

Всероссийский конкурс научно-технологических проектов
«Большие вызовы»

Направление «Освоение Арктики и Мирового океана»

Влияние отработанного машинного масла на макроводоросли и мидии

Автор: Малавенда Анастасия Сергеевна,
8 класс, МБОУ г.Мурманска «Гимназия №7»

Руководитель:

Агафонова Светлана Павловна,
учитель биологии , МБОУ г.Мурманска
«Гимназия №7»,

Малавенда Светлана Владимировна,
кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник ММБИ РАН

Мурманск,
2021 год

Оглавление

Стр.

Аннотация.....	3
Введение	4
Глава 1. Литературный обзор.	5
1.1.Степень изученности вопроса на основе анализа литературных источников	5
1.2.Характеристика объектов исследования	5
Глава 2. Экспериментальные исследования	6
2.1. Материалы и методы.....	6
2.2. Оценка токсичности ОММ для <i>Mytilus edulis</i> , <i>Palmaria palmata</i> <i>Ulvaria obscura</i> в опыте при содержании в лабораторных условиях	7
2.3.Оценка токсичности ОММ для объектов при совместном содержании водорослей и моллюсков	9
Выводы	11
Заключение	11
Список литературы	11
Приложения	13

Аннотация

Цель работы: оценить влияние отработанного машинного масла на жизнедеятельность *M. edulis* и возможное положительное влияние на устойчивость совместного их культивирования.

Задачи: 1.Изучить литературные источники по проблеме исследования.

2.Опытным путем оценить токсичность ОММ для *Mytilus edulis*, красной водоросли *Palmaria palmata* и зелёной водоросли *Ulvaria obscura* в лабораторных условиях

3.Определить токсичность ОММ для объектов при совместном содержании водорослей и моллюсков.

Гипотеза: машинное масло токсично для мидий и водорослей, но их выживаемость повышается в присутствии друг друга.

Объекты исследования: водоросли *Palmaria palmate* и *Ulvaria obscura*, моллюски *Mytilus edulis*.

Предмет исследования – выживаемость *M. edulis* при воздействии на них нефтепродуктов.

В работе оценивалась токсичность отработанного машинного масла для *Mytilus edulis* и водорослей *Palmaria palmata* и *Ulvaria obscura* по отдельности и совместно. Смертность мидий составила 100% на 20 сутки при воздействии машинного масла. В присутствии *U. obscura* смертность мидий снижалась до 0%, а в присутствии *P. palmata* – до 10%. Сами водоросли от машинного масла погибали на вторые сутки, но в присутствии мидий выживали. Интенсивность фотосинтеза была выше у водорослей при совместном содержании с мидиями. Самое высокое содержание белка в водорослях было при совместном содержании обоих видов(*P. palmata* и *U. obscura*). Таким образом, отработанное корабельное машинное масло токсично для гидробионтов, а между видами выявлено положительное взаимодействие.

Ключевые слова: мидии, водоросли, нефтепродукты, белок, фотосинтез, Кольский залив.

Введение

Побережье Баренцева моря находится в зоне активного хозяйственного освоения, в связи с этим происходит регулярное загрязнение прибрежных и водных экосистем залива нефтепродуктами [1]. Актуальность изучения влияния повышенных концентраций нефтепродуктов на массовые виды гидробионтов определяется возможным изменением условий их существования, которые могут привести к деградации природных сообществ. В литературе в основном приводятся данные о влиянии нефтепродуктов на отдельные виды гидробионтов [2],[3].

Наиболее токсичным из нефтепродуктов по экспериментальным исследованиям, проведенным на дафниях [7], является отработанное машинное масло (ОММ). Поэтому в нашем исследовании мы воздействовали на объект исследования ОММ.

Цель настоящей работы: оценить влияние отработанного машинного масла на жизнедеятельность *M. edulis* и возможное положительное влияние на устойчивость совместного их культивирования.

Задачи: 1. Изучить литературные источники по проблеме исследования.

2. Опытным путем оценить токсичность ОММ для *Mytilus edulis*, красной водоросли *Palmaria palmata* и зелёной водоросли *Ulvaria obscura* в лабораторных условиях

3. Определить токсичность ОММ для объектов при совместном содержании водорослей и моллюсков.

Гипотеза: машинное масло токсично для мидий и водорослей, но выживаемость повышается в присутствии друг друга.

Глава 1. Литературный обзор

1.1. Степень изученности вопроса на основе анализа литературных источников.

Научных сведений о воздействии данного вида поллютантов одновременно на два или несколько видов растений или животных крайне мало. Недостаточно изучены механизмы взаимодействия морских организмов в условиях антропогенного воздействия, вызванного изменением условий среды. В литературных источниках рассматривалась роль нефтеокисляющих бактерий, поглощающих нефтепродукты с поверхности таллов макроводорослей Баренцева моря[4]. Однако практически не изучено возможное влияние макроводорослей на выживаемость других массовых видов гидробионтов, например, мидий, в загрязненной нефтепродуктами воде. На материале Средиземного и Белого морей подтверждено, что зелёные водоросли способны аккумулировать продукты выделения мидий, а мидии стимулируют рост нитчатых водорослей выделяя большое количество веществ, которые после взаимодействия с микробиотой обогащают воду веществами, необходимыми в качестве минерального питания для водорослей[5]. Это утверждение позволило нам сделать предположение о возможной резистентности мидий к действию повышенных концентраций нефтепродуктов в присутствии водорослей-макрофитов.

1.2. Характеристика объектов исследования

В качестве животного объекта исследования выбран вид *Mytilus edulis*, который является наиболее распространенным видом двустворчатых моллюсков класса Bivalvia на побережье Баренцева моря [6], растительных – *Palmaria palmata* и *Ulvaria obscura*. Предмет исследования – выживаемость *M. edulis* при воздействии на них нефтепродуктов. *Mytilus edulis* - двустворчатый моллюск. Широко распространённый вид. Обитает на литорали и верхней сублиторали арктических и бореальных морей Атлантического и Тихого океанов. В Баренцевом море встречается повсеместно. Место обитания: литораль и сублитораль. Чаще всего мидии

поселяются плотными скоплениями (до нескольких сотен тысяч экз./м²), очень редко можно встретить одиночных особей. Фильтрующий сестонофаг.

Palmaria palmata одна из самых крупных из красных водорослей, обитающих в северных морях России. Растения этого вида достигают в высоту 10-30 см, иногда 50 см. Слоевище пальмариин пластинчатое, дихотомически или пальчато-рассеченное с клиновидным основанием, которое при сужении внизу образует небольшой стебелек оканчивающийся дисковидной подошвой. Край пластины и его поверхность гладкие, имеют выросты-пролифкации, которые могут иметь такие же пролифкации второго и третьего порядков. Так как пролифкации являются годичным образованием, по количеству их порядков можно определить возраст пальмариин. Слоевище состоит обычно из одного центрального ряда крупных бесцветных клеток, обнаруженных 1-2 рядами более мелких клеток, и корового слоя, образованного одним или несколькими рядами мелких, окрашенных клеток. На Мурманском побережье повсеместно встречается на нижней литорали, кроме эстуариев рек. Вид массовый.

Ulvaria obscura зеленая водоросль с пластинчатым однослойным слоевищем, сравнительно с другими сходными видами плотное. Высота достигает 50 см, ширина 30 см. Могут наблюдаться перфорации. В основании базальный диск. Прикрепляется ризоидами, ризоидные клетки многоядерные. Пластина однослойная. На Мурманском побережье распространена повсеместно на нижней литорали и в верхней сублиторали. В конце весны – начале лета может становиться массовой.

Глава 2. Экспериментальные исследования

2.1. Материалы и методы

Водоросли и мидии были собраны в Кольском заливе. Сначала в течение месяца их держали в холодильной камере при +10° С в лаборатории, для того чтобы акклиматизировались. За их состоянием следили, измеряя концентрацию по соотношению фотосинтеза/дыхания в воде, в которой содержались экспериментальные образцы. Если содержание кислорода за час

увеличивалось, значит шёл интенсивный фотосинтез. Если кислород в воде уменьшался, то дыхание преобладало у экспериментальных объектов. Отметим, что просто вода также показала наличие фотосинтеза. Мы можем предположить, что это диатомовые и другие планктонные водоросли, которые могли попасть из моря даже при фильтрации воды. Кислород измеряли только в чистой воде, поскольку это испортило бы датчик. За состоянием мидий следили, измеряя массу. Параметром смерти мидий являлось утрата мышечного рефлекса и открытие створок.

2.2. Оценка токсичности ОММ для *Mytilus edulis*, *Palmaria palmata*

Ulvaria obscura в опыте при содержании в лабораторных условиях

Разложили водоросли и мидии по банкам и добавили отработанное машинное масло (ОММ) с одного из морских судов. В банке находились 45-49 гр мидий и 15 гр водорослей. Банка объёмом 1 литр. Объём машинного масла в одной банке составлял 10 мл. В конце эксперимента измеряли общее содержание белка в образцах по методу Лоури. Схема эксперимента показана в таблице 1.

Таблица 1. Схема эксперимента

Варианты	Объекты	Токсикант
1	<i>Palmaria palmata</i> + <i>Mytilus edulis</i>	—
1+	<i>Palmaria palmata</i> + <i>Mytilus edulis</i>	ОММ
2	<i>Ulvaria obscura</i> + <i>Mytilus edulis</i>	—
2+	<i>Ulvaria obscura</i> + <i>Mytilus edulis</i>	ОММ
3	<i>Mytilus edulis</i>	—
3+	<i>Mytilus edulis</i>	ОММ
4	<i>Palmaria palmata</i> + <i>Ulvaria</i>	—

	<i>obscura</i>	
4+	<i>Palmaria palmata</i> + <i>Ulvaria obscura</i>	ОММ

Опыт продолжался 4 недели. В конце каждой недели измеряли массу водорослей и мидий.

Обработка данных

По результатам опыта рассчитывали скорость роста экспериментальных образцов по формуле

$$M = \frac{m_k - m_n}{\Delta t},$$

Где М – скорость роста экспериментальных объектов, г/сут., m_n - масса в начале опыта, г, m_k - масса в конце опыта, г, Δt – время опыта, сут.

Все полученные данные обрабатывали с использованием программного пакет MS Excel 2010.

Токсичность ОММ

При заданной концентрации машинного масла мидии начали погибать на 5 день, к 20 суткам все погибли. А в контрольном варианте погибло 60 % за это же время в тех же самых условиях. Культивируемые водоросли росли интенсивно (рис.2). Водоросли погибли в склянке с ОММ на 2 сутки – почернели стали разрушаться.

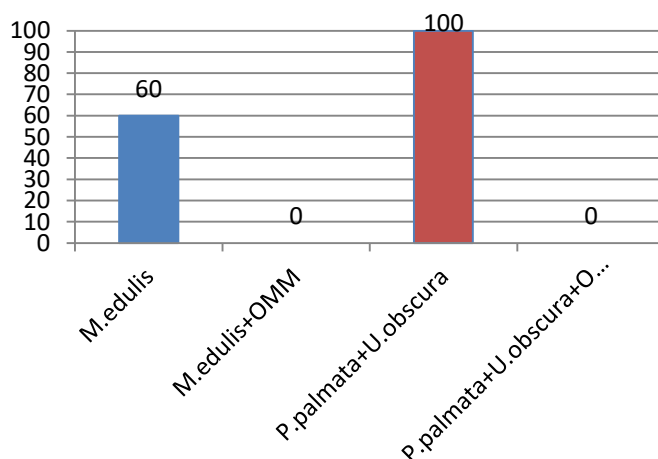


Рис.1 Выживаемость объектов под воздействием ОММ и без в опыте, %

2.3.Оценка токсичности ОММ для объектов при совместном содержании водорослей и моллюсков

Самая высокая выживаемость у мидий в присутствии *U. obscura*.

Выживаемость 90% у мидий в присутствии *P. Palmata* (рис.1).

Можно предположить, что *U. obscura* давала более сильный фотосинтез, чем *P.palmata*, поэтому выживаемость мидий с *U. obscura* гораздо выше, чем мидий с *P. palmata*.

Результаты опыта с ОММ отражены на рисунке 2. За 20 суток проведения опыта интенсивно росли водоросли в контрольном варианте, а контрольные мидии (без водорослей и без ОММ) погибали. Пальмария уменьшила свою массу при содержании с мидиями. Ульвария при содержании с мидиями росла в чистой воде, в присутствии ОММ масса не изменялась. Мидии увеличили свою массу только в присутствии ульварии, даже при добавлении ОММ. Без водорослей мидии не только худели, но при добавлении токсиканта все погибли к 20 суткам.

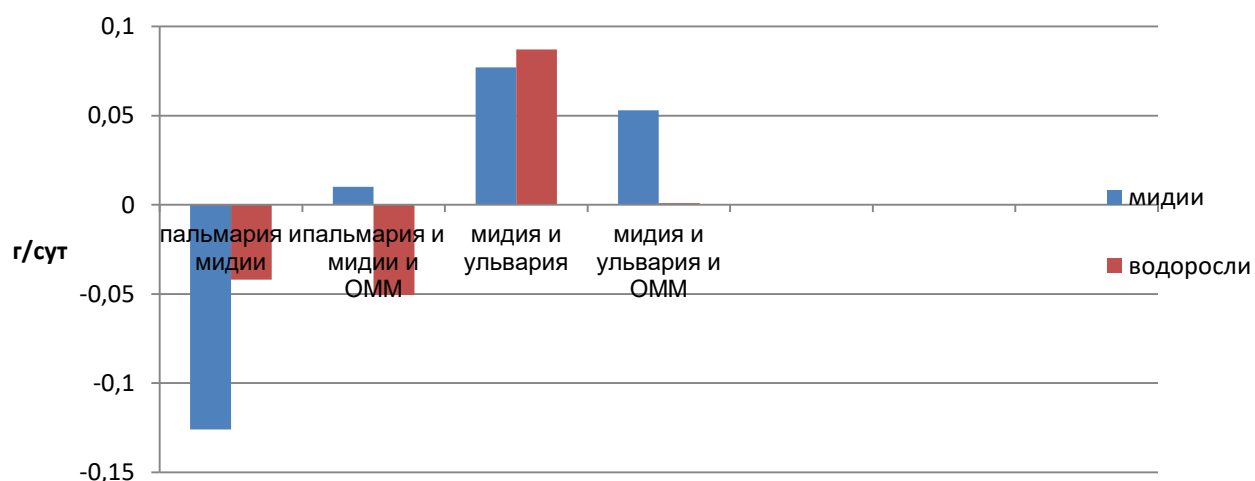


Рис. 2. Выживаемость при совместном содержании объектов, г/сут.

Результаты также показали положительное влияние на рост водорослей. В этом опыте мы измеряли содержание кислорода в воде и смогли определить наличие фотосинтеза. При совместном содержании мидий и водорослей, вода обогащалась кислородом и даже интенсивнее, чем просто при содержании водорослей.

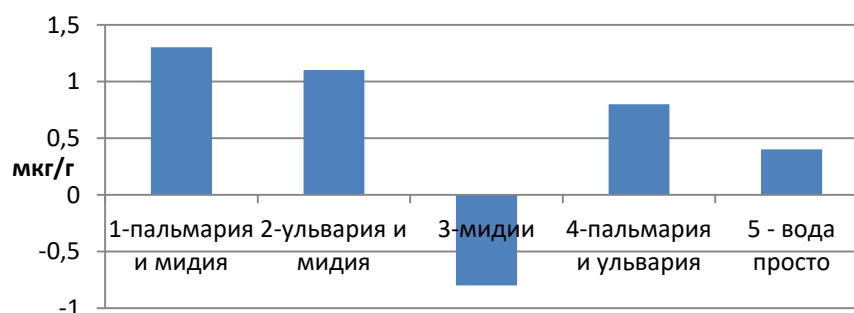


Рис.3 Изменение содержания кислорода в воде за час в конце опыта (кроме вариантов с ОММ)

Таблица 2. Содержание белка в талломах водорослях.

Варианты эксперимента	Среднее значение	Экстинция
1. <i>Palmaria</i> + <i>Ulvaria</i>	5,7	0,545 0,519
2. <i>Palmaria</i> + <i>Ulvaria</i>	15,2	0,581 0,265
3. <i>Palmaria</i> + <i>Mytilus</i>	6,9	0,504 0,484

4. <i>Ulvaria</i> + <i>Mytulis</i>	4,5	0,366 0,551
5. контроль	4	0,243 0,169
6. контроль с ОММ	4,2	0,289 0,216
7. <i>Ulvaria</i> + <i>Mytulis</i> +ОММ	8,3	0,282 0,251
8. <i>Ulvaria</i> + <i>Mytulis</i>	9,1	0,299 0,267
9. <i>Palmaria</i> + <i>Ulvaria</i>	4,3	0,268 0,299

По данным таблицы 2 можно сказать, что наибольшее содержание белка было в образцах из варианта 2. Наименьшее содержание белка было в контроле. При содержании водорослей с мидиями содержание белка становится выше.

При совместном содержании водорослей в вариантах 1 и 2 фотосинтез был интенсивней, чем в других вариантах. Это доказывает что между *Palmaria* и *Ulvaria* положительное взаимодействие, вероятно они выделяют какие то вещества полезные друг для друга.

Выводы

Таким образом, данный опыт показал, что отработанное корабельное машинное масло токсично для мидий: летальность 100% при 10 мл на литр в течение 20 суток. В присутствие водорослей смертность резко снижается. Пальмария также интенсивно обогащает воду кислородом и способствует выживанию мидий даже при воздействии сильного токсиканта. Вероятно, она нейтрализует его.

Заключение

Выявили высокую токсичность отработанного машинного масла для *Mytilus edulis*, *Palmaria palmata* и *Ulvaria obscur* , а также показали, что при совместном содержании мидии и водорослей токсичность ОММ снижается.

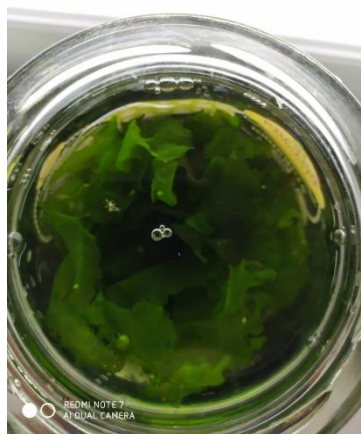
Список литературы

- 1.Калинка О. П. Оценка уязвимости акватории Кольского залива и чувствительности его берегов при разливах нефти : дис. – Мурманск, 2016, 2016.
- 2.Степаньян О. В. Влияние сырой нефти на основные функциональные параметры макроводорослей Баренцева моря //Биология моря. – 2008. – Т. 34. – №. 2. – С. 144-147.
- 3.Шавыкин А. А., Малавенда С. В. Уязвимость макрофитобентоса Кольского залива от разливов нефти //Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. – 2015. – №. 10. – С. 12-18.
- 4.Воскобойников Г. М., Пуговкин Д. В. О возможной роли *Fucus vesiculosus* в очистке прибрежных акваторий от нефтяного загрязнения //Вестник Мурманского государственного технического университета. – 2012. – Т. 15. – №. 4.
- 5.Tremblay-Gratton A. et al. Bioremediation efficiency of *Palmaria palmata* and *Ulva lactuca* for use in a fully recirculated cold-seawater naturalistic exhibit: effect of high NO₃ and PO₄ concentrations and temperature on growth and nutrient uptake //Journal of Applied Phycology. – 2018. – Т. 30. – №. 2. – С. 1295-1304.
- 6.Любина О. С. и др. Особенности распределения зообентоса в прибрежной зоне Кольского полуострова //Вестник Мурманского государственного технического университета. – 2012. – Т. 15. – №. 4.
- 7.Фомичева Г. П., Камакин А. М., Федорова И. В. Определение степени токсичности природных поверхностных вод, загрязненных нефтепродуктами, методами количественного химического анализа и

биотестирования //Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство. – 2016. – №. 4.

Приложение.

Фото рабочих моментов. 1 – *Ulvaria obscura* в эксперименте, 2 – экспериментальные сосуды в опыте 2, 3 – *Mytilus edulis* в опыте, 4 – экспериментальные сосуды в опыте 3, 5 – измерение концентрации растворенного кислорода в опыте 3.



1 2



3



4



5