

ПРОВ 38

АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНСКОЙ ССР
ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ЮЖНЫХ МОРЕЙ
им. А. О. КОВАЛЕВСКОГО

БИОЛОГИЯ МОРЯ

РЕСПУБЛИКАНСКИЙ
МЕЖВЕДОМСТВЕННЫЙ СБОРНИК

Выпуск 35

ТЕХНИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ МОРЯ
(ОБРАСТАНИЕ И САНИТАРНАЯ
ГИДРОБИОЛОГИЯ)

Институт биологии
южных морей АН УССР
БИБЛИОТЕКА
Л. 12

меньшим относительным количеством самцов. В апреле в чистом районе отношение количества самок к количеству самцов было 0,7, в загрязненном районе - 1,4, а в мае - соответственно 1,4 и 5,5. Приведенные данные подтверждают изложенные выше результаты экспериментальных работ, где смертность самцов в условиях нефтяного загрязнения оказывалась выше, чем самок.

Эти результаты и сравнение состояния популяции *Gammarus aequicauda* в чистом и загрязненном нефтью районах приводят к выводу, что стабильное нефтяное загрязнение снижает рождаемость и повышает смертность молоди и старших возрастных групп этого вида и ведет, таким образом, к сокращению его популяции.

Л и т е р а т у р а

1. ГРЕЗЕ И.И. Биология массового вида бокоплава *Gammarus aequicauda* (Mart.) в Черном море. - Тезисы Межвед. науч.-техн. конф. по проблеме комплексного использования водных ресурсов и охране природы Нижнего Днепра и Днепроовско-Бугского лимана. Херсон, 1973.
2. МИЛОВИДОВА Н.Ю. Выживаемость черноморских мидий в условиях нефтяного загрязнения. - В кн.: Основы биологической продуктивности южных морей. Киев, 1974.
3. МИРОНОВ О.Г. Нефтяное загрязнение и жизнь моря. Киев, "Наукова думка", 1973.

Поступила в редколлегию
19.X 1973 г.

УДК 547.963.321.71

И.А.Дивавин, И.М.Цымбал

ДЕЙСТВИЕ НЕФТИ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ВКЛЮЧЕНИЯ C^{14} -КАРБОНАТА
В НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ КРАСНЫХ ВОДОРОСЛЕЙ РОДА *CERAMNUM*

Вмешательство внешних факторов в биосинтез нуклеиновых кислот проявляется в изменении количественной и качественной характеристик процессов, ведущих к ее образованию. Всестороннее изучение этих изменений позволяет получить данные о поражении всего процесса синтеза в целом. К сожалению, число работ, посвященных влиянию токсических органических соединений, на скорость биосинтеза нуклеиновых кислот, весьма незначительно, а работы о влиянии нефти и нефтепродуктов на биосинтез нуклеиновых кислот морских гидробионтов, и в частности водорослей-макрофитов, вообще отсутствуют, хотя водоросли как объект исследований привлекают сейчас всеобщее внимание.

В январе 1973 г. мы поместили примерно 10 г (сырой вес) водорослей *C. cylindatum* и *C. rubrum* в аквариумы с концентрацией ромаш-

кинской нефти 0,1–10 мл/л. Несколько опытов с *C. rubrum* проведено также и с меньшей концентрацией – 0,01 мл/л, так как этот вид *Ceramium* оказался весьма чувствителен к нефтяному загрязнению. В аквариумах водоросли находились при естественном освещении. Через 24 ч после начала опыта мы взяли *C. rubrum* из аквариума с концентрацией нефти 1 мл/л и инкубировали в растворе с C^{14} -карбонатом в течение 60, 120 и 180 мин, определяя каждый раз удельную активность ($A_{уд}$) РНК и ДНК в контроле и опыте (рис.1). При инкубации в течение 60 мин $A_{уд}$ в опыте вдвое превышает $A_{уд}$ контроля, через 2 ч $A_{уд}$ контроля и опыта равны; и через 3 ч инкубации включение C^{14} -карбоната в нуклеиновые кислоты подавляется и $A_{уд}$

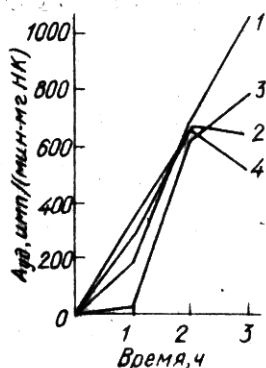


Рис.1. Изменение удельной активности ($A_{уд}$) нуклеиновых кислот *Ceramium rubrum*.

1 – контроль ДНК, 2 – опыт ДНК, 3 – контроль РНК, 4 – опыт РНК.

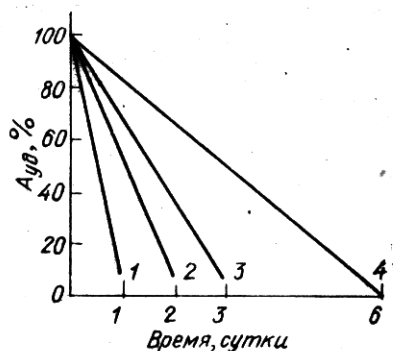


Рис.2. Изменение удельной активности нуклеиновых кислот в течение опыта.

1 – 10 мл/л нефти, ДНК и РНК *C. rubrum*, ДНК *C. cylindatum*; 2 – 10 мл/л нефти, РНК *C. cylindatum*; 3 – 1 мл/л нефти, ДНК *C. rubrum*; 4 – 1 мл/л нефти, ДНК и РНК *C. cylindatum*.

падает, ввиду чего мы посчитали наиболее приемлемым сроком инкубации время 2 ч и в дальнейшем все опыты проводили с таким же сроком инкубации.

Содержание РНК и ДНК определяли спектрофотометрически, используя известные методы [1–3]. Подсчет включения C^{14} в нуклеиновые кислоты водорослей проводили на счетчике СБТ-13. Продолжительность опытов 6 суток. $A_{уд}$ определяли через 24, 48, 72 и 144 ч, содержание нуклеиновых кислот – через 72 ч при концентрации нефти 1 мл/л.

При исследовании включения меченых предшественников в ДНК ранее использовались соединения различной сложности, содержащие изотопы углерода, азота и фосфора. Большинство работ проведено с использованием простейших предшественников: фосфата, карбоната, ацетата и т.д., которые, как известно, не специфичны для нуклеиновых кислот, так как принимают участие в образовании всего фонда внутриклеточных нуклеотидов и многих других продуктов. Поэтому такие методы дают лишь ограниченную информацию о влиянии нефти на различные этапы биосинтеза предшественников ДНК, но все-таки помогают получить представление о скорости синтеза самой ДНК или РНК.

Использование меченого карбоната предполагает очень точное воспроизведение опытов по выделению и очистке нуклеиновых кислот и получение препаратов с хорошими спектрофотометрическими характеристиками. Мы получали препараты со следующими характеристиками:

$$E_{260} / E_{280} = 2,1 \pm 0,2; E_{260} / E_{230} = 2,0 \pm 0,5.$$

Исследуя скорость включения C^{14} -карбоната в нуклеиновые кислоты красных водорослей *Ceramium rubrum* и *C. cylindatum*, мы обнаружили, что она различна в зависимости от концентрации нефти, времени действия и вида водорослей. Сразу следует отметить, что концентрация нефти 10 мл/л приводит к быстрому подавлению включения C^{14} -карбоната в нуклеиновые кислоты обоих видов водорослей и через 48 ч A_{yg} ДНК и РНК уменьшается до весьма малых величин (1-5% к контролю, рис.2).

Действие меньших концентраций нефти (0,01-0,1-1 мг/л) различно у исследуемых видов.

Дезоксирибонуклеиновая кислота. У *C. cylindatum*, независимо от времени, удельная активность ДНК всегда меньше контроля и уменьшается с увеличением концентрации нефти (рис.3), т.е. у этого вида наблюдается довольно четкая зависимость уменьшения A_{yg} ДНК от концентрации нефти при отсутствии стимулирующего эффекта.

Рассматривая изменения A_{yg} по времени, мы обнаружили, что минимальная A_{yg} наблюдается через 2 суток опыта, после чего A_{yg} контроля и опыта с концентрацией нефти 0,1 мл/л начинает возрастать и превышает исходный уровень первых суток. При концентрации нефти 1 мл/л A_{yg} ДНК *C. cylindatum* незначительно возрастает через 3 суток и через 6 суток падает практически до нуля.

Иначе происходит изменение A_{yg} ДНК у *C. rubrum*. Концентрация нефти 0,01 мл/л не дает характерной картины, так как A_{yg} при этой концентрации заметно отличается от контроля лишь через 2 суток опыта. Концентрации нефти 0,1-1 мл/л более характерны. В первый день опыта для ДНК *C. rubrum* наблюдается картина, аналогичная для A_{yg} ДНК *C. cylindatum*, т.е. уменьшение этой величины в зависимости от концентрации нефти. Через двое суток A_{yg} значительно увеличивает-

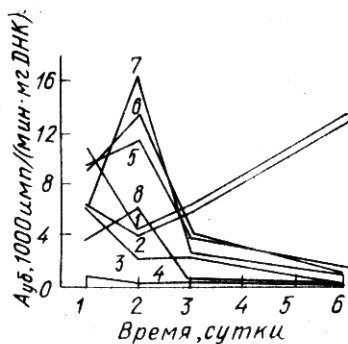


Рис.3. Кинетика изменения $A_{уд}$ ДНК *C. ciliatum* (I-4) и *C. rubrum* (5-8).

1,5 - контроль; концентрация нефти: 2 - 0,1 мл/л, 3 - 1 мл/л, 4 - 10 мл/л; 6 - 0,01 мл/л; 7 - 0,1 мл/л, 8 - 1 мл/л.

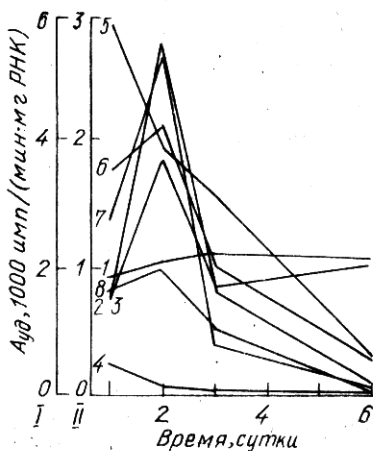


Рис.4. Кинетика изменения удельной активности *C. rubrum* (I) и *C. ciliatum* (II).

Обозначения те же, что и на рис.3.

оя, причем при концентрации нефти 0,1 мл/л она значительно выше, чем в контроле, т.е. происходит стимулирование включения C^{14} -карбоната в ДНК. В дальнейшем $A_{уд}$ как контроля, так и опытных образцов снижается с увеличением концентрации нефти, подчиняясь той же зависимости, что и $A_{уд}$ ДНК *C. ciliatum*.

Рибонуклеиновая кислота. Для $A_{уд}$ РНК *C. ciliatum* характерно то, что в контроле она в течение опыта отклоняется незначительно от первоначальной величины (рис.4). В течение трех суток наблюдается некоторое возрастание $A_{уд}$, и затем до конца опыта она находится примерно на одном уровне. Через сутки зависимость ее от концентрации нефти такая же, как у ДНК, но разброс значительно меньше. Через 48 ч наблюдается стимулирующий эффект при концентрациях нефти 0,1 и 1 мл/л, причем стимуляция, как и подавление биосинтеза, одинаково зависит от концентрации, т.е. чем больше концентрация, тем более выражен эффект. Но и подавление биосинтеза в дальнейшем идет тем сильнее, чем больше концентрация.

У *C. rubrum* через сутки четко выражена зависимость концентрации - эффект. Через 48 ч стимуляция биосинтеза проявляется при более низких концентрациях (0,01-0,1 мл/л) нефти, чем у *C. cylindricum*.

В дальнейшем до конца опыта A_{490} постепенно уменьшается при сохранении зависимости концентрация - эффект.

Исследуя содержание нуклеиновых кислот, мы обнаружили, что действие нефти в концентрации 1 мл/л в течение трех суток не приводит к существенным изменениям содержания ДНК (в мкг/г сухого веса) у обоих видов (у *C. cylindricum* 1179±36 в контроле и 1082±18 в опыте, у *C. rubrum* соответственно 2691±51 и 3006±83). Содержание РНК у *C. rubrum* также не изменяется (13357±24 в контроле и 13339±79 в опыте) и лишь у *C. cylindricum* снижается до 59% по отношению к контролю (10402±86 и 6216±64). По содержанию нуклеиновых кислот виды значительно различаются.

Таким образом, можно констатировать, что биосинтез нуклеиновых кислот у исследованных видов различается по характеру и интенсивности. Влияние различных концентраций нефти на биосинтез нуклеиновых кислот у *C. rubrum* и *C. cylindricum* неодинаково: большие концентрации нефти в течение сравнительно короткого времени могут стимулировать биосинтез нуклеиновых кислот; однако длительное действие как больших, так и малых концентраций, как правило, приводит к угнетению или полному подавлению биосинтеза ДНК и РНК.

Л и т е р а т у р а

1. СПИРИН А.С., БЕЛОЗЕРСКИЙ А.Н. Состав нуклеиновых кислот при экспериментальной изменчивости у бактерий кишечной группы. - Биохимия, 1956, 21.
2. НЕЧАЕВА Е.П. К методике определения нуклеиновых кислот в молодых зеленых растениях. - Физиол. растений, 1966, 13.
3. ОРЛОВ А.С., ОРЛОВА Е.И. Простая методика количественного определения дезоксирибонуклеиновой кислоты в животных тканях. - Биохимия, 1961, 26.

Поступила в редколлегию
19.X 1973 г.