

УДК 582.26 : 628.5

**ВЛИЯНИЕ РАСТВОРЕННЫХ НЕФТЕПРОДУКТОВ
НА МОРСКИЕ И ПРЭСНОВОДНЫЕ
ОДНОКЛЕТОЧНЫЕ ВОДОРОСЛИ**

В. Н. Ткаченко, Л. Е. Айвазова

С каждым годом нефть занимает все более видное место в мировой экономике, а добыча, переработка и транспортировка этого сырья непрерывно возрастают. Поступление нефти и нефтепродуктов в Мировой океан приближается к 10 млн. т (Нельсон-Смит, 1972). Проблема загрязнения океана и особенно шельфовых морей нефтью и нефтепродуктами приобрела угрожающий характер. Установлено, что загрязнение вод отдельных районов океана, а также окраинных и средиземных морей часто превышает предельно допустимые концентрации. Нефть и нефтепродукты губительно воздействуют на все звенья биологической цепи.

Наша задача — исследовать воздействие растворимых нефтепродуктов на морской и пресноводный фитопланктон, который на 90% определяет первичную продукцию живого вещества в море. Кроме того, его участие в процессе фотосинтеза обеспечивает около 70% кислорода на земле.

Воздействие растворенных нефтепродуктов на фотосинтетическую деятельность фитопланктона мало изучено. В исследованиях последних лет подчеркивается возможность существенного влияния присутствующих в морской воде нефти и нефтепродуктов на первичную продукцию, численность и скорость деления одноклеточных водорослей. Так, Мак Калки (McCaulsy, 1966) указывает, что многие простейшие выживают в условиях нефтяного загрязнения рек, но наиболее чувствительные погибают. Было обнаружено (Caltsofi, Pritchard, Smith, Kochring, 1935), что развитие культуры *Nitzschia closterium* затормаживается при концентрации нефти выше 25%. Диатомовые водоросли *Ditylum brithwelli* (West) Grun, *Coscinodiscus granii* Gough, *Chaetoceros curvisetus* Cl. чувствительны к керосину и дизельному топливу, ядовитое действие которого проявляется через 24 ч. *Melozira moniliformis* (O. Mull) Ag, *Grammatophora marina* (Lyngb.) Kutz выносят присутствие нефтепродуктов в концентрации до 1%, хотя при более низких концентрациях наблюдается угнетение этих культур (Миронов, Ланская, 1967). Исследования влияния нефтепродуктов на развитие протококковых и сине-зеленых водорослей (Аксенова, Труфанова, 1971) показали, что они оказывают ингибирующее действие на сине-зеленые водоросли, начиная с первых суток, а на протококковые со вторых суток. Лакач (Lacaze, 1966) наблюдал подавление роста и клеточного деления морских диатомовых водорослей под действием 1%-ного экстракта сырой нефти.

Чувствительность фитопланктона к растворенным нефтепродуктам зависит от вида. По данным О. Г. Миронова (1972), у большинства исследуемых видов клеточное деление или отсутствовало, или замедля-

лось при концентрации нефтепродуктов 100 мкг/л. У более чувствительных видов рост и клеточное деление подавлялись при концентрации нефтепродуктов 0,01 мкг/л. При концентрации от 0,1 до 1000 мкг/л клетки гибли в зависимости от вида.

Методика исследования влияния различных концентраций нефти и нефтепродуктов на морской и пресноводный фитопланктон проста. О наличии токсического эффекта судят по морфологическому изменению клетки, по соотношению живых и мертвых клеток, по темпу роста клеток. Существует функциональный способ, при котором оценка угнетения фотосинтетической активности водорослей определяется соотношением между конечным содержанием кислорода в опытных склянках и содержанием его в контрольных.

Несомненные достоинства для оценки токсических эффектов в условиях низких концентраций токсиканта и при малых биомассах фитопланктона имеет радиоуглеродный метод, который, однако, не получил широкого распространения в практике токсикологических исследований. Высокая чувствительность этого метода позволяет регистрировать слабые изменения скорости первичного продуцирования органического вещества под действием различных факторов.

Мы использовали этот метод при работе с культурами одноклеточных водорослей для оценки действия растворенных нефтепродуктов. Опыты проводились на культурах, выращенных в лаборатории в условиях равномерного освещения и постоянной температуры, оптимальных для данного вида. Объектами исследования служили черноморские диатомовые и перидиниевые водоросли (*Ditylum brighwelli* (west) Grun, *Coscinodiscus granii* Gough, *Geradinium fissum*), каспийские (*Ankistrodesmus convolutus*) и пресноводные водоросли (*Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus obliquus* (Turp) (Kuts), взятые в логарифмической фазе роста.

Опыты проводились в нескольких сериях, в трехкратной повторности в конических колбах объемом 50 мл при искусственном освещении и постоянной температуре. Исходными питательными средами были среда Гольдберга, приготовленная на стерильной черноморской ($S = 16\%$) и каспийской воде ($S = 12\%$), и среда Прата для пресноводных водорослей.

Нефтепродукты готовили путем встряхивания сырой бакинской нефти с морской водой в соотношении 5:100; смесь отстаивалась в делительной воронке. Морская вода после отстаивания содержала около 30 мг/л растворенных нефтепродуктов.

В опытах исследовалось действие следующих концентраций нефтепродуктов: 0,05, что соответствует предельно допустимой концентрации (ПДК), 0,5 (10 ПДК), 5 (100 ПДК), 10 (200 ПДК) и 25 мг/л (500 ПДК).

В исходные объемы (20 мл) со средой Гольдберга, приготовленной на черноморской воде, вводили растворенные нефтепродукты в указанных выше концентрациях и культуру водорослей из расчета от 100 до 300 клеток в 1 мл в зависимости от вида. Одновременно наблюдали за состоянием водорослей в контроле. Пресноводные и каспийские водоросли *Ankistrodesmus* выращивали на среде Гольдберга, приготовленной на каспийской воде, и на среде Прата в больших объемах до концентрации 1000000 клеток в 1 мл и перед опытом разливали в колбы, куда добавляли растворенные нефтепродукты.

Полученные экспериментальные системы экспонировали в люминистате при температуре $20 \pm 1^\circ \text{C}$ и при интенсивности освещения $1 \cdot 10^5 \text{ эрг}/(\text{см}^2 \cdot \text{с})$. На свету системы выдерживали в течение 10 ч, а в темноте — 14 ч. После этого в каждую колбу добавляли по 0,8 мкКи

C^{14} (0,1 мл) в виде $NaHCO_3$ и экспонировали в течение 5 ч. Затем содержимое колб отфильтровывали через мембранный фильтр № 3 или 6 в зависимости от размеров клеток и измеряли их активность на счетной установке ДП-100 с торцевым счетчиком СБТ-7. Активность фильтров опытных образцов после вычитания собственного фона установки относили к активности фильтров в контрольных образцах. Полученное процентное отношение рассматривали как меру изменения фотосинтетической активности той или иной водоросли под действием определенных концентраций растворенных нефтепродуктов. Таким образом ставили суточные и недельные опыты. В случае длительных опытов (один месяц) еженедельно частично обновляли среду. В опытах с перидиниевыми водорослями $1/4$ объема (за неделю прирост клеток в контроле увеличивался приблизительно в 4 раза) отбирали в новую стерилизованную колбу, куда добавляли $3/4$ объема (15 мл) свежей среды Гольдберга с соответствующими количествами растворенных нефтепродуктов. В опытах с пресноводными и каспийскими водорослями отбирали пробы из расчета не более 1000000 клеток в 1 мл в новую стерилизованную колбу, добавляли свежую среду с определенным количеством растворенных нефтепродуктов. В оставшемся объеме в том и другом случае подсчитывали количество клеток и определяли фотосинтетическую активность данного вида водорослей. Результаты нанесены на графики.

Суточные опыты проводили с черноморскими диатомовыми, пресноводными и каспийскими водорослями. Рис. 1 иллюстрирует инги-

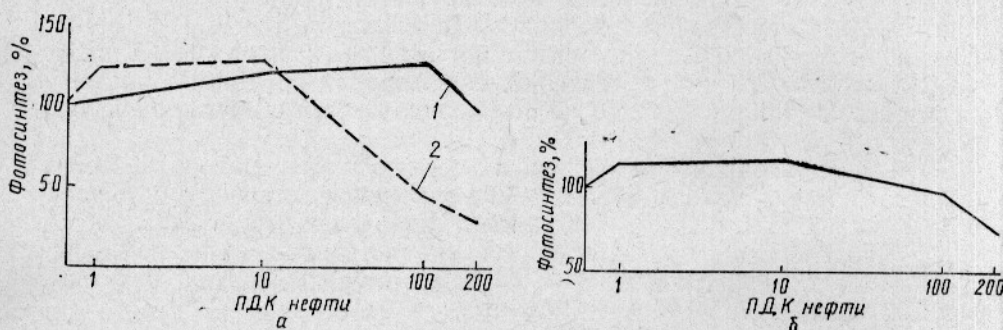


Рис. 1. Влияние растворенных нефтепродуктов на фотосинтез водорослей (суточные опыты):

а — пресноводных: 1 — *Chlorella*; 2 — *Scenedesmus*; б — каспийских.

бирующее действие растворенных нефтепродуктов на жизнедеятельность пресноводных и каспийских водорослей при концентрации 100 ПДК. Диатомовые водоросли (рис. 2) оказались более чувствительными, ингибирующее действие нефтепродуктов на их жизнедеятельность проявляется при концентрации 10 ПДК.

Таким образом, с увеличением концентрации растворенных нефтепродуктов угнетается фотосинтез приводимых выше видов водорослей (в отдельных случаях до 40% по сравнению с контролем).

Недельные исследования были проведены с диатомовыми водорослями и с пресноводной *Scenedesmus*. У *Ditylum breighwelli* при концентрации нефти, равной ПДК, наблюдается стимулирование фотосинтетической активности, которое с увеличением концентрации нефти сменяется резким ингибирующим действием.

Coscinodiscus (рис. 3) более чувствительна к действию растворенных нефтепродуктов, фотосинтез подавлялся уже при предельно допу-



Рис. 2. Действие различных концентраций нефти на фотосинтез диатомовых водорослей (суточные опыты): 1—Coccinodiscus; 2—Ditylum.

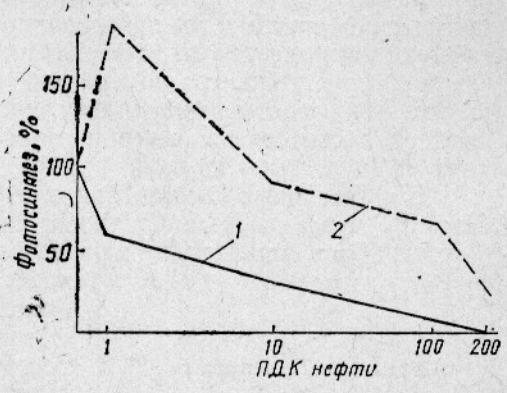


Рис. 3. Влияние различных концентраций нефти на фотосинтез (недельный опыт): 1—Coccinodiscus; 2—Ditylum

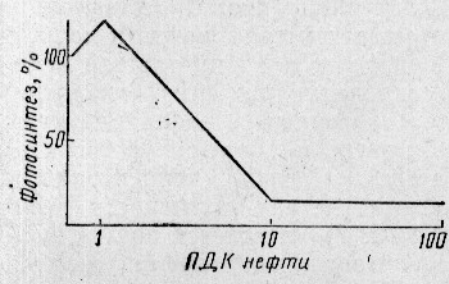


Рис. 4. Действие растворенных нефтепродуктов на Scenedesmus (недельный опыт)

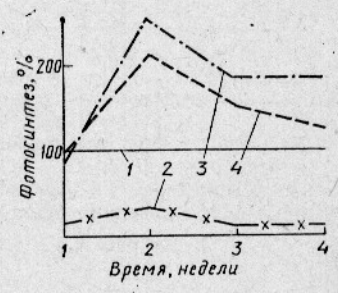


Рис. 5. Исследование длительного (один месяц) действия растворенных нефтепродуктов на перидиниевые водоросли: 1—контроль; 2—100 ПДК; 3—10 ПДК; 4—ПДК

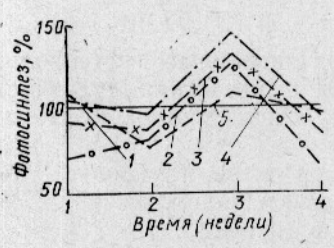


Рис. 6. Действие растворенных нефтепродуктов на фотосинтез Chlorella (месячный опыт): 1—контроль; 2—200 ПДК; 3—100 ПДК; 4—10 ПДК; 5—ПДК.

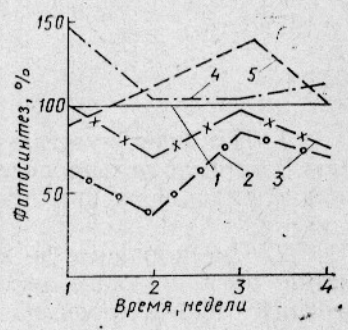


Рис. 7. Влияние растворенной нефти на фотосинтетическую активность Scenedesmus (месячный опыт). Обозначения те же, что и на рис. 6.

стимой концентрации растворенных нефтепродуктов. Кривая фотосинтетической активности пресноводной *Scenedesmus* (рис. 4) в общих чертах повторяет данные по диатоме *Ditylum*: стимулирование фотосинтеза при концентрации, равной ПДК, и угнетение с увеличением содержания растворенных нефтепродуктов. Угнетение фотосинтетической деятельности при высоких концентрациях нефти (200 ПДК) достигает 25%.

Для месячных опытов брали перидиниевые водоросли (*Geradanium fissum*), пресноводные *Chlorella*, *Scenedesmus* и каспийские *Ankistrodesmus*. При концентрации растворенных нефтепродуктов, равной ПДК и 10 ПДК, у перидиниевых водорослей (рис. 5) наблюдается стимулирование фотосинтетической активности, которая достигает максимума к концу второй недели, далее наступает угнетение. При концентрации 100 ПДК фотосинтез резко подавляется, а при 500 ПДК к концу первой недели водоросли полностью погибают.

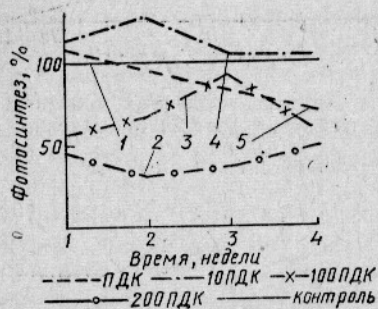


Рис. 8. Действие растворенных нефтепродуктов на каспийскую *Ankistrodesmus* (месячный опыт). Обозначения те же, что и на рис. 6.

Для *Chlorella* (рис. 6) характерно ингибирующее действие нефти в первую и вторую недели, к концу третьей недели стимулирование при всех концентрациях растворенных нефтепродуктов, к концу четвертой недели фотосинтез уменьшается при любой концентрации.

Фотосинтетическая активность *Scenedesmus* (рис. 7) угнетается при концентрации растворенных нефтепродуктов 100 и 200 ПДК на протяжении всего

опыта. Присутствие нефтепродуктов в предельно допустимой концентрации и концентрации 10 ПДК несколько стимулирует фотосинтез к концу третьей недели, особенно при ПДК. Затем фотосинтез снижается до уровня контроля.

Исследование у *Ankistrodesmus* (рис. 8) показало ингибирующее действие нефти при концентрациях 100 и 200 ПДК. Концентрация 10 ПДК стимулировала фотосинтез к концу второй недели, при ПДК — к концу первой недели с последующим подавлением фотосинтетической активности.

Выводы

1. Наиболее чувствительны к действию растворенных нефтепродуктов диатомовые водоросли, у которых фотосинтетическая активность подавлялась уже при предельно допустимой концентрации нефтепродуктов.

2. Пресноводные и каспийские водоросли оказались более стойкими; ингибирующее действие растворенных нефтепродуктов на их фотосинтез проявлялось, начиная с концентрации 10 ПДК.

3. Стимулирование фотосинтетической деятельности, по-видимому, можно объяснить либо изменением взаимоотношений в симбиозе «фитопланктон — бактериопланктон», либо обогащением раствора минеральными веществами, являющимися источником питания фитопланктона и появляющимися в результате минерализации органического вещества, вносимого вместе с нефтью.

4. Временное стимулирование фотосинтеза в первые недели при длительном хроническом действии растворенных нефтепродуктов сменяется его подавлением, причем уровень снижения фотосинтетической активности зависит от вида водорослей.

5. Суточные и даже недельные опыты недостаточно полно выявляют характер действия токсиканта на фотосинтетическую активность одноклеточных водорослей. Нужны хронические опыты в течение полутора-двух месяцев с частичным обновлением среды.

Факты, приведенные в данной работе, подтверждают опасения, вызванные усиливающимся загрязнением морской среды нефтью и нефтепродуктами. Действие этого токсиканта может снизить первичную продуктивность морских акваторий.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Аксенова Е. И., Труфанова З. А. О влиянии хлорофоса и нефтепродуктов на протококковые и сине-зеленые водоросли.— «Гидробиологический журнал», 1971, № 6, с. 86—90.

Мионов О. Г., Ланская Л. А. Развитие некоторых диатомовых водорослей в морской воде, загрязненной нефтепродуктами.— В кн.: Биология и распределение планктона южных морей. «Наука», 1967, с. 31—34.

Мионов О. Г. Биологические ресурсы моря и нефтяное загрязнение. М., «Пищевая промышленность», 1972. 90 с.

Нельсон-Смит А. Загрязнение моря нефтью. Гидрометеиздат, 1973. 122 с.

Galtsoff R. S., Prytherch, H. F., Smith R. O., Koehring Vera. Effects of crude oil pollution on oysters in Louisiana water. Bull. Bur. Fish. Wash. 18, 1935, pp. 143—210.

Lacaze G. C. Effects d'une pollution de type "Torrey Canyon" sur L'algue unicellulaire marine *phaeoduetylum tricornutum*. Revue Int. Oceanogr. Med. 13—14, 1969, pp. 157—179.

McCauley. The biological effects of oil pollution in a river. Limnol. Oceanogr. 11, 1966, pp. 475—486.

SUMMARY

Oil and its products affect drastically all links of the biological web. Diatoms are most sensitive to them, their photosynthetic activity is inhibited even at the admissible concentration limit level. Fresh-water and Caspian algae are more tolerant to dissolved oil: the inhibiting action of oil is registered at a concentration ten times stronger than the admissible limit level. The pattern of the toxicant action is revealed more comprehensively in chronic long-term experiments with the medium partly restored.

In view of the fact that the environment is getting more and more contaminated with oil and oil products it may cause a decline in primary production in the sea.