

Ордена Ленина и ордена Дружбы Народов Академия наук Украины
ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ЮЖНЫХ МОРЕЙ им. А. О. КОВАЛЕВСКОГО

На правах рукописи

АЛЁМОВ Сергей Викторович

УДК 595.142.2:551.46.09:543.38(26.25)

**РОЛЬ NEREIS DIVERSICOLOR O. F. MULLER
В ТРАНСФОРМАЦИИ ОРГАНИЧЕСКОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ
В ДОННЫХ ОСАДКАХ**

03.00.18 — гидробиология

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

СЕВАСТОПОЛЬ
1993

715
ЛННБ України ім.В.Стефаніка



00343851 (O)

Ордена Ленина и ордена Дружбы Народов Академия наук Украины

Ордена Трудового Красного Знамени

Институт биологии южных морей им. А. О. Ковалевского

на правах рукописи

Алёмов Сергей Викторович

УДК 595.142.2:551.46.09:543.38(262.5)

Роль *Nereis diversicolor* O.F. Muller в трансформации
органического загрязнения в донных осадках

03.00.18 - гидробиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Севастополь

1993



А 13 29, 300

Диссертация является рукописью
Работа выполнена в Институте биологии южных морей
им. А. О. Ковалевского АН Украины

Научный руководитель - доктор биологических наук,
профессор

О. Г. Мионов

Официальные оппоненты - доктор биологических наук

М. И. Киселёва

кандидат биологических наук

М. М. Джуртубаев

Ведущее учреждение - Институт Гидробиологии АН Украины

Защита диссертации состоится в конце октября 1993 г.
в " _____ " час. на заседании специализированного совета
Д 016.12.01 в Институте биологии южных морей АН Украины
335000, г. Севастополь, пр. Нахимова, 2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института
биологии южных морей им. А. О. Ковалевского АН Украины.

Автореферат разослан "10" сентября 1993 г.

Ученый секретарь
Специализированного совета
кандидат биологических наук

Н. Г. Сергеева

В настоящее время загрязнение морей и океанов имеет значение экологического фактора, который оказывает на морские экосистемы существенное, а в некоторых районах и определяющее влияние. Интенсивное загрязнение морского шельфа приводит к необходимости вести разработку мероприятий по охране моря, в этой связи все большее значение приобретают исследования, направленные на изучение процессов самоочищения моря, взаимодействия морских организмов и их сообществ с загрязнением. Такие исследования включают как полевые наблюдения, так и проведение экспериментальных работ.

В прибрежные воды поступают различные химические вещества аллохтонного происхождения, однако, одними из наиболее опасных в биологическом отношении токсикантов и наиболее распространенными в настоящее время в море являются углеводороды, в первую очередь нефть и нефтепродукты. Попадающая в море нефть со временем накапливается в донных осадках, оказывая пагубное воздействие на сообщества донных организмов. Имеются сведения, что наряду с бактериями, в трансформации нефтепродуктов участвуют организмы инфуны [Кирихина, Миловидова, 1979; Gordon et al., 1978; Gardner et al., 1979]. Дальнейшие работы по изучению роли данной группы организмов в процессах деструкции загрязняющих веществ позволят подойти к решению таких основных вопросов санитарной гидробиологии как оценка самоочищающей способности различных акваторий, а также возможности целенаправленного использования гидробионтов для очистки загрязненных морских вод.

При проведении натурных исследований и лабораторных экспериментальных работ по изучению взаимодействия морских животных с антропогенным загрязнением в качестве модельного вида часто используется многощетинковый червь *Nereis (Nediste) diversicolor* O.F.Müller, что обусловлено его высокой устойчивостью к изменениям абиотических факторов среды, действием различных токсикантов, а также, очевидно, доступностью (он широко распространен и образует плотные поселения на мелководье).

Основной целью работы было изучение влияния *Nereis diversicolor* на процессы трансформации органического загрязнения, в первую очередь нефти и нефтепродуктов, в донных осадках и оценка возможности использования данного вида при разработке

гидробиологических методов защиты прибрежных акваторий от загрязнения.

Были поставлены следующие задачи:

- рассмотреть влияние нефти на поведение *N. diversicolor*;
- исследовать липидный состав тканей нереисов, обитающих в загрязненном грунте, учитывая характер воздействия нефти на гидробионтов;
- исследовать химический состав фекалий *N. diversicolor*, обитающих в загрязненном грунте;
- изучить изменения, происходящие в загрязненном грунте под влиянием нереисов;
- рассмотреть способность нереиса к трансформации фекалий фильтраторов, учитывая направления в разработке систем гидробиологической очистки;
- оценить вклад *N. diversicolor* в процессы трансформации органических веществ бентосным сообществом.

Научная новизна и теоретическая значимость.

Изучено поведение *N. diversicolor* в грунтах, содержащих различные количества нефтяных углеводородов. Получены данные фракционного состава липидов тканей и фекалий нереисов. В тканях опытных животных содержащихся в естественных загрязненных грунтах и грунтах с добавлением сырой нефти не отмечено существенного накопления углеводородов по сравнению с контрольными, тогда как в фекалиях количество углеводородов возрастает. Воздействие сырой нефти приводит к изменениям содержания различных фракций липидов в тканях и фекалиях нереисов. Липидно-углеводородные экстракты фекалий нереисов отличаются по характеристикам ИК-спектров и спектров флуоресценции от экстрактов грунта, в котором содержались животные. Максимумы флуоресценции экстрактов фекалий имели сдвиг в коротковолновую область относительно максимума флуоресценции соответствующего грунта. Показано, что в загрязненном грунте в присутствии нереисов уменьшается содержание хлороформного битумоида. В составе битумидов снижается количество кислородсодержащих и ароматических соединений. Битумоиды, выделенные из стенок норок нереисов отличаются по своим спектральным характеристикам от битумидов остальной толщи грунта. Нереисы способны снижать интенсивность накопления органических соединений в грунте, в

том числе углеводов, вызванную деятельностью фильтраторов.

Оценен вклад популяции *N. diversicolor* в процессы утилизации органического вещества в кутовой части б. Стрелецкая. Поток энергии через популяцию нереиса составляет 2-40% общего потока через бентосное сообщество в различных участках исследованного района. На площади 1,4 га популяцией нереиса трансформируется около 450 г углеводов в сутки. Фильтрационная активность нереисов может в значительной степени восполнять снижение биофильтра сестонофагов.

Проведенная работа расширяет представление о роли инфавны в трансформации нефтяного загрязнения. Полученные данные могут быть полезны при разработке общих вопросов антропогенного воздействия на донные биоценозы.

Практическое значение.

Показано, что *N. diversicolor* является перспективным при разработке мероприятий, направленных на повышение самоочищающей способности морской среды, и может быть использован в качестве одного из звеньев в системах гидробиологической очистки морских вод.

Апробация работы. Материалы диссертации докладывались на 18-й конференции молодых ученых биологического факультета МГУ "Проблемы современной биологии" (Москва, 1987); 3 Всесоюзной научно-технической конференции "Вклад молодых ученых и специалистов в решение современных проблем океанологии и гидробиологии" (Севастополь, 1988); научно-технических конференциях "Вклад молодых ученых и специалистов в ускорение научно-технического прогресса и интенсификацию народного хозяйства (Севастополь, 1987, 1988, 1989); Республиканской конференции "Научные основы и технология очистки природных водоемов и промышленных сточных вод от нефтепродуктов" (Киев, 1990); Всесоюзной конференции "Отечественный опыт внедрения промышленных очистных сооружений" (Севастополь, 1991); научных семинарах отдела морской санитарной гидробиологии ИнБЖМ АН Украины (Севастополь, 1988-1993).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 4 печатных работы, 1 работа сдана в печать.

Структура объема диссертации. Диссертация изложена на 182 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора

литературы, описания материалов и методов исследования, результатов и обсуждения, изложенных в пяти главах, заключения, выводов, списка использованной литературы. Текст иллюстрирован 16 рисунками и 22 таблицами. Библиография включает 274 наименования, в том числе 172 на иностранных языках.

ГЛАВА 1. Основные черты биологии *Nereis diversicolor*.

В обзоре литературы сделана попытка как можно более полно осветить различные вопросы биологии и экологии *N. diversicolor*, которые могут иметь существенное значение при решении поставленной цели. Отмечено, что данный вид широко распространен в прибрежных биоценозах морей Северной Европы и Средиземноморского бассейна, Каспийского и Аральского морей. Развитие личинок проходит, как правило, без планктонной стадии. Нереис обладает исключительно широким спектром способов добывания пищи, но основное место в его рационе занимает поверхностный слой грунта. Наибольшего развития данный вид достигает на илистых или сильно заиленных грунтах, предпочитая районы с пониженной соленостью, взрослые особи могут долго выживать в практически пресной воде. Нереис адаптирован к широкому диапазону температур, длительному отсутствию кислорода и наличию сероводорода. Он проявляет устойчивость к действию значительных концентраций хлорорганических соединений, тяжелых металлов (хрома, никеля, свинца, кадмия, ртути и др.). При возрастающем уровне эвтрофикации прибрежных вод зачастую отмечается рост его численности и биомассы. Нереис достаточно устойчив к действию нефти, встречаясь в районах со значительным содержанием углеводородов в донных осадках.

ГЛАВА 2. Материалы и методы.

Для лабораторных экспериментов неполовозрелых особей *N. diversicolor* отлавливали в кутовой части б. Стрелецкая уреза воды. Опыты проводили в аквариальных условиях при температуре воды близкой к таковой в прибрежной зоне моря. Грунт, используемый для экспериментов, освобождали от макроорганизмов просеиванием через сито с ячейей 1 мм. Для сбора фекалий, нере-

исов пересаживали из грунта в емкость с чистой морской водой, и через сутки со дна емкости пипеткой собирали фекалии. При проведении экспериментов использовались конструкции собственной разработки.

В воздушно-сухих пробах донных осадков и фекалий определяли углеводоподобные соединения триптофановым методом [Агатова, Полуяктов, 1980], белковоподобные соединения методом Лоури [Агатова, Андреева, 1980], соединения липидно-углеводородного комплекса экстрагировали из фекалий, грунта и тканей нереисов хлороформ-метанольной (2:1) или хлороформ-этанольной (1:1) смесью с гравиметрическим окончанием анализа. Липидные экстракты разделяли методом тонкослойной хроматографии с последующей денситометрией [Копытов, 1983]. В отдельных экспериментах хлороформенные экстракты исследовали на инфра-красном спектрофотометре "Specord 75 IR" и спектрофлуориметре "Hitachi MPF-4" (длина волны возбуждения 290 нм).

Проведен 21 эксперимент продолжительностью от 7 суток до 4 месяцев, при этом в 5 изучалось поведение *N. diversicolor* в загрязненных грунтах, в 3-х - состав тканей, в 6 - состав фекалий, в 20 - характеристики грунта. В экспериментах было использовано около 500 экв. нереисов. Обработано более 330 проб, в том числе 33 пробы тканей *N. diversicolor*, 35 - фекалий, 264 - грунта. Достоверность отличия средних оценивалась по критерию Стьюдента [Парчевская, 1977]. Статистические расчеты, корреляционный и регрессионный анализ проводились на ЭВМ "Amstrad PC-XT" с использованием программ, подготовленных Драенко С. А. (ИИБУМ).

При проведении бентосной съемки в б. Стрелецкая пробы отбирали водолазным дночерпателем типа "кошелек" площадью $0,08\text{ м}^2$ по три повторности в каждой точке, макровзобентос отмывали на системе из двух сит с диаметром ячеек 5 и 1 мм.

ГЛАВА 3. Поведение нереиса в загрязненном грунте.

Наблюдения проводили при помощи устройства, имеющего вид "кассеты", состоящей из двух стеклянных пластин 10×20 см, соединенных зажимами. Внутренняя полость между пластинами, шириной около 3-4 мм, заполнялась грунтом. После этого кассета

опускалась вертикально в сосуд с морской водой и в нее сажали подопытного червя. В грунте с содержанием хлороформного битумоида (ХВ) 0,5 мг/г сухого осадка, и с добавлением сырой нефти (7,0 мг/г), глубина проникновения нереисов практически не различалась и составляла около 15 см. Черви способны были прокладывать ход норы в обоих направлениях через загрязненный слой (ХВ 41,5 мг/г), расположенный в центре кассеты с чистым грунтом. При послойном расположении грунта (в верхнем слое содержание ХВ 0,5 мг/г и далее вглубь - 2,3, 4,8, 11,8 и 18,6 мг/г) нереисы прокладывали норы до 4 слоя. Глубина проникновения не отличалась существенно от контроля (только чистый грунт) и определялась, очевидно, плотностью осадка.

При рассмотрении возможности заселения нереисами грунтов с различным уровнем загрязнения, подопытных животных запускали в аквариум, где степень загрязнения возрастала от одной стенки к другой по секторам (1 сектор - ХВ 0,5 мг/г, сектора 2-5 с добавлением сырой нефти соответственно 0,75, 1,5, 3 и 6 г на каждые 100 г сырого грунта). Перегородок между слоями грунта не было, чтобы животные могли свободно перемещаться под поверхностью грунта. Через 10 суток из аквариума по секторам извлекали грунт и подсчитывали количество животных. Осредненные результаты по двум одинаковым экспериментам: 1 сектор - 41,5±8,4%, 2-й - 4,2±2,1%, 3-й - 0, 4-й - 16,7±4,3%, 5-й - 37,6±6,4% от количества подопытных животных.

Таким образом, уровень загрязнения донных осадков, встречающийся в естественных условиях, не препятствует проникновению *N. diversicolor* в грунт, и в условиях постоянной смены воды не оказывает существенного влияния на его поведение.

ГЛАВА 4. Изучение изменений в тканях и фекалиях *Nereis diversicolor* под воздействием загрязнения.

4.1. Исследование тканей.

Нефть и нефтепродукты вызывают изменения как общего количества жира в организме, так и содержания отдельных липидных фракций [Миронов, Щекатурина, 1985]. С другой стороны, содержание липидов является одной из важных причин, определяющих накопление углеводов [Щекатурина, 1984].

В экспериментах, проводимых в зимний период, нереисов содержали в грунте из загрязненного района (ХВ 22,38 мг/г), а контролем служили полихеты в грунте из их места обитания (ХВ 3,61 мг/г). Через месяц определяли фракционный состав липидов в тканях нереисов. Содержание углеводов в тканях червей в контроле и опыте составляло 0,45 мг/г сырого веса (табл. 1). В составе липидов у опытных животных возрастало содержание фосфолипидов, стеринов, жирных кислот и их эфиров по отношению к контрольным. Количество ароматических соединений в грунте в опыте в 10-15 раз больше, чем в контроле. Несмотря на это, в тканях опытных нереисов не отмечено увеличение содержания ароматических углеводов по сравнению с контролем.

При экспериментальном внесении нефти в грунт (0,5 мл на

Таблица 1. Фракционный состав экстракта из тканей нереисов.

| Условия | Состав липидной фракции | | | | | | | | Сумма липидов | УВ |
|----------|-------------------------|------|------|-------|------|------|------|------|---------------|------|
| | н/и | ФЛ | ХСТ | В+ЭСТ | МГЛ | ДГЛ | ТГЛ | СЖК | | |
| А (%) | | | | | | | | | | |
| Контр. | 4,5 | 34,9 | 29,7 | 5,4 | 0,1 | 0,3 | 16,3 | 4,3 | 95,6 | 4,4 |
| Опыт | 3,3 | 34,8 | 28,5 | 0,9 | 0,4 | 0,3 | 18,3 | 7,9 | 96,6 | 3,4 |
| В (мг/г) | | | | | | | | | | |
| Контр. | 0,46 | 3,53 | 3,01 | 0,55 | 0,01 | 0,03 | 1,65 | 0,44 | 9,67 | 0,45 |
| Опыт | 0,74 | 4,65 | 3,81 | 0,12 | 0,06 | 0,03 | 2,45 | 1,07 | 12,92 | 0,45 |

ФЛ - фосфолипиды, ХСТ - холестерин, МГЛ, ДГЛ, ТГЛ - моно-, ди- и триглицериды, СЖК - свободные жирные кислоты, ЭЖК - эфиры жирных кислот, В+ЭСТ - воска и эфиры стерина, УВ - углеводы, н/и - неидентифицированные фракции

Таблица 2. Фракционный состав липидов, выделенных из тканей *N. diversicolor*, содержащихся в различных грунтах (И - исходные, К - контроль, О - опыт).

| Условия | Время, сут. | Фракции липидов, % | | | | | | | | | |
|---------|-------------|--------------------|------|------|-------|------|-----|------|------|-----|------|
| | | н/и | ФЛ | ХСТ | В+ЭСТ | МГЛ | ДГЛ | ТГЛ | СЖК | ЭЖК | УВ |
| И | 0 | 3,1 | 20,5 | 21,4 | 5,7 | 11,9 | 7,9 | 7,8 | 13,7 | 7,4 | 0,6 |
| К | 1 | 10,9 | 32,8 | 22,8 | 5,2 | 11,3 | 1,6 | 5,0 | 8,4 | 3,1 | - |
| | 7 | - | 10,4 | 37,1 | 4,0 | - | - | 3,4 | 25,6 | 2,8 | 16,9 |
| | 15 | 9,7 | 23,1 | 11,7 | 4,6 | 0,3 | 0,6 | 3,4 | 35,7 | 8,9 | 2,3 |
| О | 1 | 13,5 | 31,8 | 15,9 | 5,2 | 3,6 | 4,4 | 17,8 | 4,0 | 3,8 | - |
| | 7 | 9,4 | 11,3 | 24,2 | 5,1 | 3,7 | - | 2,3 | 38,1 | 4,7 | 1,2 |
| | 15 | 6,0 | 11,6 | 19,4 | 5,7 | 6,7 | 1,1 | 2,4 | 36,7 | 9,0 | 2,2 |

100 г сырого грунта) в тканях нерисов (табл. 2) наблюдалось уменьшение относительного содержания моно-, ди- и триглицеридов, полярных липидов по сравнению с исходными животными, возрастала доля жирных кислот в липидной фракции. Кроме того в опыте снижалось соотношение холестерина/фосфолипиды по сравнению с контролем. Относительное содержание углеводов в липидной фракции у исходных животных невелико (0,6%). В дальнейшем количество углеводов в воарастало но к концу эксперимента у опытных полихет было на уровне значений контроля.

4.2. Исследование состава органического вещества фекалий *N. diversicolor*.

Известно, что нефть в значительной степени трансформируется, проходя через желудочно-кишечный тракт моллюсков-фильтраторов [Миронов, 1985; Шекатурина, 1988]. В спектре экстракта фекалий нерисов, обитавших в грунте с содержанием углеводов 19-21 мг/г сух. осадка, основной максимум флуоресценции отмечен при длине волны 440 нм и второй, более слабый, при 485 нм, соответствующий максимуму флуоресценции нефти (480-490 нм). Учитывая, что максимум флуоресценции биогенных углеводов по сравнению с антропогенными имеет сдвиг на 50 нм в коротковолновую область [Ершов, 1983], положение основного максимума флуоресценции фекалий нериса может указывать на то, что в продуктах выделения содержатся в основном углеводороды, в значительной степени подвергшиеся микробиологической или иной биогенной трансформации.

В эксперименте (декабрь-январь) *N. diversicolor* содержали в грунте из их места обитания (контроль) и грунте из сильно загрязненного района (опыт). Содержание органических соединений в фекалиях полихет в начале эксперимента было выше, чем в грунте (за исключением УВ в опыте), через месяц - как правило ниже (табл. 3). В фекалиях как контрольных так и опытных животных со временем уменьшалось содержание белков и углеводов (БЮ и УЮ) по сравнению с исходными значениями. Возрастание содержания соединений липидно-углеводородного комплекса (ЛЮ и УВ) в фекалиях опытных животных по сравнению с контролем связано, прежде всего, с увеличением количества углеводов.

Несмотря на равенство абсолютного содержания липидов в фека-

Таблица 3. Содержание основных классов органических соединений (мг/г) в грунте и фекалиях *Nereis diversicolor*.

| Вре- мя, сут. | Ус- ло- вия | Тип соединений | | | | |
|---------------------|---------------------|----------------|-------|-------|-------|--|
| | | БКС | УПС | ЛПС | УВ | |
| Г р у н т | | | | | | |
| 0 | К | 2,60 | 5,26 | 2,82 | 3,10 | |
| 0 | О | 3,12 | 7,19 | 7,65 | 19,20 | |
| 28 | К | 3,90 | 7,75 | 4,09 | 13,20 | |
| 28 | О | 4,33 | 7,62 | 9,00 | 21,59 | |
| Ф е к а л и и | | | | | | |
| 0 | К | 14,95 | 25,32 | 33,36 | 4,64 | |
| | О | 13,32 | 20,09 | 19,23 | 4,96 | |
| 14 | О | 5,21 | 11,02 | 68,83 | 23,56 | |
| 28 | К | 4,75 | 3,92 | 3,48 | 2,53 | |
| | О | 5,73 | 7,40 | 7,05 | 13,04 | |

лиях червей в контроле и опыте в начале эксперимента, соотношение различных фракций (фосфолипиды, стерины, жирные кислоты, триглицериды и др.) в них было примерно одинаково. Через две недели в фекалиях полихет из грязного грунта увеличивается абсолютное содержание всех компонентов, но сохраняется преобладание липидов над углеводородами. По окончании эксперимента в составе липидно-углеводородного комплекса фекалий нереисов в загрязненных грунтах по сравнению с контролем возрастает относитель-

ное содержание свободных жирных кислот и их эфиров, отмечается тенденция снижения относительного содержания полярных липидов. Абсолютное содержание всех компонентов липидной фракции в опыте и контроле через 28 сут. уменьшается. Проходя через кишечник червей, липидно-углеводородная фракция грунта претерпевает определенные изменения, приводящие к возрастанию количества углеводов в фекальных массах, что наиболее четко видно в загрязненных грунтах. В фекалиях опытных животных отмечено увеличение содержания углеводов до 13,0 мг/г, что к концу эксперимента составляет около 65% всей липидно-углеводородной фракции против 20% в начале. В фекалиях контрольных животных в это же время относительное содержание углеводов составляло 42%. Учитывая, что 1 мг экскрементов нереисов образуется при потреблении 2,8 мг грунта [Яблонская, 1952], количество углеводов, выделяемых нереисами в фекалиях, в 1,9-14,6 раз мень-

ше количества углеводов, потребленных с грунтом.

При содержании нереисов в грунте с различным содержанием нефти (2,68 мг/г - контроль и 5,94 и 8,25 мг/г - опыт) в липидной фракции фекалий количество углеводов составляло 62,2-70,9%. Ароматические соединения в фекалиях полихет не обнаружены, несмотря на то, что в грунте отмечались в значительном количестве. Максимумы спектров флуоресценции экстрактов фекалий в контроле и опыте имели сдвиг около 30 нм в коротковолновую область по сравнению со спектрами грунта, однако, в условиях большего загрязнения этот сдвиг выражен слабее.

Учитывая, что донные осадки загрязняются тяжелыми нефтяными фракциями, в грунт из условно чистого района вносили при тщательном перемешивании нефтяные смолы (содержание хлороформенного битумоида в грунте возрастало до 7,0 мг/г) и помещали в них нереисов. Контролем служили нереисы в грунте без нефтяных смол (ХВ 3,3 мг/г). Эксперименты проводили в весенний сезон, продолжительность опыта 10 сут. Липидные экстракты фекалий исследовали методом ИК-спектроскопии.

Для спектров всех экстрактов характерно присутствие полос поглощения кислородсодержащих структур, связей С-С ароматических соединений и групп CH_2 и CH_3 . В спектре экстракта исходных фекалий отмечено наличие карбоксильных групп (полоса 1700 см^{-1} - кислоты, альдегиды, кетоны), а полоса при 1150 см^{-1} относится к связям С-О сложных эфиров, видимо фталатов (Беллами, 1953). Наличие ароматических связей С-С, группы С-О и длинных парафиновых цепей (полоса 720 см^{-1}) в структуре экстракта из фекалий полихет может быть обусловлено наличием примеси водорослевого материала (Шакс, Фрайзулина, 1974). Остатки водорослей в большом количестве присутствовали в донном осадке в месте обитания червей. В фекалиях нереисов в опыте отмечено увеличение значений оптических плотностей в полосе поглощения кислородсодержащих групп и ароматических соединений. Однако, не отмечены полосы поглощения замещенных ароматических соединений ($850, 755$ и 700 см^{-1}), присутствующие в спектрах битумоидов грунта.

ГЛАВА 5. Изменения содержания органических соединений в грунте под влиянием нерейсов.

В экспериментах по изучению участия *N. diversicolor* в преобразовании внесенных в грунт нефтяных смол, анализ грунта проводили перед началом эксперимента и по его завершении в опыте (грунт с добавлением нефтяных смол и нерейсами, ХВ 7,0 мг/г), контроле 1 (грунт с нерейсами без добавления смол, ХВ 3,2 мг/г) и контроле 2 (грунт с нефтяными смолами без червей, ХВ 7,0 мг/г). Общее содержание хлороформенного битумоида в грунтах снижается через 10 суток, однако в грядных грунтах остается выше, чем в чистом.

По данным ИК-спектроскопии, в битумоидной структуре исходного чистого грунта значительна роль групп $-CH$, $-CH_2$ и $-CH_3$ насыщенных систем (п. п. 3000-2800 cm^{-1}) при заметном участии длинных парафиновых цепей, обнаруживаются различные типы ароматических соединений (1600, 1550, 850, 755 cm^{-1}). Роль кислородсодержащих соединений также довольно велика. Через 10 суток в чистом грунте с полихетами по сравнению с исходным снижается количество кислородсодержащих соединений и групп $-CH_3$, уменьшается оптическая плотность в полосах поглощения 1600, 1550, 850 и 755 cm^{-1} ароматических связей. Отмечено снижение доли длинных парафиновых цепей.

Общее содержание хлороформенного битумоида одинаково в загрязненных грунтах в конце эксперимента в присутствии нерейсов и без них (3,9-4,0 мг/г), однако ИК-спектры экстрактов грунта существенно различаются. В присутствии полихет ниже значения оптических плотностей в полосах поглощения кислородсодержащих (1700, 1690, 1150 cm^{-1}) и ароматических соединений (1550, 850, 755, 700 cm^{-1}).

Влияние полихет на процессы трансформации загрязнения в донных осадках может изменяться в зависимости от концентрации загрязняющих веществ. В связи с этим, проводили эксперименты с грунтами, содержащими различные количества нефти, подверженной длительному процессу естественного выветривания (табл. 4). В емкости с грунтом подавали постоянный равномерный проток морской воды, в каждом варианте одну емкость оставляли не заселенной (контроль), а в другую запускали нерейсов (опыт).

Табл. 4. Содержание органических соединений (мг/г) в верхнем слое грунта.

| Условия | | ХВ | УПС | БПС |
|---------|-------|-------|-------|-------|
| Ил 1 | Исх. | 0,58 | 9,09 | 0,991 |
| | Конт. | 2,91 | 13,87 | 1,557 |
| | Опыт | 1,00 | 10,38 | 0,912 |
| Ил 2 | Исх. | 25,75 | 8,44 | 0,975 |
| | Конт. | 22,07 | 11,94 | 1,432 |
| | Опыт | 22,78 | 11,86 | 1,350 |
| Песок 1 | Исх. | 0,08 | 0,26 | 0,030 |
| | Конт. | 4,37 | 1,56 | 0,252 |
| | Опыт | 1,14 | 0,68 | 0,066 |
| Песок 2 | Исх. | 0,99 | 0,34 | 0,035 |
| | Конт. | 3,57 | 1,43 | 0,217 |
| | Опыт | 1,73 | 0,92 | 0,117 |
| Песок 3 | Исх. | 2,60 | 0,33 | 0,033 |
| | Конт. | 10,48 | 2,13 | 0,234 |
| | Опыт | 3,66 | 2,02 | 0,300 |
| Песок 4 | Исх. | 7,16 | 0,41 | 0,038 |
| | Конт. | 7,97 | 1,90 | 0,302 |
| | Опыт | 6,60 | 2,82 | 0,297 |
| Песок 5 | Исх. | 17,09 | 0,33 | 0,036 |
| | Конт. | 9,76 | 1,43 | 0,134 |
| | Опыт | 9,72 | 1,77 | 0,177 |

Пробы грунта анализировали перед началом эксперимента и через 4 мес., причем в конце эксперимента отбирали отдельно пробы поверхностного (1-2мм) и глубинного слоев.

К концу эксперимента в нижнем слое грунта статистически значимых различий содержания органических соединений в контроле и опыте практически не отмечено. В верхнем слое грунта и в илах и в песках к концу эксперимента как правило накапливались БПС и УПС (табл. 4), причем в менее загрязненных грунтах значительно при отсутствии нерисов. В загрязненном илу и песках 3-5 вариантов количество этих соединений в контроле и опыте существенно не различалось. К концу

эксперимента содержание ХВ в верхнем слое в присутствии полихет ниже, чем в контроле, кроме наиболее загрязненных грунтов (ил 2 и песок 5). Разница содержания хлороформенного битумсида в контроле и в присутствии нерисов снижается с увеличением исходного содержания ХВ в грунте. Коэффициент корреляции этих величин составил -0,67. Получено уравнение, связывающее уровень концентрации ХВ в верхнем слое грунта и степень снижения накопления данных соединений:

$$Y = 28,04 - 1,39X, \text{ где}$$

Y - величина снижения содержания ХВ в верхнем слое грунта в присутствии nereid, мкг/г*сут.; X - исходная концентрация ХВ в грунте.

Так как в присутствие nereisов отмечаются определенные изменения не только в поверхностном, но и более глубоких слоях грунта, исследовали различия характеристик грунта в норках полихет и остальной толщ. Опыты проводили с различными грунтами, однако количество углеводородов в норках, как правило было выше, чем в остальной толще грунта (различия в основном не превышают 15-20%). Вместе с тем, спектры флуоресценции битумоидов из норки и толщ грунта несколько различаются. Так, битумоиды толщ грунта имеют два максимума флуоресценции при длинах волн 330 и 350 нм. В спектрах флуоресценции битумоидов в норках коротковолновый максимум сглаживается, и данный спектр имеет форму спектра флуоресценции битумоидов фекалий nereisов из загрязненных грунтов.

ГЛАВА 6. *Nereis diversicolor* как элемент системы гидробиологической очистки.

Способность гидробионтов-фильтраторов к очищению воды известна достаточно давно и в настоящее время начинает целенаправленно использоваться при разработке систем гидробиологической очистки (СГО) различных типов, в которых основным звеном являются мидии [Мионов, 1969, 1985]. Однако, в определенных условиях фекалии и псевдофекалии фильтраторов могут служить источником накопления органических веществ в донных осадках [Мионов, 1988; Makoto, 1980].

Нами изучалось влияние *N. diversicolor* на интенсивность накопления органических соединений в моделируемых условиях функционирования СГО. В установку, состоящую из четырех емкостей (10 л) с грунтом (4-5 см) подсаживали проток из Севастопольской бухты, где уровень нефтяного загрязнения достаточно велик. В одной емкости (опыт 1) над грунтом на сетке размещали мидий, в другой (опыт 2) в грунт помещали полихет, в третьей (опыт 3) содержали совместно мидий и полихет, контроль был оставлен без макроорганизмов. Через месяц в нижнем слое грунта в весеннем эксперименте содержание различных классов органи-

Таблица 5. Содержание органических соединений в грунте, мг/г.

| Органиче- ские сое- динения | Нижний слой | | | | Верхний слой | | | |
|-----------------------------------|-------------|--------|--------|--------|--------------|--------|--------|--------|
| | К | Опыт 1 | Опыт 2 | Опыт 3 | К | Опыт 1 | Опыт 2 | Опыт 3 |
| | Весна | | | | | | | |
| БПС | 0,12 | 0,12 | 0,09 | 0,07 | 0,42 | 0,40 | 0,51 | 0,52 |
| УЮ | 1,09 | 0,81 | 1,30 | 1,89 | 5,03 | 9,02 | 2,92 | 1,83 |
| УВ | 0,10 | x | 0,13 | 0,07 | 1,45 | 1,39 | 1,09 | 1,11 |
| СМ | 0,17 | x | 0,05 | 0,11 | 1,64 | 1,44 | 0,86 | 1,01 |
| ЛПС | 0,50 | x | 0,32 | 0,30 | 2,47 | 2,24 | 1,45 | 1,80 |
| Сумма ОС | 1,98 | 1,43 | 1,88 | 2,44 | 11,02 | 14,63 | 6,83 | 6,28 |
| | Лето | | | | | | | |
| БПС | 0,21 | 0,28 | 0,24 | 0,23 | 2,16 | 2,48 | 2,35 | 2,55 |
| УПС | 0,36 | 0,51 | 0,79 | 0,60 | 4,10 | 4,67 | 5,70 | 5,03 |
| УВ | 0,19 | 0,18 | 0,14 | 0,09 | 2,11 | 3,74 | 1,13 | 2,95 |
| СМ | 0,27 | 0,31 | 0,23 | 0,16 | 2,67 | 2,83 | 3,92 | 4,46 |
| ЛПС | 0,34 | 0,35 | 0,20 | 0,13 | 1,60 | 2,57 | 1,89 | 1,55 |
| Сумма ОС | 1,37 | 1,62 | 2,08 | 1,33 | 12,63 | 16,59 | 15,00 | 15,86 |

x - не определяли

ческих соединений и их суммы (суммарное количество БПС, УЮ, ЛПС, УВ, СМ (смолы) - в дальнейшем сумма ОС) в опыте и контроле в основном характеризовались сходными величинами. Летом наблюдали увеличение УПС в емкости с нереисами по отношению к контролю, но в условиях совместного содержания мидий и нереид количество УЮ снижалось.

В верхнем слое грунта весной увеличивалось количество УЮ в присутствии мидий, тогда как в аквариуме с червями (опыт 2 и опыт 3) содержание УПС было значительно ниже, чем в контроле. Отмечено также статистически значимое снижение суммарного количества органических соединений (табл. 5). В летний период, в присутствии мидий отмечалось увеличение содержания соединений липидно-углеводородного комплекса, тогда как наименьшее содержание углеводов - в емкости с червями (опыт 2). Содержание углеводов в грунте опыта 3 значимо не отличается от контроля. Сумма ОС в различных условиях опыта летом выше, чем в контроле.

Таким образом, в присутствии полихет интенсивность накоп-

Таблица 6. Содержание органических соединений в верхнем слое грунта к концу эксперимента (мг/г).

| Условия | БПС | УПС | ЛПС | УВ | | | Сумма ОС |
|--------------|------|------|----------|-------|------|------|-------------|
| | | | | Сумма | Пар* | Ма** | |
| верхний слой | 0,51 | 4,82 | 1,18 | 1,06 | 0,80 | 0,26 | 7,35 |
| | | | Исходный | | | | |
| | | | Конец | | | | |
| Контроль 1 | 0,64 | 8,56 | 2,72 | 3,35 | 3,24 | 0,11 | 15,27 |
| Контроль 2 | 0,64 | 7,84 | 1,89 | 1,54 | 1,47 | 0,07 | 11,91 |
| Контроль 3 | 0,74 | 8,55 | 6,15 | 6,45 | 5,86 | 0,59 | 21,89 |
| Опыт 1 | 0,77 | 8,55 | 1,90 | 2,03 | 1,94 | 0,09 | 13,25 |
| Опыт 2 | 0,80 | 6,25 | 1,06 | 1,01 | 0,99 | 0,02 | 9,12 |
| Опыт 3 | 0,58 | 5,39 | 2,10 | 1,38 | 1,29 | 0,09 | 9,45 |

*Парафины; **Моноароматические соединения

ления органических соединений в донных осадках, определяемая фильтрационной активностью мидий, снижалась: весной до значений ниже контроля, летом - близких к контролю. Содержание углеводов в верхнем слое грунта при совместном содержании мидий и полихет всегда было ниже, чем в аквариумах только с мидиями.

Следующие эксперименты отличались тем, что помимо трех вариантов опыта (опыт 1, 2 и 3 аналогично предыдущему эксперименту), имелось три варианта контроля: контроль 1 - емкость только с морской водой, контроль 2 - грунт без макроорганизмов, контроль 3 - емкость без грунта, в которой находились мидии. Кроме того, в подаваемую воду через распределительную емкость добавлялась по каплям нефтяная эмульсия из сосуда с содержанием нефти 10 мл на 1 л воды. Пробы грунта отбирали перед началом эксперимента и через две недели. По окончании эксперимента также брались пробы осевшей вавеси на дне емкостей в контроле 1 и 2.

К концу эксперимента в нижнем слое грунта в опыте 3 (мидии и nereis) содержание БПС было ниже, чем в контроле. В верхнем слое грунта (табл. 6) при совместном содержании мидий и nereis уменьшалось количество БПС, УПС по сравнению с контролем, снижалась интенсивность накопления углеводов.

Количество последних в верхнем слое грунта существенно ниже в присутствии червей, чем в контроле.

ГЛАВА 7. Оценка роли *N. diversicolor* в трансформации вещества и энергии бентосным сообществом.

В ходе проведения бентосных исследований 1988-1992 г. *N. diversicolor* встречался в небольшом количестве (численность 6-30 экз/м², биомасса менее 0,1 г/м²) на илах в сильно загрязненных участках Севастопольской и Стрелецкой бухт, в Камышовой и Балаклавской бухтах. Чаще, чем в других районах, он отмечался в устье бухты Южная, где содержание хлороформенного битумоида в грунте достигает 3,0 г/100г сухого осадка. Здесь максимальные значения биомассы нереиса за указанный период составляют 2,9 г/м². Еще выше - 6,3 г/м², биомасса *N. diversicolor* в вершинной мелководной части б. Омега. Дно в этом районе покрыто зарослью морских трав, а содержание битумоида значительно ниже, чем в перечисленных выше районах. Плотное поселение нереис образует на глубинах 0-1,5 м в кутовой части б. Стрелецкая (содержание хлороформенного битумоида в грунте 0,3-1,5 г/100г).

В июне 1990 г. в вершине б. Стрелецкая по трем поперечным разрезам было сделано 8 станций. Общая площадь исследованного района составляет около 10 тыс. м² в районе станций 1-5 (участок 1) и около 4 тыс. м² - станций 6-8 (участок 2).

Общая биомасса макрозообентоса в исследованной части бухты изменялась в пределах 15,56-128,48 г/м², более высокие значения биомассы отмечались ближе к центральной части бухты. Численность макробентосных животных существенно различалась по станциям - 750-5019 экз/м². Высокие значения численности определялись большим количеством моллюсков *Hydrobia acuta* и полихет *N. diversicolor* и *S. capitata*. Эти виды, а также *Cerastoderma glaucum* отмечены всех станциях. Количество видов макрозообентоса при продвижении к вершине бухты снижается. В районе ст. 1-5 на илу с зарослями zostеры и рдеста основной комплекс видов *Cerastoderma-Abra-Nereis-Hydrobia*, который составлял 98% биомассы и 90,4% численности бентоса. На станциях, расположенных ближе к центральной части бухты (участок 2),

где в донных осадках увеличивается доля песчаных фракций, а брѣ не встречена, хотя значительно возрастала биомасса других моллюсков - *Nana donovani*, *Mytilaster lineatus*, *Polititapes* sp. *Chamelea gallina*. Количественные показатели популяции нереиса возрастают при продвижении к вершине бухты, максимальные значения численности и биомассы - соответственно 2901 экз/м² и 16,48 г/м². Средний вес нереисов 2,3-12,7 мг на ст.1-5 и 1,1-1,7 мг на ст.6-8.

С использованием показателя функционального обилия [Мальцев, 1990] показано, что в мелководной части (участок 1) поток энергии через популяцию нереиса составляет в среднем 21% общего потока через сообщество (на отдельных станциях до 43%). На ст.6-8 эти значения на порядок ниже - в среднем 2,4%.

Оценку роли нереиса в утилизации органического вещества проводили по расчету количества ассимилируемой энергии по сумме продукции и трат на обмен. Величину продукции рассчитывали по удельной суточной продукции 0,03 для летнего периода [Заика, 1972; Крылова, 1980] и средних значений биомассы нереиса для различных участков бухты. Полученные величины составили 0,236 и 0,020 г/м²сут. в сыром весе для участка 1 и 2 соответственно, что с учетом среднего содержания воды в теле нереисов [Oglesby, 1978], в сухом весе 0,044 и 0,004 г/м²сут. Калорийность сухих тканей нереиса 5,04-5,05 кал/мг [Ивлева, 1972; Карзинкин, Махмудов, 1968], следовательно, траты на рост популяции *N. diversicolor* составят 222,2 и 20,2 кал/м²сут на участках 1 и 2 соответственно.

Интенсивность трат на обмен оценивали двумя способами: 1) по коэффициенту K_2 [Ивлева, 1972; Крылова, 1980] и рассчитанной величине продукции; 2) по количеству потребляемого кислорода в зависимости от веса нереисов [Иванова, 1969]. По 1 способу интенсивность трат на обмен составила 0,035 и 0,003 г/м²*сут. сухого вещества для участков бухты 1 и 2 или 189,3 и 17,2 кал/м²*сут. соответственно. Потребление кислорода 1 экз. *N. diversicolor* в этих районах оценено в 0,586 и 0,184 мкл/час., а траты на обмен с учетом оксикалорийного коэффициента и средней численности - 95,8 и 10,0 кал/м²*сут. Приняв, что 1 мл кислорода идет на окисление 1 мг сухого органического вещества, получим величину энергетического обмена

популяции нереиса 0,020 и 0,002 г/м²*сут. сухого вещества на участках 1 и 2 бухты. Средние по двум способам расчета значения энергетического обмена на разных участках бухты 27,5 и 2,5 мг/м²сут. Таким образом, интенсивность ассимиляции в летний период за сутки для нереисов на участках 1 и 2 составляет 71,5 и 6,7 г/м², или с учетом площадей районов 715 г и 26 г сух. вещества (6140 и 220 ккал соответственно).

Суточное потребление грунта нереисами составляет 300 % от сырого веса тела и 570 % от сухого [Яблонская, 1952]. Средняя концентрация углеводов в грунте 7,5 мг/г. В течение суток нереисами потребляется 20,9-135,5 мг/м² углеводов на ст. 1-5 и 2,4-11,03 мг/м² на ст. 6-8. Как было показано в гл. 4, в фекалиях выделяется углеводов значительно меньше, чем попадает в организм с грунтом (в среднем в 3 раза, если не учитывать наиболее высокие значения, которые могут быть обусловлены условиями эксперимента). Таким образом, величина трансформации углеводов по всему району (14 тыс. м²) составит около 450 г/сут., что равноценно переработке 900 м³ сточных вод с концентрацией нефтепродуктов в 10 раз превышающей ПДК.

Фильтрационная активность полихет может играть важную роль в поддержании качества воды в водной системе [Davies et al., 1989]. Численность сестонофагов на участках 1 и 2 кутовой части б. Стрелецкая существенно различается. Для приближенной оценки биофильтра моллюсков приняли их фильтрующую способность равной для мидий соответствующих размеров [Миронов, 1948]. Результаты расчетов показали снижение биофильтра моллюсков более чем в 2 раза на участке 1 по сравнению с участком 2 (0,81 и 1,89 м³/сут. м²). С другой стороны, здесь же значительно выше численность нереиса. Величина фильтрующей активности нереиса, рассчитанная с использованием различных подходов [Risgard, 1991] составила 0,97 м³/сут. м² на участке 1 и 0,21 м³/сут. м² на участке 2. Т.о., равница суммарного биофильтра (с учетом и моллюсков-сестонофагов и нереиса) на участках 1 и 2 составляет 10-20%. Следовательно, фильтрационная активность популяции *N. diversicolor* может в значительной степени компенсировать уменьшение биофильтра при изменении численности моллюсков.

ВЫВОДЫ

1. Присутствующие в природных условиях уровни загрязнения грунтов (до 2 г/100 г) и характер загрязнения (преимущественно тяжелыми нефтяными фракциями) не оказывают существенного влияния на поведение *N. diversicolor*.

2. Не отмечено существенного накопления углеводов (в том числе ароматических соединений) в тканях нереисов в естественных условиях загрязненных грунтов и экспериментах с добавлением сырой нефти.

3. В фекалиях нереисов при обитании в загрязненном нефтепродуктами грунте увеличивается содержание углеводов в составе липидно-углеводородной фракции до 65-70%. Однако, количество углеводов в фекалиях нереисов в 2-14 раз меньше, чем потребляется с грунтом.

4. При прохождении по кишечному тракту нереисов углеводов происходит их трансформация, на что указывают сдвиг в коротковолновую область максимума флуоресценции экстрактов фекалий относительно максимума флуоресценции соответствующего грунта, а также различия характеристик ИК-спектров экстрактов фекалий и грунта.

5. В присутствии нереисов уменьшается содержание хлороформного битумоида в загрязненных донных осадках. В составе битумоидов грунта снижается количество кислородсодержащих и ароматических соединений.

6. В условиях деятельности фильтраторов, приводящей к осаждению значительного количества продуктов выведения, нереисы способны снижать интенсивность накопления органических соединений, в том числе углеводов, в грунте.

7. Поток энергии через популяцию нереиса составляет от 2 до 40% общего потока через бентосное сообщество в различных участках исследованного района. С учетом полученных экспериментальных данных, на всей исследованной площади (14 тыс. м²) с участием нереисов трансформируется около 450 г углеводов в течение суток. Фильтрационная активность нереисов может в значительной степени восполнять снижение биофильтра сестонофагов.

8. *N. diversicolor* является перспективным при разработке

мероприятий, направленных на повышение самоочищающей способности морской среды, и может быть использован в качестве одного из авеньев в системах гидробиологической очистки морских вод.

Список работ по теме диссертации.

1. Химический состав фекалий *Nereis diversicolor* O.F.Muller, обитающих в грунтах различной степени нефтяного загрязнения / "Проблемы современной биологии. Труды 18 конф. молодых ученых биол. ф-та МГУ, Москва, 20-24 апр. 1987, ч.1, с.51-53". - М.: МГУ, 1987 (Деп. ВИНТИ 14.09.87 N 6652-B87)

2. Некоторые вопросы взаимодействия нереид с нефтяным загрязнением / Тез. докл. 3 научно-технической конференции молодых ученых Крыма. - Севастополь, 1987, с. 57.

3. Участие нереисов в преобразовании нефтяных смол в морских донных осадках // Гидробиол. журн. - 1990. - 26, N 2. - С.60-64. (в соавторстве с Георга-Копулюс Л. А.)

4. Морские полихеты как одно из возможных авеньев в системах гидробиологической очистки морских нефтесодержащих вод // Химия и технология воды. - 1990. - 12, N 12. - С.1118-1121.

5. Многощетинковый червь нереис: физиология, биология, экология и взаимодействие с антропогенным загрязнением. - Киев, "Наукова думка". - 152 маш. стр. (в печати).

Ab 27.988

Ab 27.988

Второй том

С. 1-2

Содержание

С. 3-4

С. 5-6

С. 7-8

С. 9-10