



УДК 602.4:631.427:579.6

DOI <https://doi.org/10.26516/2073-3372.2020.31.19>

## Новые биосредства для ремедиации нефтезагрязнённой почвы

Н. В. Фомичева<sup>1</sup>, Г. Ю. Рабинович<sup>1</sup>, Ю. Д. Смирнова<sup>1</sup>, А. Е. Филонов<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФИЦ «Почвенный институт им. В. В. Докучаева», г. Москва, Россия

<sup>2</sup>Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г. К. Скрябина,

ФИЦ Пушчинский научный центр биологических исследований РАН, г. Пушкино, Россия

E-mail: 2016vniimz-noo@list.ru

**Аннотация.** Для биоремедиации загрязнённой нефтью почвы разработаны средства, полученные на основе органических твердофазных биосредств для растениеводства и земледелия – компоста многоцелевого назначения (КМН) и продукта ферментации (ПФ), обогащённых суспензией микроорганизмов-нефтедеструкторов, содержащихся в микробиологическом препарате «МикроБак». Использование новых продуктов позволяет комбинировать два основных приёма микробной биоремедиации – стимуляцию аборигенных микроорганизмов и интродукцию активных микроорганизмов-деструкторов. В модельном эксперименте по ряду характеристик оценена эффективность разных модификаций этих продуктов для деструкции нефти в почве.

**Ключевые слова:** биоремедиация, нефть, компост многоцелевого назначения (КМН), продукт ферментации (ПФ), препарат «МикроБак», почва, степень деструкции, микроорганизмы.

**Для цитирования:** Новые биосредства для ремедиации нефтезагрязнённой почвы / Н. В. Фомичева, Г. Ю. Рабинович, Ю. Д. Смирнова, А. Е. Филонов // Известия Иркутского государственного университета. Серия Биология. Экология. 2020. Т. 31. С. 19–29. <https://doi.org/10.26516/2073-3372.2020.31.19>

### Введение

В ситуации, когда значение природных жидких углеводородов как глобального энергетического и сырьевого ресурса продолжает расти, увеличивается также число случаев аварийных разливов нефти и нефтепродуктов и их масштабы [Гранина, 2014; Ахмедов, 2016; Тихонова, 2016; Даг, 2019]. Усиление этой категории техногенной нагрузки негативно сказывается на всех компонентах экосистем, в том числе на почве. Универсального подхода, позволяющего полностью очистить почвы от нефтепродуктов, на сегодняшний день не существует [Баландин, 2014], в связи с чем остаются актуальными поиск и разработка новых эффективных и доступных технологических решений этой проблемы.

Весьма эффективным и экологически чистым способом восстановления загрязнённых нефтью почв является биоремедиация, основанная на использовании компонентов живых систем [Круглов, Кандыбин, Лаптев, 2005; In-

roduction to enhanced ... , 2012]. Для этой цели разработаны содержащие специализированные штаммы микроорганизмов-нефтедеструкторов биопрепараты («Деворойл», «Родер», «Путидойл», «Экойл», «МикроБак», «Родарт» и др.), имеющие значительную эффективность: сообщается, что применение препарата «Деворойл» привело к снижению остаточного содержания нефтепродуктов в почве на 61 %, «Родер», «Биоойл», «Дестройл» – на 40–45 %, «Родарт» – на 38 % спустя 60 дней после их внесения [Соколов, Хадаев, 2017].

Известен положительный эффект многократной биоаугментации загрязнённой нефтепродуктами (дизельным топливом и авиационным керосином) почвы: применяемые бактерии были выделены из загрязнённой почвы и вносились из расчёта их конечного содержания в почве  $10^7$ – $10^8$  КОЕ/г. Многократная инокуляция почвы местными бактериями увеличила эффективность биоремедиации на 50 % по сравнению с неинвазивной контрольной почвой [Bioremediation of soil ... , 2011].

Для повышения эффективности используют комплексную технологию биоремедиации, включающую совместное применение методов активизации аборигенных микроорганизмов и интродукции микроорганизмов-нефтедеструкторов. Так, применение биопрепарата на основе четырёх штаммов микроорганизмов рода *Pseudomonas* и *Rhodococcus* в комплексе с минеральным (нитрофоска) и органическим (активный ил) удобрениями спустя 2–3 мес. привело к снижению содержания нефти в почве на 26 %, а через 8–9 мес. – на 58,4 % [Курочкина, Шкидченко, Амелин, 2004].

Действие компоста из органической фракции твёрдых бытовых отходов и белых гниlostных грибов *Trametes versicolor*, применявшихся как совместно, так и раздельно, по истечении 30 дней биоремедиации способствовало деградации нефтепродуктов на 89 %. Эффективность компоста исследователи связывают с содержащимися в нём микроорганизмами, дополнительное внесение грибов признано неоправданным [Bioremediation of PAHs-contaminated ... , 2011].

Описана высокая эффективность совместного использования сорбента с нанесённой суспензией микроорганизмов (*Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *Nocardioideis albus*, *Candida scottii*) и органических материалов, коры, удобрений: степень биодеструкции нефти достигла 96 %, что подтверждалось высоким титром КОЕ гетеротрофов [Федорова, Рязанова, 2017].

В некоторых случаях для ремедиации применяют органические удобрения без дополнительной интродукции специализированных штаммов. Так, за пять месяцев использования вермикомпоста и навоза показана степень деградации нефти в 50 и 40 % соответственно, уровень естественного самоочищения почвы при этом составил 10 % [Результаты исследований ... , 2013].

Во ВНИИ мелиорированных земель разработаны органические твёрдофазные биосредства для растениеводства и земледелия – компост многоцелевого назначения (КМН) и продукт ферментации (ПФ), перспективные также для применения в комплексе мероприятий по биоремедиации загрязнённых нефтью почв. КМН, получаемый способом аэробной твёрдофазной

ферментации органического сырья (навоза КРС, птичьего помёта и торфа)<sup>1</sup>, а также ПФ, получаемый способом аэробно-анаэробной твёрдофазной ферментации навоза КРС и торфа [Рабинович, 2016], имеют развитую контактную поверхность, в своём составе содержат различную микрофлору, элементы питания, физиологически активные вещества. Эти свойства позволяют использовать КМН и ПФ для биоремедиации в качестве активаторов аборигенной микрофлоры и сорбентов искусственно вносимых специализированных штаммов микроорганизмов.

Цель настоящей работы – изучение влияния органических биосредств ПФ и КМН в нативном и обогащённом штаммами нефтеразлагающих микроорганизмов состоянии на степень деструкции нефти в почве.

### *Материалы и методы*

ПФ и КМН в исходном состоянии использовали в качестве стимуляторов аборигенной микрофлоры, а обогащёнными штаммами нефтедеструкторов – как агент комплексной биоремедиации (активизация аборигенной микрофлоры и интродукция специализированных штаммов). Используемые исходные биосредства КМН и ПФ имели следующие характеристики:

КМН: влажность – 60 %; общее микробное число (ОМЧ) –  $2 \cdot 10^8$  КОЕ/г; численность микроорганизмов, утилизирующих сырую нефть, –  $3 \cdot 10^5$  КОЕ/г;  $N_{\text{общ}}$  – 2,45 % а. с. в.;  $P_2O_5$  – 2,26 % а. с. в.;  $K_2O$  – 1,93 % а. с. в.;  $C$  – 21,5 %;  $pH_{KCl}$  – 6,08;

ПФ: влажность – 63 %, ОМЧ –  $8 \cdot 10^8$  КОЕ/г; численность микроорганизмов, утилизирующих сырую нефть –  $2 \cdot 10^6$  КОЕ/г;  $N_{\text{общ}}$  – 1,86 % а. с. в.;  $P_2O_5$  – 1,70 % а. с. в.;  $K_2O$  – 1,41 % а. с. в.;  $C$  – 29,0 %;  $pH_{KCl}$  – 6,77.

В качестве источника микроорганизмов-нефтедеструкторов использовали лиофильно высушенный микробиологический препарат «МикроБак»<sup>2</sup>, разработанный в Институте биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г. К. Скрябина (ИБФМ РАН). Препарат предназначен для биоремедиации почв с содержанием нефти до 15 % и представляет собой консорциум бактерий родов *Rhodococcus* и *Pseudomonas*.

Препарат «МикроБак» перед использованием активировали и в виде суспензии вносили в ПФ и КМН в процессе их производства – на этапе дозревания, из расчёта конечного содержания штаммов-нефтедеструкторов в почве  $10^5$  КОЕ/1 г. Поскольку новые биосредства на основе ПФ и КМН было решено использовать в дозировке 50 и 150 т/га, их консистенция после внесения суспензии микроорганизмов оказалась различной – пастообразной и сыпучей мелкокомковатой структуры соответственно. После тщательного перемешивания полученная масса выдерживалась не менее суток. В резуль-

<sup>1</sup> Способ приготовления компоста: пат. Рос. Федерации 2598041. Рабинович Г. Ю., Ковалев Н. Г., Смирнова Ю. Д. № 2015141267/13; заявл. 28.09.2015; опубл. 20.09.2016. Бюл. № 26.

<sup>2</sup> Биопрепарат для очистки почв от загрязнений нефтью и нефтепродуктами, способ его получения и применения: пат. Рос. Федерации 2378060. Филонов А. Е., Кошелева И. А., Самойленко В. А., Шкидченко А. Н., Нечаева И. А., Пунтус И. Ф., Гафаров А. Б., Якшина Т. В., Боронин А. М., Петриков К. В. № 2007125403/13; заявл. 05.07.2007; опубл. 10.01.2010. Бюл. № 1.

тате были получены два образца биосредств на основе ПФ и два – на основе КМН (табл.).

Таблица

Характеристика новых биосредств, используемых в опыте по биоремедиации загрязнённой нефтью почвы

Наименование биосредства	Состав	Соотношение массы исходного биосредства и суспензии «МикроБак»	Структура	Норма внесения на 1 га
КМН-1	КМН исходный	–	сыпучая мелкокомковатая	150 т
				300 т
КМН-2	КМН исходный + «МикроБак»	1:0,2	пастообразная	50 т
КМН-3	КМН исходный + «МикроБак»	3:0,2	сыпучая мелкокомковатая	150 т
ПФ-1	ПФ исходный	–	сыпучая мелкокомковатая	150 т
				300 т
ПФ-2	ПФ исходный + «МикроБак»	1:0,2	пастообразная	50 т
ПФ-3	ПФ исходный + «МикроБак»	3:0,2	сыпучая мелкокомковатая	150 т

Доза твёрдофазных биосредств 50 т/га теоретически обоснована с учётом имеющихся наработок по применению КМН и ПФ и экономической стороны вопроса. Доза биосредств 150 т/га выбрана из расчёта соотношения биосредство:нефть = 1:1. Доза 300 т/га для исходных ПФ-1 и КМН-1 определена по аналогии с нормой внесения известного суперкомпоста «ПИК-СА», используемого в том числе для очистки и восстановления почвы от нефтезагрязнений [Прикладная экобиотехнология, 2012].

Для изучения эффективности твёрдофазных биосредств для биоремедиации загрязнённых нефтью почв был заложен модельный эксперимент в лабораторных условиях. В пластиковые контейнеры помещали 0,6 кг высушенной, просеянной дерново-подзолистой легкосуглинистой нестерильной почвы, которую затем увлажняли до 70 % от ППВ. Искусственное загрязнение почвы нефтью проводили из расчёта 5 % нефтезагрязнений с учётом массы вносимых ПФ и КМН. В опыте использовали нефть Западно-Сибирского месторождения плотностью 0,860 г/см<sup>3</sup>. Модельный опыт проводили четыре месяца с поддержанием оптимального водно-воздушного режима.

Для определения степени деструкции нефти отбирали образцы почвы через 2 недели, 1, 2, 3, 4 месяца. Остаточное содержание нефти определяли флуориметрическим методом на флуориметре «Флюорат-02-2М» («Люмэкс», Россия) [Другов, 2007].

Численность микроорганизмов определяли методом предельных разведений: ОМЧ – на мясептонном агаре; микроорганизмы, утилизирующие сырую нефть, – на питательной среде Придхэм – Готтлиба ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – 2,64 г; КН<sub>2</sub>РО<sub>4</sub> – 2,38 г; К<sub>2</sub>НРО<sub>4</sub> – 5,65 г; MgSO<sub>4</sub>·7 Н<sub>2</sub>О – 1 г; CuSO<sub>4</sub> –

0,0064 г; FeSO<sub>4</sub> – 0,0011 г; MnCl<sub>2</sub> – 0,0079 г; ZnSO<sub>4</sub> – 0,0015 г; агар – 15 г; дистиллированная вода – 1000 мл), где в качестве источника углерода использовали сырую нефть в количестве 1 %.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью программ Excel (MS Office 2003), Statgraphics Centurion v.XVI.II.

### **Результаты и обсуждение**

Внесение активированного препарата «МикроБак» в ПФ и КМН на стадии дозревания последних повлияло на численность микроорганизмов, максимальное количество которых отмечали на третьи сутки. При этом общее микробное число в пастообразном биосредстве на основе КМН составило  $1 \cdot 10^9$  КОЕ/г, в КМН-3 –  $1,5 \cdot 10^9$  КОЕ/г; в двух обогащённых биосредствах на основе ПФ ~  $1,2 \cdot 10^9$  КОЕ/г.

В процессах деструкции нефти ведущая роль отводится микроорганизмам, способным разрушать и утилизировать нефть. В связи с этим важным является их численность в биосредствах, используемых для ремедиации. В наших исследованиях спустя трое суток численность утилизирующих нефть микроорганизмов увеличилась в КМН-2 в 7,5 раза, в КМН-3 – в 4,4 раза по сравнению с исходным КМН-1. В ПФ-1 количество указанных микроорганизмов изначально было выше, чем в КМН-1, при этом дополнительное внесение препарата «МикроБак» увеличило их численность в ПФ-2 и ПФ-3 в 2,5 раза. Полученные результаты послужили основанием для последующего использования биосредств в модельном опыте по биоремедиации.

При попадании нефти в почву процесс её деградации, преимущественно за счёт абиотических физико-химических процессов, в частности испарения легких фракций, начинается уже с первых часов. Спустя две недели после внесения твёрдофазных биосредств в нефтезагрязнённую почву деструкция нефти вследствие процесса испарения составила 7,5 % (рис. 1).

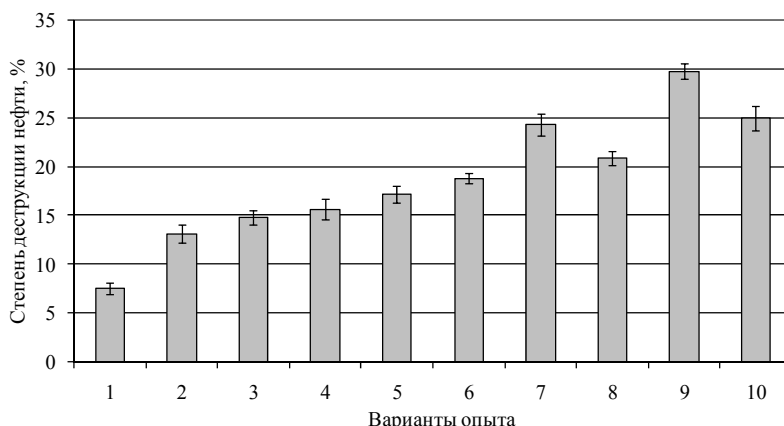


Рис. 1. Степень деструкции нефти через две недели от начала модельного эксперимента. 1 – нефть, 2 – нефть + ПФ-1 (150 т/га), 3 – нефть + ПФ-1 (300 т/га), 4 – нефть + КМН-1 (150 т/га), 5 – нефть + КМН-1 (300 т/га), 6 – нефть + «МикроБак», 7 – нефть + ПФ-2 (50 т/га), 8 – нефть + ПФ-3 (150 т/га), 9 – КМН-2 (50 т/га), 10 – КМН-3 (150 т/га)

Анализ всех вариантов с использованием исходных биосредств (ПФ-1 и КМН-1) и отдельно биопрепарата «МикроБак» показывает, что именно последний способствовал лучшей деструкции нефти. Однако все новые обогащённые биосредства проявили более высокий уровень деградации нефти, причём в каждом случае лидировали новые биосредства с пастообразной консистенцией ПФ-2 и КМН-2: степень деструкции достигла соответственно 24,3 и 29,8 %.

Определение в этот период количества микроорганизмов, утилизирующих нефть, показало, что среди вариантов с использованием биосредств наименьшая их численность обнаружена в варианте с препаратом «МикроБак», далее по возрастанию идут варианты с использованием новых биосредств, а наибольшая численность наблюдается в случае использования исходных ПФ-1 и КМН-1 в различных дозах, т. е. формируется нелогичная практически обратная зависимость между численностью указанных микроорганизмов и степенью деструкции нефти. Однако в биопрепарате «МикроБак» содержится высокий титр специализированных штаммов, целенаправленно и достаточно эффективно разрушающих нефть и нефтепродукты, в результате чего в этом варианте не наблюдалось увеличения общего пула микроорганизмов, утилизирующих нефть. Исходные биосредства ПФ-1 и КМН-1 изначально не ориентированы на использование для биоремедиации, однако представители разнообразной микрофлоры в их составе при внесении в нефтезагрязнённую почву адаптировались к внешним условиям и усиленно развивались, разрушая главный источник углерода – нефть.

Следующие две недели (в общей сложности через месяц от начала модельного эксперимента) в почве продолжали активно происходить процессы деградации лёгкой фракции нефти и максимальная степень деструкции (36 %) наблюдалась в варианте с применением биопрепарата «МикроБак».

На протяжении следующих трёх месяцев деградация нефти во всех вариантах проходила гораздо меньшими темпами. При этом необходимо отметить, что в случае использования биопрепарата «МикроБак» темпы деструкции нефти существенно снизились по сравнению с твёрдофазными биосредствами: к концу четвёртого месяца показатель деструкции достиг всего 39,1 %. Поскольку в этом варианте изначально не было предусмотрено внесения дополнительных элементов питания, очевидно, через некоторое время в почве возник их дефицит, что отрицательно повлияло на развитие почвенной микрофлоры. В этой связи вариант с использованием органических биосредств ПФ и КМН обладал явным преимуществом, поскольку почвенные микроорганизмы обеспечивались доступным питанием на протяжении всего модельного эксперимента.

В вариантах с использованием твёрдофазных биосредств активное развитие в почве микроорганизмов, утилизирующих нефть, способствовало более интенсивной её деградации: максимальная степень деструкции достигнута в вариантах с использованием исходных биосредств ПФ-1 и КМН-1 в максимальной дозе 300 т/га, а также в варианте с использованием нового

биосредства ПФ-3, полученного с использованием биопрепарата «Микро-Бак» и вносимого в количестве 150 т/га.

Необходимо отметить, что новый образец биосредства КМН-3 лучше проявил себя только в течение первых двух недель эксперимента, а далее по уровню деструкции практически совпадал с КМН-1 аналогичной нормы внесения. При использовании КМН-2 уровень деструкции нефти также уступал исходному КМН. По всей видимости, внесённые штаммы микроорганизмов-нефтедеструкторов не выдержали конкуренции с собственной микрофлорой КМН и аборигенной микрофлорой.

В конце модельного эксперимента показатели деструкции нефти и численности утилизирующих микроорганизмов в почве находились в линейной зависимости, описываемой уравнением регрессии:  $y = 21,6456 + 0,0769637x$ , коэффициент корреляции  $r = 0,76$  (рис. 2).

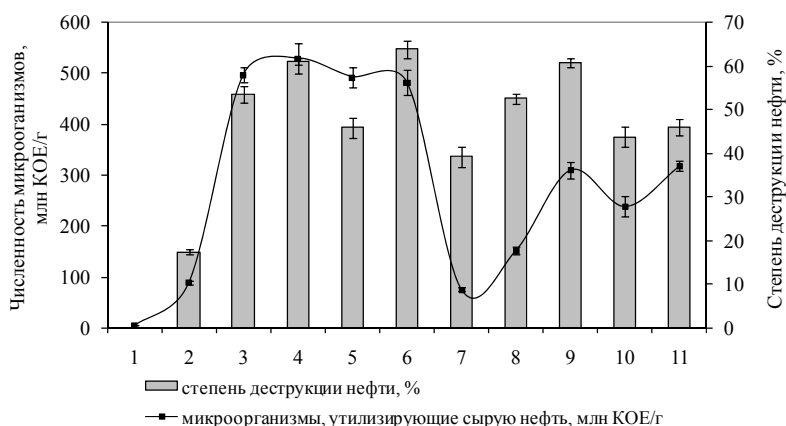


Рис. 2. Степень деструкции нефти и численность микроорганизмов, утилизирующих сырую нефть, в конце эксперимента. 1 – почва без нефти, 2 – нефть, 3 – нефть + ПФ-1 (150 т/га), 4 – нефть + ПФ-1 (300 т/га), 5 – нефть + КМН-1 (150 т/га), 6 – нефть + КМН-1 (300 т/га), 7 – нефть + «МикроБак», 8 – нефть + ПФ-2 (50 т/га), 9 – нефть + ПФ-3 (150 т/га), 10 – КМН-2 (50 т/га), 11 – КМН-3 (150 т/га)

### Заключение

Проведённый модельный эксперимент продемонстрировал, что использование ПФ-1 и КМН-1 в исходном состоянии в дозе из расчёта 300 т/га, а также новое биосредство на основе ПФ и препарата «МикроБак», применяемое в дозе из расчёта 150 т/га, способствовали максимальной степени деструкции нефти. При этом норма 300 т/га по затратам, очевидно, превосходит вариант применения нового биосредства ПФ-3, искусственно обогащённого штаммами нефтедеструкторов. Таким образом, биосредство ПФ-3 характеризуется высокой эффективностью при меньшей дозировке, при его применении совмещаются два приёма биоремедиации – стимуляция аборигенных микроорганизмов и интродукция активных микроорганизмов-деструкторов, что в конечном итоге обеспечило деструкцию нефти на 60,6 % за 4 месяца.

### Список литературы

Ахмедов В. А. Исследование экологической обстановки нефтедобывающих и техногенноразрушенных территорий юго-западной части Апшеронского полуострова Азербайджана // Научный журнал РосНИИПМ. 2016. № 4 (24). С. 86–99.

Баландин Д. А., Пыткин А. Н., Тарасов Н. М. Комплексное применение биотехнологий в достижении устойчивого развития сельских территорий региона. Екатеринбург : ИЭ УО РАН, 2014. 116 с.

Гранина Н. И., Васильев М. В. Проблема оценки нефтезагрязнения почв в Иркутском регионе // Известия Иркутского государственного университета. Серия Биология. Экология. 2014. Т. 8. С. 67–71.

Другов Ю. С., Родин А. А. Анализ загрязнённой почвы и опасных отходов. М. : БИНОМ. Лаб. знаний, 2007. 424 с.

Круглов Ю. В., Кандыбин Н. В., Лаптев Г. Ю. Биопрепараты в сельском хозяйстве. (Методология и практика применения микроорганизмов в растениеводстве и кормопроизводстве). М. : Россельхозакадемия, 2005. 153 с.

Курочкина Г. Н., Шкидченко А. Н., Амелин А. А. Влияние нового биопрепарата на ремедиацию нефтезагрязнённой серой лесной почвы // Почвоведение. 2004. № 10. С. 1241–1249.

Прикладная экобиотехнология : учеб. пособие. В 2 т. Т. 1 / А. Е. Кузнецов, Н. Б. Градова, С. В. Лушников, М. Энгельхарт. М. : БИНОМ. Лаб. знаний, 2012. 629 с.

Рабинович Г. Ю. Научные основы, опыт продвижения и перспективы биотехнологических разработок. Тверь : Твер. гос. ун-т, 2016. 196 с.

Результаты исследований по ремедиации дерново-карбонатных почв / А. В. Баландина, О. З. Еремченко, Т. Ф. Одегова, Д. Б. Кузнецов // Фундаментальные исследования. 2013. № 10. С. 95–99.

Соколов С. Н., Хадаев И. Р. Влияние биопрепаратов на снижение остаточной концентрации углеводородов нефти в почве // Международный научно-исследовательский журнал. 2017. № 06 (60). С. 130–136. <https://doi.org/10.23670/IRJ.2017.60.012>

Тихонова Т. В. Влияние техногенной нагрузки на экологическую ёмкость приарктических территорий республики Коми // Арктика: экология и экономика. 2016. № 3 (23). С. 108–115.

Фёдорова О. С., Рязанова Т. В. Динамика микробиоценоза гетеротрофов в модельных опытах с применением биосорбента на основе смешанной бактериальной культуры // Системы. Методы. Технологии. 2017. № 1 (33). С. 157–164.

Bioremediation of PAHs-contaminated soil through composting: Influence of bioaugmentation and biostimulation on contaminant biodegradation / T. Sayara, E. Borrás, G. Caminal, M. Sarra, A. Sanchez // Intern. Biodeterioration & Biodegradation. 2011. Vol. 65. P. 859–865. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2011.05.006>

Bioremediation of soil polluted with fuels by sequential multiple injection of native microorganisms: Field-scale processes in Poland / M. Lebkowska, E. Zborowska, E. Karwowska, E. Miaskiewicz-Pęska, A. Muszynski, A. Tabernacka, J. Naumczyk, M. Jęczalik // Ecological Engineering. 2011. Vol. 37 (11). P. 1895–1900. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2011.06.047>

Dar M. R. Oil Spills and their Effect on the Properties of Soil // Intern. J. for Research in Appl. Science and Engineering Technology. 2019. Vol. 7 (11). P. 780–784. <https://doi.org/10.22214/ijraset.2019.11130>

Introduction to Enhanced Oil Recovery (EOR) Processes and Bioremediation of Oil-Contaminated Sites / ed. by Dr. Laura Romero-Zeron. Shanghai : InTech, 2012. 318 p. <https://doi.org/10.5772/2053>



## New Biological Means for the Remediation of Oil-Contaminated Soil

N. V. Fomicheva<sup>1</sup>, G.Yu. Rabinovich<sup>1</sup>, Yu. D. Smirnova<sup>1</sup>, A. E. Filonov<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*V. V. Dokuchaev Soil Science Institute, Moscow, Russian Federation*

<sup>2</sup>*G. K. Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms, Pushchino Scientific Center for Biological Research RAS, Pushchino, Russian Federation*

**Abstract.** The All-Russian Scientific Research Institute of Reclaimed Lands has developed organic solid-phase biologic means for crop production and agriculture – multi-purpose compost (KMN) and fermentation product (PF). A characteristics of KMN and PF allows them to be use for bioremediation of oil-contaminated soil as activators of the native microflora and as sorbents of strains of oil destructive microorganisms. As source of oil destructing microorganisms the MikroBak preparation was used. Suspended MikroBak was added to the PF and KMN in the process of their production – at the stage of ripening, based on the final content of oil destructors in the soil  $10^5$  CFU / 1 g of soil. It was established that three days after the MikroBak introduction, samples of solid-phase biological means had the highest microbiological activity, in particular, the number of microorganisms utilizing oil increased 2.5–7.5 times. To study the effectiveness of new biological means for remediation of oil-contaminated soils, a model experiment lasting 4 months was laid. Sod-podzolic light loamy soil was artificially contaminated with oil at the rate of 5 % of oil pollution, taking into account the mass of applied biological means. New biological means, prepared both on the basis of PF and MikroBak, and on the basis of KMN and MikroBak, combine two methods of bioremediation – stimulation of native microorganisms and the introduction of active microorganisms-destructors. After 2 weeks from the start of the experiment, the greatest destruction of oil was revealed in the variants using new biological means based on KMN and MikroBak, as well as PF and MikroBak – 29.8 and 24.3 %, respectively. In a month, the maximum destruction was observed in the variant with the use of the MikroBak – 36 %. At the end of the experiment, the degree of oil destruction and the number of microorganisms utilizing crude oil were in a linear relationship, the correlation coefficient  $r = 0.76$ . It was established that the use of the MikroBak biopreparation at the stage of maturation of the PF contributed to obtaining the most optimal, effective biological mean, which in 4 months provided a degree of oil destruction of 60.6 %.

**Keywords:** bioremediation, oil, multi-purpose compost (KMN), fermentation product (PF), MikroBak preparation, soil, degree of destruction, microorganisms.

**For citation:** Fomicheva N.V., Rabinovich G.Yu., Smirnova Yu.D., Filonov A.E. New Biological Means for the Remediation of Oil-Contaminated Soil. *The Bulletin of Irkutsk State University. Series Biology. Ecology*, 2020, vol. 31, pp. 19-29. <https://doi.org/10.26516/2073-3372.2020.31.19> (in Russian)

### References

Akhmedov V.A. Issledovanie ekologicheskoi obstanovki nefte dobyvayushchikh i tekhnogennorazrushennykh territorii yugo-zapadnoi chasti Apsheron'skogo poluoostrova Azerbaidzhana [Study of Environmental State of Oil Production and Technogenic Disturbed Areas in the South-Western Absheron Peninsula in Azerbaijan]. *Nauch. zhurn. RosNIIPM* [Scientific Journal of RosNIIPM], 2016, no. 4 (24), pp. 86-99. (in Russian)

Balandin D.A., Pytkin A.N., Tarasov N.M. *Kompleksnoe primeneniye biotekhnologii v dostizhenii ustoychivogo razvitiya selskikh territorii regiona* [Integrated Application of Biotechnology in Achieving Sustainable Development of Rural Areas of the Region]. Yekaterinburg, Inst. Econ. UB RAS Publ., 2014. 116 p. (in Russian)

Granina N.I., Vasil'ev M.V. Problema otsenki neftezagryazneniya pochv v Irkutskom regione [Problem of Assessing of Soil Petropollution in Irkutsk Region]. *Bull. Irkutsk St. Univ. Series Biology. Ecology*, 2014, vol. 8, pp. 67-71. (in Russian)

Drugov Yu.S., Rodin A.A. *Analiz zagryaznennoi pochvy i opasnykh otkhodov* [Analysis of Contaminated Soil and Hazardous Waste]. Moscow, BINOM. Lab. znaniy Publ., 2007, 424 p. (in Russian)

Kruglov Yu.V., Kandybin N.V., Laptev G.Yu. *Biopreparaty v sel'skom khozyaistve. (Metodologiya i praktika primeneniya mikroorganizmov v rastenievodstve i kormoproizvodstve)* [Biological Products in Agriculture. (Methodology and Practice of Using Microorganisms in Crop Production and Feed Production)]. Moscow, Rosselkhozakademiya Publ., 2005, 153 p. (in Russian)

Kurochkina G.N., Shkidchenko A.N., Amelin A.A. Vliyanie novogo biopreparata na remediatsiyu neftezagryaznennoi seroi lesnoi pochvy [The Effect of a New Biopreparation on the Remediation of Oil-Contaminated Gray Forest Soil]. *Eurasian Soil Sci.*, 2004, no. 10, pp. 1241-1249. (in Russian)

Kuznetsov A.E., Gradova N.B., Lushnikov S.V., Engelhardt M. *Prikladnaya ekobiotehnologiya* [Applied Ecobiotechnology: Textbook, vol. 1]. BINOM. Lab. znaniy Publ., 2012. 629 p. (in Russian)

Rabinovich G.Yu. *Nauchnye osnovy, opyt prodvizheniya i perspektivy biotekhnologicheskikh razrabotok* [Scientific Base, Experience of Promotion and Prospects of Biotechnological Developments]. Tver, Tver St. Univ. Publ., 2016, 196 p. (in Russian)

Balandina A.V., Eremchenko O.Z., Odegova T.F., Kuznetsov D.B. Rezultaty issledovaniy po remediatsii derno-kaobonatnykh pochv [Results of Investigation for Remediations of Sod-Calcareous Soils]. *Fundam. issled.* [Fundamental Research], 2013, no. 10, pp. 95-99. (in Russian)

Sokolov S.N., Khadaev I.R. Vliyanie biopreparatov na snizhenie ostatochnoi kontsentratsii uglevodorodov nefi v pochve [Influence of Biological Products on the Reduction of the Residual Concentration of Oil Hydrocarbons in Soils]. *Mezhdunar. nauch.-issled. zhurn.* [Int. Res. J.], 2017, no. 06 (60), pp. 130-136. <https://doi.org/10.23670/IRJ.2017.60.012> (in Russian)

Tihonova T.V. Vliyanie tekhnogennoi nagruzki na ekologicheskuyu emkost' priarkticheskikh territorii respubliki Komi [Effect of Anthropogenic Impact on Ecological Capacity of the Arctic Territories of the Republic of Komi]. *Arktika: ekologiya i ekonomika* [Arctic: Ecology and Economy], 2016, no. 3 (23), pp. 108-115. (in Russian)

Fedorova O.S., Ryazanova T.V. Dinamika mikrobiotsenoza geterotrofov v model'nykh opytakh s primeneniem biosorbenta na osnove smeshannoi bakterial'noi kultury [Dynamics of Heterotrophs Microbiocenosis in Model Experiments With Application of Biosorbent on Basis of Mixed Bacterial Culture]. *Sistemy. Metody. Tekhnologii.* [Systems. Methods. Technologies.], 2017, no. 1 (33), pp. 157-164. (in Russian)

Sayara T., Borrás E., Caminal G., Sarra M., Sanchez A. Bioremediation of PAHs-Contaminated Soil Through Composting: Influence of Bioaugmentation and Biostimulation on Contaminant Biodegradation. *Int. Biodeterioration & Biodegradation*, 2011, vol. 65, pp. 859-865. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2011.05.006>

Lebkowska M., Zborowska E., Karwowska E., Miaskiewicz-Pęska E., Muszynski A., Tabernacka A., Naumczyk J., Jęczalik M. Bioremediation of soil polluted with fuels by sequential multiple injection of native microorganisms: Field-scale processes in Poland. *Ecol. Engin.*, 2011, vol. 37 (11), pp. 1895-1900. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2011.06.047>

Dar M.R. Oil Spills and their Effect on the Properties of Soil. *Int. J. Res. Appl. Sci. Engin. Technol.*, 2019, vol. 7(11), pp. 780-784. <https://doi.org/10.22214/ijraset.2019.11130>

Introduction to Enhanced Oil Recovery (EOR) Processes and Bioremediation of Oil-Contaminated Sites. Romero-Zeron L. (ed.). Shanghai, InTech, 2012, 318 p. <https://doi.org/10.5772/2053>

*Фомичева Наталья Викторовна*  
кандидат биологических наук,  
старший научный сотрудник  
ФИЦ «Почвенный институт им.  
В. В. Докучаева»  
Россия, 119017, г. Москва,  
Пыжёвский пер., 7, стр. 2  
e-mail: nvfomi@mail.ru

*Fomicheva Natalia Viktorovna*  
Candidate of Sciences (Biology),  
Senior Research Scientist  
V.V. Dokuchaev Soil Science Institute  
p. 2, 7, Pyzhevsky Ln., Moscow, 119017  
Russian Federation  
e-mail: nvfomi@mail.ru

*Рабинович Галина Юрьевна*  
доктор биологических наук, профессор,  
директор филиала  
ФИЦ «Почвенный институт им.  
В. В. Докучаева»  
Россия, 119017, г. Москва, Пыжёвский  
пер., 7, стр. 2  
e-mail: 2016vniimz-noo@list.ru

*Rabinovich Galina Yurievna*  
Doctor of Sciences (Biology), Professor,  
Branch Manager  
V.V. Dokuchaev Soil Science Institute  
p. 2, 7, Pyzhevsky Ln., Moscow, 119017,  
Russian Federation  
e-mail: 2016vniimz-noo@list.ru

*Смирнова Юлия Дмитриевна*  
кандидат биологических наук,  
старший научный сотрудник  
ФИЦ «Почвенный институт им.  
В. В. Докучаева»  
Россия, 119017, г. Москва,  
Пыжёвский пер., 7, стр. 2  
e-mail: ulayad@yandex.ru

*Smirnova Yulia Dmitrievna*  
Candidate of Sciences (Biology),  
Senior Researcher  
V.V. Dokuchaev Soil Science Institute  
p. 2, 7, Pyzhevsky Ln., Moscow, 119017,  
Russian Federation  
e-mail: ulayad@yandex.ru

*Филонов Андрей Евгеньевич*  
доктор биологических наук, доцент,  
ведущий научный сотрудник  
Институт биохимии и физиологии  
микроорганизмов им. Г. К. Скрыбина,  
ФИЦ Пуцинский научный центр  
биологических исследований РАН  
Россия, 142290, Московская область,  
г. Пуцино, Проспект Науки, 5  
e-mail: filonov.andrey@rambler.ru

*Filonov Andrei Evgen'evich*  
Doctor of Sciences (Biology), Associate  
Professor, Leading Research Scientist  
G. K. Skryabin Institute of Biochemistry and  
Physiology of Microorganisms, Pushchino  
Scientific Center for Biological Research RAS  
5, Science Av., Pushchino, 142290,  
Russian Federation  
e-mail: filonov.andrey@rambler.ru