

УДК 574.589;579.222.2

## УГЛЕВОДОРОДОКИСЛЯЮЩИЕ БАКТЕРИИ В ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОМ ТРАКТЕ РЫБ КАК ИНДИКАТОР ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПРИБРЕЖНОЙ МОРСКОЙ СРЕДЫ

© 2020 г. Ю. М. Поляк<sup>1,2,\*</sup>, А. С. Демчук<sup>2</sup>, А. Н. Шаров<sup>1,3</sup>,  
Ю. И. Губелит<sup>4</sup>, Н. А. Березина<sup>4</sup>

Представлено академиком РАН О.Н. Пугачевым

Поступило 06.02.2020 г.

После доработки 06.02.2020 г.

Принято к публикации 06.02.2020 г.

Оценка загрязненности объектов морской среды и биоты углеводородами имеет особенное значение, так как нефтепродукты относятся к числу приоритетных загрязнителей многих морей. Одним из перспективных направлений развития методов интегральной оценки эффектов загрязнения является разработка новых экотоксикологических биомаркеров. Впервые представлены результаты изучения содержания углеводородокисляющих бактерий в пищеварительном тракте прибрежных рыб (колюшек, ельца, густеры, уклеи, окуня, пескаря и плотвы) из восточной части Финского залива Балтийского моря, которые отражают изменения, происходящие в окружающей среде, и указывают на загрязнение воды и донных отложений нефтью и нефтепродуктами. Показано, что относительная численность углеводородокисляющих бактерий в пищеварительном тракте рыб является эффективным, чувствительным и доступным индикатором загрязнения, и может быть использована в мониторинге для оценки экологической ситуации в водных экосистемах.

**Ключевые слова:** нефть, нефтепродукты, биodeградация, микроорганизмы, колюшка, Финский залив, Балтийское море

**DOI:** 10.31857/S2686738920020213

В настоящее время многие водные экосистемы испытывают повышенную антропогенную нагрузку, связанную с загрязнением природных вод нефтью и нефтепродуктами (НП). Оценка загрязненности отдельных объектов морской среды и биоты углеводородами (УВ) имеет особенное значение, в связи с ростом темпов освоения нефтегазовых месторождений арктических и дальневосточных морей. Данная проблема необычайно актуальна и для регионов с активной хозяйствен-

ной деятельностью, таких как восточная часть Финского залива Балтийского моря, где расположены два крупнейших в Европе нефтеналивных терминалов [1]. Мелководная прибрежная зона, вблизи портов, гаваней и городов наиболее подвержена нефтяному загрязнению [2]. В Финском заливе, транспортировка значительных объемов нефти и близость мегаполиса Санкт-Петербурга создают условия, способствующие загрязнению акватории.

Поступающие в воду НП накапливаются в донных отложениях, вызывая вторичное загрязнение, которое может привести к экологическим последствиям, в том числе, оказывать негативное воздействие на водные организмы [3]. Растворенные фракции нефти токсичны для рыб уже в очень низких концентрациях (0.0002–0.01 мг/л); ранние стадии онтогенеза рыб являются самыми уязвимыми к действию НП, эффекты выражаются в снижении выживаемости и замедлении роста. По критериям экологической опасности: токсичности, генотоксичности, канцерогенности и распространенности в донных отложениях НП

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский научно-исследовательский центр экологической безопасности  
Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский государственный университет,  
Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup> Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанова  
Российской академии наук, Борок, Ярославская обл.,  
Россия

<sup>4</sup> Зоологический институт Российской академии наук,  
Москва, Россия

\*e-mail: yuliapolyak@mail.ru

**Таблица 1.** Численность УВ-окисляющих бактерий (%) в донных отложениях и пищеварительном тракте рыб, обитающих в прибрежной зоне восточной части Финского залива

| Станция | Елец<br><i>Leuciscus leuciscus</i> | Густера<br><i>Blicca bjoerkna</i> | Трехиглая колюшка<br><i>Gasterosteus aculeatus</i> | Девятииглая колюшка<br><i>Pungitius pungitius</i> | Уклейка<br><i>Alburnus alburnus</i> | Окунь<br><i>Perca fluviatilis</i> | Пескарь<br><i>Gobio gobio</i> | Плотва<br><i>Rutilus rutilus</i> | Донные отложения |
|---------|------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------------------------|---------------------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|------------------|
| S1      | 39.7 ± 5.7                         |                                   | 47.4 ± 6.0                                         | 30.5 ± 7.9                                        | 6.1 ± 1.3                           |                                   | 4.3 ± 2.4                     | 56.2 ± 8.6                       | 10.6 ± 1.3       |
| S2      |                                    | 1.1 ± 0.3                         | 0.2 ± 0.1                                          |                                                   |                                     |                                   |                               |                                  | 1.0 ± 0.4        |
| S3      |                                    |                                   |                                                    |                                                   | 16.2 ± 3.5                          |                                   |                               | 7.4 ± 4.3                        | 3.4 ± 0.5        |
| S4      | 1.0 ± 0.4                          |                                   | 9.2 ± 1.3                                          |                                                   | 7.2 ± 2.0                           |                                   |                               |                                  | 8.3 ± 2.1        |
| S5      |                                    |                                   | 2.5 ± 0.6                                          |                                                   |                                     |                                   |                               |                                  | 3.2 ± 0.5        |
| S6      |                                    |                                   |                                                    |                                                   |                                     | 0.2 ± 0.1                         |                               |                                  | 4.1 ± 0.3        |
| S7      | 13.3 ± 2.5                         | 7.6 ± 2.2                         |                                                    |                                                   |                                     | 0.3 ± 0.1                         |                               | 6.0 ± 0.8                        | 8.0 ± 1.0        |
| S8      | 5.8 ± 1.2                          |                                   | 1.2 ± 0.9                                          |                                                   |                                     | 0.4 ± 0.2                         |                               | 1.7 ± 0.4                        | 1.7 ± 0.2        |
| S9      |                                    |                                   | 12.7 ± 1.8                                         | 4.8 ± 1.1                                         | 1.2 ± 0.7                           |                                   | 12.8 ± 5.2                    | 11.4 ± 3.3                       | 9.3 ± 0.8        |
| S10     | 4.1 ± 0.3                          |                                   |                                                    |                                                   |                                     |                                   |                               |                                  | 3.1 ± 0.4        |

относятся к числу приоритетных среди загрязняющих веществ в Балтийском море. Заметные функциональные изменения наблюдаются у бентосных организмов при 0.1–1 г/кг нефти в донных отложениях, а при более высоком содержании (>1 г/кг) могут отмечаться летальные эффекты [4].

Оперативным методом контроля, позволяющим охарактеризовать экологическую ситуацию в водных экосистемах, является микробная индикация. В основе метода лежит оценка степени доминирования микроорганизмов, способных к биодegradации загрязняющих веществ. Биодegradация НП — основной и наиболее надежный способ их удаления из окружающей среды, происходит благодаря углеводородокисляющим микроорганизмам [5, 6]. В силу своей способности утилизировать различные УВ, углеводородокисляющие бактерии играют важную роль в морской среде, причем скорость процессов окисления УВ микроорганизмами может в десятки раз превышать скорость их самоокисления.

Загрязнение воды нефтепродуктами приводит к увеличению численности УВ-окисляющих бактерий, как в сообществе водных микроорганизмов, так и в микробиоте морских животных — рыб, моллюсков, ракообразных [7]. Накапливаясь в организмах различных трофических уровней, УВ нарушают процессы жизнедеятельности морских организмов. Особое значение имеет воздействие УВ на микробиоту пищеварительного тракта животных, которое проявляется в измене-

нии состава микробного сообщества и вызывает дальнейшие изменения в организме [8, 9].

Способностью разлагать и утилизировать УВ обладают многие виды бактерий, обитающих в почве и донных отложениях, однако адаптационные возможности микроорганизмов пищеварительной системы водных животных к загрязнению НП пока изучены недостаточно [10, 11]. Целью настоящих исследований являлось изучение особенностей содержания углеводородокисляющих бактерий в пищеварительной системе рыб, и возможности использования данного индикатора для оценки экологической ситуации в прибрежной зоне Балтийского моря и других экосистем, загрязненных нефтью и нефтепродуктами.

Отбор проб проводили в период с мая по сентябрь 2019 г. на 10 станциях наблюдения, расположенных в восточной части Финского залива Балтийского моря (рис. 1). Образцы рыб отбирали равнокрылым мальковым неводом и транспортировали в лабораторию при температуре 4°C. Микробиологический анализ проводили в течение 24 ч после отбора проб. Количество микроорганизмов определяли методом посева на агаризованные питательные среды [12]. Гетеротрофные бактерии высевали на среду на основе панкреатического гидролизата рыбной муки (ГРМ-агар), углеводородокисляющие бактерии — на среду Ворошиловой—Диановой. Численность углеводородокисляющих бактерий выражали в процентах к общему числу гетеротрофов. Анализ нефтепродуктов проводили флуориметрическим методом

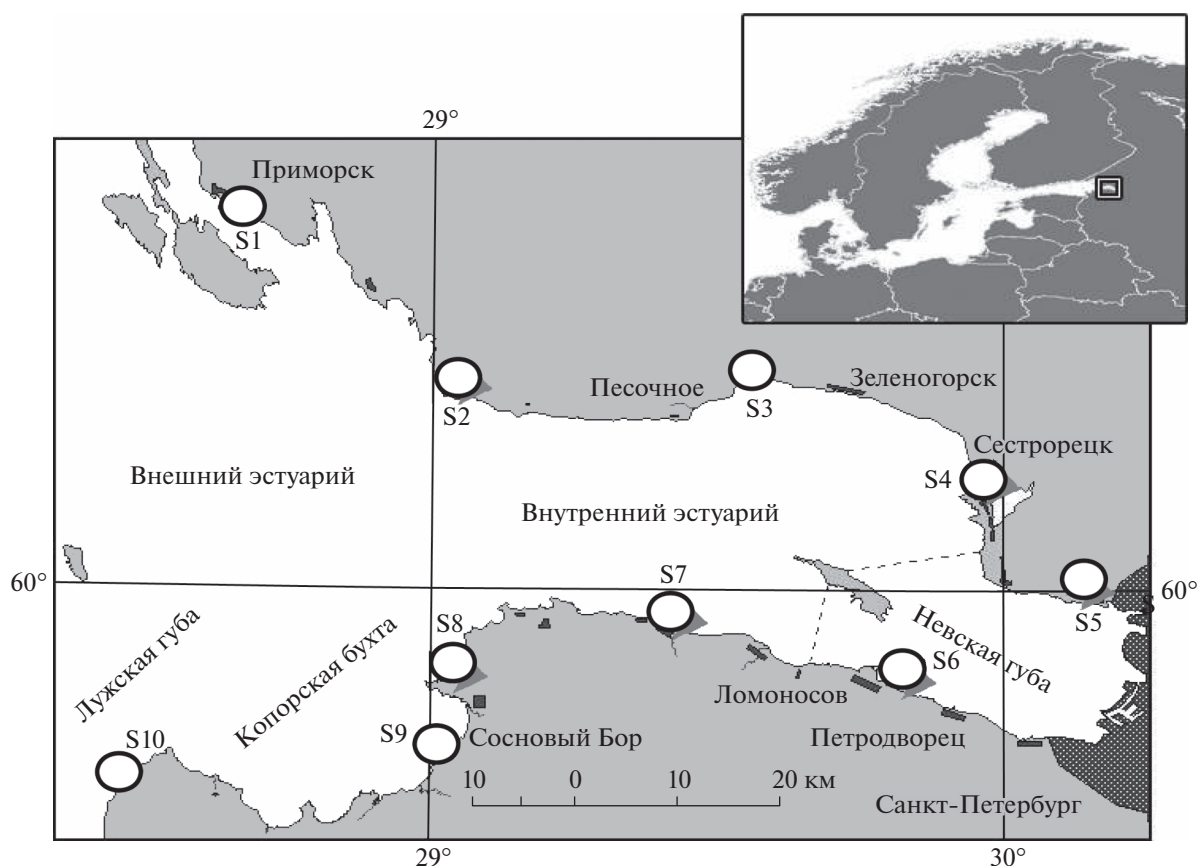


Рис. 1. Карта-схема восточной части Финского залива и станций наблюдения в 2019 г.

(ПНД Ф 16.1:2.21-98). Анализ полиароматических углеводородов проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (МВИ ФР.1.31.2004.01279). Статистический анализ выполняли в программе Statistica 10.0.

Проведенные исследования показали, что значительную часть микробиоты пищеварительного тракта многих рыб составляют УВ-окисляющие бактерии. Количество УВ-окисляющих бактерий различалось на разных станциях отбора проб и у различных видов рыб, и варьировало в интервале от 0.2 до 56.2% от общей численности гетеротрофных бактерий (табл. 1).

Наиболее высокая численность УВ-окисляющих бактерий (>30%) была выявлена в районе станции S1 в пищеварительном тракте трехиглой колюшки, девятииглой колюшки, плотвы, ельца. В донных отложениях станции S1 количество УВ-окисляющих бактерий было также повышено, но в меньшей степени (10.6%). Учитывая более высокую численность бактерий в пищеварительном тракте рыб, по сравнению с микробиотой воды и донных отложений, такой индикатор загрязнения может быть чувствительнее других биомаркеров [11].

Повышенная антропогенная нагрузка на данную часть побережья была подтверждена и результатами химического анализа. Наиболее высокий уровень загрязнения полициклическими ароматическими углеводородами — более 900 мкг/кг, был выявлен в донных отложениях станции S1, расположенной вблизи крупного морского порта Приморск и нефтеналивного терминала порта Высоцк (табл. 2). В мышцах рыб содержание нефтепродуктов на всех изученных станциях не превышало 0.05 г/кг, что ниже порога отрицательного влияния на их организм. Однако содержание полиароматических углеводородов превышало норму в рыбах на ст. S4 и S8, а также в донных отложениях на ст. S1, S6 и S7.

Высокая численность УВ-окисляющих бактерий (11.4–16.2%) в пищеварительном тракте отдельных видов рыб (трехиглой колюшки, пескаря, плотвы, уклейки, ельца) была выявлена на станциях наблюдения S3, S7, S9 (табл. 1). В водных экосистемах численность УВ-окисляющих бактерий, превышающая 10% от общего числа гетеротрофов, рассматривается как показатель постоянного загрязнения нефтепродуктами [13].

На ряде станций наблюдения (S2, S5, S10) численность УВ-окисляющих бактерий в пищевари-

**Таблица 2.** Содержание флуорантена (FLU) и суммы 16-ти полиароматических углеводородов ( $\Sigma 16\text{ПАУ}$ ) в рыбах и донных отложениях на изученных станциях (мкг/кг)

| Станция | Рыбы (мышцы) |                         | Донные отложения |                       |
|---------|--------------|-------------------------|------------------|-----------------------|
|         | FLU          | $\Sigma 16\text{ПАУ}^*$ | FLU              | $\Sigma 16\text{ПАУ}$ |
| S1      | 2            | 2                       | 1.4              | <b>971</b>            |
| S2      | 4            | 4                       | 0.3              | 59                    |
| S3      | 2            | 2                       | <0.1             | 35                    |
| S4      | 4            | <b>6</b>                | <0.1             | 45                    |
| S5      | <1           | 1                       | 0.15             | 41                    |
| S6      | <1           | 1                       | 2.1              | <b>239</b>            |
| S7      | <1           | 1                       | <0.1             | <b>344</b>            |
| S8      | 2            | <b>10</b>               | 0.18             | 67                    |
| S9      | 2            | 2                       | 1.7              | 60                    |
| S10     | <1           | 1                       | 5                | 59                    |

\* $\Sigma\text{ПАУ} > 5$  мкг/кг сырой массы свидетельствует о повышенном уровне загрязнения.

тельном тракте была низкой и составляла от 0.2 до 5% от общего числа гетеротрофов. Содержание ПАУ в донных отложениях вышеперечисленных станций не превышало 60 мкг/кг. Наименьшая численность углеводородокисляющих бактерий – 1% и менее, в пищеварительном тракте рыб и донных отложениях, зафиксирована на станции наблюдения S2 (мыс Флотский), наиболее удаленной, по сравнению с другими станциями, от источников антропогенного воздействия.

Микробиота пищеварительной системы водных организмов находится под постоянным воздействием различных токсичных соединений, в том числе загрязняющих веществ, которые попадают в организм из окружающей среды. Углеводородокисляющие микроорганизмы используют углеводороды нефти и нефтепродуктов в качестве единственного источника углерода и осуществляют биodeградацию поллютантов, способствуя тем самым снижению токсического эффекта. Относительная численность углеводородокисляющих бактерий в пищеварительном тракте рыб отражает изменения, происходящие в окружающей среде, и указывает на загрязнение воды и донных отложений нефтью и нефтепродуктами. Простота и доступность данного метода оценки состояния окружающей среды позволяют рекомендовать его в качестве эффективного метода биоиндикации загрязнения прибрежных экосистем нефтью и нефтепродуктами.

## ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке Программы приграничного сотрудничества Россия–Эстония 2014-2020 (проект ER90 HAZLESS) и Минобрнауки России (по темам АААА-А19-119020190122-6 и АААА-А19-119020690091-0).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Поляк Ю.М., Губелит Ю.И., Шигаева Т.Д., и др. Мониторинг Финского залива Балтийского моря: влияние антропогенных факторов на биогеохимические процессы в прибрежной зоне // Проблемы экологического мониторинга и моделирования экосистем. 2018. Т. XXIX. № 2. С. 99–117.
2. Немировская И.А. Нефть в океане (загрязнение и природные потоки). М.: Научный мир, 2013. 432 с.
3. Polyak Y., Shigaeva T., Gubelit Y., et al. Sediment microbial activity and its relation to environmental variables along the eastern Gulf of Finland coastline // J. Mar. Sys. 2017. V. 171. P. 101–110.
4. Патин С.А. Экологические проблемы освоения нефтегазовых ресурсов морского шельфа. М.: Изд-во ВНИРО, 1997. 349 с.
5. Das N., Chandran P. Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: an overview // Bio-technol. Res. Int. 2011. V. 11. P. 1–13.
6. Xue J., Yu Y., Bai Y., et al. Marine oil-degrading microorganisms and biodegradation process of petroleum hydrocarbon in marine environments: a review // Curr. Microbiol. 2015. V. 71. P. 220–228.
7. Šyvokienė J., Butrimavičienė L. Aquatic organisms and petroleum hydrocarbon degrading bacteria associated with their digestive system // Environ. Res. Eng. Man. 2013. V. 4 (66). P. 6–19.
8. King S.C., Johnson J.E., Haasch M.L., et al. Summary results from a pilot study conducted around an oil production platform on the Northwest Shelf of Australia // Mar. Pollut. Bull. 2005. V. 50. P. 1163–1172.
9. Šyvokienė J., Mickėnienė L. Impact of crude oil on bacteriocenosis of the digestive tract of mollusks // Environ. Toxicol. 2004. V. 19 (4). P. 421–424.
10. Haritash A.K., Kaushik C.P. Biodegradation aspects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): a review // J. Hazard. Mater. 2009. V. 169 (1–3). P. 1–15.
11. Karami A., Christianus A., Ishak Z., et al. Use of intestinal *Pseudomonas aeruginosa* in fish to detect the environmental pollutant benzo[a]pyrene // J. Hazard. Mater. 2012. V. 15 (215–216). P. 108–114.
12. Кузнецов С.И., Дубинина Г.А. Методы изучения водных микроорганизмов. М.: Наука, 1989. 286 с.
13. Vestal R., Conney J.J., Crow S., et al. The effect of hydrocarbons on aquatic microorganisms. In: Atlas R.M. (ed.). Petroleum microbiology. New York: Macmillan Publishing Co., 1984. P. 475–501.

## HYDROCARBON-OXIDIZING BACTERIA IN THE DIGESTIVE SYSTEM OF FISH AS AN INDICATOR OF COASTAL POLLUTION

Y. M. Polyak<sup>a,b,#</sup>, A. S. Demchuk<sup>b</sup>, A. N. Sharov<sup>a,c</sup>, Y. I. Gubelit<sup>d</sup>, and N. A. Berezina<sup>d</sup>

<sup>a</sup> *Institution of Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg Scientific-Research Centre for Ecological Safety of Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg, Russian Federation*

<sup>b</sup> *Saint-Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russian Federation*

<sup>c</sup> *Papanin Institute for Biology of Inland Waters of the Russian Academy of Sciences, Borok, Yaroslavl region, Russian Federation*

<sup>d</sup> *Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg, Russian Federation*

<sup>#</sup> *e-mail: yuliapolyak@mail.ru*

Presented by Academician of the RAS O.N. Pugachev

Assessment of pollution of marine environment and biota with hydrocarbons is of particular importance, since oil products are among the priority pollutants of many seas. Development of new ecotoxicological biomarkers is one of the promising methods of integrated assessment of pollution effects. For the first time, the abundance of hydrocarbon-oxidizing bacteria in the digestive system of coastal fish (stickleback, dace, white bream, common bleak, perch, gudgeon, and roach) from the eastern Gulf of Finland, Baltic Sea was investigated. The results reflect changes occurring in the environment, and indicate contamination of water and sediments with oil and oil products. The relative abundance of hydrocarbon-oxidizing bacteria in the digestive tract of fish is an effective, sensitive and low-cost indicator of environmental pollution that can be used in monitoring and environmental impact assessment of the aquatic ecosystems.

**Keywords:** oil, oil products, biodegradation, microorganisms, stickleback, Gulf of Finland, Baltic Sea