

ПРОВ 2010

ПРОВ 98

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

На правах рукописи

ЩЕКАТУРИНА ТАТЬЯНА ЛЕОНИДОВНА

УГЛЕВОДОРОДЫ АНТРОПОГЕННОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ
В МОРСКИХ ОРГАНИЗМАХ

03.00.18 - гидробиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Севастополь - 1978

Работа выполнена в Ордена Трудового Красного Знамени
Институт биологии южных морей им. А.О.Ковалевского АН УССР

Научный руководитель - доктор биологических наук

О.Г.МИРОНОВ

Официальные оппоненты: доктор биологических наук,
профессор, член-корр. АН УССР

Ю.П.ЗАЙЦЕВ

доктор биологических наук

В.Н.МАКСИМОВ

Ведущее научно-исследовательское учреждение - Институт Зоологии
Азербайджанской Академии Наук

Защита диссертации состоится "27" сентября 1978 г.,
в "___" часов на заседании специализированного совета, шифр
Д 016.12.01 при Институте биологии южных морей им.
А.О.Ковалевского АН УССР, 335000, г.Севастополь,
проспект Нахимова, 2

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

Автореферат разослан "11" августа 1978 г.

Ученый секретарь специализированного Совета
кандидат биологических наук Т.М.КОНДРАТЬЕВА

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

АКТУАЛЬНОСТЬ ПРОБЛЕМЫ. Углеводороды относятся к незначительным в количественном отношении, но универсальным компонентам морской среды. Они занимают особое место среди органических соединений океана и по своей химической активности находятся между стойкими неорганическими компонентами и более легко окисляющимися органическими веществами, содержащими гетероатомы (например, карбогидраты, жирные кислоты и аминокислоты).

Биологическая роль углеводов до настоящего времени полностью не известна. Считают, что сквален и пристан служат для поддержания плавучести гидробионтов. Указывают на возможную связь между репродуктивным процессом и содержанием олефинов в бентосных и планктонных водорослях (Goungblood et al, 1971). Углеводороды можно использовать как таксономический признак, по их химической природе можно дифференцировать субпопуляции рыб (питание в разных местах обитания обуславливает различный состав в них углеводов) (Blumer et al, 1964; Burns K. and Teal J.M., 1973; Clark, Blumer, 1964; Koons C.B. et al., 1965; Goungblood, Blumer, 1973).

В последнее десятилетие интерес к углеводам в морской среде возрос в связи с нефтяным загрязнением океана. Несмотря на большую значимость углеводов в жизни морской биоты, изучение этих соединений в эколого-биохимическом плане еще не получило достаточного развития и многие аспекты этой проблемы практически не освещены в литературе.

ОСНОВНОЙ ЦЕЛЬЮ НАСТОЯЩИХ ИССЛЕДОВАНИЙ явилось изучение углеводородного состава гидробионтов и его связи с условиями обитания организмов, определение количества биогенных и не-

фтяных*) углеводов и их преобразование в процессе жизнедеятельности гидробионтов, а также после их гибели.

В соответствии с поставленной целью выполнены следующие исследования:

1. Разработана методика, с помощью которой проведено дифференцирование углеводов нефтяного и биогенного происхождения в изучаемых биологических объектах.

2. Проведено определение качественного и количественного состава углеводов в массовых видах гидробионтов Средиземного и Черного морей.

3. Проведено исследование накопления, выведения и преобразования углеводов морскими организмами.

4. Изучена сезонная динамика углеводородного состава черноморских мидий.

5. Изучены процессы деструкции липидно-углеводородного комплекса морских организмов после их гибели.

НАУЧНАЯ НОВИЗНА. Впервые изучен углеводородный состав 24 массовых видов гидробионтов Средиземного и Черного морей. Установлена его связь с липидным содержанием организмов и нефтяным загрязнением морской среды. Разработаны модификации методов дифференцирования биогенных и нефтяных углеводов. Впервые определены сезонные изменения углеводородного содержания мидий, обитающих в акваториях различной степени загрязнения. Определены пути накопления, выведения и преобразования углеводов морскими организмами. Дана качественная и количественная ха-

*) В дальнейшем под термином биогенные или естественные углеводороды будем называть углеводороды, синтезированные морскими организмами в процессе жизнедеятельности, в отличие от нефтяных (искусственных или антропогенных), попавших в морские организмы в результате загрязнения.

рактеристика изменения липидно-углеводородного комплекса морских организмов в процессе их разложения и роль в этом некоторых микроорганизмов.

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ. Полученные данные явились основой для расширения Советского международного проекта, принятого на 2-ом координационном совещании стран-членов СИСМ (Совместное изучение Средиземного моря) и были использованы для составления новых предложений по биологическому мониторингу нефтяного загрязнения морской среды. Кроме того, результаты этой работы могут быть использованы при разработке и совершенствовании систем гидробиологической очистки нефтесодержащих морских вод.

АПРОБАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ РАБОТЫ. Материалы диссертации докладывались на следующих совещаниях:

Материалы диссертации докладывались на следующих совещаниях:

1. Международный симпозиум "Взаимодействие между водой и живым веществом" (Одесса, 1975 г.).
2. Научно-техническая конференция молодых ученых и специалистов города (Севастополь, 1975 г.).
3. Республиканская конференция "Охрана природы и рациональное использование природных ресурсов юга Украины" (Симферополь, 1977 г.).
4. Республиканский семинар "Охрана водной среды" (Севастополь, 1977 г.).
5. Всесоюзное совещание по санитарной гидробиологии "Биоиндикация и самоочищение вод" (Москва, 1977 г.).
6. Всесоюзное совещание по токсикологии "Влияние загрязнителей на морские организмы" (п. Дальние Зеленцы, Мурманской обл., 1978 г.).

ПУБЛИКАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ. По результатам исследования опубликовано 12 научных статей, четыре статьи приняты в печать.

ОБЪЕМ РАБОТЫ. Диссертация изложена на 95 страницах машинописного текста и состоит из введения, литературного обзора, 4 глав, выводов, списка литературы (150 наименований, из них 100 - иностранных авторов). В тексте 28 таблиц и 24 рисунков.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

Работа основана на материале, собранном в Черном и Средиземном морях в 1972-1977 гг.

Содержание углеводов определяли у 24 видов гидробионтов, принадлежащих в систематическом отношении к следующим типам беспозвоночных: губки, черви, членистоногие, моллюски, иглокожие и позвоночным - классу рыб.

В настоящее время для определения углеводов в морских организмах используется сложный комплекс методических приемов, который до конца не разработан. При дифференцировании биогенных углеводов и углеводов нефти возникают определенные трудности. Однако установлено, что диапазон углеводов нефти и морских организмов перекрывается лишь частично. Нефть содержит смесь углеводов с большим диапазоном молекулярных весов и структур (Farrington, Meyers, 1973). В основу наших химических методов положены материалы Фаррингтона и Мейса (Farrington, Meyers, 1975) и собственные разработки.

Собранные организмы тщательно очищали и отмывали в чистой морской воде, затем гомогенизировали до получения однородной

массы. Гомогенат экстрагировали смесь четыреххлористого углерода и этанола в соотношении 2:1. Полученный экстракт отделяли от ткани и упаривали на роторном испарителе при 40°C. Выделение углеводов из липидного экстракта проводили методом колоночной хроматографии. Углеводы как наименее полярные компоненты вымывались гексаном. Для разделения использовалась двойная колонка: силикагель с окисью алюминия 3:1. Соотношение экстракта к адсорбенту составляло 1:50. Силикагель марки АСК, предварительно отмытый от посторонних органических примесей, активировали при 120°C, окись алюминия при 240°C. Оба адсорбента, перед внесением в колонку, дезактивировали 5% количеством воды.

Разделение углеводов на группы (метано-нафтеновые, ароматические и гетероциклические) проводили на микроколонке по методу Жесткова (1969).

Метано-нафтеновую фракцию подвергали дальнейшему анализу для идентификации нормальных и разветвленных алканов на хроматографе "Хром-3" с пламенно-ионизационным детектором. Длина капиллярной колонки 50 м, внутренний диаметр 0,25 мм. В качестве неподвижной фазы использовался 2% апиезон L. Хроматографирование проводили с линейным программированием температуры 2°/мин. В качестве газа-носителя использовался гелий. Анализы проводились старшим инженером отдела морской санитарной гидробиологии Л.А.Мамуковой, которой выражаю глубокую благодарность.

В ароматической фракции некоторых проб определяли индивидуальные вещества методом масс-спектрометрии во ВНИИПНЕФТЕХИМ, в лаборатории спектральных методов исследования (г.Киев).

При определении способности мидий накапливать, выводить и метаболизировать искусственные углеводороды использовали сме-

шанную нефть Кавказских месторождений и дизельное топливо. Выбор различных по своим физическим свойствам загрязнителей обусловлен попыткой выяснить их способность к процессам накопления и выведения. Эксперименты проводили на черноморских мидиях и крабах, как в проточной системе, так и без протока, в зависимости от цели исследования. Отбор продуктов выведения проводили ежедневно и фиксировали четыреххлористым углеродом.

Опыты по трансформации углеводов и липидов гидробионтов в процессе их разложения проводили в нестерильных условиях (в морской воде с естественной микрофлорой) и в стерильных (ткани морских организмов автоклавируют при 1 атм. в течение 20 минут с добавлением культуры нефтеокисляющих микроорганизмов). Параллельно ставили контрольные колбы без добавления микроорганизмов.

Липиды экстрагировали по методу Фолча (Folch et al., 1951). Разделение на фракции проводили методом тонкослойной хроматографии. Использовали силикагель марки КСК. Количественное определение проводили калориметрическим методом, с использованием ФЭК-56. Фосфолипиды анализировали по содержащемуся в них фосфору - методом Фiske-Суббароу (Асатиани, 1953), холестерин и его эфиры - реакцией Либермана-Бурхарда (Прохорова и Тупикова, 1965), незастерифицированные жирные кислоты - методом Хольца (Holtz, 1972), триглицериды - методом Штерн, Шапиро (Прохорова и Тупикова, 1965).

Перед проведением исследований применялся метод планирования экспериментов. Результаты химических определений оценивались по средней величине из 4-5 определений. В некоторых случаях применяли дисперсионный анализ.

I УГЛЕВОДОРОДНЫЙ СОСТАВ ГИДРОБИОНТОВ СРЕДИЗЕМНОГО И ЧЕРНОГО МОРЕЙ

Исследование углеводородного содержания организмов Средиземного моря, результаты которого представлены в табл. I, показывает, что количество углеводов колеблется от 3,4 до 99 мг на 100 г сырого веса. Отмечена прямая зависимость между количеством углеводов организмов, их липидным содержанием, а также загрязненностью районов их обитания. Рыбы с повышенным липидным содержанием (шпрот, барабуля, морской карась) включают значительные количества углеводов и, наоборот, менее жирные - анчоус, сарган, бобс - содержат меньшее количество углеводов. Исключением являются мальки кефали, которые по своему липидному содержанию относятся, в данном случае, ко второй группе рыб, но содержат значительные количества углеводов, что, по-видимому, можно объяснить тем, что эти организмы были собраны в районе с видимым нефтяным загрязнением.

Дальнейшее разделение углеводов на группы микрохроматографическим методом показало присутствие в организмах метано-нафтенных (от 40-80%), ароматических (4-33%) и гетероциклических соединений (7-55%).

Анализ метано-нафтенной фракции методом газо-жидкостной хроматографии показал наличие нормальных и разветвленных алканов, концентрации которых колеблются от 0,01 до 2 мг на 100 г сырого веса. По их качественному и количественному составу некоторые пробы имели явные признаки нефтяного загрязнения: хроматограммы показывали наличие гомологической серии

Состав алифатических углеводородов

Название организмов	Сумма углеводородов, мг/100г сырого веса	Нормальные алканы, мкг/100 г					
		C ₁₀	C ₁₁	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄	C ₁₅
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	99				59,7	215	283
<i>Acmaea virginea</i>	66,0	63,4	63,7	31,7	28,8	55,8	14,4
<i>Chlamys opercularis</i>	6,9					2,8	7,5
<i>Loligo vulgaris</i>	18,7			9,4	7,5	10,3	27,8
<i>Paracentrotus lividus</i>	14					2,2	3,7
<i>Cucumaria</i> sp.	7,6					1,7	1,6
<i>Palaemon elegans</i>	8,7			6,3	4,2	5,2	12,5
<i>Garcinides maenas</i>	3,4	1,9	0,8	0,3	0,5	0,5	1,0
<i>Ophitrix fragilis</i>	11,5			4,1	5,1	3,1	6,2
<i>Sprattus sprattus phalericus</i>	90,2	32	40		25,6	38,4	483
<i>Mullus</i> sp.	64,5						2
<i>Sparidae</i> sp.	32,5						33,4
<i>Mugil</i> sp.	31,5			13,2	35,1	68	104,2
<i>Engraulis encrasicolus</i>	26				7,3	232	16
<i>ponticus</i>					3,7	4,4	51,5
<i>Belone belone</i>	15,2				2,8	5,4	12
<i>Boops boops</i>	17,2						

Таблица I

некоторых организмов Средиземного моря

сырого веса				Разветвленные алканы, мкг/100г сырого веса								Сумма нормальных и разветвленных алканов, мг/100 г сырого веса	Количество липидов, мг %
C ₁₆	C ₁₇	C ₁₈	C ₁₉	C ₁₄	C ₁₅	C ₁₆	C ₁₇	C ₁₈	C ₁₉	C ₂₀			
359	198	267	108		79,5	223	319	95,5	47,5	79,5		2,33	793
34,6	43,2	20,2			34,6				14,4			0,40	507
	2,8	29,2										0,04	343
11,3	20,7	18,8			4,7	6,6		7,5	18,8			0,14	279
3,7	13,4	1,4							2,9			0,03	631
1,9	2,6	1,8	11,5			1,6			2,6			0,02	395
10,4	3,1		44,7					11,5				0,09	401
0,8	3,3								1,2			0,01	275
5,1	5,1	9,7			2,6	3,6	2,6			13,8		0,06	-
54,4	262	32							391			1,35	2151
4	4,8	2,8	10,4						7,2			0,03	1665
20	18,4	11,7							65,1			0,18	1772
93,2	133,8	68,6	32,9	7,7	19,8	25,2	16,4	37	84,4			0,75	1025
160	24,8	6,4							11,4	5,8		0,47	1314
3,7	7,3						7,3	18,3				0,10	1028
5,8	8	10	10,4					4				0,06	421

нормальных алканов, изопреноидов (например, пробы мидий, мальков кефали, кальмаров, офиур) и низкокипящих алканов $C_{11}-C_{12}$ (пробы блюдечек, крабов), что не характерно для биогенных углеводов. Коэффициент CPI (отношение углеводов с нечетным числом атомов углерода к четным) для этих проб приближается к 1, либо показывает слабое преобладание углеводов с нечетным числом атомов углерода. Отношение C_{17} /пристан для большинства проб больше 1.

Масс-спектрометрические исследования показали наличие в этих пробах моно-, ди-, три- и тетрациклических нафтеннов, а также ароматических соединений, не характерных для биогенных углеводов (Clark, Finley, 1973; Farrington et al, 1973).

Известно, что углеводороды нефти, попадая в организм, по-разному распределяются в теле гидробионтов. В этой связи исследовали углеводородный состав органов и тканей некоторых рыб Средиземноморья (табл. 2). Концентрации алифатических углеводородов в исследуемых органах составляют 0,01-0,3 мг на 100 г сырой ткани. Наибольшее количество углеводородов отмечено в печени и кишечнике, что согласуется с данными некоторых авторов, что у рыб основным местом накопления углеводородов является печень и желчный пузырь (Inputs fates and the effects in marine environment, 1975). Значительные концентрации углеводородов в голове скумбрии, вероятно, связаны с ее повышенным липидным содержанием. Состав алифатических углеводородов этих проб характерен для углеводов биогенного происхождения - отмечается наличие трех максимумов при C_{15} , C_{17} , C_{19} и в значительных количествах, в донных рыбах - мерлузе и акуле - обнаружен пристан. Преобладание пента-

Таблица 2

Количество углеводов и липидов в органах некоторых рыб Средиземного моря

Исследуемый материал	Количество углеводов, мг %	Алканы в мкг/100 г сырого веса										алканов, мг %	Количество липидов, мг %
		C ₁₁	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄	C ₁₅	C ₁₆	C ₁₇	C ₁₈	C ₁₉	C ₁₉		
<i>Squalis ascan-tias</i> (L.)	печень	15,4				41	11,6	56,7		9	19,3	0,13	3761
	гонады	5,3			2	4,8	5,6	6,8	3,2	15,5	8,7	0,05	1017
<i>Merluccius merluccius</i> (L.)	голова	-		6,6	2,9	6,6	2,8	10			4,5	0,03	966
	туловище	-			2	10	1,6	3,2	5,6		14,4	0,03	449
	печень	-			16,8	177	16	41			72	0,31	2879
<i>Scomber scomber</i> (L.)	кишечник	16,8				2,3	13,8	3,2				0,02	299
	голова	24,6					12,9	19,2				0,03	2920
	туловище	19,2					2,5	16,1	13,6			0,03	1960
	печень	64,8	11,6	12,2	13,9	18,6	73,3	14,9	28,2			0,17	1024
<i>Trachurus trachurus</i> (L.)	кишечник	31,2		9,4	8,5	15,8	47,3	14,6				0,09	-
	туловище	23,7				2,9	8,8	15,6	9,8			0,05	

декана, гептадекана и пристана из разветвленных алканов было обнаружено у сельдевых рыб Линко и Кайтаранта (Linko, Kaitaranta, 1976).

Сезонная динамика углеводов в организмах изучалась с декабря 1976 г. по июль 1977 г. на примере черноморских мидий, собранных в двух бухтах, условно обозначенных "а" и "б" (табл. 3). Бухта "б" является местом стоянки судов, содержание хлороформрастворимых веществ в донных осадках этой акватории на два порядка выше, чем в бухте "а".

Анализы показали, что количество индивидуальных алканов и углеводородных групп у мидий бухты "б" во много раз выше, чем у мидий бухты "а", на протяжении всего исследуемого периода. В частности, количество алифатических углеводов в 3-10 раз, метано-нафтеновых - в 3-5 раз, ароматических - в 2-7 раз, гетероатомных соединений - в 2-3 раза. Углеводородный состав гидробионтов зависит, помимо загрязнения, от сезона, физиологического состояния организма, его питания и т.д. В частности, отмечено резкое падение (с марта по апрель) количества алифатических углеводов и почти всех индивидуальных алканов в мидиях обеих бухт, что, по-видимому, связано с процессом размножения. В мидиях, собранных в период с апреля по май 1977 г., наблюдается повышенное количество углеводорода C_{17} , появление которого может быть связано с весенним цветением фитопланктона.

Интересно отметить, что исследование липидного состава мидий этих бухт показало его преобладание в мидиях бухты "б" на 20-40%, по сравнению с мидиями бухты "а". Это побудило провести более детальные исследования в этом направлении на

Таблица 3

Содержание нормальных и разветвленных алканов в мидиях бухт "а" и "б" с декабря 1976 г. по июль 1977 г.,
в мкг/100 г сырого веса

Бух- Ме- ты	сян	н - алканы											изопrenoиды									
		C ₁₁	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄	C ₁₅	C ₁₆	C ₁₇	C ₁₈	C ₁₉	C ₂₀	C ₂₁	C ₂₂	C ₂₃	C ₂₄	C ₂₅	C ₂₆	C ₂₇	C ₂₈	C ₂₉	C ₃₀	
"а"	XII		3	21	45	75	60	39	9	6					4,5	9	21	27	10,5	6	1,5	
"б"			30	99	178	102	108	127	181	82	41	24	13		43	71	120	49	177	286	43	
"а"	I		4,5	22,5	31	40,5	34,5	30	25	21	16	15	10,5		4,5	13,5	22,5	7,5	10,5	18	15	
"б"			12	61	145	214	67	60	129	172	51	25	28	18	7,5	31	66	78	53	162	267	65
"а"	II		3	7,5	33	9	43,5	25,5	9	6	6				7,5	6	13,5	7,5	10,5	9	3	
"б"			30	60	126	39	57	129	165	51	39	54	33		21	45	57	30	111	225	45	
"а"	III		30	49	72	12	64,5	21	7,5	8	6				7,5	22,5	21	33	10,5	37,5	1,5	
"б"			150	354	720	166	109	343	436	123	64	55	45		54	147	181	97	352	726	147	
"а"	IV		1,5	6,7	22,5	6,7	12	12,7	15	7,5	5,2	5	3,7		2,2	2,2	6,7	2,2	9	21	3	
"б"				12,5	53,7	160	51	243	157	100	42	46	33			25	45	57	120	174	57	
"а"	V			5	17	27	235	45,7	40,5	18,7	12,7	13,5				31,5	12,7	10,2	23,2			
"б"			10,5	17,5	31,5	77	87,5	434	122	70	63	52,5	56		9	38,5	122,5	70	88	105		
"а"	VI		0,7	0,5	6,7	8,2	6,6	15	5,2	4,5	4,2	5,2	3,5			3	2,2	2	3	5,2		
"б"			1,0	10	18,7	33,7	94	41,2	181	171	62	43	38	22,5		15	17	37	50	73,7	141	45

других гидробионтах. Мы исследовали липидный состав у моллюсков (*Tritia reticulata*, *Cerastoderma glaucum*) и креветок (*Palaeomon adspersus*), собранных одновременно в бухтах "а" и "б". В результате было обнаружено повышенное количество триглицеридов и холестерина (в 1,5-2 раза) у организмов, собранных в более загрязненной бухте.

Возможно, что в условиях нефтяного загрязнения происходит нарушение жирового обмена. Нарушение обмена веществ у мидий, собранных в загрязненном районе, отмечалось ранее Воробьевым (1938).

2. НАКОПЛЕНИЕ, ВЫВЕДЕНИЕ И МЕТАБОЛИЗМ УГЛЕВОДОРОДОВ НЕФТИ МОРСКИМИ ОРГАНИЗМАМИ

Взаимодействие углеводородов нефти с морскими гидробионтами было продолжено в экспериментальных условиях. Исследования проводились на массовых черноморских видах крабов (*Eriphia verrucosa* Forskal) и мидий (*Mytilus galloprovincialis*). Опыты с крабами проводились в двух вариантах: 1) крабы содержались в морской воде с дизельным топливом; 2) крабы находились в чистой морской воде, но кормились мидиями, накопившими перед этим соляр из морской воды (последние для краткости будем называть "соляровыми" мидиями).

Результаты исследований показали, что крабы в обоих случаях способны накапливать углеводороды дизельного топлива (рис. I). При этом накопление и распределение углеводородов по органам происходит по-разному, в зависимости от способа воздействия загрязнителя, химической структуры. В частности, накопление алифатических углеводородов при непосредственном воздействии соляра происходит в теле и гонадах, а при кормлении крабов

"соляровыми" мидиями — во всех исследуемых органах. По-видимому, углеводороды, которые прошли с пищей через желудочно-кишечный тракт, откладываются во всех органах, а захваченные через дыхательные пути распределяются больше в мышцах.

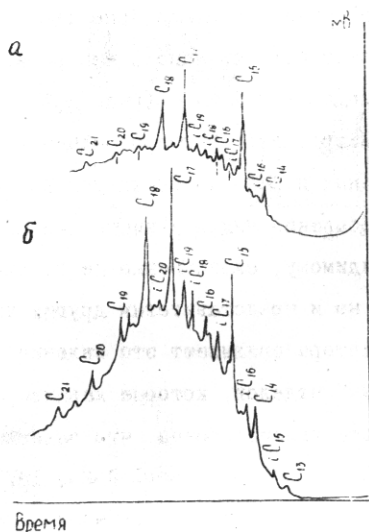


Рис. I. Хроматограммы углеводородов тела крабов:

а) исходных; б) после выдерживания крабов в
соляре в течение 20 суток

Накопление и распределение метано-нафтоновых углеводородов соответствует накоплению алифатических углеводородов в обоих вариантах опыта, в то время как накопление ароматических углеводородов и гетероатомных соединений происходит другими путями. Это, по-видимому, связано с различием в химической структуре этих групп углеводородов. В частности, ароматические углеводо-

роды более растворимы в воде (Lee et al , 1972 а,б), в результате чего могут быстрее попадать и накапливаться в организме.

Процесс накопления мидиями алифатических углеводородов нефти и соляра начинается с захвата легких углеводородов $C_{12}-C_{14}$ и изопреноидов C_{15} , C_{17} , которые там преобладают. Накопление C_{20} , C_{21} может быть связано с избирательностью захвата этих углеводородов моллюсками (рис. 2 А).

Процесс выведения загрязнителей сопровождается удерживанием отдельных нормальных и разветвленных углеводородов после 10 и даже 20 суток пребывания мидий в чистой морской воде (рис. 2 В). Это, по-видимому, свойственно не только алифатическим углеводородам, но и представителям других углеводородных групп. Некоторые авторы связывают это явление с наличием в организме "устойчивых" отделов, которые характеризуются низкой скоростью оборота углеводородов, что задерживает выведение этих веществ (Stegeman J.J., Teal J.M., 1973).

В процессе фильтрационной деятельности мидий в морской воде, содержащей нефть, последняя связывается в фекалии и псевдофекалии. Продукты выведения мидий отбирали как при выдерживании мидий в нефти (процесс "накопления"), так и при последующем помещении в чистую морскую воду (процесс "выведения").

Было обнаружено, что нефть в продуктах выведения и в тканях мидий отличается повышенной ароматичностью масел, а также значительным разрушением алифатических углеводородов, характеризующимся потерей углеводородов с низкой температурой кипения. В частности, в нефти фекалий периода "накопления" отмечено отсутствие C_{10} , C_{11} и уменьшение углеводородов $C_{12}-C_{14}$ (рис.3Б);

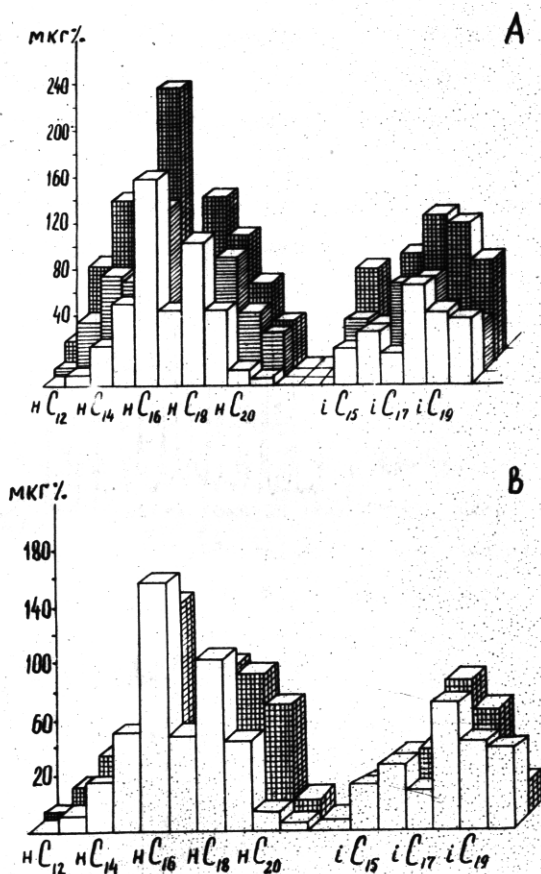


Рис. 2. Содержание в мидиях нормальных и разветвленных алканов.

□ - исходные; ▨ - опытные;

A - после накопления соляра (2 суток - ▨ ; 14 суток - ▤);

B - после выведения соляра.

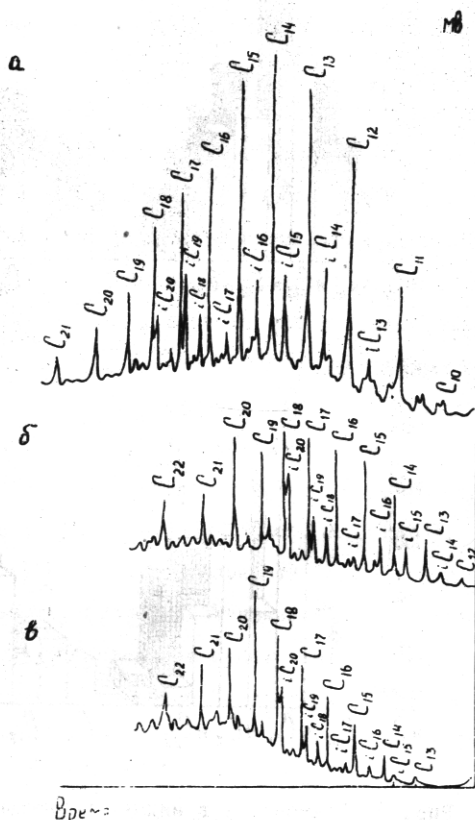


Рис. 3. Хроматограммы углеводородов:

- а) соляра,
- б) фекалии периода "накопления",
- в) фекалии периода "выведения"

в нефти фекалий периода "выведения" присходит дальнейшее исчезновение C_{12} и значительное уменьшение алканов $C_{13}-C_{16}$ по отношению к другим углеводородам, кривая кипения резко усечена (рис. 3 В). То же отмечается при сравнении углеводородного состава тканей мидий периода "накопления" и периода "выведения".

Полученные данные свидетельствуют о возможном участии мидий в изменении состава нефтяных углеводородов.

3. ТРАНСФОРМАЦИЯ УГЛЕВОДОРОДОВ И ЛИПИДОВ ГИДРОБИОНТОВ В ПРОЦЕССЕ ИХ РАЗЛОЖЕНИЯ

Известно, что одним из источников углеводородов в морской среде могут быть липиды. Анализируя липидные фракции, выделенные из смеси морских диатомовых водорослей, Кларк и Мазур (1941) обнаружили, что после пятидневного хранения их, образовалось около 14% углеводородов. При этом произошло уменьшение количества свободных жирных кислот. С увеличением сроков хранения количество углеводородов увеличивалось, а свободных жирных кислот уменьшалось. В этой связи представляет интерес трансформация липидов гидробионтов. Результаты анализов показали, что при разложении планктонного и мидиевого детрита происходит разрушение триглицеридов и фосфолипидов уже в течение первых 5 суток (рис. 4). В результате чего количество свободных жирных кислот резко возрастает, а затем падает. Содержание холестерина и его эфиров почти не изменяется, что приводит к увеличению их процентного отношения. Для определения интенсивности разложения некоторых липидных фракций детрита гидробионтов нефтеокисляющими микроорганизмами, наблюдали за изменением количества триглицеридов и фосфолипидов в сте-

рильных условиях и при добавлении микроорганизмов - накопительной культуры нефтеокисляющих бактерий, выделенной из морской воды бухты. В стерильном планктоне изменения содержания фосфолипидов и триглицеридов не превышали 18-20%. По всей вероятности, тканевой гидролиз в этот период был незначительным. При добавлении бактерий изменения были аналогичны изменениям нестерильного планктона в морской воде, с естественной микрофлорой. По-видимому, процесс трансформации липидов осуществляется теми микроорганизмами, которые способны использовать углеводороды в качестве единственного источника углерода и энергии.

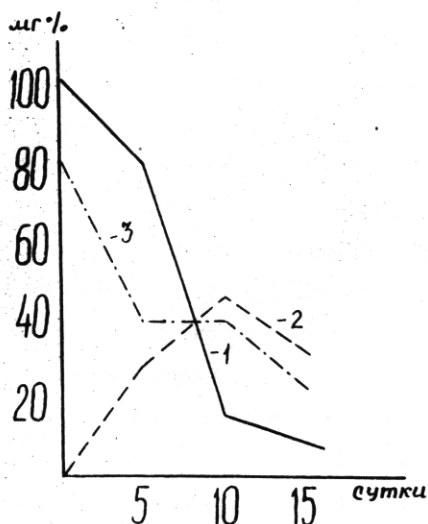


Рис. 4. Изменение фракционного состава липидов мидиевого детрита в процессе его разложения.

1 - триглицериды; 2 - жирные кислоты;
3 - фосфолипиды.

При наблюдении за изменением углеводов мидиевого дестрита в течение 40 суток отмечена их устойчивость к микробной деградации. К концу экспозиции количество масел увеличивалось от 79 до 134 мг на 100 г сыр.в., метано-нафтеновых углеводов от 44 до 85,3 мг на 100 г сыр.в., ароматических от 24 до 41 мг на 100 г сыр.в. Более сложные изменения происходили с алифатическими углеводородами. Количество их несколько уменьшалось в течение первых суток разложения (от 834 до 696 мкг на 100 г сыр.в.), а затем, к 10 суткам, резко увеличивалось до 1364 мкг на 100 г сыр.в. (рис. 5), что, по-видимому, связано с тем, что нормальные алканы наиболее доступный субстрат, подвергается воздействию микробальной флоры в первую очередь. Затем, вероятно, процесс их синтеза преобладает над процессом деструкции.

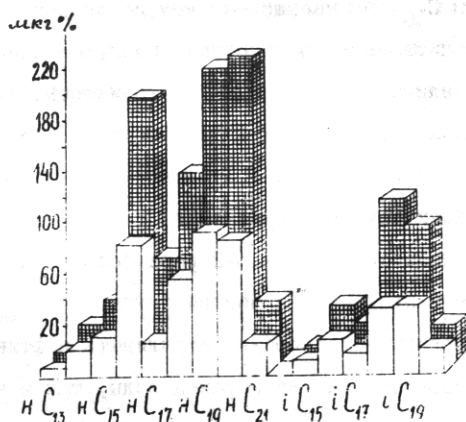


Рис. 5. Содержание в мидиях нормальных и разветвленных алканов.

□ - исходные; ▨ - после 40 суток разложения.

ОСНОВНЫЕ ВЫВОДЫ

1. У 25 видов организмов Средиземного и Черного морей впервые определен качественный и количественный состав углеводов биогенного и нефтяного происхождения, количество которых колеблется от 0,01 до 2 мг на 100 г сырой ткани.

2. Отмечена прямая зависимость углеводородного содержания гидробионтов от количества липидов и загрязненности среды обитания.

3. Дана качественная и количественная характеристика алифатических углеводов органов и тканей некоторых рыб Средиземноморья; установлено, что их количество колеблется от 0,02 до 0,3 мг на 100 г сырой ткани. Максимальное содержание приходилось на углеводороды C_{15} , C_{17} , C_{19} , а в кишечнике скумбрии и ставриды C_{16} . Из насыщенных углеводов с разветвленной цепью в значительных количествах обнаружен пристан.

4. Показано влияние загрязнения на количество липидных фракций гидробионтов. Моллюски (*Tritia reticulata*, *Cerastoderma glaucum*) и креветки (*Palaeomon adspersus*), собранные в районе хронического загрязнения, содержали количество триглицеридов, холестерина в 1,5-2 раза больше, чем эти же виды, собранные в практически чистой бухте.

5. Морские организмы способны накапливать нефтяные углеводороды как непосредственно из морской воды, так и через желудочно-кишечный тракт. При этом процесс накопления и выведения определяется составом и свойством загрязнителя, временем экспозиции, а также избирательным поглощением и удержанием, то есть свойствами организма.

6. Показана возможность участия мидий в изменении углеводов нефти и нефтепродуктов: нефть, проходя через организм животного, претерпевает значительные изменения – происходит увеличение тяжелых фракций, ароматичности масел, потеря низкокипящих углеводов.

7. В процессе трансформации углеводов и липидов тканей морских организмов в процессе их разложения показана относительная устойчивость углеводов к микробальной деградации, в результате чего происходит их накопление. На первых этапах разложения липидно-углеводородного комплекса процесс синтеза углеводов из липидов преобладает над их деструкцией.

8. Полученные результаты о наличии в морских гидробионтах углеводов искусственного происхождения вынуждают с известной осторожностью подходить к оценке роли последних в биологии организмов, в частности, таксономии. С другой стороны, открывает возможность биохимической деятельности морской биоты в трансформации антропогенных примесей и использование гидробионтов в индикации нефтяного загрязнения.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. О трансформации липидов в морской воде нефтеокисляющими микроорганизмами. – "Биология моря", 2:58-63, 1973 (соавт. О.Г.Миронов).

2. Изменение липидных фракций планктонного детрита в процессе его преобразования в морской воде. – Тезисы докладов международного симпозиума "Взаимодействие между водой и живым веществом". г.Одесса, 1975 г. (соавт. О.Г.Миронов).

3. Углеводы в морских организмах. – "Гидробиологический журнал", т. XII, № 6, 1976 г., с. 5-14 (соавт. О.Г.Миронов).

4. К вопросу об углеводородном составе черноморских мидий.- "Зоологический журнал", т. XI, № 8, 1977 г., с. 1250-1252 (соавт. О.Г.Миронов).

5. Методы и результаты фракционного определения липидов черноморских мидий в процессе их разложения. - "Биология моря", вып. 41, 1977 г., 89-91.

6. Об изменении количества некоторых липидов у черноморских моллюсков и креветок в условиях хронического нефтяного загрязнения. - "Биология моря", вып. 41, 1977 г., 91-95 (соавт. Н.Ю. Миловидова, И.Н.Каргополова).

7. Методы определения углеводов в морских организмах. - В сб.: Экспедиционные исследования в Средиземном море, Обнинск, 1977 г., 17-20.

8. Липидный состав некоторых морских организмов. - В сб.: Экспедиционные исследования в Средиземном море, Обнинск, 1977г., 20-25.

9. Использование моллюсков Черного моря для индикации нефтяного загрязнения. - Тезисы докладов и сообщений "Охрана природы - рациональное использование природных ресурсов юга Украины", г.Симферополь, 1977 г., с. 60.

10. Проблема биологического мониторинга морской среды. - Материалы семинара "Охрана водной среды", Киев, 1977 г., 5-6 (соавт. О.Г.Миронов).

11. Эколого-биохимическая характеристика углеводов некоторых организмов Средиземного моря. - "Гидробиологический журнал", т. XIV, в. I, 1978 г., 99-103.

12. К вопросу об использовании некоторых бентосных организмов в системе гидробиологической очистки нефтесодержащих вол.- Тезисы докладов Всесоюзного совещания "Проблемы охраны водной среды", Калининград, 18 октября 1977 г.