

АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНСКОЙ ССР
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ЮЖНЫХ МОРЕЙ
им. А. О. КОВАЛЕВСКОГО

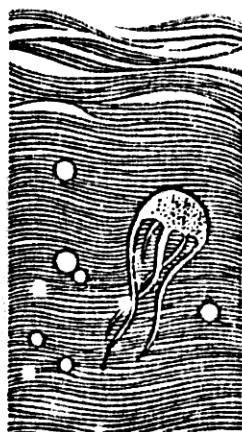
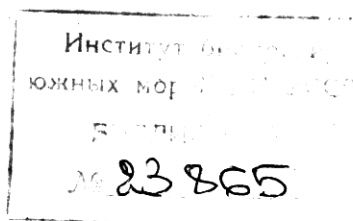
ПРОСВЕЩЕНИЕ

А. КОВАЛЕВСКИЙ»

ЭКСПЕДИЦИОННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В СРЕДИЗЕМНОМ МОРЕ

В МАЕ — ИЮЛЕ 1970

66-й РЕЙС НИС «АКАДЕМИК



«НАУКОВА ДУМКА»
КИЕВ-1971

ПОЛИЩУК Р.А.

Влияние неорганических солей Zn , Cu , Hg на процессы фотосинтеза и дыхания водорослей Средиземного моря

Настоящее сообщение является результатом работы, проведенной на нис "Академик А.Ковалевский" в мае-июле 1970 г., по выяснению механизмов и степени повреждающего действия тяжёлых металлов на водоросли в условиях повышенной, по сравнению с Чёрным морем, средиземноморской солёности.

В работе приведены данные опытов по определению влияния Cu , Zn , Hg в наименьших концентрациях, сравнимых по токсичности действия, на процессы фотосинтеза и дыхания водорослей. Исследовалась способность водорослей к восстановлению фотосинтеза и дыхания после разного срока действия Cu , Zn , Hg , а также влияние специфических ядов NaF , 2, 4 ДНФ и реверсоров Fe , трилона Б на эти процессы.

Выбор элементов Zn , Cu , Hg и необходимость изучения механизма их действия связан с применением последних в качестве токсичных компонентов необрастаемых красок, проявляющих различную эффективность в зависимости от районов использования.

В связи с этим значительный интерес представляет сравнение альгицидности некоторых тяжёлых металлов в различных экологических условиях, в частности, в воде разной солёности.

Отбор водорослей производили в портах захода: Баньёльс, Пор-Вандр, Монако. Опыты проводились на *Enteromorpha intestinalis*, *Ulva lactuca*, *Podina pavonia* и других водорослях, общих для Чёрного и Средиземного морей.

В процессах подготовки опытов и в промежутках

между ними водоросли содержались в эмалированных ёмкостях объёмом 40 л под протоком.

Для определения дыхания и фотосинтеза водоросли после тщательной промывки в проточной морской воде сортировали по видам, и навески их по 1 г помещали в белые прозрачные и чёрные склянки с притёртыми пробками ёмкостью 1 л. Дыхание и фотосинтез определяли по убыли и увеличению кислорода по методу Винклера. Морскую воду перед наполнением склянок выдерживали в эмалированных сосудах в течение 1-2 суток. Опытные склянки во избежание образования пузырьков воздуха наполняли с помощью сифонов. Перед погружением водорослей в опытные склянки добавляли в растворённом виде необходимое количество вещества, предусмотренного схемой опыта. Затем раствор осторожно перемешивали стеклянной палочкой.

В опытах были испытаны соли металлов $CuSO_4$, H_2O , $ZnCl_2$, $HgCl_2$ в концентрациях $5 \cdot 10^{-5}$ - $1 \cdot 10^{-4}$ М; $1 \cdot 10^{-4}$ - $2 \cdot 10^{-4}$ М и $1 \cdot 10^{-6}$ М соответственно. 2, 4 ДНФ (2, 4 динитрофенол) применялся в концентрации $1 \cdot 10^{-4}$ М, NaF - $1 \cdot 10^{-3}$ М, $FeSO_4$ - $5 \cdot 10^{-5}$ М, $NaEDTA$ - $5 \cdot 10^{-5}$ М. Для поддержания постоянной температуры опытные склянки во время экспозиции на солнце помещались в бани с заборной морской водой и при необходимости прикрывались влажной марлей. Освещение - естественное - 8000 - 10000 люкс. Измерение производили люксметром типа Ф-102. Температура воды - $21-23^{\circ}C$. Пробы для определения кислорода отбирали с помощью шприца в склянки с притёртыми пробками ёмкостью 30 мл.

Испытание токсичности металлов Cu , Zn и Hg , как правило, проводили одновременно на каком-нибудь одном виде водоросли. Таким образом, определяли не только особенность действия этих металлов, но и видовую специфичность реакции водорослей.

Установлено, что тяжёлые металлы Cu , Zn , Hg в концентрациях (Zn в 2-4 раза выше, Hg - в 10-20 раз ниже, чем концентрация меди) имеют различное влияние на интенсивность фотосинтеза и дыхания.

По влиянием Zn в концентрации $1 \cdot 10^{-4}M$ и $2 \cdot 10^{-4}M$ в течение двух часов интенсивность фотосинтеза *Enteromorpha intestinalis* снизилась до 10,5 мл O_2 и 6,5 мл, что составило соответственно 68 и 42% нормы. После периода восстановления в морской воде в течение четырёх часов интенсивность фотосинтеза этих водорослей, пребывавших первоначально в $1 \cdot 10^{-4}M$ растворе Zn , достигала нормы. Концентрация $Zn 2 \cdot 10^{-4}M$ оказалась более токсичной: интенсивность фотосинтеза после периода восстановления составляла только 11–11,8 мл – 75% нормы (рис.1).

Под влиянием меди происходило более резкое снижение интенсивности фотосинтеза, чем под воздействием цинка. После двухчасового действия меди в концентрации $5 \cdot 10^{-5}M$ интенсивность фотосинтеза снижалась до 6,5 мл, т.е. на 58% по сравнению с нормой, в концентрации $1 \cdot 10^{-4}M Cu$ (в 2 раза выше первой) – до 4,5–0,3 мл – более, чем на 70–90%. В период восстановления после действия меди в концентрации $5 \cdot 10^{-5}M$ интенсивность фотосинтеза почти не изменялась, составляя 7,4 мл O_2 , т.е. 46% нормы. После действия меди в концентрации $1 \cdot 10^{-4}M$ процесс фотосинтеза не восстанавливался (0,3–0,5 O_2 мл/л). Таким образом, медь по сравнению с цинком, обладает более сильным токсическим действием на *Enteromorpha intestinalis*.

Двухчасовое действие ртути в концентрации в 5, 10 и 20 раз ниже меди по токсичности близко к действию последней. Через 4 часа после действия ртути интенсивность фотосинтеза водорослей была заметно ниже, чем после действия меди.

Отмечена существенная разница в интенсивности дыхания водорослей, подвергшихся действию Cu, Zn, Hg .

В первые 2 часа опыта медь стимулировала интенсивность дыхания по сравнению с контролем в 2–3 раза. Интенсивность дыхания водорослей под влиянием меди составляла 5,5–7,8 мл, под влиянием цинка – 2,4–2,8 мл, ртути – 0,2–3,7 мл, в контроле – 2 мл O_2 на л.

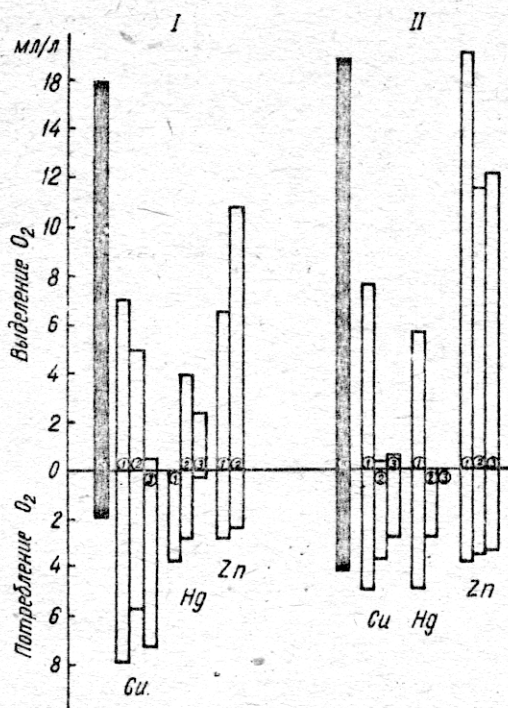


Рис. 1. Изменение интенсивности дыхания и фотосинтеза *Enteromorpha intestinalis* под влиянием солей Cu , Zn , Hg .

1. Действие металлов в течение 2 час. Cu : 1-концентрация $5 \cdot 10^{-5} M$; 2, 3-концентрация $1 \cdot 10^{-4} M$. Hg : 1-концентрация $5 \cdot 10^{-6} M$; 2, 3-концентрация $1 \cdot 10^{-5} M$. Zn : 1-концентрация $1 \cdot 10^{-4} M$; 2, 3-концентрация $2 \cdot 10^{-4} M$. К-контроль.

II. После 4 час периода восстановления. Cu : 1, 2-морская вода; 3-морская вода + $5 \cdot 10^{-5} M Na$ ЭДТА. Hg : 1, 2-морская вода; 3-морская вода + $5 \cdot 10^{-5} M Na$ ЭДТА. Zn : 1, 2-морская вода; 3-морская вода + $5 \cdot 10^{-5} M Na$ ЭДТА. К-контроль.

У водорослей, подвергавшихся действию меди, обесцвечивание талломов происходило постепенно и равномерно, за исключением случаев с проростками красных водорослей *Callithamnion corymbosum*, когда в первую очередь обесцвечивались и поражались концевые клетки проростков (Полищук, 1970). Изменение содержания пигментов водорослей под влиянием *Cu* обнаруживалось в течение 1-3 суток в зависимости от температуры и концентрации (Полищук, 1969, 1970). Поражение талломов водорослей ртутью, в отличие от меди, носило неравномерный, мозаичный характер. Отдельные части талломов водорослей были обесцвечены, в то время как другая их часть была зелёная. В условиях затемнения альгидный эффект ртути, как и меди, значительно меньше, чем на свету (Полищук, 1969). В условиях затемнения "мозаичность" ртути не проявлялась.

Опыты по изучению влияния длительности контакта *Ulva lactuca* с ртутью и восстановления после действия яда, показали, что уже десятиминутный контакт водорослей с ртутью снижал интенсивность фотосинтеза в первый час восстановительного периода до 1,5 мл O_2 /л, т.е. в 3 раза по сравнению с нормой (рис.2). В последующие часы восстановительного периода (8 и 29 час.) процесс фотосинтеза водорослей протекал значительно интенсивнее, был ниже нормы только в 2 раза. Интенсивность фотосинтеза водорослей, находившихся в контакте с ртутью в течение 20 и 45 мин, за это же время восстановления была ниже нормы в 4 раза.

В присутствии *Na* - ЭДТА процесс восстановления водорослей проходил более активно. Это сказалось уже после 5 час пребывания водорослей в растворе с ЭДТА. Интенсивность фотосинтеза водорослей, находившихся в чистой морской воде, составляла 4,4 мл O_2 /л; с добавками *Na* ЭДТА - 7,7 мл O_2 /л (рис.2).

Применение железа в восстановительный период (после действия *Cu, Zn, Hg*) усиливает эффект восстановления в первые 8 час. Позже, через 17 час., стимулирующий эффект железа снижался (рис.3). Более чёткое

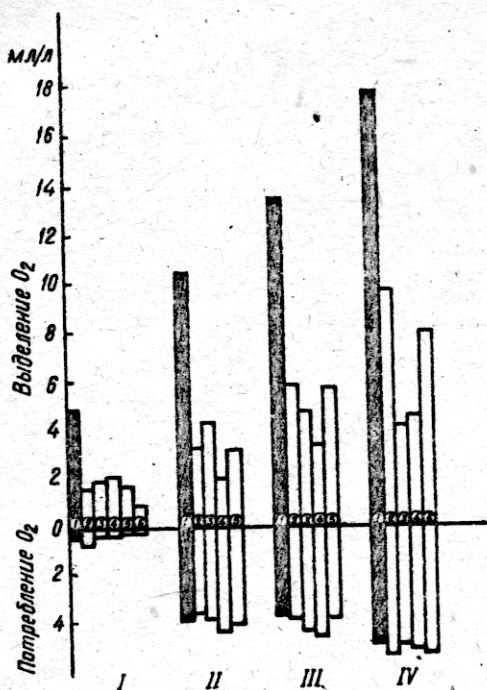


Рис. 2. Изменение интенсивности дыхания и фотосинтеза *Ulva lactuca* в зависимости от времени контакта с Hg и периода восстановления.

Время действия Hg

2 - 10 мин

3 - 20 мин

4 - 30 мин

5 - 45 мин

6 - 45 мин

1 - контроль

(2, 3, 4, 5 - морская вода

6 - морская вода + раствор Na ЭДТА)

Периоды восстановления после действия Hg

1 - 1 час после действия;

II - 5 час - " - ;

III - 8 час - " - ;

IV - 29 час - " - .

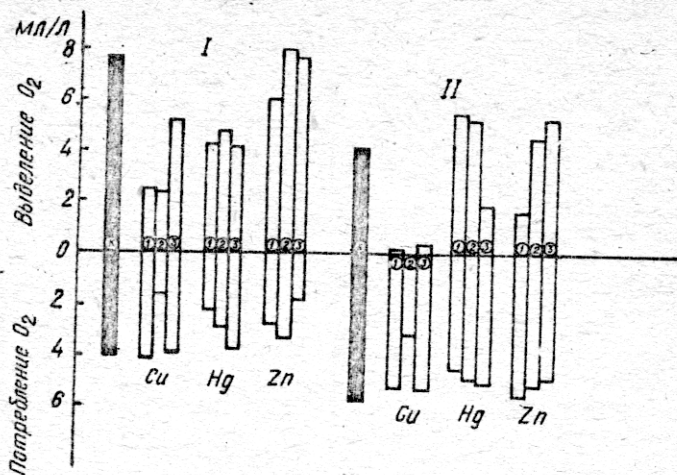


Рис. 3. Восстановление дыхания и фотосинтеза *Padina pavonia* в морской воде (1). Na ЭДТА (2) и $FeSO_4$ (3) в течение 8 час (I) и 17 час (II) после действия Cu, Zn, Hg в течение 30 мин.

положительное влияние оказывали добавки железа, применяемые одновременно с ртутью, цинком и медью. Если под влиянием одной ртути интенсивность фотосинтеза составляла 12,5 мл O_2 /л – 73% интенсивности фотосинтеза водорослей контрольного варианта, то интенсивность фотосинтеза водорослей, подвергавшихся действию $Fe + Hg$, составляла 15,2 мл O_2 /л – 94% нормы.

В первые 2 час. 30 мин. действие цинка на интенсивность фотосинтеза *Ulva lactuca* почти не сказалось. В восстановительный период, по истечении 26 час., интенсивность фотосинтеза снижалась на 35% по сравнению с контролем.

Чёткий положительный эффект добавок железа проявлялся как в период действия цинка, так и во время восстановления (рис.4).

Влияние 2, 4 ДНФ на фотосинтез в общем является стимулирующим (рис.4,5). Только в одном из пяти

опытов наблюдалось снижение интенсивности фотосинтеза (рис.4). Интенсивность фотосинтеза после 2 час. 30 мин. действия 2, 4 ДНФ снизилась на 6% по сравнению с нормой. В двадцатичестьчасовой период восстановления (после пребывания водорослей в течение 2 час. 30 мин. в растворе с 2, 4 ДНФ) интенсивность фотосинтеза возросла на 4%. Результаты другого опыта показывают, что интенсивность фотосинтеза после 2 час. действия 2,4 ДНФ возросла на 1,7 мл O_2 , т.е. на 18,5%, после 9 часов - на 8 мл; т.е. на 35% по сравнению с нормой. Применение 2,4 ДНФ одновременно с *Cu, Zn, Hg* в большей части опытов способствовало снижению токсического действия этих металлов.

После действия тяжёлых металлов с 2,4 ДНФ наблюдалось более активное восстановление фотосинтеза, чем в вариантах с применением одних металлов (рис.4). Так, интенсивность фотосинтеза водорослей, подвергавшихся действию 2,4 ДНФ + *Hg*, составляла 10,3 мл O_2 , т.е. 39%, после действия *Hg* - 4,4 мл - 17% нормы. Примерно такая же картина наблюдалась у водорослей, подвергавшихся действию *Zn* + 2,4 ДНФ.

Интенсивность дыхания водорослей под влиянием 2,4 ДНФ имела непостоянный характер. В одних опытах после 2 час. 30 мин. воздействия 2,4 ДНФ интенсивность дыхания не изменялась. В период восстановления через 26 час. пребывания водорослей в чистой морской воде, происходило уменьшение интенсивности дыхания на 63% по сравнению с нормой (рис.4).

В другом опыте, иллюстрируемом рис.5, интенсивность дыхания снижалась в 2-3 раза по сравнению с нормой.

Данные, полученные в результате применения *NaF*, были неоднозначны. После двухчасового влияния *NaF* интенсивность дыхания понижалась до 0,8 мл O_2 , что составляло менее 50% нормы. Однако после девятичасового действия *NaF* интенсивность дыхания приближалась к норме. Потребление кислорода водорослями, находящимися под влиянием двух ингибиторов одновременно (*NaF* + *Cu*), было примерно таким же, как и в варианте с применением одного только *NaF*.

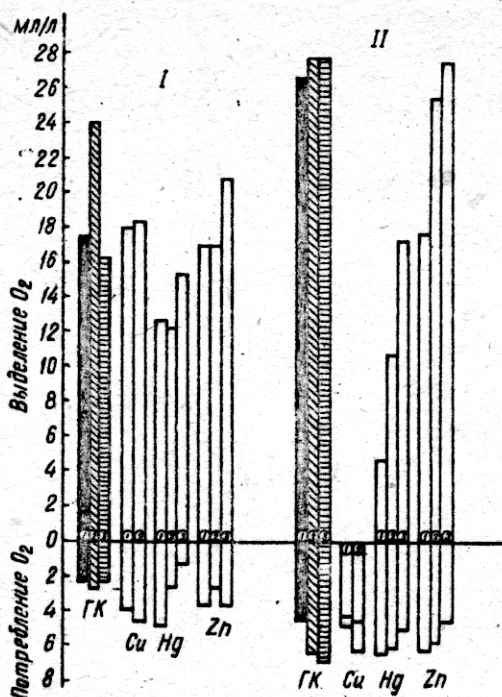


Рис. 4. Изменение интенсивности дыхания и фотосинтеза *Uva lactuca* под влиянием солей Cu , Hg , Zn в сочетании с 2, 4ДФ и Fe .

I — период действия 2 час. 30 мин.

II — период восстановления в течение 26 часов в морской воде.

ГК — (группа контроля): 1 — контроль

2 — $FeSO_4$

3 — 2, 4ДФ

Cu 1 — Cu

2 — Cu + 2, 4ДФ

Hg 1 — Hg

2 — Hg + 2, 4ДФ; 3 — Hg + Fe

Zn 1 — Zn

2 — Zn + 2, 4ДФ

3 — Zn + Fe

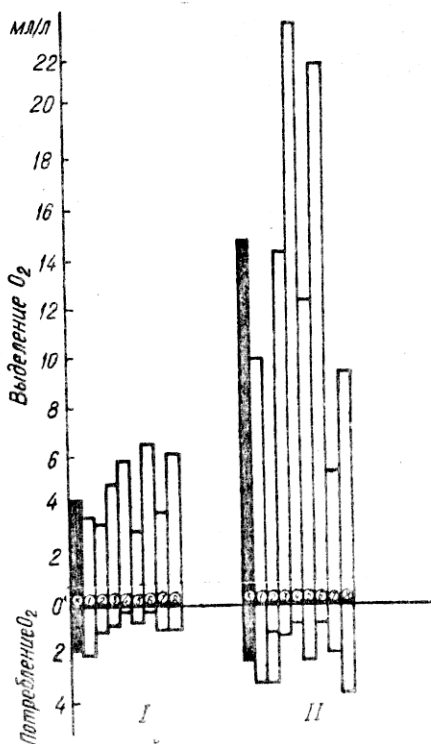


Рис. 5. Изменение интенсивности дыхания и фотосинтеза *Ulna lactuca* под влиянием Cu (1), Hg (2), Zn (3), 2, 4ДНФ (4), NaF (5) Na ЭДТА (6), $Cu + NaF$ (7), $Cu + 2, 4ДНФ$ (8) в течение 2 (1) и 9 час. (11). (К-контроль).

Таким образом, изучение действия солей ртути, меди и цинка по сравнению и в сочетании со специфическими ядами 2,4 динитрофенолом NaF и реверсорами ионами железа, и трилоном Б показали, что наибольшей альгицидной активностью обладают ртуть и медь. Сравнимые по силе токсического действия концентрации металлов составляют $5 \cdot 10^{-6} M Hg$; $5 \cdot 10^{-5} M Cu$ и $2 \cdot 10^{-4} M Zn$.

Применение железа и Na ЭДТА в восстановительный период усиливало эффект восстановления после действия всех трех металлов. 2,4 ДНФ и железо, приме-

няемые одновременно с металлами *Hg*, *Cu* и *Zn*, уменьшали их альгицидность.

Водоросли, подвергавшиеся действию меди в течение 1-2 часов, в 2-3 раза увеличивали потребление кислорода по сравнению с нормой.

Классический ингибитор процесса окислительного фосфорилирования 2,4 ДНФ в концентрации $1 \cdot 10^{-4}$ М стимулирует интенсивность выделения кислорода и подавляет (или не изменяет) интенсивность дыхания.

NaF в концентрации $1 \cdot 10^{-3}$ М изменяет интенсивность дыхания неоднозначно. В одних случаях под влиянием *NaF* интенсивность дыхания водорослей понижается почти на 50%, в период восстановления после действия находится в пределах нормы.

По предварительным данным, на проявление альгицидности *Hg*, *Cu* и *Zn* повышенная солёность не оказывает заметного действия.

ЛИТЕРАТУРА

- Полищук Р.А. Действие альгицидных доз меди на оседание и прорастание спор некоторых макрофитов Чёрного моря. - Сб. Биология моря, вып.18. Киев, "Наукова думка", 1970.
- Полищук Р.А. Изменение содержания пигментов некоторых макрофитов Адриатического моря под воздействием токсических доз меди. - Сб. Экспедиционные исследования в Средиземном море в сентябре-декабре 1967 г. Киев, "Наукова думка", 1969.