

УДК 57.014+574.24+574.632+579.68+581.1

ОБ УЧАСТИИ ЗЕЛЁНОЙ ВОДОРОСЛИ *Ulvaria obscura* В БИОРЕМЕДИАЦИИ МОРСКОЙ СРЕДЫ ОТ НЕФТЕПРОДУКТОВ

© 2018 г. Г. М. Воскобойников^{1,*}, академик РАН Г. Г. Матишов¹,
Л. О. Метелькова², З. А. Жаковская², Е. М. Лопушанская³

Поступило 01.03.2018 г.

Установили участие зелёных водорослей в биоремедиации морской среды от нефтепродуктов (НП). Уменьшение содержания НП в воде сопровождалось их накоплением водорослью *Ulvaria obscura* (Chlorophyta). Предположили, что нейтрализация НП у ульварии происходит, как и у *Fucus vesiculosus* (Phaeophyta), всем талломом: деструкция НП начинается на поверхности водоросли с помощью эпифитных углеводородокисляющих бактерий, что обеспечивает поглощение и дальнейшую деградацию НП клетками растения. По-видимому, роль водорослей-макрофитов в биоремедиации прибрежных акваторий от НП значительно выше, чем предполагалось ранее.

DOI: 10.31857/S086956520000064-3

В последние годы всё большее внимание уделяется роли биоремедиации от нефтепродуктов (НП) прибрежных акваторий арктических морей. В большой степени это связано с планируемым увеличением добычи нефти и газа на шельфе, их транспортировкой, строительством на морском побережье перегрузочных комплексов и заводов по переработке углеводородов. Всё это неизбежно приведёт к загрязнению прибрежных акваторий, а именно они являются местом размножения, роста, нагула многих рыб, беспозвоночных и водорослей. Имеющиеся в настоящее время способы борьбы с нефтяным загрязнением: боновые заграждения, диспергенты, сорбенты — несовершенны, а некоторые из диспергентов токсичны для гидробионтов. Сведений в доступной литературе о наличии технологий для окончательной, “финишной”, а также профилактической ежедневной очистки от загрязнений прибрежных акваторий мы не обнаружили.

Ранее [1] нами была выявлена способность некоторых видов водорослей-макрофитов длительное время существовать на литорали Баренцева моря в условиях постоянного нефтяного загрязнения. Мы обнаружили, что обитатель литорали, *Fucus vesiculosus* (Phaeophyta), может образовывать симбиотические ассоциации с эпифитными углеводородокис-

ляющими бактериями (УОБ), причём количество УОБ на поверхности фукуса из загрязнённых НП акваторий была значительно выше по сравнению с водорослями из чистых мест обитания [4]. Мы высказали предположение [2–4], что УОБ преобразуют нефтепродукты, аккумулированные на поверхности фукуса, делая их доступными для поглощения водорослями. На основании результатов исследования водорослей из загрязнённых акваторий мы выдвинули гипотезу, что изученные нами водоросли могут не только выполнять роль субстрата для УОБ, но и поглощать компоненты НП, осуществлять их деструкцию и включать в свой метаболизм [2, 5]. Однако оставалось неясным, обладает ли только *F. vesiculosus* такой способностью или и другие водоросли активно участвуют в биоремедиации.

Цель настоящей работы — определить возможное участие в очистке морской среды от НП ещё одного обитателя постоянно загрязнённых мест литорали Баренцева моря — зелёной водоросли *Ulvaria obscura*.

Опыты проводили в трёхлитровых ёмкостях с морской водой (солёность 33‰). Воду предварительно фильтровали через ватно-марлевый фильтр и добавляли в неё летнее дизельное топливо (ДТ) в количестве 2,87 мг/л. Ранее было показано [7], что данная концентрация ДТ, в десятки раз превышающая рыбохозяйственный норматив ПДК для морской воды, не подавляла рост ульварии. Вегетативные таломы *U. obscura* отбирали на литорали губы Зеленецкая Баренцева моря (69°07'09" с.ш., 36°05'35" в.д.), очищали от возможных обрастателей, взвешивали и погружали в сосуды с водой. Опыт

¹ Мурманский морской биологический институт

Кольского научного центра Российской Академии наук

² Санкт-Петербургский научно-исследовательский центр экологической безопасности Российской Академии наук

³ Всероссийский научно-исследовательский институт метрологии им. Д.И. Менделеева, Санкт-Петербург

* E-mail: grvosk@mail.ru

проводили в термостатируемых прилавках при температуре 7–8 °С, освещении 16–18 Вт/м² и постоянной аэрации воды. Общая продолжительность эксперимента составила 15 сут. Каждые 5 сут образцы воды и водорослей отбирали и исследовали методом ГХ/МС (газовой хроматографии/масс-спектрометрии) на предмет содержания в них НП. Водоросль, не подвергавшуюся воздействию НП, исследовали как контрольный образец (содержание индивидуальных n-алканов в контрольном образце не превышало 0,1 мкг/л, что несравнимо мало с измеряемыми в опыте концентрациями).

Процесс пробоподготовки и инструментального анализа осуществляли на основе методики EPA 8270 (Semivolatile Organic Compounds by GC/MS). Для подготовки проб воды применяли жидкостно-жидкостную экстракцию при нейтральном значении показателя кислотности среды. Образцы водорослей подвергали экстракции в ультразвуковой установке. Раствор внутреннего стандарта (2-фторнафталин) вводили перед экстракцией в пробы воды и непосредственно перед анализом ГХ/МС в экстракты водорослей. Анализ экстрактов проводили с использованием хромато-масс-спектрометра низкого разрешения DSC II фирмы “Thermo Finnigan” (США). Расчёт массовой доли содержания компонентов ДТ

производили с использованием метода внутреннего стандарта. При расчёте значений концентраций учитывали коэффициент чувствительности масс-спектрометрического детектора в парах 2-фторнафталин/дейтерированный пентадекан (D₃₂) и 2-фторнафталин/дейтерированный эйкозан (D₄₂).

Визуальные наблюдения за талломом, а также с помощью светового микроскопа за строением клеток ульварии не выявили каких-либо признаков деградации у водорослей в течение эксперимента.

Мы обнаружили уменьшение валового содержания НП и общего содержания индивидуальных компонентов ДТ (алканы C₁₁–C₂₅) в воде в течение опыта. Валовое содержание снизилось с 6,6 мг/л (измерение через 5 сут) до 2,2 мг/л (15 сут), сумма алканов — с 3,2 до 0,95 мг/л соответственно. Изменение отношения C₁₇/пристан свидетельствовало об активно протекающем процессе деградации НП в воде.

Одновременно с уменьшением содержания НП в пробах воды мы зарегистрировали увеличение их валового содержания в водорослях с течением времени — от 6,1 мкг/г (0 сут) до 1927 мкг/г (15 сут). Диаграмма изменения содержания индивидуальных компонентов ДТ у ульварии в процессе экспери-

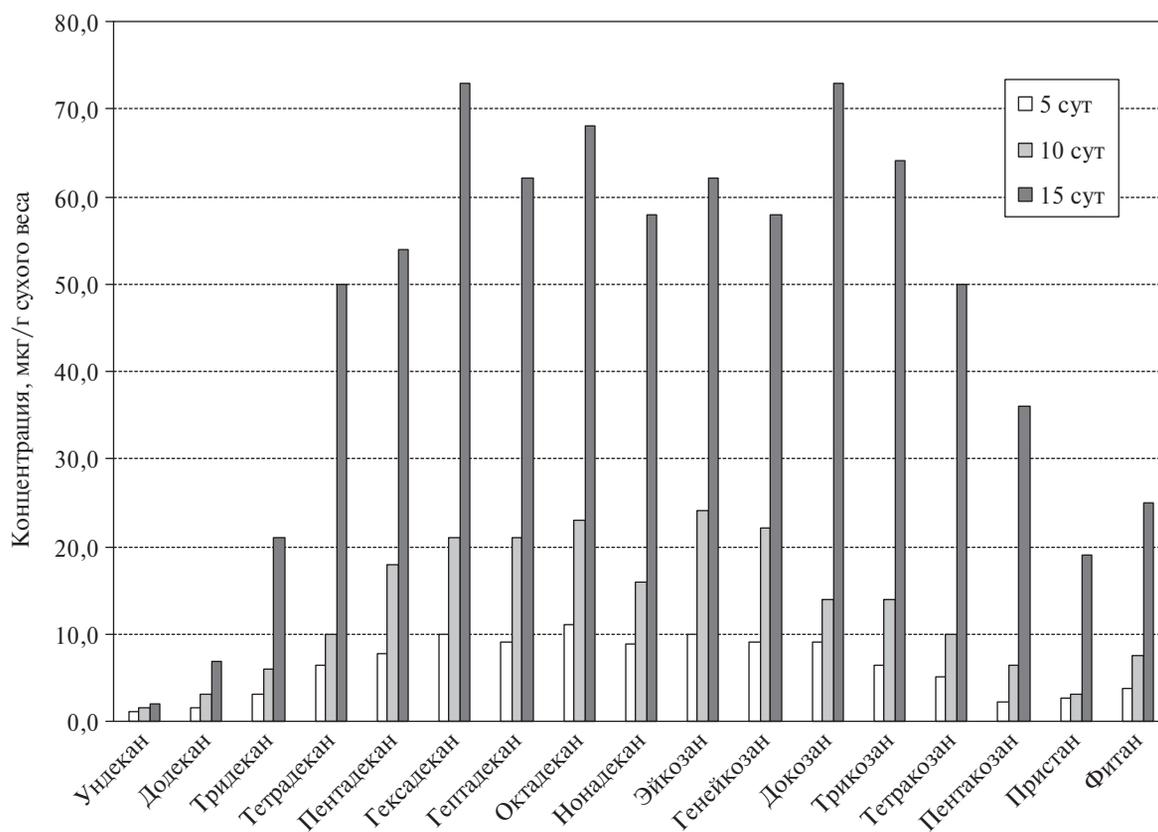


Рис. 1. Уровни содержания алканов в экстрактах водоросли *Ulvaria obscura* в зависимости от времени опыта.

мента представлена на рис. 1. Полученные данные демонстрируют возрастание концентрации каждого компонента. Изменение отношения C_{17} /пристан и в образцах воды может свидетельствовать о деградации НП.

Анализ места деградация НП (на поверхности или внутри водоросли) показал, что как в том, так и в другом случае пробы были насыщены углеводородами. Значительной разницы по качественному или количественному составу алканов не наблюдали. Логично предположить, что у ульварии, как и у фукуса [5], деструкция НП начинается на поверхности водоросли, что обеспечивает поглощение и дальнейшую деструкцию НП клетками растения. Это предположение доказывают данные о присутствии на поверхности ульварии эпифитных бактерий [6], а также предварительные данные о способности представителя семейства ульвовых, *Ulva lactuca*, метаболизировать бензиновые углеводороды [8].

Результаты нашего исследования свидетельствуют о высокой сорбционной способности водоросли *U. obscura* в отношении НП: уменьшение содержания НП в воде шло параллельно с их накоплением в водорослях. Деструкция НП у ульварии происходила так же, как и у фукуса, всем талломом: начиналась на поверхности водоросли с помощью эпифитных УОБ, что обеспечивало поглощение и нейтрализацию НП клетками растения.

Полученные в настоящей работе данные вносят вклад в доказательную базу участия водорослей-макрофитов в биоремедиации морской среды и позволяют оценить их роль в очистке прибрежных акваторий от НП значительно выше, чем предполагалось ранее.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России в рамках ФЦП “Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технического комплекса России на 2014–2020 годы” (уникальный идентификатор проекта RFMEFI61616X0073).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Воскобойников Г.М., Матишов Г.Г., Быков О.Д., Маслова Т.Г., Усов А.И.* Об устойчивости морских макрофитов к нефтяному загрязнению // ДАН. 2004. Т. 397. № 6. С. 842–844.
2. *Воскобойников Г.М., Ильинский В.В., Лопушанская Е.М., Пуговкин Д.В.* О возможной роли морских макрофитов в очистке поверхности воды от нефтяного загрязнения. В сб.: Нефть и газ арктического шельфа. Мурманск, 2008. С. 63–65.
3. *Воскобойников Г.М., Пуговкин Д.В.* О возможной роли *Fucus vesiculosus* в очистке прибрежных акваторий от нефтяного загрязнения // Вестн. МГТУ. 2012. Т. 15. № 4. С. 716–720.
4. *Ильинский В.В., Воскобойников Г.М., Пуговкин Д.В., Комарова Т.И.* Влияние нефтяного загрязнения среды на состав и численность гетеротрофных эпифитных бактерий бурой водоросли *Fucus vesiculosus* // Вестн. Южного науч. центра РАН. 2010. Т. 6. № 2. С. 98–100.
5. *Воскобойников Г.М., Ильинский В.В., Лопушанская Е.М., Макаров М.В., Пуговкин Д.В., Рыжик И.В., Ляймер А., Йенсен Дж.Б.* Санитарная водорослевая плантация для очистки прибрежных акваторий от нефтепродуктов: от теории к практике // Вопр. соврем. альгологии. 2017. № 3 (15). URL: <http://algology.ru/1184>.
6. *Семенов А.М., Федоренко В.Н., Семенова Е.В.* Микроорганизмы на поверхности морских макрофитов в северных морях России и их возможное практическое использование // Междисциплинарный науч. и прикл. журн. “Биосфера”. 2014. Т. 6. № 1. С. 60–76.
7. *Степаньян О.В., Воскобойников Г.М.* Влияние нефти и нефтепродуктов на морфофункциональные особенности морских макроводорослей // Биология моря. 2006. Т. 32. № 4. С. 241–248.
8. *Pilatti F., Ramlov F., Schmidt E., Kreusch M., Pereira D., Costa Ch., Oliveira E. de, Bauer Cl., Rocha M., Bouzon Z., Maraschin M.* In vitro Exposure of *Ulva Lactuca* Linnaeus (Chlorophyta) to Gasoline e Biochemical and Morphological Alterations // Chemosphere. 2016. № 156. P. 428–437.