

УДК 551.468.4:574.5:577.114.7  
DOI 10.17513/use.38389

## ИССЛЕДОВАНИЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ТРАНСФОРМАЦИИ ПОЛИЦИКЛИЧЕСКИХ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ В АМУРСКОМ ЛИМАНЕ

Стукова О.Ю.

*ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный университет», Хабаровск,  
e-mail: olgastukova1@rambler.ru*

В статье представлены результаты модельного исследования микробиологических процессов трансформации полициклических ароматических углеводородов, влияющих на формирование качества воды в Амурском лимане. Целью работы являлось исследование микробиологических процессов трансформации полициклических ароматических углеводородов бактериобентосом на разных участках в Амурском лимане. В работе использовали микробные комплексы, выделенные из донных отложений на различных участках Амурского лимана. В качестве основного метода был использован микробиологический анализ. Численность бактериобентоса определяли общепринятыми в водной микробиологии приемами и выражали в колониеобразующих единицах на 1 г сырого веса донных отложений. Методом эколого-физиологических исследований определяли потенциальную способность бентосных микробных комплексов к трансформации полициклических ароматических углеводородов. Культивирование микробных комплексов осуществляли на жидких питательных средах, содержащих ароматические углеводороды разного строения. В качестве источников углерода использовали бициклический нафталин и трициклический фенантрен в концентрации 1 г/л. Потенциальную активность бактериобентоса оценивали по изменению оптической плотности накопления биомассы (490 нм) и образованию окрашенных продуктов (400 нм) через 30 и 90 суток. Как показали модельные исследования, интенсивность их трансформации может существенно изменяться на различных участках Амурского лимана. Выполненные микробиологические исследования в Амурском лимане показали, что скорость трансформации ПАУ и образования метаболитов зависела от множества факторов, включая природную соленость, от адаптации деструкторов микробного сообщества и концентрации полициклических ароматических углеводородов. Трансформация полициклических ароматических углеводородов в донных отложениях происходит с участием сложных микробных комплексов, что предполагает поэтапное разложение углеводородов и возможность накопления различных метаболитов в придонных слоях воды.

**Ключевые слова:** донные отложения, полициклические ароматические углеводороды, эстуарий реки Амур, бактериобентос

## THE RESEARCH OF MICROBIOLOGICAL PROCESSES OF TRANSFORMATION OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS IN THE AMUR RIVER ESTUARY

Stukova O.Yu.

*Pacific State University, Khabarovsk, e-mail: olgastukova1@rambler.ru*

The article presents the results of a modeling study of the biotransformation of polycyclic aromatic hydrocarbons, influencing the water quality in the Amur estuary. The aim of work was to study the microbiological processes of bacteriobenthos, taking part in the transformation of polycyclic aromatic hydrocarbons in Amur estuary. In this, study microbial complexes isolated from the sediments in the various areas of the Amur estuary. Microbiological analysis was used as the main method. The number of bacteriobenthos was studied by generally methods accepted in aquatic microbiology expressed in colony-forming units per gramme of fresh weight. The potential ability of benthic microbial complexes to biodegrade polycyclic aromatic hydrocarbons was determined by the method of ecological and physiological studies. Microbial complexes were cultivated on liquid nutrient media containing aromatic hydrocarbons of various structures. Bicycle naphthalene and tricycle phenanthrene at a concentration of 1g/l were used as carbon sources. The potential activity of bacteriobenthos was assessed by changes in the optical density of biomass accumulation (490 nm) and the formation of colored products (400 nm) after thirty and ninety days. As shows by model studies, the rate of their transformation can vary significantly in different areas of the Amur River estuary. Microbiological studies carried out in the Amur Estuary showed that the rate of polycyclic aromatic hydrocarbons transformation and formation of metabolites depended on many factors, including natural salinity, the adaptation of microbial community destructors and the concentration of polycyclic aromatic hydrocarbons. The transformation of PAHs in sediments occurs with the participation of microbial complex, which suggests a step-by-step decomposition of hydrocarbons and the possibility of accumulation of various intermediate products in the bottom layers of water.

**Keywords:** sediments, polycyclic aromatic hydrocarbons, Amur River estuary, bacteriobenthos

### Введение

Речной сток приводит к распространению различных поллютантов в моря [1]. Загрязнение прибрежных акваторий Охот-

ского и Японского морей токсическими веществами, поступающих с водами р. Амур, представляет собой серьезную экологическую угрозу для функционирования мор-

ских биоценозов, тем самым вызывая мутагенный, тератогенный и канцерогенный эффект [2]. Река Амур, являясь крупнейшей речной системой на Дальнем Востоке, играет ключевую роль в формировании экологического состояния прибрежных вод. Амурский лиман не просто пропускает речные воды, но и накапливает значительную часть загрязняющих веществ, поступающих с Амуром [3, 4]. Устье реки иначе называют маргинальными фильтрами, где происходит осаждение большей части взвешенных веществ антропогенного и природного генезиса [5].

Среди этих веществ особого внимания заслуживают полициклические ароматические углеводороды (ПАУ). ПАУ – это группа органических соединений, многие из которых обладают высокой токсичностью и канцерогенностью. В воды Амура они попадают из различных источников: от промышленных выбросов и сбросов сточных вод, выветривания почвы, с поверхностным стоком. Состав и концентрации ПАУ в речном стоке варьируют в зависимости от сезона, гидрологического режима реки и антропогенной нагрузки на бассейн р. Амур. Не менее важны гуминовые вещества (ГВ), которые являются естественными компонентами р. Амур [6]. ГВ могут также связывать и транспортировать ПАУ, изменяя их доступность для живых организмов и скорость деградации. ГВ образуют комплексы с ПАУ, что влияет на их адсорбцию в донных отложениях (ДО) и, следовательно, на накопление в пищевой цепи. Попадая в прибрежные воды, ПАУ подвергаются сложным процессам трансформации и деструкции, которые определяются комплексами экологических факторов. Ключевую роль в этом играют микроорганизмы, способные к биодegradации ПАУ. Однако эффективность биодegradации зависит от множества факторов, включая концентрацию ПАУ, тип ПАУ (некоторые молекулы более устойчивы к разложению), доступность для микроорганизмов кислорода и питательных веществ, а также наличие сопутствующих продуктов трансформации ПАУ. Более того, некоторые микроорганизмы не только деградируют ПАУ, но и используют их в качестве источника углерода, что влияет на структуру и продуктивность прибрежных экосистем. Механизмы биодegradации ПАУ являются предметом интенсивных исследований в связи с глобальным загрязнением экосистем сырой нефтью и нефте-

продуктами [7], поскольку понимание этих процессов крайне важно для разработки эффективных стратегий по снижению загрязнения морской среды.

Нефтяные загрязнения приводят к катастрофическим последствиям для гидробионтов, вызывая гибель животных, разрушая целые экосистемы и нанося непоправимый ущерб биоразнообразию. Именно поэтому изучение влияния абиотических и биотических факторов на процессы деградации ПАУ в системе река – лиман – море является актуальной и важной задачей современной экологии. Разработка методов биологической очистки, улучшение качества воды в бассейне р. Амур, а также мониторинг содержания ПАУ в морской воде и ДО – необходимые меры защиты прибрежных экосистем Охотского и Японского морей. Более глубокое изучение взаимодействия ГВ и ПАУ, а также исследование разнообразия и активности микроорганизмов, участвующих в биодegradации ПАУ, позволяет создать модели прогнозирования состояния прибрежных экосистем и разработать эффективные стратегии их защиты от антропогенного воздействия.

Результативность разложения ПАУ достигается благодаря активности микробиологических сообществ. В ходе экспериментов было выявлено, что в условиях длительного загрязнения водных ресурсов органическими веществами (ОВ) у сообществ микроорганизмов возрастают их адаптивные способности, что включает в себя улучшение ферментных систем, которые способствуют разложению ПАУ. Этот процесс активно используется в методах биоиндикации и биотестирования для оценки экологического состояния водных экосистем [8]. Скорость превращения ПАУ во многом зависит от химического строения молекулы и структуры микробных сообществ. Используя три активных штамма, *Rhodococcus sp.*, *Acinetobacter sp.* и *Pseudomonas sp.*, была проведена утилизация смеси фенантрена и флуорена за одну неделю, в то время как биодegradация пирена заняла больше времени [9]. Штамм *Sphingobium sp. FB3* разрушал различные углеводороды в течение 10 дней: фенантрен – 99%, флуорантен – 97%, антрацен – 67%; пирен – 72%, бенз(а)пирен всего 6% [10].

**Цель исследования** – изучение микробиологических процессов трансформации ПАУ бактериобентосом на разных участках в Амурском лимане.



Рис. 1. Карта-схема расстановки точек по отбору проб ДО в Амурском лимане (июнь, 2006 г.)

### Материалы и методы исследования

Для модельных исследований механизмов трансформации ароматических углеводородов (АУ) различного строения использовали пробы ДО, отобранных на различных участках в Амурском лимане, где происходило смешение речных и морских вод. Отбор проб ДО проводили по направлению к северу и югу от устья р. Амур, где имеет место изменение режима солености (рис. 1) [11].

В качестве основного метода был применен микробиологический анализ. В этом

методе осуществляли селективное культивирование МК на жидких питательных средах, содержащих ПАУ. В микробиологических исследованиях в качестве модели и источников углерода использовали бициклический нафталин и трициклический фенантрен в концентрации 1 г/л. Численность бактериобентоса определяли общепринятыми в водной микробиологии методами. Активность бактериобентоса оценивалась по изменению оптической плотности (ОП) накопления биомассы (490 нм) и образованию окрашенных продуктов (400 нм) через 30 и 90 суток [11].

### Результаты исследования и их обсуждение

В прибрежные воды Охотского и Японского морей с речным стоком поступают ПАУ разного строения. Согласно сведениям, данным в литературных источниках, их содержание варьировалось от 24,1 до 50 нг/л для гидрофильных форм, от 0,7 до 1,35 мкг/г для гидрофобных форм [4]. По оценке химических исследований, Амурский лиман относится к эстуариям со средним уровнем загрязнения. По результатам расчетов с использованием специальных маркеров, как выяснилось, основными источниками поступления ПАУ являются процессы сжигания различного вида топлива (угля, древесины, нефти) [12].

Исследователи использовали метод биоиндикации и установили, что ДО в разных местах различаются не только по гранулометрическому составу, но и по содержанию ОВ, что во многом определяет структуру микробного сообщества, численность и активность микробоценозов. Общее количество гетеротрофных бактерий (ОЧГБ) на текущий момент исследования составило от  $4,3 \cdot 10^5$  КОЕ/г в песчаных грунтах до  $470 \cdot 10^5$  КОЕ/г в ДО, обогащенных детритом (рис. 2) [11].

Исследователями установлена максимальная численность гетеротрофных бактерий (ГБ) в эстуарии, где изменение гидрологического режима (скорости течения, градиента естественной солености) [11] снизило растворимость некоторых ПАУ и может быть объяснено тем, что происходит их осаждение в ДО. Здесь же присутствовали фенолрезистентные бактерии (ФРБ). Это

говорит о том, что в других районах эстуария фенольные соединения отсутствовали либо быстро утилизировались гетеротрофными бактериями. Микробиологические процессы, протекающие в ДО Амурского лимана, определяют качество природной воды за счет образования различных продуктов преобразования ОВ. Их состав будет определяться адаптивными свойствами микроорганизмов к ПАУ и изменением гидрологического режима солености и присутствием вторичных продуктов превращения поллютантов.

Исследование микробиологических процессов трансформации ПАУ в ДО Амурского лимана показало сложную картину, зависящую от множества факторов, включая соленость, тип микроорганизмов и концентрацию самих ПАУ (рис. 3).

Микробиологическая трансформация ОВ, включая ПАУ в Амурском лимане, определяет качество воды, влияя на ее химический состав. Образующиеся продукты трансформации зависят от нескольких ключевых биологических и физико-химических факторов: видового состава сообщества и их способности к деградации ПАУ, гидрологического режима (включая приливно-отливные колебания, которые влияют на перемешивание воды и доступность кислорода), а также солености воды. Изменение солености, например, может селективно влиять на видовой состав микроорганизмов, преимущественно подавляя рост некоторых видов и стимулируя другие, обладающие повышенной солеустойчивостью (галофилы). Это отражается на их скорости и характере трансформации ПАУ.



Рис. 2. Количество микроорганизмов в донных отложениях Амурского лимана

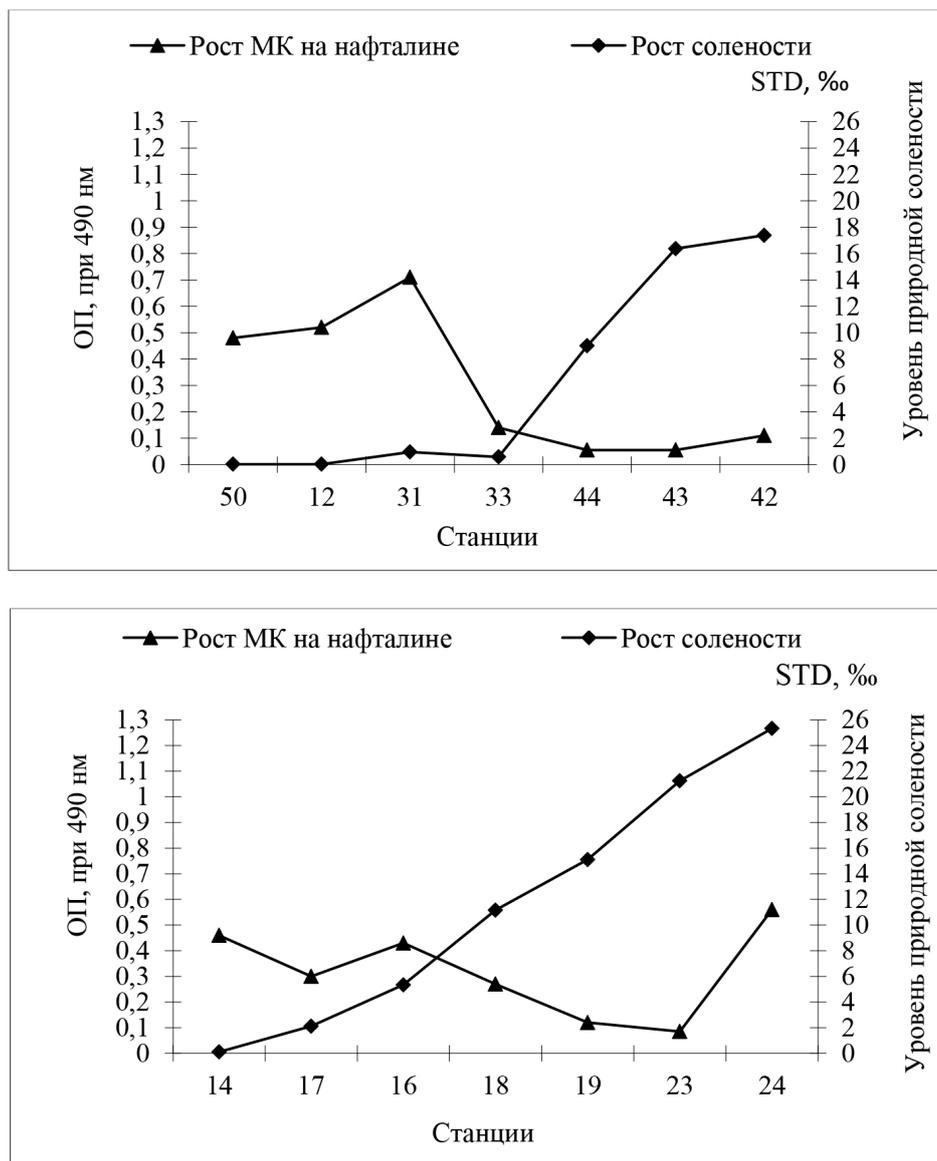


Рис. 3. Рост бактерий из различных донных отложений на нафталине

Наиболее активное разложение ПАУ, в частности нафталина (как модельного представителя ПАУ), наблюдалось у микроорганизмов, обитающих в осадках устьевой и южной части лимана. Это указывает на адаптацию микробиоты к условиям среды, характеризующимся как высоким содержанием ОВ и повышенной соленостью в южной части, связанной с влиянием морской воды Татарского пролива. Однако в южной части, где соленость воды значительно возрастает, активность микробных сообществ снижается, исключение составляет станция 24. Это явление требует дальнейшего исследования и может быть связано с присутствием специфических

галофильных бактерий, эффективно деградирующих ПАУ в условиях высокой солености. Модельные исследования показали не только образование цветных продуктов разложения, свидетельствующих о метаболической активности микроорганизмов, но и использование ими нафталина как источника углерода. Рост бактериобентоса в культуральной жидкости служит прямым доказательством этого процесса.

Интенсивная деградация нафталина характеризуется оптимальным сочетанием факторов, благоприятствующих развитию микроорганизмов. К этим факторам относятся: эффективно разлагающийся нафта-

лин, достаточное количество ОВ, оптимальный уровень кислорода и, на станциях 11, 12, расположенных в устьевой зоне, и на станции 31 в центральной части лимана, умеренная соленость. Следует отметить, что различия в активности микроорганизмов могут быть связаны не только с соленостью, но и с другими факторами, такими как содержание кислорода в ДО, наличие других источников углерода и видовой состав микробного сообщества. Также вторичные продукты деструкции ПАУ могут как стимулировать, так и ингибировать активность микроорганизмов, участвующих в деградации ПАУ.

В северной части Амурского лимана в некоторых образцах ДО, отобранных

из наиболее удаленных участков, где функционировал бактериобентос, адаптированный к олиготрофным условиям – низкому содержанию ОВ, разложение нафталина происходило значительно медленнее и не образовались вторичные продукты хиноидной структуры в результате трансформации нафталина. Следует подчеркнуть разнообразие метаболических путей разложения ПАУ у разных сообществ микроорганизмов, обитающих в различных экологических условиях. Включение этих данных позволяет создать экологическую модель процессов трансформации ПАУ в Амурском лимане и разработать эффективные стратегии по биоремедиации загрязненных участков.

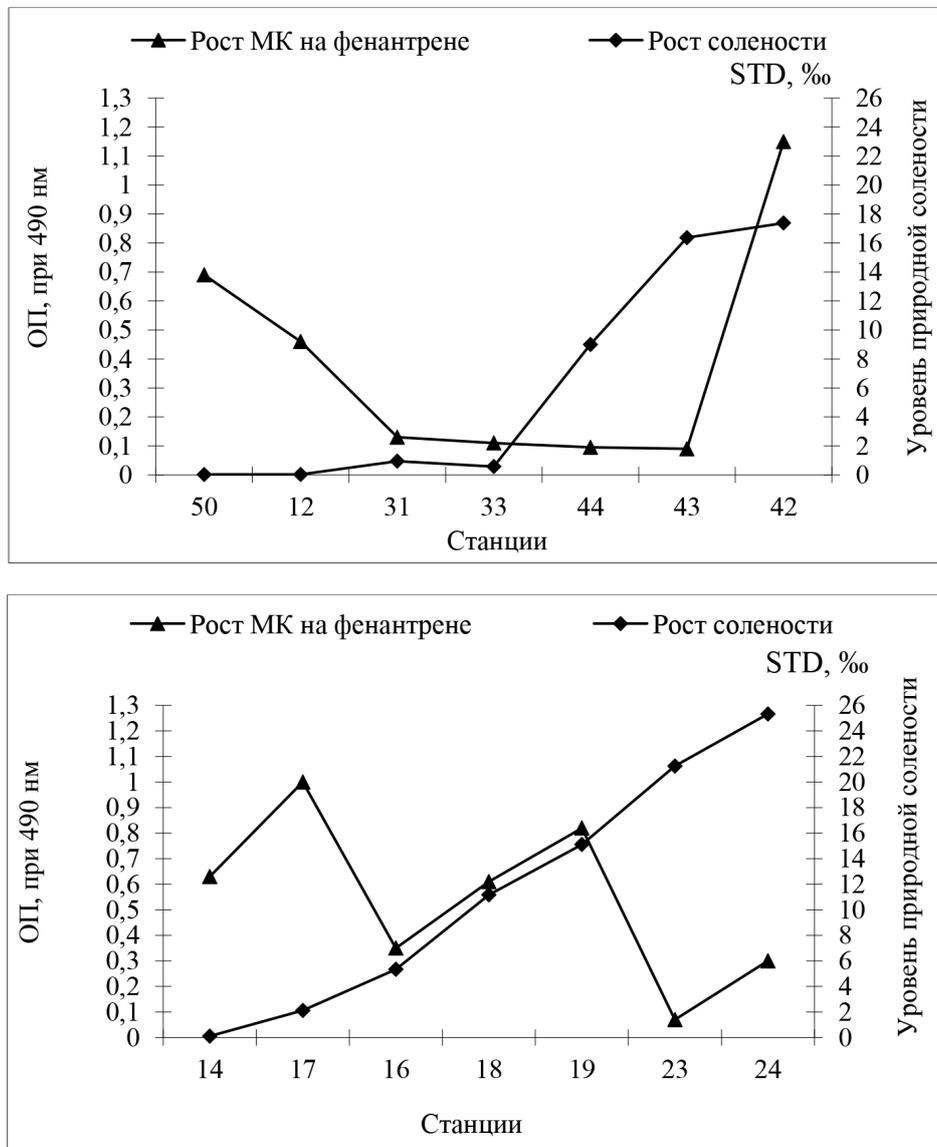


Рис. 4. Рост бактерий из различных донных отложений на фенантрене

Интенсивный рост бактериобентоса на фенантрена наблюдается в различных экосистемах, что связано с широким распространением ПАУ в ДО. Фенантрен имеет многообразные источники поступления в водные экосистемы как природные, так и антропогенные. Деструкция фенантрена, одного из наиболее распространенных ПАУ, сопровождается заметным изменением цветности культуральной жидкости, что указывает на активные биохимические процессы, происходящие в среде. Ранее в ходе исследования было идентифицировано наличие токсичного 1,2-бензохинона среди окрашенных продуктов, образующихся в процессе разложения фенантрена [13]. Этот промежуточный продукт представляет собой значительную угрозу для экосистем, так как обладает высокой токсичностью и может негативно влиять на гидробионты. Также исследования показали, что фенантрен может разлагаться с образованием промежуточных продуктов, таких как фталевые кислоты, нафтол и салициловая кислота, которые также могут иметь различную степень токсичности [14].

Преобразование ПАУ в ДО происходит с участием сложных МК, что предполагает поэтапное разложение углеводов и возможность накопления различных промежуточных продуктов в придонных слоях воды [14]. Это явление требует дальнейшего изучения, так как накопление токсичных веществ может привести к ухудшению состояния экосистем и нарушению их функциональности. Например, ученые отметили медленное самоочищение природных экосистем от стойких углеводов после разлива нефти у берегов Испании. После аварии в течение двух лет в морской воде наблюдали нафталин, метил и диметилнафталин, в ДО фиксировалось депонирование различных стойких ОВ разного строения [15]. Эти исследования подчеркивают важность экологического мониторинга состояния водоемов после антропогенных воздействий, таких как разливы нефти и нефтепродуктов, и необходимость разработки эффективных методов для восстановления экосистем.

Из наблюдений и проведенных экспериментов обнаруживается, что активность микроорганизмов на фенантрена снижалась с увеличением природной солености. Это может быть связано с тем, что высокие концентрации соли оказывают осмотическое давление на микроорганизмы, что, в свою очередь, негативно сказывается

на их жизнедеятельности и способности к разложению углеводов. Например, наблюдения в северной части Амурского лимана показали, что рост бактериобентоса на фенантрена был более интенсивным, чем в центральной части лимана. Это может быть связано с различиями в условиях среды, такими как содержание ОВ и уровень солености (рис. 4) [16].

Таким образом, изучение процессов разложения фенантрена и других ПАУ в водных экосистемах является актуальной проблемой, требующей комплексного подхода и междисциплинарного сотрудничества. Важно учитывать как микробиологические, так и физико-химические аспекты взаимодействия углеводов с окружающей средой. Эти знания помогут не только в оценке состояния экосистем, но и в разработке эффективных стратегий для их защиты и восстановления.

### Заключение

Микробиологическая трансформация органических веществ, включая ПАУ в Амурском лимане, определяет химический состав воды. Трансформация ПАУ и образование конечных продуктов распада зависит от следующих экологических факторов: видового состава микробиологического сообщества, присутствия деструкторов ПАУ и их способности к деградации ПАУ; гидрологического режима, включая приливно-отливные колебания, которые способствуют перемешиванию воды и доступности кислорода; изменения солености, что селективно воздействует на эколого-физиологический состав микроорганизмов, подавляя рост некоторых видов, стимулируя других, солеустойчивых (галофилов), что отражается на скорости и характере трансформации ПАУ в Амурском лимане. Включение полученных данных микробиологического исследования позволяет создать научную картину процессов трансформации ПАУ бентосными МК в Амурском лимане и разработать методы по биоремедиации загрязненных участков.

Выполненные экспериментальные исследования в Амурском лимане показали, что скорость трансформации ПАУ и образования метаболитов зависела от множества факторов, включая природную соленость, адаптацию деструкторов микробного сообщества и концентрации ПАУ. Можно сказать, что для исследования устойчивости экосистем к углеводородному загрязнению и возможности их восстановления необ-

ходимы дальнейшие исследования микробиологических процессов в зоне смешения пресных и соленых вод для более глубокого понимания механизмов, лежащих в основе деструкции ПАУ, а также для разработки методов, позволяющих минимизировать негативное воздействие на гидробионты.

#### Список литературы

1. Rajpara R.K., Dudhagara D.R., Bhatt J.K., Gosai H.B. and Dave B.P. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) at the Gulf of Kutch, Gujarat, India: occurrence, source apportionment, and toxicity of PAHs as an emerging issue // *Marine Pollution Bulletin*. 2019. Vol. 119. P. 231–238.
2. Abdel-Shafy H.I. and Mansour M.S. A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: source, environmental impact, effect on human health and remediation // *Egyptian Journal of Petroleum* 2016. Vol. 25. P. 107–123.
3. Kuppusamy S., Thavamani P., Venkateswarlu K., Lee Y.B., Naidu R. and Megharaj M. Remediation approaches for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) contaminated soils: technological constraints, emerging trends and future directions // *Chemosphere*. 2017. Vol. 168. P. 944–968.
4. Чинова Т.Л., Тищенко П.Я., Кондратьева Л.М., Кудряшова Ю.В., Каваниши Т. Полициклические ароматические углеводороды в эстуарии р. Амур // *Вода: Химия и Экология*. 2013. № 10. С. 14–22.
5. Adeniji A., Okoh O. and Okoh A. Levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in the water and sediment of Buffalo River Estuary, South Africa and their health risk assessment // *Archives contamination and toxicology*. 2019. Vol. 76. P. 657–669.
6. Шестеркин В.П. Многолетняя динамика содержания органического вещества в воде среднего Амура в зимнюю межень // *Вестник ДВО РАН*. 2018. № 2. С. 130–136.
7. Немеровская И.А. Углеводороды в водах и донных осадках Баренцева моря в период изменчивости ледового покрова // *Геохимия*. 2020. Т. 65, № 7. С. 679–692 DOI: 10.31857/S0016752520070079.
8. Белых Л.И., Глызина О.Ю. Закономерности распределения полиароматических углеводородов в системе вода – гидробионты озера Байкал // *XXI век. Техносферная безопасность*. 2023. Т. 8, № 2. С. 126–134. DOI: 10.21285/2500-1582-2023-2-126-134.
9. Yu S.H., Ke L., Wong Y.S., Tam N.F.Y. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by a bacterial consortium enriched from mangrove sediments // *Environment International*. 2005. Vol. 31. № 2. P. 149–154.
10. Bo Fu., Qing X. Li, Ting Xu, Zhong L. Cui, Ying Sun, Ji Li *Sphingobium* sp. FB3 degrades a mixture of polycyclic aromatic hydrocarbons // *International biodegradation*. 2014. Vol. 87. P. 44–51.
11. Кондратьева Л.М., Стукова О.Ю. Биотрансформация полициклических ароматических углеводородов в донных отложениях // *Вода: химия и экология*. 2014. № 10. С. 101–107.
12. Халиков И.С. Оценка возможности диагностики источников загрязнения атмосферного воздуха полициклическими ароматическими углеводородами по их компонентному составу: монография. ФГБУ «НПО» «Тайфун» Росгидромета России. Тамбов: Юнкоф, 2024. 80 с.
13. Кондратьева Л.М., Стукова О.Ю. Биоиндикация загрязнения эстуария реки Амур полиароматическими углеводородами // *Гидробиологический журнал*. 2008. № 5. С. 54–68.
14. Patel A.B., Singh S., Patel A., Jain K., Amin S., Madamwar D. Synergistic biodegradation of phenanthrene and fluoranthene by mixed bacterial cultures // *Bioresource Technology*. 2019. Vol. 284. P. 115–120.
15. Grueiro-Noche G., Andrade J.M., Muniategui-Lorenzo S., Lopez-Mahia P., Prada-Rodriguez D. 3-Way pattern-recognition of PAHs from Galicia (NW Spain) seawater samples after the Prestige's wreck // *Environmental Pollution*. 2010. Vol. 158. P. 207–214.
16. Стукова О.Ю. Влияние солености на биотрансформацию полициклических ароматических углеводородов в донных отложениях Амурского лимана // *Современные науки: актуальные проблемы теории и практики. Серия: Естественные науки*. 2022. № 04/2. С. 35–39.