ПРОВЕРЕНО

Ордена Ленина и ордена Дружбы Народов Академия наук Украины
ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ЮЖНЫХ МОРЕЙ им. А. О. КОВАЛЕВСКОГО

На правах рукописи

АЛЁМОВ *Сергей Викторович*

УДК 595.142.2:551.46.09:543.38(26.25)

РОЛЬ NEREIS DIVERSICOLOR O. F. MULLER В ТРАНСФОРМАЦИИ ОРГАНИЧЕСКОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ В ДОННЫХ ОСАДКАХ

03.00.18 — гидробиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук

СЕВАСТОПОЛЬ
1993

Ордена Ленина и ордена Дружбы Народов Академия наук Украины
Ордена Трудового Красного Знамени
Институт биологии южных морей им. А. О. Ковалевского

на правах рукописи

Алёмов Сергей Викторович

УДК 595.142.2:551.46.09:543.38(262.5)

Роль Nereis diversicolor O.F.Muller в трансформации органического загрязнения в донных осадках

03.00.18 - гидробиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Севастополь
1993

Институт биологии
южных морей АН УССР
№ 2

Диссертация является рукописью

Работа выполнена в Институте биологии южных морей им. А. О. Ковалевского АН Украины

Научный руководитель - доктор биологических наук, профессор О. Г. Миронов

Официальные оппоненты - доктор биологических наук М. И. Киселёва

кандидат биологических наук М. М. Джуртубаев

Ведущее учреждение - Институт Гидробиологии АН Украины

Защита диссертации состоится в конце октября 1993 г. в "_____" час. на заседании специализированного совета Д 016.12.01 в Институте биологии южных морей АН Украины 335000, г. Севастополь, пр. Нахимова, 2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института биологии южных морей им. А. О. Ковалевского АН Украины.

Автореферат разослан "10" сентября 1993 г.

Ученый секретарь
Специализированного совета
кандидат биологических наук Н. Г. Сергеева

В настоящее время загрязнение морей и океанов имеет значение экологического фактора, который оказывает на морские экосистемы существенное, а в некоторых районах и определяющее влияние. Интенсивное загрязнение морского шельфа приводит к необходимости вести разработку мероприятий по охране моря, в этой связи все большее значение приобретают исследования, направленные на изучение процессов самоочищения моря, взаимодействия морских организмов и их сообществ с загрязнением. Такие исследования включают как полевые наблюдения, так и проведение экспериментальных работ.

В прибрежные воды поступают различные химические вещества аллохтонного происхождения, однако, одними из наиболее опасных в биологическом отношении токсикантов и наиболее распространенными в настоящее время в море являются углеводороды, в первую очередь нефть и нефтепродукты. Попадающая в море нефть со временем накапливается в донных осадках, оказывая пагубное воздействие на сообщества донных организмов. Имеются сведения, что наряду с бактериями, в трансформации нефтепродуктов участвуют организмы инфауны [Кирюхина, Миловидова, 1979; Gordon et al., 1978; Gardner et al., 1979]. Дальнейшие работы по изучению роли данной группы организмов в процессах деструкции загрязняющих веществ позволят подойти к решению таких основных вопросов санитарной гидробиологии как оценка самоочищающей способности различных акваторий, а также возможности целенаправленного использования гидробионтов для очистки загрязненных морских вод.

При проведении натурных исследований и лабораторных экспериментальных работ по изучению взаимодействия морских животных с антропогенным загрязнением в качестве модельного вида часто используется многощетинковый червь Nereis (Hediste) diversicolor O. F. Muller, что обусловлено его высокой устойчивостью к изменениям абиотических факторов среды, действию различных токсикантов, а также, очевидно, доступностью (он широко распространен и образует плотные поселения на мелководье).

Основной целью работы было изучение влияния Nereis diversicolor на процессы трансформации органического загрязнения, в первую очередь нефти и нефтепродуктов, в донных осадках и оценка возможности использования данного вида при разработке

гидробиологических методов защиты прибрежных акваторий от загрязнения.

Были поставлены следующие задачи:

- рассмотреть влияние нефти на поведение N. diversicolor;
- исследовать липидный состав тканей нереисов, обитающих в загрязненном грунте, учитывая характер воздействия нефти на гидробионтов;
- исследовать химический состав фекалий N. diversicolor, обитающих в загрязненном грунте;
- изучить изменения, происходящие в загрязненном грунте под влиянием нереисов;
- рассмотреть способность нереиса к трансформации фекалий фильтраторов, учитывая направления в разработке систем гидробиологической очистки;
- оценить вклад N. diversicolor в процессы трансформации органических веществ бентосным сообществом.

Научная новизна и теоретическая значимость.

Изучено поведение N. diversicolor в грунтах, содержащих различные количества нефтяных углеводородов. Получены данные фракционного состава липидов тканей и фекалий нереисов. В тканях опытных животных содержавшихся в естественных загрязненных грунтах и грунтах с добавлением сырой нефти не отмечено существенного накопления углеводородов по сравнению с контрольными, тогда как в фекалиях количество углеводородов возрастает. Воздействие сырой нефти приводит к изменениям содержания различных фракций липидов в тканях и фекалиях нереисов. Липидно-углеводородные экстракты фекалий нереисов отличаются по характеристикам ИК-спектров и спектров флуоресценции от экстрактов грунта, в котором содержались животные. Максимумы флуоресценции экстрактов фекалий имели сдвиг в коротковолновую область относительно максимума флуоресценции соответствующего грунта. Показано, что в загрязненном грунте в присутствии нереисов уменьшается содержание хлороформного битумоида. В составе битумоидов снижается количество кислородсодержащих и ароматических соединений. Битумоиды, выделенные из стенок норок нереисов отличаются по своим спектральным характеристикам от битумоидов остальной толщи грунта. Нереисы способны снижать интенсивность накопления органических соединений в грунте, в

том числе углеводородов, вызванную деятельностью фильтраторов.

Оценен вклад популяции N. diversicolor в процессы утилизации органического вещества в кутовой части б. Стрелецкая. Поток энергии через популяцию нереиса составляет 2-40% общего потока через бентосное сообщество в различных участках исследованного района. На площади 1,4 га популяцией нереиса трансформируется около 450 г углеводородов в сутки. Фильтрационная активность нереисов может в значительной степени восполнять снижение биофильтра сестонофагов.

Проведенная работа расширяет представление о роли инфауны в трансформации нефтяного загрязнения. Полученные данные могут быть полезны при разработке общих вопросов антропогенного воздействия на донные биоценозы.

Практическое значение.

Показано, что N. diversicolor является перспективным при разработке мероприятий, направленных на повышение самоочищающей способности морской среды, и может быть использован в качестве одного из звеньев в системах гидробиологической очистки морских вод.

Апробация работы. Материалы диссертации докладывались на 18-й конференции молодых ученых биологического факультета МГУ "Проблемы современной биологии" (Москва, 1987); 3 Всесоюзной научно-технической конференции "Вклад молодых ученых и специалистов в решение современных проблем океанологии и гидробиологии" (Севастополь, 1988); научно-технических конференциях "Вклад молодых ученых и специалистов в ускорение научно-технического прогресса и интенсификацию народного хозяйства (Севастополь, 1987,1988,1989); Республиканской конференции "Научные основы и технология очистки природных водоемов и промышленных сточных вод от нефтепродуктов" (Киев, 1990); Всесоюзной конференции "Отечественный опыт внедрения промышленных очистных сооружений" (Севастополь, 1991); научных семинарах отдела морской санитарной гидробиологии ИнБЮМ АН Украины (Севастополь, 1988-1993).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 4 печатных работы, 1 работа сдана в печать.

Структура объем диссертации. Диссертация изложена на 182 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора

литературы, описания материалов и методов исследования, результатов и обсуждения, изложенных в пяти главах, заключения, выводов, списка использованной литературы. Текст иллюстрирован 16 рисунками и 22 таблицами. Библиография включает 274 наименования, в том числе 172 на иностранных языках.

ГЛАВА 1. Основные черты биологии Nereis diversicolor.

В обзоре литературы сделана попытка как можно более полно осветить различные вопросы биологии и экологии N. diversicolor, которые могут иметь существенное значение при решении поставленной цели. Отмечено, что данный вид широко распространен в прибрежных биоценозах морей Северной Европы и Средиземноморского бассейна, Каспийского и Аральского морей. Развитие личинок проходит, как правило, без планктонной стадии. Нереис обладает исключительно широким спектром способов добывания пищи, но основное место в его рационе занимает поверхностный слой грунта. Наибольшего развития данный вид достигает на илистых или сильно заиленных грунтах, предпочитая районы с пониженной соленостью, взрослые особи могут долго выживать в практически пресной воде. Нереис адаптирован к широкому диапазону температур, длительному отсутствию кислорода и наличию сероводорода. Он проявляет устойчивость к действию значительных концентраций хлорорганических соединений, тяжелых металлов (хрома, никеля, свинца, кадмия, ртути и др.). При возрастающем уровне эвтрофикации прибрежных вод зачастую отмечается рост его численности и биомассы. Нереис достаточно устойчив к действию нефти, встречаясь в районах со значительным содержанием углеводородов в донных осадках.

ГЛАВА 2. Материалы и методы.

Для лабораторных экспериментов неполовозрелых особей N. diversicolor отлавливали в кутовой части б. Стрелецкая у уреза воды. Опыты проводили в аквариальных условиях при температуре воды близкой к таковой в прибрежной зоне моря. Грунт, используемый для экспериментов, освобождали от макроорганизмов просеиванием через сито с ячеей 1 мм. Для сбора фекалий, нереисов пересаживали из грунта в емкость с чистой морской водой, и через сутки со дна емкости пипеткой собирали фекалии. При проведении экспериментов использовались конструкции собственной разработки.

В воздушно-сухих пробах донных осадков и фекалий определяли углеводоподобные соединения триптофановым методом [Агатова, Полуяктов, 1980], белковоподобные соединения методом Лоури [Агатова, Андреева, 1980], соединения липидно-углеводородного комплекса экстрагировали из фекалий, грунта и тканей нереисов хлороформ-метанольной (2:1) или хлороформ-этанольной (1:1) смесью с гравиметрическим окончанием анализа. Липидные экстракты разделяли методом тонкослойной хроматографии с последующей денситометрией [Копытов, 1983]. В отдельных экспериментах хлороформенные экстракты исследовали на инфра-красном спектрофотометре "Specord 75 IR" и спектрофлуориметре "Hitachi MPF-4" (длина волны возбуждения 290 нм).

Проведен 21 эксперимент продолжительностью от 7 суток до 4 месяцев, при этом в 5 изучалось поведение N. diversicolor в загрязненных грунтах, в 3-х - состав тканей, в 6 - состав фекалий, в 20 - характеристики грунта. В экспериментах было использовано около 500 экз. нереисов. Обработано более 330 проб, в том числе 33 пробы тканей N. diversicolor, 35 - фекалий, 264 - грунта. Достоверность отличия средних оценивалась по критерию Стьюдента [Парчевская, 1977]. Статистические расчеты, корреляционный и регрессионный анализ проводились на ПЭВМ "Amstrad PC-XT" с использованием программ, подготовленных Драенко С. А. (ИнБЮМ).

При проведении бентосной съемки в б. Стрелецкая пробы отбирали водолазным дночерпателем типа "кошелек" площадью 0,08м^2 по три повторности в каждой точке, макрозообентос отмывали на системе из двух сит с диаметром ячеи 5 и 1 мм.

ГЛАВА 3. Поведение нереиса в загрязненном грунте.

Наблюдения проводили при помощи устройства, имеющего вид "кассеты", состоящей из двух стеклянных пластин 10х20 см, соединенных зажимами. Внутренняя полость между пластинами, шириной около 3-4 мм, заполнялась грунтом. После этого кассета

опускалась вертикально в сосуд с морской водой и в нее сажали подопытного червя. В грунте с содержанием хлороформного битумоида (ХБ) 0,5 мг/г сухого осадка, и с добавлением сырой нефти (7,0 мг/г), глубина проникновения нереисов практически не различалась и составляла около 15 см. Черви способны были прокладывать ход норы в обоих направлениях через загрязненный слой (ХБ 41,5 мг/г), расположенный в центре кассеты с чистым грунтом. При послойном расположении грунта (в верхнем слое содержание ХБ 0,5 мг/г и далее вглубь - 2,3, 4,8, 11,8 и 18,6 мг/г) нереисы прокладывали норы до 4 слоя. Глубина проникновения не отличалась существенно от контроля (только чистый грунт) и определялась, очевидно, плотностью осадка.

При рассмотрении возможности заселения нереисами грунтов с различным уровнем загрязнения, подопытных животных запускали в аквариум, где степень загрязнения возрастала от одной стенки к другой по секторам (1 сектор - ХБ 0,5 мг/г, сектора 2-5 с добавлением сырой нефти соответственно 0,75, 1,5, 3 и 6 г на каждые 100 г сырого грунта). Перегородок между слоями грунта не было, чтобы животные могли свободно перемещаться под поверхностью грунта. Через 10 суток из аквариума по секторам извлекали грунт и подсчитывали количество животных. Осредненные результаты по двум одинаковым экспериментам: 1 сектор - 41,5±8,4%, 2-й - 4,2±2,1%, 3-й - 0, 4-й - 16,7±4,3%, 5-й - 37,6±6,4% от количества подопытных животных.

Таким образом, уровень загрязнения донных осадков, встречающийся в естественных условиях, не препятствует проникновению N. diversicolor в грунт, и в условиях постоянной смены воды не оказывает существенного влияния на его поведение.

ГЛАВА 4. Изучение изменений в тканях и фекалиях Nereis diversicolor под воздействием загрязнения.

4.1. Исследование тканей.

Нефть и нефтепродукты вызывают изменения как общего количества жира в организме, так и содержания отдельных липидных фракций [Миронов, Щекатурина, 1985]. С другой стороны, содержание липидов является одной из важных причин, определяющих накопление углеводородов [Щекатурина, 1984].

В экспериментах, проводимых в зимний период, нереисов содержали в грунте из загрязненного района (ХБ 22,38 мг/г), а контролем служили полихеты в грунте из их места обитания (ХБ 3,61 мг/г). Через месяц определяли фракционный состав липидов в тканях нереисов. Содержание углеводородов в тканях червей в контроле и опыте составляло 0,45 мг/г сырого веса (табл. 1). В составе липидов у опытных животных возрастало содержание фосфолипидов, стеринов, жирных кислот и их эфиров по отношению к контрольным. Количество ароматических соединений в грунте в опыте в 10-15 раз больше, чем в контроле. Несмотря на это, в тканях опытных нереисов не отмечено увеличение содержания ароматических углеводородов по сравнению с контролем.

При экспериментальном внесении нефти в грунт (0,5 мл на

Таблица 1. Фракционный состав экстракта из тканей нереисов.

Условия	Состав липидной фракции								Сумма липидов	УВ
	н/и	ФЛ	ХСТ	В+ЭСТ	МГЛ	ТГЛ	СЖК	ЭЖК		
А (%)										
Контр.	4,5	34,9	29,7	5,4	0,1	0,3	16,3	4,3	95,6	4,4
Опыт	3,3	34,8	28,5	0,9	0,4	0,3	18,3	7,9	96,6	3,4
Б (мг/г)										
Контр.	0,46	3,53	3,01	0,55	0,01	0,03	1,65	0,44	9,67	0,45
Опыт	0,74	4,65	3,81	0,12	0,06	0,03	2,45	1,07	12,92	0,45

ФЛ - фосфолипиды, ХСТ - холестерин, МГЛ, ДГЛ, ТГЛ - моно-, ди- и триглицериды, СЖК - свободные жирные кислоты, ЭЖК - эфиры жирных кислот, В+ЭСТ - воска и эфиры стеринов, УВ - углеводороды, н/и - неидентифицированные фракции

Таблица 2. Фракционный состав липидов, выделенных из тканей N. diversicolor, содержавшихся в различных грунтах (И - исходные, К - контроль, О - опыт).

Условия	Время, сут.	Фракции липидов, %									
		н/и	ФЛ	ХСТ	В+ЭСТ	МГЛ	ДГЛ	ТГЛ	СЖК	ЭЖК	УВ
И	0	3,1	20,5	21,4	5,7	11,9	7,9	7,8	13,7	7,4	0,6
К	1	10,9	32,8	22,8	5,2	11,3	1,6	5,0	8,4	3,1	-
	7	-	10,4	37,1	4,0	-	-	3,4	25,6	2,8	16,9
	15	9,7	23,1	11,7	4,6	0,3	0,6	3,4	35,7	8,9	2,3
О	1	13,5	31,8	15,9	5,2	3,6	4,4	17,8	4,0	3,8	-
	7	9,4	11,3	24,2	5,1	3,7	-	2,3	38,1	4,7	1,2
	15	6,0	11,8	19,4	5,7	6,7	1,1	2,4	36,7	9,0	2,2

100 г сырого грунта) в тканях нереисов (табл. 2) наблюдалось уменьшение относительного содержания моно-, ди- и триглицеридов, полярных липидов по сравнению с исходными животными, возрастала доля жирных кислот в липидной фракции. Кроме того в опыте снижалось соотношение холестерин/фосфолипиды по сравнению с контролем. Относительное содержание углеводородов в липидной фракции у исходных животных невелико (0,6%). В дальнейшем количество углеводородов возрастало но к концу эксперимента у опытных полихет было на уровне значений контроля.

4.2. Исследование состава органического вещества фекалий N. diversicolor.

Известно, что нефть в значительной степени трансформируется, проходя через желудочно-кишечный тракт моллюсков-фильтраторов [Миронов,1985;Щекатурина,1988]. В спектре экстракта фекалий нереисов, обитавших в грунте с содержанием углеводородов 19-21 мг/г сух. осадка, основной максимум флуоресценции отмечен при длине волны 440 нм и второй, более слабый, при 485 нм, соответствующий максимуму флуоресценции нефти (480-490 нм). Учитывая, что максимум флуоресценции биогенных углеводородов по сравнению с антропогенными имеет сдвиг на 50 нм в коротковолновую область [Ершов,1983], положение основного максимума флуоресценции фекалий нереиса может указывать на то, что в продуктах выделения содержатся в основном углеводороды, в значительной степени подвергшиеся микробиологической или иной биогенной трансформации.

В эксперименте (декабрь-январь) N.diversicolor содержали в грунте из их места обитания (контроль) и грунте из сильно загрязненного района (опыт). Содержание органических соединений в фекалиях полихет в начале эксперимента было выше, чем в грунте (за исключением УВ в опыте), через месяц - как правило ниже (табл. 3). В фекалиях как контрольных так и опытных животных со временем уменьшалось содержание белков и углеводов (БПС и УПС) по сравнению с исходными значениями. Возрастание содержания соединений липидно-углеводородного комплекса (ЛПС и УВ) в фекалиях опытных животных по сравнению с контролем связано, прежде всего, с увеличением количества углеводородов.

Несмотря на разницу абсолютного содержания липидов в фека-

Таблица 3. Содержание основных классов органических соединений (мг/г) в грунте и фекалиях Nereis diversicolor.

Время, сут.	Условия	Тип соединений			
		БПС	УПС	ЛПС	УВ
		Грунт			
0	К	2,60	5,26	2,82	3,10
0	О	3,12	7,19	7,65	19,20
28	К	3,90	7,75	4,09	13,20
28	О	4,33	7,62	9,00	21,59
		Фекалии			
0	К	14,95	25,32	33,36	4,64
	О	13,32	20,09	19,23	4,96
14	О	5,21	11,02	68,83	23,56
28	К	4,75	3,92	3,48	2,53
	О	5,73	7,40	7,05	13,04

лиях червей в контроле и опыте в начале эксперимента, соотношение различных фракций (фосфолипиды, стерины, жирные кислоты, триглицериды и др.) в них было примерно одинаково. Через две недели в фекалиях полихет из грязного грунта увеличивается абсолютное содержание всех компонентов, но сохраняется преобладание липидов над углеводородами. По окончании эксперимента в составе липидно-углеводородного комплекса фекалий нереисов в загрязненных грунтах по сравнению с контролем возрастает относительное содержание свободных жирных кислот и их эфиров, отмечается тенденция снижения относительного содержания полярных липидов. Абсолютное содержание всех компонентов липидной фракции в опыте и контроле через 28 сут. уменьшается. Проходя через кишечник червей, липидно-углеводородная фракция грунта претерпевает определенные изменения, приводящие к возрастанию количества углеводородов в фекальных массах, что наиболее четко видно в загрязненных грунтах. В фекалиях опытных животных отмечено увеличение содержания углеводородов до 13,0 мг/г, что к концу эксперимента составляет около 65% всей липидно-углеводородной фракции против 20% в начале. В фекалиях контрольных животных в это же время относительное содержание углеводородов составляло 42 %. Учитывая, что 1 мг экскрементов нереисов образуется при потреблении 2,8 мг грунта [Яблонская,1952], количество углеводородов, выделяемых нереисами в фекалиях, в 1,9-14,6 раз мень-

ше количества углеводородов, потребленных с грунтом.

При содержании нереисов в грунте с различным содержанием нефти (2,68 мг/г - контроль и 5,94 и 8,25 мг/г - опыт) в липидной фракции фекалий количество углеводородов составляло 62,2-70,9%. Ароматические соединения в фекалиях полихет не обнаружены, несмотря на то, что в грунте отмечались в значительном количестве. Максимумы спектров флуоресценции экстрактов фекалий в контроле и опыте имели сдвиг около 30 нм в коротковолновую область по сравнению со спектрами грунта, однако, в условиях большего загрязнения этот сдвиг выражен слабее.

Учитывая, что донные осадки загрязняются тяжелыми нефтяными фракциями, в грунт из условно чистого района вносили при тщательном перемешивании нефтяные смолы (содержание хлороформенного битумоида в грунте возрастало до 7,0 мг/г) и помещали в них нереисов. Контролем служили нереисы в грунте без нефтяных смол (ХБ 3,3 мг/г). Эксперименты проводили в весенний сезон, продолжительность опыта 10 сут. Липидные экстракты фекалий исследовали методом ИК-спектроскопии.

Для спектров всех экстрактов характерно присутствие полос поглощения кислородсодержащих структур, связей С=С ароматических соединений и групп CH_2 и CH_3. В спектре экстракта исходных фекалий отмечено наличие карбоксильных групп (полоса 1700 $см^{-1}$ - кислоты, альдегиды, кетоны), а полоса при 1150 $см^{-1}$ относится к связям С-О сложных эфиров, видимо фталатов [Беллами,1963]. Наличие ароматических связей С=С, групп С=О и длинных парафиновых цепей (полоса 720 $см^{-1}$) в структуре экстракта из фекалий полихет может быть обусловлено наличием примеси водорослевого материала [Шакс,Фрайзулина,1974]. Остатки водорослей в большом количестве присутствовали в донном осадке в месте обитания червей. В фекалиях нереисов в опыте отмечено увеличение значений оптических плотностей в полосе поглощения кислородсодержащих групп и ароматических соединений. Однако, не отмечены полосы поглощения замещенных ароматических соединений (850, 755 и 700 $см^{-1}$), присутствующие в спектрах битумоидов грунта.

ГЛАВА 5. Изменения содержания органических соединений в грунте под влиянием нереисов.

В экспериментах по изучению участия N. diversicolor в преобразовании внесенных в грунт нефтяных смол, анализ грунта проводили перед началом эксперимента и по его завершении в опыте (грунт с добавлением нефтяных смол и нереисами, ХБ 7,0 мг/г), контроле 1 (грунт с нереисами без добавления смол, ХБ 3,2 мг/г) и контроле 2 (грунт с нефтяными смолами без червей, ХБ 7,0 мг/г). Общее содержание хлороформенного битумоида в грунтах снижается через 10 суток, однако в грязных грунтах остается выше, чем в чистом.

По данным ИК-спектроскопии, в битумоидной структуре исходного чистого грунта значительна роль групп -CH, $-CH_2$ и $-CH_3$ насыщенных систем (п.п. 3000-2800 $см^{-1}$) при заметном участии длинных парафиновых цепей, обнаруживаются различные типы ароматических соединений (1600, 1550, 850, 755 $см^{-1}$). Роль кислородсодержащих соединений также довольно велика. Через 10 суток в чистом грунте с полихетами по сравнению с исходным снижается количество кислородсодержащих соединений и групп $-CH_3$, уменьшается оптическая плотность в полосах поглощения 1600, 1550, 850 и 755 $см^{-1}$ ароматических связей. Отмечено снижение доли длинных парафиновых цепей.

Общее содержание хлороформенного битумоида одинаково в загрязненных грунтах в конце эксперимента в присутствие нереисов и без них (3,9-4,0 мг/г), однако ИК-спектры экстрактов грунта существенно различаются. В присутствии полихет ниже значения оптических плотностей в полосах поглощения кислородсодержащих (1700, 1690, 1150 $см^{-1}$) и ароматических соединений (1550, 850, 755, 700 $см^{-1}$).

Влияние полихет на процессы трансформации загрязнения в донных осадках может изменяться в зависимости от концентрации загрязняющих веществ. В связи с этим, проводили эксперименты с грунтами, содержащими различные количества нефти, подверженной длительному процессу естественного выветривания (табл. 4). В емкости с грунтом подавали постоянный равномерный проток морской воды, в каждом варианте одну емкость оставляли не заселенной (контроль), а в другую запускали нереисов (опыт).

Табл. 4. Содержание органических соединений (мг/г) в верхнем слое грунта.

Условия		ХБ	УПС	БПС
Ил 1	Исх.	0,58	9,09	0,991
	Конт.	2,91	13,87	1,557
	Опыт	1,00	10,38	0,912
Ил 2	Исх.	25,75	8,44	0,975
	Конт.	22,07	11,94	1,432
	Опыт	22,78	11,86	1,350
Песок 1	Исх.	0,08	0,26	0,030
	Конт.	4,37	1,56	0,252
	Опыт	1,14	0,68	0,066
Песок 2	Исх.	0,99	0,34	0,035
	Конт.	3,57	1,43	0,217
	Опыт	1,73	0,92	0,117
Песок 3	Исх.	2,60	0,33	0,033
	Конт.	10,48	2,13	0,234
	Опыт	3,66	2,02	0,300
Песок 4	Исх.	7,16	0,41	0,038
	Конт.	7,97	1,90	0,302
	Опыт	6,60	2,82	0,297
Песок 5	Исх.	17,09	0,33	0,036
	Конт.	9,76	1,43	0,134
	Опыт	9,72	1,77	0,177

Пробы грунта анализировали перед началом эксперимента и через 4 мес., причем в конце эксперимента отбирали отдельно пробы поверхностного (1-2мм) и глубинного слоев.

К концу эксперимента в нижнем слое грунта статистически значимых различий содержания органических соединений в контроле и опыте практически не отмечено. В верхнем слое грунта и в илах и в песках к концу эксперимента как правило накапливались БПС и УПС (табл. 4), причем в менее загрязненных грунтах значительнее при отсутствии нереисов. В загрязненном илу и песках 3-5 вариантов количество этих соединений в контроле и опыте существенно не различалось. К концу эксперимента содержание ХБ в верхнем слое в присутствии полихет ниже, чем в контроле, кроме наиболее загрязненных грунтов (ил 2 и песок 5). Разница содержания хлороформенного битумоида в контроле и в присутствии нереисов снижается с увеличением исходного содержания ХБ в грунте. Коэффициент корреляции этих величин составил -0,67. Получено уравнение, связывающее уровень концентрации ХБ в верхнем слое грунта и степень снижения накопления данных соединений:

$$Y = 28,04 - 1,39X \text{ , где}$$

Y - величина снижения содержания ХБ в верхнем слое грунта в присутствии нереид, мкг/г*сут.; X - исходная концентрация ХБ в грунте.

Так как в присутствие нереисов отмечаются определенные изменения не только в поверхностном, но и более глубоких слоях грунта, исследовали различия характеристик грунта в норках полихет и остальной толщи. Опыты проводили с различными грунтами, однако количество углеводородов в норках, как правило было выше, чем в остальной толще грунта (различия в основном не превышают 15-20%). Вместе с тем, спектры флуоресценции битумоидов из норок и толщи грунта несколько различаются. Так, битумоиды толщи грунта имеют два максимума флуоресценции при длинах волн 330 и 350 нм. В спектрах флуоресценции битумоидов в норках коротковолновый максимум сглаживается, и данный спектр имеет форму спектра флуоресценции битумоидов фекалий нереисов из загрязненных грунтов.

ГЛАВА 6. Nereis diversicolor как элемент системы гидробиологической очистки.

Способность гидробионтов-фильтраторов к очищению воды известна достаточно давно и в настоящее время начинает целенаправленно использоваться при разработке систем гидробиологической очистки (СГО) различных типов, в которых основным звеном являются мидии [Миронов,1969,1985]. Однако, в определенных условиях фекалии и псевдофекалии фильтраторов могут служить источником накопления органических веществ в донных осадках [Миронов,1988; Makoto,1980].

Нами изучалось влияние N. diversicolor на интенсивность накопления органических соединений в моделируемых условиях функционирования СГО. В установку, состоящую из четырех емкостей (10 л) с грунтом (4-5 см) подавали проток из Севастопольской бухты, где уровень нефтяного загрязнения достаточно велик. В одной емкости (опыт 1) над грунтом на сетке размещали мидий, в другой (опыт 2) в грунт помещали полихет , в третьей (опыт 3) содержали совместно мидий и полихет, контроль был оставлен без макроорганизмов. Через месяц в нижнем слое грунта в весеннем эксперименте содержание различных классов органи-

Таблица 5. Содержание органических соединений в грунте, мг/г.

Органические соединения	Нижний слой				Верхний слой			
	К	Опыт 1	Опыт 2	Опыт 3	К	Опыт 1	Опыт 2	Опыт 3
				Весна				
БПС	0,12	0,12	0,09	0,07	0,42	0,40	0,51	0,52
УПС	1,09	0,81	1,30	1,89	5,03	9,02	2,92	1,83
УВ	0,10	х	0,13	0,07	1,45	1,39	1,09	1,11
СМ	0,17	х	0,05	0,11	1,64	1,44	0,86	1,01
ЛПС	0,50	х	0,32	0,30	2,47	2,24	1,45	1,80
Сумма ОС	1,98	1,43	1,88	2,44	11,02	14,63	6,83	6,28
				Лето				
БПС	0,21	0,28	0,24	0,23	2,16	2,48	2,35	2,55
УПС	0,36	0,51	0,79	0,60	4,10	4,67	5,70	5,03
УВ	0,19	0,18	0,14	0,09	2,11	3,74	1,13	2,95
СМ	0,27	0,31	0,23	0,16	2,67	2,83	3,92	4,46
ЛПС	0,34	0,35	0,20	0,13	1,60	2,57	1,89	1,55
Сумма ОС	1,37	1,62	2,08	1,33	12,63	16,59	15,00	15,86

х - не определяли

ческих соединений и их суммы (суммарное количество БПС, УПС, ЛПС, УВ, СМ (смолы) - в дальнейшем сумма ОС) в опыте и контроле в основном характеризовались сходными величинами. Летом наблюдали увеличение УПС в емкости с нереисами по отношению к контролю, но в условиях совместного содержания мидий и нереид количество УПС снижалось.

В верхнем слое грунта весной увеличивалось количество УПС в присутствии мидий , тогда как в аквариуме с червями (опыт 2 и опыт 3) содержание УПС было значительно ниже, чем в контроле. Отмечено также статистически значимое снижение суммарного количества органических соединений (табл. 5). В летний период, в присутствии мидий отмечалось увеличение содержания соединений липидно-углеводородного комплекса, тогда как наименьшее содержание углеводородов - в емкости с червями (опыт 2). Содержание углеводородов в грунте опыта 3 значимо не отличается от контроля. Сумма ОС в различных условиях опыта летом выше, чем в контроле.

Таким образом, в присутствии полихет интенсивность накоп-

Таблица 6. Содержание органических соединений в верхнем слое грунта к концу эксперимента (мг/г).

Условия	БПС	УПС	ЛПС	УВ			Сумма ОС
				Сумма	Пар*	Ма**	
			Исходный				
верхний слой	0,51	4,82	1,18	1,06	0,80	0,26	7,35
			Конец эксперимента				
Контроль 1	0,64	8,56	2,72	3,35	3,24	0,11	15,27
Контроль 2	0,64	7,84	1,89	1,54	1,47	0,07	11,91
Контроль 3	0,74	8,55	6,15	6,45	5,86	0,59	21,89
Опыт 1	0,77	8,55	1,90	2,03	1,94	0,09	13,25
Опыт 2	0,80	6,25	1,06	1,01	0,99	0,02	9,12
Опыт 3	0,58	5,39	2,10	1,38	1,29	0,09	9,45

*Парафины; **Моноароматические соединения

ления органических соединений в донных осадках, определяемая фильтрационной активностью мидий, снижалась: весной до значений ниже контроля, летом - близких к контролю. Содержание углеводородов в верхнем слое грунта при совместном содержании мидий и полихет всегда было ниже, чем в аквариумах только с мидиями.

Следующие эксперименты отличались тем, что помимо трех вариантов опыта (опыт 1, 2 и 3 аналогично предыдущему эксперименту), имелось три варианта контроля: контроль 1 - емкость только с морской водой, контроль 2 - грунт без макроорганизмов, контроль 3 - емкость без грунта, в которой находились мидии. Кроме того, в подаваемую воду через распределительную емкость добавлялась по каплям нефтяная эмульсия из сосуда с содержанием нефти 10 мл на 1 л воды. Пробы грунта отбирали перед началом эксперимента и через две недели. По окончании эксперимента также брались пробы осевшей взвеси на дне емкостей в контроле 1 и 2.

К концу эксперимента в нижнем слое грунта в опыте 3 (мидии и нереисы) содержание БПС было ниже, чем в контроле. В верхнем слое грунта (табл. 6) при совместном содержании мидий и нереисов уменьшалось количество БПС, УПС по сравнению с контролем, снижалась интенсивность накопления углеводородов.

Институт биологии
южных морей АН УССР

Количество последних в верхнем слое грунта существенно ниже в присутствии червей, чем в контроле.

ГЛАВА 7. Оценка роли N. diversicolor в трансформации вещества и энергии бентосным сообществом.

В ходе проведения бентосных исследований 1988-1992 г. N. diversicolor встречался в небольшом количестве (численность 6-30 экз/м^2, биомасса менее 0,1 г/м^2) на илах в сильно загрязненных участках Севастопольской и Стрелецкой бухт, в Камышовой и Балаклавской бухтах. Чаще, чем в других районах, он отмечался в устье бухты Южная, где содержание хлороформенного битумоида в грунте достигает 3,0 г/100г сухого осадка. Здесь максимальные значения биомассы нереиса за указанный период составляют 2,9 г/м^2. Еще выше - 6,3 г/м^2, биомасса N. diversicolor в вершинной мелководной части б. Омега. Дно в этом районе покрыто зарослью морских трав, а содержание битумоида значительно ниже, чем в перечисленных выше районах. Плотное поселение нереис образует на глубинах 0-1,5 м в кутовой части б. Стрелецкая (содержание хлороформенного битумоида в грунте 0,3-1,5 г/100г).

В июне 1990 г. в вершине б. Стрелецкая по трем поперечным разрезам было сделано 8 станций. Общая площадь исследованного района составляет около 10 тыс. м^2 в районе станций 1-5 (участок 1) и около 4 тыс. м^2 - станций 6-8 (участок 2).

Общая биомасса макрозообентоса в исследованной части бухты изменялась в пределах 15,56-128,48 г/м^2, более высокие значения биомассы отмечались ближе к центральной части бухты. Численность макробентосных животных существенно различалась по станциям - 750-5019 экз/м^2. Высокие значения численности определялись большим количеством моллюсков Hydrobia acuta и полихет N. diversicolor и C. capitata. Эти виды, а также Cerastoderma glaucum отмечены всех станциях. Количество видов макрозообентоса при продвижении к вершине бухты снижается. В районе ст. 1-5 на илу с зарослями зостеры и рдеста основной комплекс видов Cerastoderma-Abra-Nereis-Hydrobia, который составлял 98% биомассы и 90,4% численности бентоса. На станциях, расположенных ближе к центральной части бухты (участок 2),

где в донных осадках увеличивается доля песчаных фракций, абра не встречена, хотя значительно возрастала биомасса других моллюсков - Nana donovani, Mytilaster lineatus, Polititapes sp. Chamelea gallina. Количественные показатели популяции нереиса возрастают при продвижении к вершине бухты, максимальные значения численности и биомассы - соответственно 2901 экз/м^2 и 16,48 г/м^2. Средний вес нереисов 2,3-12,7 мг на ст. 1-5 и 1,1-1,7 мг на ст. 6-8.

С использованием показателя функционального обилия [Мальцев, 1990] показано, что в мелководной части (участок 1) поток энергии через популяцию нереиса составляет в среднем 21% общего потока через сообщество (на отдельных станциях до 43%). На ст. 6-8 эти значения на порядок ниже - в среднем 2,4%.

Оценку роли нереиса в утилизации органического вещества проводили по расчету количества ассимилируемой энергии по сумме продукции и трат на обмен. Величину продукции рассчитывали по удельной суточной продукции 0,03 для летнего периода [Заика, 1972; Крылова, 1980] и средних значений биомассы нереиса для различных участков бухты. Полученные величины составили 0,236 и 0,020 г/м^{2}сут. в сыром весе для участка 1 и 2 соответственно, что с учетом среднего содержания воды в теле нереисов [Oglesby, 1978], в сухом весе 0,044 и 0,004 г/м^{2}сут. Калорийность сухих тканей нереиса 5,04-5,05кал/мг [Ивлева, 1972; Карзинкин, Махмудов, 1968], следовательно, траты на рост популяции N. diversicolor составят 222,2 и 20,2 кал/м^{2}сут на участках 1 и 2 соответственно.

Интенсивность трат на обмен оценивали двумя способами: 1) по коэффициенту K_2 [Ивлева, 1972; Крылова, 1980] и рассчитанной величине продукции; 2) по количеству потребляемого кислорода в зависимости от веса нереисов [Иванова, 1969]. По 1 способу интенсивность трат на обмен составила 0,035 и 0,003 г/м^2*сут. сухого вещества для участков бухты 1 и 2 или 189,3 и 17,2 кал/м^2*сут. соответственно. Потребление кислорода 1 экз. N. diversicolor в этих районах оценено в 0,586 и 0,184 мкл/час., а траты на обмен с учетом оксикалорийного коэффициента и средней численности - 95,8 и 10,0 кал/м^2*сут. Приняв, что 1 мл кислорода идет на окисление 1 мг сухого органического вещества, получим величину энергетического обмена

популяции нереиса 0,020 и 0,002 г/м^2*сут. сухого вещества на участках 1 и 2 бухты. Средние по двум способам расчета значения энергетического обмена на разных участках бухты 27,5 и 2,5 мг/м^{2}сут. Таким образом, интенсивность ассимиляции в летний период за сутки для нереисов на участках 1 и 2 составляет 71,5 и 6,7 г/м^2, или с учетом площадей районов 715 г и 26 г сух. вещества (6140 и 220 ккал соответственно).

Суточное потребление грунта нереисами составляет 300 % от сырого веса тела и 570 % от сухого [Яблонская,1952]. Средняя концентрация углеводородов в грунте 7,5 мг/г. В течение суток нереисами потребляется 20,9-135,5 мг/м^2 углеводородов на ст.1-5 и 2,4-11,03 мг/м^2 на ст.6-8. Как было показано в гл.4, в фекалиях выделяется углеводородов значительно меньше, чем попадает в организм с грунтом (в среднем в 3 раза, если не учитывать наиболее высокие значения, которые могут быть обусловлены условиями эксперимента). Таким образом, величина трансформации углеводородов по всему району (14 тыс. м^2) составит около 450 г/сут., что равноценно переработке 900 м^3 сточных вод с концентрацией нефтепродуктов в 10 раз превышающей ПДК.

Фильтрационная активность полихет может играть важную роль в поддержании качества воды в водной системе [Davies et al.,1989]. Численность сестонофагов на участках 1 и 2 кутовой части б.Стрелецкая существенно различается. Для приближенной оценки биофильтра моллюсков приняли их фильтрующую способность равной для мидий соответствующих размеров [Миронов,1948]. Результаты рассчетов показали снижение биофильтра моллюсков более чем в 2 раза на участке 1 по сравнению с участком 2 (0,81 и 1,89 м^3/сут.м^2). С другой стороны, здесь же значительно выше численность нереиса. Величина фильтрующей активности нереиса, рассчитанная с использованием различных подходов [Riisgard, 1991] составила 0,97 м^3/сут.м^2 на участке 1 и 0,21 м^3/сут.м^2 на участке 2. Т.о., разница суммарного биофильтра (с учетом и моллюсков-сестонофагов и нереиса) на участках 1 и 2 составляет 10-20%. Следовательно, фильтрационная активность популяции N. diversicolor может в значительной степени компенсировать уменьшение биофильтра при изменении численности моллюсков.

ВЫВОДЫ.

1. Присутствующие в природных условиях уровни загрязнения грунтов (до 2 г/100 г) и характер загрязнения (преимущественно тяжелыми нефтяными фракциями) не оказывают существенного влияния на поведение N.diversicolor.

2. Не отмечено существенного накопления углеводородов (в том числе ароматических соединений) в тканях нереисов в естественных условиях загрязненных грунтов и экспериментах с добавлением сырой нефти.

3. В фекалиях нереисов при обитании в загрязненном нефтепродуктами грунте увеличивается содержание углеводородов в составе липидно-углеводородной фракции до 65-70%. Однако, количество углеводородов в фекалиях нереисов в 2-14 раз меньше, чем потребляется с грунтом.

4. При прохождении по кишечному тракту нереисов углеводородов происходит их трансформация, на что указывают сдвиг в коротковолновую область максимума флуоресценции экстрактов фекалий относительно максимума флуоресценции соответствующего грунта, а также различия характеристик ИК-спектров экстрактов фекалий и грунта.

5. В присутствии нереисов уменьшается содержание хлороформного битумоида в загрязненных донных осадках. В составе битумоидов грунта снижается количество кислородсодержащих и ароматических соединений.

6. В условиях деятельности фильтраторов, приводящей к осаждению значительного количества продуктов выведения, нереисы способны снижать интенсивность накопления органических соединений, в том числе углеводородов, в грунте.

7. Поток энергии через популяцию нереиса составляет от 2 до 40% общего потока через бентосное сообщество в различных участках исследованного района. С учетом полученных экспериментальных данных, на всей исследованной площади (14 тыс. м^2) с участием нереисов трансформируется около 450 г углеводородов в течение суток. Фильтрационная активность нереисов может в значительной степени восполнять снижение биофильтра сестонофагов.

8. N.diversicolor является перспективным при разработке

мероприятий, направленных на повышение самоочищающей способности морской среды, и может быть использован в качестве одного из звеньев в системах гидробиологической очистки морских вод.

Список работ по теме диссертации.

1. Химический состав фекалий Nereis diversicolor O.F.Müller, обитающих в грунтах различной степени нефтяного загрязнения / "Проблемы современной биологии. Труды 18 конф. молодых ученых биол. ф-та МГУ, Москва, 20-24 апр. 1987, ч.1, с.51-53".- М.: МГУ, 1987 (Деп. ВИНИТИ 14.09.87 N 6652-В87)

2. Некоторые вопросы взаимодействия нереид с нефтяным загрязнением / Тез. докл. 3 научно-технической конференции молодых ученых Крыма.- Севастополь, 1987, с. 57.

3. Участие нереисов в преобразовании нефтяных смол в морских донных осадках // Гидробиол. журн. - 1990.- 26, N 2.- С.60-64. (в соавторстве с Георга-Копулос Л.А.)

4. Морские полихеты как одно из возможных звеньев в системах гидробиологической очистки морских нефтесодержащих вод // Химия и технология воды .- 1990.- 12, N 12.- С.1118-1121.

5. Многощетинковый червь нереис: физиология, биология, экология и взаимодействие с антропогенным загрязнением.- Киев, "Наукова думка".- 152 маш. стр. (в печати).

НПП „Юрнибтехцентр". Зак. 592. Т. 100.