

*Кисели, Вельсина, Вайна, Арте
дурри, Аюдор, мору, Бейтос Карогах*

ISSN 0203-4646

ЭКОЛОГИЯ МОРЯ



17

1984

CULTIVATION OF SEA FISHES IN CLOSED SYSTEMS

Summary

Methods of sea biology including engineering, chemistry, rearing of living feed, fish embryology, etc. are of use for studying fish cultivation in closed systems. The paper presents a description of the installation with a closed cycle of sea water regeneration developed by the author and analysis of certain hydrochemical indices of the cultivated fish environment and their dependence on the temperature during spawn incubation and larvae rearing under artificial conditions.

УДК 581.526.325.018

А. С. ЛОПУХИН, И. В. КИРИЛЛОВ, А. Г. БЕНЖИЦКИЙ

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СБОРА ФИТОПЛАНКТОНА НА МЕМБРАННЫЕ И НУКЛЕОПОРОВЫЕ ФИЛЬТРЫ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ХЛОРОФИЛЛА «А»

Для оценки развития фитопланктона водоемов наиболее часто используют данные по количественному содержанию фотосинтетических пигментов в планктонных водорослях, обычно хлорофилла «а». Этот общепринятый метод основан на концентрировании фитопланктонных организмов на мембранных ультрафильтрах [5, 6] с последующей экстракцией хлорофилла ацетоном и измерением оптической плотности элюата или флюоресценции пигмента на соответствующих приборах [8].

Для концентрирования фитопланктона применяют отечественные мембранные фильтры № 4 и 5, а также ультрафильтры чешского производства «Сынпор» из нитроклетчатки. Кроме того, в последнее время появились сообщения об использовании для этих же целей тонкой полимерной пленки, перфорированной с помощью бомбардировки α -частицами, так называемые нуклеопоровые фильтры [1]. В настоящей статье приводится сравнительная характеристика данных по фильтрации проб морской воды и концентрированию фитопланктона на фильтры «Сынпор» № 2, 3 и 4 с размером пор 2,5; 1,5 и 0,85 мкм соответственно, а также на нуклеопоровые фильтры с размером пор 0,35 и 1,6 мкм. Работы проводились в 22 рейсе НИС «Академик Вернадский» с марта по июль 1980 г. при исследовании продуктивности северо-западной части Индийского океана. В целом район исследования характеризовался низкими величинами концентраций хлорофилла «а». Средняя концентрация хлорофилла на поверхности составила $0,03 \text{ мг} \cdot \text{м}^{-3}$. Величины содержания хлорофилла в 0—100-метровом слое изменялись в пределах $4,93—13,57 \text{ мг} \cdot \text{м}^{-2}$. Воды с такими низкими концентрациями относятся к наиболее бедным, олиготрофным водам Мирового океана [2]. Определение хлорофилла «а» осуществлялось на спектроколориметре «Спекол-10» («Карл Цейс», ГДР).

Пробы морской воды отбирались полихлорвиниловым батометром с поверхности и по горизонтам, а также с помощью вибрационного насоса из шахты корабля с глубины 5 м. Фильтрация осуществлялась под вакуумом (не более 0,5—0,6 атм) на специальных воронках улучшенной конструкции, снабженных кольцом для плотного прижимания фильтра к микропористой стеклянной подложке от шотовских воронок № 4. Примененная конструкция воронок обеспечила равномерную фильтрацию планктона по всей площади фильтра при стабильном вакууме в системе. В остальном авторы придерживались общепринятой методики, рекомендованной группой экспертов ЮНЕСКО [7]. В общей слож-

ности выполнено более 80 анализов в пути следования до полигона и на методической станции № 2549 с координатами 12°25' с. ш., 59°18' в. д., а также в западной части Аравийского моря и на суточной станции в восточной части Аравийского моря.

Параллельная фильтрация проб воды через фильтры «Сынпор» № 2, 3, 4 и 5 позволила выявить, что даже через относительно плотный фильтр № 3 с диаметром пор 1,5 мкм может пройти значительная часть мельчайшего фитопланктона. Фильтрация морской воды из одной и той же пробы на фильтры № 3 и 4 показала, что при использовании фильтра № 3 потери при определении хлорофилла нередко достигают 50 % и более. Примерно такие же величины (25—50 %) потери фитопланктона определили В. И. Ведерников и И. Н. Суханова, используя метод прямого счета [1]. На значительные потери фитопланктона при фильтрации на мембранные фильтры указывают и другие авторы [3, 4]. Следует, однако, отметить, что в нашей работе такие значительные потери наблюдались только при анализе проб, взятых с горизонтов глубже 10 м. При анализе поверхностных вод значительных расхождений при фильтрации на разные фильтры «Сынпор» не отмечалось. Разница, как правило, была не больше 5 %. По-видимому, это может быть связано с повышенным загрязнением поверхностного слоя моря, в результате чего поры фильтров быстро забивались и тем самым как бы уравнивалась плотность фильтров разных номеров. Нельзя исключить также влияние размерной градации фитопланктона на разных горизонтах отбора проб. Эти вопросы заслуживают специального изучения. В ходе методических отработок установлено также, что в одной упаковке нередко встречались фильтры разной плотности. Так, в упаковках «Сынпор» № 3 нередко встречались значительно более плотные фильтры, соответствующие примерно фильтрам № 5 и 6. Через такие фильтры с трудом профильтровывалось 2—3 л воды и они не полностью растворялись в стандартном объеме ацетона, чем вносилась погрешность при определении оптической плотности элюата. Эти, на первый взгляд незначительные, детали при массовых анализах в экспедиционных условиях снижают эффективность работы, а также вносят погрешности при измерении за счет недостаточной концентрации фитопланктона и отмеченного выше загрязнения элюата нерастворившейся нитроклетчаткой.

Результаты фильтрации через фильтры № 2 и 3 оказались примерно одинаковыми. При использовании более плотного фильтра № 3 концентрация хлорофилла «а» увеличивалась незначительно (до 5 %). Четкое увеличение концентрации пигмента, как уже указывалось выше, наблюдалось только при фильтрации через фильтр № 4 с размером пор 0,85 мкм. Результаты фильтрации через фильтры № 3 и № 4 одних и тех же проб, отобранных по разным горизонтам, представлены в таблице. Применение более плотных фильтров «Сынпор» № 5 с размером пор 0,6 мкм показало незначительное увеличение (4—5 %) результатов измерения хлорофилла «а», что не дает существенных преимуществ, удлиняя время фильтрации даже при снижении объема пробы. С помощью прямого счета было показано [1], что фильтры с размером пор 0,5 мкм в среднем в 1,2 раза больше задерживали клетки, чем крупнопористые фильтры. Кроме того, нередко концентрации хлорофилла оказывались даже меньшими, чем при фильтрации на менее плотные фильтры. Это можно объяснить, с одной стороны, резким снижением объема фильтрата (до 1 л), а с другой — вынужденным жестким вакуумным режимом фильтрации, при котором клетки начинают разрушаться, а их содержимое — уходить сквозь фильтр. Поэтому использование таких плотных фильтров для рассматриваемых работ нецелесообразно.

Наиболее стабильные данные получены при фильтрации морской воды одновременно на фильтры «Сынпор» № 2 и 4, наложенных друг на друга так, чтобы верхний фильтр имел больший размер пор. Такой

способ обеспечивает сбор фитопланктона практически без потерь и, кроме того, позволяет увеличить объем пробы воды без существенного увеличения времени фильтрации. Следует отметить, что при этом способе необходимо увеличивать объем растворителя в 1,5—2 раза. Последнее приводит к нежелательному понижению концентрации пигментов в элюате. Тем не менее этот способ дает лучшие результаты, обеспечивая оптимальный режим мягкой фильтрации.

Как показали параллельно проведенные анализы, фильтрация фитопланктона на нуклеопоровую пленку в ряде случаев выгодно отличается от фильтрации через фильтры типа «Сынпор». Нуклеопоровая пленка характеризуется строго заданным размером поровых отверстий, представляя собой тончайшее сито. Она достаточно прочна и устойчива к органическим растворителям — спиртам и ацетону, чем обеспечивается возможность отбирать четко фракционированные планктонные организмы и получать элюат практически без примеси фильтрующего материала. Нуклеопоровая пленка с диаметром пор 1,6 мкм, по данным спектроколориметрических измерений, задерживала количество фитопланктона, эквивалентное по хлорофиллу «а» фильтрам «Сынпор» № 4. Однако количество фильтрующей морской воды значительно при этом снижалось, поскольку фильтры из этой пленки быстро забивались и скорость фильтрации резко падала уже после 3—4 л при исследовании олиготрофных вод океана. Несколько лучшие результаты получены с увеличением объема фильтрата при комбинации пленок с разным диаметром пор, однако технически это усложняло весь процесс. Поэтому более рациональной представляется фильтрация одной пробы одновременно на две воронки и, следовательно, на два фильтра, поскольку материал фильтра нерастворим в ацетоне, и потому этот прием не требует увеличения объема растворителя и не снижает концентрацию пигментов, как это происходит при фильтрации через фильтры «Сынпор».

Выводы. Рассмотренные положительные свойства нуклеопоровых фильтров определяют их принципиальную пригодность для концентрации фитопланктона. Однако резистентность полимерной пленки к органическим растворителям имеет и отрицательную сторону, поскольку, как показали опыты, она затрудняет экстракцию пигментов из водорослевых клеток. Процесс растирания клеток в пробирках стеклянной палочкой, даже в случае использования растворимых фильтров типа «Сынпор», представляется мало эффективным, так как в каждом отдельном случае растирание не может быть идентичным и, следовательно, будет неизбежно приводить к неоднозначным результатам. При использовании нуклеопоровых фильтров однородное растирание клеток затрудняется еще в большей степени, и поэтому этот вид дезинтеграции клеток в данном случае не пригоден вообще. По-видимому, наиболее простым, но достаточно результативным и, главное, единообразным способом ускорения экстракции пигментов из клеток может явиться применение вибрационного столика или ультразвуковой установки.

Таким образом, проведенные работы показывают необходимость дальнейших методических разработок в этой области для выбора оптимального и удобного способа экстракции пигментов из морского фитопланктона в экспедиционных условиях независимо от применяемого фильтрующего материала. Наиболее приемлемым следует признать одновременное использование двух фильтров «Сынпор» № 2

Концентрация хлорофилла «а»
в одних и тех же пробах,
собранных на ультрафильтрах
«Сынпор» № 3 и 4

Горизонт, м	Хлорофилл „а“, мг·м ⁻³		Число изме- рений
	„Сынпор“ № 3	„Сынпор“ № 4	
0—5	0,004	0,006	5
10	0,012	0,027	3
25	0,020	0,026	2
50	0,052	0,071	2
75	0,053	0,118	2

и 4 или другие аналогичные комбинации фильтров в зависимости от поставленной задачи.

1. Ведерников В. И., Суханова И. Н. К методике определения численности фитопланктона с использованием ядерных фильтров. — Океанология, 1979, 19, вып. 4, с. 742—748.
2. Кобленц-Мишке О. И., Ведерников В. И. Первичная продукция: Океанология. Биология океана. Т. 2. Биологическая продуктивность. М.: Наука, 1977. — 99 с.
3. Михеева Т. М. К учету фитопланктона непосредственно на мембранных фильтрах. — Гидробиол. журн., 1973, № 6, с. 114—119.
4. Суханова И. Н., Ратькова Т. Н. Сравнение численности фитопланктона в пробах, собранных методом двойной фильтрации и стандартными методами осаждения. — Океанология, 1977, 17, № 4, с. 691—693.
5. Lindquist P. A., De Santo R. A new rapid method for the production of permanent stained slides of marine plankton. — J. Microscopy, 1970, N 1, p. 23—27.
6. Moore J. K. Refinement of a method for filtering and preserving marine phytoplankton on a membrane filter. — Limnol. and Oceanogr., 1963, 8, N 2, p. 12—16.
7. SCOR-UNESCO Working Group 17. Determination of photosynthetic pigments in sea water. — Monographs on oceanographic methodology I, Paris: UNESCO, 1966, p. 9—18.
8. Strickland J. D., Parsons T. R. Manual of sea water analysis (second edit.). — Fish. Res. Board Can. Bull., 1965, N 125, p. 203.

Ин-т биологии юж. морей им. А. О. Ковалевского
АН УССР, Севастополь

Получено 10.03.82

A. S. LOPUKHIN, I. V. KIRILLOV, A. G. BENZHITSKY

**A COMPARATIVE CHARACTERISTIC OF PHYTOPLANKTON COLLECTION
ON MEMBRANE AND NUCLEOPOROUS FILTERS
IN CHLOROPHYLL „A“ DETERMINATION**

S u m m a r y

Data are presented on the chlorophyll „a“ content in the phytoplankton which was concentrated on filters with various pore diameters. Two types of filters were used: filters of nitrocellulose („Synpor“) and perforated polycarbonate polymer thin-film filters (the film was subjected to α -particle bombardment) — nucleoporous filters. The research is aimed at choosing optimal filters for collecting phytoplankton.