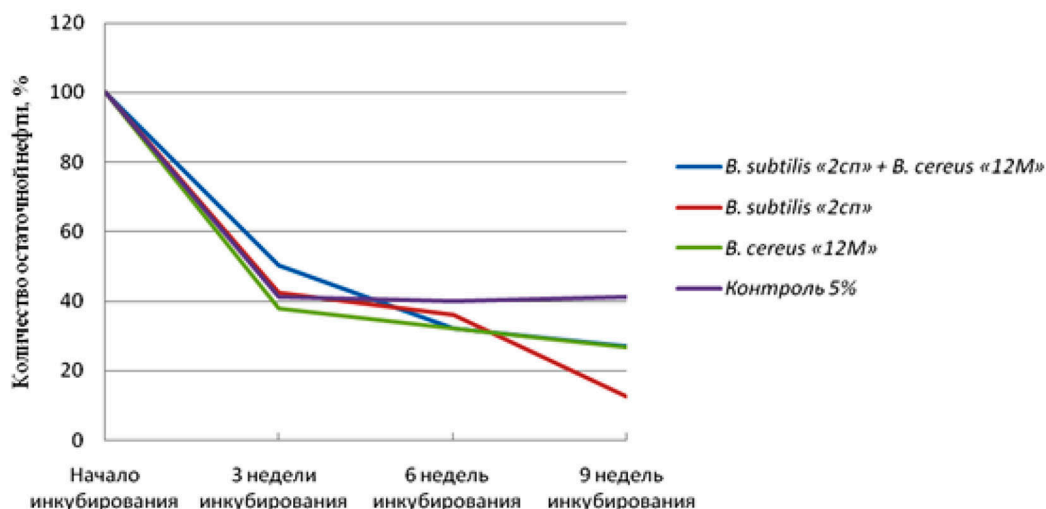


Рис. 1. Изменение содержания нефти в почве в результате воздействия штаммов рода *Bacillus* при начальном загрязнении почвы 5 %

Fig. 1. Changes in the oil content in the soil as a result of exposure to strains of the genus *Bacillus* during initial soil contamination 5 %

мобилизованными смешанными культурами *Bacillus subtilis* «2сп» + *Trichoderma koningii* «ТСЛ-06» при любой степени начального загрязнения. По сравнению с контрольным вариантом эффективность очистки почвы с использованием консорциума микроорганизмов была выше в 1,5.

Следует отметить, что за счет проведения опыта при повышенных температурах и выравнивания соотношения биогенных элементов С: N: P в почве в результате внесения полимерного сорбента, вероятно, активизировалась собственная мезофильная микрофлора и степень биодеструкции в контрольных вариантах была достаточно высока. С 166: N 20: P1 в молярном эквиваленте (в весовом – С 62: N 9: P1).

По результатам видно, что бактерии рода *Bacillus* и грибы рода *Trichoderma* способны подвергать деструкции нефть, содержащуюся в почве. Максимальное снижение содержания нефти при ее начальной концентрации 5 % наблюдалось при использовании монокультуры *Bacillus subtilis* «2сп», при начальной концентрации 10 % – у смешанной культуры *Bacillus subtilis* «2сп» + *Bacillus cereus* «12М». Эти результаты хорошо согласуются с морфометрической оценкой состояния растений, выросших на почве после биоремедиации.

При оценке действия биоремедиации загрязненной почвы на морфометрические показатели растений в условиях естественной освещенности установлено достоверное увеличение таких параметров, как длина наземной части и длина главного корня растения.

По совокупности морфометрических показателей лучшие результаты имели следующие штаммы: консорциумы *Bacillus cereus* «12М» + *Trichoderma koningii* «ТСЛ-06», *Bacillus cereus* «12М» + *Trichoderma asperellum* «ТН-11», *Bacillus subtilis* «2сп» + *Trichoderma koningii* «ТСЛ-06» и смешанную культуру *Bacillus subtilis* «2сп» + *Bacillus cereus* «12М», их показатели превышали показатели растений на нативной почве по длине надземной части примерно в 2 раза, в то же время по длине главного корня различия были менее существенны.

Таким образом, результаты моделирования почвенного загрязнения и обработки почвы иммобилизованной микрофлорой показали, что содержание нефти в почве в концентрациях выше 5 % оказывает фитотоксическое действие на растения, так, энергия прорастания кресс-салата составила 50 %, всхожесть – 72,5 %. После проведения биоремедиации нефтезагрязненной почвы с применением «Унисорб-Био» с иммобилизованными бактериальными культурами рода *Bacillus* и грибов рода *Trichoderma* наблюдалось повышение жизнеспособности и выживаемости растений на 50 и 28 % соответственно. Применение микроорганизмов для биоремедиации оказало положительное влияние на морфометрические показатели растений (максимальный эффект составил в среднем в 2,5 раза).

Результаты позволяют оценить степень снижения токсичности и перспективы использования смешанных микробных ассоциаций для решения экологических задач методами биотехнологии.

По совокупности параметров, таких как степень деградации углеводов и фитотоксичность, для создания биопрепаратов в целях рекультивации почвы от нефтезагрязнений с последующим выращиванием растений можно рекомендовать следующие штаммы: консорциумы *Bacillus cereus* «12М» + *Trichoderma koningii* «ТСЛ-06», *Bacillus cereus* «12М» + *Trichoderma asperellum* «ТН-11», *Bacillus subtilis* «2сп» + *Trichoderma koningii* «ТСЛ-06» и смешанную культуру *Bacillus subtilis* «2сп» + *Bacillus cereus* «12М».

#### Список литературы / References

1. Деградация и охрана почв. Под общей ред. акад РАН Г.В. Добровольского. М.: Изд-во МГУ, 2002. 654 [Soil degradation and protection. Under the general ed. akad RAS G. V. Dobrovolskogo. M.: MSU Publishing House, 2002. 654 (In Russ.)]
2. Васильева, Г.К. Стрижакова Е.Р., Барышникова Е.А. Использование сорбентов для повышения эффективности биоремедиации загрязненных почв. Сорбенты как фактор качества жизни и здоровья. Матер. IV-й между. конф. Белгород 2012. 194–200 [Vasilyeva, G.K. Strizhakova E.R., Baryshnikova E.A. The use of sorbents to increase the efficiency of bioremediation of contaminated soils. Sorbents as a factor of quality of life and health. Mater. ivth international conf. Belgorod 2012. 194–200]
3. Салахова Г.М. Изменение эколого-физиологических параметров растений и ризосферной микробиоты в условиях нефтяного загрязнения и рекультивации почвы / Салахова, Гульнара Мирзалифовна: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.16, 03.00.12. Уфа, 2007. 194 [Salakhova G.M. Changes in the ecological and physiological parameters of plants and rhizosphere microbiota in the conditions of oil pollution and soil recultivation / Salakhova, Gulnara Mirzalifovna: dis. ... cand. biol. nauk: 03.00.16, 03.00.12. Ufa, 2007. 194 (In Russ.)]
4. Зволинский В. П., Батовская Е.К., Черных Н.А. Влияние нефти и нефтепродуктов на свойства почв и почвенные микроорганизмы. *Агрохимический вестник* 2005. № 2, 22–25. [Zvolinsky V.P., Batovskaya E.K., Chernykh N.A. Influence of oil and petroleum products on soil properties and soil microorganisms. *Agrochemical Bulletin* 2005, no. 2, 22–25. (In Russ.)]
5. Коршунова Т.Ю. Четвериков С.П., Бакаева М.Д., Кухина Е.В., Рафикова Г.Ф., Четверикова Д.В., Логинов О.Н. Микроорганизмы в ликвидации последствий нефтяного загрязнения (обзор). *Прикладная биохимия и микробиология* 2019. Т. 55, № 4, 338–349. [Korshunova T.Yu. Chetverikov S.P., Bakayeva M.D., Kухина E.V., Rafikova G.F., Chetverikova D.V., Loginov O.N. Microorganisms in liquidation of consequences of oil pollution (review). *Applied Biochemistry and Microbiology* 2019. T. 55, No. 4, 338–349.]

shunova T. Yu. Chetverikov S.P., Bakaeva M.D., Kuzina E.V., Rafikova G.F., Chetverikova D.V., Loginov O.N. Microorganisms in the elimination of the consequences of oil pollution (review). *Applied Biochemistry and Microbiology* 2019. Vol. 55, no. 4, 338–349. (In Russ.)]

6. Яковлев А. Л., Савенок О. В. Нарушения экологической безопасности при интенсификации добычи нефти на месторождениях Краснодарского края. *Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе* 2017. № 1, 50–54. [Yakovlev A. L., Savenok O. V. Violations of environmental safety in the intensification of oil production in the fields of the Krasnodar Territory. *Environmental protection in the oil and gas complex* 2017. No. 1, 50–54. (In Russ.)]

7. Замотаев И. В., Иванов И. В., Михеев П. В., Никонова А. Н. Химическое загрязнение и трансформация почв в районах добычи углеводородного сырья (обзор литературы). *Почвоведение* 2015. № 11, 1505–1518. [Zamotaev I. V., Ivanov I. V., Mikheev P. V., Nikonova A. N. Chemical pollution and soil transformation in areas of hydrocarbon production (literature review). *Soil Science* 2015. No. 11, 1505–1518. (In Russ.)]

8. Кузнецов А. Е. [и др.]. *Прикладная экобиотехнология*. Учебное пособие: в 2 т. Т. 2. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2017. 485 [Kuznetsov A. E. [et al.]. *Applied ecobiotechnology*. Textbook: in 2 t. T. 2. M.: BINOM. Laboratory of Knowledge, 2017. 485 (In Russ.)]

9. Зиннатшина Л. В. Экологическая оценка влияния натуральных сорбентов на эффективность биоремедиации нефтезагрязненной серой лесной почвы / Зиннатшина, Лидия Викторовна: дис. ...канд. биол.наук: 03.02.08, 03.02.13. Пущино, 2019. 161 [Zinnatshina L. V. Ecological assessment of the effect of natural sorbents on the efficiency of bioremediation of oil-contaminated gray forest soil / Zinnatshina, Lidiya Viktorovna: dis. ...cand. biol.Sciences: 03.02.08, 03.02.13. Pushchino, 2019. 161]

10. Коновалова Е. А., Лазыкин А. Г., Гаврилов К. Е. Сравнительная характеристика сорбентов, используемых в составе биопрепаратов для очистки почвы от нефтезагрязнений. *Наука вчера, сегодня, завтра: сб. ст. по матер. XXXIV междунар. науч.-практ. конф. Новосибирск: СибАК* 2016. № 5(27), Часть I, 6–17. [Konovalova E. A., Lazykin A. G., Gavrilov K. E. Comparative characteristics of sorbents used in the composition of biological products for soil purification from oil pollution. *Science yesterday, today, tomorrow: sat. st. on mater. XXXIV International scientific and practical conference. Novosibirsk: SibAK* 2016. No. 5 (27), Part I, 6–17. (In Russ.)]

11. Зиннатшина Л. В., Стрижакова Е. Р., Даньшина А. В., Васильева Г. К. Влияние сорбентов на скорость биоремедиации и свойства почвы, загрязненной смесью нефтепродуктов. *Естественные и технические науки* 2018. № 9, 24–30 [Zinnatshina L. V., Strizhakova E. R., Danshina A. V., Vasilyeva G. K. The effect of sorbents on the rate of bioremediation and properties of soil contaminated with a mixture of petroleum products. *Natural and Technical Sciences* 2018. No. 9, 24–30]

12. Рязанова Т. В., Федорова О. С. Динамика микробиоценоза гетеротрофов в модельных опытах с применением биосорбента на основе смешанной бактериальной культуры. *Системы. Методы. Технологии* 2017. № 1(3), 157–164. [Ryazanova T. V., Fedorova O. S. Dynamics of the microbiocenosis of heterotrophs in model experiments using a biosorbent based on a mixed bacterial culture. *The system. Methods. Technologies* 2017. No. 1(3), 157–164. (In Russ.)]

13. Рязанова Т. В., Федорова О. С. Получение биосорбента на основе аборигенной микрофлоры для очистки нефтезагрязненных территорий. *Всероссийская научно-практическая конференция «Новые экологически безопасные технологии для устойчивого развития регионов Сиби-*



ру» 2005. 65–70. [Ryazanova T. V. Fedorova O. S. Obtaining a biosorbent based on native microflora for cleaning oil-contaminated territories. *All-Russian Scientific and Practical Conference “New environmentally safe technologies for sustainable development of the Siberian regions” 2005. 65–70. (In Russ.)]*

14. Рязанова Т. В., Федорова О. С., Марченко Р. А., Шуркина В. И. Модификация нефтесорбентов материалами растительного происхождения. *Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья 2017. 327–329. [Ryazanova T. V. Fedorova O. S., Marchenko R. A., Shurkina V. I. Modification of oil sorbents with plant-based materials. *New achievements in chemistry and chemical technology of plant raw materials 2017. 327–329. (In Russ.)]**

15. Зволинский В. П., Батовская Е. К., Черных Н. А. Влияние нефти и нефтепродуктов на свойства почв и почвенные микроорганизмы. *Агрохимический вестник 2005. № 2, 22–25. [Zvolinsky V. P., Batovskaya E. K., Chernykh N. A. Influence of oil and petroleum products on soil properties and soil microorganisms. *Agrochemical Bulletin 2005, No. 2, 22–25. (In Russ.)]**

16. Зволинский В. П., Батовская Е. К., Бондаренко А. Н. Экология нефтезагрязненных почв европейской части России. *Земледелие 2007. № 4, 13–14. [Zvolinsky V. P., Batovskaya E. K., Bondarenko A. N. Ecology of oil-contaminated soils of the European part of Russia. *Agriculture 2007. No. 4, 13–14. (In Russ.)]**

17. Зильберман М. В., Порошина Е. А., Зырянова Е. В. *Биотестирование почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами*. Пермь: ФГУ УралНИИ «Экология», 2005. 111 [Zilberman M. V., Poroshina E. A., Zyryanova E. V. *Biotesting of soils contaminated with oil and petroleum products*. Perm: FSU UralNII “Ecology”, 2005. 111 (In Russ.)]

18. Казеев К. Ш., Колесников С. И., Акименко Ю. В., Даденко Е. В. *Методы биодиагностики наземных экосистем*: монография. Ростов-на-Дону: Издательство Южного федерального университета, 2016. 356 [Kazeev K. Sh., Kolesnikov S. I., Akimenko Yu. V., Dadenko E. V. *Methods of bio-diagnostics of terrestrial ecosystems*: monograph. Rostov-on-Don: Southern Federal University Press, 2016. 356 (In Russ.)]

19. Назаров А. В. Влияние нефтяного загрязнения почвы на растения. *Вестник Пермского государственного университета. Биология 2007. Т. 5 (10). 134–141. [Nazarov A. V. Influence of oil pollution of the soil on plants. *Bulletin of the Perm State University. Biology 2007. Vol. 5 (10). 134–141. (In Russ.)]**

20. ПНД Ф 16.1.41–04 «Количественный химический анализ почв. Методика выполнения измерений массовой концентрации нефтепродуктов в пробах почв гравиметрическим методом». [HDPE F 16.1.41–04 “Quantitative chemical analysis of soils. Methods for measuring the mass concentration of petroleum products in soil samples by the gravimetric method”. (In Russ.)]

21. Рекомендации по использованию органических, минеральных макро- и микроудобрений, мелиорантов для выполнения обязательных мероприятий по улучшению земель сельскохозяйственного назначения в ростовской области. ФГУ ГЦАС «Ростовский» п. Рассвет, 2011 г. 35 [Recommendations on the use of organic, mineral macro- and micro-fertilizers, ameliorants for the implementation of mandatory measures to improve agricultural land in the Rostov region. FSU GTSAS “Rostov” P. Rassvet, 2011 35 (In Russ.)]