

АНАЛІЗ ДЕСТРУКТИВНОГО ПОТЕНЦІАЛУ МІКРООРГАНІЗМІВ РОДУ *BACILLUS* У КОМБІНАЦІЇ З ФУЛЬВОКИСЛОТАМИ ДЛЯ РИЗОДЕГРАДАЦІЇ НАФТОВИХ ВУГЛЕВОДНІВ

Трохименко Г.Г., Недорода В.М.

Національний університет кораблебудування імені адмірала Макарова
пр. Героїв України, 9, 54025, м. Миколаїв
nedorodavlad@gmail.com

У даній роботі представлені результати дослідження фітотоксичності ґрунту з високим рівнем нафтового забруднення. Зразки ґрунтосуміші були приготовлені у лабораторних умовах та містили 50% та 70% нафтошламу відносно загальної маси. Штучно забруднені ґрунти обробляли нафтодеструкторами, на основі штамів *Bacillus amyloliquefaciens* та *Bacillus subtilis* з додаванням розчину фульвокислот. Основною метою роботи була оцінка впливу добрив на підвищення ефективності мікробіологічної деструкції. Визначення проводили за допомогою біотестування у комбінації з аналізом фракційного складу ґрунту газовою хроматографією. У якості біоіндикаторної рослини була використана Гірчиця польова (*Sinapis arvensis*).

У результаті тестування хроматографічний аналіз ґрунту показав, що без використання нафтодеструкторів, тобто у результаті самоочищення, концентрація вуглеводневого забруднення, залежно від загальної стартової концентрації, знизилася на 2,44% – 8,70% за 86 діб експерименту. При цьому у разі використання нафтодеструкторів рівень забруднення знизився на 17,47% – 26,83%. Загальний рівень зниження вмісту поллютантів у забруднених зразках чітко відображає ефективність використання нафтодеструкторів на основі штаму *Bacillus*. Але при цьому, при високих рівнях забруднення нафтопродуктами ефективність деструкції значно підвищується у разі використання органічних добрив у якості каталізатору процесу ризодеградації. Так, використання добрив на основі фульвокислот, для стимулювання росту рослин при більш високому рівні забруднення, дозволило знизити концентрацію нафтопродуктів у зразках на 27,30% – 34,52%. Хроматографічний аналіз зразків показав значне зниження концентрації легких фракцій нафти, у той час як деструкція важких фракцій ($C_{15} - C_{24}$) відбувається значно повільніше. **Ключові слова:** біодеградація, біоремедіація, біотестування, нафтове забруднення, фітотоксичність, ґрунт.

Potential analysis of *Bacillus* and fulvic acids combination for rhizodegradation of petroleum hydrocarbons. Trokhymenko G., Nedoroda V.

The research aimed to study the phytotoxicity of soil with a high level of oil pollution. Soil mixture samples were prepared in laboratory conditions and contained 50% and 70% of oil sludge relative to the total mass of a sample. Artificially polluted soil samples were exposed to oil destroyers based on strains of *Bacillus amyloliquefaciens* and *Bacillus subtilis*. The addition of fulvic acids was evaluated during the experiment. The main goal of the work was to assess the effect of fertilizers on increasing the efficiency of microbiological destruction. The determination was carried out using bioassay in combination with the gas chromatography method. Field mustard (*Sinapis arvensis*) was used as a bioindicator plant. The chromatographic analysis showed that without the use of oil destroyers, that is, due to self-cleaning, the concentration of hydrocarbon pollution, depending on the total starting concentration, decreased by 2.44% – 8.70% in 86 days of the experiment. At the same time, in the case of using oil destroyers, the pollution level decreased by 17.47% – 26.83%. The overall level of pollutant reduction in contaminated samples reflects the effectiveness of using *Bacillus* strain-based oil destroyers. However, at the same time, with high pollution levels by oil products, the efficiency of destruction is significantly increased in the case of using fertilizers as a catalyst for the rhizodegradation process. Using fertilizers based on fulvic acids to stimulate plant growth at a higher level of pollution allowed us to reduce the concentration of oil products in the samples by 27.30% – 34.52%. Overall, chromatographic analysis of the samples showed a significant decrease in the concentration of light fractions of oil, while the destruction of heavy fractions ($C_{15} - C_{24}$) is much slower. **Key words:** bioassay, biodegradation, bioremediation, biosurfactant, petroleum, phytotoxicity, soil.

Постановка проблеми та актуальність дослідження. Широкомасштабний видобуток і використання нафти та нафтопродуктів зробили їх пріоритетними забруднювачами довкілля. Потрапляючи у навколишнє середовище, нафтові вуглеводні мають виражений вплив на всі компоненти екосистеми [1]. Серед них рослини та мікроорганізми – продуценти і редуценти – заслуговують на особливу увагу, оскільки вони є базовою провідною системою синтезу та розкладання органічних сполук. Процеси акумуляції, трансформації та деградації нафтових вуглеводнів

рослинами та мікроорганізмами активно вивчаються як для оцінки ризику, так і для пошуку природних механізмів детоксикації та деградації антропогенних забруднювачів [2; 3]. Результатами цих досліджень стали, з одного боку, виведення штамів мікроорганізмів-деструкторів, опис шляхів мікробного катаболізму вуглеводнів, а з іншого – характеристика метаболізму деяких вуглеводнів в рослинах [4]. Як наслідок, мікробна деградація вуглеводнів становить основу сучасної технології біоремедіації нафтозабруднених об'єктів довкілля [5; 6].

Виявлення ефекту підвищеної біодеградації поллютантів у кореневій зоні послужило приводом для об'єднання зусиль фізіологів рослин і мікробіологів у розробці біотехнологій використання рослин та асоційованих з ними мікроорганізмів для оздоровлення ґрунту [7]. Переваги біоремедіації як економічно вигідної, екологічно безпечної та естетично привабливої біотехнології відновлення забруднень показані багатьма дослідниками [8-10]. Рослинно-мікробні асоціації та симбіози, що мають гнучкий метаболізм і унікальні ферментативні системи, також мають великі переваги при перебуванні у несприятливих умовах навколишнього середовища, обумовлені не тільки підвищеною толерантністю до ксенобіотиків, але й здатністю до активного видалення токсикантів [11; 12]. Екологічні умови росту рослин (нафтове забруднення ґрунту, біоремедіація з внесенням біопрепарату) впливають на ріст і розвиток, формують неспецифічну фізіолого-біохімічну відповідь, яка виражається у зміні морфологічних параметрів, зниженні продуктивності, накопиченні пігментів, вторинних метаболітів, мітотичного індексу меристематичних клітин коренів, деградації хромосом. Нафтове забруднення ґрунту змінює структуру мікробного комплексу ризосфери рослин, в якій домінуючими стають вуглеводні мікроорганізми. Фіторемедіація нормалізує структуру мікробного комплексу ризосфери рослин, відновлює чисельність целюлозолітиків, знижує чисельність фітопатогенних форм мікроскопічних грибів [13; 14].

До теперішнього часу вплив нафтових вуглеводнів на ґрунтову мікрофлору добре вивчений, проте еколого-функціональні рішення ризосферних мікробних співтовариств на вуглеводневе забруднення продовжують вивчатися [16]. Разом з тим, особливості ризосфери як екологічної ніші (насиченість поживними речовинами, підвищена чисельність та фізіологічна активність мікроорганізмів) припускають інший характер реакцій мікрофлори на забруднення порівняно з ґрунтом без рослин. Дослідження структури та функцій мікробного співтовариства кореневої зони рослин в умовах вуглеводневого забруднення дозволяє з'ясувати причини та наслідки підвищення деградації органічного забруднювача у ґрунті з рослинами, що лежить в основі ефекту біоремедіації [17].

Реалізація адаптаційного і деструктивного потенціалу рослин, а також асоційованих з ними мікробних комплексів в умовах вуглеводневого забруднення може призводити до посилення очищення середовища, з одного боку, і зміни рослинно-мікробних взаємодій – з іншого [18]. Взаємини рослин та мікроорганізмів у ризосфері складається з спрямованих один на одного впливів. Вплив рослин на формування мікробіоценозів у ґрунті реалізується через надання ніші для проживання мікроорганізмів (власне кореневої системи) та кореневі виділення, що регулюють розвиток ризомікрофлори. У свою чергу, метаболічна активність мікроорганізмів, їх здатність

до продукції біологічно активних речовин значною мірою забезпечують ріст та розвиток рослин [19].

Використання добрив, наприклад на основі органічних кислот, може покращити розвиток кореневої структури рослин, що в свою чергу призводить до підвищення ефективності ризодеградації. Як і гумінові кислоти, фульвокислоти є високомолекулярними азотомісними органічними кислотами. Молекулярна маса цієї кислоти досить мала, щоб проникати крізь клітинні мембрани. Це сприяє розщепленню розчинених мінеральних і органічних речовин до іонів. Ця кислота є відмінним провідником вітамінів і завдяки цьому відсоток засвоєння добавок на клітинному рівні досягає 95-99% [20]. Дози фульвокислоти підбирають такі, що не стимулюють перехід металів із ґрунту в ґрунтові води і не сприяють вимиванню поживних речовин. При помірних концентраціях основними ефектами добрив на основі фульвокислот є регуляція енергетичних і основних біохімічних процесів рослин, підвищення роботи ферментів, нормалізація обміну речовин, звільнення клітин від продуктів розпаду та токсинів. Фульвокислота реагує з мінералами та розщеплює їх на частинки розміром іонів, створюючи фульвати, найменшу можливу форму мінералів. У цій формі мінерали легко поглинаються корінням рослин і розподіляються по всіх клітинах [21].

Матеріали та методи досліджень. З метою дослідження ефективності використання рослин та мікроорганізмів-нафтодеструкторів для зниження фітотоксичності забрудненого ґрунту були проведені лабораторні вегетаційні дослідження з біоремедіації ґрунтів, забруднених нафтошламом у різній концентрації. Штучно приготовлена ґрунтосуміш (зразки ретельно перемішувалися і розпушувалися до утворення однорідного розпушеного шару масою близько 70 г. кожен) містила 50% та 70% поллютанта. Дослідження проводили у приміщенні для вирощування рослин з контролюючими умовами освітлення, температури та поливу. Усі експерименти мали однакову тривалість – 86 діб.

Основним підходом у ході експерименту було внесення мікроорганізмів у комбінації з добривами на основі фульвокислот до штучно забрудненого ґрунту для прискорення розщеплення нафтових вуглеводнів. У ході представленого експерименту для визначення ефективності біоремедіації були використані нафтодеструктори на основі штаму *Bacillus*, а саме *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens* та *Bacillus amyloliquefaciens subsp. plantarum*. Даний консорціум мікроорганізмів має здатність розкладати вуглеводні шляхом синтезу поверхнево-активних речовин у присутності нафтопродуктів як джерела вуглецю [22]. У попередніх дослідженнях ми порівнювали ефективність біопрепарату у різних концентраціях [23]. Виходячи з отриманих результатів, для подальшої роботи була обрана концентрація на рівні 4%. Саме в такій кількості консорціум

мікроорганізмів *Bacillus* надавав ґрунту найкращі ростостимулюючі властивості та найбільш ефективне зниження фітотоксичності відносно концентрації самого біопрепарату. Для підтримання та накопичення маси мікроорганізмів полив біопрепаратом відбувався двічі на тиждень.

Ефективність біодеградації нафтопродуктів у зразках оцінювали за допомогою газохроматографічного аналізу високої роздільної здатності. Однією з методик хроматографічного аналізу є проявний (елюаційний) метод. Він полягає в тому, що сорбенти переносяться через сорбційний шар потоком речовини (елюенту), що сорбується гірше за будь-який із сорбентів. В ході проявного аналізу розділені компоненти аналізованої суміші виходять з хроматографічної колонки в потоці елюентів окремими зонами, між якими (при досить чіткому розділенні) з колонки виходить чистий елюент. Загальний вміст компонентів визначався піками на хроматограмах максимумом реєстрованого сигналу детектора або концентрації компонента хроматографованої суміші в елюенті. У якості обладнання використовували газовий хроматографі «Цвет-500». Усі варіанти описаних експериментів та аналізів мали не менше ніж триразову повторюваність. Статистичну обробку отриманих результатів проводили при $P < 0,05$ за допомогою програмного забезпечення.

Виклад основного матеріалу. Токсична дія вуглеводнів на розвиток рослин у забрудненому нафтопродуктами ґрунті супроводжувалася пожовтінням та засиханням, що могло бути пов'язане з транспірацією через рослину токсичних сполук. Але подібний ефект відмічається лише у перших тижнях проведення експерименту і залежить від періоду первинної токсичної дії при нафтовому забрудненні. Надалі, пряма дія біопрепарату (нафтодеструкція) та розгалуження коренів рослин (ризодеградація) призводять до зниження фітотоксичності ґрунту. Це важливо, насамперед, через підвищення щільності ризосферних мікробних популяцій, що в свою чергу призводить до сприятливіших і стабільніших умов ризосфери у порівнянні з ґрунтом без рослин. Таким чином, рослина в умовах забруднення є фактором, що підтримує та/або збільшує чисельність ґрунтових мікробних популяцій, надаючи їм нішу та додаткове харчування для розмноження та виконання захисних функцій від впливу поллютанта, інтенсифікуючи тим самим процеси оздоровлення ґрунту.

Окрім довжини коренів та висоти пагонів, важливим параметром, який дає оцінку фітотоксичності навколишнього середовища є урожайність (Таблиця 1). Фізіологічна структура мікробних співтовариств в ризосфері характеризується більшою стійкістю і менше схильна до змін під впливом забруднювача, ніж у ґрунті без впливу органічних добрив та, як наслідок, розгалуженої кореневої системи. Забруднення ґрунту вуглеводнями призводить до порушення балансу основних поживних елемен-

тів – вуглецю, азоту, фосфору та ін., що тягне за собою суттєві перебудови фізіологічної структури ґрунтового мікробценозу. Однак ці перебудови неоднозначні і залежать від присутності та активності мікроорганізмів, виділення яких можуть по-різному змінювати баланс поживних елементів у ґрунті, що у свою чергу призводить до зміни отриманої органічної речовини.

Таблиця 1

Вага органічної речовини / урожайність *Sinapis arvensis* на 0,02123 дм², г

Концентрація фульвокислот	Концентрація нафтошляму	
	50%	70%
1%	2.118	0.892
0,2%	1.927	0.508
0%	1.255	0.371

Зміна морфометричних параметрів рослин під впливом вуглеводнів пов'язана зі зміною їх біохімічних характеристик, що відображають токсичну дію поллютанта і адаптивні реакції рослини на стрес в умовах забруднення. Аналіз фітотоксичності показав (Таблиця 2), що через 3 місяці з використанням нафтодеструкторів токсичність у комбінації з фульвокислотами знизилася на 30,20–50,96%, а у варіанті без них – на 8,93–17,47%.

Таблиця 2

Фітотоксичний ефект нафтозабрудненого ґрунту за використання, %

Концентрація фульвокислот	Концентрація нафтошляму	
	50%	70%
1%	49,04	78,54
0,2%	53,64	87,80
0%	69,80	91,07

У подальшому був проведений порівняльний хроматографічний аналіз ступеня деградації нафтопродуктів у зразках. Результати наведені у Таблиці 3.

Таблиця 3

Загальна маса нафтопродуктів у зразках на кінець експерименту, мг/кг

Тип зразків	Концентрація нафтошляму	
	50%	70%
Стартові зразки	51168	58024
Без використання біопрепарату	49920	52976
З використанням біопрепарату	37440	47904
З використанням біопрепарату та фульвокислот	37200	37992

Виходячи із результатів аналізу фракційного складу, зниження концентрації забруднення за допомогою самоочищення (без використання біопрепа-

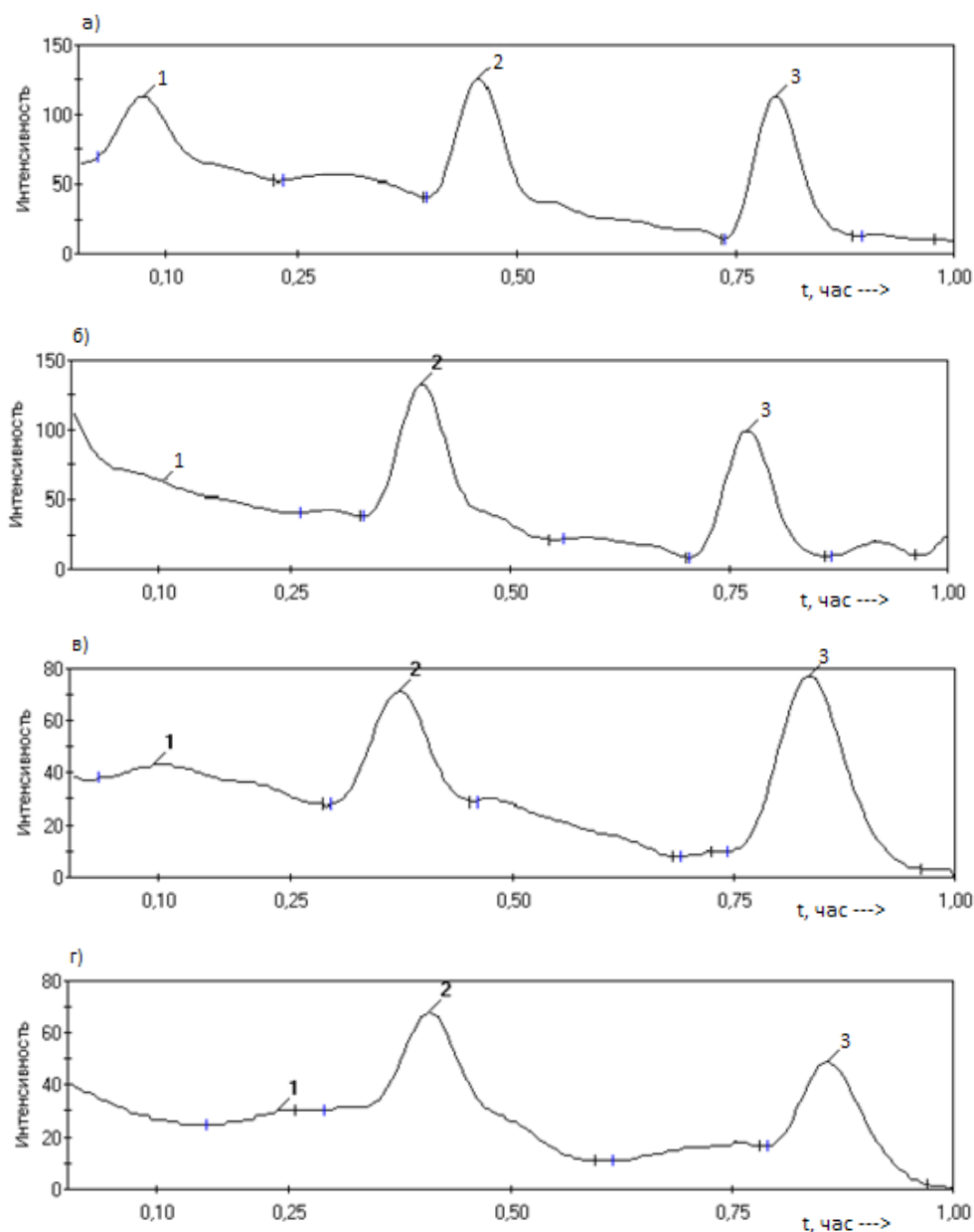


Рис. 1. Хроматографічний аналіз зразків за концентрації нафтошляму 50%:
а) стан ґрунту перед початком експерименту; б) контроль без використання біопрепарату; в) з використанням біопрепарату; г) з використанням біопрепарату у комбінації з фульвокислотами

рату) відбувається досить повільно, з 51168 мг/кг до 49920 мг/кг за 86 діб проведення експерименту. Порівняно з цим використання деструкторів показує загальний результат зниження до 37440 мг/кг. Подібний результат досягається завдяки повноцінному розкладанню легких $C_{10}-C_{14}$ фракцій нафти у забруднених зразках. Слід зазначити, що деструкція важких фракцій нафтошляму ($C_{15}-C_{19}$, $C_{20}-C_{24}$) відбувається значно повільніше. Так, фракція C_{24+} залишається майже незмінною у своєму кількісному складі.

Використання фульвокислот у даному випадку значно не змінює ріст та розвиток рослин у загальному вегетаційному періоді, а отже ефект поси-

лення ризодеградації є мінімальним (37440 мг/кг та 37200 мг/кг). Тобто використання добрив при 50% концентрації нафтошляму не є доцільним. У наступних зразках спостерігаємо зниження кількості нафтопродуктів по загальній масі з 58024 мг/кг до 52976 мг/кг. Так, зниження концентрації відбувається в основному за рахунок біодеструкторів, оскільки зведена статистика по зразках без проростання рослин. Проростання при значному забрудненні (70% нафтошляму) пригнічується забрудненням ґрунту. Будь-які рослини, які проросли, піддаються значному фітотоксичному ефекту та швидко засихають. Виходячи із результатів хроматографії ґрунту

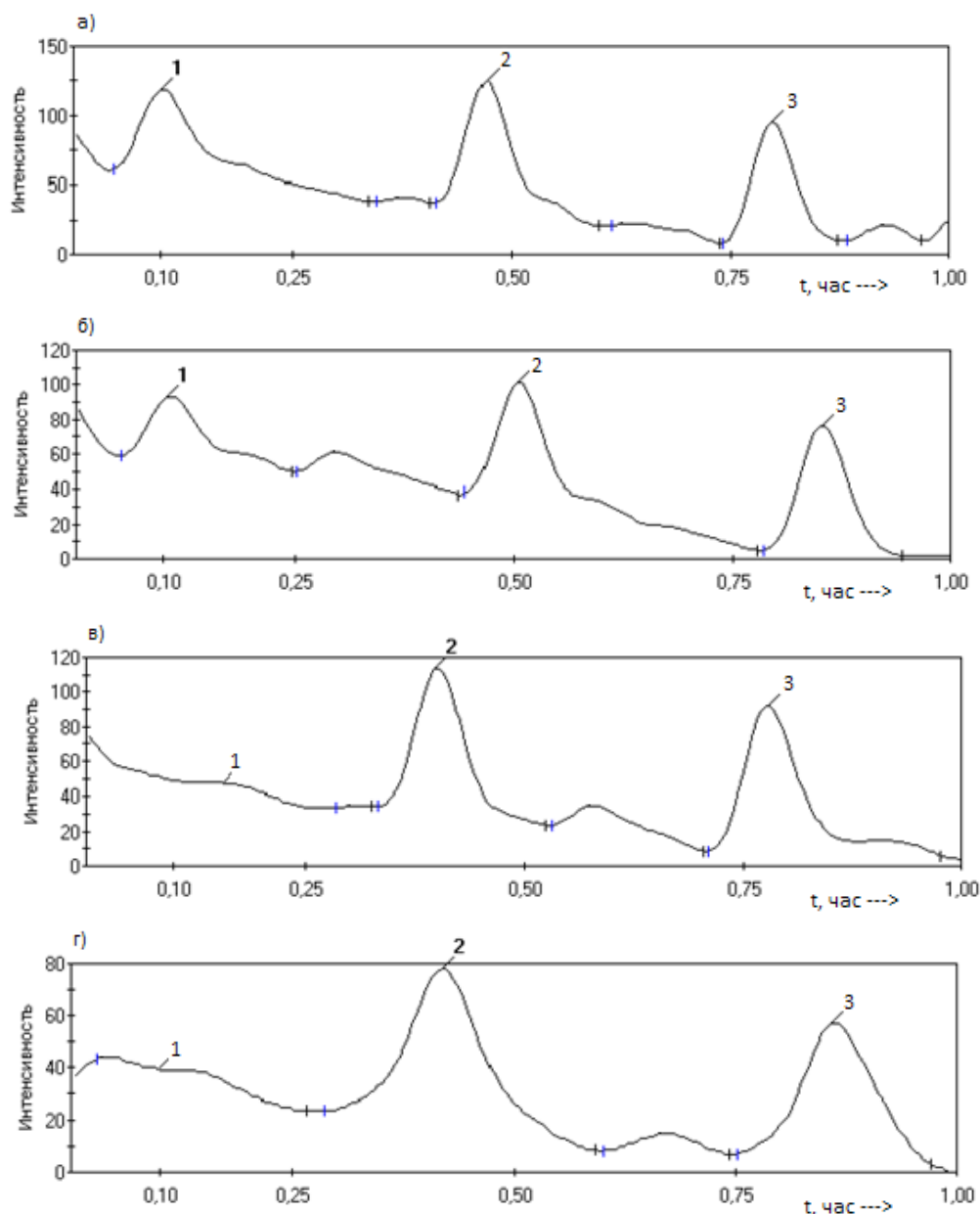


Рис. 2. Хроматографічний аналіз зразків за концентрації нафтошламу 70%:
а) стан ґрунту перед початком експерименту; б) контроль без використання біопрепарату; в) з використанням біопрепарату; г) з використанням біопрепарату у комбінації з фульвокислотами

можна зробити висновок, що відсутність розгалуженої кореневої системи знижує загальну ефективність.

У такому випадку у зразках з 70% поллютанту концентрація забруднювача зменшувалася з 58024 мг/кг до 37992 мг/кг. У порівнянні з попереднім рівнем концентрації ефект є більш значним (13728 мг/кг та 20102 мг/кг, відповідно) при схожому кінцевому результаті. Кінцевий результат у 37200 мг/кг та 37992 мг/кг при значній різниці у стартовій концентрації можна пояснити тим, що, по-перше, в основному відбувається деградація легких нафтопродуктів, що виходить з результатів хроматографії. Відбувається майже повне розкладання групи

$C_{10} - C_{14}$, незважаючи на їхній різний стартовий об'єм. По-друге збільшення концентрації нафтопродуктів хоч і підвищує фітотоксичність ґрунту, також підвищує їх доступність для мікроорганізмів. В свою чергу, це призводить до підвищення ефективності розкладання вуглеводнів. Але оскільки важкі вуглеводневі групи C_{24+} є досить стійкими для впливу деструкторів, то після певного порогу концентрація знижується значно повільніше.

Результати хроматографічного аналізу показують, що при 50% концентрації нафтошламу ефект від фульвокислот є незначним. Це означає що при подібному рівні забруднення добрива не є необхід-

ними для запуску симбіотичного процесу нафто-деструкції у кореневій зоні рослин. Але уже при 70% нафтошламу у ґрунтосуміші використання добрив відіграє ключову роль, тобто приближення до гранично допустимих концентрації поллютанта потребує більш значного впливу органічних добрив для запуску тих самих процесів. При підвищенні концентрації забруднення і надалі використання добрив, біопрепарату та їх комбінації не дають достатнього ефекту для приживання рослин.

Головні висновки. Проведені дослідження виявили відмінності у реакціях мікрофлори на забруднення середовища вуглеводнями, кількісні та якісні переваги мікробних угруповань у розгалуженій кореневій зоні рослин, що забезпечують ефективність фіторе mediaції та її переваги – стабільність та пролонгованість.

Аналіз зразків ґрунту, в умовах вегетаційного дослідження, показує, що в забрудненому вуглеводнями ґрунті ризосферний ефект був більш значний за використання комбінації біопрепарату та органічних добрив. Таким чином, використання фульвокислот у комбінації з нафтодеструкторами при вуглеводному забрудненні ґрунту важкими нафтовими фракціями (нафтошлам) справляло виражений позитивний ефект на рослинність. Найбільш чутливими

показниками фітотоксичності ґрунту були енергія проростання насіння та накопичення рослинної біомаси. Характер фітотоксичного ефекту ґрунту залежав, насамперед, від концентрації забруднення, використання біопрепарату, а також присутності та кількості добрив. Таким чином, біопрепарат на основі штаму *Bacillus* у комбінації з добривом на основі фульвокислот можуть бути використаними для комплексної біоре mediaції ґрунту. Це покращує швидкість зростання рослин у забрудненому вуглеводнем ґрунті, як за рахунок стимуляції росту рослин, так і за рахунок зниження фітотоксичності шляхом біодеградації поллютанту.

Описані дослідження продемонстрували, що і рослини, і мікроорганізми, і, особливо, їх асоціації мають значний потенціал адаптації і деструктивної активності по відношенню до нафтових вуглеводнів. Спрямоване використання цього потенціалу для оздоровлення ґрунту може мати суттєвий ефект у системі технологій фіторе mediaції. Максимальна реалізація можливостей рослинно-мікробних комплексів для оздоровлення ґрунту вимагає підбору і апробації різних мікроорганізмів (в залежності від родовища), врахування зонспецифічності рослин та внесенням органічних добрив при певних концентраціях поллютанта.

Література

1. Шестопапов О. В. Охорона навколишнього середовища від забруднення нафтопродуктами : навч. посіб. Харків : НТУ «ХП». 2015. 116 с.
2. Bhaskar S, Supriyo R and Kaushik K. 2020. Bioremediation of oily sludge: A case base analysis to supply chain, *Resources, Environment and Sustainability*, 2, pp. 225–233. <https://doi.org/10.1016/j.resenv.2020.100008>
3. Домарацький Є., Базалій В., Козлова О., Домарацький О. Ефективність використання деструкторів целюлози для оптимізації факторів життя рослин соняшнику. *Техніка і технології АПК*. 2020. № 1. С. 18–21.
4. Звягинцев Д.Г. Почва и микроорганизмы. Москва : Изд-во Моск. ун-та. 1987. 256 с.
5. Волкогон В.В., Надкернична О.В., Токмакова Л.М. Експериментальна ґрунтова мікробіологія : монографія / за ред. В.В. Волкогона. Київ : Аграрна наука. 2010. 464 с.
6. Das N and Chandran P. 2011. Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: an overview, *SAGE Hindawi access to research Biotechnology Research International*, pp. 1–13.
7. Ossai I, Ahmed A, Hassan A. 2019. Remediation of soil and water contaminated with petroleum hydrocarbon: A review. *Environmental Technology & Innovation*. 17. pp. 38–45. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2019.100526>
8. Hinehman R, Negri M and Gatlif E. 1996. In Phyto-remediation: using green plants to clean up contaminated soil, groundwater and wastewater hi. International Topical Meeting on Nuclear and Hazardous Waste Management, Spectrum. C. 23:1-13.
9. Luo Y and Teng Y. 2006. Status of soil pollution degradation and countermeasures in China. *J. Soils*, 38, pp. 505–508.
10. Sumiahadi A and Acar R. 2018. A review of phytoremediation technology: heavy metals uptake by plants, *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 142, 012023.
11. Молчатский С. Л., Казанцев И. В., Матвеева Т. Б. Применение метода фрактального анализа для биоиндикационной оценки состояния окружающей среды. *Самарский научный вестник*. 2016. № 4(17). С. 28–31.
12. Bais, H. P., Weir, T. L., Perry, L. G., Gilroy, S., & Vivanco, J. M. (2006). The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology*, 57, pp. 233–266.
13. Bardgett R, 2005. The biology soil. A community and ecosystem approach. *Oxford University Press*. p. 242.
14. Терещенко Н.Н., Акимова Е.Е., Минаева О.М. Практикум по микробиологии для оценки плодородия почвы и качества почвы : учеб.-метод. пособие для студентов биологических специальностей. Томск : ТГУ. 2011. 96 с.
15. Orooj S, Sayeda S, Kinza W and Alvina G. 2015. Phytoremediation of Soils: Prospects and Challenges. *Soil Remediation and Plants, Academic Press*. pp 1-36, ISBN 9780127999371, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-799937-1.00001-2>
16. Celia F Denise M and Helen C, 2015, Biosurfactant microfoam: Application in the removal of pollutants from soil, *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 3, 1 pp 89-94, ISSN 2213-3437, <https://doi.org/10.1016/j.jece.2014.12.008>
17. Femina C Senthil K Chitra B Fetcia J and Ramamurthy R, 2021, Stimulation of Bacillus sp. by lipopeptide biosurfactant for the degradation of aromatic amine 4-Chloroaniline, *Journal of Hazardous Materials*. 415. ISSN 0304-3894, <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125716>

18. Pao-Wen G, Tsung C, Liang-Ming W, Chun-Hsuan K, Po-Tseng P and Sheng-Shung C. 2011. Bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminated soil: Effects of strategies and microbial community shift. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 65, pp. 1119–1127.
19. Тарасов С.А., Шершнева О.М. Использование микробиологических препаратов для ускорения деструкции соломы. Вестник Курской ГСХА. 2014. № 6. С. 41–45.
20. Aleksandar I, Amanda M, Ladislau M, Alberto C. C et al. 2022. Comparison of Sample Preparation Techniques for the (–)ESI-FT-ICR-MS Analysis of Humic and Fulvic Acids. *Environmental Science & Technology*. 56, ISSN 12688-12701, <https://doi.org/10.1021/acs.est.2c01125>
21. Peijia Z, Hongjia Z, Guoqing W et. al. 2021. Dose-Dependent Application of Straw-Derived Fulvic Acid on Yield and Quality of Tomato Plants Grown in a Greenhouse. *Frontiers in Plant Science*. 12. pp. 3–6.
22. Бахоніна Є. І., Арсланова Л. М., Гамерова Л. М. Деструкція нафтозабруднень ґрунтів із застосуванням спеціального комплексу мікробних біопрепаратів. *Нафтогазова справа*. 2013. № 4. С. 415–423.
23. Nedoroda V, Trokhymenko G, Khrapko T, Koliekhova A. 2021. Analysis of Petroleum Biodegradation by a Bacterial Consortium of *Bacillus amyloliquefaciens* ssp. *plantarum* and *Bacillus subtilis*. *Journal of Ecological Engineering*. 22, pp. 36–42. <https://doi.org/10.12911/22998993/143017>