

## СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ГЛУБОКОВОДНОГО ВЫХОДА НЕФТИ У МЫСА 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*

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 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 г. 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.

*Естественные нефтепроявления, *n*-алканы, полициклические ароматические углеводороды, биодegradация, микробные сообщества, Горевой Утес, оз. Байкал*

## CURRENT STATE OF DEEP OIL SEEPAGE NEAR CAPE GOREVOI UTES (*Central Baikal*)

O.N. Pavlova, O.N. Izosimova, A.G. Gorshkov, A.S. Novikova, S.V. Bukin,  
V.G. Ivanov, O.M. Khlystov, and T.I. Zemskaya

We present data, collected in 2016, on the concentration of *n*-alkanes and polycyclic aromatic hydrocarbons in water and bottom sediments as well as the abundance and composition of the cultured microbial community in the area of the oil seepage near Cape Gorevoi Utes. Since its discovery in 2005, the development dynamics of the oil seepage has demonstrated a decrease in the total concentration of normal hydrocarbons and polycyclic aromatic hydrocarbons in oil slicks and bottom sediments, partial degradation of oil entering the water surface, and an increase and subsequent reduction in the number of microorganisms in water and bottom sediments with the maintained structure of the cultured microbial community. From 2006 to 2016, there was a low total concentration and a narrow range of detected concentrations of *n*-alkanes and polycyclic aromatic hydrocarbons in the water column, which indicates the preservation of water purity in the lake near the oil seepage.

*Natural oil seepages, *n*-alkanes, polycyclic aromatic hydrocarbons, biodegradation, microbial communities, Gorevoi Utes, Lake Baikal*

## ВВЕДЕНИЕ

Научная проблема нефтегазоносности оз. Байкал и Байкальской рифтовой зоны берет свое начало с XIII в., 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 обнаружили новое нефтепроявление у м. Горевой Утес (Средний Байкал) [Хлыстов и др., 2007]. На поверхности воды площадью около 1 км<sup>2</sup> были замечены 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 небодеградированная 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; Gorshkov et al., 2006; Конторович и др., 2007; Хлыстов и др., 2007].

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 происходило 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 оз. 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 оз. Байкал и его притоках [Павлова и др., 2008а,б; Горшков и др., 2010б; Kadnikov et al., 2013; Likhoshvaу et al., 2013; Ломакина и др., 2014; 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 водной поверхности; 2) ст. R-6 — на участке без нефтяных пятен на водной 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 сликов на водной поверхности отбирали с помощью стерильного стакана в стеклянные бутылки объемом 1 дм<sup>3</sup>. Для количественного определения *n*-алканов и ПАУ в водной толще пробы отбирали в стеклянные бутылки объемом 1 дм<sup>3</sup>. К каждой пробе воды добавляли 50 см<sup>3</sup> 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, GC4) гравитационной трубой с пластиковым вкладышем (см. 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 C<sub>10</sub>H<sub>22</sub>, C<sub>12</sub>H<sub>26</sub> и C<sub>16</sub>H<sub>34</sub>. Сырую нефть (АНХК, г. Ангарск) и реактивы *n*-алканов стерилизовали фильтрованием через фильтр с диаметром пор 0.45 мкм и хранили в стерильных флаконах. Органотрофные бактерии определяли на рыбопептонном агаре, разбавленном в 10 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 осуществляли на основании их морфологических и физиолого-биохимических признаков по определителю бактерий Берджи [Garrity et al., 2005а; 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

**Рис. 1. Карта–схема отбора проб в районе нефтепроявления у м. Горевой Утес:**

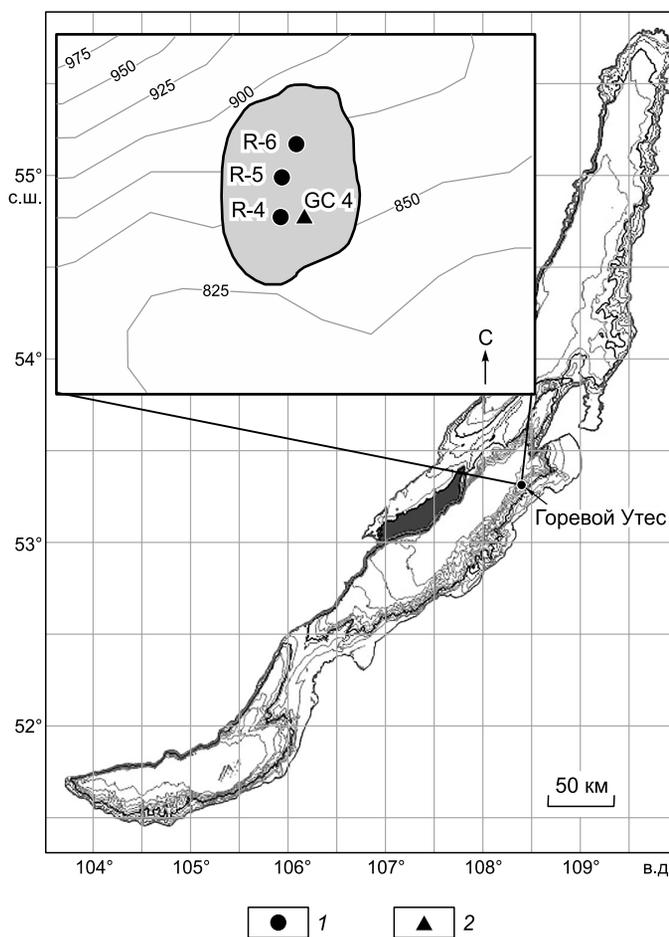
1 — пробы воды; 2 — донные осадки.

встречающиеся, 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 осуществляли 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 мм<sup>3</sup> раствора ПАУ (смесь нафталина-d<sub>8</sub>, аценафтена-d<sub>10</sub>, фенантрена-d<sub>10</sub>, хризена-d<sub>12</sub>, перилена-d<sub>12</sub>) в ацетонитриле с концентрацией 5 нг/мм<sup>3</sup> каждого полиарена и 200 мм<sup>3</sup> раствора сквалана в хлористом метиле с концентрацией 0.332 мкг/мм<sup>3</sup>. Смесь встряхивали, переносили в делительную воронку объемом 1 дм<sup>3</sup>, затем добавляли 30 см<sup>3</sup> хлористого метилена и встряхивали в течение 3 мин. После расслоения фаз нижний слой хлористого метилена отбирали и экстракцию повторяли новой порцией 30 см<sup>3</sup> экстрагента, экстракты объединяли и концентрировали до объема ~ 1 см<sup>3</sup>. К концентратам добавляли Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (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, 50, 100, 250 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 массой 2–3 г, к которым добавляли растворы внутренних стандартов 25 мм<sup>3</sup> раствора ПАУ и 50 мм<sup>3</sup> раствора сквалана. ПАУ и *n*-алканы экстрагировали 15 см<sup>3</sup> хлористого метилена в ультразвуковой ванне дважды по 20 мин. Экстракты объединяли и центрифугировали, супернатант отделяли и концентрировали до объема ~ 1 см<sup>3</sup> 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 ОПТИМА®–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 мм<sup>3</sup> 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 во-

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

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

\* [Горшков и др., 2010а].

дной 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 нафтеноароматические горбы. Обнаруженный гомологический ряд *n*-алканов нефти от C<sub>12</sub> до C<sub>29</sub> оценен интервалом суммарного содержания углеводородов (Σ<sub>алк</sub>) от 16 до 36 % (таблица). Ряд ПАУ в нефтяных сликах включал 21 соединение с суммарным содержанием аренов (Σ<sub>ПАУ</sub>), не выходящим за пределы диапазона от 0.05 до 0.07 %, и количеством бенз[а]пирена от 5.1 до 6.1 г/т. Необходимо отметить доминирование в составе нефти метилированных гомологов фенантрена, соотношение антрацен/(антрацен + фенантрен), равное 0.04, указывающее на петрогенный источник нефти на водной поверхности. В составе сликов отсутствовали выше предела определения (0.05 г/т) 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 Σ<sub>алк</sub> не превышало уровня 5.8 мкг/л (рис. 2, а). Гомологический ряд обнаруженных *n*-алканов отличался бимодальным распределением с двумя максимумами при C<sub>16</sub> и C<sub>26</sub> (см. рис. 2, б). На глубинах 400–800 м содержание Σ<sub>алк</sub> 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 Σ<sub>ПАУ</sub> 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 Σ<sub>алк</sub> найдено в интервале от 0.35 до 0.94 мкг/л, содержание Σ<sub>ПАУ</sub> — 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 Σ<sub>алк</sub> не превышала 0.9 мкг/л и была в 2.5 раза меньше, чем в соответствующих пробах, взятых на ст. R-4 и R-5 (см. рис. 2, а). Содержание ПАУ соответствовало интервалу от 3.9 до 15 нг/л. Следует отметить,

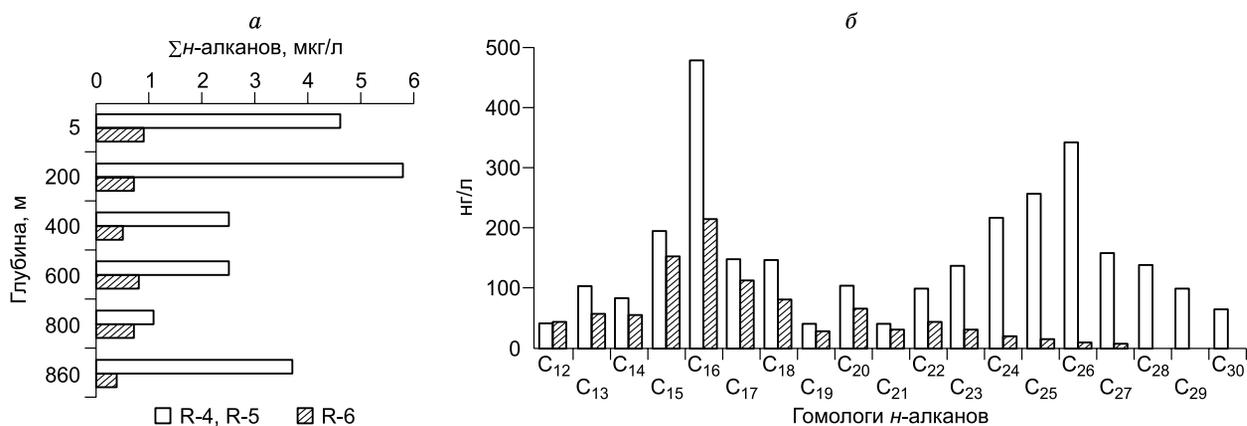


Рис. 2. Распределение *n*-алканов в водной толще (а); соотношение гомологов нормальных углеводородов в пробах воды с глубины 5 м (б).

что качественный состав нормальных углеводородов и ПАУ в воде сходен с их составом в нефтяных сляках, что предполагает один источник углеводородов — нефтеметановый сип.

Численность культивируемых УВОМ и органотрофных бактерий в водной толще зависела от станции отбора проб. В поверхностном слое воды с нефтяными сляками (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 повышалась 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  $60 \pm 5$  до  $300 \pm 30$  КОЕ/мл для углеводородоокисляющих бактерий и от  $100 \pm 8$  до  $290 \pm 23$  КОЕ/мл для органотрофов (рис. 3, а, б).

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

Донные осадки керна VER-16-01, GC4 представлены в верхнем интервале (от поверхности до 140 см) газонасыщенными алевритопелитовыми илами, пропитанными нефтью; в нижнем (от 140 до 310 см) — глиной, в которой отмечены вертикальные или наклоненные к оси керна каналы разгрузки диаметром до 5 мм, трещины скола и дегазации 1—2 мм, а также горизонтальные прослои алевритопесчанистого 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 г/т (сухая масса керна).

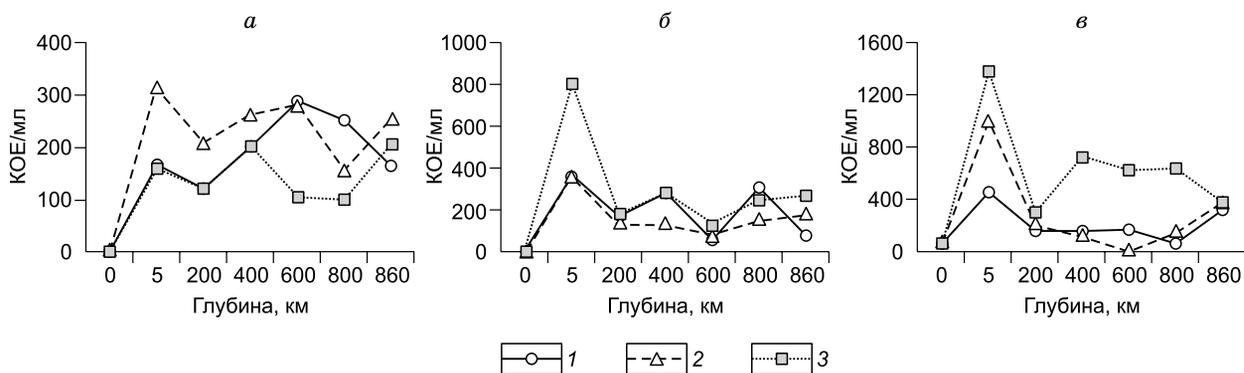
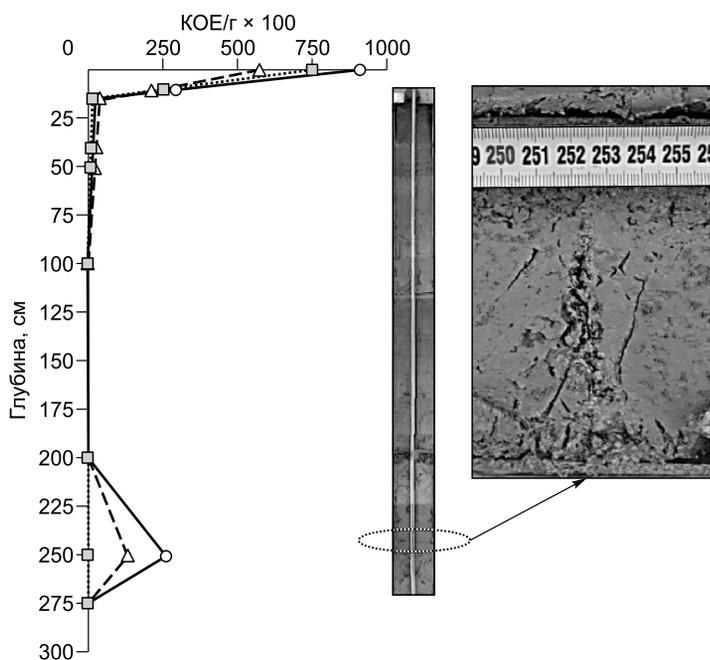


Рис. 3. Распределение микроорганизмов, окисляющих:

1 — нефть, 2 — *n*-алканы, 3 — легкодоступное органическое вещество в водной толще на станциях R-4 (а), R-5 (б), R-6 (в).



**Рис. 4.** Распределение микроорганизмов, окисляющих нефть, *n*-алканы и легкодоступное органическое вещество в керне VER-16-01, GC4.

Усл. обозн. см. на рис. 3.

В составе керна идентифицировано 24 ПАУ, содержание которых оценено интервалом от 1.6 до 16 г/т (сухая масса керна). Максимальным уровнем суммарных концентраций выделялись фенантрены от 0.9 до 12 г/т (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 г/т (см. таблицу).

Численность культивируемых микроорганизмов в донных осадках была макси-

мальной в верхнем окисленном слое осадка, где доминировали микроорганизмы, окисляющие нефть ( $90 \pm 1$  тыс. КОЕ/г) (рис. 4). Культивируемые органотрофные микроорганизмы в основном были представлены бактериями родов *Bacillus* и *Paenibacillus*. С увеличением глубины керна наблюдалось снижение численности всех исследуемых групп микроорганизмов. Вторым по численности микроорганизмов, окисляющих нефть ( $26 \pm 1$  тыс. КОЕ/г) и *n*-алканы ( $13 \pm 1$  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/т керна (сухая масса) при минимальном содержании нефти 1.8—3.4 мг/г керна (сухая масса).

В воде и донных осадках выявлены культивируемые углеводородокисляющие 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 км<sup>2</sup>. Состав ПАУ в нефтяных сликах с соотношением индикаторных соединений антрацен/(антрацен + фенантрен), равным 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. [Gorshkov et al., 2006; Хлыстов и др., 2007], следующими характеристиками: а) снижением суммарного содержания нормальных углеводородов и ПАУ, б) частичной деградацией нефти, о чем свидетельствует появление нафтеноароматического 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 отмеченных изменениях в составе нефтяных сликов.

Уменьшение количества алкановой фракции нефти  $\Sigma_{\text{алк}}$  в исследованном керне донных отложений до 1.7–48 г/т (сухая масса керна) может быть связано как с уменьшением потока нефти в воды озера, 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., 2010a] в воды озера поступает фракция, обогащенная *n*-алканами, которые легко подвергаются биологическому окислению, как показано модельными экспериментами [Павлова и др., 2012]. Оценка содержания углеводов 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 углеводородоокисляющих микроорганизмов — на один–два порядка величины выше, чем в пробах поверхностной воды и водной толщи.

Следует отметить, что максимальная численность органотрофных и углеводородоокисляющих микроорганизмов выявлена в пробах, отобранных вне зоны видимых нефтяных slickов (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 оз. 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 родов *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 углеводородоокисляющих 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 г. Среди культивируемых углеводородоокисляющих микроорганизмов доминирующее 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 рНК, согласно которым микробное сообщество в основном представлено филумами *Actinobacteria*, *Cyanobacteria* и *Proteobacteria* с доминированием бактерий *Rhodococcus*, участвующих в биodeградации ароматических углеводов и *n*-алканов нефти [Likhoshvay et al., 2013; Ломакина и др., 2014; Zemskaya et al., 2015; Zakharenko et al., 2019]. Способность деградировать углеводороды закреплена в геномах байкальских микроорганизмов, обитающих в районе естественного выхода нефти [Likhoshvay et al., 2013; Ломакина и др., 2014], 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 по 2016 г. и составляет около 1 км<sup>2</sup>. Оценка соотношений индикаторных ПАУ в составе нефтяных slickов указывает на петрогенный источник нефти. Отмечено снижение суммарного содержания нормальных углеводов 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 г., 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 Зеленая [Рязанов, 1928; Рябухин, 1934; Талиев и др., 1985; Петрова, Мамонтова, 1985; Каширцев и др., 1999, 2006; Исаев и др., 2003; Исаев, Преснова, 2003;

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, 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 Иркут. ун-та, 2003, с. 44—51.

**Исаев В.П., Примина С.П., Ширибон А.А.** Проблема нефтегазоносности озера Байкал и Усть-Селенгинской впадины // Материалы научно-практического совещания. 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 озера 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 газонефтесодержащих 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.** Биodeградация нефти и углеводородов 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 газонефтесодержащих 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 геологии 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.** Угледородоокисляющие 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 // ДАН, 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 // ДАН, 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. Vol. 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. Vol. 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. Congr. Anal. 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. Vol. 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. Vol. 5. The Actinobacteria.* 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* / Ed. M. Fingas. Burlington, Elsevier, 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 Yu.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.*, 2019, v. 78, № 2, p. 269—285.

**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.

*Рекомендована к печати 27 ноября 2019 г.*

*Л.М. Бурштейном*

*Поступила в редакцию 19 февраля 2019 г.,*

*после доработки — 7 ноября 2019 г.*