

Работа выполнена в отделе Биологии обростаний Института
биологии южных морей им. А. О. Ковалевского АН УССР

Научный руководитель – доктор биологических наук
Д. А. Горбенко

Официальные оппоненты – доктор биологических наук
О. Г. Миронов
– доктор биологических наук
А. Я. Маляревская

Ведущее учреждение – Московский Государственный универ-
ситет им. М. В. Ломоносова

Защита диссертации состоится " ____ " _____ 1990 г.
в " ____ " час. на заседании специализированного совета
Д 016.12.01. при Институте биологии южных морей
им. А. О. Ковалевского АН УССР по адресу:
335000, г. Севастополь, проспект Нахимова, 2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке
Института биологии южных морей АН УССР

1990 г.

Н. Г. Сергеева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Защита антропогенных субстратов от обрастания остается актуальной научно-технической проблемой, для решения которой продолжается поиск новых и совершенствование ранее разработанных способов защиты. Основным критерием оценки их качества служит эффективность способа. Глобальные масштабы загрязнения Мирового океана вызывают необходимость жесткого контроля и достоверной оценки не только эффективности средств защиты от обрастания, но и экологической целесообразности их применения. В отечественной и зарубежной практике такие исследования неизвестны. Для существующих средств защиты от обрастания единственным (и очень приблизительным) критерием экологичности на сегодняшний день являются официально принятые предельно допустимые концентрации (ПДК) биоцидов. При их разработке основным критерием является выживаемость гидробионтов в лабораторном эксперименте. Экологическая экспертиза средств защиты от обрастания должна основываться наряду с определением выживаемости, на более тонких показателях, достоверно фиксирующих состояние экосистемы (популяции, организма) при котором она:

- уже реагирует на действующий фактор
- отклонения от исходного состояния являются обратимыми при снятии нагрузки.

Известно, что реакция организмов на действие абиотических факторов в лабораторных и естественных условиях существенно отличается. Следствием этого являются факты пересмотра ранее установленных ПДК, а также неблагоприятное состояние водоемов, сбросы веществ в которые производятся в соответствии с существующими нормами (Миронов, 1970, 1982, 1985; Патин, 1979, 1985, 1988).

Проблема рационального использования природных ресурсов и восстановления разрегулированных гидроекосистем требует новых подходов в решении этих вопросов. Назрела необходимость разработки основ экологической экспертизы средств защиты от обрастания, которая должна включить в себя не только лабораторные, но и натурные исследования.

Любой из ныне используемых способов прямо или косвенно оказывает влияние на биологические процессы и продуктивность Мирового океана. В этой связи особое значение приобретает способ с регулируемым эффектом защиты.

Одним из таких способов, в основе которого лежат физико-хи-

мические процессы

БИБЛИОТЕКА

№.....

мические процессы, является электролизное хлорирование морской воды. В качестве действующего агента выступает активный хлор-комплекс хлорпроизводных соединений, обладающий биоцидными свойствами.

В нашей стране этот способ уже применяется для защиты внутренних поверхностей теплообменных аппаратов и водоводов, где эффективными являются концентрации биоцида 1,0 - 1,5 мг/л (Якубенко и др., 1987). Система защиты наружных поверхностей (корпусов судов) находится в стадии разработки, но экспериментально уже установлено, что величины концентраций, предотвращающих оседание, будут составлять десятки мг/л (Валуев, 1986).

Цель и задачи исследования. Цель работы заключалась в определении реакции сообществ микро- и макрообитания, а также отдельных массовых видов обитателей (планктонных и прикрепленных форм) на воздействие активного хлора.

Исследования проведены на различных уровнях организации живого вещества: молекулярном, организменном, популяционном и на уровне сообщества с использованием лабораторного и натурального экспериментов, гидрохимических определений, токсикологических экспериментов, биохимического анализа, микробиологических тестов. При этом решались следующие задачи:

1. Изучение формирования сообщества микро- и макрообитания в районе сброса хлорированных вод;
2. Изучение действия активного хлора на клеточные биохимические реакции, отдельные организмы, их популяции и сообщества;
3. Определение тест-объектов и достоверных показателей хлорного стресса;

4. Обоснование экологической целесообразности применения данного способа защиты антропогенных конструкций от обитания.

Научная новизна. В представляемой работе впервые проведены системные исследования реакции массовых видов микро- и макрообитателей на действие активного хлора, поступающего в море при защите от обитания способом электролизного хлорирования. Установлено, что в диапазоне концентраций, обеспечивающих защиту при необходимом времени воздействия достоверные изменения токсикологических и биохимических характеристик у массовых видов обитателей отсутствуют. На уровне организма и сообщества выявлен эффект угнетения и стимулирования физиолого-биохимических процессов, обусловленный действием активного хлора.

Изучены особенности процесса формирования и устойчивость сообщества микро- и макрообрастания в районе стока хлорированных вод. Показано, что хроническое поступление активного хлора в море изменяет структуру сообщества обрастания, обедняя его состав и количественные характеристики. Проведено ранжирование сравнительной устойчивости массовых видов микро- и макрообрастателей к действию биоцида. Рекомендованы тест-объекты для проверки эффективности разрабатываемых режимов защиты (мидии, балянусы) и оценки влияния хлорированных стоков на прибрежные морские экосистемы (гидроиды, ботриллусы).

Впервые выявлены физиологические и биохимические адаптации макрообрастателей и сообщества перифитона к действию активного хлора. Определен характер отклика мидий и ботриллусов, как наиболее и наименее устойчивых обрастателей на действие активного хлора на уровне изменения их биохимического состава. В качестве тест-показателя стресса предложены липиды, интенсивность окисления которых в тканях гидробионтов достоверно возрастает.

Определен характер метаболического отклика мидий, ботриллусов и сообщества перифитонных микроорганизмов. Выявлены его различия для указанных объектов.

Практическая значимость. Результаты работы использованы на предприятии п/я А-1080 при определении параметров и режимов защиты от обрастания электролизным хлорированием морской воды. Применение результатов диссертационной работы позволило установить оптимальные периодические режимы обработки активным хлором с целью предупреждения обрастания (Акт о внедрении от 29.12.88)

Рекомендован режим обработки теплообменных аппаратов и водоводов, позволяющий устранить обрастание возрастом до 5 суток, возникающее при аварийной ситуации. Материалы оформлены в виде заявки на изобретение (Положительное решение).

Предложено устройство и способ определения наличия обрастания в теплообменных аппаратах (датчик обрастания), что позволяет устанавливать необходимость включения системы защиты, регулировать длительность ее работы, фиксируя момент достижения чистой поверхности. Осуществляемая таким образом регулировка интенсивности защиты позволит повысить ее экономичность и свести до минимума влияние защищающего фактора на среду. Материалы оформлены в виде заявки на изобретение (Положительное решение).

Рекомендованные тест-объекты и комплекс показателей "хлорного стресса" (видовой состав сообщества, физиологические характеристики, биохимический состав тканей, экскреция метаболитов) будут использованы при биомониторинге в районах поступления активного хлора в море.

Полученные результаты послужат основой для разработок ОБУВ и ЦДРК активного хлора для морских водоемов, при установлении допустимых объемов сброса отработанных хлорированных вод, а также методики проведения экологической экспертизы средств защиты от обрастания.

Апробация работы. Материалы диссертации докладывались на Всесоюзном совещании "Биоповреждения и защита материалов биоцидами" (Свердловск, 1985), Третьей межотраслевой научно-технической конференции "Защита судов от коррозии и обрастания" (Калининград, 1986), II Всесоюзной конференции по морской биологии (Севастополь, 1988), на конференции "Проблемы комплексной застройки южного берега Крыма" (Симферополь, 1988), Всесоюзном совещании "Сырьевые ресурсы и биологические основы рационального использования промышленных беспозвоночных" (Владивосток, 1988), Четвертой межотраслевой научно-технической конференции "Защита судов от коррозии и обрастания" (Ленинград-Мурманск, 1989), Всесоюзном совещании по морскому обрастанию и биокоррозии (Владивосток, 1989), научных семинарах отделов Биологии обрастаний и Морской санитарной гидробиологии ИнБДМ АН УССР.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 15 работ, из них 8 в соавторстве.

Объем и структура работы. Диссертация состоит из введения, 7 глав, заключения, выводов, списка литературы из 220 наименований, в том числе 71 иностранных авторов, текст изложен на 124 страницах машинописи, иллюстрирован 14 рисунками и 26 таблицами. Часть результатов, представляющих теоретический и практический интерес, в том числе материалы, оформленные в заявки на изобретения, вынесены в 4 приложения.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава I. Обзор литературы.

Первая глава состоит из четырех разделов. В первом дается характеристика обрастания - специфического биоценоза, формиру-

шегося на антропогенных субстратах.

Во втором морское обрастание рассматривается, как биопомеха.

В третьем описывается электролизное хлорирование морской воды, как способ защиты от обрастания. Высокая эффективность, экономичность и доступность средства уже подтверждены на практике, однако, его комплексная экологическая оценка не дана.

В четвертом разделе приводятся сведения о влиянии активного хлора на обрастателей и других гидробионтов. В доступной литературе эти вопросы освещены не полно, а результаты исследований не однородны. Большинство работ выполнено зарубежными исследователями. Приведенная в них информация касается, в основном, двух аспектов:

- влияние электролизного хлорирования на отдельные виды гидробионтов;
- оценка эффективности защиты и защитные концентрации.

Имеющиеся результаты трудно сопоставимы, так как они выполнены в неоднородных условиях среды, подопытный материал собирався в различных районах Мирового океана и не принадлежал к одной популяции и даже к одному виду гидробионтов, а также к одной возрастной группе.

Анализ данных литературы показал, что активный хлор обладает в основном, токсическим действием на обрастателей. Для разных видов обрастателей токсические дозы хлора различны.

В зависимости от факторов среды и длительности контакта токсические концентрации, по данным различных авторов, колеблется в широких пределах. Токсический эффект достигается либо путем поражения организмов обрастателей, либо имеет место "эффект отпугивания". Что касается данных о механизме действия хлора на физиологические параметры различных обрастателей, то они фрагментарны и носят предположительный характер. Данные о влиянии на биохимический состав и внешнеметаболические реакции обрастателей и их сообщества в доступной литературе отсутствуют.

В связи с этим необходимо осуществить системное изучение реакций гидробионтов различных уровней организации и жизненных форм на действие активного хлора.

Глава 2. Материалы и методы

В отечественной и зарубежной литературе отсутствуют методические рекомендации для работ, посвященных экологической оценке

средств защиты от обрастания, поэтому для решения сформированных выше задач был выбран широкий комплекс биологических объектов и методов определения их реакций на действие активного хлора (табл. I).

Таблица I

Объекты исследований и контролируемые показатели

Объекты исследований	Контролируемые показатели
Гетеротрофные бактерии морской воды и перифитона.	Видовой состав, численность, физиолого-биохимические характеристики.
Массовые виды обрастателей:	
I. Планктонные формы (науплиусы и циприсы баянусов, трохофоры мидий);	Общее состояние (состояние покровных тканей, подвижность, чувствительность к механическим воздействиям), выживаемость, физиологические характеристики (фотосинтез, дыхание), экзосметаболиты (углеводы, нингидринположительные вещества, аммоний), биохимический состав (каротиноиды, свободные нуклеотиды, ДНК, РНК, белок, углеводы, липиды).
II. Прикрепленные формы (гидроиды, баянусы, мидии, мшанки, ботриалосы, макрофиты).	
Сообщество перифитонных микроорганизмов	Общее состояние, видовой состав, численность, биомасса, потребление O_2 , экзосметаболиты (углеводы, нингидринположительные вещества, аммоний).
Сообщество перифитонных макроорганизмов	Общее состояние, видовой состав, численность, биомасса.

Были поставлены лабораторные и натурные эксперименты, в ходе которых выполнены гидрохимические определения, микробиологические, токсикологические и гидробиологические исследования, биохимический анализ. Изучали влияние активного хлора на гидробионтов и среду их обитания в диапазоне концентраций 0,1-700 мг/л

Поскольку наивысшая опасность обрастания существует в весен-

не-осенний период интенсивного размножения обрастателей, лабораторные и натурные эксперименты проводились, в основном, с мая по сентябрь в течение 1981-1987 гг. Температура морской воды при этом изменялась в диапазоне 15-24°C.

Материалом для настоящих исследований служили представители различных групп гидробионтов, включая продуцентов, консументов и редуцентов, а также их различные жизненные формы (планктонные и прикрепленные). Планктонные формы гидробионтов отлавливали сетью Джеди. Гидробионтов прикрепленной стадии (микро- и макро-обрастание) выращивали в естественных условиях моря на стеклянных пластинках, погруженных на глубину 1,5 м от зеркала воды.

Активный хлор получали методом бездиафрагменного электролиза морской воды на нерастворимых электродах.

Лабораторные исследования проводились на базе Института биологии южных морей АН УССР и Черноморского филиала ЦНИИ технологии судостроения (ЧФ ЦНИИ ТС). Натурный эксперимент проводился в Севастопольской бухте в акватории стенда ЧФ ЦНИИ ТС.

Глава 3. Характеристика основных физико-химических показателей среды в присутствии активного хлора

Изучали динамику параметров среды в зависимости от концентрации активного хлора. Контролировали содержание кислорода, растворенного органического вещества, жесткость и активную реакцию среды.

Продукты электролиза быстро разлагаются и превращаются в компоненты, обычно содержащиеся в морской воде. При характерных величинах pH морской воды ($8,0 \pm 0,5$) основными составляющими активного хлора являются гипохлорит-ион и хлорноватистая кислота (Щербатова и др., 1987). Установлено, что достоверные изменения величин контролируемых показателей имеют место при концентрации активного хлора более 2 мг/л (рис.1). Замечено, что pH морской воды практически не зависит от дозы содержащегося в ней реагента, что объясняется, видимо, сильной забуферностью электролита и способностью продуктов электролиза разлагаться с образованием исходных компонентов - ионов Na^+ , Cl^- и H_2O . Наблюдающаяся тенденция изменения величины окислительно-восстановительного потенциала свидетельствует о возрастании окислительной способности среды. Однако, наличие щелочных продуктов электролиза препятствует пропорциональному росту Eh . С увеличением

концентрации активного хлора увеличивается содержание растворенного кислорода. Механизм этого процесса легко объясняется с позиций теории электролиза. Изменения концентрации реагента и солености разнонаправлены, но не пропорциональны по причине нестойкости продуктов электролиза, а также за счет процессов самоокисления-самовосстановления, характерных для соединений, объединяемых понятием активный хлор. Одновременно с перечисленными

выше показателями проводили замеры РОВ. Величина этого показателя существенно возрастает с увеличением концентрации продуктов электролиза. Одинаковый характер изменений для фильтрованных и нефилтрованных проб исключает возможность объяснения этого факта присутствием в воде организмов планктона и других крупных частиц органического происхождения. Биохимические анализы показали, что одновременно с ростом величины РОВ увеличивается содержание углеводов и НПВ. Эти изменения представляются закономерными с позиций механизма действия активного хлора на одноклеточные организмы. В силу своей термодинамической неустойчивости и высокой окислительной способности компоненты активного хлора не накапливаются в тканях гидробионтов, а сразу же взаимодействуют с ними, т.е. являются ядами не кумулятивного, а контактного действия. Видимо при окислении органических соединений клеточной оболочки изменяется конформация молекул, составляющих ее, нарушается целостность, форма и размеры пор, что способствует не только дальнейшему проникновению хлора в клетку, но и выходу ее содержимого наружу. Таким образом, на наш взгляд, происходит увеличение количества растворенной органики в морской воде, подвергшейся электролизу. В известной мере величина показателя может возрастать

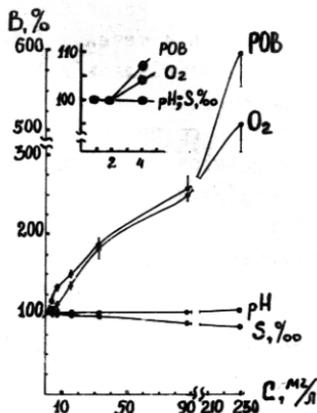


Рис. I. Изменение физико-химических характеристик морской воды (% от контроля) при ее электролизе.

тать и за счет гидролиза макромолекул РОВ под влиянием активного хлора.

Следует подчеркнуть, что описанные сдвиги и тенденции начинают проявляться при концентрациях реагента выше защитной.

Глава 4. Влияние активного хлора на сообщество перифитонных микроорганизмов (СПМ) и массовые виды гидробионтов его образующих.

Роль микроперифитона в экосистеме моря многогранна (Горбенко, 1977; 1985). СПМ объединяет в себе гидробионтов различных трофических групп: продуцентов, редуцентов, консументов. Поэтому нами были проведены специальные исследования по определению влияния активного хлора на сообщество микроперифитона и массовые виды гидробионтов его образующих (рис. 2).

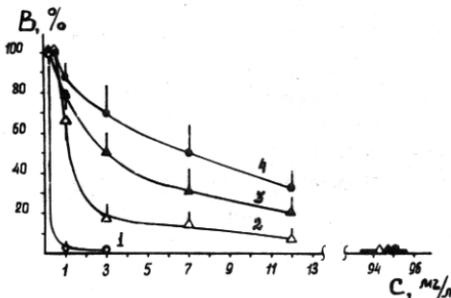


Рис. 2. Изменение численности гетеротрофных бактерий (% от контроля) в зависимости от концентрации активного хлора (АХл).

1 — Морская вода, время воздействия 10 мин. Смыть с пластины, время воздействия: 2 — 1ч; 3 — 30 мин; 4 — 10 мин.

гетеротрофных бактерий, которые после видового определения были отнесены к родам *Vacillus*, *Micrococcus*, *Pseudomonas* и *Vibrio*. Получено, что наивысшую устойчивость к действию реагента проявляют бактерии (палочки и кокки), способные изолироваться в неблагоприятных условиях среды. Среди них спороносные рода *Vacill-*

Установлено, что среди гидробионтов, формирующих СПМ, устойчивость к действию активного хлора возрастает в ряду: нематоды — полихеты — инфузории — саркодовые — диатомовые — бактерии.

Проведено ранжирование гетеротрофных бактерий по их устойчивости к действию активного хлора (АХл). С поверхности стеклянных пластин и из морской воды после обработки их активным хлором было выделено 23 культуры ге-

лиз и слизиобразующие бактерии рода *Micrococcus*. Установлено, что полная стерилизация морской воды обеспечивается при концентрации биоцида 3 мг/л. Концентрация 1,0 - 1,5 мг/л также обеспечивает высокий эффект защиты (до 95%), при этом прошедшая через электролизер вода значительно не отличается от исходной по основным гидрохимическим показателям (гл. 2). Выяснено, что при предотвращении микрообрастания механизм защитного действия состоит в уничтожении планктонной микрофлоры, способной образовывать пленку микрообрастания. Полная стерилизация уже сформированного микрообрастания обеспечивается значительно более высокими концентрациями, так как гетеротрофы в сообществе защищены от воздействия неблагоприятного фактора слизью, карбонатами, выделениями и биомассой других организмов сообщества.

Глава 5. Резистентность планктонных и прикрепленных форм макрообрастателей к действию активного хлора.

В настоящей главе диссертационной работы рассматриваются следующие вопросы:

- действие защитных доз АХл (1,0-1,5 мг/л) на планктонные и прикрепленные формы обрастателей и механизм предотвращения макрообрастания этими дозами биоцида;

- резистентность планктонных и прикрепленных форм обрастателей к активному хлору в концентрациях, превышающих защитные и механизм их действия;

- подавление роста двенильных баянусов высокими концентрациями АХл. Прикладные аспекты.

Основным объектом исследований в опытах этой серии были баянусы (планктонные и прикрепленные формы), которые как и мидии за счет их морфофизиологических особенностей проявляют наивысшую резистентность к действию известных средств защиты от обрастания, в том числе и к активному хлору (Гуревич и др., 1989). Баянусы, кроме того, более интенсивно заселяют антропогенный субстрат на ранних этапах формирования сообщества обрастаний, а их личиночные формы практически круглогодично встречаются в планктоне, в водах Мирового океана они распространены повсеместно. В периоды же массового размножения эти гидробионты составляют значительную долю планктона, не являясь тупиковой ветвью в пищевых цепях, а взрослые формы мидий и баянусов играют исключительно важную роль в функционировании прибрежных экосистем

моря.

Нами установлено, что концентрации активного хлора, применяемые для защиты от обрастания внутренних поверхностей водоводов и теплообменных аппаратов (1,0-1,5 мг/л) в реальных условиях не вызывает гибель личиночных форм этих гидробионтов. Гибель науплиусов, циприсов и ювенильных баянусов при контакте с этой дозой начинается при экспозиции на порядок и более превышающей реальное время контакта на защищаемом объекте, которое в среднем составляет от 10 до 30 мин. Механизм защитного действия в этом диапазоне концентраций состоит не в уничтожении, а в отпугивании личинок. Гибель ювенильных форм баянусов возрастом 1-3 суток наблюдается после 5-7 суток воздействия.

В результате изучения резистентности планктонных и прикрепленных форм баянусов к действию активного хлора в концентрациях, превышающих защитные, установлено, что минимальное время воздействия, при котором процент гибели личинок в опыте достоверно превышает этот показатель в контроле, составляет 0,5 ч (табл. 2). Характер двигательных реакций личинок в опыте зависел в большей мере от концентрации реагента, чем от времени контакта и изменялся от нормы (при концентрации до 10 мг/л и времени воздействия до 3 ч) до полного моментального прекращения движения при концентрации 60 мг/л и выше. В опытах с прикрепленными формами воздействию подвергались животные различных возрастных групп: от прикрепившихся циприсов (0,1 сут.) до 5-суточных баянусов. Основным показателем состояния животных в опыте и контроле являлся темп роста основания домика. В различных сочетаниях факторов С и Т

Таблица 2
Параметры воздействия, обеспечивающие достоверное различие гибели личинок в опыте и контроле

№	Концентрация, мг/л (С)	Время воздействия, (Т)
1	1,5	3,5 ч
2	3,0	0,5 ч
3	5,0	0,1 ч
4	10,0	60 с
5	20,0	10 с
6	60,0	5 с
7	110,0	1 с
8	220,0	1 с

эффект действия проявлялся в широком диапазоне реакций - от стимулирования до гибели организмов (табл. 3). Эффект стимулирования роста мы объясняем стерилизацией внутренней полости доми-

Таблица 3

Влияние активного хлора на ювенильные формы балянусов в зависимости от их возраста и длительности воздействия

Возраст балянусов, сут.	Концентрация, мг/л								
	20			100			250		
	Время контакта, ч								
	2	5	15	1	2	5	1	2	5
0,3 (циприсы)	СТ	СТ	УГ	УГ→СТ	ГИБ	ГИБ	ГИБ	ГИБ	ГИБ
1	СТ	СТ	УГ	УГ→СТ	ГИБ	ГИБ	ГИБ	ГИБ	ГИБ
2	СТ	СТ	УГ→К	СТ	ГИБ	ГИБ	СТ	ГИБ	ГИБ
3	СТ	СТ	УГ→К	СТ	ГИБ	ГИБ	СТ	ГИБ	ГИБ
4	СТ	СТ	УГ→К	СТ	УГ	ГИБ	СТ	УГ	ГИБ
5	СТ	СТ	УГ→К	СТ	УГ	ГИБ	СТ	УГ	ГИБ

СТ - стимулирование; УГ - угнетение; ГИБ - гибель; УГ→К - временное угнетение, приближение к контролю; УГ→СТ - временное угнетение, переходящее в стимулирование.

ков и выработкой у гидробионтов стрессовых белков, как ответной реакции на действие хлора (гл.7). Видимо это объяснение не вскрывает механизм стимулирования ростовых процессов полностью.

Проведенные исследования нашли практическое применение. Известно, что на практике возникают ситуации, когда нарушается режим работы системы защиты и происходит оседание личинок на внутренних поверхностях теплообменных аппаратов. После включения электролизера очищения защищаемой поверхности от обрастания не происходит, поскольку используемый на практике режим защиты (защитная концентрация АХл 1,0-1,5 мг/л) рассчитан на предупреждение возникновения обрастания, а не на устранение уже возникшего. В настоящее время последствия сбоев режима защиты устраняются за счет внеплановых ремонтов, демонтажа и механической очистки оборудования. Нами разработаны рекомендации и подана заявка в Госкомитет о способе подавления развития и устранения уже возникшего обрастания.

Установлено, что для подавления роста балянусов возрастом до

3 суток эффективным и экономичным является режим обработки $C = 100$ мг/л в течение 2 час. Гибель баянусов возрастом до 5 сут. обеспечивается при той же концентрации в течение 5 часов.

Механизм устранения возникшего обрастания состоит в нарушении хлором хитиновых и известковых элементов покровов ивевильных баянусов, а также в ослаблении их связи с субстратом, что приводит к отрыву домиков потоком воды.

Глава 6. Формирование сообщества морского обрастания в зоне распространения хлорированных вод.

При защите от обрастания способом электролизного хлорирования вода, содержащая активный хлор, поступает в море. Ее воздействие испытывают на себе все гидробионты в районе сброса, но основной пресс приходится на прикрепленные формы, заселяющие естественные субстраты. Сообщество перифитонных организмов является производным бентоса, что, на наш взгляд, позволяет отнести результаты натурного эксперимента, изложенные в этой главе, на сообщества естественных субстратов. Изучалось влияние сброса хлорированных вод на процесс формирования сообщества морского макрообрастания в естественных условиях и определения степени токсичности АХл для массовых видов обрастателей. Испытания проводились в море на различном удалении от точки сброса хлорированных вод, объем которых составлял 14 тыс. м³ в месяц при концентрации активного хлора 30-40 мг/л. Хлорное облако распространялось в прибрежной зоне, при этом концентрация уменьшалась с 8,0 до 0,0 мг/л. Процесс формирования сообщества изучался на стеклянных пластинах, первая группа которых находилась на расстоянии одного метра от точки сброса, десятая - на расстоянии 20 м., контрольная - 40 м.

Анализ показал, что процесс формирования сообщества, его видовой состав и биомасса находятся в непосредственной зависимости от концентрации активного хлора. В районе распространения хлорного облака наблюдаются отклонения в процессе формирования сообщества, что проявлялось в полном или частичном (в зависимости от концентрации в точке контроля) отсутствии фазы слизистой пленки. Фаза формирования биоценоза обрастания отличалась тем, что оседание личинок было менее интенсивным и более однородным по составу в сравнении с контролем. В целом, с удалением от источника биоцида, биомасса обрастания изменялась, возрастая от

Влияние активного хлора ($\text{мг} \cdot \text{л}^{-1}$) на динамику численности ($\text{экз} \cdot \text{м}^{-2}$) и биомассу ($\text{г} \cdot \text{м}^{-2}$) организмов сообщества микроорганизмов (х)

№ экспе- римента- льной точки	Концентрация активного хлора		Представители сообщества обростаия							Биомасса	
	сред- няя	диапазон изменения	мидии	бала- нусы	водо- росли	мшанки	гидро- иды	ботрил- лусы	сы- рая	су- хая	
I	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
I	5,0	2,5-8,0	0	0	0	0	0	0	0	0	
2	2,6	0,0-4,0	0	0	0	0	0	0	0	0	
3	1,5	0,0-4,0	13 ± 14	26 ± 15	0	0	0	0	16	16	
4	1,35	0,0-2,7	13 ± 14	66 ± 17	0	0	0	0	92	20	
5	1,0	0,0-2,5	40 ± 11	159 ± 32	3560 ± 469	0	0	0	112	40	
6	0,45	0,0-0,9	53 ± 20	504 ± 39	3560 ± 527	0	0	0	130	48	
7	0,2	0,0-0,4	66 ± 17	999 ± 47	10331 ± 932	0	0	0	126	42	
8	0,13	0,0-0,26	80 ± 19	1026 ± 73	28933 ± 1282	66 ± 24	0	0	128	46	
9	0,05	0,0-0,1	105 ± 18	1120 ± 28	35066 ± 1865	107 ± 27	0	0	128	46	
10	0,0	0,0-0,05	160 ± 18	1893 ± 99	49066 ± 1282	147 ± 28	0	0	122	40	
11	0,0	0,0	370 ± 64	4746 ± 348	146799 ± 838	320 ± 76	120 ± 28	8666 ± 1064	1085	368	

х) Численность в течение одного месяца, биомасса - трех месяцев экспонирования образцов в море.

0,0 до 368 г/м² (сухой вес). Среди основных видов макрообрас- телей устойчивость к действию АХл возрастает в ряду: ботриллусы, гидроида - мшанки - водоросли - балянусы, мидии. При концен- трациях реагента ниже 0,5 мг/л наблюдалась тенденция стимулиро- вания роста сообщества, что и проявилось на биомассе (табл. 4). Такая последовательность гидробионтов в ряду определяется их морфофизиологическими особенностями. Выявлено, что ботриллусы и гидроида не развиваются на субстрате даже в присутствии следо- вых концентраций активного хлора и естественно предположить, что в районах сброса больших объемов хлорированных вод в аква- тории распространения хлорного облака произойдут изменения в составе и соотношении основных видов обростателей на естествен- ных субстратах. Полученные результаты свидетельствуют, что пол- ноценное воспроизведение сообщества обростаний, равно и бенто- са, в естественных условиях моря может происходить лишь при полном отсутствии активного хлора. В то же время, сброс хлори- рованных стоков в эксперименте соответствовал параметрам реаль- ных потребителей. Его влияние зафиксировано на расстоянии до 40 м. от точки сброса, что, очевидно, не может сказаться на функци- онировании всей прибрежной экосистемы водоема. Поэтому при ре- шении практических задач следует учитывать (прогнозировать) размеры и значимость возможного отрицательного действия в масш- табах морского водоема или его части.

Глава 7. Физиолого-биохимические реакции обростания в услови- ях стресса, вызванного активным хлором

7.1. Адаптации макрообрасателей к действию активного хлора на уровне биохимического состава мягких тканей

Настоящие исследования проведены с целью определения возмож- ности использования отдельных видов обростателей в качестве тест-объектов при осуществлении программы биомониторинга и эф- фективности использования биохимических показателей для оценки степени влияния продуктов электролиза морской воды на гидроби- онтов. Материалом служили массовые виды сообщества обростания мидии и ботриллусы. Выбор объектов исследований обусловлен тем, что среди макрообрасателей мидии проявляют наибольшую, а бот- риллусы - наименьшую устойчивость к действию данного биоцида. Опыты проводились в условиях моря (натурный эксперимент). Адап- тационные изменения учитывались по 8 показателям (каротиноиды,

свободные нуклеотиды, ДНК, РНК, гликоген, углеводы, белок, липиды) в диапазоне концентраций 1,0-5,0 мг/л в остром, и от следовых концентраций до 0,5 мг/л в хроническом опыте. При этом у моллюсков проявились различия в характере изменения биохимического состава мягких тканей.

В остром опыте (С=1,0 - 1,5 мг/л) достоверно увеличивалось содержание информационных макромолекул (белка, РНК, ДНК), что полностью согласуется с представлениями о стрессовых белках и в определенной мере объясняет механизм стимулирования ростовых процессов баянусов (рис.3).

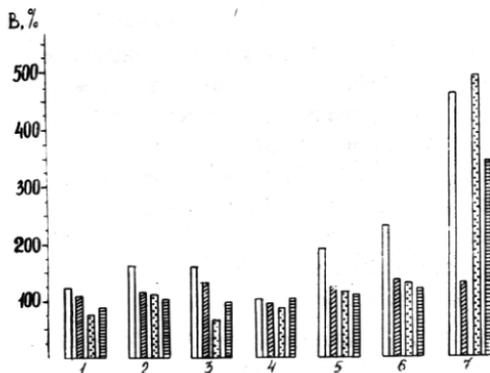


Рис.3. Изменение биохимического состава тканей мидий (% от контроля) в остром опыте (воздействие 7 суток, восстановление 7 суток)

1- каротиноиды; 2- свободные нуклеотиды; 3- гликоген; 4- углеводы; 5- белок; 6- РНК; 7- ДНК;

Концентрация 1,0-1,5 мг/л: □ - восстановление,

▨ - воздействие + восстановление

Концентрация 4,0-5,0 мг/л: ▤ - воздействие,

▥ - воздействие + восстановление

В хроническом опыте зафиксировано понижение содержания углеводов и, в частности, гликогена. Поскольку именно эти компонен-

ты являются основным энергетическим субстратом моллюсков в период созревания половых продуктов (Горомосова, Шапиро, 1984), то снижение их содержания ослабит энергетическую базу гаметогенеза, что скажется как на первом так и на последующих поколениях популяции.

Независимо от длительности экспозиции и величины концентрации АХл у мидий и ботриллусов содержание липидов в тканях достоверно снижалось, что и позволило остановиться на этом показателе для дальнейших исследований. В качестве тест-объекта нами были выбраны мидии, поскольку незащищенные ткани ботриллусов легко разрушаются в присутствии активного хлора, теряя клеточное содержимое, а следовательно, затрудняя достоверную оценку истинно метаболических изменений.

Дальнейшие работы с одно- и разноразмерными мидиями показали, что интенсивность катаболизма липидов является функцией концентрации, времени контакта и возраста моллюсков. Причем, зависимость между величиной окисленных липидов и возрастом - обратнопропорциональна (рис. 4, 5). Таким образом, на молекулярном уровне механизм действия активного хлора состоит в изменении соотношения основных органических компонентов мягких тканей. При всех сочетаниях действующих факторов достоверно уменьшается содержание липидов.

7.2. Метаболические реакции перифитона на действие активного хлора

В настоящем разделе диссертации обсуждаются результаты изучения метаболического отклика сообщества перифитонных организмов, а также мидий и ботриллусов на действие остаточных концентраций активного хлора.

Метаболические реакции гидробионтов на изменение параметров среды являются естественными приспособительными реакциями к меняющимся условиям существования (Хочачка, Сомеро, 1977).

В настоящее время защита водоводов и теплообменного оборудования осуществляется в периодическом режиме по А.С. ИЮ719 (Якубенко, Валуев и др., 1985). В конструкцию подается раствор АХл концентрацией 1,0-1,5 мг/л, который затем сбрасывается в море. Концентрация биоцида при этом быстро снижается как за счет разбавления чистой морской водой, так и за счет окисления растворенной органики. При этом сообщества гидробионтов естест-

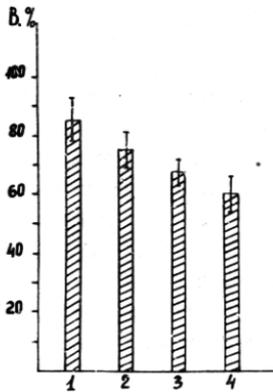


Рис. 4. Изменение содержания липидов (% от контроля) в тканях разноразмерных мидий под влиянием активного хлора (концентрация 2,0-3,0 мг/л; время воздействия 2 суток). Размерные группы мидий, мм: 1 - 31-38; 2 - 39-45; 3 - 46-50; 4 - 51-57.

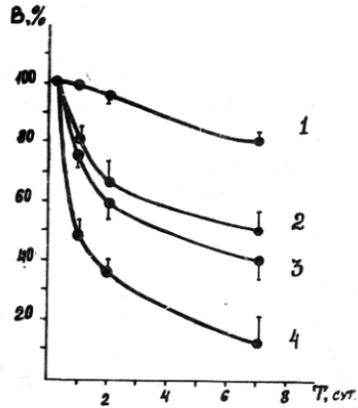


Рис. 5. Изменение содержания липидов (% от контроля) в теле мидий (размерная группа 35-45 мм) в зависимости от концентрации активного хлора (С мг/л) и времени контакта с ним (Т, сутки). Концентрация АХл мг/л: 1 - 0,5; 2 - 1,0-1,5; 3 - 2,5-3,0; 4 - 4,0-5,0.

венных субстратов подвергаются воздействию остаточных концентраций активного хлора.

Опыты проводили при концентрации АХл 0,6-0,9 мг/л и времени воздействия 1-4 часа с последующим перерывом 3-5 часов. Затем воздействие возобновлялось. В эксперименте контролировали следующие показатели морской воды: аммоний, углеводы, нингидринположительные вещества (НПВ), а также суммарное растворенное органическое вещество (РОВ), рН, O_2 .

Контроль экскреции метаболитов позволил уловить первые (более тонкие, чем выживаемость и изменение биохимического состава тканей) реакции гидробионтов на действие биоцида. При изучении метаболического отклика 15 дневного сообщества перифитона установлено, что под влиянием активного хлора в первую очередь происходят изменения в углеводном обмене, при этом выделительная функция сообщества подавляется.

В опытах с ботриллусами проявилась тенденция к снижению экскреции НПВ и аммония в окружающую среду. Уменьшение экскреции конечного продукта белкового обмена является следствием активации процессов тканевой утилизации аммония (Таможняя, 1985).

Реакция моллюсков на действие активного хлора изучалась на разновозрастных мидиях. В этих опытах, как и во всех вышеописанных, мидии проявили наивысшую устойчивость к действию АХл. В основе устойчивости моллюсков к стрессу лежит высокое содержание углеводов в тканях и своеобразные пути их утилизации (Бобкова, 1984; Горомосова, Шапиро, 1983). На фоне незначительных колебаний уровня O_2 и содержания РОВ в целом, наблюдалась тенденция к увеличению экскреции углеводов и НПВ у моллюсков старшей размерно-возрастной группы (39-48 мм), тогда как в опытах с мидиями других размерных групп (29-36 и 23-28 мм) отмечено потребление углеводов. Вероятно, разнонаправленность изменений содержания фиксируемых метаболитов после воздействия АХл у разновозрастных мидий объясняется их различными физиологическим состоянием, в частности, степенью зрелости гонад.

7.3. Физиологические реакции перифитона на действие активного хлора

Дыхание аэробных гидробионтов (уровень потребления кислорода) является одной из существенных и доступных характеристик их энергетического обмена. В опытах с ботриллусами, мидиями и СПМ нами установлено, что при воздействии АХл (концентрация 0,6-10,0 время воздействия 1-24 ч) способность биоленки и оболочников потреблять кислород снижается вдвое. У моллюсков после обработки остаточными концентрациями (менее 1,0 мг/л) наблюдается тенденция к активации аэробного дыхания. При обработке более высокими дозами биоцида мидии переходили на анаэробное дыхание, основным субстратом для которого в условиях стресса служит гликоген (Горомосова, Шапиро, 1983).

Существенный интерес представляло выявить влияние активного хлора на массовые виды макрофитов, являющихся важным компонентом литоральных экосистем и наряду с другими гидробионтами формирующими сообщества обрастаний антропогенных субстратов. При изучении формирования сообщества макрообрастания в условиях моря в районе сброса хлорированных вод было установлено, что макрофиты включаются в сообщество при условии, когда концентрация активного хлора изменяется в диапазоне 0,0-2,5 мг/л при среднем

значении концентрации АХл 1,0 мг/л. В ряду устойчивости макрообрастателей они проявляют более высокую устойчивость, чем бриллиусы, гидроида и мшанки, и меньшую, чем мидии и балянусы. Спыты по определению изменения фотосинтетической способности в присутствии активного хлора проводили на зеленых (род Энтероморфа и Бриопсис) и красных (род Церрамиум) водорослях. (рис. 6.). Установлено, что интенсивность фотосинтеза при прочих равных условиях определяется концентрацией и временем воздействия реагента.

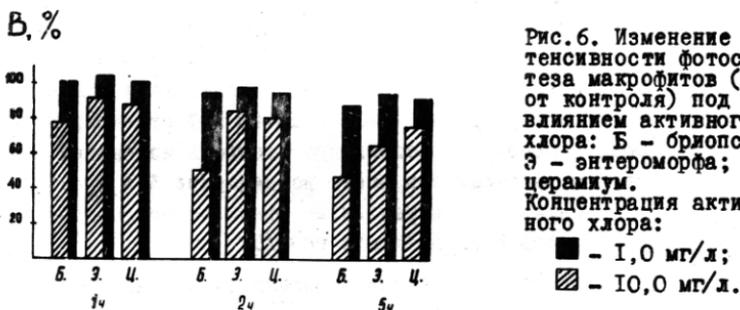


Рис. 6. Изменение интенсивности фотосинтеза макрофитов (% от контроля) под влиянием активного хлора: Б - бриопсис; Э - энтероморфа; Ц - церрамиум. Концентрация активного хлора:

■ - 1,0 мг/л;
 ▨ - 10,0 мг/л.

При минимальной нагрузке в опыте проявилась тенденция к увеличению фотосинтетической активности. При других сочетаниях действующих факторов реакция проявлялась в ее снижении. С увеличением антропогенной нагрузки наблюдали обесцвечивание талломов макрофитов, что свидетельствовало о разрушении их пигментов. Активный хлор, как и продуцируемый макрофитами атомарный кислород является сильным окислителем. Макрофиты остаются индифферентны к нему менее чем 2 ч при концентрации 1 мг/л и менее 1 ч при концентрации 10 мг/л. Для концентрации 10 мг/л угнетение фотосинтеза во всех опытах было достоверным (статистическая обработка проводилась по \bar{t} -критерию Стьюдента). Наименьшая устойчивость к действию АХл отмечена у водорослей рода Бриопсис. Наивысшая - у энтероморфы.

Заключение

Результатом проведенных работ явилось выявление реакции высших видов макро- и микробрастателей, а также их сообществ на действие активного хлора, поступающего в море при защите от обрастания способом электролизного хлорирования морской воды. Установлено, что при стрессе, вызванном АХл реакция проявляется на различных уровнях организации: молекулярном, организменном (популяционном) и на уровне сообщества. При этом ответные реакции обеспечиваются адаптациями широкого спектра физиолого-биохимических процессов на организменном уровне, которые, в свою очередь, определяют изменения качественных и количественных характеристик сообщества обрастаний.

Проведение исследований на широком спектре объектов различных жизненных форм - планктон и перифитон (бентос), представляющих продуцентов, консументов и редуцентов, позволило в целом установить механизм действия АХл, определить тест-объекты и достоверные показатели хлорного стресса. Выявлено, что для продуцентов, консументов и редуцентов (на уровне сообщества) защитные концентрации активного хлора не являются остротоксичными, а при определенных условиях (кратковременное воздействие) наблюдается эффект стимулирования ряда физиолого-биохимических процессов.

Анализ полученных результатов позволяет сделать вывод о возможности применения АХл в концентрациях менее 2 мг/л (при его хроническом поступлении в море) для защиты от обрастания, однако, при решении практических задач необходимо прогнозировать зону распространения реагента и значимость возможных структурно-функциональных изменений в масштабах морского водоема.

Выводы

1. Присутствие активного хлора в морской воде влияет на качественные и количественные характеристики сообщества обрастаний. Полноценное воспроизведение сообщества может происходить лишь при полном его отсутствии.

2. Среди массовых видов гидробионтов, формирующих сообщество обрастания, устойчивость к воздействию активного хлора возрастает в ряду: нематоды < полихеты < инфузории < саркодовые < диатомовые < бактерии < обитрилюсы, гидроида < мшанки < макрофиты < мидии, баянусы. В качестве тест-объекта хлорного стресса

целесообразно использовать мидии.

3. Физиолого-биохимический отклик гидробионтов и их сообществ на действие АХл проявляется в изменении газообмена, внешнего метаболизма и состава мягких тканей.

Содержание липидов в тканях мидий является чувствительным и статистически достоверным показателем, который может быть использован в биомониторинге для оценки влияния активного хлора на сообщество обрастателей естественных субстратов.

4. Использование активного хлора в качестве средства защиты от обрастания допустимо при его дозах, не превышающих 1,5 мг/л, т.к. в этих условиях:

- не изменяются основные характеристики морской воды,
- эффект защиты достигается за счет создания условий, препятствующих прикреплению личинок к защищаемой поверхности. Хроническое поступление в море активного хлора в концентрациях больших, чем 1,5 мг/л является экологически не целесообразным, т.к. при этом:

- изменяются основные характеристики морской воды,
- эффект защиты достигается за счет гибели личиночных и ювенильных форм организмов обрастателей.

5. Использование высоких концентраций активного хлора возможно лишь при устранении последствий аварийных ситуаций (разовые сбросы).

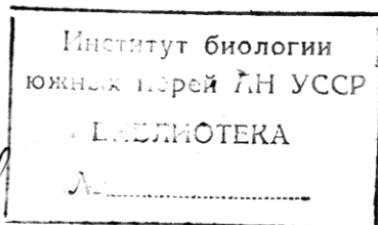
Активный хлор в концентрации 100 мг/л при воздействии 2 ч устраняет обрастание возрастом до 3 сут. При длительности воздействия 5 час. - устраняется трех-пятисуточное обрастание.

Список работ, опубликованных по материалам диссертации

1. К вопросу о влиянии активного хлора на формирование сообщества морского обрастания// Экология моря. -1988. -Вып. 28. -С. 93-97.
2. Влияние активного хлора на науплиусов *Balanus improvisus* /АН УССР Ин-т биологии вж.морей им.А.О.Ковалевского. -Севастополь, 1987. -6с. -Деп. в ВИНТИ 12.05.87. №3472-В87.
3. Влияние активного хлора на сообщество перифитонных микроорганизмов./АН УССР Ин-т биологии вж.морей им.А.О.Ковалевского. -Севастополь, 1987. -13с. -Деп. в ВИНТИ 02.04.87. №2492-В87. (соавторы: Горбенко В.А., Ковальчук В.Л.).

4. К вопросу о механизме предотвращения обрастания *Valanus im-provius* при защите по методу электролизного хлорирования. // Экспериментальная водная токсикология. - Рига, 1987. - Вып. I 2. - С. 245-251. (соавторы: Якубенко А.Р., Шербакова И.Б., Нороха Д.М., Хандога А.Г., Левинцова Т.Г.).
5. Влияние активного хлора на численность микроорганизмов. // III межотрасл. науч.-техн. конф. "Защита судов от коррозии и обрастания": Тез. докл. - Калининград, 1986. - С. 173-174 (ДСП) (соавтор - Ковальчук Ю.Л.).
6. Влияние высоких концентраций активного хлора на ювенильные формы баянусов. // Экология моря. - 1988. - Вып. 31. - С. 77-84.
7. Роль качественной характеристики субстрата в оседании мидий // Сырьевые ресурсы и биологические основы рационального использования промысловых беспозвоночных": Тез. докл. Всесоюз. совещан. 22-24 ноября 1988г. - Владивосток, 1988. - С. 64. (соавтор - Далекая Л.Б.).
8. Изменение биохимического состава тканей мидий и ботриллусов в присутствии активного хлора. // III Всесоюз. конф. по морской биологии: Тез. докл. - Киев, 1988. - Ч. 2. - С. 149.
9. Реакция микроорганизмов морской воды на воздействие активного хлора. Тез. конф. "Проблемы комплексной застройки южного берега Крыма". - Симферополь, 1988. - Т. 2. - С. 57-58. (соавтор - Ковальчук Ю.Л.).
10. К вопросу о влиянии хлорированных стоков морской воды на прибрежные экосистемы. Тез. конф. "Проблемы комплексной застройки южного берега Крыма. - Симферополь, 1988. - Т. 2. - С. 90-92.
11. Резистентность науплиусов баянусов к воздействию активного хлора. // Экология моря. - 1989. - Вып. 34.
12. Контроль качества защиты от обрастания // Межотраслевая науч.-техн. конф. "Защита судов от коррозии и обрастания": Тез. докл. - Л.: Судостроение. - 1989. - 73 с. (соавтор Черкасов М.И.).
13. Экологическая экспертиза средств защиты от обрастания // 4-я Межотраслевая науч.-техн. конф. "Защита судов от коррозии и обрастания": Тез. докл. - Л.: Судостроение. - 1989. - С. 126-127.
14. Положительное решение от 29.08.89. по заявке № 4481370/II Способ защиты конструкций от обрастания морскими организмами (соавтор Валуев В.П.).

15. Положительное решение от 20.12.89. по заявке № 4616457/06
Устройство для автоматического определения момента остано-
новки теплообменного аппарата (соавторы: Черкасов М.И.,
Косторнов А.Г., Горбенко Д.А.).



Подписано к печати 3.04.90 г.

БЯ 03078 Зак. 448р/90

Объем 1,5 п.л. Формат 60 x 84 1/16

Типография СВВМИУ