ПРОВ 98

ПРОВ 201

АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНСКОЙ ССР
ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ЮЖНЫХ МОРЕЙ
им. А. О. КОВАЛЕВСКОГО

# Экология моря

РЕСПУБЛИКАНСКИЙ
МЕЖВЕДОМСТВЕННЫЙ СБОРНИК

Основан в 1980 г.

*Выпуск 3*

Институт биологии
южных морей АН УССР
БИБЛИОТЕКА
№ А

КИЕВ «НАУКОВА ДУМКА» 1980

Средний условный диаметр клеток уменьшается от апвеллинга (11,6 мкм) к зоне «старения» (10,7 мкм) и опускания вод (9,5 мкм). С увеличением глубины диаметр клетки на апвеллинге и в зоне «старения» вод возрастал.


1. *Кузьменко Л. В.* Размерно-весовая структура фитопланктона Аравийского моря.— Биология моря, Киев, 1975, вып. 34, с. 26—38.
2. *Пицык Г. К.* Размерная структура фитопланктона в тропической части Атлантического океана. — В кн.: Биологические процессы в морских и континентальных водоемах : (Тез. докл. II съезда ВГБО). Кишинев, 1970, с. 300.
3. *Семина Г. И.* Размер клеток фитопланктона на разрезе 174° з. д. в Тихом океане. — Океанология, 1969, 9, № 3, с. 479—487.
4. *Семина Г. И.* Фитопланктон Тихого океана. — М. : Наука, 1974. — 239 с.
5. *Хлыстов Н. З., Белякова О. М.* Исследование термохалинной структуры вод восточной части южной Атлантики. — В кн.: Экспедиционные исследования в южной Атлантике и Средиземном море. 27-й рейс НИС «Михаил Ломоносов». Киев : Наук. думка, 1975, с. 15—24.
6. *Хлыстов Н. З., Бакшеева И. П.* Некоторые особенности гидрохимической структуры вод восточного сектора южного антициклонального круговорота. — В кн.: Экспедиционные исследования в южной Атлантике и Средиземном море. 27-й рейс НИС «Михаил Ломоносов». Киев : Наук. думка, 1975, с. 24—32.
7. *Wiebe P. H., Remsen C. C., Vaccaro R. F.* Halosphaera viridis in the Mediterranean Sea: size range, vertical distribution, and potential energy source of deep-sea bentos. — Deep-Sea Res., 21, N 8, p. 657—667.



Институт биологии южных морей
им. А. О. Ковалевского АН УССР



Поступила в редколлегию
12. 12. 78



G. K. PITSYK, M. I. ROUKHIYAINEN


## DIMENSIONAL STRUCTURE OF PHYTOPLANKTON IN THE EASTERN PART OF THE SOUTH-ATLANTIC ANTICYCLONE CYCLE


Summary

The analysis of the dimensional structure of phytoplankton community in the south-Atlantic cycle by conditional cell diameters shows that 10-50 μm dia are typical of most species in the part of the Atlantic under study. The dimensional group with 5-10 μm dia cells was the numeric basis everywhere. As to biomass, in the upwelling and in the water "ageing" zone the 10-20 μm dia cells were predominant; in the zone of downcoming water almost equal values of biomass were obtained for dimensional groups with the 5-50 μm dia cells.



УДК 577.475(265.16)



А. П. ГОРДИЕНКО


# ОБ ОЦЕНКЕ СООТНОШЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ РАЗМЕРНЫХ ГРУПП ПЛАНКТОНА ПО СОДЕРЖАНИЮ АТФ

В результате отмирания планктонных организмов в воде накапливается значительное количество мертвого взвешенного органического вещества, поэтому изучение количественного содержания живой части органической взвеси, определение основных соотношений между ее компонентами имеют важное значение при выяснении структуры и функционирования планктонных сообществ.

При микроскопическом разделении живых и мертвых организмов возникают трудности. При прямом подсчете часто учитываются мертвые клетки, например диатомовые, которые имеют кремниевый скелет. Прижизненная окраска и флюоресценция также не всегда позволяют успешно идентифицировать живые организмы. Значительные ошибки

наблюдаются и при использовании других методов, таких, как измерение биохимических компонентов тела организмов.

В последние годы получает широкое развитие метод биолюминесцентного определения живой биомассы по аденозинтрифосфату (АТФ). В настоящей работе сделана попытка использовать его для определения соотношения различных размерных групп живого планктона.

**Материал и методы исследования.** Экспериментальная часть работы выполнена в зимне-весенний период 1976 г. (Севастопольская бухта), кроме того использованы некоторые материалы, полученные осенью 1976 г. во время 80-го рейса НИС «Академик А. Ковалевский» (две станции в открытой части Черного моря). Пробы для анализа отбирали с поверхностного слоя воды в бухте, а в открытом море — на горизонтах с максимумом естественной биолюминесценции.

По размерным группам разделяли планктон с помощью последовательной фильтрации через сито № 76 (размер пор 60 мкм) и мембранные фильтры «СЫНПОР» (диаметр пор 1,5 и 0,4 мкм). Общее число бактерий определяли методом прямого учета на мембранных фильтрах с диаметром пор 0,4 мкм. Для этого фильтровали 2—5 мл воды, фильтры окрашивали 5%-ным карболовым эритрозином и фиксировали парами формалина в течение суток, затем удаляли избыток краски и солей. Численность и размеры клеток учитывали под микроскопом МБИ-1 в фазовом контрасте с масляной иммерсией при увеличении в 1350 раз. Измеряли в 20 полях зрения, что обеспечивает достоверность 95% [2]. Биомассу бактериальных клеток в морской воде (поверхностный слой Севастопольской бухты) определяли, используя данные о прямом учете бактерий и содержании АТФ. Объемы клеток измеряли в капле морской воды и на мембранных фильтрах.

В гидробиологической практике существуют традиционные методы выявления микроорганизмов — метод прямого учета на мембранных фильтрах с помощью обычных и люминесцентных микроскопов, метод проращивания организмов на твердых средах, счета с помощью капилляров Перфильева; определения организмов по гетеротрофной ассимиляции $^{14}C$, по содержанию химических (углерод клетки) и биохимических (ДНК, белок, АТФ, хлорофилл) компонентов клетки. Указанные методы имеют определенные преимущества и недостатки, на которых мы здесь останавливаться не будем.

Для индикации живого органического вещества наиболее приемлем метод количественного определения биомассы живых организмов по биолюминесцентной реакции АТФ с фермент-субстратным комплексом из светоносных органов светляков.

Метод биолюминесцентного анализа АТФ разработали Б. Стрелер и Г. Тоттер [18] на основании открытия В. Мак-Элроя [14]. Для определения биомассы живых организмов в море впервые этот метод использовали в 1966 г. О. Холм-Хансен и К. Бус [9]. Сущность метода определяется следующими основными положениями: АТФ содержится во всех живых и только живых организмах; при гибели организма он быстро разрушается; содержание АТФ пропорционально количеству углерода в клетке и составляет в среднем для бактерио-, фито- и зоопланктона 0,4% органического углерода; интенсивность свечения при биолюминесцентной реакции пропорциональна количеству АТФ в широком диапазоне биологически значимых величин.

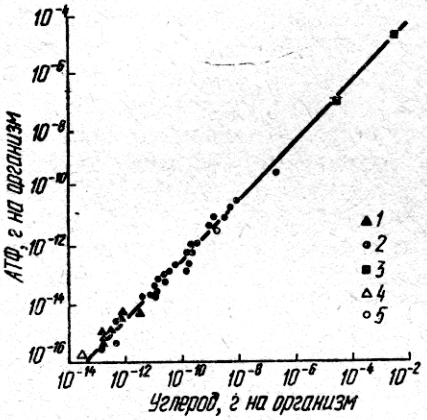
Количество АТФ измеряли с помощью биолюминесцентной реакции АТФ с люциферин-люциферазным комплексом, выделенным нами из светоносных органов светляков Luciola mingrelica.

Свечение регистрировали с помощью АТФ-фотометра, разработанного совместно с В. Е. Ерохиным. Прибор выполнен на базе сцинтилляционного измерительного зонда «VA-S-968» с блоком питания от

анализатора «VAV-100», широкополостного импульсного усилителя типа «УШ-10», пересчетного прибора «VAG-120» и цифропечатающего устройства «VAG-24A».

При использовании неочищенного люциферин-люциферазного комплекса этот прибор позволяет уверенно определять до $10^{-10}$ г АТФ в 1 мл раствора с экстрагированной АТФ.

**Результаты и их обсуждение.** Как уже указывалось выше, отношение количества АТФ к органическому углероду в планктонных организмах составляет в среднем 0,4% [4—7, 8—12, 16]. Нами получены близкие к этой величине соотношения при исследовании морских бактерий и одноклеточных водорослей (рисунок). Приведены также обобщенные данные О. Холм-Хансена [1] по соотношению АТФ и углерода в организмах бактерио-, фито- и зоопланктона.




Соотношение АТФ и углерода клетки в организмах бактериопланктона (*1*), фитопланктона (*2*) и зоопланктона (*3*), по данным О. Холм-Хансена [8]. Приведены также наши результаты по исследованию бактерий (*4*) и одноклеточных водорослей P. micans (*5*).

Материалы, полученные Б. Аусмус [4], показывают, что отношение АТФ к углероду почвенных микроорганизмов, которые находятся в логарифмической фазе роста, составляет в среднем, %: бактерии —0,20± ±0,02 (0,12÷0,28); грибы — 0,43± ±0,04 (0,32÷0,56); актиномицеты — 0,46±0,06 (0,42÷0,56); водоросли — 0,70±0,08 (0,36÷0,92).

В работе Г. Парла и Н. Вильямса [15] на примере фотосинтетически активного фитопланктона установлено, что изменение соотношения АТФ/углерод зависит от сезона, температуры, биологических характеристик водорослей и т. д. Значение этого параметра изменяется от 0,30 до 0,54% (при средней величине 0,36%).

Таблица 1

**Численность, биомасса и доля бактерий в общей массе живого планктона в зимне-весенний период**

| Параметр | Январь | Февраль | Март | Апрель |
|---|---|---|---|---|
| Численность N, млн.кл/л | 663 | 816 | 1234 | 1397 |
| Биомасса B, мг/л | 0,179 | 0,220 | 0,333 | 0,377 |
| Содержание в массе живого планктона, % | 2,7 | 3,1 | 10,3 | 10,9 |

Ю. И. Сорокин и С. В. Люцарев [3], исследуя культуру бактерий из рода Pseudomonas, получили величину соотношения АТФ и углерода, равную 0,4%. Практически сходные данные были получены и в опытах со смешанной взвесью (бактерии+водоросли Peridinium). Указанные величины близки к таковым для морских микроорганизмов. Последнее лишний раз подтверждает правомочность использования рекомендуемых О. Холм-Хансеном [13] коэффициентов (0,35—0,40%) для перехода от АТФ к органическому углероду и биомассе микроорганизмов.

В табл. 1 приведены результаты определения численности, биомассы и доли бактерий в общей массе планктона в зимне-весенний

период. Пробы для анализа отбирали в поверхностном слое воды Севастопольской бухты. Данные свидетельствуют о том, что численность и биомасса бактерий увеличиваются с января по апрель вдвое. За это же время содержание бактерий в массе живого планктона возрастает в 4 раза (с 2,7 до 10,9%).

Общее содержание АТФ в планктоне за этот период увеличивается от 0,015 (в январе) до 0,211 мкг/л (в апреле). Максимум содержания АТФ приходится на март (0,266 мкг/л).

Таблица 2

**Соотношение различных размерных групп планктона в открытой части Черного моря по относительному содержанию**

| Станция | Горизонт, м | Содержание АТФ, %, в размерных группах планктона, мкм | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 0,4—1,5 | 1,5—60,0 | 60 |
| 2 | 50 | 23,8 | 45,0 | 31,2 |
| | 100 | 28,6 | 41,6 | 29,8 |
| 9 | 40 | 71,3 | 9,0 | 19,7 |
| | 70 | 79,0 | 6,2 | 14,8 |

Определения, проведенные нами в открытом районе Черного моря (80-й рейс НИС «Академик А. Ковалевский»), показывают, что доля микроорганизмов в суммарном планктоне может достигать 79%. Последнее подчеркивает важную роль бактерий в функционировании планктонных сообществ. В табл. 2 приведены данные о доле АТФ, приходящейся на разные размерные группы планктона (0,4—1,5; 1,5—60 и более 60 мкм). Эти сведения дают возможность судить о соотношении биомасс указанных групп планктона. На ст. 2 на глубине 50 м эти соотношения были равны 23,8; 45,0 и 31,2%, а на глубине 100 м — соответственно 28,6; 41,6 и 29,8, т. е. оказались практически одинаковыми по вертикали. Для ст. 9 в зонах максимума биолюминесценции получено иное процентное соотношение: на глубине 40 м — 71,3; 9,0 и 19,7%, а 70 — 79,0; 6,2 и 14,8. Такое соотношение характерно для олиготрофных районов моря, тогда как в районах с высокой трофностью (например, в зонах апвеллинга) наблюдается ситуация, подобная той, которую мы отмечали на ст. 2. Наши результаты согласуются с данными [1], полученными при анализе разных групп планктонных организмов методами прямого учета, каждый из которых имеет свои погрешности. Дифференцированная оценка живой биомассы основных компонентов планктона при использовании единообразного методического подхода (по содержанию АТФ) дает возможность, наряду с экспресс-информацией о суммарной живой массе планктона, получить также сведения о структуре планктонного сообщества, о роли в нем той или иной размерной группы организмов. Такие данные позволяют судить о трофности района исследований, проводить в первом приближении расчеты продуктивности и могут быть использованы при изучении энергетики планктонных сообществ. Основная трудность при проведении подобных работ заключается в способе разделения основных компонентов планктона, однако до настоящего времени дифференцированная оценка планктонных организмов представляет такие же трудности и при использовании стандартных методов учета.


1. *Лебедева М. Н.* Эколого-физиологическая характеристика бактериального населения южных морей: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — М., 1976. — 48 с.
2. *Лебедева М. Н., Шумакова Г. В.* К вопросу о достоверности данных, полученных методом прямого учета бактерий на фильтрах. — Микробиология, 1969, **38**, вып. 2, с. 351—357.
3. *Сорокин Ю. И., Люцарев С. В.* Сравнительная оценка двух методов определения биомассы планктонной микрофлоры. — Океанология, 1978, **17**, вып. 2, с. 358—364.
4. *Ausmus B. S.* The use of the ATP assay in terrestrial decomposition studies. — Bull. Ecol. Res. Comm., 1973, **17**, p. 223—234.
5. *Daumass R., Fiala M.* Evalution of the living organic material in marine water by measuring adenosine triphosphate. — Mar. Biol., 1969, **30**, N 3, p. 243—246.

6. *D'Eustachio A. J., Jonhson D. R.* ATP content of bacteria. — Fed. Proc., 1968, **27**, N 2, p. 761—765.
7. *Hamilton R. D., Holm-Hansen O.* Adenosine triphosphate content of marine bacteria. — Limnol. Oceanogr., 1967, **12**, N 2, p. 319—324.
8. *Hamilton R. D., Holm-Hansen O., Strickland J. D. H.* Notes on the occurrence of living microscopic organisms in depp water. — Deep-Sea Res., 1968, **15**, N 4, p. 651—656.
9. *Holm-Hansen O., Booth C. R.* The measurement of adenosine triphosphate in the ocean and its ecological significans. — Limnol. Oceanogr., 1966, **11**, N 4, p. 510—519.
10. *Holm-Hansen O.* Determination of microbial biomass in ocean profiles. — Limnol. Oceanogr., 1969, **14**, N 5, p. 740—747.
11. *Holm-Hansen O.* Determination of microbial biomass in deep ocean profiles. — In: Fertility of the Sea / Ed. J. D. Colson, Jr. London : Cordon and Breach, 1971, p. 197—207.
12. *Holm-Hansen O.* ATP levels in algal cells as influenced by enviromental conditions. — Plant. Cell. Physiol., 1970, **11**, N 5, p. 689—700.
13. *Holm-Hansen O.* Determination microbial biomass in deep ocean water. — Inst. Mar. Sci. (Alaska) Ocean. Publ., 1970, N 1. Organic matter in ocean waters, p. 353—360.
14. *McElroy W. D., Seliger H. H., White E. H.* Mechanism of bioluminescence, cheminescence and ensyme function in the oxidation of firefly luciferin. — Photochem. and Photobiol., 1969, **10**, N 3, p. 153—170.
15. *Paerl H. W., Williams N. J.* The relation bettween adenosine triphosphate and microbial in diverse aguatic ecosystems. — Int. Rev. Gesamt. Hydrobiol., 1976, N 5, **61**, p. 559—664.
16. *Shapelle E. W., Levin G. V.* Use of firefly bioluminescent reaction for rapid detection and counting of bacteria. — Biochem. Med., 1968, **2**, N 1, p. 41—52.
17. *Strehler B. L., Totter G. K.* — In: Glik D. Methods of biochemical analysis. — New York : Intersci. publ., 1954, vol. 1, p. 341—356.

Институт биологии южных морей
им. А. О. Ковалевского АН УССР

Поступила в редколлегию
31.01.79

A. P. GORDIENKO

## ON ESTIMATION OF THE RATIO OF DIFFERENT DIMENSIONAL PLANKTON GROUPS BY THE ATP CONTENT

Summary

The data are given on the bacteria amount and biomass in the water surface layer of the Sevastopol Bay in the winter-spring period. The bioluminescent determination of the ATP content in different dimensional plankton groups resulted in obtaining the data on percentage of bacteria as well as phyto- and zooplankton in the total mass of living organic matter in the bay and in the open part of the Black Sea.

УДК 581.526.2;577.472.1;551.465.5

Н. А. ЖАРОВ, В. А. МАКАРЕВИЧ

# ИССЛЕДОВАНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ТРАССЕРНОЙ МОДЕЛИ ПЕРЕНОСА БИОМАССЫ ФИТОПЛАНКТОНА К ГОРИЗОНТАЛЬНЫМ ГРАДИЕНТАМ ОКЕАНОГРАФИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК В СЕВЕРО-ВОСТОЧНОЙ ТРОПИЧЕСКОЙ АТЛАНТИКЕ

Как известно, в формировании зон повышенной биологической продуктивности важную роль играют течения, которые, с одной стороны, выносят биогенные элементы из глубин океана в слой фотосинтеза, а с другой — переносят в горизонтальном направлении водные массы, содержащие повышенное количество биогенов, из зон их формирования на значительные расстояния и создают в открытой части океана условия для развития планктона.