

Стимуляция аборигенной аэробной микрофлоры для биоремедиации грунтов, загрязнённых нефтепродуктами

© 2021. И. В. Трусей^{1,2}, к. б. н., зав. лабораторией,
Ю. Л. Гуревич², д. ф.-м. н., г. н. с., В. П. Ладыгина², к. ф.-м. н., н. с.,
С. В. Фадеев³, гл. гидрогеолог,

¹Красноярский государственный педагогический
университет им. В. П. Астафьева,

660049, Россия, г. Красноярск, ул. Ады Лебедевой, д. 89,

²Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр
Сибирского отделения Российской Академии наук»,

660036, Россия, г. Красноярск, Академгородок, д. 50,

³ООО Минусинская гидрогеологическая партия,
662624, Россия, Красноярский край, Минусинский район,

с. Селиваниха, ул. Заречная, д. 3г,

e-mail: btchem@mail.ru

Анализировали численность психрофильных и мезофильных аэробных микроорганизмов (МО) в загрязнённых нефтепродуктами грунтах зоны аэрации и грунтовых водах при проведении восстановительных работ (биоремедиации). В результате обработки минеральными удобрениями в грунтах зоны аэрации численность МО увеличивалась на 1–2 порядка. Численность аммонифицирующих МО возросла до 10^7 КОЕ/г, углеводородокисляющих – до 10^6 КОЕ/г. В грунтовых водах численность психрофильных углеводородокисляющих МО увеличивалась с 10^4 до 10^7 КОЕ/мл, мезофильных – с 10^5 до 10^7 КОЕ/мл; аммонифицирующих – с 10^4 до 10^8 КОЕ/мл и 10^5 до 10^7 КОЕ/мл соответственно. Также при обработке увеличивались численность и разнообразие простейших. В грунтах зоны аэрации обнаруживались только жгутиконосцы р. *Bodo*, численность которых изменялась с 10–100 до 1000 особей/г; в грунтовых водах – с 10^2 – 10^3 до 10^4 особей/мл. В грунтовых водах в отдельных пробах встречались ресничные инфузории (Ciliata, р. *Uronema*), численность которых составляла 10 особей/мл. После обработки ресничные обнаруживались во всех образцах воды, численность возросла до 10^2 – 10^3 особей/мл, наряду с р. *Uronema* обнаруживались инфузории р. *Colpoda*. При биоремедиации изменялся химический состав (содержание аммонийного и нитратного азота и др.) и перманганатная окисляемость грунтовой воды, что свидетельствовало о разложении нефтепродуктов. В течение трёх лет концентрация нефтепродуктов в грунтовых водах снизилась с 120–500 до 1,5–10,0 мг/дм³.

Ключевые слова: биоремедиация, психрофильные микроорганизмы, зона аэрации, грунтовые воды, нефтепродукты, простейшие.

Stimulation of indigenous aerobic microflora for bioremediation of soils polluted with petroleum products

© 2021. I. V. Trusei^{1,2} ORCID: 0000-0003-4831-9101¹

Yu. L. Gurevich² ORCID: 0000-0003-0250-845X²

V. P. Ladygina² ORCID: 0000-0001-8520-080X²

S. V. Fadeev³ ORCID: 0000-0002-4238-9734³

¹Krasnoyarsk State Pedagogical University named after V. P. Astafiev,
89, Ady Lebedevoy St., Krasnoyarsk, Russia, 660049,

²Federal Research Center “Krasnoyarsk Science Centre of the Siberian Branch
of Russian Academy of Science”,

50, Akademgorodok, Krasnoyarsk, Russia, 660036,

³JSC Minusinskaya Hydrogeological Part,

3g, Zarechnaya St., Selivaniha,

Minusinsk District, Krasnoyarsk Territory, Russia, 662624,

e-mail: btchem@mail.ru

The numbers of hydrocarbon-oxidizing and ammonifying microorganisms (psychrophilic and mesophilic) in the soils of the aeration zone and groundwater polluted with petroleum products under application of mineral fertilizers were analyzed. In the soils of the aeration zone, the numbers of aerobic microorganisms increased by 1–2 orders of magnitude, ammonifying ones – up to 10^7 CFU/g, hydrocarbon oxidizing microorganisms – up to 10^6 CFU/g. In groundwater the numbers of psychrophilic hydrocarbon-oxidizing microorganisms increased from 10^4 to 10^7 CFU/mL, mesophilic ones from 10^5 to 10^7 CFU/mL; the numbers of ammonifying microorganisms increased from 10^4 to 10^8 and from 10^5 to 10^7 CFU/mL, respectively. The number and variety of protozoa also increased. In the soils only flagellates of Bodo genus were found, their numbers during processing changed from 10 – 10^2 to 10^3 cells/g; in groundwater from 10^2 – 10^3 to 10^4 cells/mL. The number of ciliata (Ciliata, *Uronema* genus) in groundwater changed from tens of cells per mL to 10^2 – 10^3 cells/mL. After treatment, ciliata were detected in all water samples, and in addition to *Uronema* genus ciliata of *Colpoda* genus were discovered. The biostimulation produced changes in the chemical composition of groundwater (ammonium, nitrate concentration et al.), permanganate oxidizability of water, that indicated the decomposition of petroleum products and the appearance of easily oxidizable organic substances in water. The concentration of petroleum products in groundwater over the course of 3 years has decreased from 120–500 to 1.5–10.0 mg/dm³.

Keywords: bioremediation, cold-adapted microorganisms, aeration zone, groundwater, petroleum products, protozoa.

В районе городов и промышленных объектов часто грунты и грунтовые воды загрязнены нефтью и нефтепродуктами [1–3]. Нередко на поверхности зеркала грунтовых вод наблюдаются линзы нефтепродуктов мощностью до нескольких метров [2, 4]. В связи с этим возникает задача рекультивации таких объектов. Аборигенная микрофлора почв, особенно загрязнённых, способна к деградации углеводородов нефти практически всех фракций [5]. В грунтах, для которых характерно ограниченное поступление кислорода, в деградации углеводородов принимают участие как аэробные, так и анаэробные микроорганизмы [6]. Естественный процесс восстановления загрязнённых нефтепродуктами грунтов продолжительный, например, за 13 лет деструкция сырой нефти в подземной среде составила 46% [7]. При экспоненциальном характере самоочищения, удаление 80 и 90% загрязнения произойдёт за 34 и 49 лет, соответственно. Заметим, что сырая нефть окисляется быстрее, чем её фракции (нефтепродукты). Очевидно, что стимулирование роста аборигенной микрофлоры загрязнённого грунта может существенно ускорить процесс очищения среды. Биоремедиация *in situ* считается малозатратным подходом к рекультивации нефтезагрязнённых объектов [8]. Его реализация существенно зависит от условий подземной среды, функциональных свойств аборигенной микрофлоры и возможности её стимулирования.

Цель настоящей работы – оценка численности психрофильных и мезофильных аэробных микроорганизмов в загрязнённых нефтепродуктами грунтах, а также изменения химических показателей грунтовых вод при проведении биоремедиационных мероприятий.

Объекты и методы исследования

Исследуемые грунты сложены из гравийно-галечных, супесчаных пород, на поверхности которых имеется техногенный слой (0,5 м). Уровень грунтовых вод изменяется в пределах 4–7 м, температура – +4–8 °С. Грунты загрязнены в результате утечки нефтепродуктов из хранилища ТЭЦ. Загрязняющие вещества – смесь мазута, дизельного топлива и технологических масел. Содержание нефтепродуктов в зоне насыщения (2001 г.) составляло 1,35–66,75 г/кг, на поверхности грунтовых вод наблюдалась линза мощностью 0,2–0,5 м. Биоремедиация включала внесение минеральных удобрений в грунты зоны аэрации (на поверхность грунта) и насыщения (в наблюдательные скважины) (табл. 1). Удобрения вносили с учётом расположения наблюдательных скважин относительно зоны загрязнения и направления движения грунтовых вод (рис.). На поверхность грунта вокруг скважины 159 вносили раствор минеральных удобрений, в радиусе 5–6 м. Общая площадь обработанной территории 200 м². Для исследования грунта южнее скважины 159 были пробурены две инженерно-геологические скважины глубиной 5 м, образцы грунтовой воды отбирали из наблюдательных скважин.

Численность аэробных микроорганизмов определяли методом посева в многослойный агар [9], простейших – методом предельных разведений. Аммонифицирующие микроорганизмы (АМ) выделяли на пептонном агаре, углеводородокисляющие (УОМ) – на минерально-солевой среде с нефтью [10]. Психрофильные микроорганизмы культивировали при температуре +5–10 °С, мезофильные – при +30–35 °С. Для выделения про-

Таблица 1 / Table 1

Схема внесения минеральных удобрений в грунты зоны аэрации и насыщения, загрязнённые нефтепродуктами / Scheme of mineral fertilizers application in the subsurface of aeration and saturation zones contaminated with petroleum products

Период Time	Вид обработки Processing type	Удобрения Fertilizers	Номер скважины / Доза, кг Well number / Dose, kg			
			159	237	238	239
Июнь–август 2005 г. June–August 2005	1	$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	4,0	–	–	–
		$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	4,0	–	–	–
	2	$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{NH}_4\text{NO}_3$	15,5	3,0	0,12	0,12
		$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	11,0	2,0	–	–
Сентябрь 2005 г. September 2005	2	MgSO_4	0,9	–	–	–
		$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{NH}_4\text{NO}_3$	6,0	–	–	–
		$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	4,5	–	–	–
Август–сентябрь 2006 г. August–September 2006	1	MgSO_4	0,9	–	–	–
		$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{NH}_4\text{NO}_3$	2,5	–	–	–
	2	$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	1,0	–	–	–
		$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{NH}_4\text{NO}_3$	3,75	–	3,75	–
		$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	1,5	–	1,5	–

Примечание: 1 – внесение на поверхность грунта, 2 – внесение в наблюдательные скважины, прочерк – не вносили.
Notes: 1 – application on the soil surface, 2 – application into inspection wells, “–” – not add.

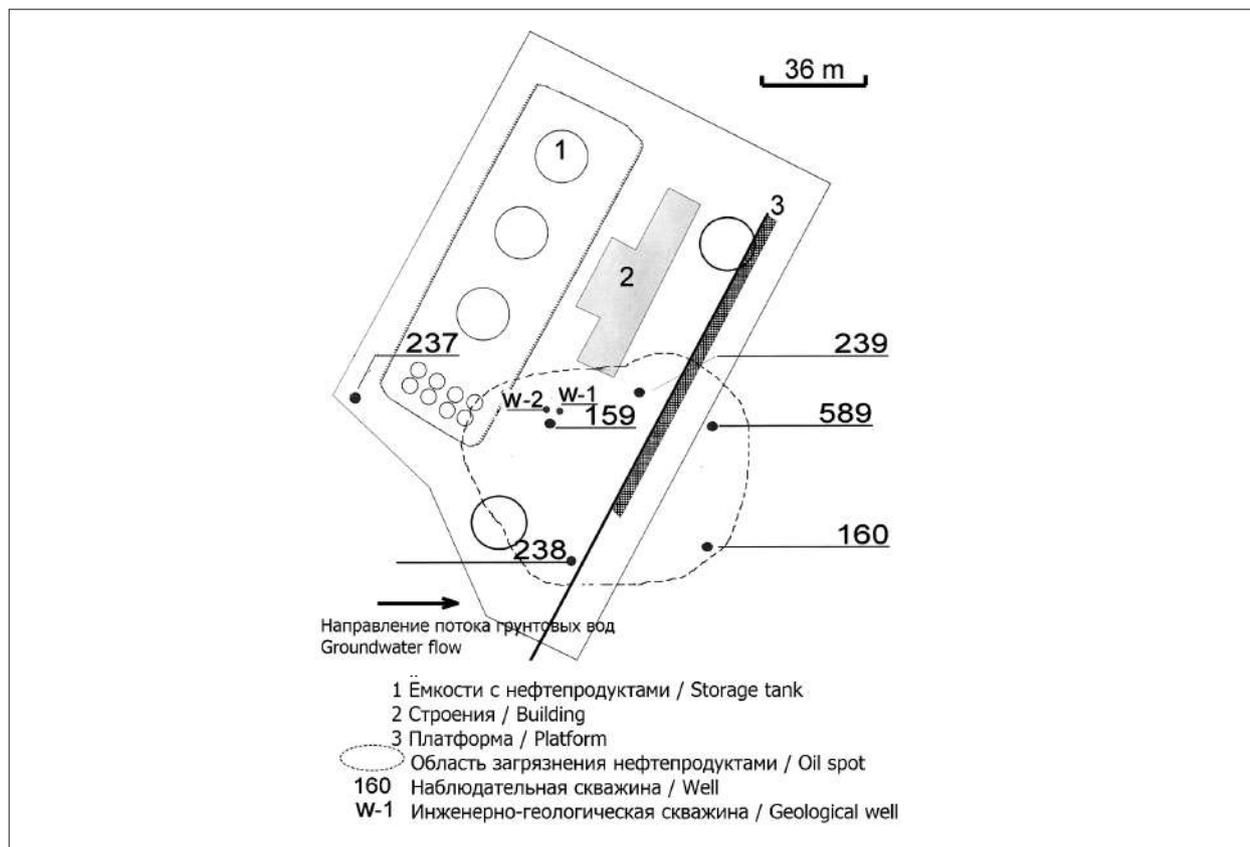


Рис. Расположение наблюдательных скважин на территории ТЭЦ
Fig. Location of observation wells on the territory of the heat and power plant

стейших использовали метод накопительного культивирования, идентификацию проводили по морфологическим признакам с применением светового микроскопа [11, 12]. Математическую обработку численности простейших проводили по таблице Мак-Креди ($P_{0,95}$) [13], бактерий – с использованием статистики Пуассона [9]. Химический анализ грунтовой воды проводили по стандартизированным методикам [4]. Содержание нефтепродуктов определяли флуориметрически (Флуорат-02-2М) [14].

Результаты и обсуждение

Анализ химического состава грунтов показал исчерпание фосфора (P_2O_5) в приповерхностном горизонте 0–0,2 м, что свидетельствует о более интенсивном росте микроорганизмов, в сравнении с нижним горизонтом, и окислении органических соединений, включая нефтепродукты (табл. 2). В грунтовых водах содержание фосфора снижалось при движении через загрязнённый грунт – 0,122; 0,074 и 0,042 мг/дм³ в скважинах 237, 159 и 239 соответственно, что также обусловлено потреблением фосфора микроорганизмами. Коэффициент парной корреляции между содержанием фосфора и показателями pH грунта составил $r = 0,89$. Калий (K_2O_5) присутствовал во всех образцах. Увеличение его концентрации в приповерхностном слое в среднем до 52,8 мг/кг в сравнении с горизонтом 0,4–0,6 м (32,8 мг/кг; ошибка измерения 1,0–2,6 мг/кг) вероятно, связано с выщелачиванием из грунта более активными здесь микроорганизмами.

Азот присутствовал в грунтах в аммонийной, нитратной и нитритной формах. Сред-

ние значения содержания нитратного азота, представленных в таблице 2, в поверхностном горизонте составляли 7,1 мг/кг и в нижнем – 3,7 мг/кг. То есть с глубиной происходило выраженное снижение на 2,0–6,8 мг/кг, которое многократно больше ошибки измерения (0,2–0,4 мг/кг). Такая динамика концентраций нитратов, вероятно, обусловлена увеличением активности денитрифицирующих микроорганизмов с глубиной. Также значительно изменялось содержание аммонийного азота, его средняя концентрация в поверхностном горизонте составляла 6,8 мг/кг, в нижнем – 8,3 мг/кг (погрешность измерения 0,3–0,4 мг/кг). Анализ химического состава грунтовых вод показал, что содержание аммонийной и нитратной форм азота изменяется в зависимости от удалённости от центра загрязнённой зоны. На периферии концентрация аммонийного азота составляла 0,07 мг/дм³, либо он не обнаруживался, а в центре очага – 1,7–5,1 мг/дм³. Нитратный азот в больших концентрациях 0,5–3,7 мг/дм³ определён на периферии, в центре – 0–2,5 мг/дм³. Накопление аммония в центре очага связано с биodeградацией азотсодержащих фракций нефтепродуктов, снижение его концентрации на периферии обусловлено более активной нитрификацией, для которой необходимо наличие кислорода [4].

Внесение удобрений положительно повлияло на численность микроорганизмов в грунтах и грунтовых водах, при этом более значительный отклик наблюдался у психрофилов. До обработки численность мезофильных УОМ и АМ была на порядок выше, чем психрофильных соответствующих экологотрофических групп ($p < 0,05$) (табл. 3). Однако после внесения удобрений численность

Таблица 2 / Table 2

Величина pH, содержание азота, фосфора и калия в грунтах, загрязнённых нефтепродуктами
pH and the Content of nitrogen, phosphorus, potassium of the petroleum products contaminated ground

№ образца Sample No.	№ скважины Well number	Горизонт, м Horizons, m	pH, ед. units	мг/кг / mg/kg			
				N-NH ₄	N-NO ₃	P ₂ O ₅	K ₂ O
1	237	0,0–0,2	8,2	10,0	11,0	0,0	93,0
2		0,4–0,6	9,6	7,5	8,5	14,0	53,0
3	159	0,0–0,2	8,4	5,0	7,8	0	32,0
4		0,4–0,6	9,1	7,5	1,0	10,0	23,0
5	589	0,0–0,2	8,6	6,0	8,0	0	50,0
6		0,4–0,6	8,5	6,0	6,0	0,0	26,0
7	238	0,0–0,2	8,4	8,0	5,5	0,0	60,0
8		0,4–0,6	9,5	11,5	2,0	14,0	37,0
9	240	0,0–0,2	8,5	5,0	3,0	0	29,0
10		0,4–0,6	8,6	9,0	1,0	10,0	25,0

Таблица 3 / Table 3

Численность бактерий и простейших в загрязнённых грунтах зоны аэрации
The number of microorganisms and protozoa in contaminated ground of aeration zone

Физиологические группы микроорганизмов Physiological groups of microorganisms	Период Time	Численность физиологических групп микроорганизмов (10^6 КОЕ/г) в разных горизонтах (м) / The number of microorganisms (10^6 CFU/g) in horizons (m)					
		0,2–1,0	1,0–1,2	1,9–2,3	2,9–3,2	3,9–4,2	4,9–5,1
Мезофильные АМ Mesophilic ammonifying	1*	7,3±0,4	1,04±0,15	1,12±0,16	1,76±0,19	1,90±0,61	2,4±0,22
	2**	38,3±18,5	–	4,22±1,92	7,21±0,52	3,08±0,31	18,7±10,6
Психрофильные АМ Psychrophilic Ammonifying	1	0,43±0,10	0,83±0,13	2,17±0,21	0,39±0,09	0,38±0,09	1,94±0,20
	2	2,64±0,86	–	3,85±1,86	13,7±1,13	3,29±1,13	4,15±1,84
Мезофильные УОМ Mesophilic hydrocarbon oxidizing	1	0,52±0,03	0,25±0,02	1,27±0,05	0,63±0,04	0,29±0,02	1,25±0,05
	2	2,26±1,02	–	3,09±1,46	2,47±0,37	1,47±0,59	2,37±0,42
Психрофильные УОМ Psychrophilic hydrocarbon oxidizing	1	0,13±0,02	0,14±0,02	0,64±0,04	0,22±0,02	0,18±0,02	0,20±0,02
	2	1,72±0,79	–	2,22±1,17	1,97±0,14	0,46±0,33	2,68±0,48
Zoomastigophorea (особей/г) / (cells/g)	1	10^1	10^1	10^1	10^1	10^2	10^1
	2	н.о.	–	10^1	10^2	н.о.	10^3

Примечание: 1* – до обработки, 2** – после обработки, н.о. – не обнаружено, прочерк – не определяли.
Notes: 1* – before treatment, 2** – after treatment, н.о. – nothing was observed, “–” numbers were not determined.

Таблица 4 / Table 4

Численность мезофильных и психрофильных бактерий в грунтовых водах скважины 159 ($\cdot 10^5$ КОЕ/мл) / The numbers of mesophilic and psychrophilic bacteria in the ground water of the well 159 ($\cdot 10^5$ CFU/mL)

Дата Date	Физиологические группы микроорганизмов / Physiological groups of microorganisms			
	мезофильные АМ mesophilic ammonifying	психрофильные АМ psychrophilic ammonifying	мезофильные УОМ mesophilic hydrocarbonoxidizing	психрофильные УОМ psychrophilic hydrocarbonoxidizing
23.6.05	1,45±0,05	0,74±0,05	1,26±0,21	0,60±0,32
30.8.05	13,90±0,40	13,00±1,60	9,66±4,55	1,07±0,86
23.9.05	380,00±22,00	6,68±5,70	31,60±18,00	3,18±2,90
1.10.05	20,50±6,50	8,08±2,73	6,20±2,60	0,78±0,55
23.5.06	1790,00±1040,00	886,00±443,00	231,00±140,00	71,60±44,00
31.10.06	208,00±133,00	2670,00±940,00	141,00±90,00	398,00±283,00

Примечание: АМ – аммонифицирующие микроорганизмы, УОМ – углеводородокисляющие микроорганизмы.

психрофильных АМ увеличилась на порядок ($p < 0,05$) и составила 10^6 – 10^7 КОЕ/г. Увеличение численности мезофильных АМ отмечалось только в верхнем горизонте и зоне насыщения. Численность мезофильных и психрофильных УОМ после внесения удобрений также увеличилась с 10^5 до 10^6 КОЕ/г ($p < 0,05$). При этом, наблюдалось увеличение доли психрофильных УОМ – на 13% ($p < 0,05$).

В грунтовых водах при внесении удобрений фиксировали большее увеличение численности микроорганизмов, при этом отклик психрофильных также был выше. Численность психрофильных УОМ увеличивалась с 10^4 до 10^7 , мезофильных – с 10^5 до 10^7 ; АМ – с 10^4 до 10^8 и 10^5 до 10^7 КОЕ/г соответственно

(табл. 4). Динамика численности психрофильных АМ и УОМ отличалась от мезофильных. Мезофильные микроорганизмы реагировали только на первое внесение удобрений, психрофильные – на каждое, и их численность достигала больших значений.

Для нарушенных сред характерно снижение численности и разнообразия простейших, регулирующих численность и структуру бактериальных сообществ [11]. На начало исследования в грунтах обнаруживались только жгутиконосцы р. *Bodo* (Zoomastigophorea), их численность изменялась в пределах 10 – 10^2 особей/г (табл. 3). В грунтовых водах численность р. *Bodo* была выше – 10^2 – 10^3 особей/мл. Наибольшая численность жгутико-

носцев фиксировалась в скважине 237, здесь же обнаруживались ресничные инфузории р. *Uronema* (Ciliata), их численность составляла 35 особей/мл. После внесения биогенных элементов в грунтах зоны аэрации численность жгутиконосцев изменилась: отмечались единичные особи в верхних горизонтах и 10^3 особей/г в нижних. В грунтовых водах численность жгутиконосцев увеличилась до 10^2 – 10^4 особей/мл. Вместе с этим возросла численность ресничных (Ciliata) до 10^2 – 10^3 особей/мл, которые обнаруживались в образцах воды из всех скважин. Также помимо р. *Uronema* появились инфузории р. *Colpoda*. Увеличение численности и разнообразия простейших обусловлено появлением в воде питательного субстрата, т. е. увеличением численности бактерий и содержания в воде легко окисляемых органических веществ, появившихся в результате биodeградации нефтепродуктов.

Стимуляция аборигенных микроорганизмов посредством удобрений способствовала интенсификации биodeградации. В течение трёх лет наблюдалось снижение концентрации нефтепродуктов в грунтовых водах на всём проблемном участке с 120–500 до 1,5–10,0 мг/дм³ [4]. В последующий период (2009–2019 гг.) работа по восстановлению геологической среды на территории ТЭЦ продолжилась. По наблюдениям 2018 г., только в отдельных скважинах на поверхности грунтовых вод в весенний период наблюдался слой нефтепродуктов мощностью не более 0,07 м, в остальных содержание нефтепродуктов соответствует фоновому. В особо загрязнённых наблюдательных скважинах (159 и 239) восстановилась фильтрация грунтовых вод, которая изначально отсутствовала.

Одновременно с увеличением численности и разнообразия микроорганизмов изменялись гидрохимические показатели грунтовых вод. Через 3–4 месяца после внесения удобрений наблюдалось увеличение содержания ионов аммония в очаге загрязнения до 50 мг/мл³ (скважина 159) и выше [4]. В дальнейшем отмечали последовательное увеличение концентрации аммония и в других скважинах. Появление аммония обусловлено биоразложением азотсодержащих нефтепродуктов. Повышенная концентрация ионов аммония наблюдалась только в пределах загрязнённой зоны. Восстановление концентрации аммония в грунтовой воде скважины 159 до фонового уровня происходило в течение 6–12 месяцев. Помимо этого, увеличивалась перманганатная окисляемость грунтовой воды, характери-

зующая содержание в воде легко окисляемых органических веществ, с 0,11–6,00 до 1,60–11,68 мгО₂/дм³. Это также служит свидетельством биоокисления нефтепродуктов. Высокие значения перманганатной окисляемости сохраняются до 10–12 лет.

В целом, достаточно простые биоремедиационные мероприятия по стимуляции аборигенной микрофлоры повышают интенсивность восстановления нефтезагрязнённой геологической среды. Содержание нефтепродуктов в течение 3-х лет снизилось более чем в 50 раз. Численность исследуемых аэробных групп бактерий увеличилась на 2–4 порядка. Численность АМ и УОМ в грунтах зоны аэрации достигала 10^7 и 10^6 КОЕ/г, в грунтовых водах 10^7 – 10^8 и 10^7 КОЕ/мл соответственно. При этом отклик психрофильных микроорганизмов на стимуляцию был выше, чем мезофильных. То есть именно им принадлежит ключевая роль в биоремедиации исследуемой геологической среды. Простейшие представляют следующий трофический уровень в микробоценозе и являются лимитирующим звеном в сложной цепи превращений углеводов. Установлено, что при биостимуляции их численность возрастает на 1–2 порядка и увеличивается разнообразие. Биорекультивация грунтов сопровождается изменением гидрохимических показателей грунтовых вод. В частности, в очаге загрязнения содержание ионов аммония и перманганатная окисляемость при разложении нефтепродуктов превышают ПДК. Это вторичное загрязнение грунтовых вод, которое возникает при биорекультивации, носит временный характер.

References

1. Ognyanik N.S., Paramonova N.K., Briks A.L., Pashkovsky I.S., Konnov D.V. The investigation basics of the light oil product pollution of the geological environment Kiev: A.P.N., 2006. 278 p. (in Russian).
2. Makushin Yu.V., Plevako G.L., Vaskina V.N., Lankin Yu.K. Assessment of groundwater pollution in the Siberian Federal District with oil products // *Razvedka i okhrana nedr.* 2007. No. 7. P. 45–48 (in Russian).
3. Shchuklina L.M., Batrakova G.M., Nurislamova T.N. Study of migration and transformation of greasing and cooling fluids in the soil of urbanized area // *Theoretical and Applied Ecology.* 2018. No. 4. P. 76–84 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2018-4-076-084
4. Trusey I.V., Gurevich Yu.L., Ladygina V.P., Lankin Yu.P., Fadeyev S.V. Analysis of the content of nitrate and ammonium ions at bioremediation of ground water polluted by oil products // *Chemistry for Sustainable De-*

velopment. 2017. V. 25. No. 2. P. 199–205. doi: 10.15372/KhUR20170212

5. Ovsyannikova V.S., Filatov D.A., Altunina L.K., Svarovskaya L.I. Biodestruction of hydrocarbons of highly viscous petroleum with soil microorganisms // *Chemistry for Sustainable Development*. 2014. No. 5. P. 489–495 (in Russian).

6. Brown L.D., Collogi D.L., Gee K.F., Urlich A.C. Bioremediation of oil spills on land // *Oil spill science and technology (Second edition)* / Ed. M. Fingas. Edmonton, AB, Canada: Spill Science, 2017. P. 699–729. doi: 10.1016/B978-0-12-809413-6.00012-6

7. Delin G.N., Essaid H.I., Cozzarelli I.M., Lahvis M.H., Bekins B.A. Ground water contamination by crude oil near Bemidji, Minnesota // *U.S. Geological Survey, Fact*. 1998. September. P. 84–98. doi: 10.3133/fs08498

8. Baker K.H., Herson D.S. In situ bioremediation of contaminated aquifers and subsurface soils // *Geomicrobiology Journal*. 1990. V. 8. No. 3–4. P. 133–146. doi: 10.1080/01490459009377891

9. *Manual of methods for general bacteriology* / Eds. F. Gerhardt, R.G. Murray, R.N. Costilow, E.W. Nester, W.A. Wood, N.R. Krieg G.B. Phillips. Washington, D.C.: American Society for Microbiology, 1981. 524 p.

10. Trusei I.V., Ladygina V.P., Gurevich Yu.L., Ozerskii A.Yu. Distribution of microorganisms in the oil-polluted ground of vadose and saturation zones // *Contemporary Problems of Ecology*. 2009. V. 2. No. 1. P. 22–26 (in Russian). doi: 10.1134/S1995425509010044

11. Hausmann K. *Protozoologie*. New York: Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1985. 340 p.

12. *Fauna of aerotanks (atlas)*. Leningrad: Nauka, 1984. 264 p. (in Russian).

13. *Workshop on Microbiology* / Ed. A.I. Netrusov. Moskva: Akademiya, 2005. 600 p. (in Russian).

14. *Methodical guidelines on the detection, examination, certification and assessment of the ecological hazard area of the geological environment contamination with oil products*. Moskva: GIDEK, 2002. 86 p. (in Russian).