

551.46.07(262)

Э 412

ВСЕСОЮЗНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ГИДРОМЕТЕОРОЛОГИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ —
МИРОВОЙ ЦЕНТР ДАННЫХ

ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ЮЖНЫХ МОРЕЙ АН УССР

ЭКСПЕДИЦИОННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В СРЕДИЗЕМНОМ МОРЕ

ОБНИНСК 1977

ВЕСЕССИЮЗНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ГИДРОМЕТЕОРОЛОГИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ—
МИРОВОЙ ЦЕНТР ДАННЫХ

ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ЮЖНЫХ МОРЕЙ АН УССР

ПРОВ 98

ЭКСПЕДИЦИОННЫЕ
ИССЛЕДОВАНИЯ
В СРЕДИЗЕМНОМ МОРЕ

НИС „Ак. А. Ковалевский“, 78-й рейс,
сентябрь—ноябрь 1975 г.

ОБНИНСК 1977

В сборнике приводятся результаты 78-го рейса НИС "А.К.Ковалевский", выполненного по международной программе совместных исследований Средиземного моря. Одной из основных задач рейса было продолжение изучения численности, закономерности распространения углеводородокисляющих микроорганизмов и их биохимических особенностей. Новым по сравнению с предыдущими исследованиями было определение бактерий данной группы в грунтах, а также изучение фенолразрушающих микроорганизмов. Микробиологическую характеристику морской воды дополняют данные о свободноживущих инфузориях.

Впервые были начаты работы по изучению углеводородного состава морских гидробионтов.

Сведения о биохимическом составе организмов дополняют данные о содержании в них нуклеиновых кислот (РНК и ДНК) и кислоторастворимых нуклеотидов.

В сборнике рассматриваются также материалы, связанные с непосредственной индикацией нефтяного загрязнения в морской воде.

The results of the 78-th cruise of the R/V "Akademik Kovalevsky" performed in the framework of the Cooperative Investigations of the Mediterranean are presented here. One of the main purposes of the cruise was studying the quality, distribution and biochemical properties of the hydrocarbon oxidizing microorganisms. For the first time the bacteria of the selected groups were determined in the sediments and the phenol-destructing microorganisms were studied. The microbiological characteristic of the sea water has been supplemented by data on free-living infusoria.

For the first time the hydrocarbon composition of marine hydrobionts was investigated.

Information on the biochemical composition of organisms has been supplemented by data on nucleic acid content (RNA and DNA) and acid-soluble nucleotides.

The information relating to indicating the petroleum pollution of the sea water has also been given consideration.

Ответственные редакторы

д-р биол. наук О. Г. Миронов,
канд. геогр. наук В. И. Ламанов,
директор РЦД СИСМ

Editors

O. G. Mironov, Doctor of Science
(Biology), V. I. Lamanov, Director
RDC/CISM, Candidate of Science
(Geography)

УГЛЕВОДОРОДОКИСЛЯЮЩИЕ МИКРООРГАНИЗМЫ

Работы проводились в сентябре-ноябре 1975 г. Схема расположения станций представлена на рисунке.

Титр нефтеокисляющих микроорганизмов по результатам поверхностных проб, отобранных на ходу судна, колебался в пределах 10-70 мл, понижаясь в районах с нефтяным загрязнением до 0,001мл. Лишь на двух станциях в южной части Адриатического моря нефтеокисляющие микроорганизмы выделены не были (общее количество посеянной морской воды составило 211 мл). Последнее свидетельствует о значительной чистоте этой акватории по сравнению с другими районами Средиземного моря.

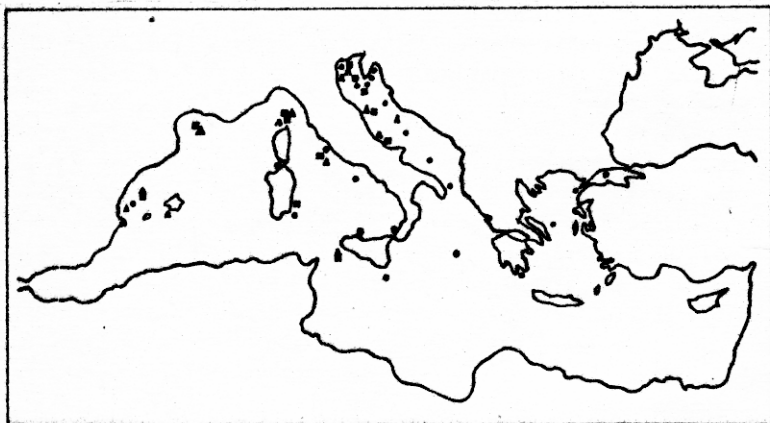


Схема микробиологических станций в Средиземном море:

- - пробы морской воды, отобранные на ходу судна;
- - пробы морской воды, отобранные на дрейфовых станциях;
- ▲ - районы взятия проб грунта

Наряду с поверхностными пробами, взятыми на ходу судна, проводился отбор морской воды на дрейфовых станциях по трем горизонтам (поверхностном, среднем и придонном). Численность микроорганизмов, растущих на нефти, представлена в табл. I.

Как видно из представленных в таблице данных, бактериальный рост изучаемой группы микроорганизмов наблюдался в больших

Т а б л и ц а I
Титр нефтеокисляющих микроорганизмов в морской воде

Координаты станции	Горизонт, м	Титр	Координаты станций	Горизонт, м	Титр
43°17,7' С	0	40	37°22,7' С	0	0,1
9°27,0' В	55	2II	12°16,2' В	35	2II
	100	2II		70	2II
43°32,6' С	0	2II	42°23,9' С	0	105
9°27,0' В	190	2II	14°44,0' В	65	2II
	380	2II		135	70
41°56,0' С	0	2II	43°35,7' С	0	2II
11°32,0' В	200	2II	13°59,7' В	20	2II
	400	50		40	2II
42°59,8' С	0	50	45°19,7' С	0	105
4°21,6' В	45	70	13°06,9' В	14	2II
	90	50		30	50
40°09,1' С	0	105	45°15,3' С	0	2II
1°00,0' В	47	105	12°31,5' В	13	2II
	95	2II		26	2II
39°36,3' С	0	40	43°16,8' С	0	2II
0°08,2' В	87	70	15°44,6' В	73	2II
	175	70		148	2II
39°09,3' С	0	50			
2°35,2' В	240	50			
	480	40			

объемах засеваемой морской воды, и только в одном случае был 0,1 мл. В 40% рост нефтеокисляющих микроорганизмов не обнаруживался. Интересно отметить, что наименьшее количество проб, где наблюдался рост нефтеокисляющих микроорганизмов, приходилось на средний горизонт (табл. 2).

Т а б л и ц а 2
Рост нефтеокисляющих микроорганизмов на различных горизонтах (число проб)

Т И Т Р	Г о р и з о н т ы		
	поверхностный	средний	придонный
40 - 105	8*	4	6
2II	3	1	2
2II	2	8	5

* Одна проба имеет титр 0,1

Т а б л и ц а 3
Рост нефтеокисляющих микроорганизмов на дрейфовых станциях
в мае 1972 г.

Координаты станций	Гори-зонт, м	Титр *	Координаты станций	Гори-зонт, м	Титр
35°39,0' С	0	10,0	38°43,7' С	25	10,0
03°59,5' В	25	11,0	08°59,0' В	50	1,0
	50	10,0		75	10,0
	75	10,0		100	1,0
	100	10,0			
	600	10,0			
	1100	-			
37°30,7' С	0	-	38°45,0' С	0	1,0
00°20,5' В	25	-	12°03,3' В	25	40,0
	50	-		50	1,0
	75	-		75	10,0
	600	40,0		500	-
	1100	40,0		1000	-
41°07,5' С	0	1,0	37°04,2' С	0	10,0
03°02,5' В	10	-	19°33,0' В	25	-
	30	-		50	-
	1000	-		75	40,0
	2000	-		500	-
				1000	10,0
42°46,3' С	0	1,0	36°00,0' С	0	1,0
05°03,0' В	25	1,0	23°07,6' В	10	10,0
	50	40,0		20	-
	75	1,0		30	10,0
	600	-		50	-
	1700	1,0		100	1,0
41°48,0' С	0	40,0			
05°54,0' В	25	-			
	50	10,0			
	75	-			
	1200	40,0			
	2000	-			

* Знак (-) означает отсутствие роста

Аналогичные результаты были получены нами в ряде районов Средиземного моря в мае 1972 г. (табл. 3).

На некоторых станциях определялись нефтеокисляющие микроорганизмы в грунтах. В ряде случаев удавалось брать отдельно верхний окисленный слой и тогда проба подразделялась на два горизонта. Результаты приведены в табл. 4.

Т а б л и ц а 4

Титр нефтеокисляющих микроорганизмов в грунтах

Координаты станций	Титр	Горизонт грунта	Глубина моря, м
42°59,8' С	I,0	I	90
4°21,6' В	I,0	2	
40°09,1' С			
1°00,0' В	10,0	I	95
39°36,3' С	0,1	I	
9°08,2' В	11,0	2	175
37°22,7' С			
12°16,2' В	I,0	I	70
43°35,7' С			
13°59,7' В	10,0	I	40
44°30,8' С			
13°36,8' В	10,0	I	
45°04,5' С			
13°13,0' В	10,0	I	35
45°15,3' С			
12°31,5' В	0,01	I	26

Как видно из данных таблицы, рост нефтеокисляющих микроорганизмов наблюдался в основном в I,0-10,0 мл основной грунтовой болтушки. На четырех станциях рост отсутствовал. Они располагались: одна в Лигурийском море, две в Тирренском море и одна в Адриатическом. Возможно, что при большом количестве посевного материала (максимальный объем посевного материала составлял несколько больше 11 мл) в указанных местах пробы могли бы быть положительными.

Выделенные из морской воды нефтеокисляющие микроорганизмы были отнесены к родам *Bacterium*, *Micrococcus*, *Pseudobacterium*,

Pseudomonas, *Vibrio*. В ряде случаев выделялись дрожжи. Родовое распределение нефтеокисляющих микроорганизмов в различных районах Средиземного моря по результатам дрейфовых станций представлено в табл. 5.

Т а б л и ц а 5
Родовой состав нефтеокисляющих микроорганизмов,
выделенных из морской воды на дрейфовых станциях

Координаты станций	Глубина, м	Род микроорганизмов	Число культур
43°32,6' С	0	<i>Pseudomonas</i>	1
9°27,0' В	0	<i>Pseudomonas</i>	1
41°56,0' С	400	<i>Bacterium</i>	1
11°32,0' В			
42°59,8' С	0	<i>Pseudobacterium</i>	1
4°21,6' В	45	<i>Bacterium</i>	1
40°09,1' С	47	<i>Micrococcus</i>	1
1°00,0' В		<i>Micrococcus</i>	1
Устье р. Эбро		<i>Pseudomonas</i>	2
полигон			
39°36,3' С	0	дрожжи	1
9°08,2' В	87	<i>Micrococcus</i>	1
39°09,3' С	175	дрожжи	1
2°35,2' В	0	<i>Pseudomonas</i>	1
42°23,9' С	0	<i>Micrococcus</i>	1
14°44,0' В	135	<i>Vibrio</i>	1
45°19,7' С	0	<i>Vibrio</i>	1
13°06,9' В		<i>Vibrio</i>	1
39°00,0' С	0	<i>Pseudomonas</i>	2
9°51,0' В		<i>Pseudomonas</i>	1
44°40,4' С	0	<i>Vibrio</i>	1
13°34,0' В		<i>Pseudomonas</i>	4
Против Кварнерский	0	<i>Pseudobacterium</i>	2
43°50,0' С	0	<i>Vibrio</i>	1
15°03,0' В		дрожжи	2

Значительное количество культур нефтеокисляющих микроорганизмов выделялось из морской воды, взятой на ходу судна. Из двадцати четырех проб, где отмечался бактериальный рост, культуры неф-

теокисляющих микроорганизмов были выделены в 22 случаях. Основное количество культур было отнесено к роду *Pseudomonas* - 29, далее шел род *Pseudobacterium* - 5, затем *Vibrio* - 4, по две культуры отнесены к родам *Bacterium* и *Micrococcus*. На трех станциях высевались дрожжи.

То же распределение по родам наблюдалось и в грунтах. Наибольшее количество культур отнесено к роду *Pseudomonas* - 18, четыре культуры отнесены к роду *Bacterium*, три - к роду *Pseudobacterium*, две - к *Micrococcus*.

Проведенные в настоящем рейсе микробиологические исследования расширили наши знания об углеводородокисляющих бактериях Средиземного моря. Впервые, в частности, было проведено изучение грунтов, из которых выделены микроорганизмы, способные расти на нефти в качестве единственного источника углерода и энергии.

И.А. Дивавин

СОДЕРЖАНИЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ В ГИДРОБИОНТАХ

Нами изучалось содержание нуклеиновых кислот и кислоторастворимых продуктов в морских организмах. Всего было исследовано 6 видов иглокожих, 9 - моллюсков, 3 - ракообразных, 9 - рыб, а также по одному виду губок и полихет. Результаты приведены в таблице. (см. стр. 12-13).

У большинства исследованных видов иглокожих содержание кислоторастворимых продуктов находится в пределах от 100 до 500 мкг на 100 мг сухого веса и только у морского ежа значительно выше (2158 мкг). Содержание нуклеиновых кислот значительно различается: РНК - от 253,1 мкг у офиуры до 2770 мкг у икры морской звезды и 2158,7 мкг у ежа; ДНК - от 44,2 мкг у офиуры до 857,8 мкг у морского ежа. Отношение РНК/ДНК у большинства видов колеблется в пределах 3,2-5,7 и только у морского ежа оно меньше (2,5) за счет значительного количества ДНК, а у морской звезды больше (9,4), что свидетельствует о преобладании РНК. Содержание кислоторастворимых продуктов в различных органах колеблется от 450 до 1100 мкг, РНК от 660 мкг в мышцах до 4210, 4933 мкг в водном легком и кишечнике, т.е. содержание нуклеиновых кислот у трепанга значительно выше.

Содержание кислоторастворимых продуктов у моллюсков в общем выше, чем у иглокожих и рыб, и достигает в отдельных случаях 7884 мкг. Обращает на себя внимание резкое различие по всем компонентам у мидий, взятых в различных районах. Самое большое содержание как нуклеиновых кислот, так и кислоторастворимых продуктов обнаружено у мидий, взятых в районе Венецианского залива, наименьшее у мидий Западного побережья. Мидии, взятые в восточной части Адриатического моря, занимают промежуточное положение. Это может быть следствием различной загрязненности этих акваторий. У остальных видов моллюсков содержание кислоторастворимых продуктов, РНК и ДНК находится в пределах 367-4137 мкг, 924-3334 мкг и 117-390 мкг соответственно. Из общей картины выделяются кардиум большим преобладанием РНК над ДНК (РНК/ДНК=28,4) и *Patella* у которой содержание ДНК больше чем РНК (РНК/ДНК = 0,77).

У ракообразных большим содержанием кислоторастворимых продуктов выделяются крабы, а также гонады рака-отшельника. Содержание РНК находится в пределах 467-824 мкг, ДНК - 73-204 мкг.

Наиболее важными представителями морских гидробионтов являются рыбы.

Нами определялось содержание исследуемых веществ как целиком в организмах, так и в некоторых органах. В печени мерлузы содержание нуклеиновых кислот примерно в 3 раза больше, чем в органах в целом, а в гонадах акулы обнаружено большое количество ДНК ($\text{РНК/ДНК} = 1,04$).

В средиземноморских рыбах (целые организмы) содержание кислоторастворимых веществ колеблется в пределах 245-641 мкг, РНК от 1088 до 1819 мкг, а ДНК от 156 до 273 мкг/100 мг сухого веса. Исключением является барабуля с очень низким по сравнению с РНК, содержанием ДНК ($\text{РНК/ДНК} = 44,6$).

Изученные Стемпиеном 16 видов губок, выловленных в районе Бермудских островов, позволили обнаружить в нуклеиновых кислотах прочно связанный полисахаридный фрагмент. Содержание РНК во всех губках было больше ДНК, а у *Cryptotethia crypta* было обнаружено очень мало РНК (около 4% от ДНК). В средиземноморском виде губок содержание РНК в 5 раз больше ДНК. В полихетах отношение $\text{РНК/ДНК} = 4,2$. Здесь отмечено значительное количество кислоторастворимых компонентов клетки. Таким образом, можно отметить, что содержание нуклеиновых кислот в гидробионтах сильно варьирует в пределах типов гидробионтов.

Проведенные исследования дают первое представление о нуклеиновых кислотах в гидробионтах Средиземного моря.

Содержание нуклеиновых кислот и кислоторастворимых соединений в гидробионтах Средиземного моря

Гидробионты	Число определений	Кислоторастворимые соединения	РНК	ДНК	РНК/ДНК
Иглокожие					
<i>Ophithrix fragilis</i>	4	160,7 $\pm$ 6,7	253,1 $\pm$ 12,8	44,2 $\pm$ 1,2	5,7
<i>Antedon</i> sp.	12	441,1 $\pm$ 31,4	404,8 $\pm$ 33,8	75,6 $\pm$ 2,8	5,3
внутренние органы	8	486,0 $\pm$ 20,4	1663,4 $\pm$ 20,5	175,3 $\pm$ 6,0	9,4
якра	8	364,0 $\pm$ 13,4	2770,0 $\pm$ 54,5	593,2 $\pm$ 29,6	4,6
<i>Paracentratus lividus</i>	12	2158,6 $\pm$ 26,0	2217,5 $\pm$ 29,8	857,8 $\pm$ 12,2	2,5
<i>Cucumaria</i> sp.	12	258,3 $\pm$ 3,0	1139,1 $\pm$ 15,2	218,3 $\pm$ 14,6	5,2
Моллюски					
<i>Mytilus galloprovincialis</i> (Тирренское море)	4	1104,0 $\pm$ 14,2	1363,1 $\pm$ 86,3	208,0 $\pm$ 4,2	6,5
<i>Mytilus galloprovincialis</i> (Адриатическое море, западная часть)	8	7884,5 $\pm$ 357,9	4393,5 $\pm$ 133,8	1610,6 $\pm$ 18,5	2,7
<i>Pinna nobilis</i>	8	686,0 $\pm$ 9,1	1654,3 $\pm$ 12,2	377,9 $\pm$ 7,2	4,3
<i>Cardium</i> sp.	4	1720,7 $\pm$ 90,5	3334,6 $\pm$ 105,1	117,2 $\pm$ 0,8	28,4
<i>Chlamys opercularis</i> (без ног)	8	4137,2 $\pm$ 48,1	2140,6 $\pm$ 45,2	390,0 $\pm$ 30,2	5,5
<i>Aspaea virginia</i>	4	815,0 $\pm$ 48,4	1962,5 $\pm$ 47,3	2522,5 $\pm$ 43,3	0,7
<i>Loligo vulgaris</i>	4	1226,0 $\pm$ 21,4	1340,7 $\pm$ 45,7	284,1 $\pm$ 4,4	4,7

Ракообразные					
<i>Carcinus maenas</i>	8	3997,6 $\pm$ 47,2	467,6 $\pm$ 31,8	98,3 $\pm$ 5,1	4,7
<i>Paguristes aculatus</i> (тело с панцирем)	4	693,2 $\pm$ 11,0	532,8 $\pm$ 29,0	73,2 $\pm$ 2,4	7,1
<i>Paguristes aculatus</i> (гонады)	4	2085,7 $\pm$ 29,4	824,7 $\pm$ 27,7	177,7 $\pm$ 5,6	4,6
<i>Palaeomon elegans</i>	8	721,9 $\pm$ 2,9	716,8 $\pm$ 16,0	204,2 $\pm$ 11,2	3,5
<i>Scomber scomber</i>					
печень	4	421,9 $\pm$ 21,5	2941,7 $\pm$ 68,8	743,9 $\pm$ 9,2	3,9
внутренние органы	4	1358,0 $\pm$ 85,9	709,5 $\pm$ 44,2	74,2 $\pm$ 4,3	9,5
Акула					
печень	4	305,9 $\pm$ 11,2	1633,0 $\pm$ 14,0	517,8 $\pm$ 19,1	3,1
гонады	4	422,7 $\pm$ 13,8	3143,5 $\pm$ 21,9	3021,1 $\pm$ 51,3	1,04
<i>Merluccius merluccius</i>					
печень	8	995,3 $\pm$ 2,6	3098,3 $\pm$ 75,9	456,1 $\pm$ 3,7	6,8
туловище	8	485,6 $\pm$ 21,3	1098,1 $\pm$ 17,5	158,2 $\pm$ 4,0	6,9
<i>Belone belone</i>	4	245,4 $\pm$ 20,2	1199,2 $\pm$ 74,4	273,6 $\pm$ 1,1	4,4
<i>Sprattus sprattus</i>	12	280,5 $\pm$ 6,7	1819,3 $\pm$ 9,0	195,3 $\pm$ 3,3	9,3
<i>Engraulis enera</i>	4	449,1 $\pm$ 26,2	1112,6 $\pm$ 26,2	188,6 $\pm$ 11,2	5,9
<i>Mullus sp.</i>	4	350,7 $\pm$ 22,4	1829,5 $\pm$ 37,8	41,0 $\pm$ 1,1	44,6
<i>Sparidae</i>	4	591,8 $\pm$ 36,0	1312,1 $\pm$ 27,5	180,3 $\pm$ 2,9	7,2
<i>Merlangius merlangus</i>	4	641,1 $\pm$ 23,6	1088,3 $\pm$ 16,9	156,6 $\pm$ 2,8	6,9
Губки					
<i>Suberites domuncula</i>	4	488,0 $\pm$ 3,7	876,1 $\pm$ 6,0	174,6 $\pm$ 1,5	5,0
Полихеты					
<i>Hyalinocia tubicola</i>	8	1054,8 $\pm$ 8,0	1102,8 $\pm$ 1,9	258,6 $\pm$ 11,2	4,2

К. К. Ермолаев

РАСПРОСТРАНЕНИЕ

ФЕНОЛОКИСЛЯЮЩИХ БАКТЕРИЙ

Пробы морской воды отбирались в районах, охватывающих условно чистые и загрязненные акватории. Отбор морской воды осуществлялся с поверхности на 31 станции стерильным батометром оригинальной конструкции на ходу судна с его носовой части (для предотвращения загрязнения пробы судовыми стоками). Посевы воды проводились методом предельных разведений на аэлективную среду Калабиной, Роговской с фенолом в качестве источника углерода и энергии, модифицированную для выращивания морских микроорганизмов. Содержание солей в воде равнялось солености средиземноморской воды.

Численность фенолразрушающих бактерий находилась с помощью статистических таблиц. Параллельно проводились посевы морской воды на мембранные фильтры с дальнейшим проращиванием и подсчетом колоний на чашках Петри с фенольной минеральной агаризованной средой.

Численность фенолразрушающих микроорганизмов в воде различных морей Средиземноморского бассейна

Район отбора проб морской воды	Номера проб	Число фенол-разрушающих бактерий, кл/л	Район отбора проб морской воды	Номера проб	Число фенол-разрушающих бактерий, кл/л
Мраморное море с проливами	1	2300	Средиземное море	17	2300
	2	2300		18	128
	3	23000		19	70
	4	2300		20	63
Эгейское море	5	28		21	2300000
		5	Адриатическое море	22	23000
	6	5		23	7
Ионическое море	7	23		24	9
	8	43		25	39

Район отбора проб морской воды	Номера проб	Число фенолразрушающих бактерий, кл/л	Район отбора проб морской воды	Номера проб	Число фенолразрушающих бактерий, кл/л
Тирренское море	9	186		26	10
	10	23000		27	23000
	11	450		28	230000
	12	180		29	23800
Лигурийское море	13	8		30	23800
Лионский залив	14	215		31	20
Средиземное море	15	54			
	16	30			

Данные, полученные во время экспедиции (см. таблицу), показали наличие фенолразрушающих микроорганизмов в воде всех исследованных станций, причем их количества в пробах варьировали в широких пределах. Высокая численность бактерий данной группы - до 23000 клеток в литре (кл/л) - наблюдалась в пробах морской воды, отобранных в проливах Босфор и Дарданеллы, а также в Мраморном море (пробы 1, 2, 3, 4). В Эгейском и в Ионическом морях количество фенолразрушителей в воде резко падает до единиц и десятков клеток в литре (пробы 5-8), что указывает на незначительное содержание растворенного фенола в исследуемых акваториях. Тирренское море вдоль побережья Италии и район Лионского залива (пробы 9, 11, 12, 14) характеризуются повышенными числами исследуемых бактерий до 450 кл/л. Подобное увеличение численности нефтеокисляющих микроорганизмов в этом районе Средиземного моря было отмечено ранее О.Г. Мироновым. По всей видимости, это объясняется влиянием фенолсодержащих сточных вод, сбрасываемых в море предприятиями, расположенными в этом промышленно развитом районе Средиземноморья, а также нефтяным загрязнением. Содержание фенолразрушающих микроорганизмов в пробах воды, отобранных в открытых акваториях центральной части Средиземного моря и Адриатики (пробы 15, 16, 18-20, 23-26, 31 и др.), было небольшим и составляло единицы и десятки клеток в литре. Как и следовало ожидать по аналогии с результатами, полученными для Черного моря, численность бактерий (способных разрушать фенол в воде акваторий), испытывающих интенсивное антропогенное воздействие (пробы 10, 17, 21, 22,

27-30), резко повышалась в среднем до десятков и сотен тысяч клеток в литре. Это несомненно связано с содержанием значительных концентраций фенола в воде данных районов.

В результате проведенных исследований впервые получены данные о распространении и численности фенолразрушающих микроорганизмов в Средиземном море, которые позволяют судить о возможной степени фенольного загрязнения акваторий этого района.

Т.Л.Щекатурина

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ УГЛЕВОДОРОДОВ В МОРСКИХ ОРГАНИЗМАХ

В последнее время изучение углеводородов в морских гидробионтах стало привлекать внимание исследователей в связи с возможностью биологического контроля за судьбой нефтяного загрязнения. Однако при этом возникают большие трудности в индикации углеводородов автохтонного и аллохтонного происхождения в организмах моря. Вследствие этого важное место в проведении подобных работ занимают вопросы методического характера.

При сборе проб необходимо соблюдать осторожность, чтобы дополнительно не загрязнить организмы углеводородами, что может произойти от горюче-смазочных веществ самого судна, загрязненных орудий лова и так далее. Периодически рекомендуется брать пробы топлива, смазочных масел корабля, сравнивая состав углеводородов потенциальных загрязнителей с углеводородами, изолированными из проб. Во время экспедиции и перевозок пробы держат в морозильнике при -20°C или на сухом льду.

Обработка проб включает гомогенизацию, экстракцию и отделение углеводородов от липидов. Гомогенизацию проб проводят как специальными измельчителями, так и растиранием в ступке. Для экстракции углеводородов из организмов применяют различные растворители: пентан, гексан, бензол, четыреххлористый углерод.

Большинство полученных экстрактов содержат эфиры жирных кислот, которые часто мешают отделению алканов и ароматических углеводородов. Для их удаления проводят омыление, в результате которого происходит разрушение эфиров жирных кислот до их солей и стеренов.

Для отделения углеводородов от липидов применяют различные методы. В колоночной хроматографии обычно используется силикагель для отделения углеводородов или окись аммония для выделения полимерных соединений с высоким молекулярным весом. Наиболее эффективна двойная колонка со слоем окиси аммония над слоем силикагеля. Проводится дезактивация адсорбентов водой (до 5%), что препятствует образованию углеводородных артефактов из биогенных углеводородов, в частности, образованию из фитола фитана. Вым-

вание углеводов из колонки обычно проводят неполярными растворителями (пентан или гексан). В дальнейшем возможно применение более полярных растворителей: бензола, спирта, ацетона, четыреххлористого углерода, что позволяет удалить более полярные соединения.

Последующий анализ проводится с использованием различных методов: гравиметрии, инфракрасной спектromетрии, ультрафиолетового поглощения и флуоресцентной спектromетрии, газожидкостной хроматографии, масс-спектromетрии, а также газожидкостной хроматографии с масс-спектromетрией, газожидкостная хроматография с масс-спектromетрией и применением ЭВМ.

Гравиметрический метод для количественного определения загрязнения нефтяными углеводородами целесообразен только при относительно высоких концентрациях (10^{-4} г).

Инфракрасная спектromетрия — также имеет некоторые ограничения, так как частота поглощения собственных углеводородов совпадает с частотой поглощения углеводородов нефти (исключением является частота поглощения для ароматических углеводородов нефти в длинноволновом диапазоне). Следовательно, данный метод мало пригоден для обнаружения малых количеств нефтяных углеводородов в присутствии естественных углеводородов организма.

Ультрафиолетовое поглощение и флуоресцентная спектromетрия. Эти аналитические методы позволяют обнаружить ароматические углеводороды. Они могут применяться для неомыленных липидных экстрактов без отделения углеводов. Однако следует обратить внимание на возможное присутствие биогенных ароматических углеводородов и подавление флуоресцентной эмиссии. Возможно совпадение ультрафиолетовых спектров поглощения биогенных алкенов со спектром ароматических углеводородов. Последнее можно преодолеть посредством гидратации алкенов.

Спектрофотометрические методы применяют как наиболее быстрые, простые и чувствительные. Используя кривые калибровки сырой нефти или нефтепродуктов в соответствующем растворителе, возможно количественное определение углеводородов. Тем не менее эти методы имеют ограниченные возможности применения. Они не указывают на сложность и диапазон молекулярного веса смеси, не обнаруживают алканы и некоторые алкены.

Газовая хроматография — метод, который находит широкое применение при изучении углеводов в морской среде. Газовая хроматография обеспечивает как выделение, так и количественное определение углеводов в зависимости от их температуры кипения и полярности по отношению к жидкой фазе колонки. Углеводороды иденти-

фицируются путем сравнения времени удерживания с известными стандартами. Имеется возможность обнаружить присутствие или отсутствие отдельных гомологических рядов, соотношение для n - алканов с нечетным и четным числом атомов углерода. Кроме того, газовая хроматография дает информацию о естественных углеводородах и их абсолютном или относительном содержании.

Масс-спектрометрия и газовая хроматография с масс-спектрометрией. Применяются для анализа углеводородов, выделенных из морских проб, загрязненных нефтью. Это особенно эффективные методы для обнаружения нефтяного загрязнения. Они показывают наличие или отсутствие ароматических углеводородов, их состав, молекулярный вес, наличие алкилзамещенных соединений, характерных для загрязненных проб и так далее. Применяются и более сложные комплексы: газовый хроматограф с масс-спектрометрией и ЭВМ, где создается возможность получения данных с помощью электронно-вычислительных машин. Однако до настоящего времени ни один из методов не обеспечивает полного анализа нефти в морских организмах.

Таким образом, в методическом отношении при исследовании углеводородов отмечается множество проблем, связанных со сбором проб и их хранением, отделением липидов от углеводородов, правильным выбором метода последующего анализа и т.д. Необходимы дальнейшие исследования в этом направлении и, в частности, разработка более чувствительных методов. Методы должны дифференцировать углеводороды на классы, такие, как алканы, алкены, ароматические вещества, категории молекулярных весов, специфические углеводороды или известные полициклические ароматические углеводороды (такие, как 3,4 бензпирен). В настоящее время наряду с исследованием алканов, алкенов, разветвленных алканов большое внимание должно быть уделено исследованию циклических и разветвленных циклических алканов, нафтоароматических и ароматических углеводородов в морских пробах. Тщательный подбор и применение методик позволит обнаружить присутствие углеводородов нефти в морских организмах в большинстве случаев.

УГЛЕВОДОРОДЫ
В МОРСКИХ ОРГАНИЗМАХ

В связи с практическим отсутствием сведений об углеводородном составе морских организмов Средиземного моря были отобраны гидробионты различного систематического состава. Мы пытались определить не только сумму углеводородов в морских организмах, но и на основании разделения углеводородов на группы и индивидуальные углеводороды методом газожидкостной хроматографии определить загрязненность некоторых проб (если таковое имеется).

Сбор и частичная обработка проб (гомогенизация и получение экстрактов) проводились непосредственно на корабле.

Результаты исследования морских организмов представлены в табл. I и 2. Из табл. I видно, что выделенные углеводороды в основном состоят из метано-нафтенной группы от 43 до 83%. Группа гетероциклических соединений составляет от 7,3 до 54%. Небольшой процент от всей навески углеводородов составляют ароматические соединения (от 4,2 до 33,7%). Однако в некоторых пробах по времени вымывания и коэффициенту преломления эти фракции можно было отнести и к ароматическим и к гетероциклическим соединениям. Такие ароматические фракции отмечены в таблице вопросительным знаком. Интересно отметить, что пробы, полученные из организмов, собранных в районах с видимым нефтяным загрязнением, показывают наличие ароматики с четко выраженным коэффициентом преломления для ароматических веществ. Это мидии (*Mutilus galloprovincialis*, морские блюдечки (*Aspaea virginia*) и мальки кефали (*Mugil sp.*). Ароматические соединения в этих организмах колеблются от 10,3% (*Aspaea virginia*) до 27,3% (*Mugil sp.*). Остальные организмы или вообще не показывают наличия ароматических углеводородов, или присутствие их находится под сомнением, что требует дальнейшего аналитического изучения проб.

Общая сумма углеводородов у рыб колеблется от 12,3 до 90мг/100г сырого веса. Было замечено, что содержание углеводородов исследованных морских организмов зависит от их липидного содержания, а также от загрязненности района, где они обитают. В частности, наибольшее количество углеводородов содержит шпрот

(*Sprattus sprattus*), барабуля (*Mullus sp.*), морской карась (*Sparidae sp.*) (от 90 до 32,5 мг%). Эти же рыбы характеризуются повышенным липидным содержанием, от 1772 до 2151 мг%. Рыбы с наименьшим липидным содержанием такие, как анчоус (*Engraulis encrasicolus sp.*), сарган (*Belone belone*), пикша (*Merlangius merlangus*) содержат меньше углеводов (от 12,3 до 26 мг%). Исключением являются мальки кефали, которые по своему липидному содержанию скорее относятся ко второй категории рыб, но обладают высоким количеством углеводов (63 мг%). Однако такое количество углеводов в данном случае можно объяснить заметным нефтяным загрязнением района отбора этих рыб. Зависимость накопления углеводов от липидного содержания устриц и от содержания углеводов в воде была отмечена Стегемонем и Тилом.

При анализе углеводородного содержания некоторых типов беспозвоночных видно (табл. I), что наибольшее количество (общая сумма) углеводов содержится в мидиях из трех различных мест обитания и морских бледячках. Как уже отмечалось выше, все они отобраны в загрязненных районах. Общая сумма углеводов у них колеблется от 57 мг% до 99 мг%. У остальных организмов эти колебания от 3,4 мг% до 18,7 мг%.

Известно, что углеводороды нефти, попадая в организм, по-разному распределяются в теле гидробионтов. В этой связи был проведен анализ некоторых органов и тканей на наличие углеводов, результаты которого представлены в табл. 2. Известно, что у морских организмов, в частности, у рыб основным местом накопления углеводов является печень и желчный пузырь. Однако у скумбрии значительное количество углеводов отмечено и в голове (табл. 2). Вероятно, это связано с тем, что голова скумбрии содержит наибольшее, по сравнению с другими органами, количество липидов, или же с тем, что одним из основных способов захвата углеводов из воды являются жаберы, где и происходит их частичная адсорбция.

Для более полной характеристики углеводородного состава гидробионтов были проведены исследования метано-нафтовой фракции методом газожидкостной хроматографии. В качестве примера приведены данные о мальках кефали (*Mugil sp.*) и саргана (*Belone belone*).

Идентифицированные нормальные и разветвленные алканы проб мальков кефали показывают большую ее загрязненность нефтяными

Т а б л и ц а I

Углеводородный состав некоторых организмов Средиземного моря

В и д	Общая сумма углеводородов в мг/100 г сырого веса	Групповой состав углеводородов, %				Количество организмов, взятых для анализа	Размеры (длина, см)
		метано-нафтеновые	ароматические	гетероатомные	потери		
<i>Paracentrotus lividus</i>	14,0	75,0	—	23,6	6,4	80	6—9
<i>Ophithrix fragilis</i>	11,8	76,8	—	19,7	3,5	800	11—15
<i>Carcinas maenas</i>	3,4	43,2	—	54,6	2,2	300	2—7
<i>Palaemon elegans</i>	8,7	63,0	—	31,5	5,5	1000	2,5—4
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	99,0	64,0	16,5	18,6	4,0	300	3—5
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	78,8	53,0	19,4	27,6	—	700	4,6—6
<i>Acmaea virginea</i>	66,0	83,0	10,3	6,7	—	100	2,6—5
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	57,0	56,0	23,0	15,3	5,7	200	4—6
<i>Chlamys opercularis</i>	6,9	62,8	—	33,9	3,3	200	4—6
<i>Loligo vulgaris</i>	18,7	64,0	4,2(?)	19,0	2,5	50	8—20
<i>Sprattus sprattus</i>	90,0	73,2	—	22,1	4,7	30	11,4—12
<i>Mullus sp.</i>	64,5	48,0	33,7(?)	16,9	1,4	30	13—15
<i>Sparidae G. sp.</i>	32,5	66,0	12,8(?)	21,3	0,9	30	17—21
<i>Engraulis encrasicolus</i>	26,0	60,2	—	38,2	—	30	11,5—12,5
<i>Belone belone</i>	15,2	54,0	—	39,2	6,8	9	19—20
<i>Mugil sp.</i>	63,0	69,9	29,7	7,3	2,2	600	2—3
<i>Boops boops</i>						8	13—20
<i>Merlangius merlangus</i>	12,3	64	10,8(?)	22,3	2,7	30	11—14

Примечание. (?) — фракция ароматических углеводородов, которые по времени вымывания и коэффициенту преломления можно отнести и к ароматическим, и к гетеродиклическим соединениям

Таблица 2

Углеводородный состав некоторых органов гидробионтов Средиземного моря

Органы	Общая сумма углеводородов, мг%	Групповой состав углеводородов, %				Количество организмов, взятых для анализа	Размеры (длина, см)
		метано-нафтенные	ароматические	гетероатомные	потери		
Морская звезда (<i>Asteropecten aurantiacus</i>)							
Гонады	43,0	73,3	-	20,3	5,4	4	30-40
Внутренние органы	25,4	55,5	-	42,1	2,4		
Акула							
Печень	35,4	47,5	-	44,7	7,8	4	35-50
Гонады							
Скумбрия (<i>Scomber scomber</i>)							
Внутренние органы	16,8	54,6	-	45,4	-	100	20-28
Голова	24,6	54,8	II,6(?)	33,2	-		
Туловище	19,2	46,0	-	54,0	-		
Печень	64,8	72,4	II,5(?)	II,4	0,4		
Ставрида (<i>Trachurus</i> sp.)							
Внутренние органы	31,2	69,9	II,8(?)	14,3	-	9	25-26
Туловище	23,7	53,4	II,6(?)	28,7	5,3		

Примечание: (?) - Фракции ароматических углеводородов, которые по времени вымывания и коэффициенту преломления можно отнести и к ароматическим, и к гетероциклическим соединениям

углеводородами. Одним из явных признаков нефтяного загрязнения является наличие на хроматограмме неразложимого фона, над которым возвышаются пики почти одинаковой величины в диапазоне C_{12-20} . Наличие гомологического ряда изопреноидов от C_{14} до C_{20} также характерно для загрязненных проб. Коэффициент CR_1 (отношение n -парафинов с нечетным числом атомов углерода к n -парафинам с четным числом атомов) составляет 0,8, в то время как для незагрязненных проб этот коэффициент больше двух. И наконец, такие характеристики нефтяного загрязнения, как соотношение C_{17} к пристану и пристану к изопреноиду C_{18} являются типичными для нефтяного загрязнения и составляют 1,6 : 2,2 : 1 соответственно. Это подтверждается и наличием четко выраженной ароматической фракции, о чем говорилось выше.

Хроматограмма алканов пробы саргана является характерной для биогенных углеводородов. Преобладание двух углеводородов - n - C_{15} и n - C_{19} над остальными, низкие величины соотношения C_{17} к пристану (0,4), преобладание n - C_{15} над n - C_{16} - все это характеризует пробу саргана как незагрязненную. В пробе присутствует значительное количество пристана - 18,3 мкг%, наличие которого в рыбах отмечалось многими авторами.

Таким образом, получены первые данные по углеводородному составу некоторых организмов Средиземного моря. Показана возможность обнаружения нефтяных углеводородов путем использования современных аналитических методов.

Т. Л. Шекатурина

ЛИПИДНЫЙ СОСТАВ НЕКОТОРЫХ МОРСКИХ ОРГАНИЗМОВ

В последние годы повысился интерес к изучению липидов в морских организмах в связи с нефтяным загрязнением и возможностью накопления углеводородов нефти в липидах гидробионтов.

Сбор морских организмов Средиземного моря проводился в районе острова Корсики (северная часть), Лионского залива, острова Сицилии, Адриатического моря и в Венецианском заливе. Частичная обработка проб проходила непосредственно на корабле. Организмы измерялись, затем они перемалывались на мясорубке и гомогенизировались при 16 тыс. об/мин. Моллюски предварительно освобождались от раковин. Беспозвоночные и рыбы небольшого размера (до 20 см) измельчались целиком. У крупных рыб брали пробы из отдельных органов.

Липиды экстрагировались смесью хлороформ-метанол по Фолчу. Дальнейшая обработка экстрактов проводилась на берегу с последующим определением калориметрическим методом. Фосфолипиды анализировали по методу Фiske-Суббароу, холестерин и его эфиры - реакцией Либермана-Бурхарда, триглицериды - реакцией Штерн, Шапиро.

Исследовались представители следующих типов беспозвоночных: губки, кольчатые черви, членистоногие, моллюски, иглокожие и позвоночные - класс рыб (табл. I).

Тип иглокожих включал представителей всех классов: морских звезд, офиур, морских ежей, голотурий и морских лилий. Он имеет своеобразный липидный состав и характеризуется в основном наличием большого количества фосфолипидов (от 60 до 100% от суммы липидов), наличием холестерина, почти полным отсутствием его эфиров и наличием небольших количеств триглицеридов (от 0 до 40% от суммы липидов). Несколько отличается липидный состав морских ежей, где найдены более высокие значения триглицеридов. Это, вероятно, связано с тем, что в отличие от других иглокожих морские ежи анализировались без панциря и внутреннего скелета. Однако количество фосфолипидов и холестерина у них также значительно.

Т а б л и ц а I

Липидный состав некоторых организмов Средиземного моря, мг%

В и д	Количество организмов, взятых для анализа	Размеры морских организмов (длина, см)	Триглицериды	Фосфолипиды	Холестерин	Эфирные холестерина	Сумма липидов
Губки							
<i>Suberites domuncula</i>	20	4-5	0	61,7	0	0	61,7
Черви							
<i>Hyalinocia tubicola</i>	64	3,5-6,0	362	345,0	27,3	3,1	737,4
Иглокожие							
<i>Paracentratus lividus</i>	80	6-9	356	275,0	18,0	следы	631,0
<i>Anseropoda placenta</i>	7	4-10	35	55,8	3,1	0	94,2
<i>Cucumaria</i> sp.	50	10-20	0	395,0	0	0	395,0
<i>Andedon</i> sp.	50	30-75 (50-55)*	0	73,3	3,5	0	76,8
Ракообразные							
<i>Carcinas maenas</i>	300	3-7 (4)*	192	80,0	3,3	0,6	275,0
<i>Palaemon elegans</i>	1000	3-3,5	22	370,0	8,2	0	401,0
Моллюски							
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	300	46-60 (5,5)*	474	311,0	6,2	0,9	793,0
<i>Acmaea virginea</i>	100	28-55 (35)*	189	305,0	6,9	0,8	502,0
<i>Chlamys opercularis</i>	200	4,5-6,0	247	91,0	4,4	0	343,0
<i>Pinna nobilis</i>	3	21-22,5	307,8	330,8	4,9	0,6	644,1
<i>Loigo vulgaris</i>	50	8-20 (10)*	105	163,0	11,4	следы	279,0
Рыбы							
<i>Sprattus sprattus</i>	30	11-12	1991	157,0	2,5	следы	2151,0
<i>Mullus</i> sp.	30	13-15	1552	107,5	4,03	1,9	1665,0
<i>Sparidae</i> G.sp.	30	17-21	1492	274,0	3,7	2,7	1772,0
<i>Engraulis encrasi cholinus</i>	30	11,5-12,5	1099	213,0	2,0	следы	1314,0
<i>Belone belone</i>	9	19-20	949	330,0	3,5	следы	1282,0
<i>Boops boops</i>	8	13-20	163,5	249,6	7,9	0	421,0
<i>Merlangius merlangus</i>	30	11-14	64,0	75,0	2,8	5,1	147,0
<i>Mugil</i> sp.	600	2-3	609,6	410,0	8,9	0	1028,5

* Цифры в скобках - преобладающие размеры

Т а б л и ц а 2

Липидный состав некоторых органов морских организмов, мг%

В и д	Количество органов, взя- тых для ана- лиза	Триглице- риды	Фосфо- липи- ды	Холе- сте- рин	Эфиры холе- сте- рина	Сумма липи- дов
Морская звезда (<i>Asteropecten aurantiacus</i>)						
гонады	4	3386,7	472,5	15,3	0	3877,5
внутренние органы	4	1447,5	577,6	10,3	0	2035,4
Акула						
печень	4	3580,7	176,7	3,3	0,9	3761,6
гонады	4	326,0	668,3	8,5	14,4	1017,2
Скумбрия (<i>Scomber scombrus</i>)						
внутренние органы	50	176,5	43,0	7,8	1,6	228,9
голова	10	2900,0	14,5	3,8	1,9	2920,2
туловище	6	1952,0	14,5	3,3	след	1969,8
печень	100	844,1	166,7	8,7	4,6	1024,1
Мерлуза (<i>Merluccius merluccius</i>)						
голова	10	696,0	260,0	10,0	0	966,0
туловище	20	301,0	146,9	1,3	0,7	449,9
печень	30	1958,3	920,8	0,6	0	2879,7
Рак-отшельник (<i>Paguristes aculatus</i>)						
тело с панцирем	15	0	81,7	3,6	0	84,6
гонады	15	1265,0	328,3	6,1	след	1599,4

Такой биохимический состав иглокожих может быть связан с характерными особенностями этого типа, т.е. присутствием значительного количества известковых элементов.

Своеобразным строением губок можно объяснить отсутствие исследуемых липидных фракций, за исключением фосфолипидов, которые являются основным структурным компонентом. Сходный липидный состав имеют и креветки, покрытые хитинизированным, кутикулярным покровом, исполняющим роль наружного скелета.

Отмечено преобладание фосфолипидов, эфиров холестерина у донных, малоактивных форм рыб, а триглицеридов – у пелагических активных.

Большое количество липидов наблюдалось у шпрота. В его тканях отмечено максимальное по сравнению со всеми исследуемыми видами содержание триглицеридов (199 мг%).

Из табл. I видно, что анчоус содержит больше фосфолипидов, однако сумма липидов у него в 2 раза меньше, чем у шпрота, в связи с пониженным содержанием триглицеридов.

С другой стороны, такие теплолюбивые активные рыбы как барабуля, морской карась, сарган могут обладать сравнительно высоким содержанием как триглицеридов, так и фосфолипидов, что, по-видимому, может быть связано с интенсивным посленерестовым нагулом.

Мальки кефали содержат значительное количество всех липидных фракций, за исключением эфиров холестерина.

Таблица 2 показывает фракционный состав липидов различных органов у акулы, скумбрии, мерлузы. У акулы и мерлузы наибольшее количество триглицеридов содержится в печени, у скумбрии – в голове и туловище. Однако максимумы в содержании фосфолипидов и холестерина у этих же рыб приходится на другие органы. При оценке липидного состава гидробионтов необходимо учитывать влияние нового экологического фактора – загрязнения, так как, по сведениям, в загрязненных районах организмы имели повышенное содержание липидов и более низкое кислотное содержание C_{16} и более высокое C_{18} .

Л.А.Комогорова

ХИМИКО-БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
НЕФТЯНЫХ ОСТАТКОВ
(ПЕЛАГИЧЕСКАЯ СМОЛА)

В настоящей статье приводятся результаты анализа нефтяных остатков, собранных в различных районах Средиземного моря. Пробн собирали с помощью планктонной сетки "Большая Джеди", которой облавливали поверхностный слой моря в течение 15-30 мин. при движении судна малым ходом.

Собранные 5 образцов представляли собой нефтяные комочки неправильной формы, размером 2-43 мм, темнокоричневого цвета, по консистенции - мягкие, вязкие. Многие из них были покрыты сероватым налетом.

Было установлено, что микрофлора, населяющая поверхность этих образцов, включает представителей двух родов бактерий: *Pseudomonas* и *Vibrio*.

Для изучения химического состава нефтяных комочков были применены методы колоночной и газожидкостной хроматографии.

Из данных табл. I следует, что групповой состав нефтяных остатков, выловленных в Средиземном море, обнаруживает содержание масел - 50-84%, бензольных смол - 8,3-18,4%, доля спиртобензольных смол колеблется от 2,3 до 18%, а содержание асфальтенов изменяется с 2,5 до 9,2%.

Исследование состава фракции масел микрохроматографическим анализом позволило провести относительное разделение смеси углеводородов на алкано-нафтеновую часть, ароматические углеводороды и фракцию, в которой концентрируются гетероатомные соединения (кислородные, сернистые, азотистые). Результаты этого анализа приведены в табл. 2.

Среди углеводородов масляной фракции преобладают алкано-нафтеновые соединения, которые составляют 63,7-94,0%, ароматические углеводороды колеблются в пределах 6,06-33,64%, гетероатомных соединений содержится от 0,4 до 2,4%.

Алкано-нафтеновая фракция проб затем исследовалась методом газовой хроматографии.

Т а б л и ц а I

Групповой состав нефтяных комочков

№ образ-ца	Фракции, %				
	масла	бензолъ-ные смолы	спиртобен-зольные смолы	асфальто-геновые кислоты	асфаль-тены
I	83,5	8,45	4,97	0,95	3,30
2	49,9	18,4	18,6	3,12	9,20
3	61,2	8,31	2,31	0,26	4,35
4	64,4	8,84	13,7	0,61	6,99
5	71,1	17,0	9,45	1,62	2,54

Т а б л и ц а 2

Групповой состав, %, масляной фракции нефтяного комочка

№ образца	Метано-нафтено-вая фракция	Ароматические углеводороды	Гетероатомные соединения
I	80,26	17,59	2,04
2	82,10	11,72	0,37
3	63,68	33,64	2,36
4	94,00	6,06	0,95
5	79,90	16,20	2,30

Т а б л и ц а 3

Содержание изопреноидных углеводов в пробах нефтяных остатков, %

№ образ-ца	Число атомов углерода							
	C ₁₄	C ₁₅	C ₁₆	C ₁₇	C ₁₈	C ₁₉	C ₂₀	C ₂₁
I	0,61	0,92	1,53	1,38	1,07	2,59	-	-
2	-	-	1,56	1,56	3,43	2,18	-	-
3	-	1,42	1,51	1,67	3,68	6,19	-	-
4	-	0,99	1,99	1,99	3,33	6,16	-	5,83
5	-	1,47	5,15	-	2,21	3,13	2,57	1,84

Полученные хроматограммы нефтяных остатков демонстрируют большое количество парафиновых углеводородов от C_{13} до C_{21} , а в пробе № I наблюдалось присутствие углеводорода C_{12} . Во всех пяти пробах обнаружены алканы прямой цепи, образующие гомологический ряд (с C_{12} до C_{21}) и кипящие при низких температурах.

Изопреноидные углеводороды представлены рядом с C_{14} до C_{21} (табл. 3), что характерно для сырой нефти.

Таким образом, в изученных образцах присутствуют сравнительно легкие алканы, как C_{12} , C_{13} , весь гомологический ряд n -алканов состоит почти из одинаковых количеств всех углеводородов. Изопреноидные углеводороды представлены с C_{14} до C_{21} .

В этой связи можно полагать, что изученные нефтяные остатки имеют, по-видимому, относительно недавнее происхождение и сформировались из парафинистых нефтей, поскольку основную часть масляной фракции составляют алкано-нафтеновые углеводороды.

Л.Н.Кирихина, Н.Ю.Миловидова

МАТЕРИАЛЫ К КОМПЛЕКСНОМУ ИЗУЧЕНИЮ
ДОННЫХ ОСАДКОВ СРЕДИЗЕМНОГО МОРЯ

Сбор материала проводился на акватории Адриатического и западной части Средиземного морей (схему станций см. на стр. 4 настоящего сборника). Пробы донных осадков отбирались дночерпателем "Океан" площадью $0,1 \text{ м}^2$, дающим монолиты мощностью 20 см. Там, где был ясно выражен окисленный слой или пленка, отбирались пробы для физико-химического и микробиологического анализов с поверхностного слоя (0-5 или 0-1 см) и из глубже лежащей толщи осадков.

Параллельно отбору образцов донных осадков были собраны пробы для определения зообентоса. На каждой станции брали по две дночерпательные пробы. Грунт промывался через два сита с отверстиями диаметром 5 и 0,75 мм.

Донные осадки обследованных акваторий относятся к терригенным осадкам и терригенным осадкам с большой примесью известкового материала. Осадки мелководья (до 95 м) представлены в основном буровато-серым и серым песком с примесью раковинного детрита; в случае загрязнения они имеют черный цвет, запах нефти и примесь илестых частиц.

Глубоководные осадки (свыше 95 м) представляют собой глинистые и алевроитово-глинистые илы, коричневатые-желтые, с окисленным охристым или бурным слоем. Илы пластичные, вязкие, сверху полужидкой, ниже - мягкой консистенции, содержат обломки раковин, спикул, кораллов. В Адриатическом море на глубинах до 150 м встречаются илы серые, иногда с зеленоватым оттенком, пластичные, вязкие, с примесью ракушек и слабым запахом сероводорода.

Натуральная влажность изменяется от 24,02 до 39,56% в песках и от 42,82 до 65,77% - в илах (табл. I).

Гигроскопическая вода содержится в песках в количестве от 0,95 до 3,43%, в илах - от 3,97 до 10,56%.

Разнообразны величины потерь при прокаливании (18,55-42,72%). Высокие значения этого показателя свойственны сильноизвестковым осадкам подводных банок (до 42,72%).

Т а б л и ц а I

Некоторые физико-химические показатели
донных осадков Средиземного моря

№ пробы (слой, см)	Глубина, м	Донный осадок	Натуральная влажность, %	Потери при прокаливании, %	Хлороформ-растворимые вещества, г/100г	Окислительно-восстановительный потенциал, мВ
I (смеш.)	8,5	Песок	34,53	19,58	0,35	- 10
2 (0-5)	400	Ил глинистый	65,77	24,20	нет	+265
2 (5-20)		Ил песчаный	42,82	22,72	нет	+250
3 (смеш.)	130	Песок илистый	39,56	42,72	0,01	+355
4 (смеш.)	430	Ил песчаный	47,05	31,69	нет	+375
5 (0-I)	92	Песок	28,40	20,34	0,01	+400
5 (I-20)	92	Песок	26,47	20,79	0,003	+125
6 (смеш.)	95	Песок мелкий	24,02	18,55	нет	+270
7 (0-5)	175	Ил алевроитовый	42,54	25,41	нет	+330
7 (5-20)	175	Песок илистый	35,94	25,81	нет	+290
8 (смеш.)	10	Песок	-	22,85	1,52	-
9 то же	70	Песок раковинный	29,26	20,57	0,01	+460
10 -"	7	Ил песчаный	47,78	33,75	0,56	-240
11 -"	140	Ил глинистый	56,83	26,24	нет	+220
12 -"	75	Ил глинистый	55,32	23,33	нет	+130
13 -"	50	Песок	25,08	18,57	нет	+240
14 -"	35	Песок илистый	30,07	18,85	0,005	+120
15 -"	26	Песок	25,46	23,54	0,004	+160
16 -"	7	Песок	36,19	29,23	0,13	-
17 -"	148	Ил	53,55	28,70	нет	+190

Количественная характеристика макрозообентоса

Группы организмов	С т а н ц и и													
	I	2	3	4	5	6	7	9	II	I2	I3	I4	I5	I7
Численность, экз/м ²														
Глубина, м	8	400	130	430	92	95	175	70	7	75	50	35	26	148
Полихеты	471	-	150	80	390	5	25	75	-	75	560	30	60	10
Моллюски	60	-	5	5	30	-	-	-	-	15	5	1290	10	-
Ракообразные	39	10	-	-	15	-	-	75	5	50	-	45	90	-
Иглокожие	-	-	5	5	50	-	5	-	-	-	-	15	10	25
Прочие	-	-	5	-	10	-	5	10	5	20	-	10	5	-
Всего	570	10	165	90	495	5	35	160	10	160	665	1391	175	35
Биомасса, г/м ²														
Полихеты	8,57	-	1,68	1,68	1,80	0,02	1,15	1,26	-	3,20	1,87	15,10	9,61	0,17
Моллюски	152,77	-	0,40	0,27	1,38	-	-	-	-	0,59	6,10	521,23	33,08	-
Ракообразные	6,04	0,07	-	-	1,04	-	-	3,46	0,37	0,05	-	0,59	0,07	-
Иглокожие	-	-	0,20	0,24	5,10	-	0,10	-	-	-	-	10,81	7,50	6,60
Прочие	-	-	0,32	-	1,81	-	0,50	0,78	0,54	3,40	-	0,24	0,24	-
Всего	167,38	0,07	2,60	2,19	11,13	0,02	1,75	5,50	0,91	7,24	8,91	547,97	50,5	6,87

В последних значительно понижается окислительно-восстановительный потенциал - до -240 мВ, отражая восстановительные условия среды. Большинство же осадков западной части Средиземного моря характеризуется слабоокислительными и окислительными условиями. Окислительно-восстановительный потенциал в них изменяется от $+220$ до $+460$ мВ. В Адриатическом море осадки в основном слабо-восстановленные (Е меняется от $+120$ до $+190$ мВ), об этом же свидетельствует отмеченный выше цвет осадков и наличие слабого запаха сероводорода.

Содержание хлороформрастворимых веществ колеблется от следовых величин до $1,52$ г/100 г осадка. Низкими величинами (до $0,01$ г/100 г) характеризуются "чистые" осадки, в загрязненных - количество их составляет $0,13-1,52$ г/100 г.

Данные о количественном развитии макрозообентоса на исследованных станциях приведены в табл. 2.

Биомасса макрозообентоса в основном не превышает 10 г/м² (на десяти станциях из четырнадцати). Предыдущие исследователи Средиземного моря отмечали биомассу такого же порядка.

Максимальная биомасса ($547,97$ г/м²) отмечена в Адриатическом море на глубине 35 м (станция I4). На этой станции было найдено очень много двусторчатых моллюсков *Corbula gibba* Jeffr (1255 экз/м² и $504,25$ г/м²). Высокая биомасса наблюдалась также на станции I в районе Чивитавекки за счет крупных моллюсков *Mytella trunculus* L.

Низкая биомасса приурочена главным образом к большим глубинам.

Численность макрозообентоса на большинстве станций высокая, так как почти всюду отмечалось много полихет.

Таким образом, получены первые данные о Средиземноморских осадках совместно с населяющими их морскими организмами. Корреляционных связей между количественным развитием макрозообентоса и исследованными физико-химическими свойствами обнаружить не удалось. Последующее изучение собранных материалов, в частности, получение данных по органическому веществу донных осадков, его компонентному составу, а также микробиологической характеристике грунтов позволит, по-видимому, более полно оценить существующую взаимосвязь между биотическими и абиотическими компонентами грунтов.

СВОБОДНОЖИВУЩИЕ ИНфуЗОРИИ

Пробы морской воды для определения пелагических инфузорий отбирались сетью "Малая Джеда" (планктонное сито № 76, объем стакана 150 см³) и батометром. Часть содержимого пробы путем фильтрации через бумажные фильтры доводили до объема 50-100 см³ и небольшими порциями просматривали под бинокулярным микроскопом МБС-1; для определения систематической принадлежности пользовались микроскопом МБИ-3.

Надежные методы для количественного исследования планктонных инфузорий до сих пор не разработаны. При фиксации проб формалином происходит разрушение большей части инфузорий. Поэтому изучение организмов производилось сразу после получения проб.

Родовая принадлежность и численность инфузорий,
выделенных из морской воды

№ пробы	Численность инфузорий, экз/лitr	Систематическая принадлежность
1	20	Peritricha-Vorticella
2	16	Peritricha-Vorticella Holotricha-Trachelocerca
3	10	Peritricha-Vorticella
4	9	Peritricha-Vorticella Holotricha-Trachelocerca
5	4	Holotricha-Trachelocerca
6	15	Peritricha-Vorticella
7	6	Heterotricha-Folliculina
8	не обнаружены	

Районы исследований охватывали в основном западную часть Средиземного моря.

Инфузории, обнаруженные в пробах морской воды, представлены тремя группами: Peritricha, Holotricha и в незначительных количествах Heterotricha (см. таблицу).

Как видно из таблицы, в данных районах, по-видимому, инфузории не играют существенной роли в планктонных сообществах, их численность варьируется в пределах 6-20 экз./литр.

Указанные группы были найдены в основном на мельчайших комочках детрита, находящихся во взвешенном состоянии в море. Комочки детрита были обнаружены почти во всех пробах и в большинстве случаев по внешним признакам походили на нефтяные остатки. Интересно отметить, что в экспериментах по наблюдению за развитием общей численности простейших и сменой их родового состава по мере биодеградации нефтяного пятна в проточном аквариуме с черноморской водой наблюдалось развитие инфузорий, относящихся к *Peritricha*, *Holotricha* и *Heterotricha*. Эти организмы присутствовали на нефтяных остатках, представляющих собой рыхлые хлопьевидные сгустки, покрытые бактериями и бактериальным детритом, на которые распалось нефтяное пятно через три месяца с момента начала эксперимента.

Таким образом, можно полагать, что простейшие, развиваясь на нефтяных остатках вслед за бактериями, способствуют разрушению нефтяных углеводородов в море.

Ю.П.Копытов

ИЗУЧЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ
ЛИПОФИЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ
В ВОДЕ СРЕДИЗЕМНОГО МОРЯ

Пробы отбирались на ходу судна с носовой части ведром и сразу же разливались в две двухлитровые колбы. Экстракция липофильных веществ из морской воды проводилась четыреххлористым углеродом в делительной воронке. Экстракты запаивались в стеклянные ампулы и их дальнейшая обработка проводилась в лаборатории на берегу. Здесь ампулы вскрывались, отгонялся растворитель и определялся вес веществ, экстрагируемых четыреххлористым углеводородом. Затем две параллельные пробы сливались вместе, и объем этого суммарного экстракта доводился до 0,2 мл, из которых 0,12 мл использовались для определения относительного содержания отдельных компонентов методом адсорбционной тонкослойной хроматографии в собственной модификации.

Для разделения веществ использовались пластинки "Silifol-254" (50x150 мм²), которые предварительно промывались ацетоном, затем обрабатывались 15-процентным спиртовым раствором фосфорно-молибденовой кислоты и высушивались в течение 20 минут.

Хроматографирование проводилось в камере, насыщенной парами гексана, для чего гексан наливался тонким слоем на дно камеры и впитывался фильтровальной бумагой. Пластика с нанесенной в виде полосы пробой опускалась в чашку Петри с четыреххлористым углеродом, помещенную на дно камеры. При таком способе хроматографирования на пластинке по мере прохождения растворителя создается градиент полярности, что способствует более четкому разделению на отдельные фракции.

После двухкратного хроматографирования пластинки для проявления помещались на 10 мин в сушильный шкаф с температурой 110°. Для получения сопоставимых результатов очень важно точно выдерживать время экспозиции и температуру. Количественные измерения проводились в денситометре фирмы "Карл Цейс" (Иена) марки ЕРJ - 65, снабженном интегрирующим устройством. Данные двух параллельных проб усреднялись и пересчитывались на 1 литр.

Содержание липофильных веществ в воде Средиземного моря

№ пробы	Вещества, экстрагируемые четыреххлористым углеродом, мг/л	Процент компонентов		
		полярных	малополярных и неполярных	
			всего	в том числе парафинов
I	1,5	31	69	53
2	0,3	33	67	47
3	0,4	38	62	32
4	0,5	40	60	42
5	0,5	45	55	28
6	0,3	38	62	42
7	0,3	35	65	42
8	1,2	22	78	44
9	0,2	36	74	38
10	0,4	35	65	41
11	0,3	42	58	39
12	0,3	33	67	38
13	0,3	34	66	38
14	0,5	36	64	32
15	0,4	31	69	33
16	0,4	31	69	28
17	0,5	34	66	40
18	0,3	31	69	46
19	0,2	39	61	28
20	0,2	53	47	17
21	0,3	36	64	42
22	0,3	39	61	35
23	0,4	41	59	27
24	0,3	50	50	22
25	0,3	42	58	30
М±		37,0±1,3	63,0±1,3	36,1±1,6

Как видно из таблицы, концентрация веществ, экстрагируемых четыреххлористым углеродом, в большинстве случаев (90% проб) лежит в диапазоне 0,2–0,5 мг/л, причем чаще всего (44%) встречается величина 0,3 мг/л. Концентрация ниже 0,2 мг/л не отмечена. По-види-

тому, в настоящее время концентрацию липофильных веществ порядка 0,2-0,3 мг/л следует считать фоновой. Самая высокая их концентрация (1,2-1,5 мг/л) отмечена в районах видимого нефтяного загрязнения.

В результате хроматографирования экстрактов в разных пробах было получено различное количество фракций (от 4 до 10), часть из которых не идентифицирована, поэтому для удобства сопоставления они были разбиты на две большие группы: а) полярные компоненты (смоли, асфальты, липиды и др.), б) малополярные и неполярные компоненты (парафины, нафтены, ароматика, некоторые галогенпроизводные углеводородов и др.). Поскольку на всех станциях было обнаружено значительное количество парафинов, отдельно приводятся данные по их проценту от общего веса веществ, экстрагируемых четыреххлористым углеродом (см. четвертую колонку таблицы). Статистическая обработка полученных данных показала, что в среднем липофильные вещества в воде Средиземного моря содержат 37% полярных веществ и 36% парафинов. Остальное приходится на прочие неполярные и малополярные вещества как углеводородного, так и неуглеводородного состава.

СОДЕРЖАНИЕ

	Стр.
О. Г. Миронов. Углеводородокисляющие микроор- ганизмы	4
И. А. Дивавин. Содержание нуклеиновых кислот в гидробионтах	10
К. К. Ермолаев. Распространение фенолоксиля- ющих бактерий	14
Т. Л. Щекатурина. Методы определения угле- водородов в морских организмах	17
О. Г. Миронов, Т. Л. Щекатурина. Углеводороды в морских организмах	20
Т. Л. Щекатурина. Липидный состав некоторых морских организмов	25
Л. А. Колмогорова. Химико-биологическая характеристика нефтяных остатков (пелагическая смола)	29
Л. Н. Кирюхина, Н. Ю. Миловидова. Материалы к комплексному изучению донных осадков Средизем- ного моря	32
С. У. Авдеева. Свободноживущие инфузории	36
Ю. П. Копытов. Изучение содержания липофильных веществ в воде Средиземного моря	38

Экспедиционные исследования
в Средиземном море
НМС "Ах. А.Ковалевский", 78-й рейс,
сентябрь-ноябрь 1975 г.

Редактор А.А.Касаткин

Корректор А.В.Рогонова

Подписано к печати 04.05.77

Формат бум.л. 60х84/16

Печ.л. 2,6

ТБ-02653

Тираж 500 экз.

Заказ № 919

Цена 26 коп.

Фабрика офсетной печати ВНИИГМИ-МЦД

249020 г.Обнинск, ул.Королева, 6