

УДК 576.89:597(261)

**Г.В. Лісютін, А.Є. Бухтіяров, С.О. Білоіваненко,
Л.П. Пономарьова, Т.В. Гудзенко, В.О. Іваниця**

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна, тел.: 8 (0482) 68 79 64,
e-mail: v_ivanit@te.net.ua

НАФТОВЕ ЗАБРУДНЕННЯ І ГЕТЕРОТРОФНА МІКРОБІОТА АКВАТОРІЇ ОСТРОВА ЗМІЙНИЙ

Досліджено загальний і фракційний вміст рідких вуглеводнів, загальну мікробну чисельність гетеротрофних бактерій і найбільш імовірне число бактерій, що окиснюють нафту, в акваторії острова Зміїний. Встановлено, що вміст нафти у воді досліджених станцій перевищував значення гранично допустимих концентрацій.

Ключові слова: морська вода, нафтове забруднення, бактерії, острів Зміїний

Розвиток інфраструктури та урбанізація острова Зміїний сприяє посиленню антропогенного навантаження, що може призвести до значного забруднення прибережних вод різноманітними політантами та знижити їхню рекреаційну цінність. Серед джерел забруднення нафтою й нафтопродуктами акваторії острова можна виділити втрати при вантажно-розвантажувальних роботах із суден. Нафтові вуглеводні потрапляють в акваторію також із стоком з суші в результаті роботи сухопутних транспортних і вантажопідйомних засобів у зоні будівництва причальних і берегових споруд «Нової пристані», втратах при транспортуванні палива по трубопроводах і розливах з емностей для зберігання нафти й дизельного палива. Проблема нафтового забруднення акваторії острова Зміїний набуває особливої гостроти у зв'язку з майбутнім освоєнням вуглеводневих запасів шельфу.

У зв'язку з цим, є актуальним дослідження сучасного стану мікробного угруповання й проведення оцінки стійкості екосистеми до забруднення й вивчення біодеструкційного потенціалу мікробіоти з метою прогнозування ситуації при аваріях.

Метою роботи було обстеження і оцінка сучасного стану забруднення води вуглеводнями нафти й чисельності гетеротрофних мікроорганізмів і бактерій, що окиснюють нафту в акваторії острова Зміїний.

Матеріали і методи

У ході комплексного моніторингу екологічного стану острова Зміїний був проведений відбір проб морської води у серпні і жовтні 2008 р. Відбір проб для гідрохімічних й мікробіологічних досліджень здійснювався на 12 прибережних станціях (рис. 1) з поверхневого шару (0–50 см) відповідно до загальноприйнятих методик [4].

© Г.В. Лісютін, А.Є. Бухтіяров, С.О. Білоіваненко, Л.П. Пономарьова, Т.В. Гудзенко, В.О. Іваниця, 2009



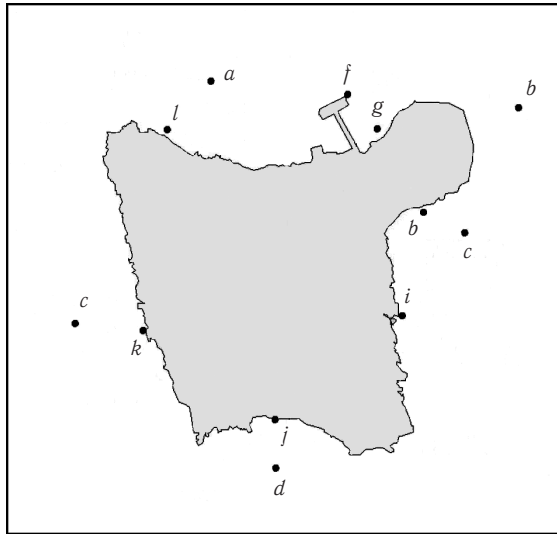


Рис. 1. Карта-схема відбору проб у прибережних водах острова Зміїний

Fig. 1. Water sampling stations scheme in the coastal waters of the Zmiiny island

Загальне мікробне число (ЗМЧ) бактерій визначали методом прямого посіву на щільне агаризоване живильне м'ясо-пептонне середовище (МПА). Культивування бактерій проводили при температурі 20 °С. Облік числа колоній здійснювали через 48 годин.

Для визначення чисельності мікроорганізмів, що окиснюють нафту, використовували метод граничних розведень на рідкому синтетичному морському калієво-дріжджовому середовищі з концентрацією вуглеводнів 1 % [4]. Культивування посівів проводили при кімнатній температурі (20 °С) протягом семи діб. Для обчислення найбільш ймовірного числа бактерій користувалися таблицею Мак-Креді.

Для характеристики нафтового забруднення в пробах води використовували метод екстракції хлороформом і хроматографічного розділення, що дозволив виділити загальний вміст рідких вуглеводнів і окремі фракції: мастила (М) і смолисті сполуки (СМ) [5, 8]. Статистичну обробку результатів проводили згідно стандартних методик з використанням програми "Microsoft Excel 97" [3].

Результати та їх обговорення

Результати визначення вмісту за допомогою методу хроматографічного розділення окремих фракцій розчинних вуглеводнів на досліджених станціях представлені на рисунку 2. По сумарному вмісту в пробах рідких фракцій нафтових вуглеводнів район дослідження можна розділити на зони з високим рівнем 2–5 мг/л, підвищеним до 15 мг/л і аномально високим 26–51 мг/л на окремих станціях. Високі значення відзначалися в пробах води на станціях **j**, **g** (влітку), підвищені — **f**, **i**, **k** (влітку) і **g**, **h**, **i**, **k** (восени) і аномально високі **f** і **l** (восени). Показано, що в переважній більшості вивчених проб морської води виділено дві фракції — мастила й смоли, в основному, низькомолекулярні. Доля мастил у складі рідких (нафтових) вуглеводнів перевищувала вміст смол у багато разів, особливо в пробах з аномальними

концентраціями рідких вуглеводнів конденсатного характеру, що свідчить про флюїдне розвантаження по тектонічно ослаблених зонах.

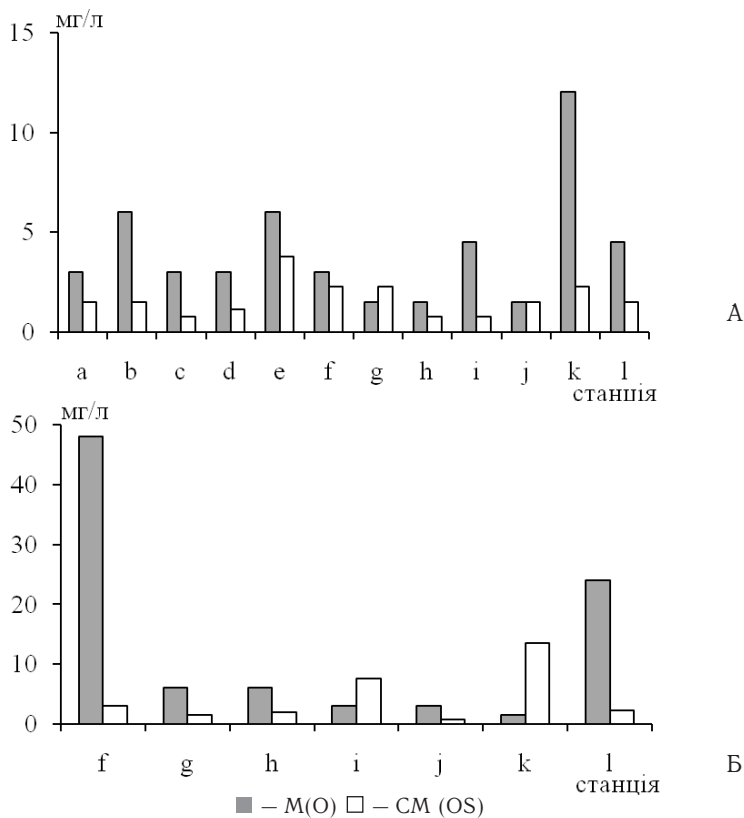


Рис. 2. Просторовий розподіл фракцій рідких вуглеводнів (мг/л): мастила (М) і смолисті сполуки (СМ) у прибережних водах острова Зміїний влітку (А) і восени (Б)

Fig. 2. Spatial distribution of hydrocarbon liquid fraction (mg/l): oil (O) and oil substances (OS) in the coastal waters of the Zmiinyi island in summer (A) and in autumn (B)

В окремих пробах, зокрема, в пробі зі станції **k**, присутні сліди низькомолекулярних поліциклічних ароматичних вуглеводнів (ПАУ), властиві для нафти (флуорени, хризени). У жовтні на цій же станції виявлені сліди парафінів, що також указує на нафтову природу вивчених екстрактів рідких вуглеводнів.

Відповідно до критеріїв, що пред'являються для водних об'єктів, використовуваних для рибогосподарських цілей [7], вміст нафти не повинен перевищувати значень ГДК (0,05 мг/л). У літній період на станціях **f**, **i** відзначалися значення 105 ГДК, а на станції **k** – 285 ГДК. Восени екологічна ситуація перетерпіла зміни в гірший бік. Так, на станції **f** ці значення склали 1020 ГДК. Настільки високі значення рідких вуглеводнів пов'язані, вірогідно, із забрудненням техногенного характеру – надходженням палива при розвантаженні судна «Косатки» в акваторію станції **f** «Старий причал», стоком з суші вуглеводнів поблизу станцій відбору проб **i**, **k** і міграційним потоком вуглеводнів із течією водних мас. Таким чином, можна виділити в акваторії навколо острова Зміїний, зони підвищеного екологічного ризику.

Мінералізація нафтових вуглеводнів — складний процес, що включає в себе біотичні та абіотичні компоненти. При всій розмаїтості процесів, тільки мікроорганізми в змозі провести деструкцію таких забруднювачів до простих сполук і повернути вуглець у кругообіг органічних речовин.

Визначення просторового розподілу бактерій, що здатні окиснювати вуглеводні, пов'язане з необхідністю оцінки потенціалу біодеградації мікробного угруповання акваторії острова Зміїний. Результати мікробіологічного аналізу проб морської води показали, що гетеротрофні бактерії, виділені з поверхневого шару морської води, здатні використовувати вуглеводні нафти як єдине джерело вуглецю й енергії (рис. 3).

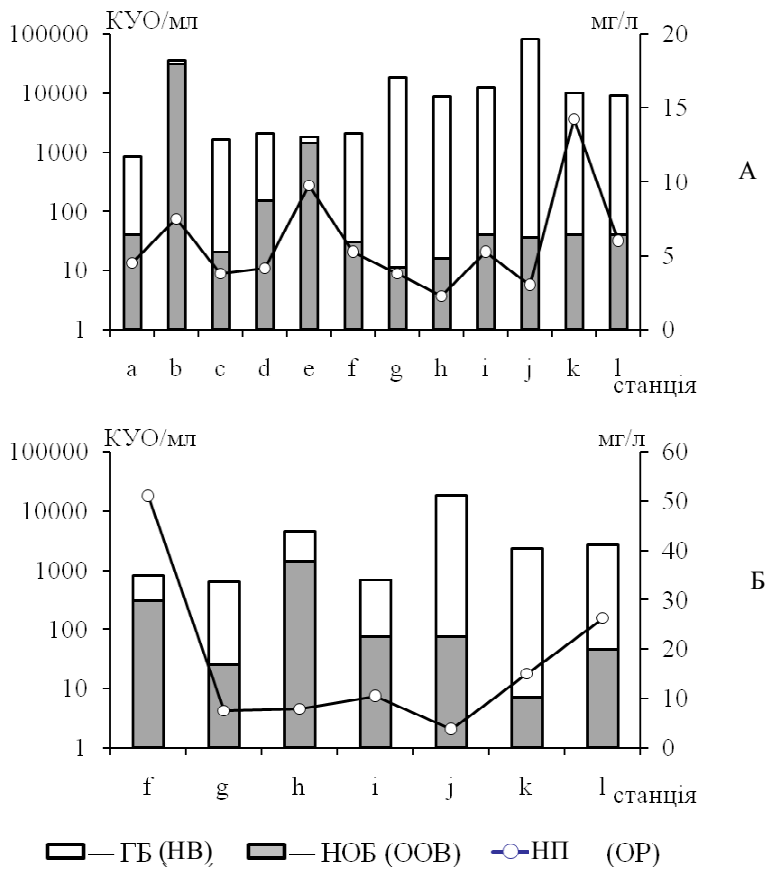


Рис. 3. Співвідношення нафтопродуктів (НП) й чисельності гетеротрофних (ГБ) і бактерій, що окиснюють нафтопродукти (НОБ) у морській воді навколо острова Зміїний влітку (А) й восени (Б).

Fig. 3. Correlation of oil products (OP) with heterotrophic number (HN) and oil products oxidizing bacteria (OOB) in seawater around the Zmiinyi island in summer (A) and in autumn (B).

Влітку кількість досліджуваних бактерій у поверхневому шарі прибіжної зони становила від 11 до 40 КУО/мл, а у віддаленій зоні відзначалося від 20 до 30000 КУО/мл бактерій, що окиснюють нафту. В середньому найменші значення чисель-

ності цих мікроорганізмів були відмічені в жовтні, що можна, вірогідно, пояснити зниженням температури морської води до 16 °С.

Виявлена неоднорідність у розподілі гетеротрофних бактерій і бактерій, що окиснюють нафту, яка залежала від цілого ряду екологічних факторів, у тому числі від місця відбору проб, гідрологічних і гідрохімічних показників, віддаленості від джерел забруднення.

Однак поза залежністю від періоду спостережень і розташування станцій відзначено в цілому перевагу чисельності гетеротрофів над бактеріями, що окиснюють нафту, які склали в середньому 2 % влітку й 18 % восени від чисельності гетеротрофних бактерій, за винятком даних, отриманих для бактерій зі станцій **e** і **b**. Подібна тенденція відзначалась у дослідженнях Каспійського моря й інших районів Чорного моря [1, 6]. Показана також відсутність залежності між рівнем забруднення акваторії нафтовими вуглеводнями й чисельністю бактерій, що окиснюють нафту на тлі високої евтрофікації району досліджень.

Даний феномен обговорюється в науковій літературі і пояснюється тим, що бактерії переважніше утилізують більш доступні автохтонні вуглеводні й органічні речовини, що легко окиснюються. При вмісті нафтових вуглеводнів більш 20 мг/л мікроорганізми починають використовувати для свого розвитку нафтові вуглеводні. Іншою особливістю акваторії острова Зміїний є те, що біомаса водоростей, ціанобактерій має токсичні властивості за рахунок високої сорбційної ємності, що дозволяє накопичувати як природні, так і антропогенні нафтові вуглеводні, що підтверджується знаходженням сумарної рослинної органіки (хлорофіл "а", "с", "d", феофорбид та ін.) в екстрактах рідких вуглеводнів практично у всіх пробах. Біомаса бактерій, що окиснюють нафту, також має токсичні властивості за рахунок виділення продуктів метаболізму нафтових вуглеводнів, що негативно впливає на гідробіоти [1, 9].

Дослідження, проведені співробітниками кафедри мікробіології і вірусології в 1994 р. у північно-західній частині Чорного моря показали, що найбільш імовірне число бактерій, що окиснюють нафту коливалося від 14 до 140000 КУО/мл у районі гідрофронтів навпроти каналу Прорва р. Дунай [2]. Вміст нафтових вуглеводнів у цьому районі коливався від фонових (0,3–0,6 мг/л), низьких (1,2–2,4 мг/л) до 4,8–9,6 мг/л у 1998 р. [8]. Отримані раніше й сучасні дані вказують на те, що антропогенне навантаження на цей регіон не знижується.

Проведені вперше еколого-мікробіологічні спостереження поверхневих морських вод у районі острова Зміїний дозволили визначити розподіл і чисельність гетеротрофних бактерій, здатних використовувати вуглеводні нафти.

Проведення систематичних мікробіологічних досліджень прибережних морських вод дозволить одержати більше даних про здатність моря до самоочищення від забруднювачів і більш обґрунтовано прогнозувати можливі наслідки впливу освоєння шельфових нафтогазових родовищ на морську екосистему.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бутаев А. М., Кабыш Н. Ф. О роли нефтеокисляющих микроорганизмов в процессах самоочищения прибрежных вод Дагестанского побережья Каспийского моря от нефтяного загрязнения // Вестник Дагестанского научного центра РАН. — 2002, № 11. — С. 56-69.
2. Іваниця В. А., Худченко Г. В., Панченко Н. Н., Бухтіяров А. Е., Медінец В. І. Мікробіологічні дослідження прибережної частини Чорного моря в районі дельти Дуная і



дельты Днепра. Исследования экосистемы Черного моря // Сб. науч. труд. Укр. науч. цент. экол. моря. — Одесса: ИРЭН, 1994. — С. 54 — 67.

3. *Лакин Г. Ф.* Биометрия. — М.: Высш. шк., 1990. — 352 с.

4. Методические основы комплексного экологического мониторинга океана / Под. ред. А. В. Цыбань. — М.: Гидрометеиздат, 1988. — 287 с.

5. *Нестерова М. Т., Немировская И. А.* Определение нефтепродуктов в морской воде // Методы гидрохимических исследований океана. — М.: Наука, 1978. — 233 с.

6. *Осадчая Т. С., Шадрин Т. В., Енина Л. В., Сосновская Р. В.* Нефтяное загрязнение и микрофлора донных осадков // Экология моря. — 2007. — в. 73. — С. 75 — 78.

7. *Перечень* рыбохозяйственных нормативов: предельно допустимых концентраций и ориентировочно безопасных уровней воздействия (ОБУВ) вредных веществ для воды водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение. — М.: Издательство ВНИРО, 1999. — 325 с.

8. *Пономарева Л. П.* Методы исследования органических загрязнителей в природных объектах морской среды // Екологічні проблеми водних екосистем та забезпечення безпеки життєдіяльності на водному транспорті. — Одеса, 2001. — С. 134-136.

9. *Bordenave S., Soledad Goci-Urriza M., Caumette P., Duran R.* Effects of heavy fuel oil on the bacterial community structure of a pristine microbial mat // Appl. Environ. Microbiol. — 2007. — Vol. 73(19) — P. 6089 — 6097.

Робота виконана в рамках тем № ЗМ/321-2008, ЗМ/323-2008, ДЗ/300-2008, що фінансуються Міністерством освіти і науки України

**Г.В. Лисютин, А.Е. Бухтияров, С.А. Белоиваненко,
Л.П. Пономарева, Т.В. Гудзенко, В.А. Иваница**

Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова, ул. Дворянская, 2,
Одесса, 65082, Украина, тел.: 8 (0482) 68 79 64, e-mail: v_ivanit@te.net.ua

НЕФТЯНОЕ ЗАГРЯЗНЕНИЕ И ГЕТЕРОТРОФНАЯ МИКРОБИОТА АКВАТОРИИ ОСТРОВА ЗМЕИНЫЙ

Реферат

Исследовано общее и фракционное содержимое жидких углеводов, а также пространственное распространение и численность гетеротрофных бактерий в прибрежной зоне острова Змеиный.

К л ю ч е в ы е с л о в а: морская вода, нефтяное загрязнение, бактерии, остров Змеиный.



**G.V. Lisyutin, A.Y. Bukhtiyarov, S.O. Biloivanenko, L.P. Ponomarjova,
T.V. Gudzenko, V.O. Ivanytsya**

Odesa National I. I. Mechnikov University, Dvoryanskaya str., 2, Odesa, 65082,
Ukraine, tel.: 8 (0482) 68 79 64, e-mail: e-mail: v_ivanit@te.net.ua

OIL CONTAMINATION AND HETEROTROPHIC MICROBIOTA OF THE ZMIINY ISLAND AQUATORIUM

Summary

General and fractional content of carbohydrogens and also spatial distribution and number of heterotrophic bacteria in the coastal zone of the Zmiiny island have been investigated.

K e y w o r d s: marine water, oil contamination, bacteria, the Zmiiny island.

