

Государственное бюджетное образовательное учреждение
«Центр дополнительного образования «Малая академия наук»
Центр выявления и поддержки одаренных детей
города Севастополя «Альтаир»

Номинация: Экологический мониторинг

**ПАРАМЕТРЫ БИОЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ КАК СПОСОБ ВЫЯВЛЕНИЯ
ВОЗДЕЙСТВИЯ НЕФТЕПРОДУКТОВ НА СОСТОЯНИЕ
ГРЕБНЕВИКОВ-ВСЕЛЕНЦЕВ**

Работу выполнила:

Силакова Александра Михайловна,
учащаяся творческого объединения
«Микробиология» ГБОУ ЦДО «Малая
академия наук», ГБОУ «Гимназия №1 им.
А. С. Пушкина», 10 класс;

Научный руководитель:

Дорошенко Юлия Валерьевна, педагог
дополнительного образования творческого
объединения «Микробиология» ГБОУ
ЦДО «Малая академия наук»,
н. с. ФИЦ ИнБЮМ, к. б. н.

Научный консультант:

Силаков Михаил Иванович,
м. н. с. ФИЦ ИнБЮМ

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
РАЗДЕЛ 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	8
1.1. Загрязнение морской среды нефтяными углеводородами и их влияние на морские организмы.....	8
1.2. Экология и роль в планктонном сообществе Чёрного моря гребневиков-вселенцев	8
1.3. Биолюминесценция гребневиков-вселенцев	10
1.4. Биолюминесценция как индикатор влияния различных токсикантов на физиологическое состояние планктонных организмов	11
РАЗДЕЛ 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	14
2.1. Сбор материала.....	14
2.2. Оборудование, методы и условия проведения экспериментов	15
2.3. Статистическая обработка данных.....	18
РАЗДЕЛ 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	19
3.1. Выбор условий и параметров экспериментов.....	19
3.2. Полученные результаты	22
3.3. Анализ полученных данных и сравнение с другими видами токсикантов.....	22
ВЫВОДЫ.....	26
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	27

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы. Нефтяные углеводороды (НУ) широко используются человеком. Повсеместное их использование, нарушения при хранении, утечки, разливы приводят к загрязнению окружающей среды, в том числе и морских акваторий. Кроме того, нефтяные углеводороды попадают в прибрежные экосистемы с суши со сточными водами и ливневыми стоками [1].

В акваториях, в которых располагаются крупные порты, постоянно выполняются мониторинговые исследования концентрации НУ и различных фракций. Однако такие работы проводятся без оценки влияния концентрации НУ на биоценоз акваторий. Связано это с тем, что влияние жидких продуктов нефтяных углеводородов на обитателей водной среды еще недостаточно изучено. Много внимания уделено бентосным обитателям: морским водорослям, двустворчатым моллюскам [2]. В работах показано, что для изучаемых видов существуют свои опасные уровни концентрации НУ, поэтому для оценки влияния НУ на биоценоз необходимо иметь данные по влиянию их на каждый вид, доминирующий в данном сообществе или играющий крупную роль в трофической цепи [3].

Таковыми видами для планктонного сообщества Чёрного моря являются в последние годы гребневика-вселенцы *Mnemiopsis leidyi* и *Beroe ovata*. Так, с появлением в конце 1980-х годов планктонофага *M. leidyi* учёные связывают снижение биомассы планктона. Вселившийся на 10 лет позже гребневик *B. ovata* является облигатным хищником для *M. leidyi*. С его распространением в Чёрном море связывают уменьшение прессинга *M. leidyi* на планктон [4-7]. Изучение влияния различной концентрации НУ на эти виды позволит улучшить понимания воздействия данного вида загрязнения на биоценоз припортовых акваторий.

Изучение влияния токсикантов на живые организмы в лабораторных условиях сводится к оценке выживаемости экземпляров вида при различных концентрациях, регистрации изменения в метаболизме или поведении

экземпляров вида по сравнению с контрольной группой. Гребневики-вселенцы обладают способностью к биолюминесценции, которая является одним из индикаторов физиологического состояния животного [8]. Таким образом, изучая изменения основных параметров биолюминесцентного сигнала: амплитуду, длительность и энергию, в растворах с различной концентрацией токсиканта по сравнению с контрольной группой, можно оценить воздействие этого токсиканта на экземпляры исследуемого вида.

Изучение влияния сырой нефти на данные виды было выполнено ранее в ИнБЮМ [9], однако данный вид токсиканта позволяет оценивать катастрофические явления, происходящие при разливе нефти на буровых нефтяных скважинах или при затоплении нефтяных танкеров. В припортовых акваториях загрязнение НУ происходит чаще при разливе топлива или попадания смазочных материалов в окружающую среду. Одним из таких материалов является машинное масло, используемое для смазывания движущихся частей двигателей плавсредств различной тоннажности.

Цель и задачи исследования. *Цель работы* – оценить влияние различных концентраций машинного масла на основные параметры биолюминесцентного сигнала гребневику-вселенцев *Mnemiopsis leidyi* и *Beroe ovata*.

Цель работы определила следующие **задачи**:

- провести анализ научной литературы по выявлению наилучших условий для проведения экспериментов: сезон года, температурные условия, время суток, плотность объектов в аквариумах с растворами;
- выполнить лов и отбор подвижных и активных экземпляров гребневику-вселенцев в акватории Севастополя;
- подготовить растворы морской воды с концентрациями машинного масла равными 1, 2,5, 5 ПДК;
- провести лабораторные исследования по составленному плану;
- провести анализ полученных результатов, сравнив основные параметры биолюминесцентного сигнала у экземпляров исследуемых видов,

содержащихся в растворах с различной концентрацией машинного масла, и в контрольной группе;

- оценить влияние различных концентраций машинного масла на *Mnemiopsis leidy* и *Beroe ovata* и сделать вывод о влиянии токсиканта на данные виды.

Объекты исследования – гребневики-вселенцы Чёрного моря *Mnemiopsis leidy* и *Beroe ovata*, выловленные в акватории Севастопольской бухты.

Предмет исследования – оценка изменения основных параметров биолюминесцентного сигнала (амплитуда, длительность, энергия) гребневиков *M. leidy* и *B. ovata*, находящихся в растворах с разной концентрацией машинного масла по сравнению с контрольной группой.

Научная новизна полученных результатов. Проведённое в данной работе исследование дополнит знания о влиянии такого токсиканта, как машинное масло (продукт нефтяных углеводородов) на физиологию гребневиков-вселенцев, играющих важную роль в трофической цепи современного состояния планктонного сообщества Чёрного моря, и позволит оценить уровень такого влияния.

Практическое значение полученных результатов состоит в том, что полученные данные по чувствительности гребневиков-вселенцев можно будет учитывать при оценке вреда нефтяных разливов на морскую биоту.

Связь работы с научными программами. Научная работа выполнена на базе отдела «Биофизическая экология» ФИЦ ИнБЮМ в рамках работы творческого объединения «Микробиология».

Личный вклад учащегося. Силакова А.М. принимала непосредственное участие в лове и отборе экземпляров гребневиков-вселенцев в Севастопольской бухте. Под руководством научного консультанта самостоятельно выполнила часть лабораторных исследований. Автором проведен анализ полученных результатов и подготовлен отчёт о проделанной работе согласно рекомендаций научного руководителя.

Структура и объём работы. Научная работа изложена на 28 страницах машинописного текста, состоит из введения, 3 разделов, выводов, списка использованных источников, который содержит 20 источников. Текст работы иллюстрирован 11 рисунками.

РАЗДЕЛ 1

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Загрязнение морской среды нефтяными углеводородами и их влияние на морские организмы

Основным загрязняющим веществом, наряду с пластиком, принято считать углеводороды нефти и их продукты. Изучение влияние их на обитателей моря сильно затруднено из-за большого количества соединений, входящих в состав нефти и нефтепродуктов.

Для морских организмов нефть представляет собой сложнейший комбинированный токсикант, основное появление которого зависит от деятельности человека (антропогенное загрязнение). Наиболее значимо влияние этого загрязнения в прибрежной зоне [1].

Примером влияния крупного разлива нефти на обитателей моря является авария танкера «Тимпако Мару» [10]. От разлива дизельного топлива пострадала не только растительность. Но это еще привело и к сокращению численности бентосных обитателей: морских ежей и моллюсков.

Акватория юго-западного побережья Крымского полуострова имеет важное хозяйственное и рекреационное значение, поэтому исследование влияния загрязнения на морскую среду в данном регионе представляет научный и практический интерес. В акватории Крымского региона произошло только одна крупная авария, связанная с разливом мазута в ноябре 2007 г. в Керченском проливе [3]. В прибрежных водах Севастополя имели место случаи небольших локальных нефтяных загрязнений, не являющихся остротоксичными для морских обитателей [11-13].

1.2. Экология и роль в планктонном сообществе Чёрного моря гребневиков-вселенцев

Гребневика встречаются во всех морях и океанах, на всех широтах, от эпипелагиали до абиссали, зачастую играя заметную роль в функционировании

экосистемы. В Чёрном море встречаются представители трёх отрядов Stenophora: Cydippida – автохтонный вид *Pleuropbrachia pileus* Müller, 1776 [14], Lobata – вселившийся в начале 1980-х гг. *Mnemiopsis leidyi* A.Agassiz [15] и Beroidea – появившийся в конце девяностых годов двадцатого века *Beroe ovata* Mayer [5]. Последние два вида гребневиков были завезены с балластными водами судов из эстуариев Северной Америки и, наряду с другими факторами, в том числе изменениями климата, оказали существенное влияние на модификацию трофических связей в экосистеме Чёрного моря.

Mnemiopsis leidyi A.Agassiz характеризуется уменьшенными щупальцами и наличием двух подвижных ложковидных выростов тела – лопастей по краям желеобразного тела (сферосомы). Иногда эти лопасти называют оральными долями, так как, смыкаясь, они охватывают оральный полюс животного дистальными концами. На поверхности тела расположено восемь рядов гребных пластинок или ктен, служащих для движения.

Мнемиопсис является конкурентом промысловых рыб, питаясь в основном зоопланктоном, предпочитая акарций и личинок баянуса, личинок моллюсков, а также икринок и личинок самих рыб [16].

Характерной особенностью *Beroe ovata* является отсутствие щупальцевых нитей и оральных (боковых) лопастей. Вдоль тела проходят 8 рядов гребных пластинок. Широкое ротовое отверстие берое, сильно вытянутое в сагиттальной плоскости, ведёт в обширную глотку – стомодиум, служащую для питания. Тело сплющено.

B. ovata считают облигатным хищником, питающимся представителями рода Lobata. В Чёрном море к его жертвам относят *M. Leidyi*. Благоприятные условия температуры и солёности Черного моря позволили *B. ovata* успешно акклиматизироваться и размножиться, что снизило биомассу мнемиопсиса в 10 раз [5] и привело к возрастанию как биомассы других желетелых (в частности *A. aurita*), так и кормового мезопланктона в целом [6]. Вновь выросли уловы промысловых видов рыб, хотя прежнего уровня они так и не достигли.

1.3. Билюминесценция гребневиков-вселенцев

Билюминесценция – это способность живых организмов излучать свет. Билюминесценция происходит при химических реакциях, поэтому она относится к хемилюминесценции. В пресных водоёмах и на суше доля организмов, обладающих способностью к билюминесценции, практически ничтожна. В море светящиеся организмы играют заметную роль в функционировании экосистемы.

Билюминесцентный сигнал, наряду с акустическими колебаниями и химическими веществами, является одним из наиболее часто используемых организмами коммуникативных каналов в море, и имеет, при этом, ряд преимуществ. В отличие от акустической волны, распространяющейся в воде на достаточно большие расстояния, световая вспышка может быть заметна на расстоянии только до нескольких сот метров, и носит более направленный характер. Химические сигналы, хотя и играют огромную роль в функционировании любой морской экосистемы, носят характер медленных взаимодействий, скорость которых невелика [17].

Таким образом, к билюминесценции прибегают организмы в случае необходимости подать быстрый направленный сигнал на небольшие и средние расстояния. Говоря об экологической роли билюминесценции, следует отметить, что, она, как правило, имеет импульсный характер: большинство морских эукариотных организмов не светятся постоянно (в отличие от колонии прокариот), а излучают свет отдельными вспышками.

Способность излучать свет в видимом диапазоне существует и у гребневиков-вселенцев мнemiопсиса и берое. Излучение гребневиков происходит в специфических клетках – фотоцитах. Эти овальные гранулы 6 – 8 мкм в диаметре наблюдаются в клетках, расположенных под гребными пластинками в области меридиональных гастроваскулярных каналов [17].

Как и у большинства морских организмов, эмиссия светоизлучения у *Mnemiopsis leidyi* и *Beroe ovata* находится в сине-зелёной области спектра. Длина волны светоизлучения большинства ктенофор находится в диапазоне

458-510 нм. Это, возможно, связано с оптическими свойствами морской воды, которая наиболее прозрачна именно в этом диапазоне.

Светозлучение организма происходит в ответ на внешние стимулы – механической (тактильные или гидродинамические) или химической природы.

В световой отклик вовлечены все фотоциты организма, реагирующие более или менее синхронно. В биолюминесцентную реакцию на клеточном уровне, как уже указано выше, вовлечён фотопротеин, активируемый ионами Ca^{2+} [18].

1.4. Биолюминесценция как индикатор влияния различных токсикантов на физиологическое состояние планктонных организмов

Экологическое состояние любой акватории зависит от влияния совокупности антропогенных и природных факторов. Согласно современным представлениям, основанным на многолетних экспериментальных и натурных исследованиях, потенциально токсичными для морской среды являются около двадцати металлов. В список наиболее опасных, и поэтому приоритетных для изучения, входят такие тяжёлые металлы, как кадмий, свинец, ртуть, медь и цинк [19].

Биолюминесцентная система планктонтов, как один из ферментсубстратных модулей в комплексе внутренних биофизических циклов организма, испытывает определённые сдвиги при контакте с токсикантами [17]. В ряде случаев показаны нарушения функциональных характеристик организмов, подавление или смещение фазового периода циркадных ритмов биолюминесценции и её характеристик под воздействием некоторых химических и физических агентов [19].

Установлено, что соли меди при высоких концентрациях оказывают на гидробионтов вяжущее, раздражающее и прижигающее действие, а в низких – инактивируют дыхательные ферменты.

Исследование биолюминесценции гребневиков *M. leidyi* и *B. ovata* показало, что при воздействии на гребневиков небольших концентраций меди,

цинка и ртути наблюдается стимулирующий эффект, который сменяется ингибированием их свечения при увеличении концентрации тяжелых металлов и времени их экспозиции.

Среди тяжелых металлов ртуть и свинец считаются наиболее опасными [17]. Действие ртути на биолюминесценцию гребневикулов стимулирующее при 0,1 ПДК, ингибирующее при 10 ПДК (рис. 1.1), однако суточная экспозиция *M. leidy* при 10 ПДК ртути приводила к невысвечиванию особей. *V. ovata*, напротив, оказался более устойчив к действию высокой концентрации ртути, сохраняя способность светиться при 24 ч экспозиции.

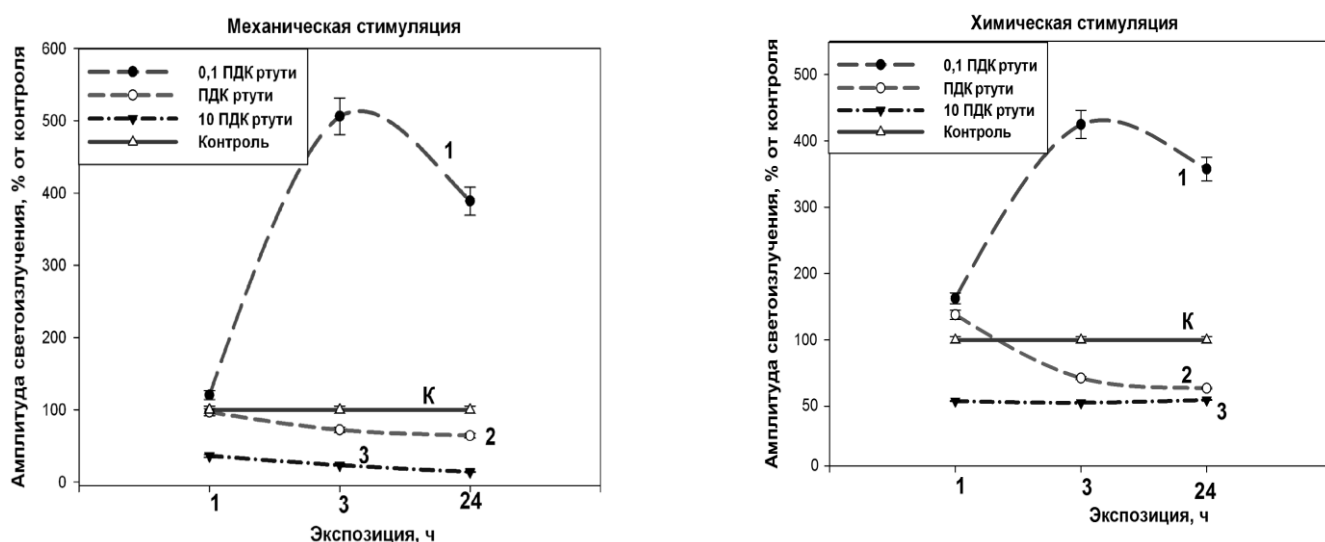


Рис. 1.1 Интенсивность светоизлучения гребневикулов *V. ovata* при воздействии ионов ртути в концентрации: 0,1 ПДК (1); ПДК (2); 10 ПДК (3) в отношении к контролю [17]

Действие свинца на биолюминесценцию гребневикулов целиком отличается от воздействия остальных металлов полным ингибированием биолюминесценции как при небольших, так и при высоких концентрациях реагента (рис. 1.2). Являясь многофункциональным политропным токсикантом, он приводит к целому спектру метаболических и иммунных нарушений в организме в зависимости от степени интоксикации.

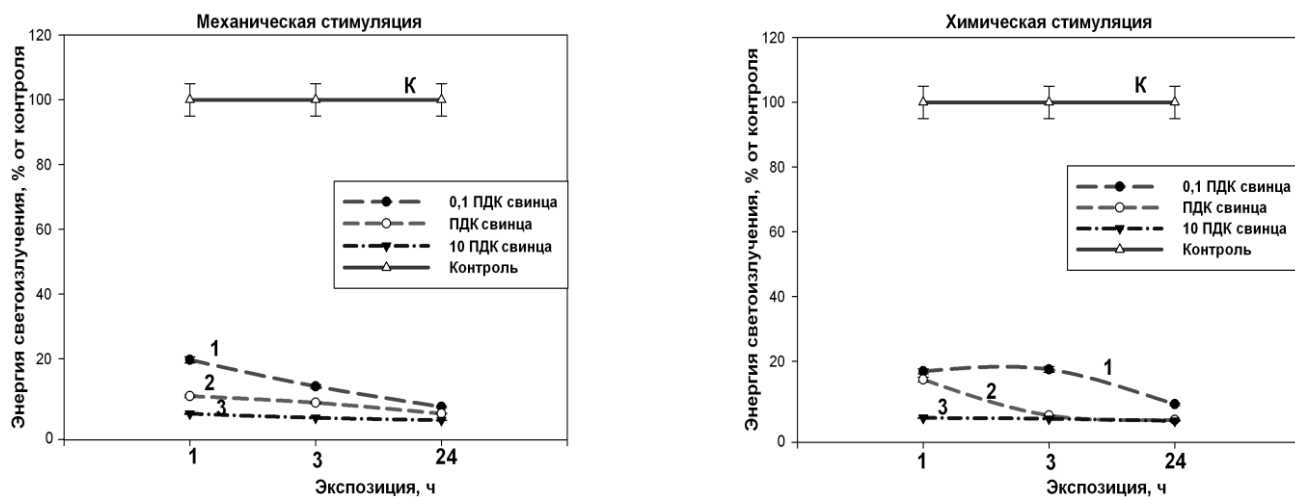


Рис. 1.2 Энергия светоизлучения гребневиков *V. ovata* при воздействии ионов свинца в концентрации: 0,1 ПДК (1); ПДК (2); 10 ПДК (3) в отношении к контролю [17]

Таким образом, высокая чувствительность биолюминесценции гребневиков позволяет использовать их как биоиндикаторы качества морской среды [17].

РАЗДЕЛ 2

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Сбор материала

Гребневики отлавливали прицельным ловом в бухте г. Севастополя (рис. 2.1) с глубин от 20 см до поверхности моря на расстоянии не более 2 м от края бетонной набережной. Общая длина зоны вылова составляет 1 км. Глубина места составляла от 1 до 2 м. Ловы проводили в светлое время суток с 10 до 12 часов утра и в хорошую солнечную погоду. Температура поверхности воды составляла 25 ± 1 °С. Сбор материала проводили в августе.

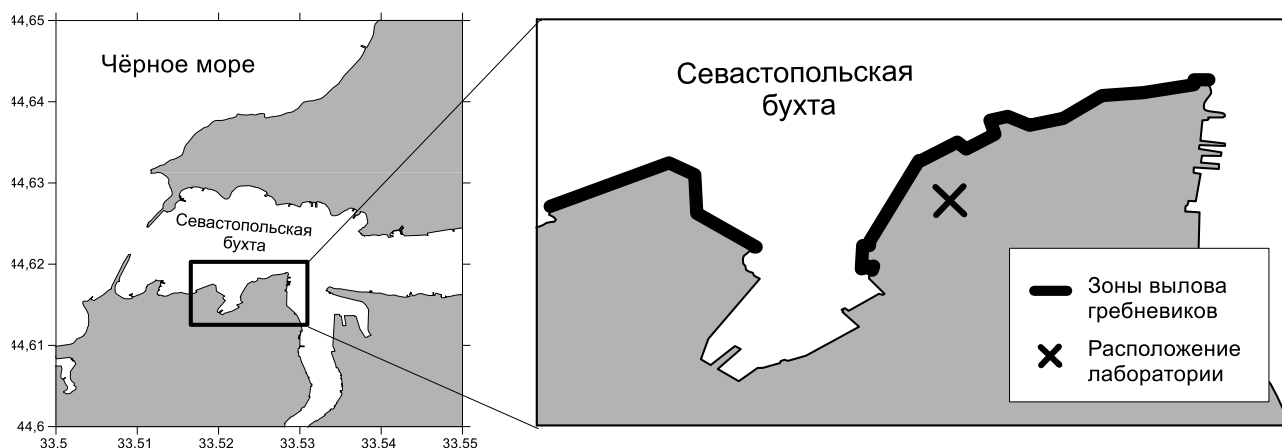


Рис. 2.1 Зоны вылова *Mnemiopsis leidyi* и *Beroe ovata* и расположение лаборатории.

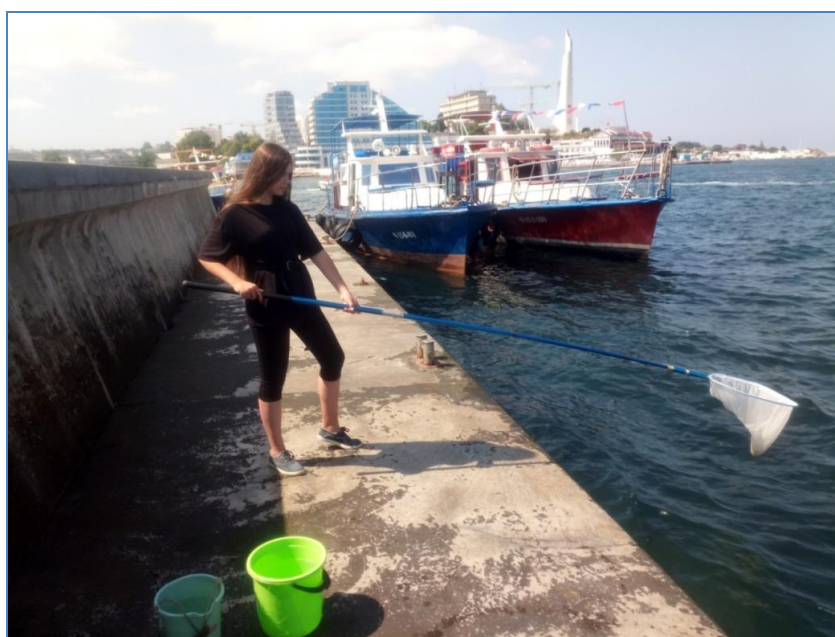
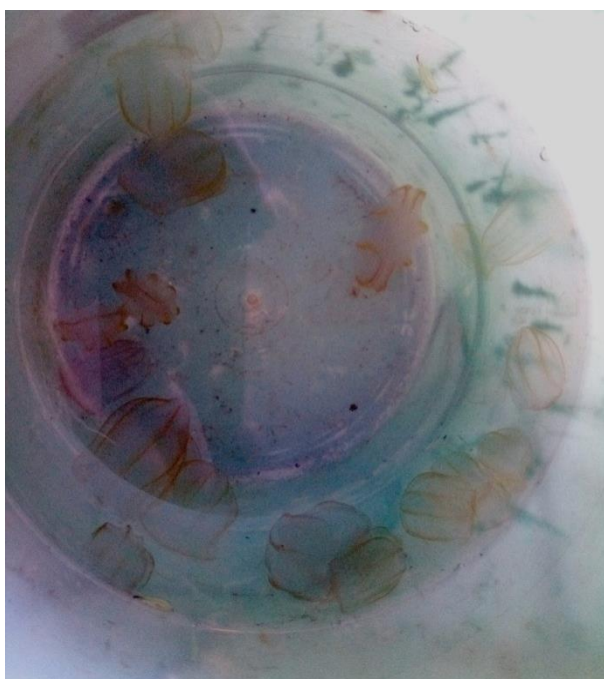


Рис. 2.2 Силакова А.М. выполняет лов гребневики

В качестве орудия лова использовали сачок с конусом из полиэстерной сетевой ткани с отверстиями 3 мм и телескопической 4-х метровой рукояткой (рис. 2.2).

Выловленных гребневиков первоначально помещали в пластиковые ведра объемом 5-8 л, доставляли в лабораторию и рассаживали по аквариумам с фильтрованной морской водой температурой 23 ± 1 °С (рис. 2.3).



а



б

Рис. 2.3 Выловленные объекты: а) Берое в пластиковом ведре б) мнемипсис в 5-л стеклянном стакане

В качестве аквариумов использовали 5-л стеклянные мерные стаканы. В каждом аквариуме присутствовали экземпляры одного вида. Плотность размещения гребневиков не превышала 1 экз. / л.

2.2. Оборудование, методы и условия проведения экспериментов

После адаптации животных к новым условиям длительностью не менее 1 часа приступали к экспериментам. В качестве токсиканта из нефтепродуктов использовали машинное масло. Концентрации для растворов выбирали из расчета норм предельно-допустимых концентраций (ПДК) для нефтепродуктов

[20].

При подготовке растворов вносили необходимое количество токсиканта в ёмкости с морским фильтратом и тщательно перемешивали электрической мешалкой в течении 5-8 минут. Раствор использовали спустя час после перемешивания.

Гребневики разделяли на 4 группы (в каждой экспериментальной приблизительно одинаковое количество экземпляров):

- 1) особи, содержащиеся при концентрациях нефтепродуктов равных 1 ПДК;
- 2) особи, содержащиеся при 2,5 ПДК нефтепродуктов;
- 3) особи, содержащиеся при концентрациях нефтепродуктов, в 5 раз превышающих ПДК;
- 4) контроль – свежесвыловленные гребневики, содержащиеся в чистой морской воде.

Для исследований были взяты только неповреждённые особи без содержимого в гастроваскулярной полости. Экспозиция гребневики в темноте контрольной и экспериментальных групп составляла 1 ч. После чего все особи рассаживали по аквариумам с подготовленными растворами и, спустя определённое время экспозиции извлекались из них в кювету и помещались в лабораторный комплекс «Свет» (рис. 2.4). Приборный комплекс включал в себя высоковольтный блок питания (ВС-22); люминескоп, состоящий из приёмника светового излучения (ФЭУ-71) и темновой камеры для объекта (рис. 2.4).

Параллельно проводились измерения сигналов у организмов из контрольной группы. Экспозиция нахождения объектов в растворах составляла 15, 40 и 60 минут. Все манипуляции проводили в специальной темной комнате без включения света. В качестве источника подсветки использовали маломощный красный фонарик, затененный дополнительно небольшим куском ткани для создания слабого рассеянного освещения.



Рис. 2.4 Лабораторный комплекс «Свет»

Частота регистрации биолюминесцентного сигнала составляла 10 кГц. Данные выводились на экран в виде графика и записывались в текстовый файл с привязкой по времени. В темновую камеру люминескопа устанавливали кювету объёмом 50 см³ из прозрачного оргстекла, в которую отсаживали подопытные организмы.

Из множества методов стимуляции биолюминесценции была выбрана механическая. Эта стимуляция является естественным фактором, заставляющим организм светиться непосредственно в морской среде. При данной стимуляции с помощью механического поршневого устройства создается поток воды в кювете. Возникший при этом турбулентный ток жидкости приводит к деформации клеточной мембраны гребневика. Деформация, в свою очередь, запускает процесс светоизлучения, описанный ниже (см. 3.1).

Для создания такого потока используется 2 мл морского фильтрата, находящегося при той же температуре, что и жидкость в кювете. Температура воды и растворов в эксперименте составляла 23 ± 1 °C.

Всего в эксперименты было использовано 60 экземпляров *B. ovata* с орально-аборальной длиной 25-45 мм и 108 экземпляров *M. leidyi* с размерами 11-30 мм.

2.3. Статистическая обработка данных

Выбор тактики статистической обработки и подготовку данных для анализа выполнили, базируясь на общепринятых методах. Статистическая обработка проведена с помощью стандартной программы “Excel”.

Для целостности изложения материала часть методов описана в соответствующих разделах.

РАЗДЕЛ 3

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Выбор условий и параметров эксперимента

Светозлучение указанных гребневиков представляет собой одиночный импульс определённой продолжительности. Форма импульса имеет несколько вершин. К основным параметрам характеристики биолюминесцентного сигнала относят длительность сигнала (L), его энергию (E) и амплитуду (A) – максимальное значение энергии, зарегистрированное в единицу времени измерения (рис. 3.1).

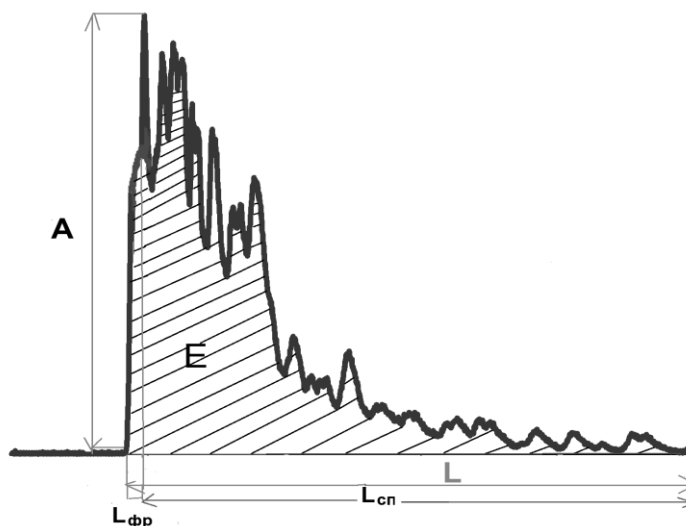
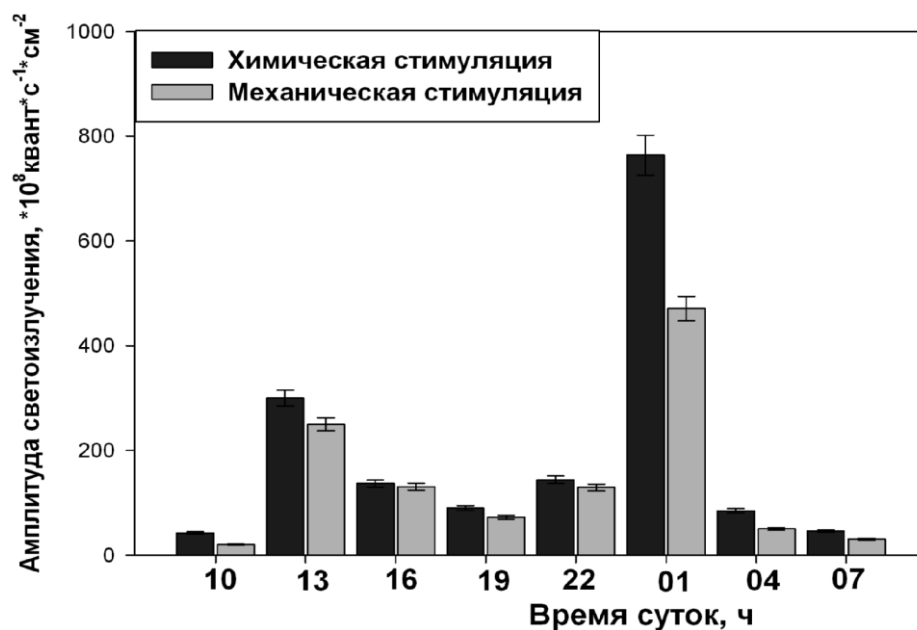
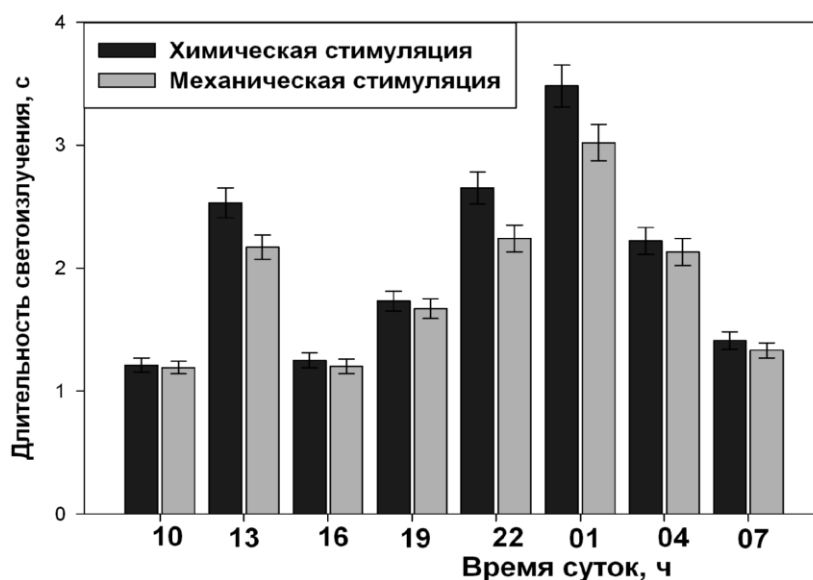


Рис. 3.1 Схема измерения биолюминесцентного импульса гребневиков [17]

Суточная ритмика свечения гребневиков-вселенцев, исследованная в Институте биологии южных морей, показала наличие у видов циркадного ритма. Содержащиеся на протяжении 24 часов особи обоих видов, как при полной темноте, так и при постоянном освещении, показали, что в светлое время суток существует пик интенсивности светозлучения, приходящийся на 13 часов. Второй пик, при котором значения амплитуды свечения превышают в 3-4 раза дневной, приходится на 01 час [17] (рис. 3.2а,б).



а



б

Рис. 3.2 Суточная ритмика при содержании 24 ч на свету:

а) *M. leidy* б) *V. ovata* [17]

Типичные световые сигналы *M. leidy* и *V. ovata* представляют собой ряд последовательных вспышек, зачастую накладывающихся друг на друга (рис. 3.3). В сигнале мнемипсиса можно выделить две составляющие: первая – постепенно нарастающее свечение со средней амплитудой и пологим фронтом нарастания и спада. На этом фоне выделяется вторая – резкие вспышки

большой амплитуды, непродолжительные, быстро достигающие максимума и также быстро спадающие.

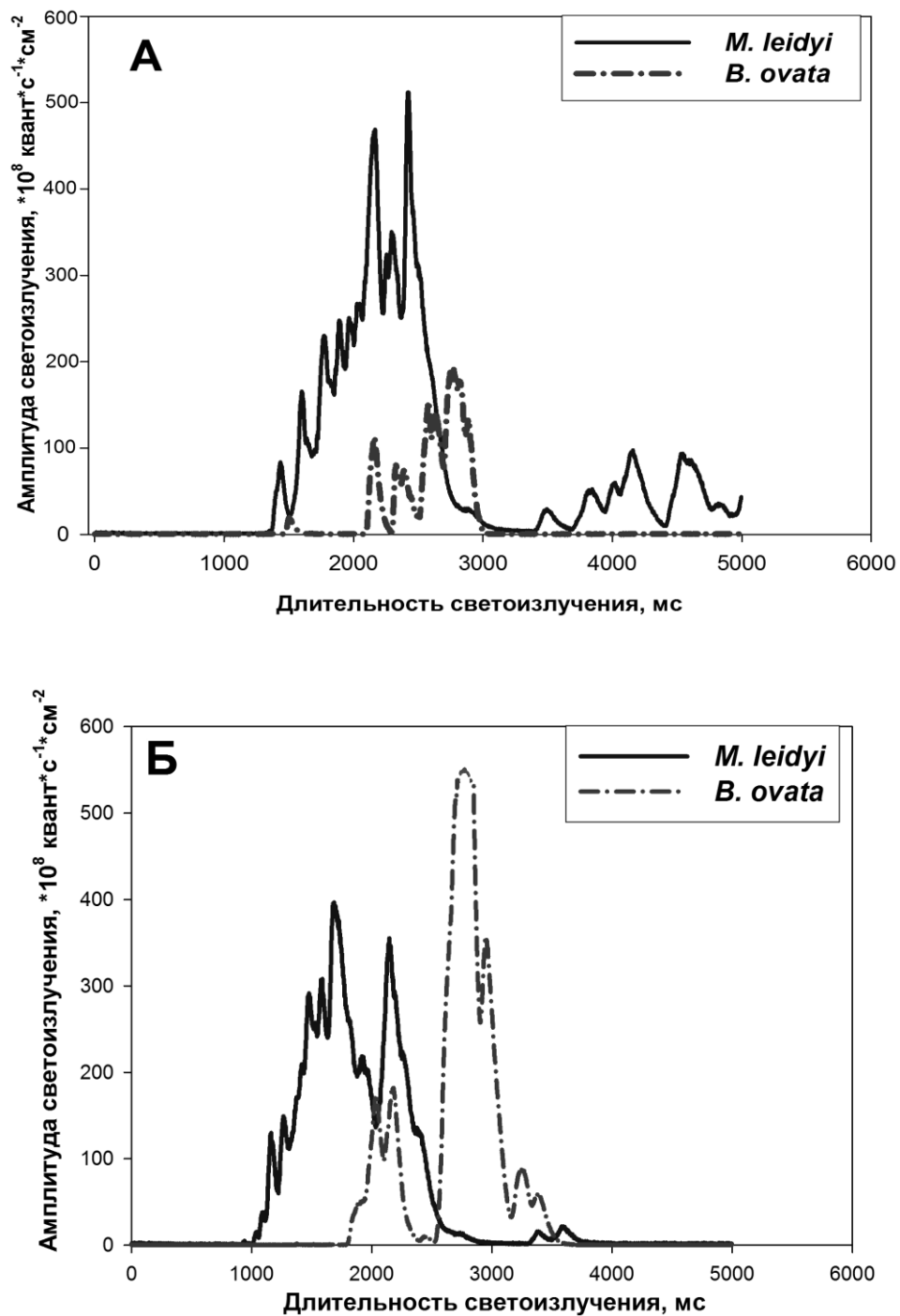


Рис. 3.3 Билюминесцентные сигналы *Mnemiopsis leidyi* и *Beroe ovata* при химической (А) и механической (Б) стимуляциях [17]

3.2. Полученные результаты

Для оценки параметров свечения вычисляли среднее значение каждого параметра: амплитуды, длительности сигнала и полной энергии в каждый момент времени экспозиции. Слабые всплески сигнала, соизмеримые с уровнем шума не учитывали при расчетах.

Средние значения амплитуды и энергии экземпляров *M. leidyi* ниже показателей экземпляров этого же вида из контрольной группы, а длительность сигнала увеличивается при 40 минутной экспозиции, а затем становится практически равной контрольной (рис. 3.4 а-в).

Токсикант сильно воздействует на *M. leidyi*, увеличивая время сигнала, но при этом значительно уменьшая его амплитуду почти в два раза, что сказывается и на полной энергии всего сигнала.

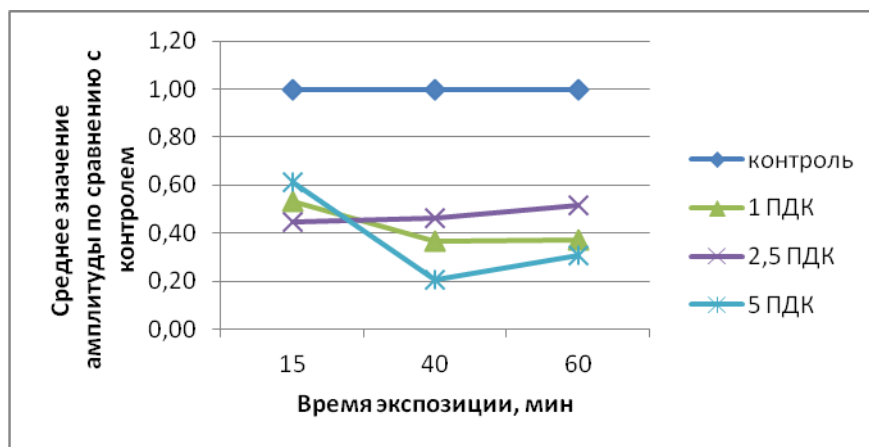
Для экземпляров *B. ovata* наибольшее отклонение от контрольной группы замечено у экземпляров, находящихся в растворе с 1 ПДК токсиканта. Это прослеживается по всем параметрам биолюминесценции (рис. 3.5 а-в).

У экземпляров *B. ovata* находящихся 60 минут в растворах с концентрацией 2,5 и 5 ПДК машинного масла не зарегистрирован биолюминесцентный сигнал.

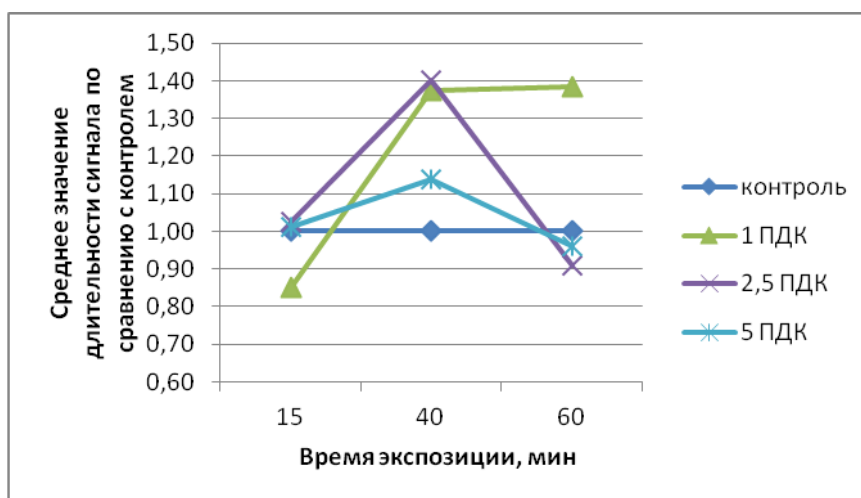
У *B. ovate* наибольшее влияние на энергию сигнала вносит его длительность, которая возрастает у экземпляров, находящихся в растворах с токсикантом с длительностью экспозиции в растворе.

3.3. Анализ полученных данных и сравнение с другими видами токсикантов

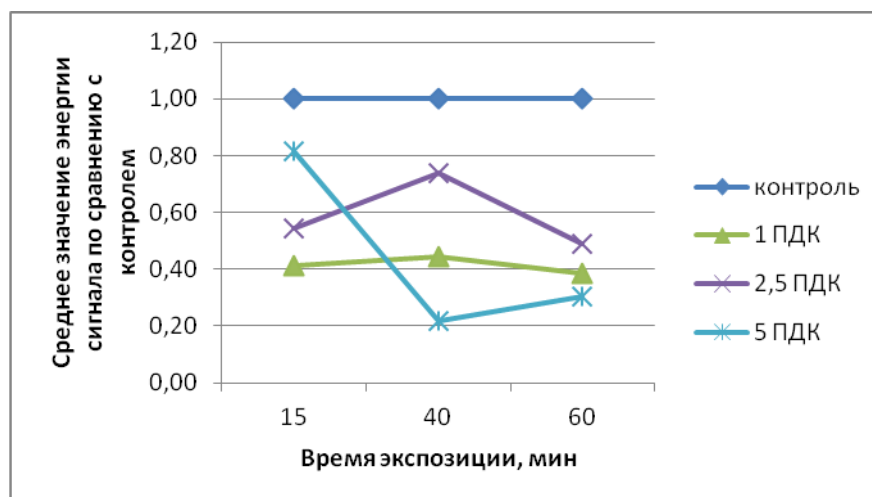
Воздействие сырой нефти на биолюминесценцию гребневикулов показало, что при малых концентрациях нефти равных 0,1 ПДК происходит стимулирование светового сигнала, тогда как при больших концентрациях равных 10 ПДК происходит его угнетение [9].



а



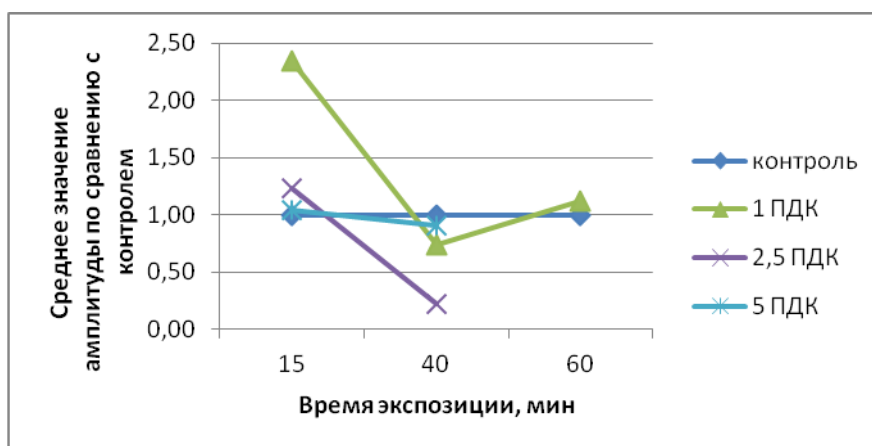
б



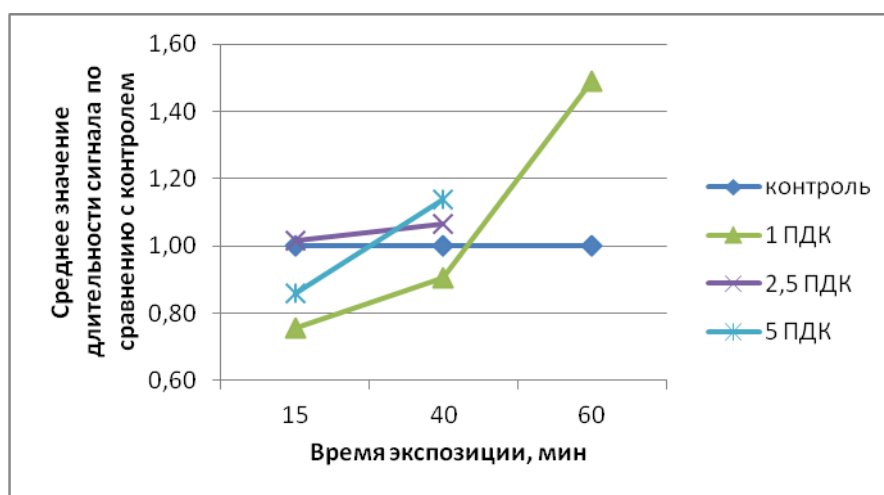
в

Рис. 3.4 Средние значения основных параметров билюминесценции экземпляров *Mnemiopsis leidyi*, содержащихся в растворах с токсикантом по сравнению с контрольной группой:

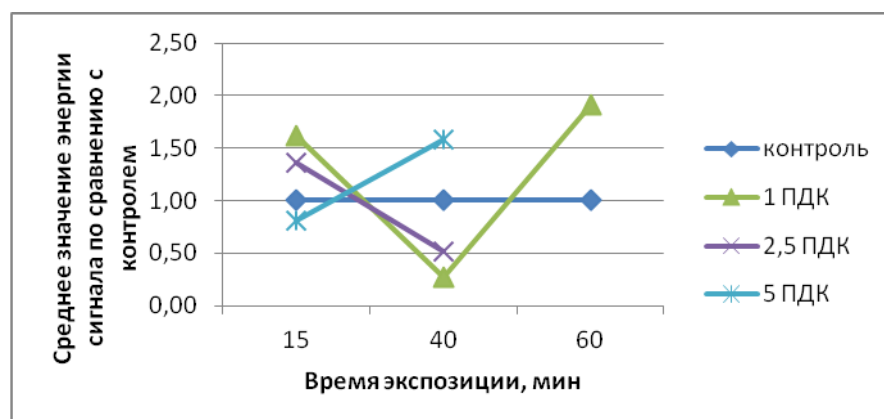
а) амплитуда б) длительность сигнала в) энергия



а



б



в

Рис. 3.5 Средние значения основных параметров биолюминесценции экземпляров *Beroe ovata*, содержащихся в растворах с токсикантом по сравнению с контрольной группой:

а) амплитуда б) длительность сигнала в) энергия

Сравнив результаты нашей работы по воздействию машинного масла на *B. ovata* и данные по влиянию сырой нефти, можно заметить отличие. Так, экзemplяры, находящиеся в растворах нефти, постепенно снижают значения основных параметров биолюминесценции. В то же время, при концентрации равной 1 ПДК в растворе с машинным маслом реакция экзemplяров этого вида становится атипичной, и при часовой экспозиции в растворе энергия сигнала и амплитуда превышают таковые у контрольных видов.

Кроме того, как оказалось, воздействие исследуемого токсиканта, находящегося час в растворе с концентрациях 2,5 и 5 ПДК машинного масла приводят к полному исчезновению биолюминесцентной реакции и быстрому разложению экзemplяров этого вида.

Воздействие машинного масла на *M. leidyi* похоже на воздействие тяжелых металлов, приводящих к сильному подавлению биолюминесцентных энергетических характеристик.

Воздействие машинного масла является более губительным, так как при нахождении в растворе с концентрациями от 5 ПДК и выше в течении 2 часов, экзemplяры гребневигов начинают растворяться, превращаясь в комки слизи и теряя часть своей массы.

Полученные данные по чувствительности видов в отношении нефтяных углеводородов (машинного масла) стоит учитывать при оценке вреда на морскую биоту в результате нефтяных разливов.

ВЫВОДЫ

1. Выявлены оптимальные условия для проведения экспериментов с гребневиками *Beroe ovata* и *Mnemiopsis leidyi*. Дневной пик интенсивности светоизлучения приходится на 13 часов, а ночной на 01 час.

2. В эксперименте использовали растворы морской воды с концентрациями машинного масла равными 1, 2,5 и 5 ПДК.

3. Воздействие нефтяных углеводородов и их продуктов на гребневики носят характер, угнетающий их физиологическое состояние, прослеживаемое в изменении энергетических и временных параметров билюминесцентного сигнала.

4. Для *B. ovata* концентрация машинного масла в среде на уровне 1 ПДК дает стимулирующий эффект, сильно отличный от других концентраций. Однако длительное нахождение в растворах с концентрацией токсиканта 2,5 и 5 ПДК приводит к полному исчезновению билюминесцентной реакции и впоследствии к гибели.

5. Токсикант сильно воздействует на *M. leidyi*, увеличивая время сигнала, но при этом значительно уменьшая его амплитуду почти в два раза, что сказывается и на полной энергии всего сигнала.

6. Воздействие машинного масла оказалось более токсичным, чем сырая нефть и близким к влиянию на исследуемые организмы солей тяжелых металлов, таких как, свинец и ртуть.

7. Полученные данные по чувствительности видов в отношении нефтяных углеводородов (машинного масла) стоит учитывать при оценке вреда на морскую биоту в результате нефтяных разливов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- 1 Heimann K. Effects of metals and organic contaminants on the recovery of bioluminescence in the marine dinoflagellate *Pyrocystis lunula* (Dinophyceae) / K. Heimann, J. M. Matuszewski & L. P. Klerks // J. Phycol. – 2002. – Vol. 38. – P. 482 – 492.
- 2 Mutlu E. Distribution and abundance of ctenophores and their zooplankton food in the Black Sea. II: *Mnemiopsis leidy* / E. Mutlu // Marine Biology. – 1999. – Vol. 135. – P. 603 – 613.
- 3 Виноградов М. Е. Взаимодействие популяций гребневиков *Mnemiopsis leidy* и *Beroe ovata* у Кавказского побережья Чёрного моря / М. Е. Виноградов, Э. А. Шушкина, С. В. Востоков и др. // Океанология. – 2002. – Т. 42, вып. 5. – С. 693 – 701.
- 4 Виноградов М. Е. Новый вселенец в Черное море гребневик *Mnemiopsis leidy* (A. Agassiz) (Ctenophora: Lobata) / М. Е. Виноградов, Э. А. Шушкина, Э. И. Мусаева, П. Ю. Сорокин // Океанология. – 1989. – Т. 29, вып. 2. – С. 293 – 299.
- 5 Водяницкий В. А. Определитель фауны Чёрного и Азовского морей. Свободноживущие беспозвоночные / В. А. Водяницкий. – К. : Наукова думка, 1968. – 437 с.
- 6 Воробьёв Д. С. Влияние нефти и нефтепродуктов на макрозообентос // Известия Томского политехнического университета. – 2006. – Т. 2003, № 3. – С. 42 – 45.
- 7 Востоков С. В. Эколого-физиологические характеристики гребневика *Beroe ovata* в прибрежной зоне Чёрного моря: численность, биомасса, размерная характеристика популяции, поведение, питание и метаболизм / С. В. Востоков, Е. Г. Арашкевич, А. В. Дриц и др. // Океанология. – 2001. – Т. 41, вып. 1. – С. 109 – 115.
- 8 Еремеев В. Н., Миронов О. Г., Алёмов С. В. и др. Предварительные результаты оценки нефтяного загрязнения Керченского пролива после

- аварии судов 11 ноября 2007 г. // Морской экологический журнал. – 2008 – т.7, № 3 – С. 15-24.
- 9 Зинченко В. П. Спектральные исследования связи биолюминесценции с окислительным обменом гребневика / В. П. Зинченко, В. Н. Карнаухов, Ю. А. Лабас // *Studia biophysica*. – 1970. – Т. 23, № 1. – С. 77 – 84.
- 10 Машукова О. В., Силаков М. И. Сравнительная характеристика воздействия нефтепродуктов на биолюминесценцию черноморских гребневиков-вселенцев *Mnemiopsis leidyi* A. Agassiz, 1865 и *Beroe ovata* Mayer, 1912 // Труды Карадагской научной станции им. Т.И. Вяземского – природного заповедника РАН. – 2020. – Вып. 4 (16). - С. 58-67.
- 11 Миронов О. А. Нефтяные углеводороды на поверхности водорослей-макфроитов гидротехнических сооружений. Экология моря. – 2007. – Вып. 74. – С. 56 – 58.
- 12 Миронов О. Г. Взаимодействие морских организмов с нефтяными углеводородами. Л.: Гидрометеиздат, 1985. – 128 с.
- 13 Миронов О. Г., Миронов О. А. Нефтяные углеводороды в морской воде прибрежной акватории г. Севастополя // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. – 2015. - № 9. – С. 25 – 29.
- 14 Перечень предельно допустимых концентраций и ориентировочно безопасных уровней воздействия вредных веществ для воды рыбохозяйственных водоемов / Под. ред. С.Н. Анисова, С.А. Соколова, Т.В. Минева и др. // Москва: Мединор, 1995. – 221 с.
- 15 Санитарно-биологические исследования прибрежных акваторий юго-западного Крыма в начале XXI века [Текст] : [монография] / [Миронов О. Г., Алёмов С. В., Щекатурина Т. Л. и др. ; ответственные редакторы: д-р биол. наук О. Г. Миронов, канд. биол. наук С. В. Алёмов] ; Институт морских биологических исследований имени А. О. Ковалевского РАН. - Симферополь : ИП "АРИАЛ", 2018. - 270 с.

- 16 Сергеева Н. Г. Питание гребневика *Mnemiopsis leidyi* в условиях Чёрного моря / Н. Г. Сергеева, В. И. Заика, Т. В. Михайлова // Экология моря. – 1990. – Вып. 35. – С. 18 – 22.
- 17 Тихонова Е. А. Потоки нефтяных углеводородов через бентосные сообщества *Abra ovata* – *Nassarius reticulatus* // Экология моря. – 2009. – Вып. 77. – С. 91 – 93.
- 18 Токарев Ю. Н. Основы биофизической экологии гидробионтов / Ю. Н. Токарев // Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2006. – 342 с.
- 19 Токарев Ю.Н., Евстигнеев П.В., Машукова О.В. Планктонные биолюминесцентные организмы Мирового океана: видовое разнообразие, характеристики светоизлучения в норме и при антропогенном воздействии. – Симферополь: Н.Орианда, 2016. – 340 с.
- 20 Шушкина Э. А. Роль желетелого макропланктона: медуз аурелий, гребневиков мнемииопсиса и берое в планктонных сообществах Чёрного моря / Э. А. Шушкина, Э. И. Мусаева, Л. Л. Анохина и др. // Океанология. – 2000. – Т. 40, вып. 6. – С. 859 – 866.