

**ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ МИКРОБНОГО РАЗРУШЕНИЯ
НЕФТЯНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ И ОПЫТ МОНИТОРИНГА
РАСПРОСТРАНЕНИЯ НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИХ
МИКРООРГАНИЗМОВ В ЮГО-ВОСТОЧНЫХ ЧАСТЯХ
БАЛТИЙСКОГО И КАРСКОГО МОРЕЙ**

Т.А. Щука^{1,3)}, *Ю.Л. Володкович*^{2,3)}

¹⁾ Институт океанологии им. П.П. Ширшова РАН,
Россия, 117997, г. Москва, Нахимовский проспект д. 36, t_pike@mail.ru.

²⁾ Институт географии РАН,
Россия, 109017, г. Москва, Старомонетный пер., д. 29.

³⁾ Институт глобального климата и экологии Росгидромета и РАН,
Россия, 107258, г. Москва, ул. Глебовская, д. 20б.

Реферат. Для оценки нефтяного загрязнения в прибрежных водах Балтийского и Карского морей определено содержание нефтеокисляющих микроорганизмов. Получена экспериментальная оценка биодegradационного потенциала бактериопланктона. Средние значения наиболее вероятной численности нефтеокисляющих микроорганизмов в юго-восточной части Балтийского моря составили: в зимний период – $10 \cdot 10^2$ кл./мл; в весенний период – $10 \cdot 10^3$ кл./мл; в летний и осенний периоды – $10 \cdot 10^4$ кл./мл. Показано, что в Балтийском море в летний период резкое увеличение частоты регистраций нефтеокисляющих микроорганизмов с высокой численностью 10^4 – 10^5 кл./мл может быть вызвано продолжительным повышением средней температуры поверхностных вод до 23°C. В составе бактериопланктона Карского моря выявлено присутствие нефтеокисляющих микроорганизмов с уровнем численности до 10^2 кл./мл. Повышенный уровень активности бактериопланктона по биодegradации нефти был более выражен в устьевой зоне Енисейского залива. Относительно высокие уровни биодegradационного потенциала бактериопланктона (6-11%) были определены к северовостоку от о-ва Новая Земля.

Ключевые слова: нефтеокисляющие микроорганизмы, биодegradационный потенциал, Карское море, Балтийское море, нефтяное загрязнение.

Аббревиатуры: нефтеокисляющие микроорганизмы – НМ, биодegradационный потенциал – БП, нефтяные углеводороды – НУ, загрязняющие вещества – ЗВ, наиболее вероятная численность – НВЧ, научно-исследовательское судно – НИС, МРТК – малый рыболовный траулер с кормовым тралением.

**A STUDY OF MICROBIAL DEGRADATION PROCESSES
IN OIL POLLUTION AND THE EXPERIENCE OF SPREAD
MONITORING FOR OIL-OXIDIZING MICROORGANISMS
IN SOUTH-EASTERN PARTS OF THE BALTIC SEA
AND THE KARA SEA**

T.A. Shchuka^{1,3)}, *Yu.L. Volodkovich*^{2,3)}

¹⁾ P.P. Shirshov Institute of Oceanology of RAS,
36, Nakhimovsky prospect, 117997, Moscow, Russia, t_pike@mail.ru.

²⁾ Institute of Geography of RAS,
29, Staromonetny lane, 109017, Moscow, Russia.

³⁾ Institute of Global Climate and Ecology of Roshydromet and RAS,
20B, Glebovskaya str., 107258, Moscow, Russia.

Summary. Density of oil-oxidizing microorganisms is measured for the assessment of oil pollution in the coastal waters of the Baltic Sea and the Kara Sea. Experimental estimation of the biodegradation potential of bacterial plankton is obtained. Mean values of the most probable number of oil-oxidizing microorganisms in the south-eastern part of the Baltic Sea are as follows: $10 \cdot 10^2$ cells/ml in winter; $10 \cdot 10^3$ cells/ml in spring; $10 \cdot 10^4$ cells/ml in summer and autumn. It is shown that a sharp increase in frequency of high density records for oil-oxidizing microorganisms (10^4 – 10^5 cells/ml) in summer may be caused by a long-term increase in the mean temperature of surface water (up to 23°C). The presence of oil-oxidizing bacteria at a level of 10^2 cells/ml is detected for the Kara Sea bacterioplankton. Elevated level of biodegradation activity in bacterial plankton is more pronounced in the mouth of the Yenisei Gulf. Relatively high levels of biodegradation potential (6-11%) are found in bacterial plankton to the North-East from the Novaya Zemlya.

Keywords: oil-oxidizing microorganisms, biodegradation potential, Kara Sea, Baltic Sea, oil pollution.

Введение

Современное промышленное освоение морских акваторий, связанное, в первую очередь, с нефтедобычей и транспортировкой нефти, представляет опасность для морских экосистем, нарушая их естественные биогеохимические процессы. Объёмы этой антропогенной нагрузки существенны. Начиная с 1970 г., в океаны было аварийно разлито около 5,6 млн т нефти (ITOPF, 2006), а количество антропогенных углеводородов, поступающих из всех источников, составляло 1,3 млн. т ежегодно (Немировская, 2008). Нефтяное загрязнение наиболее опасно для северных морей, поскольку низ-

кие температуры окружающей среды способствуют замедлению процессов деградации нефти и накоплению нефтяных углеводородов в морских организмах (АМАР, 2007; Немировская, 2004).

Хроническое загрязнение нефтяными углеводородами морских акваторий привело к тому, что морские микроорганизмы, обладающие хорошей адаптацией и многообразием физиологических свойств, приспособились к их присутствию и приобрели способность разрушать и утилизировать эти загрязняющие вещества. Такие высокочувствительные организмы относят к индикаторам нефтяного загрязнения (Цыбань и др., 1990; Израэль и др., 2005). В силу особенностей своего генетического аппарата и ферментативных систем, а также интенсивности метаболизма бактерии высоко активны и скорее реагируют на загрязнение окружающей среды, чем высокоорганизованные организмы (Израэль, Цыбань, 2009; Ильинский, Семененко, 2000).

Большинство нефтеокисляющих микроорганизмов вырабатывают поверхностно-активные вещества или эмульгаторы, которые инициируют разрушение различных нефтяных компонентов (Abraham et al., 1998). В настоящее время в различных морях выделен целый ряд бактерий, разрушающих нефтяные углеводороды на разных этапах, среди них такие группы, как *Cyanobacteria*, *Alphaproteobacteria*, *Flavobacteria*; кроме того, способность к разложению нефти определена у некоторых простейших (Daisuke et al., 2008). В зависимости от особенностей морских экосистем родовой состав нефтеокисляющих групп бактерий может существенно различаться (Коронелли и др., 1994). Показано также, что число видов бактерий, разрушающих нефть, растёт по мере усиления нефтяного загрязнения (Рубцова, Егоров, 2004; Бузолева и др., 2008). Некоторые исследователи относят важнейшую роль в биодеградации нефтяного загрязнения цианобактериям (Raghukumar et al., 2001; Abed et al., 2002), что особенно актуально при исследовании экосистем Балтийского моря, подверженным разрушительным воздействиям «цветений» сине-зеленых микроводорослей.

В нашей работе под нефтеокисляющими микроорганизмами (НМ) принимается совокупность микроорганизмов, использующих нефтяные углеводороды в качестве источника углерода и энергии, эффектом активности которых является разрушение нефтяных углеводородов (НУ).

Анализ численности НМ дает представление о локализации и интенсивности процессов микробного разрушения нефти и используется для индикации нефтяного загрязнения. Численность НМ предложено использовать для индикации и картирования загрязненности морской воды нефтью в конце XIX – начале XX вв. (Мионов, 1971; Мионов, 1972; Цыбань, 1976). Степень активности НМ является важным показателем биологической индикации состояния загрязнения морской среды. Высокий уровень биоразрушения

нефти может свидетельствовать как о загрязнении контролируемой акватории в настоящее время, так и о предшествующих условиях распространения нефтяных НУ, включая возможные поступления нефти в аварийных ситуациях или хроническое загрязнение, вызвавших формирование высокоактивных специфических (индикаторных) популяций НМ (Цыбань, Симонов, 1978; Израэль, Цыбань, 2009). Например, аварийный разлив нефти у о. Сахалин длительное время сопровождался увеличением численности НМ на один-два порядка (Бузолева и др., 2008).

Биодеградационный потенциал (БП) – термин предложенный авторами, характеризует способность локальных популяций бактериопланктона трансформировать максимально возможное количество НУ за определенный период времени.

Целью наших исследований было:

- изучение распространения, численности и БП НМ в прибрежной юго-восточной части Балтийского моря в сезоны с разными температурными режимами и оценка динамики численности этих организмов на основе многолетних данных;
- оценка распространения, численности и активности биотрансформации НУ НМ в прибрежной юго-восточной части Карского моря.

Материал и методы

Микробиологические исследования проводились 3-4 раза в год с мая 2003 г. по июль 2014 г. по программе производственного экологического мониторинга ООО «ЛУКОЙЛ-Калининградморнефть» в районе Кравцовского нефтяного месторождения в юго-восточной части Балтийского моря на борту НИС «Профессор Штокман», «Шельф», МРТК и малых плавсредств. Район мониторинга представлен на рис. 1. Пробы воды отбирали на горизонтах от 0 до 110 м 5-ти литровыми пластмассовыми батометрами Нискина в стерильные темные склянки. Для определения численности НМ был использован метод предельных разведений (Методические основы..., 1988). При использовании метода предельных разведений принимают, что начало бактериального роста в инокулированных пробирках наблюдается, если при засеве в пробирку попадает хотя бы одна активно размножающаяся бактериальная клетка. В качестве элективной среды для роста НМ использовали жидкую минеральную среду: на 1 л балтийской морской воды – 1 г K_2HPO_4 и 1 г NH_4Cl . Среду разливали в пробирки по 5 мл и стерилизовали 25 мин в автоклаве при давлении 1 атм. Стерильную сырую нефть из месторождения Калининградской области по 0,02 мл добавляли в пробирки после посева. Инкубацию проводили при комнатной температуре. Начало эмульгирования нефти отмечалось на 5-9 сутки

от времени посева. Нефтяное биоразрушение микроорганизмами регистрировали визуальным методом. (ZoBell, 1973).

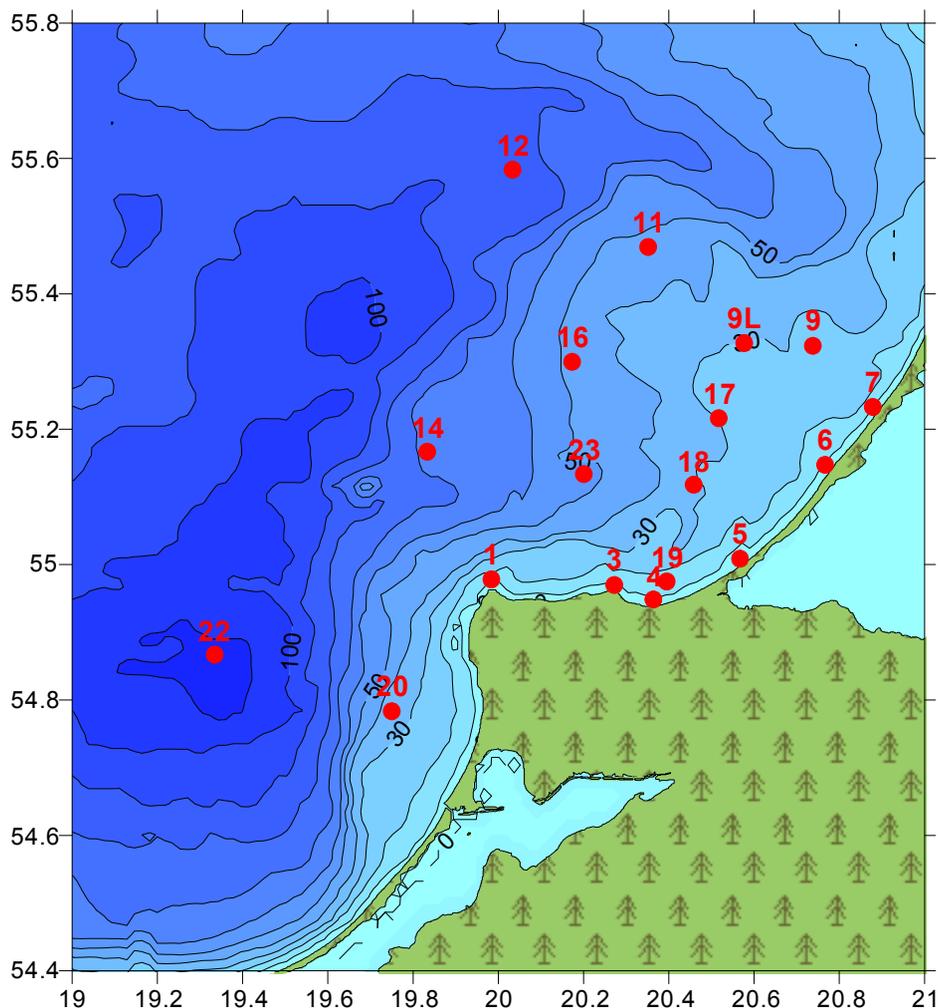


Рисунок 1 – Расположение станций экологического мониторинга ООО «ЛУКОЙЛ-Калининградморнефть» в юго-восточной части Балтийского моря в 2003-2014 гг. Нефтяная платформа находится в точке 9L.

Экспериментальное определение БП природных популяций бактериопланктона по трансформации НУ выполняли в условиях – «in situ». В основу метода определения потенциальной физиологической активности природных популяций морского бактериопланктона по трансформации соединений ряда НУ положена оценка изменения содержания вносимого субстрата (НУ) в замкнутом объеме пробы морской воды, помещенном в условия, максимально приближенные к естественным.

Количество НУ, разрушенных или трансформированных морскими бактериями, определяли по данным масс-анализа (РД

52.44.590-97; Немировская, и др., 1997) по разности между концентрациями (массой) НУ, введенными в среду в начале опыта и его финальной концентрацией в среде с природным сообществом бактериопланктона после экспозиции 7-10 суток. В качестве загрязняющего вещества (ЗВ) стерильно вносили сырую нефть – 1 г/л, что превышало реальное содержание ЗВ в морских водах и культивировали пробы в течение 7 – 10 суток. При расчетах учитывали, что при среднем значении плотности сырой нефти 0,82 г/мл, ее масса, равная 1 г, содержится в 1,22 мл нефти.

Интерпретацию результатов проводили по отношению к контрольному образцу, не содержащему микроорганизмов. Потери в контрольных пробах на фоновую элиминацию НУ в конце экспериментов принимались 0,5-1,5%. Статистическая обработка данных по остаточной массе ЗВ в пробе и в контроле включала в себя оценку результатов эксперимента и анализ разбросов ошибки от средней величины.

Полученные экспериментальные значения (выраженные в массе-величине или в %-ном значении разрушения НУ) выражают потенциально возможный в природных условиях уровень микробной трансформации ЗВ в той или иной обследованной акватории, или ее БП, который в целом формируется численностью НМ (Миронов, 1972; Цыбань, 1976) и активностью их ферментативных систем.

Использованная методика содержала обобщенный опыт (Перетрухина и др., 2006), в том числе и опыт наших многолетних работ в акваториях Тихого океана, Балтийского, Берингова и Чукотского морей РФ (Володкович, Беляева, 1992).

Результаты и обсуждение

Распространение и наиболее вероятная численность нефтеокисляющих микроорганизмов в прибрежных водах Балтийского моря

Исследования, выполненные в **зимний период**, показали, что уровень развития микроорганизмов, способных окислять нефть, был относительно невысоким. В среднем наиболее вероятная численность (НВЧ) этой физиологической группы колебалась в пределах от 10 до 10^2 кл./мл (рис. 2, 3).

В зимние сезоны 2004-2008 гг. картина горизонтального и вертикального распределения этой группы микроорганизмов менялась. В марте 2004 г. НМ на большинстве станций либо не обнаруживали, либо их НВЧ не превышала 10 кл./мл. Исключение составили придонные горизонты глубоководных станций с численностью 10^3 кл./мл. В 2005 г. наблюдалась сходная картина, однако было зарегистрировано повышенное содержание НМ – до 10^3 кл./мл в поверхностном слое глубоководных станций.

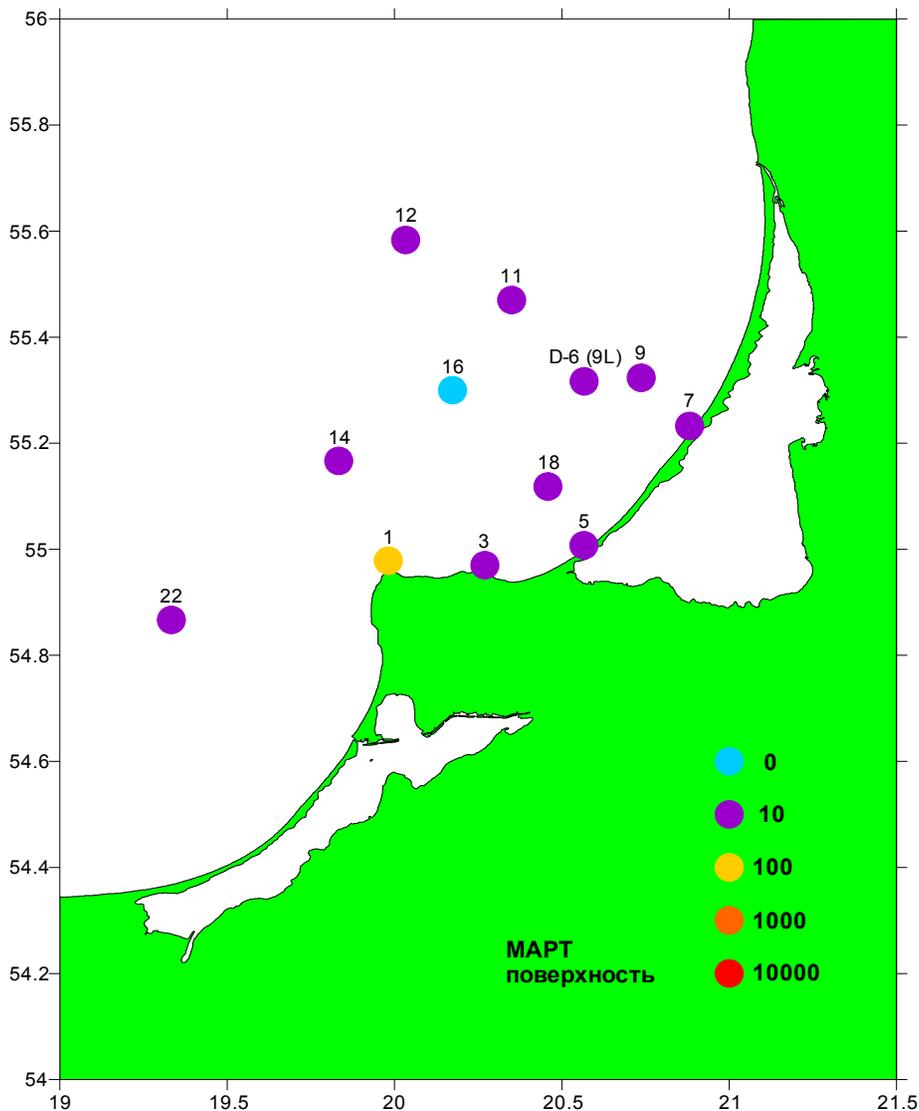


Рисунок 2 – Средние значения НВЧ НМ, кл./мл, на поверхностных горизонтах станций мониторинга в марте 2004-2008 гг.

В марте 2006 г. НМ встречались уже повсеместно, однако в среднем их численность также составляла 10 до 10^2 кл./мл. При этом существенно увеличилась область распространения этой физиологической группы с плотностью 10^2 кл./мл. Наиболее высокие НВЧ НМ – 10^3 кл./мл были определены в придонных слоях глубоководных станций. В то же время, отмечено снижение НВЧ этой группы на прибрежных станциях 1 и 3.

В 2007 г. расширение области распространения НМ с НВЧ 10^2 кл./мл захватило и прибрежные станции 1, 3 и 7, при этом устойчиво

высокие уровни НВЧ этой группы (10^3 кл./мл) сохранялись в глубоководных районах. В 2008 г. НВЧ НМ несколько снизилась на мелководных станциях и существенно – на глубоководных. В то же время, в центральной части района (ст. 16 и 14) их численность возросла до 10^3 кл./мл. Как и в 2005-2007 гг., максимальная НВЧ НМ была определена в поверхностных и придонных слоях в глубоководном юго-западном районе Гданьского бассейна (ст. 22). Известно, что устойчивое высокое содержание нефтепродуктов в этих придонных водах связано со свойством тонкодисперсных илов Гданьской впадины накапливать загрязняющие вещества, основным источником которых является судоходство (Немировская, 2004).

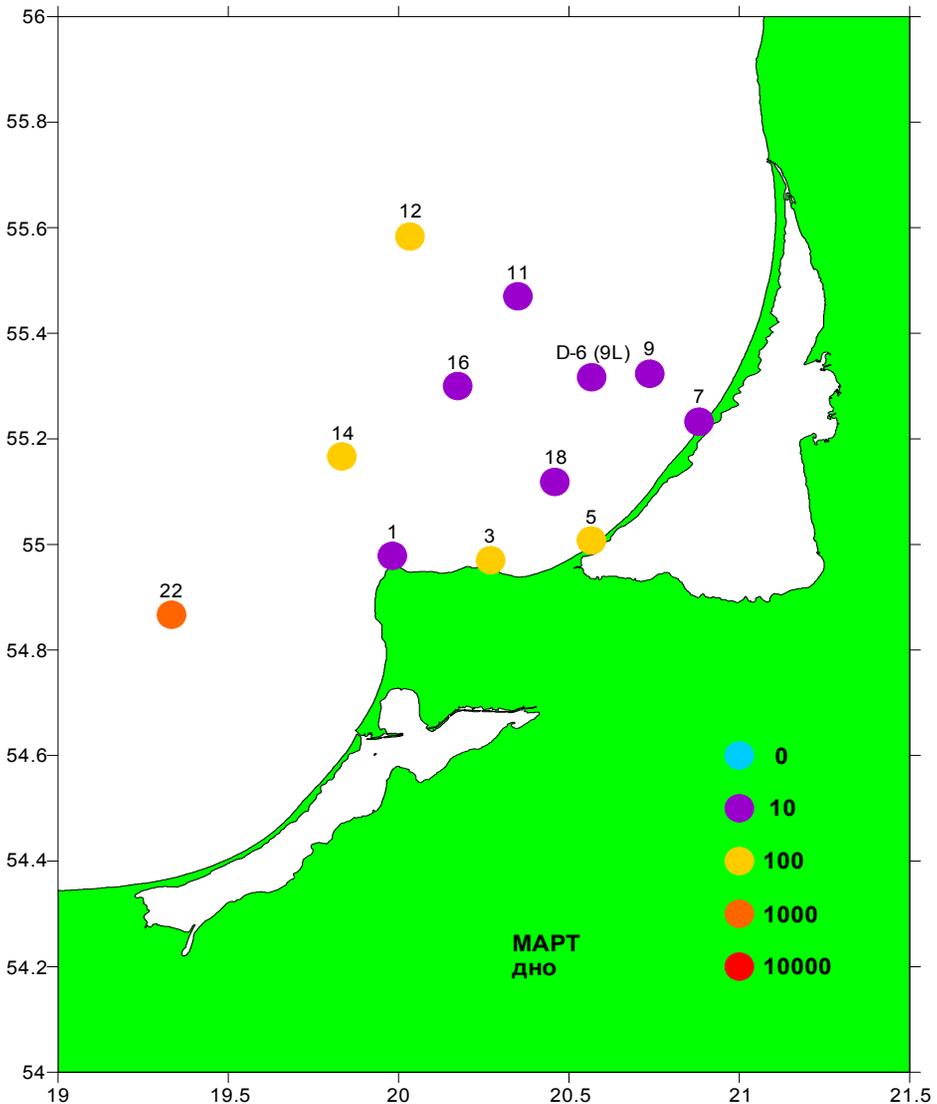


Рисунок 3 – Средние значения НВЧ НМ, кл./мл, на придонных горизонтах станций мониторинга в марте 2004-2008 гг.

Согласно проведенным ранее в тех же условиях исследованиям (1978 и 1987 гг.), зимой в водах Балтики численность НМ составляла всего $0-10^2$ кл/мл, их распределение также носило мозаичный характер, при этом НВЧ составляла до 12% от общей численности микроорганизмов и до 100% от численности сапрофитных бактерий (Цыбань и др., 1985а, б; Штукова, 1990).

Таким образом, в зимний период 2004-2008 гг. мы наблюдали изменчивую картину распространения НМ в районе мониторинга с тенденцией возрастания их численности, особенно в глубоководных районах, в то же время, сходную с долговременными наблюдениями.

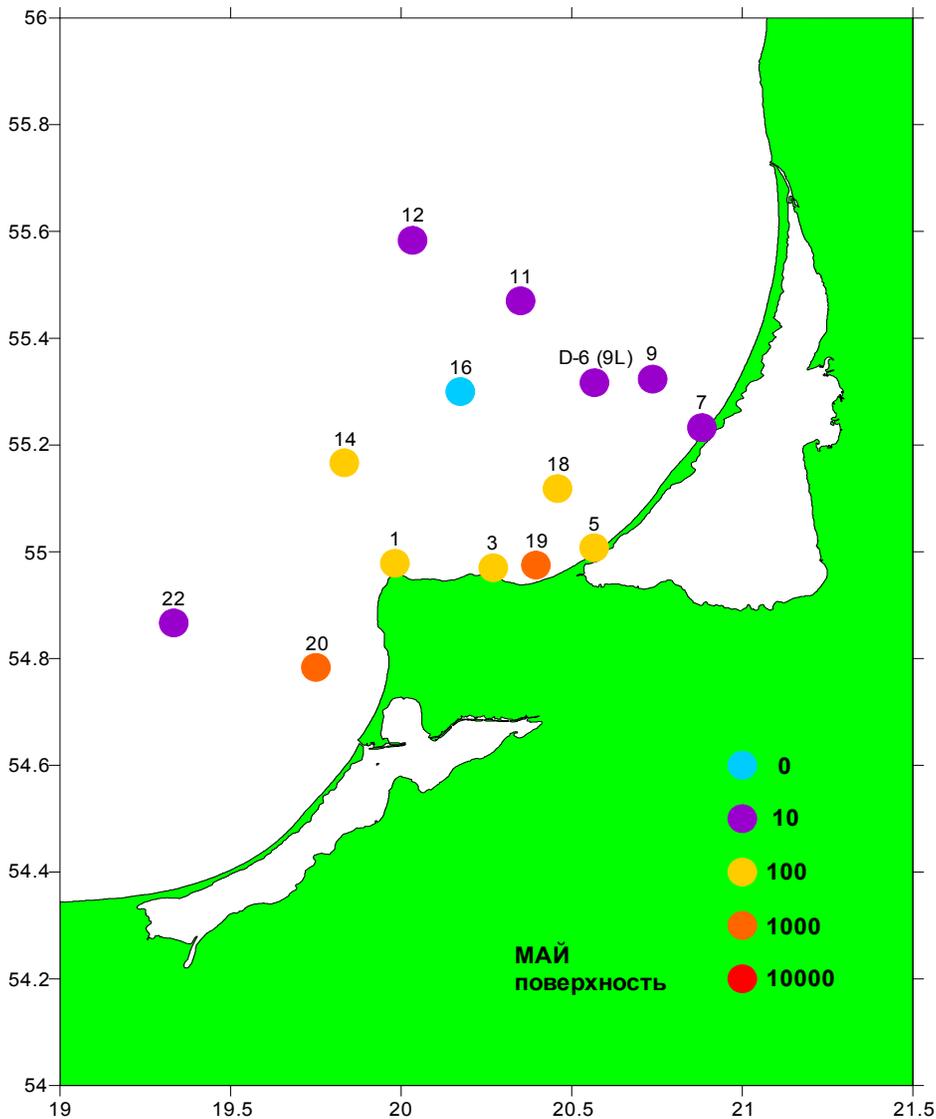


Рисунок 4 – Средние значения НВЧ НМ, кл./мл, на поверхностных горизонтах станций мониторинга в мае 2003-2005 гг.

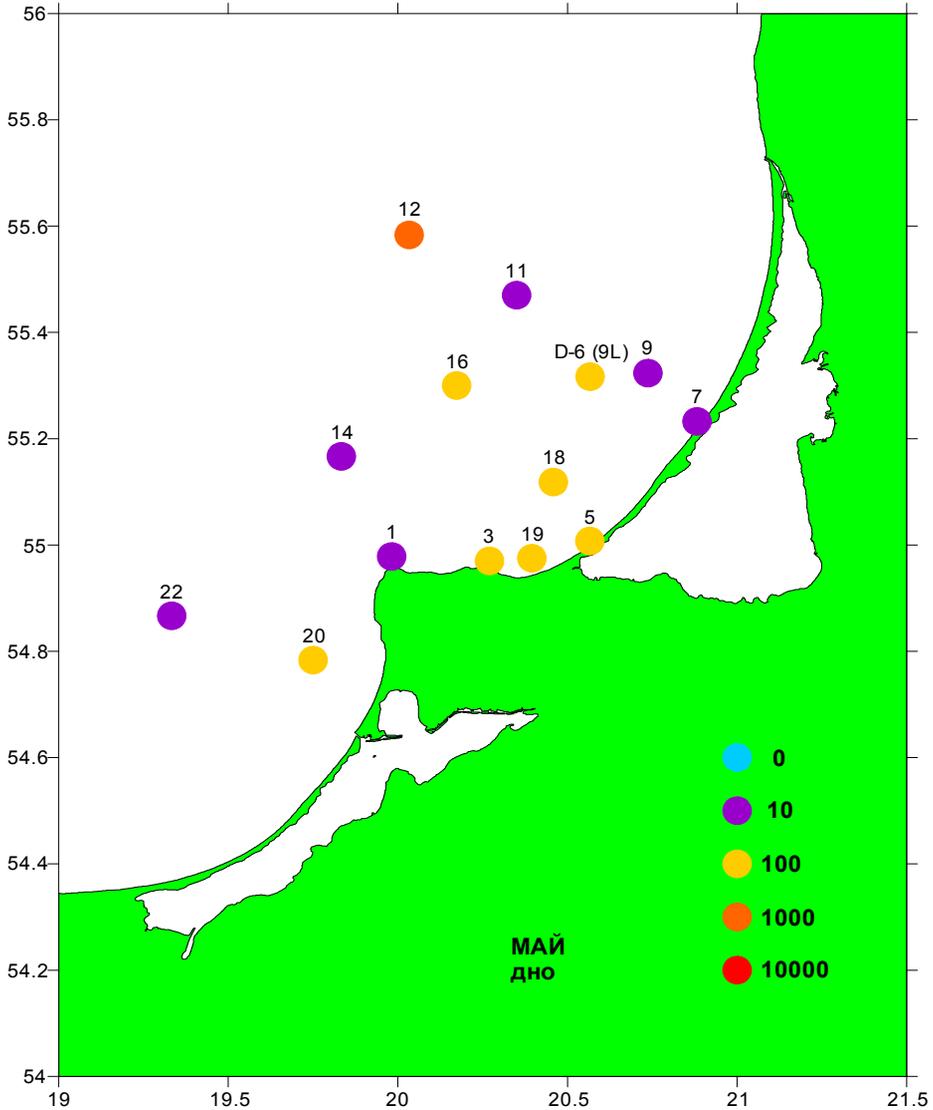


Рисунок 5 – Средние значения НВЧ НМ, кл./мл, на придонных горизонтах станций мониторинга в мае 2003-2005 гг.

В **весенний сезон** количество НМ в среднем составляло 10^2 кл./мл, в отдельных случаях на порядок и более превышая зимние значения. Пределы варьирования НВЧ были более широкими – от 10 до 10^4 кл./мл. Вертикальное распределение НМ имело мозаичный характер. В большинстве случаев они обнаруживались в поверхностных слоях, и с глубиной их численность снижалась (рис. 4, 5).

Минимальные уровни развития НМ в весенний сезон 2003–2005 гг. были определены в мае 2003 г., максимальные – в 2004 г. В 2003 г. НМ вообще не были обнаружены на некоторых станциях. Максимальное значение НВЧ НМ было зарегистрировано на

поверхностном горизонте северо-восточного мелководья – 10^3 кл./мл (ст. 7), в остальных случаях их численность не превышала 10^2 кл./мл. Весной 2004 г. НВЧ НМ в водах большинства станций оказались на один или два порядка выше, при этом НВЧ, составляющая 10^4 кл./мл, отмечалась исключительно на поверхностных горизонтах. В мае 2005 г. уровень распространения НМ был сходен с 2003 г. Крайне низкая численность НМ была отмечена на станциях 22, 5, 7, 9 и 18. Высокий уровень развития этой группы микроорганизмов сохранялся на придонных горизонтах станций 9L и 12.

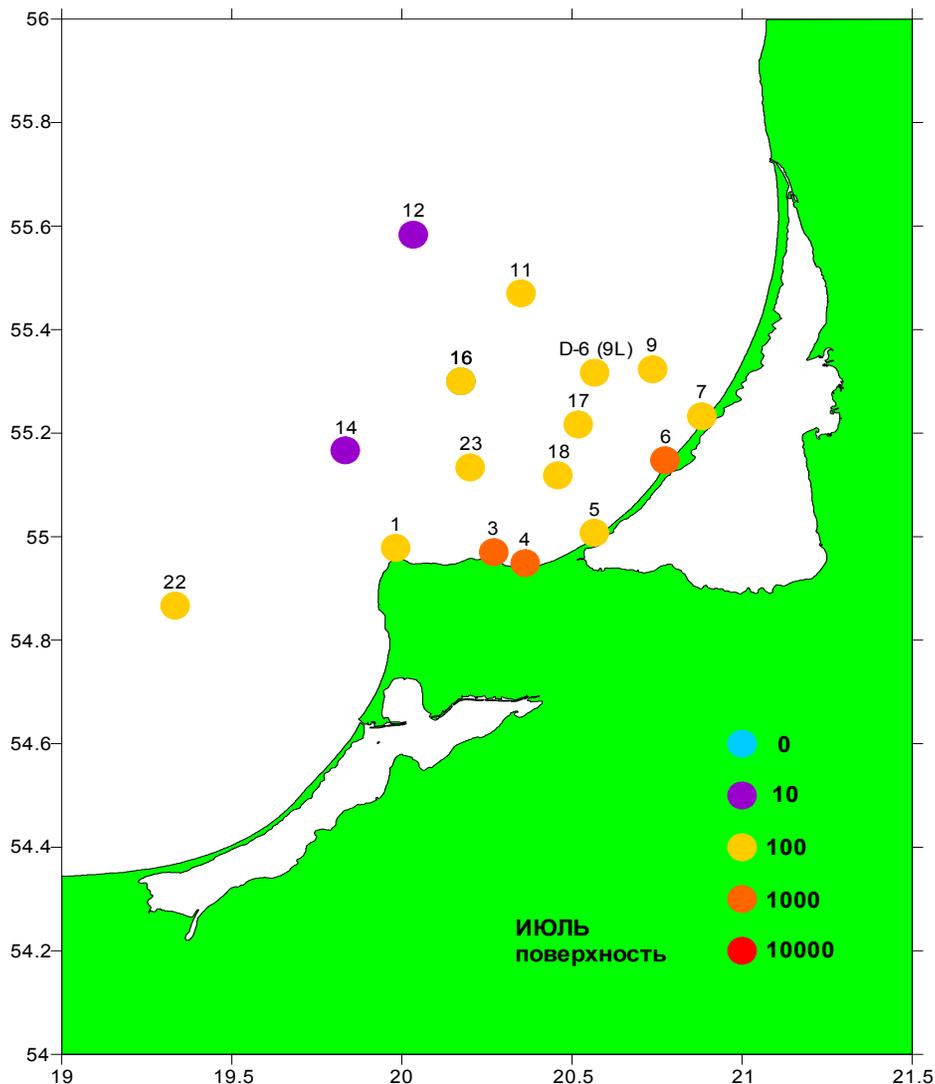


Рисунок 6 – Средние значения НВЧ НМ, кл./мл, на поверхностных горизонтах станций мониторинга в июле 2003-2014 гг.

Полученные нами данные оказались сопоставимы с более ранними исследованиями. Весной 1987 г. НВЧ НМ в открытой части

моря изменялась от 0 до 10^4 кл./мл, что составляло до 1% от общей численности бактерий и до 40% численности сапрофитных бактерий. Максимальное НВЧ НМ было определено в зоне влияния вод Вислинского залива (Штукова, 1990).

В летний период с повышением температуры концентрация НМ увеличивалась. Уровень НВЧ НМ в среднем составлял $10^2 - 10^4$ кл./мл и был на один-два порядка выше, чем зимой (рис. 6, 7).

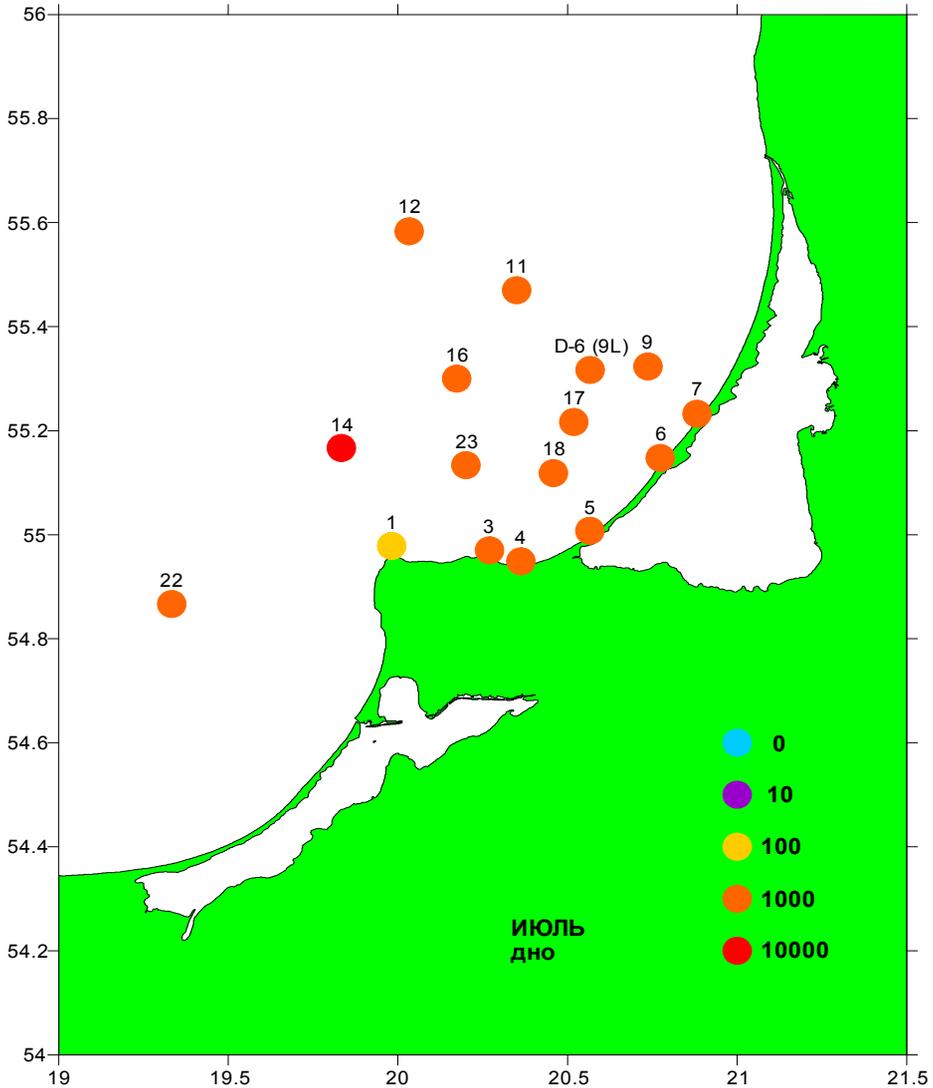


Рисунок 7 – Средние значения НВЧ НМ, кл./мл, на придонных горизонтах станций мониторинга в июле 2003-2014 гг.

Пространственное распределение и межгодовая изменчивость численности НМ носили мозаичный характер. На прибрежном мелководье численность НМ была выше, чем в районах с глубинами свыше 30 м. В глубоководных районах наибольшие скопления этих

микроорганизмов были определены в придонных слоях, где их численность нередко превышала значения НВЧ в водной толще на два порядка. Максимальные величины НВЧ НМ за весь период летних исследований были определены в июле 2010 г., когда число регистраций НВЧ со значениями $10^4 - 10^5$ кл./мл достигало десяти (рис. 8). В 2007, 2010 и 2013 гг. отмечалось увеличение числа регистраций НВЧ НМ со значениями $10^4 - 10^5$ кл./мл. В целом относительно низкими значения НВЧ этой группы микроорганизмов были в июле 2006 и 2007 гг.

В районе наших исследований в юго-восточной Балтике в июле 2004-2014 гг. диапазон изменений температуры поверхностного слоя на отдельных станциях составлял от 14,6 до 25,7°C. Средние значения для всего района менялись от 15,4°C в 2004 и 2007 гг. до 23,0°C в 2010 г. Динамика средних значений поверхностной температуры представлена на рис. 8.



Рисунок 8 – Число регистраций НВЧ НМ со значением $10^4 - 10^5$ в зависимости от поверхностной температуры в юго-восточной части Балтийского моря в июле 2004-2014 гг.

Наиболее тёплыми были 2005, 2006, 2010 и 2013 гг., самыми холодными – 2004 и 2007 гг. Показано, что в среднем уровень количественного развития НМ в районе мониторинга при таких колебаниях температуры оставался примерно на одном уровне с небольшим положительным трендом. За весь период наблюдений вспышку численности организмов этой группы спровоцировал лишь anomalно продолжительный подъём температуры летом 2010 г. Полагаем, что при этом, воздействие других природных факторов и нефтяного загрязнения оставались стабильными.

Известно, что микробная деградация нефти в морской воде может происходить при температуре в диапазоне от точки замерза-

ния морской воды до +70°C (ZoBell, 1973). Большинство видов микроорганизмов наиболее активны при температуре 20-35°C. (Ильинский, Семененко, 2001; Немировская, 2010). Установлено, что при увеличении температуры НВЧ НМ возрастает с высокой степенью корреляционной связи ($R = 0,951$), однако при превышении температуры +30°C наступает предел увеличения численности НМ (Рубцова, Егоров, 2004).

Ранее было показано, что летом 1976, 1978 и 1987 гг. в открытых водах Балтики диапазон изменчивости численности НМ составлял $10-10^4$ кл./мл. Распределение этой группы микроорганизмов носило мозаичный характер, причем соответствовало вертикальному распределению общей численности микроорганизмов и сапрофитных бактерий. Летом 1987 г. максимальная плотность этой группы бактериального населения была обнаружена в Гданьской бухте, на траверзе г. Клайпеда и г. Паланга. (Цыбань и др., 1981; Цыбань и др., 1985; Штукова, 1990). Наши исследования выявили несколько более высокие уровни численности НМ. При всей мозаичности распределения НМ в летний период 2003-2009 гг. прослеживалось увеличение численности этой группы в водах района.

В **осенний сезон** с уменьшением температуры уровень развития НМ снижался. В октябре численность НМ варьировала в пределах от 0 до 10^4 кл./мл, в среднем составляя $10-10^3$ кл./мл (рис. 9, 10).

В период наблюдений 2004-2008 гг. минимальный уровень развития НМ, был отмечен в ноябре 2003 г. Близкие к зимним средние значения НВЧ составляли всего 10 кл./мл. Исключение составили придонные горизонты глубоководных станций на востоке района (ст. 12 и 14), где НВЧ увеличивалась до 10^2 кл./мл. В октябре 2005 г. на большей части района наблюдалась та же ситуация, однако в среднем НВЧ НМ повысилась за счет ее увеличения на станциях 1, 14, 18, 20 и 22. Максимум развития этой физиологической группы микроорганизмов находился в водах западного участка района (ст. 22), где на придонном горизонте её НВЧ достигала 10^3 кл./мл. В октябре 2005-2006 гг. увеличение НВЧ НМ продолжилось. В 2005 г. в 50% измерений НВЧ составляла 10^3 кл./мл, в 10% случаев – 10^4 кл./мл. Невысокими оставались значения НВЧ на прибрежных станциях 1 и 3 – 10^2 кл./мл.

В 2006 г. в большей части района – на всех мелководных станциях и станциях со средними глубинами НВЧ НМ составляла от 0 до 10^2 кл./мл. В более глубокой части района – варьировала от 10^2 до 10^4 кл./мл с максимумом в придонном слое станции 22. В 2007 г. в глубоководной области (ст. 12, 14, 22) сохранялись высокие уровни развития НМ – от 10^2 до 10^4 кл./мл с максимумами в придонных слоях.

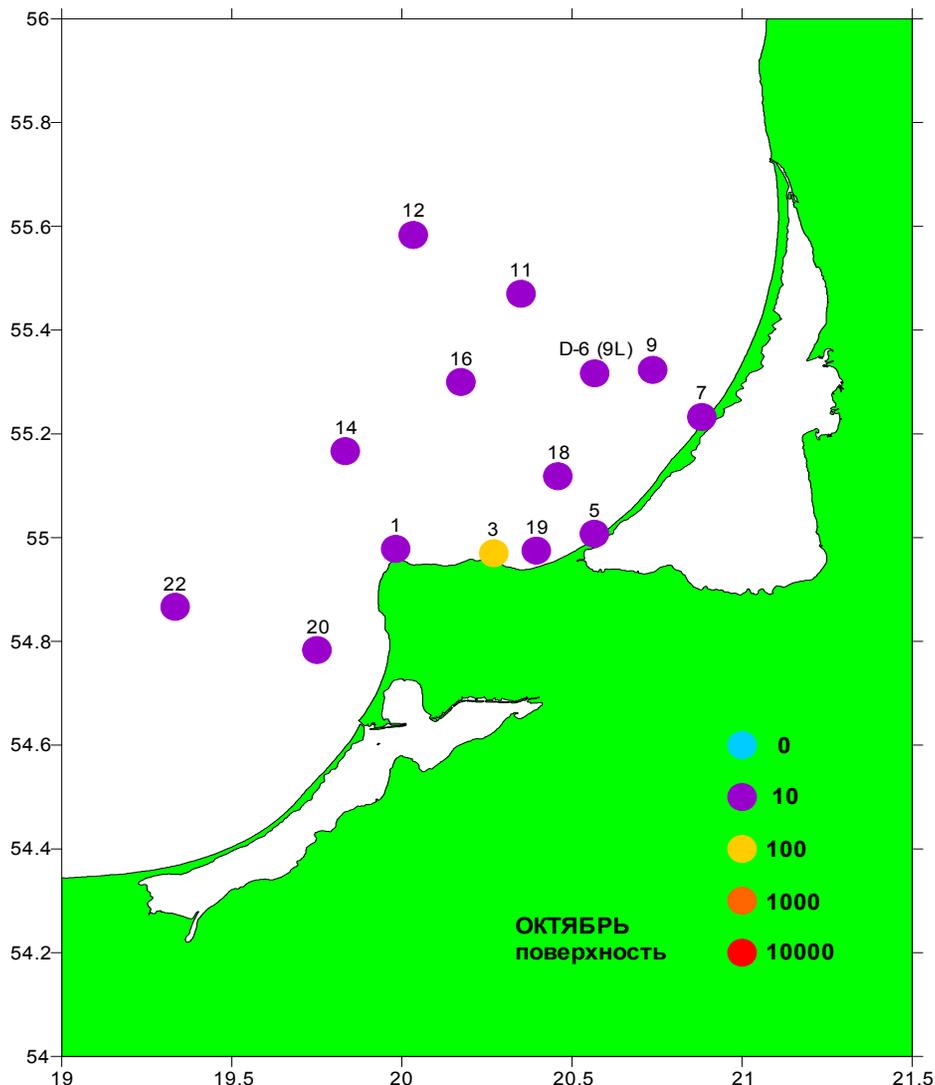


Рисунок 9 – Средние значения НВЧ НМ, кл./мл, на поверхностных горизонтах станций мониторинга в октябре-ноябре 2003-2008 гг.

Несколько иная картина распределения НМ, наблюдалась в ноябре 2008 г. В более суровых погодных условиях в поверхностных водных слоях НВЧ этой группы составляла $0-10^2$ кл./мл, в то время как на придонных горизонтах её значения достигали 10^4 кл./мл.

По данным прошлых исследований, в октябре-ноябре 1987г. средняя НВЧ НМ была порядка 10^2 кл./мл с высокими значениями в верхнем 10-метровом слое и максимумом в районе г. Клайпеда – 10^3 кл./мл (Штукова, 1987). В период 2003-2008 гг. нами отмечена тенденция увеличения НВЧ этой группы микроорганизмов, особенно в придонных слоях глубоководной части района.

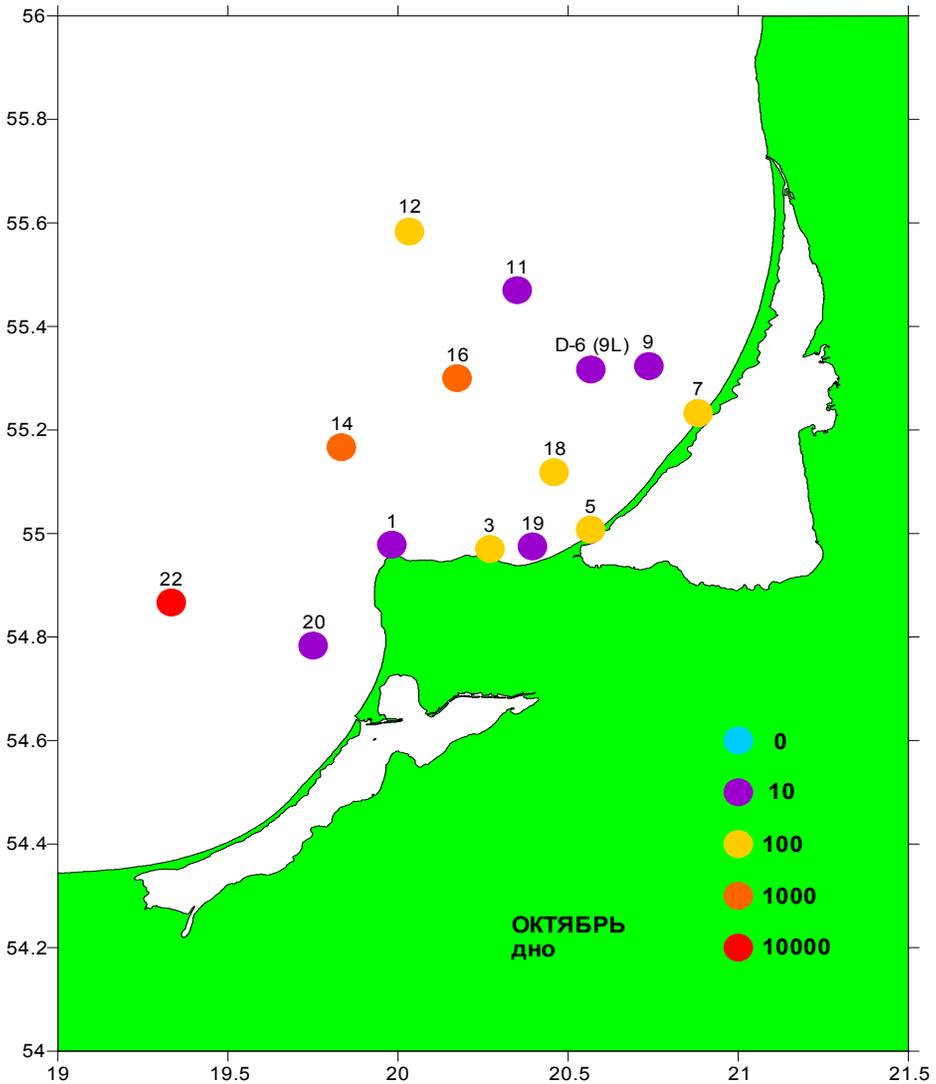


Рисунок 10 – Средние значения НВЧ НМ, кл./мл, на придонных горизонтах станций мониторинга в октябре-ноябре 2003-2008 гг.

Мозаичный характер распределения численности НМ может, в какой-то мере, объясняться распределением самого субстрата – углеводов. Согласно И.А. Немировской, распределение углеводов характеризуется пространственной неоднородностью, изменчивостью во времени и ярко выраженными сезонными вариациями концентраций (Немировская, 2008). В Балтийском море распределение углеводов зависит от притока соленых вод Северного моря и стратификации водной толщи. В зависимости от направления ветра и термохалинной ситуации концентрирование углеводов происходит либо в поверхностном, либо в придон-

ном слоях. Существенно меняется содержание углеводов в периоды вспышек цветения фитопланктона (Немировская, 2008). Последнее, очевидно, особенно актуально для Балтийского моря с его ежегодно повторяющимися масштабными цветениями цианобактерий, которые, как уже упоминалось, прямо или косвенно принимают участие в разрушении нефти (Raghukumar et al., 2001; Daisuke, 2008).

Принимая во внимание, что развитие микроорганизмов, разрушающих углеводороды, имеет сложные связи с гидрографическими условиями и содержанием углеводов в среде, а также учитывая, что цианобактерии принимают участие в утилизации нефти, можно полагать, что причинами колебаний численности этой физиологической группы микроорганизмов, кроме климатических факторов и изменения характера поступления антропогенных нефтяных углеводов, могут быть и сезонные смены доминирующих группировок вегетирующих видов микрофлоры.

Биодеградационный потенциал бактериопланктона

Изучение нефтяного загрязнения морских вод на основе экспериментальной оценки БП бактериопланктона было проведено в марте, мае, июле и октябре 2004 г. в юго-восточной части Балтийского моря (рис. 1). Были получены оценки, характеризующие динамику активности НМ и их распространение.

В зимне-весенний период на большей части акватории открытых вод отмечалась пониженная активность биотрансформации НУ, что может быть обусловлено как низкой температурой морской воды, так снижением уровня загрязнения вод НУ. Иная ситуация наблюдалась в глубоководной северо-восточной части района (ст. 14 и 12), где на поверхностном горизонте постоянно регистрировалась наиболее высокая активность НМ (рис. 11). На западном глубоководном участке (ст. 22) в течение года выявлено возрастание БП НМ – с 20 до 60%, особенно на придонном горизонте. Отмеченные явления могут свидетельствовать о хроническом присутствии нефтяных углеводов в составе гидрохимического фона этого района.

Одной из особенностей мелководной прибрежной полосы Куршской косы являлось сохранение однородных гидрологических условий во всей водной толще на протяжении большинства сезонов 2004 г. Вероятно, в связи с этим, в разные сезоны показатели активности НМ в полосе мониторинга, особенно на ст. 3, 19 и 18 были достаточно стабильны в узком диапазоне (30-40%) (рис. 12). Тем не менее, в крайней восточной точке района (ст. 7) были зарегистрированы резкие сезонные колебания степени микробной трансформации НУ, в том числе и по горизонтам. Так, в поверхностных водах

уровень активности НМ с марта по июль увеличился более, чем в четырнадцать раз (до 56%). В придонных водах на глубине 10 метров также зарегистрированы резкие сезонные колебания активности микрофлоры и высокий БП – до 55%. Подобный высокий уровень биоразрушения нефти ранее неоднократно фиксировался в открытых водах моря, подверженных значительному антропогенному загрязнению НУ.

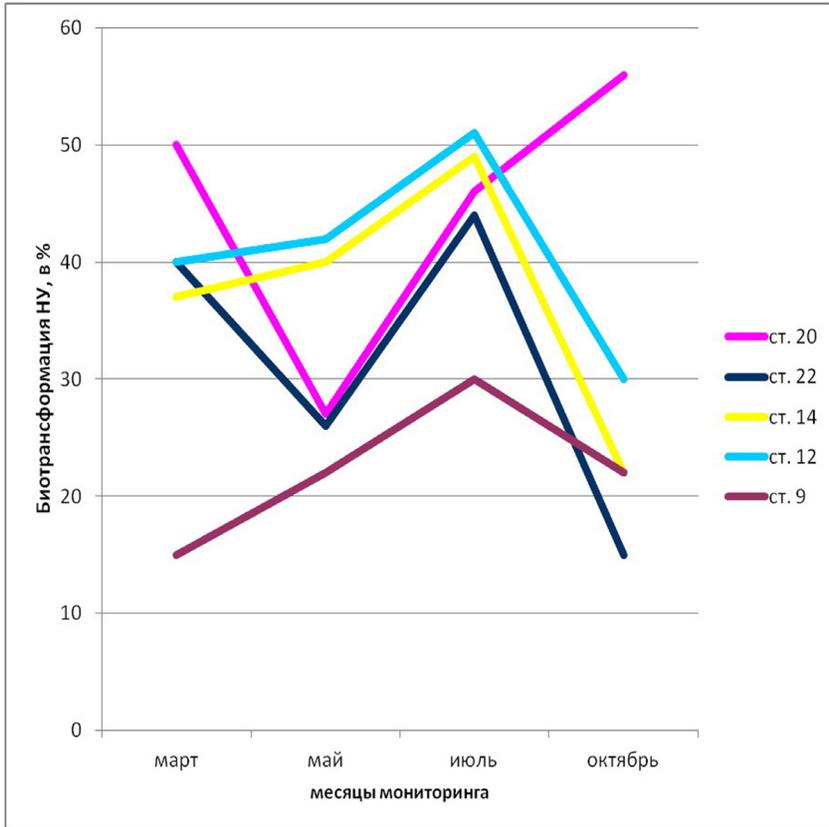


Рисунок 11 – Динамика средних значений микробной трансформации НУ в водах юго-восточной части Балтийского моря на поверхностных горизонтах станций мониторинга №№ 20, 22, 14, 12, 9 в марте, мае, июле и октябре 2004 г.

Вероятно, этот эффект был инициирован воздействием загрязненных НУ вод, поступающих вдоль косы из Куршского залива. Полученные в 2004 г. характеристики микробиологических показателей вод этой локальной акватории (ст. 7), могут служить признаком хронического загрязнения водных масс района нефтяными углеводородами, способного негативно воздействовать на планктонные сообщества и морскую экосистему в целом.

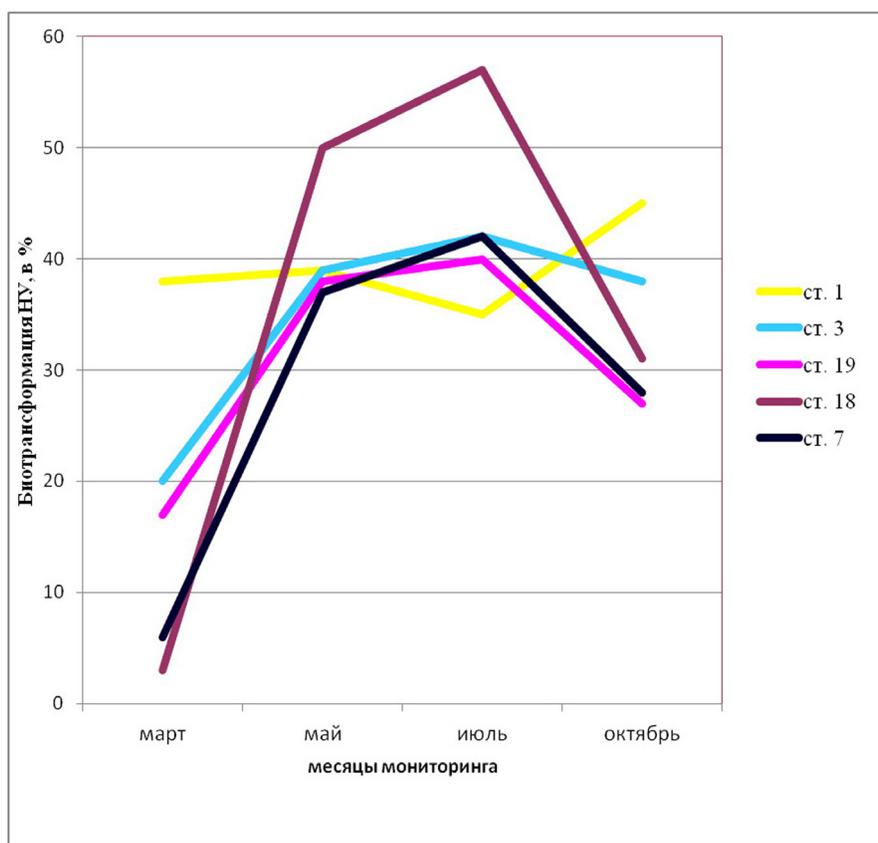


Рисунок 12 – Динамика средних значений микробной трансформации НУ в водах юго-восточной части Балтийского моря на поверхностных горизонтах прибрежных станций мониторинга №№ 1, 3, 19, 18, 7 в марте, мае, июле и октябре 2004 г.

Микробная трансформация нефти в Карском море

В ходе экспедиционных исследований 59 рейса НИС «Мстислав Келдыш» (2011 г.) установлено, что НМ вод поверхностного горизонта и слоя скачка плотности вод ряда акваторий юго-восточной части Карского моря обладали способностью трансформации экспериментально вносимой сырой нефти в условиях «*in situ*» (рис 13). В этот период температура поверхностных водных масс на большинстве обследованных акваториях устья и шельфа моря находилась в диапазоне 4,0 – 6,0°C.

Установлено, что наиболее выраженная способность к трансформации НУ была свойственна для микрофлоры двух зон Енисейского залива – устьевой (ст. 5013, 5021), где преобладали речные, наиболее тёплые за период исследований воды с температурой 8-10°C, и эстуарной фронтальной зоны (ст. 5020) – с водами с солёно-

стью более 25%, где было трансформировано 34%, 16% и 19% массы НУ соответственно (рис. 14). Потенциальная активность НМ по разрушению нефти в слое скачка плотности была выше, чем в поверхностных водах, за исключением зоны «маргинального фильтра» (ст. 5021 и 5020), где она в поверхностных водах составляла соответственно 16% и 19%. В целом, в устьевой зоне разрушение нефти составляло в среднем 15% и снижалось по направлению к прибрежной части шельфа, что могло быть обусловлено условиями влияния ВОВ и ЗВ НУ содержащихся в речном стоке.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКОСИСТЕМЫ КАРСКОГО МОРЯ

СХЕМА МАРШРУТА 59-й рейса НИС "Академик Мстислав Келдыш" сентябрь - октябрь 2011 г.

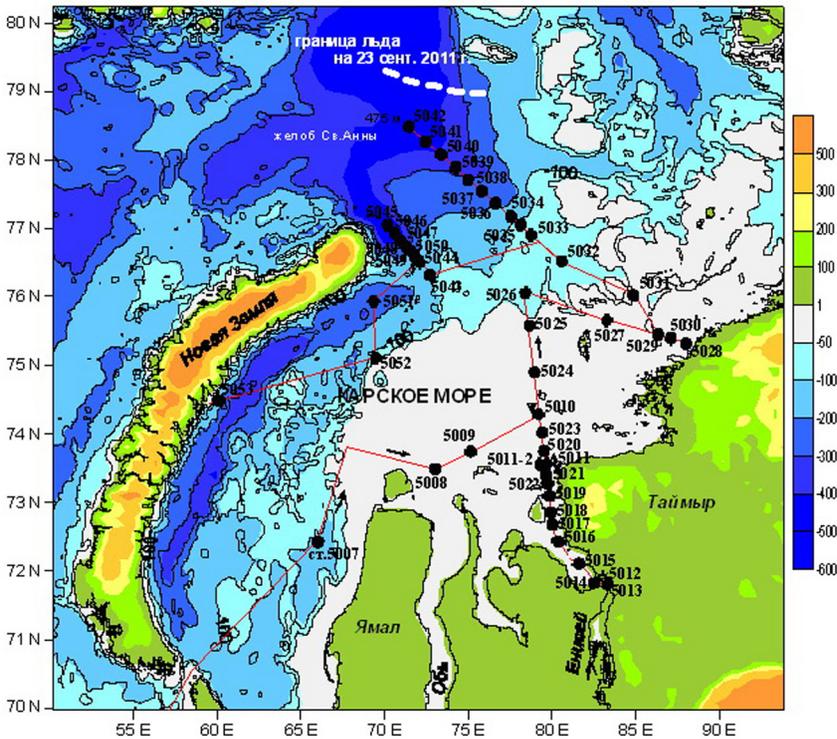


Рисунок 13 – Расположение станций исследований в Карском море в сентябре 2011 г.

В водах срединного и внешнего шельфа (ст. 5023, 5010, 5024 и 5026) степень микробной трансформации нефти была невысока и относительно однородна как в поверхностных водах, так и в слое скачка – 6-10% (в среднем 5%). Следует отметить, что эти акватории моря не подвержены влиянию вод стока р. Енисей (рис. 14).

В экспериментах с микрофлорой вод станций в глубоководных районах на южном склоне и в желобе Св. Анны (ст. 5040 и 5042)

микробного разрушения трансформации нефти зарегистрировано не было. При этом, содержание НУ в поверхностных водах этих станций достигало 18 и 23 мкг/л и было в четыре раза выше, чем в акваториях внешнего и внутреннего шельфа. Такие повышенные концентрации НУ в воде возможно имеют, как и природное, так и иное происхождение – например поступление НУ с атлантическими (баренцевоморскими) водами с северо-запада, в том числе, в обход северной оконечности Новой Земли и по желобу Св. Анны. В акватории желоба исключение составил бактериопланктон поверхностного слоя южного склона (ст. 5032 и 5034). Его активность была выражена, но минимальна – 5% (рис. 14).

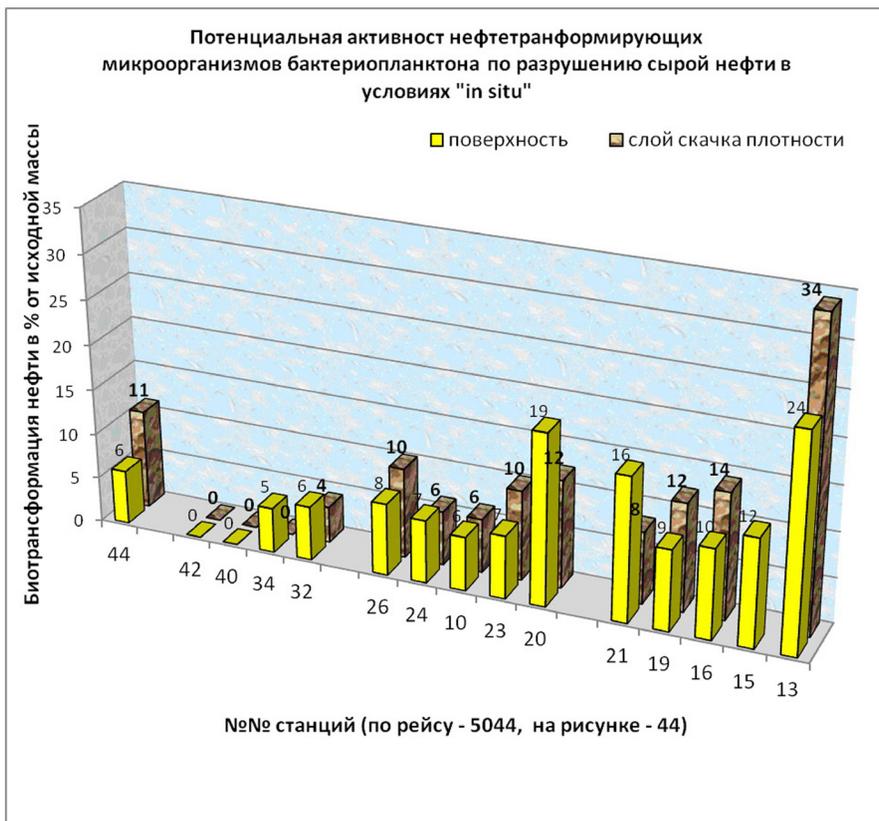


Рисунок 14 – Микробная трансформация нефтяных углеводородов в условиях «in situ» в водах Карского моря в 2011 г. на ст. 44 (Новая Земля) и разрезах «склон – желоб Св. Анны» (ст. 32-42), «мелководье шельфа» (ст. 20-26) и «эстуарий р. Енисей» (ст. 13-21) на поверхностных горизонтах и слоях скачка плотности. №№ станций по рейсу – 5044, по тексту – 44.

Иная ситуация наблюдалась в водах к северо-востоку от о-ва Новая Земля (ст. 5044), в которых уровень трансформации нефти НМ численностью $10^1 - 10^2$ кл./мл составил значимую величину в

6% и 11% для поверхностного слоя и вод скачка плотности соответственно, что аналогично акватории прибрежного шельфа (ст. 5023). Можно предположить, что это следствие влияния загрязнения углеводородами из стока (льда) с побережья острова (рис. 14).

Во всех установленных случаях для исследованных акваторий моря большая активность НМ проявлялась в водах с повышенным содержанием НУ.

Заключение

Показано, что в водах юго-восточной части Балтийского моря широко распространены микроорганизмы, способные окислять НУ. Средние значения НВЧ НМ в 2003-2014 гг. увеличивались в тёплые периоды года и составляли: в зимний период – $10\text{-}10^2$ кл./мл; в весенний сезон – $10\text{-}10^3$ кл./мл; в летний и осенний периоды – $10\text{-}10^4$ кл./мл. Показано, что в летний период резкое увеличение частоты регистраций НМ с высокой численностью $10^4\text{--}10^5$ кл./мл могут быть вызваны продолжительным повышением средней температуры поверхностных вод до 23°C . В зимний, летний и осенний сезоны выявлена некоторая тенденция увеличения численности НМ особенно в глубоководных районах и придонных слоях, что может свидетельствовать о хроническом нефтяном загрязнении донных осадков. При этом, полученные данные вполне согласуются с данными более ранних исследований, что позволяет оценить экологическую обстановку в районе нефтедобычи и транспортировки нефти как стабильную.

Выявлены повышенные уровни БП НМ в ряде прибрежных и открытых акваторий юго-восточной части Балтийского моря, что является признаком хронического нефтяного загрязнения.

Микробиологические исследования биотрансформации НУ в районах юго-восточной части Карского моря были проведены впервые. В составе бактериопланктона Карского моря выявлено присутствие специфических НМ с уровнем численности 10^2 кл./мл, в основном, в приповерхностном горизонте. В глубинных водах желоба Св. Анны присутствие НМ не установлено. Повышенный уровень активности НМ был наиболее выражен в устьевой зоне Енисейского залива, что может свидетельствовать о хроническом присутствии НУ в составе гидрохимического фона этой акватории.

По сравнению с соседними акваториями, на северо-востоке от о-ва Новая Земля уровень микробной трансформации нефти составил значимую величину в 6-11%. Учитывая, что активность НМ проявлялась в водах с повышенным содержанием НУ, можно предположить, что это следствие влияния загрязнения углеводородами из стока (льда) с побережья острова.

Зональный характер развития НМ и их активность по трансформации нефти на разрезах в Карском море связаны с рядом абиоти-

ческих факторов: особенностями динамики вод, изменениями вертикальной структуры водных масс, включая ее соленость и низкую температуру, а также с содержанием взвешенного органического вещества и органических загрязняющих веществ – НУ. Полученные результаты свидетельствуют о том, что воды юго-восточной части Карского моря достаточно чистые, а состояние пелагических экосистем в целом благополучное.

Полученные экспериментальные оценки, характеризуют БП и количественное распределение в толще вод гетеротрофных бактерий, трансформирующих НУ, что позволяет составить представление об уровне и состоянии загрязнения морской экосистемы и биодеградационной активности микробных популяций в водах Балтийского и Карского морей.

Результаты исследований могут послужить основой для оценки современной ситуации в стрессовых морских экосистемах (на примере российского сектора юго-восточной части Балтийского моря и эстуария р. Енисей), а также для выявления изменчивости состояния и функционирования экосистемных процессов морей российской Арктики в условиях загрязнения среды.

Список литературы

- Бузолева Л.С., Смирнова М.А., Безвербная И.П. 2008. Биологические свойства морских нефтеуглеводородоокисляющих бактерий из прибрежных акваторий дальневосточных морей с разным характером загрязнения. Известия ТИНРО. Т. 155. с. 210-218.
- Володкович Ю.Л., Беляева О.Л. 1992. Трансформация бенз(а)пирена. В кн. Исследование экосистемы Берингова и Чукотского морей. Вып. 3. – СПб-б.: Гидрометеоиздат. с. 172-178.
- Израэль Ю.А., Цыбань А.В. 2009. Антропогенная экология океана. – М.: Наука. 530 с.
- Израэль Ю.А., Цыбань А.В., Орадовский С.Г., Пака В.Т., Щука С.А., Голенко Н.Н., Кудрявцев В.М., Баринаева С.П., Мошаров С.А., Мошарова И.В., Володкович Ю.Л., Умбрумьянц И.О., Серова Е.М. 2005. Динамика экосистемы Балтийского моря. – СПб-б.: Гидрометеоиздат. 350 с.
- Ильинский В.В., Семенов М.Н. 2000. Углеводородоокисляющие бактерии Центральной Арктики, Карского и Белого морей: распространение и роль в процессах естественного очищения от нефтяного загрязнения. В сб. Проблемы экологии и физиологии микроорганизмов. – М.: Диалог-МГУ. 62 с.
- Ильинский В.В., Семенов М.Н. 2001. Распространение и активность углеводородоокисляющих бактерий в Карском и Белом морях. В сб. Опыт системных океанологических исследований в Арктике. – М.: Научн. мир. с. 364-375.
-

Коронелли Т.В., Дермичева С.Г., Ильинский В.В., Комарова Т.И., Поршнева О.В. 1994. Видовая структура углеводородо-кисляющих бактериоценозов водных экосистем разных климатических зон. Микробиология. Т. 63. Вып. 5. 1994, с. 917-923.

Методические основы комплексного экологического мониторинга океана. 1988. – М.: Гидрометеиздат. 288 с.

Миронов О.Г. 1971. Нефтеокисляющие микроорганизмы в море. Киев: Наукова Думка. 234 с.

Миронов О.Г. 1972. Биологические ресурсы моря и нефтяное загрязнение. – М.: Пищепромиздат. 105 с.

Немировская И.А. 2004. Углеводороды в океане (снег-лед-вода-взвеси-донные осадки). – М.: Научн. Мир. 328 с.

Немировская И.А. 2008. Нефтяные углеводороды в океане. Природа. №3, с. 17-27.

Немировская И.А. 2010. Содержание и состав углеводородов в воде, взвеси и донных осадках Карского моря. Океанология. Т. 50. №5, с. 758-770.

Немировская И.А. 2004. Углеводороды в океане (снег-лед-вода-взвеси-донные осадки). – М.: Научн. Мир. 328 с.

Немировская И.А., Аникиев В.В., Теобальд Н., Раве А. 1997. Идентификация нефтяных углеводородов в морской среде при использовании различных методов анализа. Журн. аналит. химии, №4, с. 392-396.

Перетрухина И.В., Ильинский В.В., Литвинова М.Ю. 2006. Определение скоростей биодеградации нефтяных углеводородов в воде литорали Кольского залива. Труды Мурманского государственного технического университета «Вестник МГТУ» Мурманск: МГТУ, Т. 9, №5, с. 830-835.

РД 52.44.590-97. Методические указания. Определение массовой концентрации приоритетных ПАУ в атмосферных осадках и поверхностных водах. Методика выполнения измерений методом обращенной жидкостной хроматографии. РД 52, Руководящие документы Росгидромета, Институт глобального климата и экологии.

Рубцова С.И., Егоров В.Н. 2004. Влияние абиотических факторов на численность нефтеокисляющих бактерий в прибрежных районах Чёрного моря. Экология моря. Вып. 66, с. 91-99.

Цыбань А.В. 1976. Морской бактериоценоз. Автореф. дис. докт. биол. наук. – М. 52 с.

Цыбань А.В., Панов Г.В., Дакш Л.В., Юрковская В.А. 1981. Бактериальное население открытых вод Балтийского моря. В кн.: Исследование экосистемы Балтийского моря. Вып. 1. – Л.: Гидрометеиздат. с. 41-60.

Цыбань А.В., Панов Г.В., Мирошниченко Н.М., Юрковская В.А. 1985а. Состояние микробных процессов в открытой части Балтийского моря в зимний период года. В кн.: Исследование экосистемы Балтийского моря. Вып. 2. – Л.: Гидрометеиздат. с. 20-37.

Цыбань А.В., Пфейфере М.Ю., Панов Г.В., Баринаева С.П. 1985б. Эколого-физиологическая характеристика бактериального населения пелагиали Балтийского моря. В кн.: Исследование экосистемы Балтийского моря. Вып. 2. – Л.: Гидрометеиздат. с. 129-143.

Цыбань А.В., Панов Г.В., Баринаева С.П. 1990. Индикаторная микрофлора в Балтийском море. В кн.: Исследование экосистемы Балтийского моря. Вып. 3. с. 69-83.

Цыбань А.В., Симонов А.И. 1978. Современные достижения в изучении процессов окисления нефти в море. Тр. ГОИН. Вып. 128. с. 5-28.

Штукова З.А. 1990. Бактериопланктон Балтийского моря в 1987 г. В кн.: Исследование экосистемы Балтийского моря. Вып. 3. – Л.: Гидрометеиздат. с. 58-68.

Abed R.M.M., Safi N.M.D., Koster J., de Beer D., El-Nahhal Y., Rullkotter J., Garcia-Pichel F. 2002. Microbial diversity of a heavily polluted microbial mat its community changes following degradation of petroleum compounds. *Appl. Environ. Microbiol.* V. 68. pp. 1674-1683.

Abraham W.R., Meyer H., Yakimov M. 1998. Novel glycine containing glucolipids from the alkane using bacterium *Alcanivorax borkumensis*. *Biochim. Biophys. Acta* V. 1393. pp. 57-62.

AMAP (Arctic Monitoring and Assessment Programme). 2007. AMAP Assessment 2002: Persistent organic pollution in the Arctic. Oslo: AMAP. 57 p.

Daisuke Tanaka, Shunsuke Tanaka, Yoko Yamashiro, Shogo Nakamura. 2008. Distribution of Oil-Degrading Bacteria in Coastal Seawater, Toyama Bay, Japan Wiley Periodicals, Inc. *Environmental Toxicology*, V. 23. pp. 563-569.

ITOPF-International Tanker Owners Pollution Federation. 2006. <http://www.itopf.com/stats.html> (accessed Sep.14, 2007).

Raghukumar C., Vipparthy V., David J.J., Chandramohan D. 2001. Degradation of crude oil by marine cyanobacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* V. 57. pp. 433-436.

ZoBell C.E. 1973. Bacterial degradation of mineral oil at low temperatures. *The Microbial Degradation of Oil Pollutants. Workshop, held at Georgia State Univ., Atlanta.*