

ЭКОЛОГИЯ МОРЯ



13
—
1983

ВЛИЯНИЕ БИОСИСТЕМЫ МОРСКИХ МИКРООРГАНИЗМОВ НА СОДЕРЖАНИЕ НЕФТЕПРОДУКТОВ В МОРЕ

Установлено, что в Черном и других морях нефтеокисляющие (или углеводородокисляющие) бактерии разлагают нефти и нефтепродукты. Из морской воды и донных грунтов юго-западной части Крыма выделено 138 культур окисляющих нефть бактерий, из которых 55 росли на минеральной среде с нефтепродуктами или нефтью. В морской воде преобладали бактерии родов *Pseudobacterium*, *Micrococcus*, *Sarcina*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Bacterium*, *Vibrio*, *Spirillum* и *Bacillus*, а в грунтах родов *Pseudomonas*, *Bacterium*, *Pseudobacterium*, *Vibrio* и *Chromobacterium* [3].

Экспериментальными исследованиями показано, что нефть по-разному влияет на жизнедеятельность ряда диатомовых водорослей. Диатомеи *Nitzschia closterium* и *Melosira moniliformis* малочувствительны к нефти и ее продуктам. В то же время микроводоросли *Ditylum brightwellii* погибали уже при малой ее концентрации. Часто малые концентрации нефти и 12%-ные экстракты из нее стимулировали развитие диатомей [4]. Удалось установить также, что в деструкции даже тяжелых нефтяных фракций (например, нефтяные комки) основную роль играют бактерии [6].

Бактерии, окисляющие нефть, входят в группу гетеротрофных микроорганизмов — основных минерализаторов органического вещества в морях и океане. Обитают они в толще воды — от поверхности до дна, на частицах взвеси, на погруженных в море предметах и в донных грунтах. Вместе с бактериями обычно живут диатомовые водоросли, образуя сообщества микроорганизмов.

Целью работы было в природном эксперименте выявить связи биосистемы морских микроорганизмов с продуктами нефти в море и определить видовой состав бактерий, окисляющих нефть.

Материалы и методы. К изучаемой биосистеме относили сообщества микроорганизмов планктона — СМП, перифитона — СПМ и взвеси — СМВ. В составе этих сообществ определяли следующие биотические параметры: живые и мертвые диатомовые водоросли, гетеротрофные бактерии, культивируемые на разведенной агарово-белковой среде, а также относящиеся к гетеротрофным — нефтеокисляющие бактерии, которые развиваются на средах с нефтепродуктами. Кроме того, изучались метаболиты микроорганизмов: концентрация растворенного органического вещества (РОВ) и pH морской воды, трансформированные микроорганизмами после двухчасового взаимодействия с СПМ и СМВ в лабораторных условиях. В тексте статьи эти параметры обозначены РОВ СМВ (или РОВ СПМ), pH СПМ (или pH СМВ).

В окружающей морской воде измеряли и абиотические параметры: содержание нефтепродуктов, pH, концентрацию РОВ, нитраты и нитриты, фосфор общий и минеральный, кислород. Указанные наблюдения проводили в Севастопольской бухте в течение 14 месяцев 1979—1980 гг. Методы наблюдений были описаны раньше [1].

Учет нефтеокисляющих бактерий и определение содержания нефтепродуктов в море производила Р. В. Сосновская по методикам работ [2, 5], а содержание нитратов, нитритов, фосфора и кислорода в морской воде определяла М. В. Кирикова, за что авторы им благодарны.

Видовой состав нефтеокисляющих бактерий СМП, СПМ и СМВ (а для сравнения с данными работы [3] — также из донных осадков) определяли по руководству Берджи [8, 9].

Числовые данные наблюдений обработаны методами корреляционного анализа. Для этого было вычислено 80 парных корреляций, из которых достоверными оказались 14. При последующем вычислении 27 частных корреляций были использованы некоторые парные корреляции, по величине меньшие, чем $r_{\min}$ для $n = 14$ (n — число наблюдений).

Результаты. В ходе кривых годовой динамики численности нефтеокисляющих и гетеротрофных бактерий СМП обнаруживаются по три общих максимума, наступающих в одни и те же месяцы. Кривые изменения числа бактерий СМВ имеют по два общих пика, а в числе бактерий СПМ — только по одному (рис. 1).

Динамика численности живых диатомовых водорослей СМП, СПМ и СМВ за год характеризуется четырьмя максимумами, наступающими для каждого из сообществ в различные сезоны года, поэтому четкой зависимости в ходе кривых микроводорослей не наблюдается (рис. 2).

Корреляционный анализ дал более четкое представление о статистических связях в изучаемой биосистеме:

Коррелирующие параметры	Коэффициент парной корреляции r
Нефтепродукты и РОВ морской воды	0,532
Нефтепродукты и рН СПМ	0,561
Нефтепродукты и кислород морской воды	0,537
Нефтепродукты и диатомовые живые водоросли СМП	0,631
Нефтеокисляющие бактерии СМП и СПМ	0,581
Нефтеокисляющие и гетеротрофные бактерии СПМ	0,626
Нефтеокисляющие и гетеротрофные бактерии СМВ	0,678
Нефтеокисляющие бактерии и РОВ СМВ	0,630
Гетеротрофные бактерии СПМ и СМП	0,784
рН СПМ и кислород	0,700
Фосфор минеральный и кислород	-0,595
рН СМВ и температура морской воды	0,867
Диатомовые водоросли СПМ (живые и мертвые)	0,953
Диатомовые живые СПМ и кислород	0,728
$n=14,$	$r_{\min}=0,530$

Парными корреляциями выявлены корреляционные связи нефтеокисляющих бактерий СПМ и СМВ с гетеротрофными бактериями этих сообществ. Не обнаружены достоверные корреляционные связи содержания нефтепродуктов с нефтеокисляющими бактериями. От изменения количества этих продуктов в море, как оказалось, зависит только численность живых диатомовых водорослей планктона (СМП). В то же время концентрация нефтепродуктов коррелирует с содержанием РОВ, изменением концентрации кислорода и рН СПМ. Выявлен также ряд корреляций изучаемых параметров между собой.

Достоверных корреляций нитритов, нитратов и общего фосфора с основными параметрами не обнаружено, т. е. значение этих параметров в изучаемой системе второстепенно.

Вычисление частных корреляций позволило уточнить полученные данные (таблица). Выяснилось, что РОВ морской воды, рН СПМ и кислород примерно в одинаковой мере воздействуют на содержание нефтепродуктов в море. На связь продуктов нефти с нефтеокисляющими бактериями влияет рН СПМ, и эти продукты зависят от кислорода в большей степени, чем от температуры воды. Содержание нефтепродуктов связано с мертвыми диатомовыми водорослями более тесно, чем с живыми.

Было проведено определение видового состава бактерий, окисляющих нефть, результаты которого следующие:

Из воды	Штамм
<i>Vibrio comma</i> (Schroeter) Bergey et al.	4-B
<i>Micrococcus galophilus</i> Bergey et al.	
<i>Pseudomonas periphyta</i> ZoBell and Upham	
<i>M. varians</i> Migula	
<i>Ps. membranula</i> ZoBell and Upham	
<i>Achromobacter sinuosus</i> (Wright) Bergey et al.	
<i>Ps. radiobacter</i> Bergey et al.	
Из взвеси	
<i>Vibrio comma</i> (Schroeter) Bergey et al.	1-A
<i>V. comma</i> (Schroeter) Bergey et al.	11-C
<i>V. comma</i> (Schroeter) Bergey et al.	12-C
Из перифитона	
<i>Vibrio liquefaciens</i> (Migula) Bergey et al.	19-E
<i>V. comma</i> (Schroeter) Bergey et al.	
Из донных осадков	
<i>Vibrio aquatilis</i> Günther	
<i>V. comma</i> (Schroeter) Bergey et al.	13-D
<i>Achromobacter geniculatum</i> (Wright) Bergey et al.	

На всех изучаемых биотопах встречались бактерии *Vibrio comma* различных штаммов. Вибрионы в СМВ и СПМ были единственными представителями бактерий. В донных осадках доминировали бактерии рода *Vibrio*. В СМП состав бактериальных форм был иной: преобладали микроорганизмы родов *Micrococcus* и *Pseudomonas*.

Обсуждение результатов. Корреляционная связь содержания нефтепродуктов с изменением численности живых диатомовых СМП, с одной стороны, может свидетельствовать о влиянии нефтепродуктов на живых диатомовых сообществах планктона в море, а с другой — о воздействии диатомей СМП на содержание нефтепродуктов. Оказывается, если нефтепродукты определяют элюированием морской воды хлороформом или четыреххлористым углеродом, а затем после отгонки растворителей измеряют осадок, то в него переходят не только аллохтонные нефтепродукты, но также липиды и другие жироподобные автохтонные вещества, продуцируемые морскими микроводорослями, в особенности фитопланктонными.

В ряде случаев, по-видимому, в Севастопольской бухте автохтонные липиды могут доминировать над содержанием нефтепродуктов. Об этом свидетельствуют обнаруженные ранее связи нефти с температурой, соленостью, РОВ СМВ и параметром солнечной энергии [7], характерные для автохтонного компонента морской

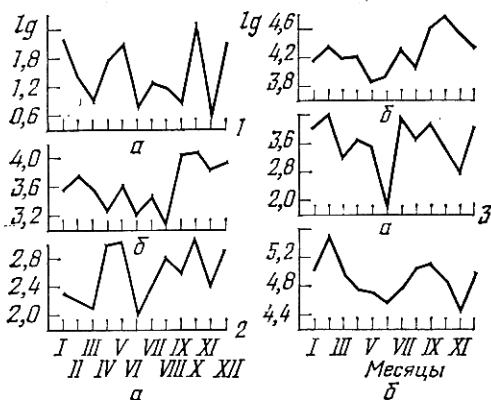


Рис. 1. Динамика численности нефтеокисляющих (а) и гетеротрофных (б) бактерий СМП (1), СПМ (2) и СМВ (3).

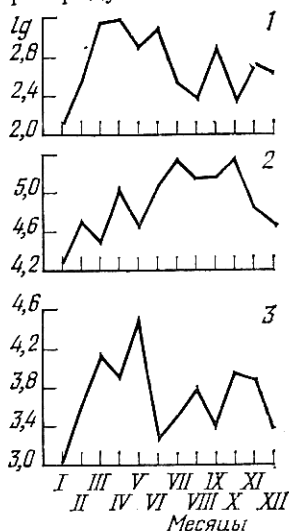


Рис. 2. Динамика численности живых диатомовых водорослей СМП (1), СПМ (2) и СМВ (3).

Результаты расчета корреляции *

Параметр	Коэффициент корреляции		
Нефтепродукты (1), РОВ (2), рН СПМ (6)	$r_{12} = 0,532$ $r_{12,6} = 0,394$	$r_{16} = 0,561$ $r_{16,2} = 0,438$	$r_{26} = 0,429$ $r_{26,1} = 0,187$
Нефтепродукты (1), РОВ (2), кислород (3)	$r_{12} = 0,532$ $r_{12,3} = 0,428$	$r_{13} = 0,537$ $r_{13,2} = 0,437$	$r_{23} = 0,369$ $r_{23,1} = 0,116$
Нефтепродукты (1), кислород (3), рН СПМ (6)	$r_{16} = 0,544$ $r_{16,3} = 0,310$	$r_{13} = 0,537$ $r_{13,6} = 0,250$	$r_{63} = 0,700$ $r_{63,1} = 0,578$
Нефтепродукты (1), рН СПМ (6), нефтеокисляющие бактерии СПМ (7)	$r_{17} = -0,428$ $r_{17,6} = -0,243$	$r_{16} = 0,544$ $r_{16,7} = 0,459$	$r_{76} = -0,440$ $r_{76,1} = 0,266$
Нефтепродукты (1), фосфор минеральный (4), рН СПМ (6)	$r_{16} = 0,544$ $r_{16,4} = 0,488$	$r_{14} = -0,339$ $r_{14,6} = -0,204$	$r_{46} = -0,325$ $r_{46,1} = -0,178$
Нефтепродукты (1), кислород (3), фосфор минеральный (4)	$r_{14} = -0,339$ $r_{14,3} = 0,280$	$r_{13} = 0,537$ $r_{13,4} = 0,446$	$r_{43} = -0,595$ $r_{43,1} = -0,520$
Нефтепродукты (1), кислород (3), температура морской воды (5)	$r_{13} = 0,537$ $r_{13,5} = 0,465$	$r_{15} = -0,354$ $r_{15,3} = -0,186$	$r_{35} = -0,385$ $r_{35,1} = -0,247$
Нефтепродукты (1), диатомовые СПМ: живые (8) и мертвые (9)	$r_{18} = -0,363$ $r_{18,9} = 0,003$	$r_{19} = -0,383$ $r_{19,8} = 0,135$	$r_{89} = 0,953$ $r_{89,1} = 0,942$

* Для каждой группы из трех параметров в первой строке приведены парные корреляции, во второй — частные.

среды, а не для принесенных извне нефти и ее продуктов. На автотрофность параметра «нефтепродукты» указывают также четко выявленные нами совместно с И. И. Крышевым (с помощью анализа по Фурье) период и фаза в многолетнем ходе динамики содержания нефтепродуктов в изучаемой акватории моря.

Следовательно, положительную корреляцию живых диатомовых СПМ с нефтепродуктами можно объяснить тем, что с увеличением численности диатомовых в планктоне увеличивается количество жировых веществ, образующих ими. Часть их неминуемо попадает в воду при гибели и разложении микроводорослей, увеличивая или даже составляя в основном концентрацию «нефтепродуктов» в морской воде.

Судя по почти тесной корреляции нефтеокисляющих бактерий СПМ и СМВ, а также последних с гетеротрофными бактериями СПМ и СМВ, что мы отмечали выше, бактерии, окисляющие нефть, тесно связаны с гетеротрофными.

Кроме того, мы имеем все основания считать, что нефть окисляется в основном на погруженных твердых предметах и частицах взвеси в море. Поверхность этих предметов и морская взвесь, очевидно, способствуют использованию бактериями продуктов нефти на границе раздела фаз: вода — твердое (или плотное) тело.

В подтверждение изложенного можно привести эксперимент К. Э. Зобелла и др. [10], в котором было доказано, что углеводороды нефти начинали потребляться бактериями в жидкой среде **только** при добавлении в нее песка или измельченного асбеста.

Выделенные нами из воды и грунта нефтеокисляющие бактерии по родовому составу сходны с бактериями, определенными в тех же биотопах другими авторами [3]. Судя по видовому составу нефтеокисляющих бактерий, минерализацию нефти и ее продуктов на взвеси и в перифитоне осуществляют в основном бактерии рода *Vibrio*. Поскольку этот род доминирует в донных осадках, то, конечно, микробное окисление нефтепродуктов происходит и там.

Поскольку бактерии *Vibrio* сошта в Севастопольской бухте встречались во всех биотопах от поверхности до дна, то этот организм, по-видимому, является одним из основных деструкторов нефтепродуктов в море.

1. Горбенко Ю. А. Экология морских микроорганизмов перифитона.— Киев : Наук. думка, 1977.— 250 с.
2. Лурье Ю. Ю., Рыбникова А. И. Химический анализ производственных сточных вод.— М. : Химия, 1974.— 235 с.
3. Миронов О. Г. Нефтеокисляющие микроорганизмы в море.— Киев : Наук. думка, 1971.— 233 с.
4. Миронов О. Г. Нефтяное загрязнение и жизнь моря.— Киев : Наук. думка, 1973.— 86 с.
5. Миронов О. Г., Кирюхина Л. Н., Кучеренко М. И., Тархова Э. П. Самоочищение в прибрежной акватории Черного моря.— Киев : Наук. думка, 1975.— 143 с.
6. Миронов О. Г., Георга-Копулос Л. А. О самоочищении моря от тяжелых нефтяных фракций.— Гидробиол. журн., 1981, 17, № 1, с. 45—48.
7. Подвинцев Ю. В., Горбенко Ю. А. Структура взаимосвязи параметров Солнца, атмосферы и морской среды.— В кн.: Комплексные исследования Черного моря. Севастополь : Мор. гидрофиз. ин-т АН УССР, 1979, с. 162—179.
8. *Bergey's M. Determinative bacteriology.*— Baltimore : The Williams and Wilkins co, 1948.— 1529 p.
9. *Bergey's M. Determinative bacteriology.*— 2nd ed.— Baltimore : The Williams and Wilkins co, 1957.— 1094 p.
10. ZoBell C. E., Grant C. W., Haas H. F. Marine microorganisms which oxidize petroleum hydrocarbons.— Bull. Amer. Assoc. Petrol. Geol., 1943, 27, N 9, p. 57—62.

Институт биологии южных морей
им. А. О. Ковалевского АН УССР

Поступила в редколлегию
11.11.81

Y u. A. GORBENKO, L. Ya. TATARENKO

EFFECT OF THE MARINE MICROORGANISM BIOSYSTEM ON OIL PRODUCT CONTENT IN THE SEA

Summary

A correlation analysis helped establishing that oil in the Sevastopol bay oxidizes, probably, on suspension particles and on the surface of hard submerged objects. Basing on results of the study one can admit that marine bacteria of the *Vibrio* genus are responsible for this process.