

ПРОВ 98

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

ЭКОЛОГО—  
МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ  
ИССЛЕДОВАНИЯ  
ДОННЫХ  
ОРГАНИЗМОВ

Институт биологии  
южных морей АН УССР

БИБЛИОТЕКА

№ 33582

ИЗДАТЕЛЬСТВО  
«НАУКОВА ДУМНА»  
НИЕВ — 1970

- Вулдридж Л. Механизмы мозга. "Мир", М., 1965.
- Завадский К.М. Проблема прогресса живой природы. - В кн.: Вопр. философии, 9, 1967.
- Кабанов Г.К. Скелет белемнитид. "Наука", М., 1967.
- Коган А.Б. Эволюционный подход к изучению принципов нейронной организации мозга. - В кн.: Проблемы нейрокибернетики. Изд-во Ростовск. ун-та, 2, 1966.
- Кондаков Н.Н. Класс головоногих моллюсков (Cephalopoda). 1.-е кн.: Руководство по зоологии. Изд-во АН СССР, М.-Л., 2, 1940.
- Уолтер Г. Живой мозг. "Мир", М., 1966.
- Ушаков И.А. Основные принципы и методы теории надежности. - В кн.: Вопр. философии, 6, 1967.
- Шмальгаузен И.И. Факторы эволюции. Изд-во АН СССР, М., 1946.
- Шмальгаузен И.И. Интеграция биологических систем и их саморегуляция. - Бюлл. МОИП, отдел биол., 1961.
- Boyceott B.B. The functional organization of the brain of the Cuttlefish, Sepia officinalis. - Proc. Roy. Soc., 153, 1961.
- Holst E. u. StPaul U. Von "wirkungsgefüge der Triebe." - Naturwiss., 47, 1960.
- Sanders F.K. a. Young J.Z. Learning and other functions of the higher nervous centres of Sepia. - J. Neuropysiol., 3, 1940.
- Wells M.J. Brain and Behaviour in Cephalopods. Heinemann, London, 1962.
- Wells M.J. The Brain and Behavior of Cephalopods. - In: Physiology of Mollusca, 2, 15, 1966.
- Wierz K. Etude biometrique du système nerveux des Cephalopodes. - Bull. Biol., 93, 1, 1959.

## ВЛИЯНИЕ НЕФТИНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ НА НЕКОТОРЫЕ БЕНТОСНЫЕ ОРГАНИЗМЫ

О.Г. Миронов

Углеводороды в настоящее время являются одними из основных компонентов загрязнения морей и океанов. Наибольшее количество их поступает в морскую воду с нефтью и нефтепродуктами. По дан-

ным Тендрон (Tendron, 1966), в 1966 г. танкерами было перевезено около 1260 млн.т нефти и нефтепродуктов и при этом потеряно свыше 12 млн. т нефти. Являясь стойкими химическими соединениями, углеводороды длительное время могут находиться в морской воде. В результате волнового перемешивания происходит эмульгирование нефти и нефтепродуктов и проникновение их в глубоколежащие слои моря и донные отложения. В процессе перемещения нефти и ее компонентов в грунты большое значение имеют и биохимические процессы (Ворошилова и Дианова, 1952).

Находящиеся на поверхности воды нефть и нефтепродукты переносятся течениями на большие расстояния, затем выбрасываются на берег, а оттуда вновь попадают в море, создавая постоянное загрязнение морской воды в прибрежной полосе. Присутствие нефти и нефтепродуктов в море оказывает существенное влияние на морские организмы, приобретая роль неблагоприятного экологического фактора.

Губительное действие нефтяных загрязнений на представителей зообентоса было отмечено еще Граффе (Graffe, 1903), который наблюдал исчезновение устриц в бухте Миггия (близ Триеста) в результате загрязнения морской воды мазутом. А.С.Зернов (1934) считал одной из причин гибели Севастопольского устричника усиливающееся загрязнение бухты, в частности нефтепродуктами. Н.Ю.Миловидова (1967) показала, что многолетние изменения в составе и распределении зообентоса Новороссийской бухты в значительной степени обусловлены загрязнением морской воды. В то же время число экспериментальных работ по изучению влияния нефтяного загрязнения на бентосные организмы весьма ограничено.

И.О.Алякринская (1966) отмечала большую устойчивость Черноморских мидий к загрязнению морской воды нефтью. Полученные ею данные указывают на то, что концентрация нефтепродуктов 200 мл/л не вызывает гибели моллюсков, большие концентрации лишь замедляют их рост.

М.Георг (George, 1961) также отмечал, что многие виды моллюсков хорошо переносят нефтяное загрязнение, причем нефть не оказывает токсического действия, даже проходя через их желудочно-кишечный тракт.

В наших экспериментах (Миронов, 1967) мазут в концентрации 1 мл/л приводил к 100%-ной гибели подопытных гидробионтов.

Н.Ю.Миловидова (1967), экспериментируя с нефтяными вытяжками, определила высокую чувствительность к ним креветок *Zeander adspersus Rathke*, которые погибали уже при концентрации нефти 1-2 мл/л. Собственно бентосные организмы *Carabolumya thalactica* (Mili.), *Sphaeroma serratum* (Fabr.) и *Idotea baltica* (Pallaz) оказались более выносливыми к такому загрязнению: первые признаки отравления появились у них при концентрации нефтяной вытяжки не менее 10 мл/л.

Следует отметить, что вытяжки из нефти и нефтепродуктов мало устойчивы и концентрация их быстро падает, что необходимо учитывать при постановке экспериментов (Миронов, 1967). При этом данные, полученные в опытах с нефтью и нефтепродуктами, трудно сравнимы с данными, полученными при использовании вытяжек из этих веществ. На наш взгляд, при постановке токсикологических экспериментов более правильно использовать непосредственно нефть или нефтепродукты, что несколько приближает опыт к естественным условиям. Однако это не исключает параллельного использования вытяжек - для выяснения действия растворенных компонентов нефти и нефтепродуктов.

В связи с малочисленностью экспериментальных работ по изучению влияния нефти и нефтепродуктов на морские организмы вообще и на бентосные в частности, были проведены токсикологические эксперименты с некоторыми представителями зообентоса, собранными в районе юго-западного побережья Крыма (*Uachnuglariae marmoratus* (Fabr.), *Diogenes pugilator* (Roux), *Balanus* sp., *Nereis diversicolor* (Müller)). Для опытов использовали шестилитровые аквариумы, где были созданы необходимые концентрации нефти или нефтепродуктов. В зависимости от вида организма, а также продолжительности опыта, в каждый эксперимент вносили некоторые методические изменения, которые приводятся ниже. Опыты планировались таким образом, чтобы при уровне значимости  $P=0,05$  (при бесконечно большой выборке эта величина равна 1,96) ошибка не превышала 5-20%. Исходя из этого, по формуле

$$n = \frac{U_2^2}{\varepsilon^2} \cdot V^2,$$

где  $n$  - число организмов, необходимое для опыта,  $U_2$  - уровень значимости,  $\varepsilon$  - заданная ошибка опыта,  $V$  - коэффициент вариации, рассчитывали необходимое для данной степени точности

результатов количество организмов). Перед постановкой основных опытов проводили предварительные эксперименты, на основании которых рассчитывали коэффициент вариации.

В опытах с раком-отшельником использовали пятилитровые аквариумы, в которые наливали четыре литра не содержащей нефтепродуктов морской воды. Нефть в концентрациях 1,0-0,5 и 0,1 мл/л наносили на поверхность морской воды после помещения организмов в аквариум.

Параллельно ставили контрольные опыты изучаемых гидробионтов.

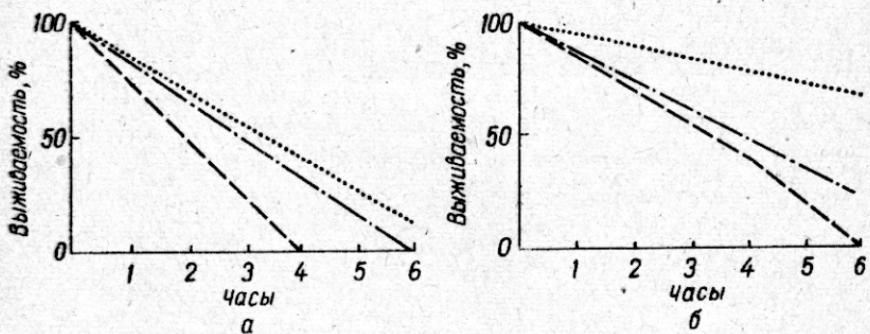


Рис. I. Влияние эмульгированной нефти (а) и нефтяной вытяжки (б) (концентрация, мл/л) на выживаемость рака-отшельника: - - - 1,0, - - - 0,5, ..... 0,1.

Результаты наблюдений приведены на рис. I. Как видно из приведенных на рисунке данных, при концентрации нефти 1,0 мл/л 100%-ная гибель раков-отшельников наступает через 4 час после начала опыта, а в концентрации в два раза меньшей - через 6 час. 80% организмов погибают через 6 час при концентрации нефти 0,1 мл/л. Действие нефтяной вытяжки, полученной по методу Е.А. Веселова (1959), было несколько слабее.

Следует отметить, что первые признаки отравления организмов наблюдались уже через несколько минут после пребывания их в морской воде, загрязненной нефтью. При этом у большинства организмов внешнее проявление углеводородной интоксикации выражалось в угнетении двигательной активности. Перед гибелюю некоторые раки-отшельники покидали раковины.

Количество кислорода в морской воде в опытных и контрольных аквариумах было практически одинаковым и составляло к концу опытов 85–90% его первоначального содержания.

В естественных условиях, благодаря большой подвижности нефтепродуктов, возможны кратковременные воздействия их на организмы, после чего последние вновь попадают в чистую морскую воду. Для выяснения кратковременного влияния нефтепродуктов на рака-отшельника было поставлено несколько опытов.

Организмы находились в контакте с загрязненной морской водой определенное время, после чего были перенесены в чистую морскую воду. В течение первых часов воду несколько раз меняли, чтобы удалить возможные остатки загрязненной морской воды, находящейся внутри раковин. Результаты наблюдений сгруппированы в табл. I и 2.

Из приведенных в таблицах данных видно, что даже временный контакт рака-отшельника с морской водой, загрязненной нефтью и нефтепродуктами, неблагоприятно влияет на организмы. В данном случае испытывалось действие углеводородов в концентрациях 1,0 – 0,1 мл/л, время наблюдения не превышало суток. Можно полагать, что и более низкая концентрация нефтепродуктов, в частности керосиновые фракции, окажут при временном воздействии губительное влияние на рака-отшельника.

Действие нефтей из различных месторождений было испытано на взрослых и личиночных формах черноморского морского жесткого Balanus er. Для опыта брали морские жесткости, выросшие на раковинах мидий, моллюски из раковин удаляли, поверхность створок очищали от перифитона. После этого створки раковин мидий с баланусами помещали в чистую морскую воду и выдерживали в ней перед опытом в течение пяти суток. За это время выявлялись и удалялись поврежденные организмы.

Приведенные на рис. 2 данные показывают, что на протяжении восьми суток опыта жизнеспособность морского жесткого в Анастасьевской и Арчадинской нефтих сохранялась полностью; в Ромашкинской и Урусе обессоленной оставалось в живых 40–50% организмов, а в Малгобекской нефти гибель всех особей наступала на вторые сутки. Предыдущие эксперименты с различными нефтями показали, в частности, что малосернистая малгобекская нефть более токсична для некоторых видов моллюсков, чем другие нефти (Миронов, 1967).

Учитывая, что нефти анастасиевская и арчадинская, ромашкинская и уруса оказывали примерно одинаковое влияние на баланусов, в экспериментах с их личинками были использованы следующие нефти: ромашкинская, арчадинская (малосернистая), малгобекская (малосернистая) и соляр.

Таблица I  
Действие различных концентраций малгобекской нефти на рака-отшельника (при временной экспозиции)

Продолжительность опыта, час	Количество живых организмов (в %) через сутки при концентрации нефти (в мл/л)		
	1,0	0,5	0,1
2	85	60	90
3	17	-	-
4	0	0	70

Таблица 2  
Выживаемость рака-отшельника при временном пребывании в морской воде, содержащей 0,1 мл/л керосина

Продолжительность опыта, мин	Количество живых организмов (в %) через сутки
30	80
45	66
120	0

Личинок для опытов отбирали из планктонных сетяных проб и выдерживали в течение двух дней в лабораторных условиях до начала эксперимента.

Приведенные на рис. 3 данные показывают, что чувствительность личиночных стадий балануса к нефтяному загрязнению морской воды во много раз выше, чем взрослых форм. Однако в опытах

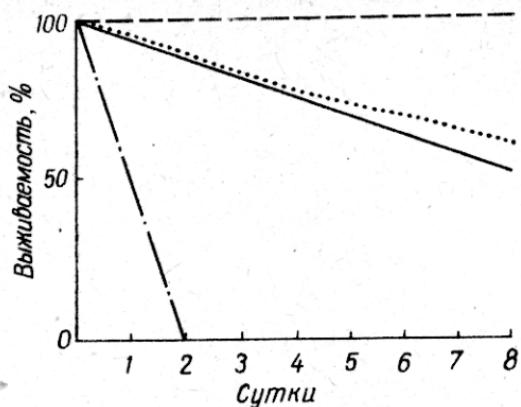


Рис. 2. Жизнеспособность *Balanus* sp. в морской воде, содержащей 1,0 мг/л нефти: - - - аистасиевской, — ромашкинской, ..... урусы обессоленной, - · - · - малгобекской обессоленной.

как со взрослыми, так и с личиночными формами учитывалась только выживаемость организмов. Какие отдаленные последствия могла оказать углеводородная интоксикация на оставшихся в живых баланусов сказать трудно.

Относительной стойкостью к нефтяному загрязнению отличались мраморные крабы. Так, экземпляры *Pachygrapsus marmoratus* (Fabr.) весом 2-2,5 г, находясь в морской воде, содержащей 1,0 и 0,1 мл/л флотского мазута, в течение 15 суток оставались жизнеспособными и по поведению не отличались от контрольных экземпляров. Вылезая на выступающие над поверхностью камни, крабы многократно проходили через пленку мазута, а также длительное время находились на камнях, загрязненных мазутом. Это в значительной степени объясняет нахождение мраморных крабов и в естественных условиях в местах, загрязненных нефтепродуктами. Мраморные крабы иногда встречаются в массе на побережье этого района при его загрязнении нефтью.

Однако мы не знаем, как действует нефть и нефтепродукты на личиночные стадии животных, развивающихся в планктоне. Изучалось действие различных концентраций нефтепродуктов на травяных крабов. На протяжении восьми дней опытов в морской воде, содержащей 0,1 мл/л нефти, выживаемость крабов не отличалась

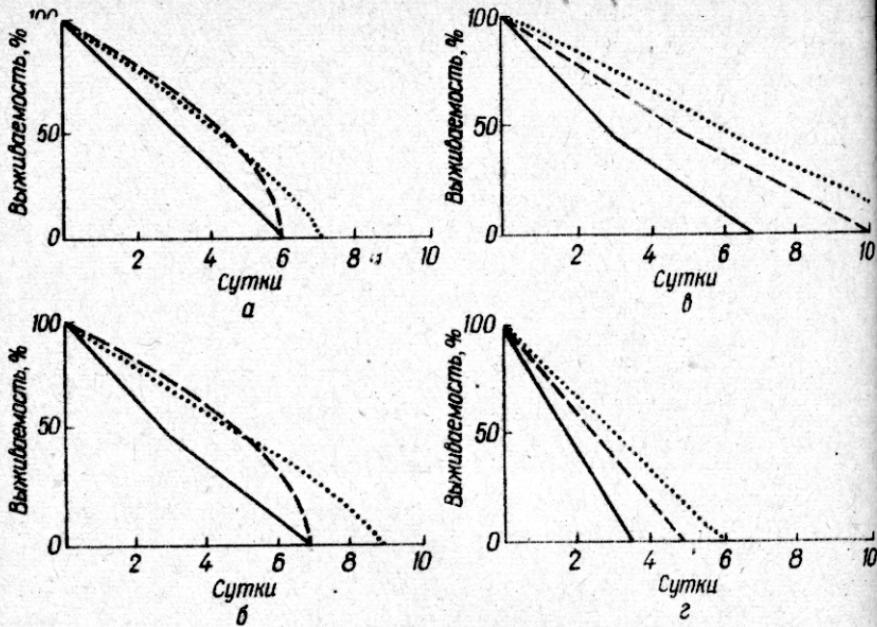


Рис. 3. Жизнеспособность личинок *Balanus* sp. (IУ-УI стадий) в морской воде, загрязненной малосернистой малогубекской (а), ромашкинской (б), арчадинской (в) нефтями и соляром (г) в концентрациях, мл/л:  
— 0,1, - - - 0,01, ..... 0,001.

от контроля. В концентрации 1,0 мл/л гибель крабов была на 30% выше, чем в контроле. Как показали наблюдения, в природе травяные крабы обитают в акваториях, загрязненных нефтепродуктами (Миронов, 1966).

Для выяснения жизнеспособности *Mereis diversicolor* М ў 1-1 в грунтах, загрязненных нефтепродуктами, была поставлена серия опытов, осредненные результаты которых приведены на рис. 4. В отличие от предыдущих экспериментов, нефтепродукты (в количестве 1 мл на 1 дм<sup>3</sup> сырого вещества) вносили не непосредственно в морскую воду, а в грунт, взятый в местах обитания исследуемых организмов. Грунт тщательно перемешивали стеклянной палочкой и распределяли по дну опытных аквариумов слоем толщиной 1-1,5 см. Затем в аквариумы помещали подопытные организмы и осторожно, чтобы избежать сильного взмучивания, в каждый наливали 3 л морской воды, загрязненной нефтепродуктами.

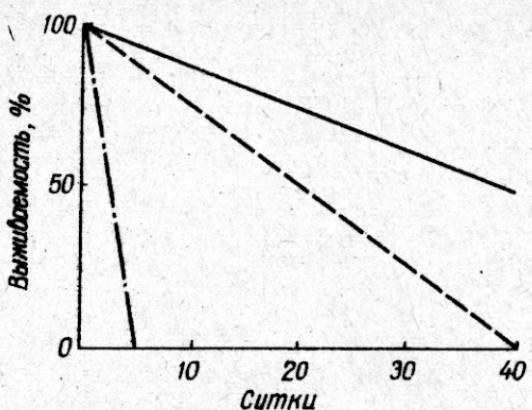


Рис. 4. Выживаемость *Nereis diversicolor* в грунтах, загрязненных: —··· нефтью, - · - мазутом; — контроль.

Переход нефтепродуктов в морскую воду был незначителен. Параллельно ставился контроль. Опыты продолжались до 100%-ной гибели организмов в опытных аквариумах.

В аквариумах, где грунт был загрязнен нефтью (малгобекской), гибель всех подопытных *Nereis diversicolor* наступала на 5 сутки. Значительно дольше жили организмы в грунтах, загрязненных мазутом. В контрольных аквариумах (за счет естественной гибели) к концу опыта осталось около 30% жизнеспособных организмов.

Проведенные опыты также подтверждают факт значительной токсичности малгобекской нефти. Действие углеводородов на морские организмы связано, вероятно, с проникновением и накоплением последних в теле гидробионтов. Однако число наблюдений, касающихся этой проблемы, пока крайне недостаточно. В настоящее время имеется ряд работ, свидетельствующих о накоплении в тканях ряда бентосных организмов полибензойных углеводородов, и в частности бензо-3-4-пирена. Краткий обзор таких материалов приведен в статье Чикателли (Cicatelli, 1966). Интерес именно к этому углеводороду связан с его высокой канцерогенностью и возможностью перехода по пищевым звеньям от морских гидробионтов в организм человека. Сведения о накоплении других углеводородов в организмах бентоса нам неизвестны.

Вместе с тем необходимо учитывать, что углеводороды широко

распространены в живых организмах и в ряде случаев трудно указать на источник их происхождения (концентрация из морской воды или биосинтез). Дело осложняется тем, что ряд углеводородов, найденных в морских гидробионтах, имеют тот же состав, что и углеводороды нефти (Вассоевич, 1958). В связи с этим была сделана попытка дать качественную характеристику нефтепродуктов из различных органов травяных крабов и раков-отшельников. С этой целью были поставлены серии опытов с нефтепродуктами в концентрациях от 0,001 до 1,0 мл/л, в которых находились подопытные животные. После трехсуточного пребывания в загрязненной морской воде (в больших концентрациях нефтепродуктов организмы погибали раньше и их исследовали сразу после гибели) животных извлекали, споласкивали в чистой морской воде, после чего у крабов брали жабры, печень, икру и мышцы; раков-отшельников изучали целиком. Указанные органы подсушивали в сушильном шкафу при температуре 70° в течение двух часов. После этого навески весом 0,3 г экстрагировали хлороформом. Такая же операция проводилась и с контрольными организмами.

Хлороформный экстракт просматривали в ультрафиолетовом свете. Как известно (Флоровская, 1957), углеводороды нефти под действием ультрафиолетового облучения дают характерное видимое свечение (люминесценцию). В качестве ультрафиолетового источника была использована ртутнокварцевая лампа ПРК-4 со светофильтром УФС-3.

Результаты просмотра хлороформных вытяжек показали, что интенсивность люминесценции извлеченных органов подопытных экземпляров превосходит таковую контрольных. Органы контрольных животных также давали свечение в ультрафиолетовом свете, но другого оттенка. По интенсивности свечения они располагались в следующем порядке (от большего к меньшему) — печень, икра, мышцы, жабры. Это вполне понятно, так как люминесценция органов в основном обусловлена содержанием в них липоидов. Поэтому характер свечения и его интенсивность у подопытных организмов складывались из естественного свечения органа и свечения за счет нефтепродуктов. Накопление углеводородов хорошо наблюдалось в печени и жабрах при концентрации нефтепродуктов в аквариумах — 1,0 — 0,01 мл/л, в икре — 1,0—0,1 мл/л, в мышцах нефтепродукты не были обнаружены. При более низких концентрациях нефтепродуктов — 0,001 мл/л (печень, жабры) и 0,01 (икра) интенсивность люминес-

сценции опытных и контрольных экземпляров была практически одинаковой. Разница в интенсивности люминесценции хлороформных экстрактов из подопытных и контрольных раков-отшельников наблюдалась до концентрации 0,01 мл/л нефтепродуктов в аквариумах.

Экстракты, полученные из органов животных, были подвергнуты разделению на групповые компоненты с помощью бумажной хроматографии с последующим просмотром хроматограмм в ультрафиолетовом свете. Разделение велось по методике люминесцентно-битуминологического анализа (Флоровская, 1957). Параллельно получали хроматограммы из экстрактов морской воды и контрольных организмов. Далее проводили визуальное сравнение хроматограмм, на основании которого можно было отметить увеличение интенсивности и ширины зон люминесценции на хроматограммах, полученных у подопытных животных по сравнению с теми же зонами контрольных организмов. Отмечалось также, что увеличение интенсивности и ширины зон люминесценции хроматограмм, снятых с подопытных животных, значительно превосходят таковые из морской воды. Это дает основание предполагать накопление и концентрирование различных компонентов (в том числе, возможно, и групповых) нефти и нефтепродуктов в морских организмах.

Проведенные наблюдения можно рассматривать как сугубо ориентировочные, подтверждающие лишь возможность накопления морскими организмами различных компонентов нефти и нефтепродуктов. С другой стороны, полученные материалы позволяют предполагать перспективность работ по изучению динамики накопления и вынуждения из морских организмов как отдельных углеводородов, так и групповых компонентов нефти и нефтепродуктов, что представляет определенный интерес с теоретической и практической точек зрения.

Приведенные в настоящей работе экспериментальные данные следует рассматривать как первый этап изучения влияния нефтяного загрязнения (в условиях эксперимента) на ряд черноморских зообентосных организмов. В данном случае нами учитывался только факт выживаемости гидробионтов в тех или иных концентрациях нефти и нефтепродуктов. Полученные материалы свидетельствуют об относительной устойчивости некоторых зообентосных организмов к нефтяному загрязнению в пределах концентрации нефтепродуктов 1,0 - 0,1 мл/л. Однако эти сведения касаются лишь взрослых форм гидробионтов и отнесены к сравнительно короткому промежутку времени.

Как сказалась углеводородная интоксикация на дальнейшей жизни организма, в частности, на таких важных биологических показателях, как плодовитость и качество потомства, определить пока не представляется возможным. Из-за недостатка экспериментальных данных трудно судить и о сравнительной устойчивости зообентосных организмов к нефти. Дальнейшие исследования этих вопросов могли бы дать материал для прогнозирования изменений в показателях биоценоза под влиянием нефтяного загрязнения.

Остается неясным и такой важный в водной токсикологии вопрос, как хроническое отравление организмов бентоса в результате длительного воздействия малых доз углеводородов. На примере планктонных водорослей (Миронов, Ланская, 1968) было выявлено, что малые концентрации нефти и нефтепродуктов, порядка  $10^{-4}$  мл/л и меньше, в ряде случаев оказывают стимулирующее влияние и приводят к усиленному размножению отдельных видов фитопланктона. Однако, насколько такая "стимуляция" является полезной для вида в целом, сказать трудно. По данным И.К.Ржепешевского (1967), органическое загрязнение дальнезеленецкой губы Белого моря привело к массовому раннему пересту баланусов в этом районе. Подобная "стимуляция" оказалась неблагоприятной для вида, так как вымет личинок произошел за одну-две недели до появления пищи (диатомовых водорослей). Когда же диатомовые появились, голодающие науплиусы оказались настолько ослабевшими, что не могли уже достаточно интенсивно питаться, в результате одна часть личинок погибла, другая отстала в развитии.

Таким образом, направление дальнейших токсикологических исследований должно идти по пути изучения влияния нефти и нефтепродуктов как на выживаемость различных представителей зообентоса, так и по линии изучения хронической интоксикации, накопления и выведения углеводородов, отдаленных последствий загрязнения на отдельные организмы.

Подобные исследования очень важны для дальнейшего изучения влияния нефтяного загрязнения морей на сообщества донных организмов, что в свою очередь является составной частью исследований по изучению общих закономерностей влияния углеводородов на морских гидробионтов.

#### ЛИТЕРАТУРА

Алякринская И.О. О поведении и фильтрационной способности Черноморских мидий в воде, загрязненной нефтью. - Зоол. журн., 46, 3, 1966.

В а с с о е в и ч Н.Б. Вопросы образования нефти. - В кн.: Тр. ВНИГРИ, 128, 1958.

В е с е л о в Е.А. Биологические тесты при санитарно-биологическом изучении водоемов. - В кн.: Жизнь пресных вод СССР. Часть 2, 4, М.-Л., 1959.

В о р о ш и л о в а А.В. и Д и а н о в а Е.В. Окисляющие нефть бактерии - показатель интенсивности биологического окисления нефти в природных условиях. - Микробиология, 21, 4, 1952.

З е р н о в А.С.- В кн.: Общая гидробиология. М.-Л., 1934,

М и л о в и д о в а Н.Ю. Зообентос бухт Северо-Восточной части Черного моря. - Автореф. канд. дисс. Ростов-на-Дону, 1967.

М и р о н о в О.Г. Действие нефти и нефтепродуктов на некоторых моллюсков прибрежной зоны Черного моря. - Зоол. журн., 46, I, 1967.

М и р о н о в О.Г. и Л а н с к а я Л.А. Выживаемость некоторых морских планктонных водорослей в морской воде, загрязненной нефтепродуктами. - Бот. журн., 53, 5, 1968.

Р ж е п е ш е в с к и й И.К. Влияние органического загрязнения морской воды на вымет и развитие личинок баланусов. - Вопр. океанографии, К., 1967.

Ф л о р о в с к а я В.Н. - В кн.: Люминесцентно-битуминогенетический метод в нефтиной геологии. М., 1957.

Cicatelli M.S. Benzo=3,4=pirene, idrocarburo cancerigeno nell'ambiente marino. - arch. Zool. Italiano, 51, 1966.

George M. Oil pollution of marine organism. - Nature, 182, 1961.

G r a f f e . Übersicht der Seetierfauna des Golfs von Triest nebst Notizen über Vorkommen, Lebensweise, Erscheinung und Fortpflanzungszeit der einzelnen Arten. - Arbeit aus dem Zool. Station in Triest, 1903.

T endron G. Za pollution des mers par les petrole et les mefaits. - Courrur nature, 19-20, 1966.