

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ГЛУБОКОВОДНОГО ВЫХОДА НЕФТИ У М. ГОРЕВОЙ УТЕС (СРЕДНИЙ БАЙКАЛ)

Павлова О. Н., Изосимова О. Н., Горшков А. Г., Новикова А. С., Букин С. В., Иванов В. Г., Хлыстов О. М., Земская Т. И.

Аннотация

В работе представлены данные о содержании н-алканов и полициклических ароматических углеводородов в воде и донных осадках, численности и составе культивируемого микробного сообщества в районе нефтепроявления у м. Горевой Утес, установленные в 2016 г. С момента открытия в 2005 г. в динамике развития нефтепроявления отмечены следующие особенности: снижение суммарного содержания нормальных углеводородов и полициклических ароматических углеводородов в нефтяных сликах и донных осадках; частичная деградация нефти, поступающей на водную поверхность; рост и последующее уменьшение численности микроорганизмов в воде и донных отложениях при сохранении структуры культивируемого микробного сообщества. За период с 2006 по 2016 гг. отмечен низкий уровень суммарного содержания и узкий диапазон обнаруженных концентраций н-алканов и полициклических ароматических углеводородов в водной толще, свидетельствующих о сохранении чистоты вод озера в районе нефтепроявления.

Ключевые слова:

Горевой Утес, естественные нефтепроявления, н-алканы, полициклические ароматические углеводороды, биodeградация, микробные сообщества

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ГЛУБОКОВОДНОГО ВЫХОДА НЕФТИ У М. ГОРЕВОЙ УТЕС (СРЕДНИЙ БАЙКАЛ)

**О.Н. Павлова, О.Н. Изосимова, А.Г. Горшков, А.С. Новикова, С.В. Букин,
В.Г. Иванов, О.М. Хлыстов, Т.И. Земская**

Лимнологический институт СО РАН, 664033, Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3, Россия

В работе представлены данные о содержании *n*-алканов и полициклических ароматических углеводородов в воде и донных осадках, численности и составе культивируемого микробного сообщества в районе нефтепроявления у м. Горевой Утес, установленные в 2016 г. С момента открытия в 2005 г. в динамике развития нефтепроявления отмечены следующие особенности: снижение суммарного содержания нормальных углеводородов и полициклических ароматических углеводородов в нефтяных сляках и донных осадках; частичная деградация нефти, поступающей на водную поверхность; рост и последующее уменьшение численности микроорганизмов в воде и донных отложениях при сохранении структуры культивируемого микробного сообщества. За период с 2006 по 2016 гг. отмечен низкий уровень суммарного содержания и узкий диапазон обнаруженных концентраций *n*-алканов и полициклических ароматических углеводородов в водной толще, свидетельствующих о сохранении чистоты вод озера в районе нефтепроявления.

Горевой Утес, естественные нефтепроявления, n-алканы, полициклические ароматические углеводороды, биodeградация, микробные сообщества, оз. Байкал

ВВЕДЕНИЕ

Научная проблема нефтегазоносности оз. Байкал и Байкальской рифтовой зоны берет свое начало с 18 века, с момента описания И.Г. Гmeliным (1833 г.) выходов нефти вдоль восточного берега оз. Байкал [Конторович и др., 2007]. В.Д. Рязановым в 1902–1903 гг. были отмечены многочисленные выходы газа и признаки нефти в виде нефтяных пленок на воде, озокерита и битумов вдоль юго-восточного побережья от станции Боярская до Чивыркуйского залива [Рязанов, 1928]. В 1931–1962 гг. интенсивные геолого-поисковые работы на нефть проводились на территории Бурятии по юго-восточному побережью Байкала. В ходе этих работ были изучены природные выходы нефти: со дна Среднего Байкала с глубины 10–12 м в 300–500 м от берега на участке от м. Облом до ручьев Ключи и Стволовая. Вторая группа выходов нефти располагалась напротив устьев рек Большая и Малая Зеленая [Конторович и др., 2007].

В 2005 г. по спутниковым данным в акватории озера было обнаружено новое нефтепроявление у м. Горевой Утес (Средний Байкал) [Хлыстов и др., 2007]. На поверхности воды площадью около 1 км² были обнаружены многочисленные пятна нефти диаметром до 1 м. Нефть, собранная в момент ее выхода на водную поверхность у м. Горевой Утес в 2005 г., характеризовалась экстремально высоким содержанием *n*-алканов и была идентифицирована как небиodeградирующая парафинистая нефть. В составе нефти выявлен весь спектр нефтяных углеводородов: *n*-алканы, алкилциклогексаны, изопреноиды (пристан, фитан), полициклические ароматические углеводороды (ПАУ),

гопаны, комплекс уникальных молекул биомаркеров [Каширцев и др., 2006; Конторович и др., 2007; Хлыстов и др., 2007; Gorshkov et al., 2006].

В 2008 г. с помощью глубоководных обитаемых аппаратов «Мир» на участках дна в районе разгрузки нефти были обнаружены структуры – «постройки», сложенные из парафиновых нефтяных битумов, через которые происходит высачивание нефти. В местах скопления нефти на ровном участке дна и вблизи построек наблюдалась разгрузка углеводородных газов, в составе которых 99 % приходилось на метан и около 1 % на его гомологи. Гомологи метана характеризовались высокой долей пропана по сравнению с этаном, а также высоким содержанием бутанов, что весьма необычно для современных осадков озера Байкал [Хлыстов и др., 2009; Калмычков и др., 2019].

Количество нефти, поступающей в воды оз. Байкал (до 4 т/год), не сопоставимо с объемами выбросов промышленной нефти в поверхностные воды мирового океана при техногенных катастрофах, как например, при разрушении нефтяной платформы «Deepwater Horizon» в Мексиканском заливе, аварии танкеров «Престиж» и «Solar 1» у берегов Испании и Филиппин, соответственно [Конторович и др., 2007; Хлыстов и др., 2007; Hazen et al., 2010; Vila et al., 2010; Yender, Stanzel, 2011]. Несмотря на постоянную эмиссию нефти, низкие температуры, а также длительный период полного замещения вод Байкала притоками (около 400 лет), выходы нефти локализованы на ограниченных участках в оз. Байкал, что свидетельствует о механизмах самоочищения экосистемы озера [Weiss et al., 1991; Горшков и др., 2010а; Павлова и др., 2012].

Открытие в 2005 г. нового района нефтепроявления стало отправной точкой в исследовании его генезиса, химического состава нефти и структуры микробного сообщества. За период, прошедший с момента открытия (более 10 лет) изучен состав микробных сообществ в водной толще, донных осадках, битумных постройках, определена численность микроорганизмов, окисляющих нормальные углеводороды, нефть и легкодоступное органическое вещество, определен уровень нефтепродуктов в воде озера Байкал и его притоках [Павлова и др., 2008а; Павлова и др., 2008б; Горшков и др., 2010б; Ломакина и др., 2014; Kadnikov et al., 2013; Likhoshvay et al., 2013; Zemskaya et al., 2015].

Цель работы заключалась в оценке состояния глубоководного выхода нефти у м. Горевой Утес в настоящее время, в частности – определение численности и разнообразия культивируемого микробного сообщества, концентрации *n*-алканов и ПАУ в воде и донных осадках исследуемого района.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проведены в 2016 г. в районе естественного нефтепроявления у м. Горевой Утес (10 км от берега, глубина 900 м, Средний Байкал; координаты 53°18'33"с.ш., 108°23'46"в.д.). Отбор проб нефти, воды, донных осадков проводили с борта НИС «Г.Ю. Верещагин» на трех станциях: 1) ст. R-4 и R-5 – в зоне нефтяных пятен на поверхности; 2) ст. R-6 – на участке без нефтяных пятен на поверхности (рис. 1). Отбор проб воды проводили системой батометров SBE 32 Carousel Water Sampler с глубин 0, 5, 200, 400, 600, 800 и 860 м. Нефть, в виде нефтяных slickов на водной поверхности отбирали с помощью стерильного стакана в стеклянные бутылки объемом 1 дм³. Для количественного определения *n*-алканов и ПАУ в водной толще пробы отбирали в стеклянные бутылки объемом 1 дм³. К каждой пробе воды добавляли 50 см³ хлористого метилена, смесь встряхивали и закрывали пробкой с прокладкой алюминиевой фольги, хранили до анализа

при + 5 °С. Донные осадки отбирали на станции (VER-16-01, GC.4) гравитационной трубой с пластиковым вкладышем (рис. 1).

Отбор проб для микробиологического анализа проводили в стерильные флаконы. Учет численности культивируемых углеводородокисляющих микроорганизмов (УВОМ) проводили на агаризованной среде Бушнелла-Хасса [Bushnell, Haas, 1941] посредством инокуляции 1 мл исследуемой пробы с добавлением на поверхность агаризованной среды 70 мкл сырой нефти или *n*-алканов C₁₀H₂₂, C₁₂H₂₆ и C₁₆H₃₄. Сырую нефть (АНХК, г. Ангарск) и реактивы *n*-алканов стерилизовали фильтрованием через фильтр с диаметром пор 0.45 мкм и хранили в стерильных флаконах. Посевы инкубировали при 10 °С в течение 7 дней. Органотрофные бактерии определяли на рыбо-пептонном агаре, разбавленном в десять раз. Посевы инкубировали при 10 °С в течение 7 дней [Павлова и др., 2008а]. Получение чистых культур УВОМ проводили согласно [Ломакина и др., 2009]. Идентификацию выделенных чистых культур углеводородокисляющих микроорганизмов проводили на основании их морфологических и физиолого-биохимических признаков по определителю бактерий Берджи [Garrity et al., 2005а; Garrity et al., 2005б; Vos et al., 2009; Whitman et al., 2012]. На основании сходства морфологических свойств и окраски по Граму чистые культуры были разделены на группы. Для уточнения таксономического положения выделенных штаммов из каждой группы были выбраны наиболее часто встречающиеся штаммы, филогенетический статус которых определен по структуре нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК. Выделение ДНК из чистых культур и филогенетический анализ полученных последовательностей проводили по методу [Rochelle, 1992]. Амплификацию генов 16S рРНК проводили с использованием универсальных бактериальных праймеров (500I/1350r) по методике, описанной ранее [Ломакина и др., 2009]. Полученные последовательности зарегистрированы в GenBank под номерами MG786582–MG786588, MG786759.

Нормальные углеводороды и ПАУ в пробах воды определяли жидко-жидкостной экстракцией в хлористый метилен. Перед экстракцией к пробам воды добавляли 100 мм³ раствора ПАУ (смесь нафталина-d₈, аценафтена-d₁₀, фенантрена-d₁₀, хризена-d₁₂, перилена-d₁₂) в ацетонитриле с концентрацией 5 нг/мм³ каждого полиарена и 200 мм³ раствора сквалана в хлористом метиле с концентрацией 0.332 мкг/мм³. Смесь встряхивали, переносили в делительную воронку объемом 1 дм³, затем добавляли 30 см³ хлористого метилена и встряхивали в течение 3 мин. После расслоения фаз нижний слой хлористого метилена отбирали и экстракцию повторяли новой порцией 30 см³ экстрагента, экстракты объединяли и концентрировали до объема ~ 1 см³. К концентратам добавляли Na₂SO₄ (прокаленный, хч), смесь встряхивали, центрифугировали, супернатант отделяли и переносили во флаконы автодозатора хромато-масс-спектрометра.

Для определения *n*-алканов и ПАУ в донных осадках образцы керна, соответствующие глубинам 0 см, 50 см, 100 см, 250 см и 275 см высушивали при комнатной температуре до постоянного веса, измельчали в ступке до размера частиц менее 0.74 мкм. Затем способом квартования отбирали две навески с массой 2–3 г, к которым добавляли растворы внутренних стандартов 25 мм³ раствора ПАУ и 50 мм³ раствора сквалана. ПАУ и *n*-алканы экстрагировали 15 см³ хлористого метилена в ультразвуковой ванне дважды по 20 мин. Экстракты объединяли и центрифугировали, супернатант отделяли и концентрировали до объема ~ 1 см³ и переносили во флаконы автодозатора хромато-масс-спектрометра.

Подготовленные образцы анализировали на хромато-масс-спектрометре Agilent Technologies 7890B GC System 7000C GC-MS Triple Quad с капиллярной колонкой OPTIMA®-17 ms (30 м × 0.25 мм × 0.25 мкм) в режиме программирования температуры колонки от 50 до 310 °С со скоростью нагрева 20 °С/мин и с выдерживаем колонки в финальной части при температуре 310 °С в течение 35 мин. Температура инжектора 280 °С; температура источника 230 °С; энергия ионизации 70 эВ. Для определения *n*-алканов и ПАУ в колонку хроматографа в режиме без деления потока вводили 2 мм³ образца. Пики аналитов и внутренних стандартов регистрировали в режиме выбранных ионов с *m/z*: 51 и 74 (*n*-алканы), 128, 136, 142, 152, 154, 164, 166, 178, 188, 202, 228, 240, 252, 264, 276 и 278 (ПАУ); и идентифицировали по относительным временам удерживания. Количественное определение проводили по методу внутреннего стандарта, извлечение *n*-алканов и ПАУ составляло не менее 75–80 %, погрешность определения не превышала 15 %.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Водная толща. Анализ поверхностных и глубинных проб воды в районе глубоководного выхода нефти у м. Горевой Утес показал, что углеводороды нефти концентрируются в нефтяных сликах на водной поверхности. В составе нефтяных пятен, собранных на ст. R-4 и R-5, были идентифицированы *n*-алканы, ПАУ и изопреноиды (фитан, пристан); на хроматограммах образцов нефти были зарегистрированы нафтоароматические горбы. Обнаруженный гомологический ряд *n*-алканов нефти от C₁₂ до C₂₉ оценен интервалом суммарного содержания углеводородов ($\Sigma_{\text{алк}}$) от 16 до 36 % (таблица). Ряд ПАУ в нефтяных сликах включал 21 соединение с суммарным содержанием аренов ($\Sigma_{\text{ПАУ}}$) не выходящим за пределы диапазона от 0.05 до 0.07% и количеством бенз[а]пирена – от 5.1 до 6.1 ppm. Необходимо отметить доминирование в составе нефти метилированных гомологов фенантрена, соотношение антрацен/(антрацен + фенантрен) равное 0.04, указывает на петрогенный источник нефти на водной поверхности. В составе сликов отсутствовали выше предела определения (0.05 ppm) высокомолекулярные ПАУ – индено[1,2,3-с,d]пирен, бенз[g,h,i]перилен и дибенз[a,h]антрацен.

В пробах воды фотического слоя (5–200 м, ст. R-4 и R-5) среднее содержание $\Sigma_{\text{алк}}$ не превышало уровня 5.8 мкг/л (рис. 2, а). Гомологический ряд обнаруженных *n*-алканов отличался бимодальным распределением с двумя максимумами при C₁₆ и C₂₆ (рис. 2, б). На глубинах 400–800 м содержание $\Sigma_{\text{алк}}$ снижалось до 1.1 – 2.5 мкг/л, в придонном слое возрастало до 3.7 мкг/л. Состав ПАУ в пробах воды, отобранных с глубин 5–800 м, характеризовался отсутствием бенз[а]пирена (< 0.1 нг/л), содержание $\Sigma_{\text{ПАУ}}$ в водной толще оценено диапазоном значений от 4.8 до 21 нг/л и соотношением антрацен/(антрацен + фенантрен) – интервалом от 0.01 до 0.09.

В поверхностном слое воды (0 м) на участках озера без нефтяных пятен (ст. R-6) количество $\Sigma_{\text{алк}}$ найдено в интервале от 0.35 до 0.94 мкг/л, содержание $\Sigma_{\text{ПАУ}}$ – на уровне 3.9 – 15 нг/л, бенз[а]пирен в исследованных образцах воды не обнаружен. На всех глубинах водной толщи (ст. R-6) концентрация $\Sigma_{\text{алк}}$ не превышала 0.9 мкг/л и было в 2.5 раза меньше, чем в соответствующих пробах, взятых на ст. R-4 и R-5 (рис. 2, а). Содержание ПАУ соответствовало интервалу от 3.9 до 15 нг/л. Следует отметить, что качественный состав нормальных углеводородов и ПАУ в воде сходен с их составом в нефтяных сликах, что предполагает один источник углеводородов – нефте-метановый сип.

Численность культивируемых УВОМ и органотрофных бактерий в водной толще зависела от станции отбора проб. В поверхностном слое воды с нефтяными slickами (ст. R-4 и R-5), количество микроорганизмов было минимальным. Численность углеводородоокисляющих микроорганизмов составляла $2-16 \pm 2$ КОЕ/мл, органотрофов $0-20 \pm 2$ КОЕ/мл. На глубине 5 м повышается численность углеводородоокисляющих микроорганизмов ($170 \pm 14 - 370 \pm 30$ КОЕ/мл) и органотрофов ($160 \pm 13 - 800 \pm 65$ КОЕ/мл). В нижележащих слоях водной толщи численность этих групп микроорганизмов изменялась от 60 ± 5 до 300 ± 30 КОЕ/мл для углеводородоокисляющих бактерий и от 100 ± 8 до 290 ± 23 КОЕ/мл для органотрофов (рис. 3, а, б).

Наибольшее количество исследуемых микроорганизмов выявлено на ст. R-6. Максимум численности органотрофных бактерий (1380 ± 140 КОЕ/мл), а также окисляющих *n*-алканы (до 1000 ± 103 КОЕ/мл) и нефть (до 500 ± 61 КОЕ/мл) отмечены в подповерхностном слое воды (5 м). В водной толще преобладали органотрофные бактерии (до 800 ± 9 КОЕ/мл), численность микроорганизмов, окисляющих углеводороды, варьировала от 40 ± 3 до 200 ± 32 КОЕ/мл (рис. 3, в). В придонных слоях воды численность микроорганизмов, окисляющих нефть сопоставима с численностью органотрофных бактерий (рис. 3, в).

Донные осадки керна VER-16-01, GC.4 представлены в верхнем интервале (от поверхности до 140 см) газонасыщенными алеврито-пелитовыми илами, пропитанными нефтью; в нижнем (от 140 до 310 см) – глиной, в которой отмечены вертикальные или наклоненные к оси керна каналы разгрузок диаметром до 5 мм, трещины скола и дегазации 1–2 мм, и горизонтальные прослои алеврито-песчанистого материала, также пропитанные нефтью. В трещинах и прослоях керна количество нефти оценено диапазоном от 0.18 до 2.9 % с содержанием $\Sigma_{\text{алк}}$ от 1.7 до 48 ppm (сухая масса керна).

В составе керна идентифицировано 24 ПАУ, содержание которых оценено интервалом от 1.6 до 16 ppm (сухая масса керна). Максимальным уровнем суммарных концентраций выделялись фенантроны от 0.9 до 12 ppm (фенантрен, 1-метилфенантрен, 2-метилфенантрен; 3-метилфенантрен; 9-метилфенантрен), тогда как содержание высокомолекулярных ПАУ (бенз[а]пирен, индено[1,2,3-с,d]пирен, бенз[g,h,i]перилен и дибенз[а,h]антрацен) не превышало 12 ppm (таблица).

Численность культивируемых микроорганизмов в донных осадках была максимальной в верхнем окисленном слое осадка, где доминировали микроорганизмы, окисляющие нефть (90 ± 1 тыс. КОЕ/г) (рис. 4). Культивируемые органотрофные микроорганизмы в основном были представлены бактериями р. *Bacillus* и *Paenibacillus*. С увеличением глубины керна наблюдалось снижение численности всех исследуемых групп микроорганизмов. Вторым по численности микроорганизмов, окисляющих нефть (26 ± 1 тыс. КОЕ/г) и *n*-алканы (13 ± 1 тыс. КОЕ/г), являлся слой осадка на глубине 250–255 см. Значительное увеличение численности микроорганизмов может быть обусловлено наличием трещины дегазации, через которую донные осадки могут насыщаться не только метаном и водородом, но возможно и кислородом, глубинными поровыми водами и нефтью. Следует отметить, что данный слой осадка отличался максимальным содержанием $\Sigma_{\text{алк}}$, до 50 мкг/г керна (сухая масса) при минимальном содержании нефти 1.8–3.4 мг/г керна (сухая масса).

В воде и донных осадках выявлены культивируемые углеводородоокисляющие микроорганизмы, принадлежащие к родам *Pseudomonas*, *Sphingomonas*, *Rhodococcus*, *Williamsia*, *Microbacterium*, *Brevundimonas*, *Bacillus*, *Paenibacillus*. В донных осадках

доминировали бактерии рода *Bacillus* и *Paenibacillus*, в водной толще преобладали представители филума *Actinobacteria* – бактерии родов *Rhodococcus*, *Williamsia*, *Microbacterium*.

ОБСУЖДЕНИЕ

В 2016 г. площадь водной поверхности озера, на которой проявлялись нефтяные пятна не изменилась в сравнении с результатами исследований 2005 г. [Хлыстов и др., 2007] и составляла около 1 км². Определение в составе нефтяных сликов ПАУ показало, что соотношение индикаторных соединений антрацен/антрацен+фенантрен равное 0.04, указывает на петрогенный источник нефтяных сликов [Yunker et al., 2002], т.е. на нефть, поступившую в воды озера в результате глубоководной разгрузки в этом районе. Однако, состав нефти, собранной с водной поверхности в 2016 г., отличался от состава нефти, исследованной в 2006 г. [Хлыстов и др., 2007; Gorshkov et al., 2006], следующими характеристиками: а) снижением суммарного содержания нормальных углеводородов и ПАУ, б) частичной деградацией нефти, о чем свидетельствует появление нафтено-ароматического горба, регистрируемого на хроматограммах. Такие изменения могут быть связаны с уменьшением объема нефти, поступающей на водную поверхность, и, как следствие, ее более эффективной деградацией на водной поверхности за счет испарения или выветривания. Также нельзя исключать погрешности отбора проб, проведенного в разные периоды исследования в отмеченные изменения в составе нефтяных сликов.

Уменьшение количества алкановой фракции нефти $\Sigma_{\text{алк}}$ в исследованном керне донных отложений до 1.7–48 ppm (сухая масса керна) может быть связано как с уменьшением потока нефти в воды озера, и так и с ее биodeградацией. Повышение на порядок численности углеводородокисляющих микроорганизмов в донных осадках в 2016 г. в сравнении с данными 2008–2009 гг. указывает на возможность активного окисления нефти микробным сообществом донных отложений.

В результате фракционирования нефти в верхних слоях донных осадков и образования битумных построек на дне озера [Горшков и др., 2010а] в воды озера поступает фракция, обогащенная *n*-алканами, которые легко подвергаются биологическому окислению, как показано модельными экспериментами [Павлова и др., 2012]. Оценка содержания углеводородов нефти в водной толще подтверждает низкий уровень $\Sigma_{\text{алк}}$ и $\Sigma_{\text{пау}}$ в водной толще в районе нефтепроявления. Вклад биологических процессов в деградацию нефти более значим в верхнем фотическом слое воды (5 м). Об этом свидетельствует более высокая численность углеводородокисляющих микроорганизмов – на один–два порядка величины выше, чем в пробах поверхностной воды и водной толщ.

Следует отметить, что максимальная численность органотрофных и углеводородокисляющих микроорганизмов выявлена в пробах, отобранных вне зоны видимых нефтяных сликов (ст. R–6). Вероятно, это обусловлено физическим состоянием нефти, которая находится уже не в виде концентрированного нефтяного пятна, а диспергированных капель. В работе [Brakstad et al., 2015] показано, что диспергированные капли размером в 10 мкм разлагаются намного быстрее, нежели капли размером 30 мкм. В отличие от Мирового океана, где в случае аварийных разливов нефти диспергенты вносят в экосистему целенаправленно для растворения нефтяных пятен, в озере Байкал эмульгирование нефти происходит естественным путем. Изменению физического состояния нефти способствуют биологические поверхностно-активные вещества,

образуемые байкальскими микроорганизмами [Павлова и др., 2010]. Выявленная способность синтеза биосурфактантов клетками штаммов байкальских микроорганизмов также может способствовать сорбции парафинов на взвешенных частицах в байкальской воде и их осаждению на дно озера. Низкий уровень концентрации ПАУ в водной толще может быть также связан с деятельностью микроорганизмов. Ранее, для бактерий р. *Pseudomonas* и *Bacillus*, выделенных из оз. Байкал, была показана селективная биodeградация флуорантена, фенантрена и пирена [Павлова и др., 2005].

Сравнение результатов оценки численности изучаемых групп микроорганизмов в поверхностных и придонных пробах воды за период исследования 2006–2016 гг. показало незначительное ее снижение. Максимальное количество углеводородокисляющих микроорганизмов в исследуемом районе было зафиксировано в 2007 г. в поверхностных слоях воды и в донных осадках. В 2008–2009 гг. в водной толще района м. Горевой Утес наблюдалось снижение численности УВОМ до значений, выявленных в 2005–2006 гг. с сохранением основной закономерности – в микробном сообществе данного района доминируют микроорганизмы, окисляющие углеводороды [Павлова и др., 2012].

Структура культивируемого микробного сообщества не изменилась за период наблюдения с 2006 по 2016 гг. Среди культивируемых углеводородокисляющих микроорганизмов доминирующие положение занимают представители филумов *Proteobacteria* и *Actinobacteria*. Полученные данные согласуются с результатами изучения структуры микробных сообществ водной толщи, донных осадков и битумных построек с помощью метода высокопроизводительного секвенирования гена 16S рРНК, согласно которым микробное сообщество в основном представлено филумами *Actinobacteria*, *Cyanobacteria* и *Proteobacteria* с доминированием бактерий р. *Rhodococcus*, участвующих в биodeградации ароматических углеводородов и *n*-алканов нефти [Ломакина и др., 2014; Likhoshvay et al., 2013; Zemskaya et al., 2015; Zakharenko et al., 2018]. Способность деградировать углеводороды, вероятно, закреплена в геномах байкальских микроорганизмов, обитающих в районе естественного выхода нефти [Ломакина и др., 2014; Likhoshvay et al., 2013], так как вследствие геологических процессов нефть и продукты ее преобразования относятся к постоянным компонентам экосистемы восточного побережья центральной котловины озера, образование которых произошло в олигоцен – миоцене [Конторович и др., 2007].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Площадь водной поверхности озера, на которой проявляются нефтяные пятна у м. Горевой Утес не изменилась за период с 2005 г. по 2016 гг. и составляет около 1 км². Оценка соотношений индикаторных ПАУ в составе нефтяных slickов указывает на петрогенный источник нефти. Отмечено снижение суммарного содержания нормальных углеводородов и ПАУ в нефтяных slickах и донных осадках; рост и последующее уменьшение численности микроорганизмов в воде и донных отложениях при сохранении структуры культивируемого микробного сообщества. Низкий уровень суммарного содержания и узкий диапазон обнаруженных концентраций *n*-алканов и ПАУ в водной толще за период с 2006 по 2016 гг., свидетельствует о сохранении чистоты вод озера в районе нефтепроявления.

Очевидно, в районе нефтепроявления расположенного у м. Горевой Утес, действуют те же механизмы самоочищения, что и в других районах нефтепроявлений в оз. Байкал. Вероятно, переход нефтепроявления у м. Горевой Утес на новую стадию своего

развития будет выражаться в увеличении степени деградации нефти. Это процесс уже более 200 лет идет в районе нефтепроявления, расположенного в районе устьев рек Большая и Малая Зеленовская [Рязанов, 1928; Рябухин, 1934; Талиев и др., 1985; Петрова, Мамонтова, 1985; Каширцев и др., 1999; Исаев и др., 2003; Исаев, Преснова, 2003; Каширцев и др., 2006; Конторович и др., 2007]. В нефти, собранной на этом участке оз. Байкал на современном этапе, отсутствуют *n*-алканы, монометилалканы и ациклические изопреноиды, так как процессы бактериального окисления существенно изменили первичный состав нефти [Каширцев и др., 2006].

Несмотря на исследования этих специфичных районов озера с привлечением новых и современных методов исследования, в настоящее время остается открытым вопрос о роли анаэробных микроорганизмов в бескислородных процессах деградации нефти. Изучение анаэробных процессов будет предметом дальнейших исследований, которые позволят сопоставить значение аэробных и анаэробных процессов и оценить их вклад в процессы самоочищения озера от нефтяного «загрязнения».

Работа выполнена в рамках государственного задания по теме № 0345–2019–0007 (AAAA-A16-116122110064-7) (химический, микробиологический анализ) и № 0345–2018–0001 (AAAA-A17-117122190018-5) (проведение экспедиционных работ).

ЛИТЕРАТУРА

Горшков А.Г., Хлыстов О.М., Земская Т.И., Москвин В.И. Фракционирование нефти на глубоководных участках нефтепроявлений озера Байкал // Успехи органической геохимии. Новосибирск: Изд-во: ИНГГ СО РАН, 2010а, с. 116–119.

Горшков А.Г., Маринайте И.И., Земская Т.И., Ходжер Т.В. Современный уровень нефтепродуктов в воде озера Байкал и его притоков // Химия в интересах устойчивого развития, 2010б, т. 18, с. 711–718.

Исаев В.П., Преснова Р.Н. Байкальская нефть // Нефть и газ в современном мире: Геолого-экономические и социально-культурные аспекты. Иркутск: Изд-во Иркутского ун-та, 2003, с. 44–51.

Исаев В.П., Примина С.П., Ширибон А.А. Проблема нефтегазоносности озера Байкал и Усть-Селенгинской впадины // Матер. науч.-практ. совещ. Улан-Удэ: Изд-во БНЦ СО РАН, 2003, с. 43–48.

Калмычков Г.В., Егоров А.В., Хачикубо А., Хлыстов О.М. Углеводородные газы подводного нефтегазового проявления горевой Утес (оз. Байкал, Россия) // Геология и геофизика, 2019, т. 60 (10), с. 1488–1495.

Каширцев В.А., Конторович А.Э., Филп Р.П., Чалая О.Н., Зуева И.Н., Меметова Н.П. Биомаркеры в нефтях восточных районов Сибирской платформы как индикаторы условий формирования нефтепроизводивших отложений // Геология и геофизика, 1999, т. 40 (11), с. 1700–1710.

Каширцев В.А., Конторович А.Э., Москвин В.И., Данилова В.П., Меленевский В.Н. Терпаны нефтей озера Байкал // Нефтехимия, 2006, т. 46 (4), с. 1–9.

Конторович А.Э., Каширцев В.А., Москвин В.И., Бурштейн Л.М., Земская Т.И., Калмычков Г.В., Костырева Е.А., Хлыстов О.М. Нефтегазоносность отложений оз. Байкал // Геология и геофизика, 2007, т. 48 (12), с. 1346–1356.

Ломакина А.В., Павлова О.Н., Шубенкова О.В., Земская Т.И. Разнообразие культивируемых аэробных микроорганизмов в районах естественных выходов нефти на оз. Байкал // Изв. РАН. Сер. биол., 2009, т. 5, с. 515–522.

Ломакина А.В., Погодаева Т.В., Морозов И.В., Земская Т.И. Микробные сообщества зоны разгрузки газонефтедержащих флюидов ультрапресного озера Байкал // Микробиология, 2014, т. 83 (3), с. 355–365.

Павлова О.Н., Парфенова В.В., Земская Т.И., Сулова М.Ю., Горшков А.Г. Биодegradация нефти и углеводов микробным сообществом оз. Байкал // Тезисы докладов и стендовых сообщений Четвертой международной Верещагинской конференции. Иркутск: Изд-во Ин-та географии СО РАН, 2005, с. 146–147.

Павлова О.Н., Земская Т.И., Горшков А.Г., Парфенова В.В., Сулова М.Ю., Хлыстов О.М. Исследование микробного сообщества озера Байкал в районе естественных нефтепроявлений // Прикладная биохимия и микробиология, 2008а, т. 2 (3), с. 319–323.

Павлова О.Н., Земская Т.И., Горшков А.Г., Косторнова Т.Я., Хлыстов О.М., Парфенова В.В. Сравнительная характеристика микробных сообществ двух районов естественных нефтепроявлений озера Байкал. //Изв. РАН. Сер. биол., 2008б, т. 3, с. 333–340.

Павлова О.Н., Ломакина А.В., Лихошвай А.В., Федорова Г.А., Шишлянникова Т.А., Корнева Е.С., Букин С.В., Земская Т.И. Микробные сообщества в районах естественных выходов нефти на озере Байкал // Успехи наук о жизни, 2010, т. 2, с. 169–172.

Павлова О.Н., Ломакина А.В., Горшков А.Г., Сулова М.Ю., Лихошвай А.В., Земская Т.И. Микробные сообщества и их способность окислять *n*-алканы в районе разгрузки газо-нефтедержащих флюидов в среднем Байкале (мыс Горевой Утес) // Изв. РАН. Сер. биол., 2012, т. 5, с. 540–545.

Петрова В.И., Мамонтова Л.М. Изменение численности бактерий в экспериментах с добавками нефти // Микроорганизмы в экосистемах озер и водохранилищ. Новосибирск, 1985, с. 144–150.

Рябухин Г.Е. К изучению Байкальского месторождения нефти // Тр. нефтяного геолого-разведочного института. Сер. Биолог. Новосибирск, 1934, 28 с.

Рязанов В.Д. Месторождения озокерита и нефти в Прибайкалье // Материалы по геол. и полезным ископаемым Дальнего Востока. Владивосток: Изд-во Дальневосточного ун-та, 1928, т. 19, с. 24–32.

Талиев С.Д., Кожова О.М., Моложавая О.А. Углекислородокисляющие микроорганизмы в биоценозах некоторых районах Байкала // Микроорганизмы в экосистемах озер и водохранилищ. Новосибирск, 1985, с. 64–74.

Хлыстов О.М., Горшков А.Г., Егоров А.В., Земская Т.И., Гранин Н.Г., Калмычков Г.В., Воробьева С.С., Павлова О.Н., Якуп М.А., Макаров М.М., Москвин В.И., Грачев М.А. Нефть в озере мирового наследия // Докл. АН, 2007, т. 414 (5), с. 656–659.

Хлыстов О.М., Земская Т.И., Ситникова Т.Я., Механикова И.В., Кайгородова И.А., Горшков А.Г., Тимошкин О.А., Шубенкова О.В., Черницына С.М., Ломакина А.В., Лихошвай А.В., Сагалевич А.М., Москвин В.И., Пересыпкин В.И., Беляев Н.А., Слипечук М.В., Тулохонов А.К., Грачев М.А. Донные битумные постройки и населяющая их биота по данным обследования озера Байкал // Докл. АН, 2009, т. 428 (5), с. 682–685.

Brakstad O.G., Nordtug T., Throne-Holst M. Biodegradation of dispersed Macondo oil in seawater at low temperature and different oil droplet sizes // *Mar. Poll. Bull.*, 2015, v. 93, p.114–152.

Bushnell L.D., Haas H.F. The utilization of certain hydrocarbons by microorganisms // *J. Bacteriol.*, 1941, v. 41 (5), p. 653–673.

Garrity G.M., Brenner D.J., Krieg N.R., Staley J.T. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Volume 2: The Proteobacteria, Part B: The Gammaproteobacteria.* New York: Springer, 2005a, 1106 p.

Garrity G.M., Brenner D.J., Krieg N.R., Staley J.T. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Volume 2: The Proteobacteria, Part C: The Alpha-, Beta-, Delta-, and Epsilonproteobacteria.* New York: Springer, 2005b, 1388 p.

Gorshkov A.G., Grachev M.A., Zemskaya T.I., Khlystov O.M., Moskvina V.I. Oil in Lake Baikal, paradox or regularity? // *Int. Cong. on Analyt. Sci.*, 2006, v. 1. p. 375–376.

Hazen T.C., Dubinsky E.A., DeSantis T.Z., Andersen G.L., Piceno Y.M., Singh N., Jansson J.K., Probst A., Borglin S.E., Fortney J.L., Stringfellow W.T., Bill M., Conrad M.E., Tom L.M., Chavarria K.L., Alusi T.R., Lamendella R., Joyner D.C., Spier C., Baelum J., Auer M., Zemla M.L., Chakraborty R., Sonnenthal E.L., D'haeseleer P., Holman H.-Y.N., Osman S., Lu Z., Van Nostrand J.D., Deng Y., Zhou J., Mason O.U. Deep-sea oil plume enriches indigenous oil-degrading bacteria // *Science*, 2010, v. 330, p. 204–208.

Kadnikov V.V., Lomakina A.V., Likhoshvai A.V., Gorshkov A.G., Pogodaeva T.V., Beletsky A.V., Mardanov A.V., Zemskaya T.I., Ravin N.V. Composition of the microbial communities of bituminous constructions at natural oil seeps at the bottom of Lake Baikal // *Microbiology*, 2013, v. 82, p. 373–382.

Likhoshvai A., Khanaeva T., Gorshkov A., Zemskaya T., Grachev M. Do oil-degrading Rhodococci contribute to the genesis of deep water bitumen mounds in Lake Baikal? // *Geomicrob. J.*, 2013, v. 30, p. 209–213.

Rochelle P.A., Fry J.C., Parkes R.J., Weightman A.J. DNA extraction for 16S rRNA gene analysis to determine genetic diversity in deep sediment communities // *FEMS Microb. Lett.*, 1992, v. 100, p. 59–66.

Vila J., Nieto J.M., Mertens J., Springael D., Grifoll M. Microbial Community Structure of a Heavy Fuel Oil-Degrading Marine Consortium: Linking Microbial Dynamics with Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Utilization // *FEMS Microbiol. Ecol.*, 2010, v. 73 (2), p. 349–362.

Vos P., Garrity G., Jones D., Krieg N.R., Ludwig W., Rainey F.A., Schleifer K.-H., Whitman W. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Volume 3: The Firmicutes.* New York: Springer, 2009, 1450 p.

Weiss R.F., Carmack E.C., Koropalov V.M. Deep-water renewal and biological production in Lake Baikal // *Nature*, 1991, v. 349, p. 665–669.

Whitman W., Goodfellow M., Kämpfer P., Busse H.-J., Trujillo M., Ludwig W., Suzuki K.-I. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Volume 5: The Actinobacteria. Parte A. 2.* New York: Springer, 2012, 2083 p.

Yender R., Stanzel K. Tanker SOLAR 1 Oil Spill, Guimaras, Philippines: Impacts and Response Challenges // *Oil Spill Science and Technology. Prevention, Response, and Cleanup.* Edited by Mervin Fingas, 2011, p.1133–1146.

Yunker M.B., Macdonald R.W., Vingarzan R., Mitchell R.H., Goyette D., Sylvestre S. PAHs in the Fraser River basin: a critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH source and composition // *Org. Geochem.*, 2002, v. 33, p. 489–515.

Zakharenko A.S., Galachyants Y.P., Morozov I.V., Shubenkova O.V., Morozov A.A., Ivanov V.G., Pimenov N.V., Krasnopeev A.Y., Zemskaya T.I. Bacterial Communities in Areas of Oil and Methane Seeps in Pelagic of Lake Baikal // *Microb. Ecol.*, 2018. <https://doi.org/10.1007/s00248-018-1299-5>

Zemskaya T.I., Lomakina A.V., Mamaeva E.V., Zakharenko A.S., Pogodaeva T.V., Petrova D.P., Galachyants Yu.P. Bacterial communities in sediments of Lake Baikal from areas with oil and gas discharge // *Aquat. Microbiol. Ecol.*, 2015, v. 75, p. 95–109.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Павлова Ольга Николаевна, Лимнологический институт СО РАН, старший научный сотрудник, кандидат биологических наук, тел. 8(3952)428918, pavlova@lin.irk.ru

Изосимова Оксана Николаевна, Лимнологический институт СО РАН, вед. инженер, аспирант, тел. 8(3952) 8(3952)424770, izosimova@lin.irk.ru

Горшков Александр Георгиевич, Лимнологический институт СО РАН, зав. лабораторией хроматографии, кандидат химических наук, тел. 8(3952)424770, gorchkov_ag@mail.ru

Новикова Ангелина Сергеевна, Лимнологический институт СО РАН, гл. специалист по микробиологии, магистрант, тел. 8(3952)428918, linka@lin.irk.ru

Букин Сергей Викторович, Лимнологический институт СО РАН, научный сотрудник, кандидат биологических наук, тел. 8(3952)425415, sergeibukin@lin.irk.ru

Иванов Вячеслав Геннадьевич, Лимнологический институт СО РАН, научный сотрудник, кандидат географических наук, тел. 8(3952)425768, vigo@lin.irk.ru

Хлыстов Олег Михайлович, Лимнологический институт СО РАН, зав. лабораторией геологии оз. Байкал, тел. 8(3952)425312, oleg@lin.irk.ru

Земская Тамара Ивановна, Лимнологический институт СО РАН, зав. лабораторией микробиологии углеводов, доктор биологических наук, тел. 8(3952)428918, tzema@lin.irk.ru

ПОДПИСИ К РИСУНКАМ

Рис. 1. Карта–схема отбора проб в районе нефтепроявления у м. Горевой Утес:
● – пробы воды; ▲ – донные осадки.

Рис. 2. Распределение *n*-алканов в водной толще (а); соотношение гомологов нормальных углеводородов в пробах воды с глубины 5 м (б).

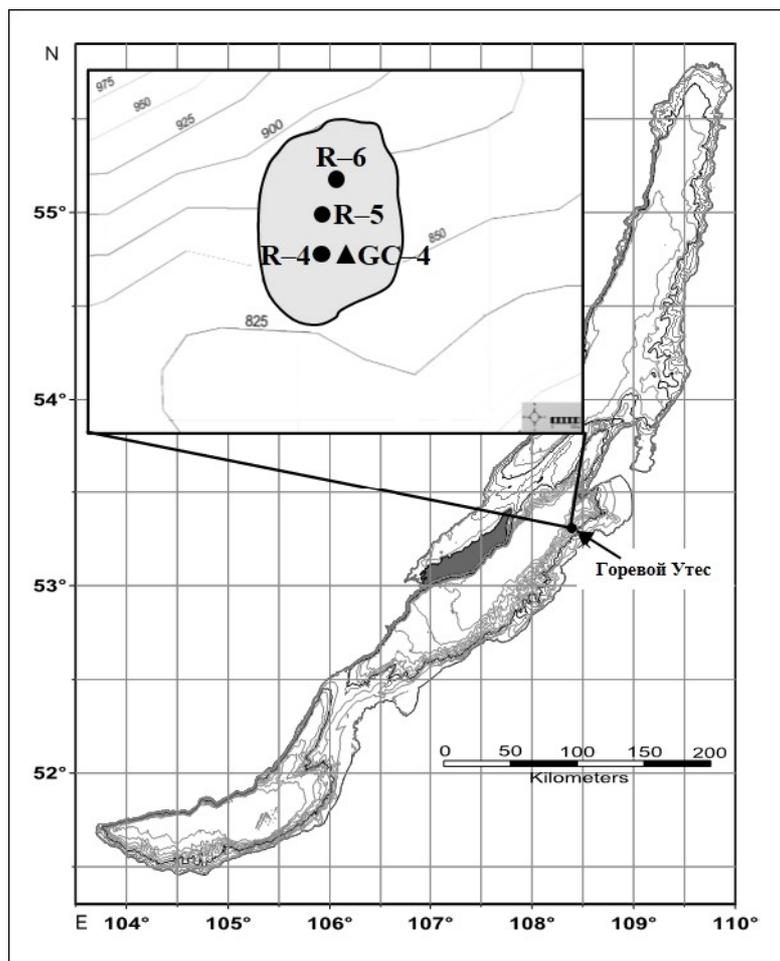
Рис. 3. Распределение микроорганизмов, окисляющих: (1) нефть, (2) *n*-алканы и (3) легкодоступное органическое вещество в водной толще на станциях R–4 (а), R–5 (б), R–6 (в).

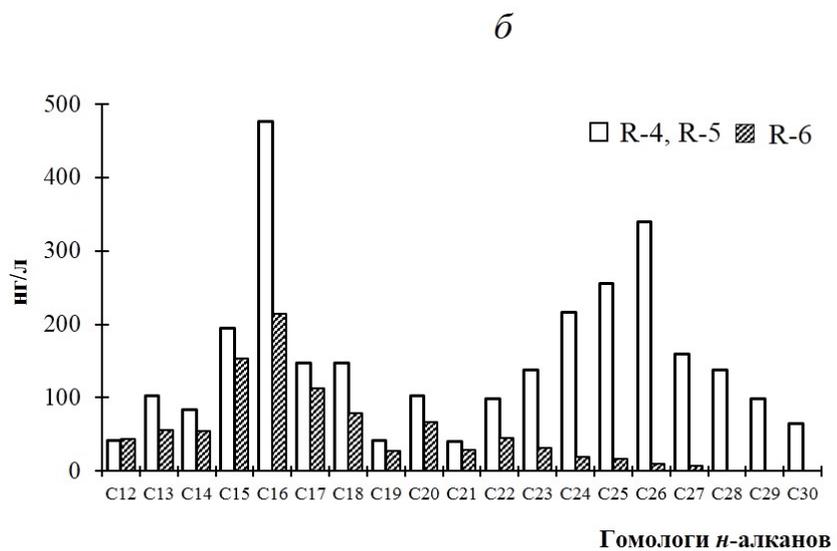
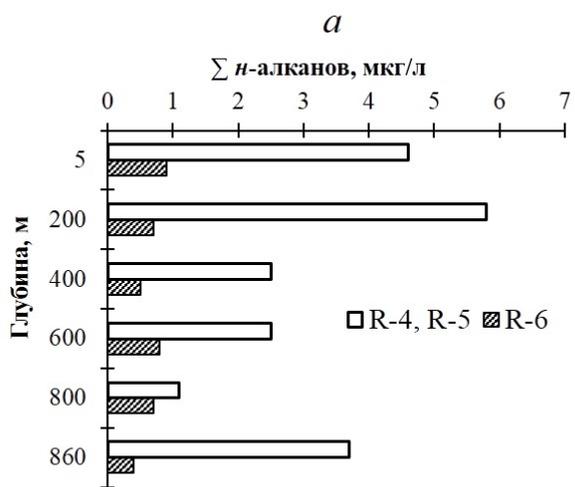
Рис. 4. Распределение микроорганизмов, окисляющих: (1) нефть, (2) *n*-алканы и (3) легкодоступное органическое вещество в керне VER–16–01, GC.4.

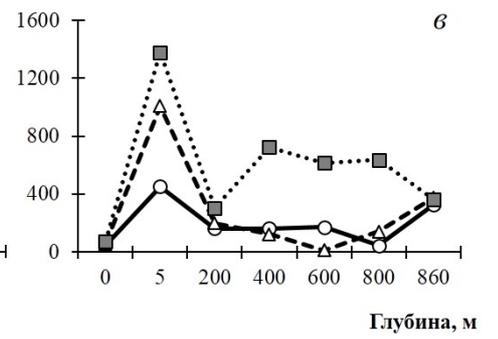
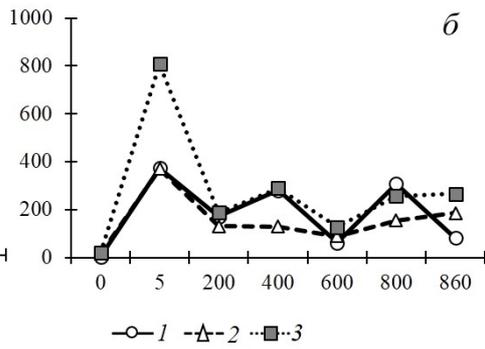
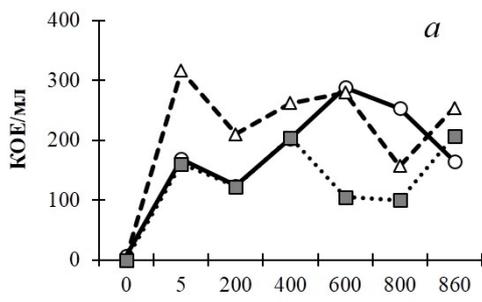
Таблица. Содержание нормальных углеводородов и ПАУ на водной поверхности, в водной толще и донных осадках

Углеводороды	Год отбора проб	
	2006	2016
	<i>Нефть, собранная в момент выхода на водную поверхность*</i>	<i>Нефтяные слики на водной поверхности</i>
Ряд <i>n</i> -алканов	C ₈ –C ₂₉	C ₁₂ –C ₂₉
Σ _{алк} , %	90	16–36
Нафтено-ароматический горб	нет	есть
Ряд ПАУ	21 соединение	21 соединение
Σ _{ПАУ} , %	0.15	0.05–0.07
Σнафталинов, ppm	330	13-120
Бенз[а]пирен, ppm	3.7	5.1-5.6
<i>Водная толща (5-800 м), на участке с нефтяными сликами</i>		
Σ _{алк} , мкг/л	0.77–14	0.80–4.5
Σ _{ПАУ} , нг/л	6.2–82	4.8–21
Бенз[а]пирен, нг/л	0.70-2.2	< 0.1
<i>Водная толща (5-800 м), на участке без нефтяных сликов</i>		
Σ _{алк} , мкг/л	0.21–1.0	0.35–0.94
Σ _{ПАУ} , нг/л	6.2–71	3.9–15
Бенз[а]пирен, нг/л	0.3–1.9	< 0.1
<i>Донные осадки (сухая масса керна)</i>		
Ряд <i>n</i> -алканов	C ₂₂ –C ₃₇	C ₁₃ –C ₂₉
Σ _{алк} , ppm	50–70	1.7–50
Ряд ПАУ	24 соединения	24 соединения
Σ _{ПАУ} , ppm	0.9–69	1.6–16
Σнафталинов, ppm	0.14–2.6	0.10–0.84
Σфенантронов, ppm	0.15–50	0.90–12
Бенз[а]пирен, ppm	0.01–0.68	0.01–0.27

Примечание: * [Горшков и др., 2010а]







—○— 1 —△— 2 ...■... 3

Глубина, м

