

ПРОВ 2010

АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНСКОЙ ССР  
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ЮЖНЫХ МОРЕЙ  
им. А. О. КОВАЛЕВСКОГО

ПРОВ 98

# БИОЛОГИЯ МОРЯ

Вып. 18

БИОЛОГИЯ ОБРАСТАНИЙ



ИЗДАТЕЛЬСТВО «НАУКОВА ДУМКА»  
КІЕВ — 1970

Кучерова З.С., 1967. Формирование ценоза обрастания на нейтральных и токсических поверхностях в районе Гаваны (Мексиканский залив). - В кн.: Исследования Центрально-Американских морей, I. К., 1967.

Комагоровский В. а. Schwarz L. A study of Marine antifouling paints. Proc.Gener.Fish.Council f.the Mediterranean, 4.Technical paper,41,1957.

Комагоровский В. а. Schwarz L. The behaviour of Marine Antifouling paints in Kishon Harbour.-Proc.Gener. Fish.Council f.the Mediterranean,4.Technical paper,57,1959.

## К ВОПРОСУ О МЕТОДИКЕ УСКОРЕННЫХ ИСПЫТАНИЙ НООБРАСТАЮЩИХ КРАСОК

М.А.Долгопольская, Е.С.Гуревич, Е.И.Гейне, Л.И.Щербакова

Эффективность необрастающих красок зависит от ряда факторов, из которых основными являются биологическая активность использованных в краске ядов, скорость выщелачивания и продолжительность нормированного и достаточно высокого темпа отдачи яда в морскую воду.

Определение скорости и длительности срока выщелачивания яда из медью содержащих красок производится достаточно быстро и сравнительно точно при испытании образцов красок в глициновом растворе в термостатированном аппарате (Гуревич, Глотов, Гейне, 1965).

Биологическая активность ядов, выщелачиваемых из необрастающих красок, должна устанавливаться определением чувствительности к ним личинок тех организмов, которые осуществляют обрастание, т.е. в первую очередь баланусов, мшанок, мидий. Однако этот метод может быть применен лишь в лабораториях, расположенных у моря, и притом только поздней весной и осенью, когда в планктоне имеются личиночные формы этих организмов.

В северных районах, а также в лабораториях и на заводах, находящихся вдали от моря, где в основном разрабатываются и производятся краски, этот метод использовать не представляется возможным.

Наиболее старым методом оценки биологической активности необрастающих красок является испытание их на бактериях. Практическое применение получила сенная палочка (*Bacillus subtilis*).

Некоторую модификацию этого метода представляют наши опыты, где кроме сенной палочки были взяты 3 штамма морских бактерий: *Vibrio algaesus* (Zobell a. Urharn) — штамм 18, *Vibrio percolans* (Mudd a. Waggren) — штамм 35 и *Chromobacter putrefaciens* (Бегу а. Нагель) — штамм 36. Эти культуры были выделены Ю.А. Горбенко из первичной бактериальной пленки, обычно образующейся на поверхности погруженных в море предметов.

Чувствительность бактерий к ядам определялась по диаметру стерильного круга, образующегося вокруг окрашенного стеклянного колечка, помещенного в центре чашки Петри с агаровой средой, в которую вносились те или иные бактерии\*. Чувствительность к выщелачиваемым из красок ядам у сенной палочки и некоторых морских бактерий (штаммы 18 и 35) весьма близки; штамм 36 оказался устойчивее к действию этих же ядов.

Приведенные в табл. I данные хотя и показывают, что при испытании таких красок, как ХВ-53, ХС-79, ХВ-750, ОХВ-242, № 222, получены сравнимые результаты, однако, как это уже указывалось (Долгопольская, 1959), при определении эффективности необрастающих красок при помощи бактерий могут быть получены результаты, в основном показывающие наличие в краске бактерицидных веществ, а также, в какой степени выщелачиваемые яды способны диффундировать в агаровую среду.

Как известно, бактерии обладают высокой резистентностью к действию медных ядов, поэтому краски, содержащие в качестве яда только закись меди, дают низкие показатели эффективности при определении их биологической активности с помощью бактерий. Однако при испытании новых рецептур красок с одним и тем же составом ядов, но с различной пленкообразующей основой бактериальный метод дает возможность получить в лабораторных условиях данные по сравнительной способности используемой пленкообразующей основы или других нетоксических добавок пропускать яд в окружающую среду. В этом случае метод контроля при помощи бактерий оказывает существенную помощь исследователям, работающим в области синтеза необрастающих красок.

Установление сравнительной эффективности красок с различными

\* Все микробиологические исследования выполнены А.Л. Нагель.

ядами, отличающимися по своей природе и механизму действия (при использовании в качестве объекта биоконтроля бактерий, а как показателя – размер стерильной зоны), может привести к совершенно неправильным, технически не обоснованным выводам.

В отечественной и зарубежной литературе (Долгопольская, 1959; Рагг, 1960) указывалась возможность использования в качестве тест-объектов для определения биологической активности необрастающих красок некоторых водных организмов вместо личинок морских обрастателей. Наибольшего внимания в этом отношении заслуживают дафнии. Целесообразность применения дафний в качестве объекта биоконтроля, способного заменить личинок обрастателей, обусловлена тем, что они так же, как и основная массовая, широко распространенная в разных географических широтах форма обрастаний – салианусы, относятся к классу ракообразных, сравнительно просто разводятся, неприхотливы в питании (питаются пресноводными водорослями и сухими дрожжами) и могут быть получены в любое время и в любых условиях.

Серьезным препятствием к использованию дафний в качестве тест-объекта служило то обстоятельство, что дафнии – пресноводные организмы, а проверку биологической активности ядов необходимо проводить в растворах, содержащих хлористые соли, поскольку переход меди из краски в морскую воду связан со взаимодействием зажи-си меди с хлористыми солями.

В связи с этим возник вопрос о получении такой культуры дафний, которая была бы способна жить в условиях повышенной солености.

С этой целью в лаборатории ГИМП'а была получена многолетняя специальная культура дафний, приспособленных к жизни в условиях повышенной солености. Прудовые дафнии помещались в сосуды с искусственной морской водой, приготовленной по рецептуре Харвея (1948) ( $\text{NaCl}$  – 77,8 г,  $\text{MgCl}_2$  – 10,9 г,  $\text{MgSO}_4$  – 4,7 г,  $\text{CaSO}_4$  – 3,6 г,  $\text{K}_2\text{SO}_4$  – 2,5 г,  $\text{CaCO}_3$  – 0,3 г,  $\text{MgBr}_2$  – 0,2 г на 100 г сухого вещества). Растворы морской воды готовились в различных концентрациях от 1 до 8%.

В течение 1–2 месяцев дафнии жили в растворе одной концентрации, после чего переносились в раствор с более высоким содержанием солей. Из взятых первоначально 50 экз. обычных прудовых дафний все разрослись в течение года были выращены "соленоводные" дафнии, способные нормально жить и размножаться в искусственной морской

воде с соленостью от I до 8%. При более высокой солености (свыше 8% дафнии были нежизнеспособны.

В опытах по использованию дафний в качестве тест-объектов для испытания эффективности необрастающих красок брались особи, выращенные и адаптированные к жизни в искусственной морской воде, содержащей 6 г/л соли. В такой воде они нормально живут и размножаются, минуя эфиопиальную стадию, свидетельствующую о неблагоприятных условиях.

Как и при использовании в качестве тест-объектов личинок организмов обрастания, так и при работе с дафниями исследования проводились в стеклянных чашечках диаметром 30 мм и высотой 20 мм, внутренняя стенка которых (кроме дна) окрашивалась испытуемой необрастающей краской в два слоя. После двухдневной сушки краска подвергалась трехсуточному "старению" в искусственной морской воде соленостью 6%, при постоянном перемешивании и ежедневной смене воды. В подготовленные таким образом окрашенные чашечки наливали 8 мл свежей искусственной морской воды такой же концентрации и помещали по 5 дафний. Эти испытания, как и опыты с использованием личинок обрастателей, можно проводить также в приборе, предложенном К.С.Арбузовой и В.В.Патрикесовым (1967). Длительность выживания дафний служила показателем активности краски. Глубина и стойкость повреждений, вызванных у дафний выщелоченным из краски ядами, устанавливалась по способности к восстановлению после перенесения их в чистую, не содержащую ядов воду.

Чтобы установить эффективность использования "солоноватоводных" дафний в качестве тест-объекта биоконтроля были проведены одновременные определения активности красок и другими принятыми для этой цели методами (табл. I).

Наиболее убедительными являются испытания эффективности красок с помощью личинок обрастателей, в частности науплиусов и циприсов баланусов. Особый интерес представляют циприсы, поскольку они непосредственно оседают на защищаемую от обрастания поверхность. Однако циприсовая стадия приспособлена к длительным поискам подходящего субстрата для оседания, имеет значительный запас жира, не питается, а поэтому не заглатывает вместе с пищей растворенные в воде яды. Этим обстоятельством в основном обусловливается их большая устойчивость к ядам и прикрепление даже к неблагоприятному для дальнейшего существования субстрату. Свежеметаморфизировавшие молодые баланусы, наоборот, очень чувствительны к действию

**Таблица I**

Результаты сравнительных испытаний необрастающих красок на личинках  
бальянусов, дафниях, сенной палочке и морских бактериях

Шифр краски	Вышелачивание краски, мг/см <sup>2</sup>	(по глинистому методу)	Длительность выживания, час	Стерильная зона, мм			Обрастане в Черном море за три летних месяца
				Сенная палочка	Штамм 18	Штамм 35	
ХВ-53 (ярославский завод)	27,96	6	82	18-21	19	13	Обрастане нет
ХВ-71 (опытный завод ГИМП)	23,03	4	6	23	13	Стерильная зона отсутствует	Обрастане нет
ХС-79 (коричневая)	31,93	7	67	23-30	II	Сплошной рост	Обрастане нет
КЧ-528 (зеленодосская)	19,46	8	96	37	8	То же	То же
КФ-751	22,8	4,5	23	5-6	15	I4	7
ОХВ-242	Нет	3	2-6	0,6	27	30	15
ХВ-750 (зеленая ртути)	4,25	5	8-9	8-9	22	I4	22
						15	Обрастане нет

XB-750 (зеленая без ру- ти)	25,4	6	106	6-8	II	7	6	Сплошной рост	Обрастания нет
Краска- 322	-	3,5	16	4	15	18	19	6	Обрастания нет
ХС-79 (голубая)	16,0	7	23-29	17-20	22	16	17	II	Вся поверхность чистая. Справа у кромки нескольких баллонусов

ядов, чем и обусловлено непрочное и кратковременное заселение баланусами токсических поверхностей, с которых они вскоре смываются водой.

Следует также отметить, что, используя циприсов для определения биологической активности необрастающих покрытий, даже при повторных испытаниях одних и тех же составов, результаты могут различаться в довольно широких пределах в зависимости от разлитой сезонной устойчивости отдельных генераций, готовности циприсов к оседанию, длительности их нахождения в планктоне в поисках субстрата для прикрепления и пр.

Точно так же и при работе с науплиусами следует иметь в виду, что чувствительность их (в данном случае время отравления) в значительной степени меняется с возрастом (стадией развития), что связано, возможно, не только с общим увеличением сопротивляемости организма, но и с тем, что у мелких особей отношение объема тела к его массе выражается значительно большей величиной, чем у крупных форм, и в результате создается относительно большая поверхность контакта тела с ядовитой жидкостью. Таким образом, необходимо стремиться к тому, чтобы при любых сравнительных исследованиях биологической активности используемые науплиусы были по возможности одинаковой стадии развития (табл. 2).

Таблица 2  
Выживаемость личинок баланусов в разных ядах в зависимости от их размера

Размер личинок баланусов (науплиусов), мм	Время выживания, мин		Время выживания, сек	
	α-нафтилтио- мочевина	Центахлор- фениловый эфир	Паранитро- фенол I:100	Парацитро- фенол I:100
0,20	4	1	5	25
0,25	6	2,6	-	35
0,30	8,5	3,2	7	45
0,35	9,0	5,0	11	50
0,40	9,5	7,0	15	50
0,45	11,0	7,8	22	55
0,50	-	8,0	30	85

На результатах испытаний может сказываться также видовая при-  
надлежность науплиусов и, как уже отмечалось для стадии циприс,  
различная чувствительность весенне-летних и осенних генераций.  
Тем не менее данные лабораторных исследований эффективности крас-  
ок, проводимых на науплиальном стадии развития баланусов, срав-  
нительно хорошо согласуются с результатами длительных натуральных  
испытаний этих же красок.

### ВЫВОДЫ

Обычно применяемый глициновый способ для установления ско-  
рости выщелачивания меди из покрытия не может быть использован  
для выяснения активности красок, не содержащих в себе яда. В  
последнем случае для оценки эффективности красок может быть ис-  
пользован метод биологического контроля, основанный на чувстви-  
тельности к ядам различных биологических объектов (сенной палоч-  
ка, морские микробы, личинки обрастателей, дафний).

При лабораторной оценке первичной эффективности красок более  
ближкие результаты к натурным испытаниям показало использование  
в качестве объектов биоконтроля науплиусов баланусов. При вы-  
живании науплиусов не более 7 час в заполненных морской водой  
окрашенных испытуемой краской чашках краску можно оценить как  
достаточно эффективную.

достаточно удовлетворительные результаты биологической оцен-  
ки эффективности необрастающих красок были получены при исполь-  
зовании в качестве тест-объекта дафний, выращенных в воде соле-  
ностью 6%. При выживании дафний в окрашенных стаканчиках с во-  
дой не более 25 - 30 час краска имеет достаточную эффективность.  
Этот метод дает возможность производить биологическую оценку эф-  
фективности необрастающих красок в течение круглого года в любых  
районах вдали от моря.

Использование в качестве объекта биоконтроля сенной палоч-  
ки и морских бактерий может служить методом оценки эффективности  
только однотипных красок. Вместе с тем этот метод может быть  
успешно применен для сравнительного сопоставления проницаемости  
ядов при разработке красок с одинаковым составом токсинов, но с  
разной пленкообразующей основой.

### ЛИТЕРАТУРА

Гуревич Е.С., Глотов В.Н., Гейне Е.И. Кин-  
етика выщелачивания ядов из покрытий необрастающими красками. —  
Лакокрасочные материалы и их применение, 6, 1965.

Глотов В.Н., Гуревич Е.С., Гейне Е.И.  
Об ускоренных методах испытания необрастающих красок для морских  
судов. - Лакокрасочные материалы и их применение, 6, 1964.

Долгопольская М.А. О методике биоконтроля эффективности противообрастающих покрытий. - В кн.: Тр. Севаст. биол. ст., 12, 1959.

Рагг М. Защита судов от обрастания и коррозии. Изд-во судостроит. пром., Л., 1960.

Харвей Х.В. Современные успехи химии и биологии моря. ИЛ, М., 1948.

Арубузова К.С. и Патрикесев В.В. Лабораторное испытание новых противообрастающих покрытий. - В кн.: Тр. Ин-та океанологии, 35. "Наука", М., 1967.

### ДЕЙСТВИЕ МЕДИ НА МАКРОФИТЫ ОБРАСТАНИЯ И НЕКОТОРЫЕ ФАКТОРЫ, СНИЖАЮЩИЕ ЕЕ АЛЬГИЦИДНОСТЬ

Р.А.Полищук

Морские водоросли макрофиты в условиях освещения составляют сугубственную часть обрастания, и поэтому борьба с ними является частью общей проблемы защиты морских гидросооружений. На судах, буях и других объектах отмечено свыше 127 видов водорослей семейства *Chlorophyta*, 58 - *Phaeophyta* и 205 видов *Rhodophyta* (сб. Морские обрастания и борьба с ними, 1957).

Широкое использование в качестве средств защиты от обрастианий покрытий, содержащих токсические медные соединения, определило необходимость изучения механизмов взаимодействия морских растительных организмов с ядами. Несмотря на давнюю историю применения, медь как ингибитор клеточного метаболизма изучена недостаточно. Нечетки сведения о совместном действии меди и некоторых пигментов, натолкнули необрастающих красок на организмы обрастания. Между тем знание сущности процессов, протекающих при этом, необходимо для сознательного поиска новых и улучшения существующих противообрастающих средств.

Медь в зависимости от концентрации может действовать на одни и те же функции организма по-разному: либо подавлять их, либо стимулировать. В микрокаличествах она усиливает фотосинтез на 65% (Bishop, 1964; Greenfield, 1942), а в концентрации, превышающей