Isolation of *Pseudomonas putida* and *Bacillus subtilis* bacteria from diesel-contaminated soil at a fuel station in Salhab

Rahaf Fahd Ibrahim[*]
Dr. Omiema Nasser[**]
Dr. Ayman Al Mariri[***]

(Received 6 / 4 / 2026. Accepted 1 / 6 /2026)

□ ABSTRACT □

Oil and its derivatives are among the most significant environmental pollutants today, and diesel fuel is a common environmental pollutant. Two types of bacteria were isolated from diesel-contaminated soil at fuel filling stations (Salhab). The bacterial isolates were characterized based on their culture and morphological features on differential media, purified using simple and orthogonal streaking, and stained with Gram stain, in addition to some biochemical characteristics. This was done during an incubation period of 24-72 hours at 37°C

The results showed the isolation of two types of bacilli: (A1) *Pseudomonas putida*, which is Gram-negative, positive for catalase, oxidase, and lactose, and negative for maltose, mannose, and sucrose , (A2) *Bacillus subtilis*, which is Gram-positive, positive for catalase and glucose, and negative for oxidase, sucrose, and maltose.

Keywords: Contaminated soil, diesel, *Pseudomonas putida*, *Bacillus subtilis*

Copyright **:**Latakia University journal (formerly Tishreen) -Syria, The authors retain the copyright under a CC BY-NC-SA 04

[*]**PhD Student– Higher Institute for Environmental Research- Latakia University(formerly Tishreen) - Latakia- Syria. rahaf.f.ibrahem@tishreen.edu.sy**
[**]**Professor – Higher Institute for Environmental Research- Latakia University(formerly Tishreen) - Latakia- Syria.**
***Professor - Atomic Energy Commission- Damascus –Syria. aalmariri@aec.org.sy**

عزل جراثيم *Pseudomonas putida* و*Bacillus subtilis* من تربة ملوثة بالديزل في محطة تعبئة وقود سلحب

رهف فهد إبراهيم [*]
د. أميمة ناصر [**]
د. أيمن المريري [***]

(تاريخ الإيداع 6 / 4 / 2026. قبل للنشر في 1 / 6 / 2026)

ملخّص

يعتبر النفط ومشتقاته من أكثر الملوثات البيئية في الوقت الحالي، ومن هذه المشتقات الديزل والذي يعد ملوثًا بيئيًا شائعًا .
عزل نوعين من الجراثيم من التربة الملوثة بالديزل في محطات تعبئة الوقود (سلحب)،تم تمييز العزلات الجرثومية بناءً على الخصائص المزرعية والشكلية على الأوساط التفريقية، وتنقيتها بطريقة التخطيط البسيط والمتعامد، وتلوينها بصبغة غرام، واعتماداً على بعض الخصائص البيوكيميائية. وذلك خلال فترة حضن استمرت (24–72) ساعة على درجة حرارة (37) درجة مئوية.
بينت النتائج عزل نوعين من الجراثيم العصوية (A_1) *Pseudomonas putida* سالبة صبغة الغرام، إيجابية الكاتالاز،الأوكسيداز ، اللاكتوز، سالبة للمالتوز، المانوز و السكروز ، (A_2) *Bacillus subtilis* إيجابية الغرام، إيجابية الكاتالاز، والغلوكوز، وسالبة الأوكسيداز،السكروز والمالتوز .

الكلمات المفتاحية: تربة ملوثة، ديزل، *Pseudomonas putida* ، *Bacillus subtilis*

حقوق النشر : مجلة جامعة اللاذقية (تشرين سابقاً)– سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب الترخيص CC BY–NC–SA 04

[*] **طالب دكتوراه – المعهد العالي لبحوث البيئة– جامعة اللاذقية (تشرين سابقاً) – اللاذقية–سوريا.**
[**] **أستاذ – المعهد العالي لبحوث البيئة– جامعة اللاذقية (تشرين سابقاً) – اللاذقية– سوريا.**
[***] **أستاذ– الهيئة العامة للطاقة الذرية السورية– دمشق– سوريا.**

مقدمة:

تعد مشكلة التلوث النفطي بمشتقاته المختلفة (الكيروسين، زيوت التشحيم ، زيت الوقود، الديزل و0000000) أحد أخطر المشكلات البيئية الحالية في معظم البلدان، لا سيمافي القرن الحادي والعشرين قد ازداد استخدام المنتجات النفطية، وخاصة لأغراض النقل والصناعات المختلفة، ويعد الديزل أحد المشتقات النفطية مصدراً رئيساً للتلوث في البيئة، وقد يصل إلى البيئة بطرائق مختلفة من خلال استخدامه في بعض المركبات والمولدات، وغيرها [1,2].

الديزل هو أحد نواتج التقطير المتوسطة الثقل من النفط الخام مفصولة بالتقطير الكسري، يستخدم هذا الزيت المكرر بشكل رئيس في وسائل النقل، كالسفن والقطارات والطائرات، إضافة لاستخدامه في العديد من مولدات االكهرباء. يظهر زيت الديزل في درجة حرارة الغرفة كسائل بني اللون قابل للاشتعال ولزج قليلاً ومتقلّب مع رائحة نفاذة مميزة مشابهة للكيروسين. تتراوح درجة غليانه بين (140–385) درجة مئوية حسب المواد المضافة. قد يضيف الموزعون مواد مضافة مختلفة مثل النترات العضوية والأمينات والفينولات والمواد البوليمرية. يمكن أن يختلف لون السائل أيضاً بسبب هذه الإضافات. والديزل ذات قابلية ذوبان منخفضة في الماء (0.5 ملغ لكل 100 مل). ويتكون الديزل بشكل رئيس من الهيدروكربونات التي تتراوح من(C8–C22 إلى جانب تراكيز مختلفة من الهيدروكربونات BTEX (benzene, toluene, ethylbenzene and xylene)، ويشمل ذلك الألكانات المتفرعة (البارافينات) ، السيكلوألكانات (النفثينات) ، الهيدروكربونات العطرية متعددة النوى (النفثالين) والألكينات (الأوليفينات) [3] .

للديزل تأثيرات على الخصائص الميكروبيولوجية والفيزيائية الكيميائية للتربة الملوثة، ويسبب تصلب أو تغيير نسيج التربة، مما يؤدي إلى انخفاض معدل نمو النبات بسبب عدم وجود تهوية كافية للتربة وانخفاض كمية الهواء في جزيئات التربة [4].

لقد ارتبطت الأمراض والأضرار التي لحقت بأجهزة الإنسان مثل الجهاز التنفسي والتناسلي، والدورة الدموية بالمنتجات البترولية، ومنها الديزل فقد يحدث التعرض المباشر للديزل أثناء إعادة تزويد السيارات بالوقود أو العمل في صناعة البترول أو الصيانة من قبل الميكانيكيين وعمال الإصلاح. وبالتالي تؤدي ملامسة الجلد للديزل إلى التهابه وخلل في وظيفة الرئتين والكبد الكلى والأمعاء والأعضاء الداخلية الأخرى،ويمكن أن يتسبب استنشاق بخار الديزل في حدوث دوار وغثيان وصداع، وقد يسبب الطفرات،العيوب الخلقية ،الاضطرابات العصبية والسرطان[5] .

ونظراً لخطورة زيت الديزل أبدى الباحثون والمهتمون بالبيئة على مستوى العالم اهتماماً متزايداً بدراسة إمكانية تخفيف الآثار السلبية الناتجة عنه من خلال اعتماد طرائق مختلفة في معالجته كيميائية، فيزيائية، حيوية لهذه الطرائق المشار إليها باسم "التكنولوجيا الخضراء" في تقنيات المعالجه للمواقع الملوثة بالهيدروكربون[6] .

وتم التوصل في العديد من الدراسات العالمية على العديد من الأجناس الجرثومية والتي تظهر القدرة على تحلل ركيزة الهيدروكربون، ففي دراسه لـ Mahalingam and Nithya في الهند عام 2014 تم عزل ثلاث سلالات بكتيرية من عينات تربة جُمعت من مواقع ملوثة بالديزل في ديناجول، تاميل نادو، وتم تحديدها على أنها Pseudomonas sp.، Bacillus sp. و Micrococcus sp. [7].

تم عزل أنواع جرثوميه من ترب ملوثه بالنفط و تعود لعدة أجناس واخرون في الصين عام 2024 **Chen** وفي دراسه لـ *Bacillus subtilis* و *Bacillus pumilus* التي تنتمي الى جنس Bacillus sp. ،

Acinetobacter venetianus ، *Acinetobacter baumannii* ، *Acinetobacter Albensis* التي تنتمي الى جنس *Acinetobacter* sp. [8].

وكما توصلت دراسات أخرى للعزلات الجرثومية*Pseudomonas putida* ، *Bacillus subtilis* من ترب ملوثه باليزل، ففي دراسة Bekele وأخرون في أثيوبيا عام 2022 تم تحديد 4 أجناس من البكتيريا المحللة للديزل وهي Achromobacter sp., Roseomonas sp., Pseudomonas sp. و. Bacillus sp. ومن بين الأنواع الجرثومية التي تم الكشف عنها النوعين الجرثوميين هما *Pseudomonas aeruginosa*، *Bacillus subtilis* [9] .

وتوصلت دراسة لـ Tirmizhi وأخرون في نيجيريا عام 2022 إلى عزل ثلاثة أنواع من البكتيريا من تربه ملوثه بالديزل وهي: *Bacillus subtilis* ، *Pseudomonas putida* ، *Pseudomonas aeruginosa* [10] .

أهمية البحث وأهدافه:

أهمية البحث:

أهمية بيئية: من خلال الحصول على عزلات جرثومية متكيفة مع الشروط البيئية المحلية.

هدف البحث:

- عزل جراثيم *Pseudomonas putida* (الزائفة البوتيدية) و *Bacillus subtilis* (العصوية الرقيقة) متكيفة مع المناخ المحلي من تربة ملوثة بالديزل .

طرائق البحث ومواده:

جمع عينات التربة:

جمعت عينات التربة بشكل مفرد من عدة مواقع في محطة تعبئة وقود (سلحب) في محافظة حماه من شهر شباط من العام (2022) حتى شهر حزيران من العام (2023)، وضعت العينات في أكياس من البولي إيتيلن، أخذت العينات من عمق (5-15) سم بوساطة أداة حادة معقمة ، ونقلت الى المختبر لعزل وتصنيف الجراثيم [11,12] فكان عدد العينات الكلي المأخوذة (3).

تحضير الأوساط العامة لتنمية الجراثيم:

حضر وسط المرق المغذي (Nutrient broth) ووسط الأغار المغذي (Nutrient agar) اعتماداً على تعليمات الشركة المصنعة.

تحضير محلول التربة:

تم تحضير عينة مركبة من العينات المفردة بخلطها بشكل جيد ثم أخذت عينة مركبة تمثل المنطقة ،ثم تم تجفيف العينة تجفيف هوائي، مزجت عينة التربة المدروسة بشكل جيد لتصبح متجانسة، وأخذ (10)g من التربة وحلت في بالون يحوي (90)مل ماء مقطر معقم ،مع مراعاة التحرك المستمر لمدة (15) دقيقة ، وأخذ منها بوساطة ماصة معقمه (1) مل إلى أنبوب يحتوي (90)مل ماء مقطر معقم وبذلك حصل على تخفيف (1\100)، ثم عمل تخفيف (1\1000) وهكذا، [13] .

زراعة الجراثيم وتفريقها:

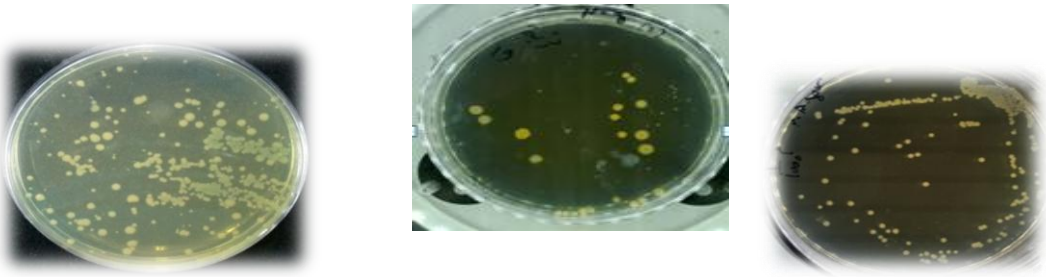
أخذت بعد تعقيمها عينة من التربة بتخفيف (1\100) ، زرعت في أطباق بتري عدد (3) تحوي الأغار المغذي، حضنت لمدة (24– 48) ساعة في الحاضنة بدرجة حرارة 37 درجة مئوية ،زرعت المستعمرات التي تعود لأجناس.Bacillus sp., Pseudomonas sp بعدها في أنابيب تحوي المرق المغذي وحضنت لمدة (24– 48) ساعة، زرعت العينات ضمن ظروف التعقيم على الأوساط التفريقية النوعية (Pseudomonas agar Bacillus Differentiation agar).

–وسط Pseudomonas agar : وسط زرع انتقائي تفريقي يستخدم لـ عزل وتشخيص بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* حيث يحتوي مادة السيتريميد التي تسمح بنمو*Pseudomonas aeruginosa* و تمنع نمو أنواع أخرى من الجراثيم و يتكون من (جيلاتين بنكرياسي – سيتريميد – كلوريد المغنزيوم – سلفات البوتاسيوم –الاغار– الغليسيرين).

–وسط Bacillus Differentiation agar : وسط زرع تفريقي يستخدم للتفرقة بين *Bacillus cereus*و *Bacillus subtilis*، بناءً على قدرتها على تخمير المانيتول و يتكون من (مانيتول – أحمر الفينول – خلاصه الخميرة – كبريتات المغنزيوم – كلوريد البوتاسيوم–فوسفات الامونيوم– أغار). حضنت لمدة (24– 48) ساعة ومن ثم درست الصفات العامة الجرثومية للمستعمرات (شكل المستعمرة ،لونها، حافتها، سطحها، الشفافية) والصفات الشكلية (شكل الخلايا ، صبغة غرام ، الحركة). والاختبارات البيوكيميائية المحددة للأجناس والأنواع ، وقد استخدمت تقانة صفيحة الاختبارات البيوكيميائية (الطاقة الذرية)[14,15].

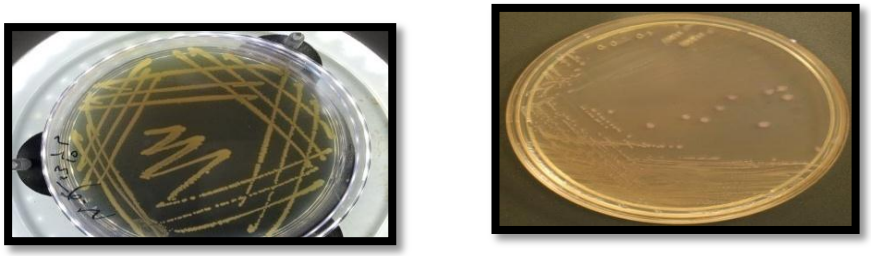
النتائج والمناقشة:

بينت النتائج ظهور أعداد كبيرة من الجراثيم بعد زراعة عينات التربة على الأوساط المغذية العامة والانتقائية، كما هو موضح في الشكل (1).



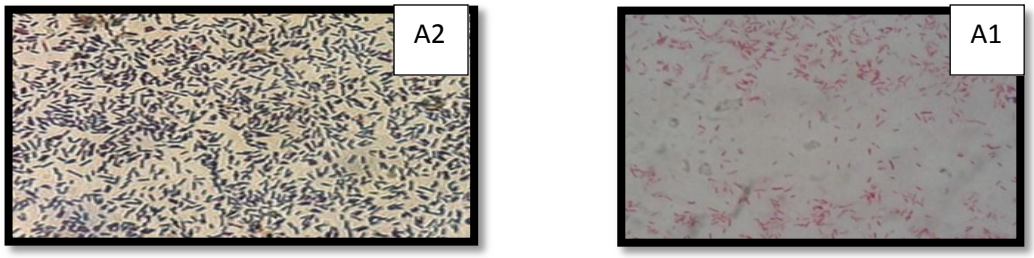
الشكل (1): المستعمرات الجرثومية النامية على وسط Nutrient agar

ثم زرعت الجراثيم ونميت للحصول على عزلات جرثومية نقية بطريقة التخطيط البسيط والمتعامد على الوسط المغذي Nutrient agarكما هو موضح في الشكل (2)



الشكل (2): المستعمرات الجرثومية النقية على وسط Nutrient agar

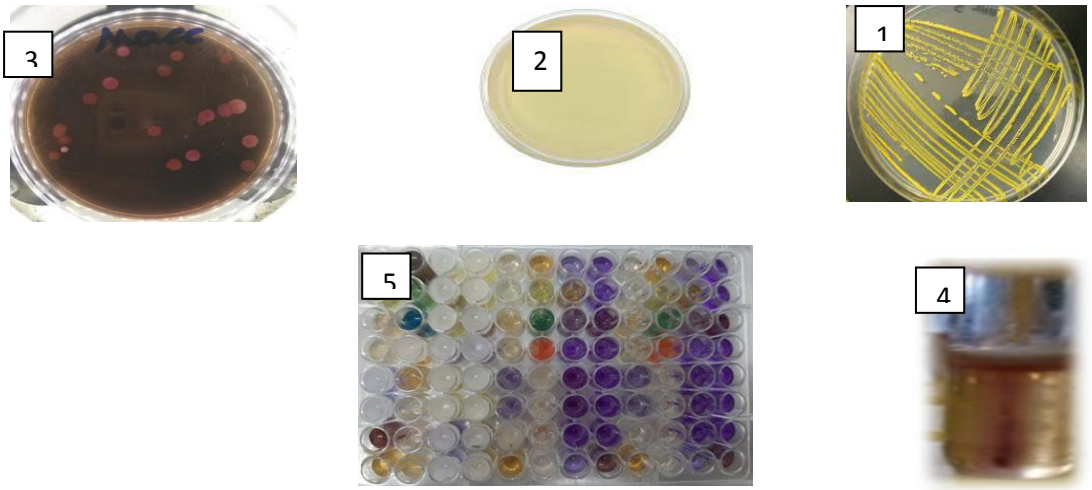
بدت العزلة الجرثومية A_1بالعدسة المجهرية الزيتية بشكل عصيات قصيرة سالبة الغرام، وبدت العزلة A_2 بشكل عصيات أيضاً لكن إيجابية الغرام، كما هو موضح في الشكل (3).



الشكل (3): العزلات الجرثومية بتلوين غرام

العزلة الجرثومية (A_1)

نمت العزلة الجرثومية (A_1)على وسط نترينت أغار بشكل مستعمرات بلون أصفر إلى بني، ونمت مستعمراتها بشكل كثيف وملمس ناعم وحواف كاملة دائرية الشكل محدبة قليلاً، لم يظهر نمو على وسط البسيدوموناس أغار، وكانت وردية اللون على وسط ماكونكيآغار،وأبدت نتائج إيجابية لبعض اللاختبارات البيوكيميائية مثل (الكاتالاز، الأوكسيداز، الغلوكوز، اللاكتوز)، وسلبية (السترات والأندول والنترات)، وهي جراثيم متحركة على وسط الحركة. الشكل (4)، الجدول (1).



الشكل (4) العزلة الجرثومية (A_1) على (1) الآغار المغذي (2) البسيدوموناس آغار (3) الماكونكيآغار (4) وسط الحركة (5)صفيحة الاختبارات البيوكيميائيةAPI

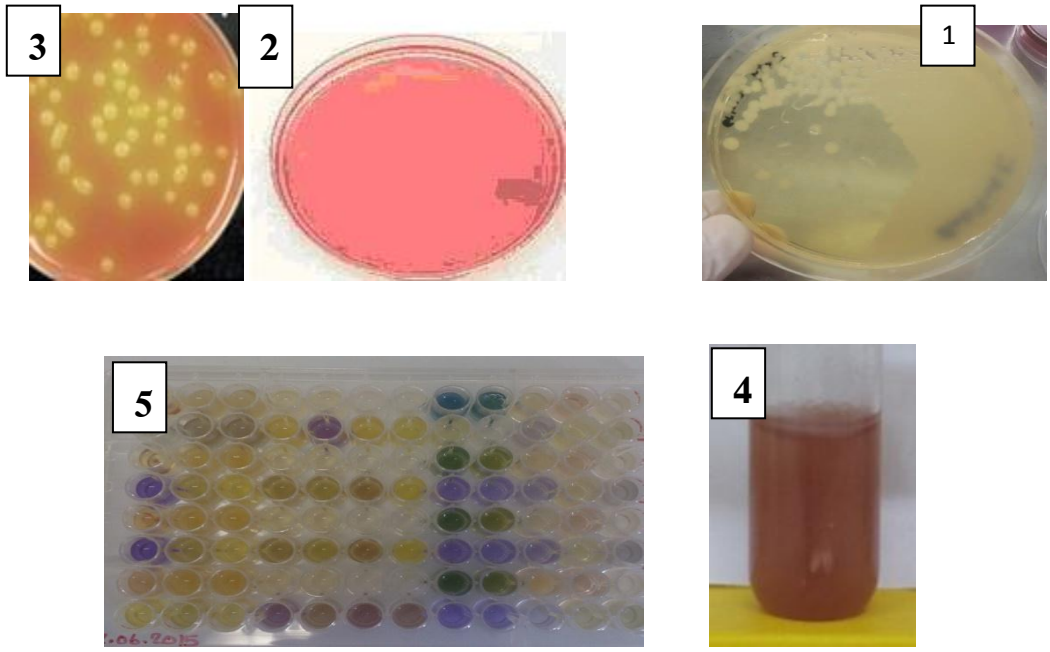
الجدول (1) الاختبارات البيوكيميائية للعزلة الجرثومية (A_1)

1	2	3	4	5	6
Motility	Catalase	Oxidase	Arginine	Ornithine	Nitrate
+	+	+	+	−	_
7	8	9	10	11	12
Mr	Vp	Indol	S_2H	Acetate	Citrate
−	−	−	−	+	_
13	14	15	16	17	18
Tartrate	Esculine	Gelatine	Urea	Phy−alan	Arabinose
−	−	+	−	−	+
19	20	21	22	23	24
Cellebios	Dulcitol	Glycerol	Glucose	Inositol	Lactose
−	−	−	+	−	+
25	26	27	28	29	30
Maltose	Mannitol	Mannos	Raffinose	Sorbitol	Sucrose
-	+	-	-	-	-

العزلة الجرثومية (A_2)

نمت العزلة الجرثومية (A_2) على وسط نترينت أغار بشكل مستعمرات باهتة بلون كريمي، دائرية الشكل حوافها متعرجة قوامها جاف، مسطحة، ولم يظهر أي نمو على وسط ماكونكيآغار، وظهرت صفراء اللون على وسط باسيللوس تفريق العصيات(Bacillus (Differentiation Agar، وأبدت نتائج إيجابية لبعض اللاختبارات البيوكيميائية مثل (الكاتالاز، النترات، السيترات، الغلوكوز)، وسلبية لبعض الاختبارات البيوكيميائية مثل (الأكسيدازواليوريا والمالتوز)،تم اجراء اختبار الحركة بتحضير وسط (Motility Test Medium)

و باستخدام إبرة تلقيح مستقيمة، تم أخذ مزرعة نقية من هذه العزلة الجرثومية ، ثم غرست الإبرة مباشرة في منتصف أنبوب الاختبار شبه الصلب، بعمق حوالي \(3/2\) الأنبوب، مع الحرص على إخراج الإبرة من نفس المسار الذي دخلت منه ثم حضن الأنبوب عند درجه حرارة 37 درجه مئوية لمده من 24−48 ساعة ،لوحظ بعد ذلك انتشار النمو البكتيري من خط التلقيح على كامل الأنبوب ،وبذلك تم التوصل إلى أن هذه الجراثيم متحركة على وسط الحركة، (5)، الجدول (2).



الشكل (2) العزلة الجرثومية (B) على (1) Nutrint agar (2) الماكونكيآغار (Bacillus Differentiation agar(3)
Gram API(6) (5) Motility agar(4)

الجدول (2) الاختبارات البيوكيميائية للعزلة الجرثومية (A_2)

1	2	3	4	5	6
Motility	Catalase	Oxidase	Arginine	Ornithine	Nitrate
+	+	–	–	–	+
7	8	9	10	11	12
Mr	Vp	Indol	S_2H	Acetate	Citrate
–	+	–	–	–	+
13	14	15	16	17	18
Tartrate	Esculine	Gelatine	Urea	Phy–alan	Arabinose
+	+	+	–	–	–
19	20	21	22	23	24
Cellebios	Dulcitol	Glycerol	Glucose	Inositol	Lactose
–	–	+	+	–	+
25	26	27	28	29	30
Maltose	Mannitol	Mannos	Raffinose	Sorbitol	Sucrose
–	+	–	–	–	–

ونتيجة دراسة الصفات الشكلية والمزرعية والاختبارات البيوكيميائية والتفريقية و إجراء تلوين غرام تبين أن العزلتين الجرثوميتين هما:العزلة الجرثومية الأولى (A_1) *Pseudomonas putida*، ، كما توافقت نتائج هذه الدراسة مع دراسة Sarkar وآخرون (2016) في الهند [16] .

ومع نتائج دراسة Saidu وآخرون (2019) في نيجيريا[18] ، ومع نتائج دراسة Khadijah (2021) في نيجيريا [20] .

والعزلة الجرثومية الثانية (A_2) *Bacillus subtilis*وقد توافقت نتائج هذه الدراسة مع دراسة Prado وآخرون (2014) في المكسيك[17]، ومع نتائج دراسة Limaa وآخرون (2020) [12] في البرازيل الذين عزلوا هذه الجراثيم من تربة ملوثة بالديزل ومع نتائج دراسة Faggo وآخرون (2020) [19].

الاستنتاجات والتوصيات:

- تم الحصول على عزلتين جرثوميتين من تربة ملوثة بالديزل هما الأولى: (A1) *Pseudomonasputida*، والثانية (A2) *Bacillussubtilis*.
- *نوصي* بمتابعة العمل البحثي على تشخيص عزلات جرثومية من ترب ملوثة بمشتقات نفطية مختلفة لتكون مرجع يمكن الاستفادة منة في دراسات مستقبلية.

References:

[1] S. Sukumar and P. Nirmala, "Screening of diesel oil degrading bacteria from petroleum hydrocarbon contaminated soil," *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences* , vol. 3, no. 8, pp. 18–22, 2016.

[2] N. Tasmin, Dissertation submitted in partial fulfilment of the requirements for the degree of Bachelor of Science in Biotechnology, BRAC University, Dhaka, Bangladesh, 2015.

[3] A. Olajire and J. Essien, "Aerobic degradation of petroleum components by microbial consortia," *J Pet Environ Biotechnol*, vol. 5, no. 8, pp. 3–22, 2014.

[4] S. K. Bhasheer, S. Umavathi, D. Banupriya, M. Thangavel, and Y. Thangam, " Diversity of diesel degrading bacteria from a hydrocarbon contaminated soil," *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* , vol. 3, no. 11, pp. 363–369, 2014.

[5] M. Ahmad, W. Sajjad, Z. Ur Rehman, M. Hayat, and I. Khan, " Identification and characterization of intrinsic petrophilic bacteria from oil contaminated soil and water," *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*,Volume. 4, Number 2, pp. 338-346 ,2015.

[6] N. Swissa, Y. Nitzan, Y. Anker, and R. Cahan, " Biofilter based on a biofilm immobilized on geo-textile sheets for rapid atrazine biodegradation," * International Biodeterioration& Biodegradation*, vol. 105, no. 6 , pp. 146–152, 2015.

[7] P. U. Mahalingam and S. Nithya, "Optimization of growth condition for diesel oil degrading bacterial strains," *j.Advances in Applied Science Research* , vol. 5, no. 6, pp. 91–96, 2014.

[8] W. Chen , J. Sun, R. Ji,J. Min,L. Wang,J. Zhang,H. Qiao, " Crude Oil Biodegradation by a Biosurfactant-Producing Bacterial Consortium in High-Salinity Soil",* Journal of marine Sciences and Engineering* , vol. 12, no. 2033, pp. 1–18, 2024.

[9] G. K.Bekele ,S. A. Gebrie ,E. Mekonen ,T. T. Fida ,A. A. Woldesemayat ,E. M. Abda ,M. Tafesse , F. Assefa," Isolation and Characterization of Diesel-Degrading Bacteria from Hydrocarbon-Contaminated Sites, Flower Farms, and Soda Lakes." * International Journal of Microbiology*, Vol. 2022, no.12 , pp.1-12,2022.

[10] M. Tirmizhi,A. A. Faggo,B. H. Gulumbe, "Species of Pseudomonas and Bacillus Isolated from Refined Oil- contaminated Soil Showed the Potential to Efficiently egrade Diesel ," * Journal of Biochemistry Microbiology and Biotechnology*, , vol .10, no.1, pp.72-75,2022.

[11] U. Syahriansyah and A. Hamzah, " Determination of optimum conditions and stability study of biosurfactant produced by Bacillus subtilis UKMP-4M5," *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, vol. 20, no. 5, pp. 986–1000, 2016.

[12] S. D. Lima, A.F .Oliveira, R. Golin, V.C.P Lopes, D.S. Caixeta, Z.M. Lima, E.B .Morais, " Isolation and characterization of hydrocarbon-degrading bacteria from contaminated groundwater in the Southern Amazon," *Brazilian Journal of Biology* , vol. 80, no. 2 pp.354-361,2020.

[13] M. Neill, A. Quinones, and L. Ackerman, Wastewater Sampling: Operating Procedure, U.S. Environmental Protection Agency, Athens, GA, USA, 2007.

[14] M. LalKuri and S. Roy, " Dominant petroleum hydrocarbon degrading bacteria in contaminated soil of Rajasthan, India," * International Journal of Recent Scientific Research*, vol. 8, no. 11, pp. 21801–21805, 2017.

[15] A. T. Laurel, L. Mudiaga, and O. F. Doris, " Bioremediation of diesel contaminated water using hydrocarbon degrading bacteria," *International Journal of Scientific Research in Science and Technology*, vol. 3, no. 1, pp. 352–360, 2017.

[16] D. Sarkar,G.paul,T.Murthy, p.Mimon," A Study on Molecular characterization of crude oil degrading bacteria under in vitro conditions," *International Journal of advances in pharmacy,biology and chemistry*, vol. 5, no. 1, pp. 1908–1912, 2016.

[17] M. A. Prado et al., " Aerobic degradation of diesel by Aspergillusterreus," Revista Mexicana de IngenieríaQuímica,*Revista Mexicana de IngenieríaQuímica*
vol. 15, no. 2, pp. 347–360, 2016.

Species of Pseudomonas and Bacillus Isolated from Refined Oil-contaminated Soil Showed the Potential to Efficiently Degrade Diesel
Species of Pseudomonas and Bacillus Isolated from Refined Oil-contaminated Soil Showed the Potential to Efficiently Degrade Diesel
Species of Pseudomonas and Bacillus Isolated from Refined Oil-contaminated Soil Showed the Potential to Efficiently Degrade Diesel
Species of Pseudomonas and Bacillus Isolated from Refined Oil-contaminated Soil Showed the Potential to Efficiently Degrade Diesel

[18] K. Saidu, J.B. Ameh, H.I. Atta," Diesel-Degrading Potential of Pseudomonas putida Isolated from Effluent of a Petroleum Refinery in Nigeria," * UMYU Journal of Microbiology Research*, Vol. 4 ,no. 2, pp. 105 – 112,2019.

[19] A.A . Faggo, , A.H. Kawo, B.H. . Gulumbe, U.J.J. Ijah, " assessment of crude oil degradation by mixed culture OF Bacillus subtilis and Pseudomonas aeruginosa at different concentrations", International Journal of Environment*, Vol.9, no.2,pp.33-50.2020.

[20] s. khadijah,"assessment of hydrocarbon-degrading potential of pseudomonas putida and bacillus megaterium isolated from petroleum refinery effluent " , Master's thesis, department of microbiology , ahmadu bello university, zaria, Nigeria,2021