

581.5 (268.45)

© 794

б|ч

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК

КОЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

МУРМАНСКИЙ МОРСКОЙ БИОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ

На правах рукописи

СТЕПАНЬЯН Олег Владимирович

**МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПЕРЕСТРОЙКИ
У ВОДОРОСЛЕЙ-МАКРОФИТОВ БАРЕНЦЕВА МОРЯ ПОД
ВОЗДЕЙСТВИЕМ НЕФТИ И НЕФТЕПРОДУКТОВ**

специальность 25.00.28 – «океанология»

**Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук**

Мурманск – 2003

581,51 + 582,26 + 574,5 (268,45)

Работа выполнена в Мурманском морском биологическом институте
Кольского научного центра Российской академии наук

Научный руководитель:

кандидат биологических наук
Г.М. Воскобойников

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук
Л.Л. Кузнецов
доктор биологических наук
Е.В. Шошина

Ведущая организация:

Биологический факультет Московского
государственного университета
им. М.В. Ломоносова

Защита состоится 19 декабря 2003 г. в 14 ч 30 мин на заседании диссертационного совета Д 002.140.01 при Мурманском морском биологическом институте по адресу: 183010, г. Мурманск, ул. Владимирская, 17

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Мурманского морского биологического института КНЦ РАН

Автореферат разослан 18 ноября 2003 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
к.т.н.

E. E. Kirillova

Е.Э. Кириллова

Введение

В настоящее время одной из глобальных экологических проблем является нефтяное загрязнение вод Мирового Океана. Эта проблема уже в течение десятков лет оказывается в центре внимания самых разнообразных специалистов: океанологов, экологов, математиков, экономистов, юристов и многих других.

Катастрофа танкера «Престиж» возле берегов Испании (2002 г.), когда в морскую воду попало свыше 37 тысяч тонн тяжелых нефтепродуктов, еще раз наглядно показала, что нефтяное загрязнение вод Океана, и, в особенности, прибрежных вод является комплексной проблемой, зачастую решаемой на межгосударственном уровне. Несмотря на то, что существует целый комплекс программ, посвященных борьбе и предотвращению нефтяного загрязнения, каждая катастрофа является неожиданностью.

Существенный вклад в загрязнение прибрежной зоны вносят углеводороды, попадающие со стоком с суши. Особенно это заметно в бухтах и заливах, где располагаются крупные города или впадают реки, имеющие значительные водосборные бассейны. Наиболее интенсивное антропогенное воздействие на компоненты прибрежной морской экосистемы на севере европейской части России наблюдается в Кольском заливе.

Как показано в большинстве исследований, максимальная степень воздействия при разливах нефти приходится на биоту прибрежной зоны морей. Практически всегда под «ударом» оказываются макроскопические водоросли (макрофиты).

6/4
Актуальность темы. При ретроспективном обзоре исследований выявлено, что пик работ, проведенных по оценке влияния нефтеуглеводородов на макроводоросли в научно-исследовательских институтах бывшего СССР, приходится на конец 70-х – начало 80-х годов прошлого столетия. Большая часть работ выполнена специалистами ИнБЮМ (лаборатория санитарной гидробиологии О.Г. Миронова) на черноморских макроводорослях (Миронов, Цымбал, 1975; Миронов, 1985; Биологические.... 1988). На Севере аналогичные исследования были проведены В.М. Хромовым в конце 70-х годов, в рамках международной программы «Мировой океан», но была опубликована всего лишь одна работа (Хромов, Прохорова, 1979).

Цель работы заключалась в изучении влияния нефти и нефтепродуктов на рост, развитие и размножение массовых видов макроводорослей Баренцева моря.

Основные задачи, решаемые в работе:

1. Исследование морфо-функциональных реакций макроводорослей на различных стадиях онтогенеза на нефтяное загрязнение, как в лабораторных, так и в естественных условиях.

Научная библиотека
ЮНЦ РАН

2. Выявления порога устойчивости макроводорослей на разных стадиях развития к нефти и нефтепродуктам.

На защиту выносятся следующие основные положения:

1. Реакция макроводорослей на воздействие нефти и нефтепродуктов зависит от их видовой принадлежности.

2. Макроводоросли, в зависимости от стадии онтогенеза, проявляют различную чувствительность к действию нефтетоксикантов.

3. Макроводоросли, произрастающие в местах с хроническим нефтяным загрязнением, менее чувствительны к воздействию нефти, чем водоросли чистых мест.

4. Макроводоросли способны переносить действие значительных доз эмульгированных и растворенных фракций нефти, превышающих предельно допустимые концентрации (рыболовные ПДК) в несколько раз.

5. Период восстановления фитоценозов литорали и верхней сублиторали Баренцева моря при воздействии залповых выбросов нефти может составить от 1 года до 3 лет.

Научная новизна. Проведенное исследование позволило определить степень устойчивости массовых видов макроводорослей Баренцева моря к воздействию нефти и нефтепродуктов и выявить диапазон толерантности к данному фактору. На ряде макроводорослей (фукус, ламинария, энтероморфа) удалось изучить влияние нефтяного загрязнения на все стадии жизненного цикла. Обнаружено, что макроводоросли способны переносить значительные дозы растворенной и эмульгированной нефти. Наиболее токсичной для макроводорослей является пленка нефти (нефтепродуктов). Наибольшую чувствительность к нефтетоксикантам макроводоросли проявляют на ранних стадиях развития, взрослые талломы водорослей более устойчивы к воздействию нефтетоксикантов.

Практическое значение работы заключается в том, что:

1. Возможно применение полученных данных и методических разработок при проведении биотестирования морских вод, загрязненных нефтепродуктами.

2. Результаты работы могут стать основой для базы данных, посвященной отклику макроводорослей на нефтяное загрязнение.

3. Результаты и методология экспериментальной работы могут быть использованы при составлении курсов и проведении практических работ по специальностям «экотоксикология», «экофизиология растений».

Апробация работы. Материалы работы были представлены на конференциях молодых ученых ММБИ (2000-2002), на шестой международной научно-практической студенческой конференции (Ростов-на-Дону, 2000), на 8-м съезде Гидробиологического общества РАН (г. Калининград, 2001), на международной научной конференции «Проблемы сохранения экосистем и рационального использования биоресурсов Азово-Черноморского бассейна» (г. Ростов-на-

Дону, 2001), на первой Всероссийской школе по морской биологии «Современные проблемы биологии и экологии морей» (г. Ростов-на-Дону, 2001), на международной научно-практической конференции «Биосфера и человек». (Майкоп, 2001), на международной научной конференции «Современные проблемы океанографии шельфовых морей» (г. Ростов-на-Дону, 2002.), на заседании Ростовского отделения Русского Ботанического Общества (2001), на семинарах лаборатории альгологии ММБИ (2003) и отдела океанографии и биологии южных морей АФ ММБИ (2002 – 2003).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 12 работ, из них 1 статья в коллективной монографии.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, 3 глав, заключения, выводов, списка литературы и приложения. Работа изложена на 143 страницах и включает в себя 37 рисунков и 17 таблиц, в приложении даны рисунки жизненных циклов исследуемых водорослей и фотографии зигот и проростков фукуса пузырчатого в условиях эксперимента. Список цитируемой литературы включает в себя 196 источников, из них 65 зарубежных авторов.

Благодарности. Я приношу огромную благодарность директору Мурманского Морского Биологического Института академику РАН Геннадию Григорьевичу Матишову за помочь и поддержку на всех этапах исследования. Выражаю глубокую признательность моему научному руководителю Г.М. Воскобойникову за ценные советы и рекомендации, за консультации профессору В.В. Громову и сотрудникам ММБИ - моим друзьям, без помощи которых не появилась бы на свет эта работа: С.И. Бардану, С.В. Бердникову, П.Р. Макаревичу, М.В. Макарову, Е.С. Матишовой, Д.В. Моисееву, Е.Д. Облучинской, И.В. Рыжик, Р.М. Савицкому. Особая благодарность за ценные методические советы и рекомендации с. н. с. МГУ к.б.н. И. В. Тропину.

Обзор литературы. В обзоре литературы рассматривается гидролого-гидрохимическая характеристика района исследования (раздел 1.1), эколого-биологическая характеристика макроводорослей – объектов исследования (раздел 1.2), физико-химические характеристики нефти и ее трансформация в морской воде (раздел 1.3), общая характеристика нефтяного загрязнения Баренцева моря (раздел 1.4), биологическая деструкция нефти и нефтепродуктов в морях Арктики (раздел 1.5), влияние нефти и нефтепродуктов на морфо-функциональные особенности морских макроводорослей (раздел 1.6), методические аспекты проведения эколого-токсикологических экспериментов с нефтью и нефтепродуктами (раздел 1.7).

Материалы и методы. Материалом для исследования послужили бурые (*Laminaria saccharinoides*, *Fucus vesiculosus*, *F. distichus*, *Ascophyllum nodosum*), красные (*Porphyra umbilicalis*, *Palmaria palmata*) и зеленые (*Enteromorpha intestinalis*) водоросли, доминирующие на литорали и верхней сублиторали губы Дальнего

Зеленецкой (Баренцево море, $69^{\circ}07'$ с.ш., $36^{\circ}05'$ в.д.). Экспериментальная работа проводилась на базе лаборатории альгологии ММБИ КНЦ РАН (пос. Дальние Зеленцы) в июле-октябре 2000-2002 гг. (рис. 1).

Для проведения токсикологических экспериментов была разработана методика получения эмульсии: нефть (нефтепродукты) – морская вода. В экспериментах удалось отделить пленку нефти от растворенной и эмульгированной нефти, что позволило разграничить действие пленочной формы и других форм

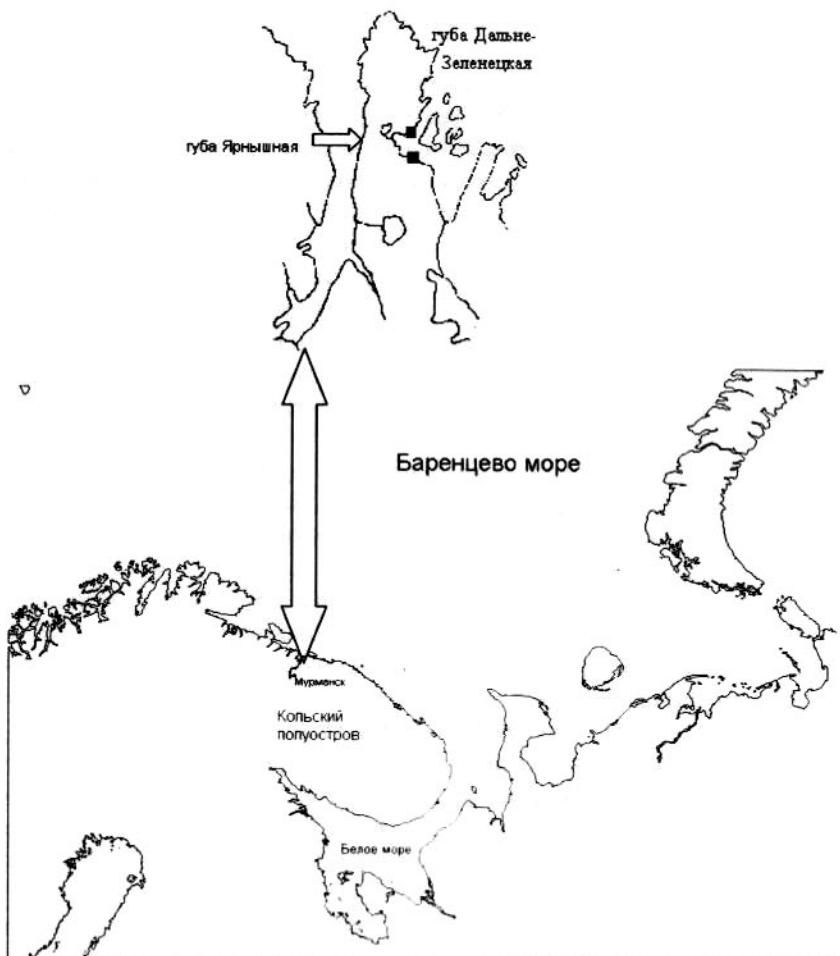


Рис. 1. Карта-схема района отбора проб и мест проведения экспериментов в губе Дальне-Зеленецкой (■ – места проведения экспериментов)

нефти и нефтепродуктов на морфо-функциональные показатели макроводорослей. В данной работе, говоря об эмульсии нефти и нефтепродуктов в наших экспериментах, мы понимаем под этим совокупность эмульгированной, сорбированной на микрочастицах, растворенной нефти (нефтепродуктов).

Эксперименты в лабораторных условиях

Стимулирование выхода яйцеклеток и антерозоидов *Fucus vesiculosus* из рецептакул производилось путем освещения участков таллома фукуса с рецептакулами галогеновой лампой высокой мощности ($18.5 \text{ Вт}/\text{м}^2$). Предварительно рецептакулы помещались в течение двух часов в светонепроницаемую емкость. Выделение зооспор и проращивание гаметофитов *Laminaria saccharina* выполняли по методике, разработанной В.Н. Макаровым (1987). Эмбриоспоры, гаметофиты, спорофиты ламинарии, зиготы и проростки фукуса культивировались в стерилизованной морской воде в чашках Петри в терmostатированной комнате.

При проведении токсикологических экспериментов с макроводорослями на ранних стадиях онтогенеза, зиготы и проростки (на предметных стеклах) помещались в чашки Петри и культивировались в условиях терmostатированной комнаты в морской воде, содержащей эмульсию нефти и нефтепродуктов.

Концентрации токсикантов составили: нефть – от 0.5 до 30 ppm, бензин – от 0.5 до 50 ppm, дизельное топливо – от 5 до 15 ppm. Максимальные концентрации токсикантов выбраны в связи с тем, что наши исследования показали: в системе эмульсия нефти (нефтепродуктов) – морская вода при концентрациях, превышающих вышеуказанные величины, происходит образование нефтяной пленки.

Эксперименты с пленкой нефти проводились следующим образом: в воронку Бюхнера помещались стекла с проростками или кусочки талломов водорослей, заливались водой. После добавления определенного объема нефти (нефтепродуктов) воду быстро выпускали. Таким образом, пленка нефти равномерно покрывала объекты, размещенные на дне воронки.

Исследуемые параметры для *Laminaria saccharina*: степень подвижности и тип движения зооспор, рост и развитие эмбриоспор, гаметофитов и ранних спорофитов; для фукусовых водорослей (*Fucus vesiculosus*): степень подвижности и тип движения антерозоидов, развитие зигот и рост проростков; для зеленых водорослей (*Enteromorpha intestinalis*): развитие зигот и рост проростков. Подсчет и замеры проводили на микроскопе «ЛОМО МИКМЕД-1» с помощью окуляр-микрометра.

Для расчета скорости роста проростков использовалась формула относительной скорости роста (Coombs et al., 1985):

$$RGR = (\ln A_2 - \ln A_1) / T * 100\%$$

где A_1 – начальный размер объекта исследований, A_2 – конечный размер объекта исследований, T – время между начальным и конечным измерением, выражаемое в сутках.

Выборка при подсчете составила от 70 до 100 объектов в контроле и для каждой концентрации токсикантов. Длительность экспериментов – 10-14 дней.

В экспериментах по изучению влияния нефти и нефтепродуктов на скорость роста, фотосинтез и дыхание макроводорослей использовались высечки из интеркалярной зоны роста ламинарии (возраст 0+), апикальные участки талломов фукусов (возраст 1+) и аскофилума (возраст 2+), пролификации пальмари и целые талломы энтероморфы (длина 5-6 см) и порфиры (длина 10-12 см).

Перед опытом, в течение 3 дней части и целые талломы макрофитов адаптировались к условиям терmostатированной комнаты. Предварительно определялась площадь поверхности, сырой вес, сухой вес. Первичное значение сухого веса ($n=200$) определялось из той же выборки, из которой отбирались макроводоросли. Далее высечки (апексы) помещались по 20 экземпляров в химические стаканы одинакового объема (400-600 мл) и с одинаковой толщиной стенок и заливались 300-400 мл эмульсии токсикантов ($n = 20$ для контроля и каждой концентрации токсикантов). Содержимое стаканов периодически перемешивалось (2 раза в сутки) для обеспечения равномерного распределения высечек (апексов) на дне стаканов. Длительность эксперимента составила 10 дней. По окончанию экспериментов проводили повторные измерения вышеуказанных параметров.

Показатели валового фотосинтеза (ВФ) и дыхания (Д) определяли с помощью йодометрического метода Винклера, значение истинного фотосинтеза (ИФ) принимали как разность между валовым фотосинтезом и дыханием (Баславская, Трубецкова, 1964; Методы гидрохимических..., 1988; Справочник гидрохимика..., 1991). Количество кислорода, выделенного водорослями, пересчитывали на грамм сухого веса. Выбор данного параметра обусловлен нашими предварительными экспериментами, в ходе которых было выяснено, что это наиболее стабильный и наименее изменяемый во времени показатель (по сравнению с сырой массой или площадью поверхности таллома), который оптимален для поставленных экспериментальных задач. Эксперимент проводился в двух биологических и трех аналитических повторностях.

Эксперименты в природных условиях

В эксперименте (25.07.2002) по выяснению степени влияния пленки нефти на интенсивность фотосинтеза и дыхания макрофитов были использованы целые талломы ($n = 5$) ламинарии сахаристой (возраст 0+), фукуса двустороннего (возраст 1+) и фукуса пузырчатого (возраст 1+), аскофилума узловатого (возраст 2+). Перед опытом из выборки водорослей измеряли показатели валового фотосинтеза, истинного фотосинтеза, дыхания. Водоросли размещались в плавающей емкости с открытым жестким сетчатым дном, которое застипалось полиэтиленовой пленкой. Водоросли не контактировали с поверхностью воды, наливаемой в емкость и, соответственно, не имели контакта с пленкой нефти.

плавающей на поверхности. Емкость фиксировалась таким образом, чтобы она всегда находилась над уровнем воды (во время прилива и отлива), но при этом дно было в воде. Отбор водорослей для измерения интенсивности фотосинтеза и дыхания в лабораторных условиях производился через каждые 3 часа в течение дня (с 8 часов утра до 8 часов вечера). Одновременно фиксировалась температура морской воды, температура воздуха, освещенность поверхности воды.

Объем морской воды в емкости составил 17 л, площадь поверхности воды – 0.155 м^2 , соленость – 33‰. Объем прилитой нефти равнялся 200 мл, т.е. концентрация нефти была примерно 1.2%. Пленка равномерно покрывала площадь поверхности воды в емкости.

Для определения суточной динамики хода фотосинтеза и дыхания макрофитов в естественных условиях использовались целые талломы макроводорослей ($n = 10$). Эксперимент проводили в ванной на литорали. Макроводоросли (ламинария сахаристая, аскофилум узловатый, фукус двусторонний, фукус пузырчатый) помещались в склянки с притертymi крышками, в которые наливали воду, искусственно обогащенную O_2 . Склянки помещались в ванну с морской водой. После двухчасовой экспозиции измерялись показатели ВФ, Д, рассчитывали значение ИФ. Количество кислорода, выделенного водорослями, пересчитывалось на грамм сухого веса. До и после экспозиции фиксировалась температура воздуха, температура воды в ванной, уровень освещенности.

Для выяснения действия пленки нефти на интенсивность фотосинтеза и дыхания макрофитов, произрастающих в литоральных ваннах, были выбраны небольшие ванны на мысе Пробном (губа Дальне-Зеленецкая). Эксперимент проводился в фазу отлива. Из экспериментальных ванн удалялись видимые неизвестные глазом беспозвоночные. Предварительно измерялась концентрация кислорода в воде, далее из литоральных ванн откачивалась морская вода и заливалась искусственно обогащенная кислородом вода. На поверхность воды в ваннах вносились определенное количество нефти. Экспозиция составила 2 часа. После экспозиции, из-под пленки нефти отбирались пробы воды на содержание кислорода. Из ванн изымались все макроводоросли (*Fucus vesiculosus*, *Ascophyllum nodosum*), определялся их сырой и сухой вес.

Параллельно, для того чтобы выяснить степень влияния перифитоновой пленки на баланс кислорода в ваннах при воздействии пленки нефти, из них удалялись видимые неизвестные глазом беспозвоночные и водоросли, и аналогично проводилось определение содержание кислорода в воде. В ходе экспериментов учитывалась соленость морской воды в ваннах, температура воды, освещенность поверхности воды.

Все эксперименты проводились в одной биологической повторности, лабораторные определения – в трех аналитических повторностях.

Условия, при которых проводились эксперименты в лаборатории

Постановка лабораторных опытов осуществлялась в термостатированной комнате при температуре воздуха $9 \pm 1^\circ\text{C}$, фотопериоде – 24 часа, освещенности – 3 Вт/м². Температура морской воды равнялась $8 \pm 1^\circ\text{C}$.

Морская вода, которая использовалась для получения культур проростков фукуса и гаметофитов (спорофитов) ламинарии, отфильтровывалась через ватный фильтр и стерилизовалась в течение 24 часов при 60°С. До добавления токсикантов смена воды производилась через 2 дня, после добавления токсикантов смены среды не было.

Наблюдения за развитием исследуемых объектов проводились через 2-3 дня, после получения данных об их состоянии, материал фиксировался по методу Кларка (этиловый спирт 96% – 3 части + ледяная уксусная кислота – 1 часть) по одному стеклу из каждой серии экспериментов (Основы..., 2000), стекла промывались дистиллированной водой, окрашивались слабым раствором гематоксилина. Затем готовили постоянные препараты на основе глицерин-желатиновой смеси.

Используемое оборудование

Работы по получению и обработке фотоизображения, его записи проводились в лаборатории планктона ММБИ. Для этой цели использовался программно-аппаратный комплекс, в состав которого входит: микроскоп ЕС БИМАМ Р-11-1; цветная цифровая видеокамера JVC TK-C1381; микрофотонасадка МФН 11; компьютер ТХ 233 ММх; программное обеспечение “ВидеоТест-Альбом”. Определение площади поверхности макроводорослей производилось с использованием компьютерной системы анализа изображения – «Image analysis system» (подробно: Lyning, 1992), в лаборатории альгологии ММБИ (пос. Дальние Зеленцы). Апексы (высечки) взвешивались на аналитических весах с точностью до 1 мг. Соленость морской воды определялась с помощью денсиметра (ГОСТ 4226-48) для морской воды при температуре воды равной 17°С. Освещенность рассчитывалась по показаниям спектрорадиометра-пиранометра (LI-Cor, модель LI-185 A, Lambda Inst. Corp. Nebraska, USA).

Статистическая обработка материала проводилась с использованием пакета программ Statistica v.5.5A.

Результаты и обсуждение

Комплексным показателем функционального состояния макроводорослей является относительная скорость роста таллома.

Воздействие эмульсии нефти приводит к увеличению относительной скорости роста таллома у *Laminaria saccharina* во всех используемых концентрациях нефтетоксикантов по сравнению с контрольными значениями. Наблюдаются две тенденции: с одной стороны при увеличении концентрации токсикантов нефти увеличивается площадь поверхности таллома, с другой – уменьшает-

ся скорость накопления сухих веществ. Действие эмульсии бензина вызывает сходную картину. Под действием эмульсии дизельного топлива скорость роста поверхности таллома ниже, чем в контроле и практически не зависит от концентрации нефтепродукта, а накопление сухого вещества происходит иначе – при минимальной (5 ppm) и максимальной (15 ppm) концентрации токсиканта скорость накопления ниже, а при 10 ppm несколько выше, чем в контроле.

Эмульсия нефти в диапазоне концентраций от 5 ppm до 20 ppm вызывает увеличение скорости накопления сухого вещества у *Fucus distichus* при практически неизменной относительной скорости роста поверхности таллома. При максимальной концентрации нефти (30 ppm) происходит резкое снижение накопления сухого вещества, но относительная скорость роста поверхности таллома не меняется, что свидетельствует об идущих процессах деструкции таллома. Эмульсия бензина во всех концентрациях вызывает увеличение как площади таллома, так и накопления сухого вещества. Эмульсия дизельного топлива оказывает более выраженный стимулирующий эффект на относительную скорость роста таллома и скорость накопления сухого вещества, чем нефть и бензин.

При увеличении концентрации эмульсии дизельного топлива отмечается плавное снижение скорости роста поверхности таллома и накопления сухого вещества у *Fucus vesiculosus* (губа Дальне-Зеленецкая). Аналогичная картина наблюдается и при действии эмульсии нефти. Эмульсия бензина (5 ppm) вызвала резкое увеличение скорости накопления сухого вещества, при дальнейшем увеличении концентрации токсиканта скорость снижалась. Иначе происходило изменение скорости роста поверхности таллома – максимальные величины отмечались при концентрациях эмульсии бензина 20-30 ppm, затем происходило снижение этого показателя.

Эмульсия нефти стимулирует накопление сухого вещества у *Fucus vesiculosus*, произрастающего в порту г. Мурманск, но при этом снижается скорость роста поверхности таллома. Эмульсия бензина (5 ppm) не оказывает токсического эффекта на рост и развитие фукуса, но при концентрации эмульсии, равной 20 ppm, наблюдается деструкция таллома. Эмульсия дизельного топлива вызывает снижение скорости роста поверхности таллома, но при этом увеличивается скорость накопления сухого вещества, максимальное значение этой величины отмечается при концентрации 10 ppm.

Эмульсия дизельного топлива не вызывала снижения скорости накопления сухого вещества и относительной скорости роста поверхности таллома у *Ascophyllum nodosum* на протяжении всего эксперимента. Максимальная концентрация эмульсии бензина также не оказала подавляющего воздействия на относительную скорость роста таллома аскофилума. Максимальная концентрация эмульсии нефти вызвала снижение скорости накопления сухого вещества почти в 2 раза, хотя относительная скорость роста площади таллома увеличилась.

Минимальная концентрация эмульсии нефти стимулировала накопление сухого вещества у *Enteromorpha intestinalis*, при увеличении концентрации эмульсии происходило снижение скорости накопления сухого вещества, относительная скорость накопления сырой биомассы снижалась при всех концентрациях токсикантов и была ниже контрольных значений. Эмульсия дизельного топлива вызывала снижение скорости накопления сухого вещества, но одновременно увеличивалась скорость накопления сырой массы таллома энтероморфы. Эмульсия бензина угнетала развитие этой водоросли.

Минимальные концентрации эмульсии нефти и бензина стимулировали развитие *Palmaria palmata*, что выражалось в увеличении скорости накопления сухого вещества. Более высокие концентрации этих токсикантов подавляли развитие пальмарии. Эмульсия дизельного топлива также снижала скорость накопления сухого вещества в пролификациях пальмарии, но относительная скорость роста площади поверхности изменялась не столь значительно.

Эмульсия нефти вызывала ингибирование процессов синтеза (накопления сухого вещества) в талломе *Porphyra umbilicalis*. Концентрации эмульсии бензина, равные 5-20 ppm, оказывали менее выраженный токсический эффект, чем более высокие концентрации этого токсиканта. Эмульсия дизельного топлива подавляла развитие порфиры.

Относительная скорость роста (RGR) талломов макроводорослей изменяется в значительной степени при воздействии нефти и нефтепродуктов. Характерной особенностью является то, что относительная скорость роста, измеренная по приросту площади таллома и накоплению сухого вещества у контрольных образцов отличаются друг от друга незначительно. При действии токсикантов отклонения могут достигать значительных величин. Относительная скорость роста является универсальным параметром, который характеризует морфо-функциональное состояние макроводорослей. Но наши исследования показали возможность возникновения отличий в величинах относительной скорости роста макроводорослей в зависимости от того, какой показатель берется для расчета RGR: сырой, сухой вес или площадь поверхности таллома. На наш взгляд, относительная скорость роста таллома, измеренная по увеличению его площади поверхности и сырой биомассы (т.е. по суммарному накоплению синтезируемых веществ и воды), менее «правдиво» отражает функциональное состояние макроводорослей при действии токсикантов, чем относительная скорость роста, измеренная по накоплению сухого вещества. Сухое вещество – это сумма, накопленных талломом водоросли, органических и неорганических веществ. Увеличение сухого вещества в талломе водорослей можно интерпретировать как свидетельство наличия процессов синтеза в клетках водорослей. При воздействии токсикантов увеличение площади и сырой биомассы таллома зачастую не связаны с увеличением сухого веса. В этом случае, рост таллома происходит за-

счет увеличения содержания подвижной фракции клеточной воды, так называемой «свободной воды». Аналогичные механизмы адаптаций макроводорослей реализуются при действии различных факторов внешней среды, наиболее яркий пример – устойчивость к обсыханию во время отливов (Камнев, 1989).

Процессы фотосинтеза и дыхания, также как и рост, являются важными критериями морфо-функционального состояния макроводорослей.

Измерения интенсивности фотосинтеза и дыхания у красной водоросли *Porphyra umbilicalis*, проведенные после десятисуточной экспозиции в среде с токсикантами, показали, что она является наименее устойчивой к токсическому действию нефтеуглеводородов, чем другие виды макроводорослей. При воздействии нефти во всех концентрациях значения истинного фотосинтеза имели отрицательные величины, интенсивность дыхания резко возрастила – в 5-10 раз, по сравнению с контролем. Аналогичная ответная реакция отмечена при действии эмульсии дизельного топлива и бензина.

Нефть при концентрациях выше 10 ppm полностью подавляла фотосинтетическую активность зеленой водоросли верхней литорали *Enteromorpha intestinalis*. Дизельное топливо оказывало сходное с нефтью влияние на интенсивность фотосинтеза, концентрации более 10 ppm снижали величину истинного фотосинтеза более чем в 2 раза, с одновременным увеличением скорости дыхания в 3-4 раза. Действие бензина не столь однозначно. До концентрации 10 ppm отмечается рост величины валового и истинного фотосинтеза с одновременным увеличением скорости дыхания, а более высокие концентрации подавляли фотосинтетическую активность.

Большая степень устойчивости, по сравнению с вышеуказанными видами, выявлена у красной водоросли *Palmaria palmata*. При действии нефти в концентрации 20 и 30 ppm наблюдается подавление интенсивности фотосинтеза и резкое усиление дыхания. А при концентрациях 5 и 10 ppm отмечается превышение величины истинного фотосинтеза контроля в 7 и 3 раза соответственно. Действие бензина и дизельного топлива при всех концентрациях стимулирует фотосинтетическую активность макрофитов в несколько раз, хотя дизельное топливо (10 и 20 ppm) и бензин (30 и 50 ppm) вызывают позеленение apexов пролификаций.

Фукоиды показали максимальную степень устойчивости и высокую адаптивную приспособленность к действию нефтетоксикантов, по сравнению с порфирай, пальмарией и энтероморфой.

У *Ascophyllum nodosum* при действии нефти в концентрации 10 и 15 ppm отмечено повышение интенсивности фотосинтеза. Одновременно повышается интенсивность дыхания. Аналогичное стимулирующее действие на интенсивность фотосинтеза оказывает дизельное топливо. Изменения в уровне дыхательной активности незначительные. С увеличением концентрации бензина ско-

рость фотосинтеза падала – при 50 ppm она снизилась в 6 раз, одновременно возрастала интенсивность дыхания – в 7.5 раза.

Laminaria saccharina показала иной отклик при действии нефти и нефтепродуктов. Нефть вызвала снижение величины истинного фотосинтеза во всех концентрациях. При максимальной концентрации (30 ppm), интенсивность фотосинтеза была в 3 раза меньше контрольных значений, интенсивность дыхания достигала максимальных величин при концентрации нефти 10 ppm, далее интенсивность дыхания снижалась. Действие дизельного топлива и бензина вызвало аналогичный эффект.

У *Fucus distichus* при воздействии концентраций нефти 10-15 ppm наблюдалось незначительное увеличение интенсивности фотосинтеза. При действии бензина и дизельного топлива во всех концентрациях достоверных отличий от контроля не выявлено. Более показательным в данном случае является интенсивность дыхания. Она увеличивается с возрастанием концентрации токсикантов.

В морфо-функциональном отклике *Fucus vesiculosus* выявлен ряд закономерностей. При использовании в качестве тест-объектов водорослей, собранных в незагрязненной акватории (Дальне-Зеленецкая губа), отклик на внесение токсикантов был иным, чем у водорослей из порта г. Мурманск. В первом случае, с увеличением используемых концентраций токсикантов снижалась интенсивность фотосинтеза с одновременным увеличением скорости дыхания, а более высокие концентрации подавляли фотосинтетическую активность.

Большая степень устойчивости, по сравнению с вышеуказанными видами, выявлена у красной водоросли *Palmaria palmata*. При действии нефти в концентрации 20 и 30 ppm наблюдается подавление интенсивности фотосинтеза и резкое усиление дыхания. А при концентрациях 5 и 10 ppm отмечается превышение величины истинного фотосинтеза контроля в 7 и 3 раза соответственно. Действие бензина и дизельного топлива при всех концентрациях стимулирует фотосинтетическую активность макрофитов в несколько раз, хотя дизельное топливо (10 и 20 ppm) и бензин (30 и 50 ppm) вызывают позеленение apexов пролификаций.

Фукоиды показали максимальную степень устойчивости и высокую адаптивную приспособленность к действию нефтетоксикантов, по сравнению с порфией, пальмарией и энтероморфой.

У *Ascophyllum nodosum* при действии нефти в концентрации 10 и 15 ppm отмечено повышение интенсивности фотосинтеза. Одновременно повышается интенсивность дыхания. Аналогичное стимулирующее действие на интенсивность фотосинтеза оказывает дизельное топливо. Изменения в уровне дыхательной активности незначительные. С увеличением концентрации бензина скорость фотосинтеза падала – при 50 ppm она снизилась в 6 раз, одновременно возрастала интенсивность дыхания – в 7.5 раза.

Laminaria saccharina показала иной отклик при действии нефти и нефтепродуктов. Нефть вызвала снижение величины истинного фотосинтеза во всех концентрациях. При максимальной концентрации (30 ppm), интенсивность фотосинтеза была в 3 раза меньше контрольных значений, интенсивность дыхания достигала максимальных величин при концентрации нефти 10 ppm, далее интенсивность дыхания снижалась. Действие дизельного топлива и бензина вызвало аналогичный эффект.

У *Fucus distichus* при воздействии концентраций нефти 10-15 ppm наблюдалось незначительное увеличение интенсивности фотосинтеза. При действии бензина и дизельного топлива во всех концентрациях достоверных отличий от контроля не выявлено. Более показательным в данном случае является интенсивность дыхания. Она увеличивается с возрастанием концентрации токсикантов.

В морфо-функциональном отклике *Fucus vesiculosus* выявлен ряд закономерностей. При использовании в качестве тест-объектов водорослей, собранных в незагрязненной акватории (Дальне-Зеленецкая губа), отклик на внесение токсикантов был иным, чем у водорослей из порта г. Мурманск. В первом случае, с увеличением используемых концентраций токсикантов снижалась интенсивность фотосинтеза и повышалась интенсивность дыхания. Во втором, при воздействии нефти и дизельного топлива наибольшая интенсивность фотосинтеза приходилась на величины 5-10 ppm, интенсивность дыхания возрастала. При действии бензина интенсивность фотосинтеза снижалась, а при максимальной концентрации, равной 50 ppm, происходило снижение величины истинного фотосинтеза в три раза по сравнению с контрольным значением. Отмечалось позеленение выsecек при концентрациях нефти выше 20 ppm, дизельного топлива выше 10 ppm, бензина – 20 ppm.

Фукус пузырчатый, произрастающий на литорали с хроническим загрязнением, показал большую степень адаптированности к токсическому фактору. Величина общего фотосинтеза, равная 1.60 mg O₂/г сух. веса в час, у него меньше, чем аналогичная величина у фукуса, обитающего в незагрязненной акватории. У последнего она составляет 1.76 mg O₂/г сух. веса в час. Это явление, возможно, связано со снижением интенсивности метаболизма, что может быть вызвано адаптивными перестройками фотосинтетического аппарата в ответ на хроническое загрязнение. Такая реакция фукуса пузырчатого свидетельствует о явлении преадаптированности к действию нефтетоксикантов. Аналогичное свойство преадаптации к действию нефти отмечено для сине-зеленых водорослей (Гапочка, 1981).

Как показали наши исследования, дыхание в меньшей степени, чем фотосинтез связано с увеличением загрязненности среды нефтетоксикантами. Аналогичные закономерности выявлены и при изучении функциональной активности сосудистых растений, у которых процессы дыхания также менее чувстви-

тельны к различным воздействиям, чем фотосинтез (Головко, 1999). Ранее было показано, что торможение фотосинтеза и усиление дыхания – это неспецифическое изменение в ответе фототрофного организма на воздействие стрессового фактора (Тарчевский, 1993). Таким образом, при проведении краткосрочных токсикологических экспериментов с макроводорослями, основным показателем их активности являются величины валового и истинного фотосинтеза, которые наиболее зависят от степени воздействия токсикантов. При долгосрочных экспериментах, когда фотосинтетическая активность может быть подавлена токсикантами, интенсивность дыхания будет наиболее показательной для оценки состояния водорослей.

Токсическое действие нефти и нефтепродуктов зависит не только от суммарной токсичности составляющих компонентов, но и от формы нахождения нефти в морской воде. Полученные нами результаты позволяют сделать вывод о том, что пленочная форма нефтепродуктов оказывает более выраженное негативное воздействие на морфо-функциональное состояние макроводорослей, чем растворенные и эмульгированные формы. При наличии пленки нефти на поверхности воды, у ламинарии сахаристой наблюдалось снижение интенсивности фотосинтеза и усиление дыхания уже через 2 часа экспозиции, минимальные значения фотосинтеза отмечены через 5 часов. Далее интенсивность фотосинтеза возрастила, но деструктивные процессы преобладали. У аскофилума произошло увеличение интенсивности фотосинтеза более чем в 6 раз через пять часов экспозиции, а затем снижение этого показателя до контрольных значений. Незначительные изменения интенсивности фотосинтеза наблюдались у фукуса двустороннего и фукуса пузырчатого. Снижение величин истинного фотосинтеза через 2 часа экспозиции полностью компенсировалось, а к концу экспозиции интенсивность фотосинтеза составляла менее 50% от первоначальных значений. Результаты могут быть объяснены следующим образом: первоначальное снижение интенсивности фотосинтеза и увеличение дыхания, вероятно, связано с токсическим действием пленки нефти, а далее (через 5 часов экспозиции) включаются механизмы, компенсирующие это воздействие. Повышение интенсивности фотосинтеза уже через пять часов экспозиции у всех водорослей связано с увеличением интенсивности ФАР, достигающей поверхности воды, и повышением температуры воды в экспериментальной емкости на четыре градуса.

Таким образом, пленка нефти на поверхности воды не вызывает ингибирование фотосинтеза макроводорослей. Интенсивность фотосинтеза подчиняется суточной динамике освещенности. Снижение уровня фотосинтеза ламинарии, происходит из-за того, что у данного вида температурный оптимум фотосинтеза находится в пределах 10°C при менее интенсивном освещении (Гринталь. 1979). Проведенные эксперименты позволили выявить, что суточный мак-

симум фотосинтеза ламинарии в конце июля приходится на утренние и вечерние часы (10-11 ч и 20-21 ч). У фукусовых водорослей оптимум отмечен днем (12-15 ч). У ламинарии ингибирование процессов фотосинтеза и увеличение интенсивности дыхания обнаруживается при дневном освещении (так называемая полуденная депрессия) и ночью, у фукусовых водорослей – в вечернее и ночное время.

Пленка нефти, попадая в прибрежную зону, при отливах «задерживается» в литоральных ваннах, имеющих различную площадь поверхности и глубину. Для литорали Дальне-Зеленецкой губы (мыс Пробный) характерны небольшие литоральные ванны, на двух из которых были проведены эксперименты по влиянию пленки нефти на функциональную активность макроводорослей. Было выявлено, что значения истинного фотосинтеза макрофитов в литоральных ваннах после внесения нефти составляет 4.33 мг O₂/г сух. веса в час в первой ванне и 0.18 мг O₂/г сух. веса в час во второй ванне (табл. 1).

Полученные положительные значения истинного фотосинтеза означают, что макроводоросли способны осуществлять фотосинтез под пленкой нефти в течение

**Таблица 1. Уровень чистой продукции макроводорослей
литоральных ванн**

Параметры	Литоральная ванна 1		Литоральная ванна 2	
	до экспозиции	после экспозиции	до экспозиции	после экспозиции
T _{воздуха} , °C	8.50	8.50	9.00	9.00
T _{воды} , °C	11.25	9.85	10.02	10.02
ФАР, Вт/м ²	34.2	41.04	44.46	32.49
Значения истинного фотосинтеза макрофитов, мг O ₂ /г сух. веса в час		0.18		4.33

ние нескольких часов (в нашем эксперименте 2 часа) в период отлива. Значения в двух ваннах отличаются более чем в 5 раз, это объясняется тем, что ванны находились в различных условиях. Первая ванна имела меньшие размеры и большую площадь поверхности, и она находилась под прямыми солнечными лучами в ходе всего эксперимента, вторая, более узкая и глубокая, была в тени.

Известно, что пленка нефти или нефтепродуктов, попавшая на таллом макрофитов, способна снижать ряд морфо-функциональных характеристик макроводорослей (Нельсон-Смит, 1973). Результаты наших экспериментов позволяют говорить об определенных закономерностях в реакции фукуса пузырчатого на наличие пленки на поверхности таллома. При общем снижении интенсивности фотосинтеза и усиливании дыхания у водоросли, происходит увеличение относительной скорости роста поверхности таллома, причем, чем толще пленка,

тем выше показатели этой величины. Вероятно, это связано с тем, что нефтетоксиканты подавляют фотосинтетическую активность фукуса и стимулируют развитие нефтеокисляющих бактерий на поверхности таллома, которые выделяют в результате расщепления нефти ряд простых органических веществ. Как предполагается, на примере адаптаций фотосинтетического аппарата макроводорослей к условиям темноты, при снижении функциональной активности фотосинтетической системы водоросли способны переходить на некоторое время на гетеротрофный тип питания (Родова и др., 1985). Возможно, в эксперименте мы наблюдали именно такую схему взаимодействия пленки нефти с макроводорослями.

Одно из положений «закона» толерантности Шелфорда говорит о том, что период размножения является обычно критическим, пределы толерантности для размножающихся особей, яиц, эмбрионов, проростков и личинок обычно меньше, чем для взрослых особей (Одум, 1975). Наши исследования подтвердили вышеуказанное положение.

Подвижность антерозоидов фукуса пузырчатого и зооспор ламинарии сахаристой при действии токсикантов

Добавление нефти в концентрации от 15 ppm до 30 ppm вызывает изменение типа движения мужских гамет фукуса пузырчатого с поступательно-вращательного на вращение «волчком» на месте, такой же эффект наблюдали при действии эмульсии дизельного топлива (10-15 ppm). Эмульсия бензина в диапазоне концентраций от 5 до 50 ppm не влияла на подвижность и тип движения гамет. Полной остановки двигающихся антерозоидов не отмечено. Некоторые авторы (Steele, 1977) предлагают использовать подвижность антерозоидов фукуса в качестве критерия при биотестировании морской воды, но, как показали наши последующие эксперименты, данный параметр не может использоваться в таком качестве. Развитие проростков (нефть 15 ppm – 30 ppm) происходит даже в тех случаях, когда наблюдается изменение типа движения и, наоборот, когда тип движения антерозоидов не изменялся, дальнейшее развитие проростков прекращалось (например, при действии максимальной концентрации бензина, равной 50 ppm).

Как и в эксперименте с антерозоидами фукуса, подвижность зооспор ламинарии изменяется в зависимости от используемых концентраций токсикантов. В контроле движение зооспор поступательно-вращательное, такой же тип движения сохраняется при добавлении нефти 5-10 ppm, бензина 5 ppm, дизельного топлива 5-10 ppm. При увеличении концентраций токсикантов тип движения изменяется на вращение «волчком» на месте, а при максимальных концентрациях бензина (50 ppm) и дизельного топлива (15 ppm) отмечается полная остановка зооспор ламинарии.

Полученные результаты подтверждают точку зрения (Воскобойников и др., 1993) на то, что изменение подвижности зооспор – это неспецифическая реакция, возникающая при наличии токсикантов в среде или при изменении самих

условий среды. Смена типов движения у зооспор ламинарии, вероятно, происходит из-за того, что сначала теряет подвижность жгутик, отвечающий за поступательное движение (вращение вокруг своей оси), а затем снижается активность второго жгутика, и через 15-20 минут наблюдается полная остановка зооспор.

Развитие зигот фукуса пузырчатого

В ходе эксперимента, по наличию проросших зигот, установлено, что оплодотворение яйцеклеток и образование зигот происходило при концентрациях: нефть 0.5 – 30 ppm; бензин 0.5 – 5 ppm. При воздействии дизельного топлива (5 и 15 ppm) на второй день эксперимента проросшие зиготы не обнаружены, на четвертый день произошел плазмолиз содержимого зигот. Так как при этих концентрациях дизельного топлива антерозоиды сохраняют подвижность, а процесс оплодотворения яйцеклеток у фукусов, как известно, занимает несколько минут (Саут, Уиттик, 1990), то можно предположить, что оплодотворение яйцеклеток и образование зигот в эксперименте произошло, однако дальнейшее их развитие было подавлено, и зиготы погибли. Прорастаемость зигот в контроле (десятый день) составила 93.3%. При воздействии эмульсии нефти в концентрации 0.5 ppm прорастаемость равнялась 100%, при 5 ppm – 94.7%, при 10 ppm произошло разрушение проростков (плазмолиз содержимого ризоидов). На седьмой день при концентрациях нефти 20 и 30 ppm проростки погибли. При воздействии эмульсии бензина прорастаемость на седьмой день составила при концентрации 0.5 ppm – 80%, при 1 ppm – 83.3%, при 5 ppm – 66.6%. При воздействии бензина в концентрации 1 и 5 ppm относительная скорость роста ризоидов проростков фукуса выше контрольных значений.

Обнаружено, что при концентрации нефти 20 ppm происходит увеличение размеров прорастающих зигот фукуса, за счет деформированных форм с несколькими ризоидами (22%). При максимальной концентрации нефти (30 ppm) наблюдается уменьшение объема зигот, плазмолиз содержимого. Длина ризоидов достоверно возрастает в диапазоне концентраций нефти 0.5-5 ppm, а затем резко снижается. Это свидетельствует о негативном действии эмульсии нефти при концентрациях от 10 ppm и выше на относительную скорость роста ризоидов проростков фукуса.

Бензин оказывает более выраженный токсический эффект на развитие зигот фукуса пузырчатого. Размер зигот достоверно снижается при концентрации 5 ppm, при этой же концентрации отмечено снижение длины ризоидов фукуса, при более высоких концентрациях бензина происходит плазмолиз и гибель прорастающих зигот.

Динамика изменения длины ризоида исследовалась в эксперименте с концентрацией эмульсии бензина 0.5 ppm. В начале эксперимента длина ризоидов практически одинакова. Через 4 дня от начала эксперимента относительная скорость роста ризоидов проростков в контроле выше, чем у проростков, под-

верженных действию нефтетоксикантов. На шестой день показатели относительной скорости роста ризоидов проростков фукуса, находящегося в эмульсии бензина, не отличаются от контрольных значений.

Обнаружена интересная закономерность. Если в контроле прорастают зиготы диаметром 55-80 мкм, то при воздействии эмульсии нефти наблюдается запоздалое прорастание более крупных зигот (90-110 мкм). В контроле развиваются зиготы всего размерного ряда, а при воздействии токсикантов нормально развиваются только проростки, возникшие из зигот диаметром 60-85 мкм. На основании этого можно предположить, что крупные зиготы (и, соответственно, яйцеклетки), диаметром от 100 мкм и выше, менее жизнеспособны, по сравнению с зиготами меньшего размера, вероятно, из-за увеличения площади поверхности, контактирующей с токсикантами.

Развитие проростков фукуса пузырчатого

Относительная скорость роста ризоидов проростков фукуса при воздействии нефти максимальна при концентрации 0.5 ppm, но это значение меньше аналогичных показателей в контроле. При возрастании концентрации нефти, относительная скорость роста ризоидов проростков фукуса снижается, достигая минимального значения при концентрации 30 ppm. При воздействии дизельного топлива относительная скорость роста ризоидов проростков фукуса снижалась в диапазоне концентраций от 10 ppm до 15 ppm. В эксперименте с эмульсией бензина наибольшие значения относительной скорости роста ризоидов проростков фукуса, превосходящие контрольные значения, отмечены при 0.5 ppm, а наименьшая величина этого показателя зафиксирована при воздействии 15 ppm. Ювенильные проростки фукуса оказываются устойчивей к воздействию токсикантов, чем проростки, которые еще на стадии яйцеклетки подверглись токсическому воздействию. Некоторые исследователи (Andersson et al., 1992) пришли к аналогичным выводам, показав, что *Fucus vesiculosus* на стадии прорастающей зиготы оказывается наиболее чувствительным к воздействию токсикантов.

Нефтепродукты являются высокотоксичными веществами для водорослей (Нельсон-Смит, 1977) из-за способности подавлять функционирование фотосистемы II хлоропластов (Singh, 1988). Как известно, скорость фотосинтеза у антерозоидов и проростков фукуса несколько ниже, чем в яйцеклетках и прорастающих зиготах, причем в прорастающих зиготах она максимальная (McLachlan, Bidwell, 1978). Поэтому можно высказать следующее предположение: нефтетоксиканты, подавляя работу фотосистемы II, влияют на прорастаемость зигот и рост ризоидов проростков в первые дни жизни, четырехдневные проростки фукуса обладают более низкой скоростью фотосинтеза и, в результате этого, оказываются более устойчивыми к действию токсикантов.

В эксперименте было обнаружено, что более жизнеспособными в услови-

ях нефтяного загрязнения являются небольшие зиготы (60-85 мкм). Оптимальный диапазон размеров яйцеклеток и зигот фукуса пузырчатого заключается между 60-85 мкм, более мелкие или более крупные яйцеклетки и зиготы обладают меньшей жизнестойкостью и толерантностью к факторам среды.

Подтверждением такой точки зрения служит тот факт, что при исследовании размеров яйцеклеток *Fucus vesiculosus* из порта г. Мурманск выявлено, что их средний диаметр (мкм) равен $58.34 \pm 7.32^*$ ($n=420$), а у фукуса, произрастающего в относительно чистом месте (бухта Оскара, Дальне-Зеленецкая губа), эта величина равняется 71.24 ± 9.82 ($n=470$).

Развитие гаметофитов ламинарии

В ходе эксперимента выявлено, что нефть в концентрации 0.5 ppm и выше и дизельное топливо в концентрации 5 ppm и выше не оказывают подавляющего действия на развитие гаметофитов во всем диапазоне используемых концентраций. Эмульсия бензина подавляет развитие гаметофитов при концентрациях выше 15 ppm. Относительная нечувствительность эмбриоспор и гаметофитов к неблагоприятным факторам среды также отмечена в ряде исследований, проведенных сотрудниками лаборатории альгологии ММБИ (Промысловые..., 1998).

Процесс оплодотворения и развитие ранних спорофитов ламинарии сахаристой

Спорофиты в эксперименте появились через 18 дней после посева зооспор. Прорастаемость спорофитов составила 47.5%. Эксперимент был поставлен через 2 дня после обнаружения первых двухклеточных спорофитов. В ходе эксперимента было выяснено, что рост и развитие спорофитов происходит при концентрациях нефти до 15 ppm, дизельного топлива до 10 ppm, бензина до 15 ppm. Развитие ювенильных спорофитов происходит неравномерно. При воздействии токсикантов наблюдается снижение размеров спорофитов, хотя количество клеток в ювенильном талломе может не отличаться от контрольных значений. Нефтетоксиканты оказывают более выраженный токсический эффект на развитие ювенильных спорофитов, чем на развитие гаметофитов. При разрушении спорофитов наблюдается плазмолиз содержимого клеток, нарушение целостности клеточных стенок.

При воздействии эмульсии дизельного топлива (15 ppm) происходит разрушение образовавшихся гаметофитов. На пятый день, после появления первых спорофитов в контроле, были обнаружены первые 1-2-клеточные спорофиты в эмульсии нефти (5 ppm). При концентрациях токсикантов: бензин – 5 ppm и нефть – 10-30 ppm спорофиты не наблюдались, но были отмечены крупные гаметофиты. В эмульсии дизельного топлива (5-10 ppm) появления спорофитов не отмечено, а имеющиеся гаметофиты соответствовали четырем, -пятисуточным контрольным гаметофитам. На 25 день разрушились гаметофиты в эмульсии нефти (10-30 ppm) и дизельного топлива (5-10 ppm). На 30 день от начала

*среднее±стандартное отклонение

эксперимента появились первые одно-двухклеточные спорофиты в эмульсии бензина 0.5 ppm (17 день от появления первых спорофитов в контроле).

Из вышесказанного можно сделать заключение: при воздействии минимальных концентраций нефтетоксикантов, нефти 5 ppm и бензина 0.5 ppm, происходит развитие половозрелых гаметофитов и, самое главное, происходит оплодотворение яйцеклеток, образование и развитие спорофитов. Однако это происходит с запозданием – в эмульсии нефти через 5 дней от контрольных значений, в бензине – на 17 день.

Развитие ранних спорофитов энтероморфы

В ходе эксперимента было выявлено, что диапазон толерантности ювенильных спорофитов энтероморфы к воздействию нефти и нефтепродуктов значительно ниже, чем у проростков фукуса и гаметофитов ламинарии. При действии эмульсии нефти – 30 ppm произошло разрушение 2-3 клеточных нитей энтероморфы уже на 3 день (отметим, что и при этой максимальной концентрации зиготы проросли), при 20 ppm – разрушение отмечено на 5 день на стадии 3-4 клеточной нити, при 10 ppm отмирание 20-30 клеточных нитей произошло на 15 день. Минимальная концентрация эмульсии нефти оказала менее выраженный токсический эффект, но отмирание нитей отмечено на 20 день. Бензин был более токсичен для энтероморфы, чем эмульсия нефти. При концентрации эмульсии бензина равной 30 ppm разрушение нитей зафиксировано на второй день, 5 ppm – на 15 день. Эмульсия дизельного топлива в используемых концентрациях также оказалась высокотоксичной для проростков энтероморфы. При максимальной концентрации (15 ppm), разрушение нити отмечено на второй день, при 10 ppm – на 7 день, при 5 ppm – на 15 день.

Обычно в нити сначала разрушается содержимое 1-2 клеток, расположенных в ее центральной части, при этом происходит «раздувание» клеточной стенки таким образом, что клетка приобретает бочкообразную форму, через некоторое время оболочка клетки разрывается и нить распадается на ряд фрагментов, которые через небольшой промежуток времени (24-36 часов) полностью лизируются.

Оседание, прикрепление зооспор и скорость роста гаметофитов ламинарии сахаристой под влиянием пленки нефти и нефтепродуктов

В результате эксперимента было выявлено, что зооспоры способны оседать на стекла и развиваться во всех используемых концентрациях нефтепродуктов (нефть – 0.01%, 0.05%, 0.1%, 1%; бензин – 0.01%, 0.5%; дизельное топливо – 0.01%, 0.05%, 0.5%). При увеличении толщины пленки на стеклах происходит снижение количества проросших гаметофитов от общего числа осевших зооспор (эмбриоспор) (табл. 2). Распределение гаметофитов на субстрате не равномерно. Так как пленка на стеклах образуется не одинаковой толщины, то скопления гаметофитов приурочены к относительно чистым участкам поверхности стекол. В качестве объяснения полученных результатов, можно при-

Таблица 2. Развитие гаметофитов ламинарии на субстрате с пленкой нефтетоксикантов

Концентрация, %	Количество гаметофитов (% от общего числа осевших зооспор)		
контроль	85.0±5.0*	85.0±5.0	85.0±5.0
Нефть		Дизельное топливо	Бензин
0.01	87.0±10.0	81.5±3.0	83.0±0.5
0.05	88.0±0.6	84.0±5.0	–
0.5	85.0±12.0	82.0±0.6	80.0±12.0
0.1	83.0±7.0	–	–
1	82.0±5.0	–	–

Примечание: *среднее ± стандартное отклонение

нять гипотезу о хемотаксическом поведении зооспор ламинарии при выборе субстрата (Райлкин и др., 1985). Вероятно, зооспоры ламинарии способны «избегать» участков с пленкой на поверхности и оседать между пятнами нефтепродуктов. Небольшая часть зооспор, 10-15%, была обнаружена под пленкой токсиканта, все они были на стадии эмбриоспор, т.е. смогли прорастить трубку даже в этих экстремальных условиях.

В результате проведения второй части эксперимента (влияние оседающей пленки нефтетоксикантов на гаметофиты ламинарии) было выявлено, что при всех используемых концентрациях (за исключением нефти – 0.01%) уже на 5 день экспозиции происходит гибель 60% гаметофитов, а к концу экспозиции – зафиксировано 100 %-е число погибших гаметофитов. При оседании пленки нефти (0.01%) достоверного снижения числа развивающихся гаметофитов, по сравнению с контрольными значениями, не произошло (контроль – 78.0±0.9, нефть 0.01 % – 78.0±10).

Суммируя результаты этого эксперимента, можно сказать, что возрастание толщины пленки нефтепродуктов оказывает негативное влияние на развитие зооспор и гаметофитов ламинарии. При оседании зооспор на загрязненный субстрат, вероятно, имеют место процессы хемотаксиса между зооспорами и нефтетоксикантами, что позволяет зооспорам избегать наиболее загрязненных поверхностей. Оседание пленки нефтетоксикантов на проросшие эмбриоспоры (гаметофиты) приводит к их гибели уже на пятые сутки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Прогноз развития макроводорослей литорали и сублиторали Баренцева моря в условиях нефтяного загрязнения

Реакция на токсическое действие нефти и нефтепродуктов прослеживается на всех стадиях жизненного цикла макроводорослей. Эти реакции носят неспецифический характер для различных видов макроводорослей. Неспецифичность заключается в том, что действие нефтетоксикантов, как и других поллю-

тантов, а также факторов окружающей среды (температура, освещенность, соленость и др.), приводит к изменению морфо-функциональных характеристик макроводорослей, при этом снижается уровень фотосинтеза, увеличивается интенсивность дыхания, что вызывает падение относительной скорости роста таллома водорослей, зачастую приводя к гибели организма.

Наименее устойчивыми к воздействию нефти и нефтепродуктов являются макроводоросли на ранних стадиях своего жизненного цикла. На примере ламинарии и фукуса показано, что наибольшую чувствительность проявляют эти макроводоросли на стадии прорастающей зиготы (фукус) и ювенильного спорофита (ламинария) (рис. 2). Максимальные концентрации, которые способны они переносить, не изменяя своих морфо-функциональных характеристик, не превышают 5 ppm для нефти и бензина, хотя их рост и развитие возможно и при более высоких концентрациях нефтетоксикантов. Вегетативные талломы макроводорослей менее восприимчивы к воздействию токсикантов и их развитие возможно практически во всем диапазоне концентраций токсикантов, используемых в опыте (исключение составляет бензин).

Степень токсичности нефтепродуктов закономерно возрастает, начиная с нефти и дизельного топлива и заканчивая бензином, что связано с содержанием в бензине низкокипящих ароматических углеводородов группы бенз-(а)-пиренов, а также еще более токсичных присадок (Патин, 1997).

При проведении экспериментов, с учетом изменения освещенности в течение суток, необходимо учитывать, что высокая интенсивность ФАР способна нивелировать токсическое воздействие, которое выявляется по измерению скорости фотосинтеза. На данное обстоятельство указывается в ряде работ (Kuck, 1980; Shiels et al., 1973). В то же время показано, что при наличии пленки нефти на поверхности воды не происходит прекращения процессов фотосинтеза. Более того, через некоторое время экспозиции уровни фотосинтеза водорослей достигают практически первоначальных значений, что свидетельствует о наличии определенных адаптивных механизмов в функциональной системе макроводорослей.

При сравнении величин относительной скорости роста и фотосинтеза значимые корреляции не выявлены. Вероятно, это связано с тем, что величина относительной скорости роста к концу срока экспозиции (10–14 дней) – сумма процессов синтеза и деструкции у макроводорослей, а фотосинтез и дыхание – это, своего рода, одномоментный «срез», характеризующий состояние макроводоросли к концу экспозиции.

Проведенное исследование позволило определить ключевые показатели, которые могут использоваться при проведении процедуры биотестирования морских вод, загрязненных нефтепродуктами. Зооспоры ламинарии и антероциоиды фукусовых водорослей не могут применяться в качестве полноценных тест-объектов для оценки состояния вод, так как возможно дальнейшее разви-

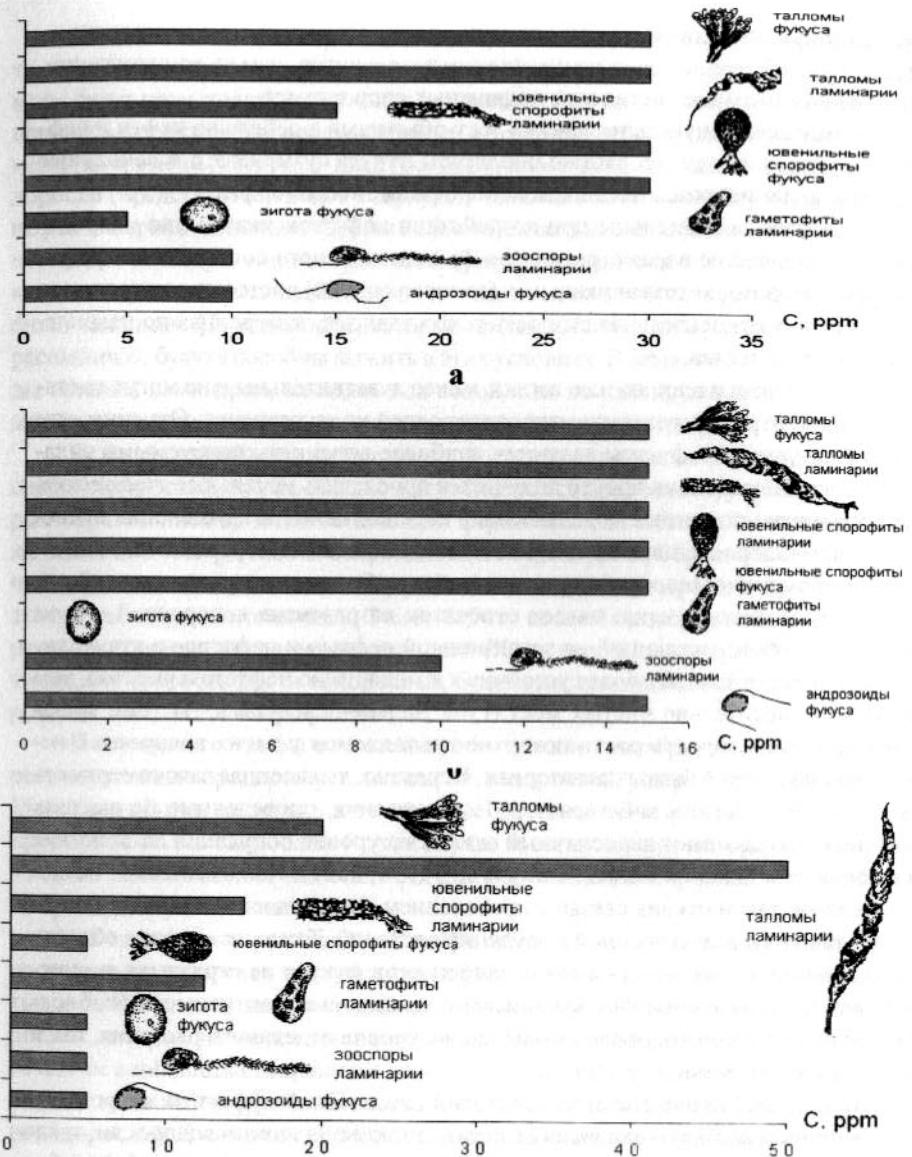


Рис. 2. Максимальные концентрации нефтетоксикантов (а – нефть, б – дизельное топливо, в – бензин), при которых не происходят изменения в функциональном состоянии ламинарии сахаристой и фукуса пузырчатого на разных стадиях жизненного цикла

тие гаметофитов ламинарии или оплодотворение яйцеклеток фукусовых в среде, имеющей более высокие концентрации токсикантов, чем те концентрации, при которых наступает остановка подвижных спор и гамет.

Максимально чувствительными тест-объектами к действию нефти и нефтепродуктов являются: прорастающие зиготы фукуса пузырчатого, ювенильные спорофиты ламинарии, ювенильные спорофиты энтероморфы.

Наиболее показательны при воздействии нефтетоксикантов на макроводоросли следующие параметры морфо-функционального состояния макрофитов: уровень фотосинтеза апикальных (интеркалярных) ростовых зон талломов макрофитов и относительная скорость роста таллома, измеренная по накоплению сухого вещества.

Другие показатели, на наш взгляд, менее чувствительны и не могут достаточно точно отразить реакцию макроводорослей на загрязнение. Отметим, что именно ламинария и фукусы являются наиболее легко культивируемыми видами и у них относительно просто получить и проследить начальные стадии жизненного цикла, последнее обуславливает перспективность применения вышеуказанных водорослей при проведении биотестирования морских вод.

Гидрохимическая характеристика района обитания макроводорослей определенным образом накладывает отпечаток на развитие водорослей. *Fucus vesiculosus*, прорастающий на загрязненной нефтью и нефтепродуктами литорали (Кольский залив), более устойчив к воздействию нефтетоксикантов, чем фукус из относительно чистых мест (губа Дальне-Зеленецкая). В тоже время относительная скорость роста поверхности талломов у таких водорослей несколько ниже, чем в чистых акваториях. Вероятно, выявленная закономерность имеет общебиологический характер. Исследования, проведенные на высших растениях, показывают аналогичный отклик на уровне популяции на действие токсичных соединений меди (Безель и др., 1994, 2001). Как отмечается исследователями, такой отклик связан с проявлением наследственной изменчивости изначально разнокачественной популяции растений. Такое же явление обнаружено нами при сравнении размеров яйцеклеток фукуса из «грязных» и «чистых» мест. Приведенные факты указывают на высокие адаптивные способности фукуса пузырчатого, проявляемые как на уровне отдельного растения, так и на уровне популяции.

Пленка нефти оказывает выраженный токсический эффект на макроводоросли, причем как при непосредственном контакте с талломом водоросли, так и при оседании на гаметофиты ламинарии. Зооспоры ламинарии способны избегать загрязненных нефтью участков поверхности. Аналогичные результаты получены при изучении стекол, покрытых тяжелыми фракциями нефти и экспонируемых в морской воде (Riquelme, Garcia-Tello, 1986).

На наш взгляд, при загрязнении прибрежной зоны нефтью и нефтепродуктами в сообществе литоральных и сублиторальных макроводорослей Баренцева моря будут происходить следующие изменения. При достижении побережья попавшей в морскую воду нефти, первыми в течение относительно короткого промежутка времени (несколько дней) погибнут литоральные красные и зеленые водоросли (представители родов *Porphyra*, *Palmaria* и *Enteromorpha*). Если пленка нефти «накроет» литораль толстым слоем (несколько миллиметров), то, вероятно, может исчезнуть и некоторая часть фукусовых водорослей. Это произойдет как из-за прямого токсического воздействия, так и из-за обрыва утяжеленных нефтью талломов. Но водоросли, которые прорастают в литоральных ваннах и расщелинах, будут способны выжить в этих условиях. В зависимости от амплитуды прилива ламинария, находясь под водой и не контактируя с пленкой нефти, может пережить в течение нескольких недель такую катастрофу.

Если катастрофа произойдет весной и приведет к частичной гибели фукусовых водорослей, то уже осенью могут появиться проростки фукусовых, которые образовались из зигот оставшихся фертильных талломов. Ламинария также способна быстро занять освободившиеся субстраты. Вероятно, в этом случае период восстановления литорали займет 1 год, и ущерб для прибрежной экосистемы будет минимален. Отметим, что весной происходит интенсивный рост практически всех макроводорослей (Кузнецов, Шошина, 2003), и нефть, уменьшая скорость роста водорослей, будет вносить дисбаланс в функционирование популяций макрофитов.

В случае катастрофы в конце августа – начале сентября, когда происходят репродуктивные процессы у большинства водорослей, ущерб будет значителен. Могут погибнуть не только вегетативные талломы, но и зиготы, ювенильные проростки макроводорослей. В этом случае восстановление литорали займет 2–3 года, в зависимости от наличия «фонда» фертильных водорослей, оставшихся за пределами участка катастрофы.

На наш взгляд, разовая катастрофа скажется не столь значительно, как, например, хроническое поступление нефтетоксикантов в условиях полузакрытых губ. Попадание нефти не приведет к полному исчезновению бурых водорослей, которые являются доминантами прибрежной экосистемы. Структурный «скелет» сообщества сохранится, но могут исчезнуть более чувствительные к воздействию нефти группы беспозвоночных животных и некоторые виды макроводорослей. Это может привести к определенным перестройкам в литоральном сообществе и спровоцировать возникновение трудно прогнозируемых явлений, которые способны повлиять на продуктивность и распределение макроводорослей на литорали и сублиторали.

ВЫВОДЫ

1. Токсическое воздействие нефтепродуктов на изученные виды макроводорослей увеличивается в следующем ряду: нефть – дизельное топливо – бензин. По сравнению с эмульгированной и растворенной формами нефти (нефтепродуктов) наиболее токсичной для макроводорослей является пленка нефти (нефтепродуктов).

2. Наиболее устойчивыми к воздействию нефти и нефтепродуктов являются бурые водоросли (фукусовые и ламинария), наименее – красные и зеленые (порфира, пальмария и энтероморфа).

3. Макрофиты, обитающие в местах с хроническим нефтяным загрязнением, в большей степени адаптированы (преадаптированы) к действию нефти и нефтепродуктов, чем водоросли из чистых биотопов.

4. Для *Laminaria saccharina* и *Enteromorpha intestinalis* максимально уязвимыми стадиями жизненного цикла в условиях нефтяного загрязнения являются гаметогенез и рост ювенильного спорофита, для *Fucus vesiculosus* – прорастающая зигота.

5. Подвижность и тип движения зооспор ламинарии и антерозоидов фукуса не являются тест-реакцией при проведении экотоксикологических экспериментов.

6. Прикрепление зооспор и развитие гаметофитов ламинарии возможно на субстратах, загрязненных нефтью.

7. Эмульсия нефти и нефтепродуктов снижает фотосинтетическую активность макроводорослей и подавляет процессы роста. При кратковременном воздействии нефтетоксикантов уменьшается интенсивность фотосинтеза, при долговременном – подавляется дыхание.

8. Присутствие пленки нефти на поверхности воды не оказывает влияния на интенсивность фотосинтеза и дыхания фукусовых водорослей и ламинарии сахаристой в течение 12 часов. Пленка нефти на поверхности воды литоральных ванн (в период отлива) не вызывает снижения интенсивности фотосинтеза у фукусовых водорослей.

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Возможность биондикации углеводородов в морской среде морскими водорослями на ранних стадиях развития // Материалы конференции молодых ученых ММБИ (г. Мурманск, март 2000 г.). Мурманск: Изд-во ММБИ КНЦ РАН, 2000. С. 64-66.

2. Перспективы использования морских и пресноводных растений в качестве биофильтров // Материалы 6 международной научно-практической студенческой конференции «Экологические проблемы регионов и федеральных округов» (г. Ростов-на-Дону, 29 ноября 2000). Ростов-на-Дону, 2000. С. 84-86. (Соавт.: Афанасьев Д.Ф.)

3. Влияние нефти и нефтепродуктов на ранние стадии развития *Laminaria saccharina* // Тезисы докладов 8-го съезда гидробиологического общества РАН, (г. Калининград 16-23 сентября 2001 г.). Том 3 (молодежная секция). Калининград, 2001. С. 78.

4. Толерантность черноморских водорослей-макрофитов к воздействию нефти и нефтепродуктов // Материалы международной научной конференции «Проблемы сохранения экосистем и рационального использования биоресурсов Азово-Черноморского бассейна» (г. Ростов-на-Дону 8-12 октября 2001 г.). Ростов-на-Дону, 2001. С. 167-169.

5. Влияние пленки нефти и нефтепродуктов на развитие черноморских водорослей-макрофитов // Тезисы докладов первой Всероссийской школы по морской биологии «Современные проблемы биологии и экологии морей» (г. Ростов-на-Дону, 16-18 октября 2001 г.). Мурманск: Изд-во ММБИ КНЦ РАН, 2001. С. 109-112.

6. Водоросли макрофиты и биологическая очистка морской воды от нефти и нефтепродуктов // Материалы конференции международной научно-практической конференции «Биосфера и человек». Майкоп: Изд-во АГУ, 2001. С. 400-401.

7. Биологическая очистка загрязненной речной и морской воды с помощью растений-макрофитов. Возможность и перспективы применения // Тезисы докладов региональной научной конференции «Здоровье города – здоровье человека» (г. Ростов-на-Дону, 29 марта 2001 г.). Ростов-на-Дону, 2001. С. 124-127. (Соавт.: Афанасьев Д.Ф.)

8. Толерантность зооспор и гаметофитов *Laminaria saccharina* к воздействию нефти и нефтепродуктов // Материалы конференции молодых ученых ММБИ (г. Мурманск, апрель 2001 г.). Мурманск: Изд-во ММБИ КНЦ РАН, 2000. С. 84-86. (Соавт.: Рыжик И.В.)

9. Действие нефти и нефтепродуктов на развитие *Fucus vesiculosus* (Phaeophyceae, Fucales) // Материалы юбилейной конференции молодых ученых ММБИ (г. Мурманск, апрель, 2002 г.). Мурманск: Изд-во ММБИ КНЦ РАН, 2002. С. 153-160.

10. Влияние нефти и нефтепродуктов на развитие бурых водорослей Баренцева моря // Тезисы докладов международной конференции «Современные проблемы океанографии шельфовых морей» (г. Ростов-на-Дону, 13-15 июня 2002 г.). Мурманск: Изд-во ММБИ КНЦ РАН, 2002. С. 227-230.

11. Влияние нефтяного загрязнения на ранние стадии развития водорослей-макрофитов Азово-Черноморского бассейна // Экосистемные исследования Азовского моря и побережья. Апатиты: Изд-во КНЦ РАН, 2002. Т. 4. С. 273-278.

12. Толерантность бурых водорослей Баренцева моря к воздействию нефти и нефтепродуктов // Тезисы докладов Всероссийской конференции молодых ученых, посвященной 140-летию со дня рождения Н.М. Книповича (г. Мурманск, 23-25 апреля 2002 г.). Мурманск: Изд-во ПИНРО, 2002. С. 230.

Отпечатано в издательском центре ММБИ. Тираж 100 экз.

Тел. 56-03-16