

ЭКОЛОГИЯ МОРЯ



13

1983

Из приведенных данных следует, что метод Р. Эппли [4] дает достоверные результаты только в мезотрофных водах и оказывается непригодным в олиготрофных, поскольку концентрация добавляемых биогенных элементов в последних значительно превышает их концентрацию в воде. Так как повышенная концентрация биогенных элементов изменяет видовой состав, то полученные данные нельзя отнести к исходному фитопланктону. Отсюда измеренные и рассчитанные μ в олиготрофных водах различаются значительно.

1. Финенко З. З., Ланская Л. А. Скорость роста фитопланктона в экваториальном районе Тихого океана.— Тр. Ин-та океанологии, 1975, **102**, с. 123—130.
2. *Determination of photosynthesis pigments in sea water.*— Paris : UNESCO, 1966.— 69 p.
3. Dunstan W. M., Menzel D. W. Continuous cultures of natural populations of phytoplankton in dilute, treated sewage effluent.— *Limnol and Oceanogr.*, 1971, **16**, N 14, p. 623—632.
4. Eppley R. An incubation method for estimating the carbon content of phytoplankton in natural samples.— *Ibid.*, 1968, **13**, N 4, p. 574—582.
5. Menzel D. W., Hulbert E. M., Ryther J. H. The effect of enriching Sargasso Sea water on the production and species composition the phytoplankton.— *Deep-Sea Res.*, 1963, **10**, N 3, p. 209—220.
6. Peterson B., Barlow J., Savage A. The physiological state with respect to phosphorus of Cayuga Lake phytoplankton.— *Limnol. and Oceanogr.*, 1974, **19**, N 3, p. 396—408.
7. Strickland J. D. H., Parsons T. R. A practical handbook of sea water analysis.— *J. Fish. Res. Board Can.*, 1968, N 1, p. 49—62.

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

Поступила в редколлегию
13.11.81

D. K. KRUPATKINA, L. V. KUZMENKO

EFFECT OF BIOGENIC ELEMENT ADDITIVES AND PHYTOPLANKTON SPECIES COMPOSITION IN VARIOUS TYPES OF WATERS

Summary

The method gives reliable results in mesotrophic waters. Enrichment in biogenic elements brings about no essential changes in the species composition because the concentration of the biogenic elements added does not exceed their concentration in water. Specific phytoplankton production calculated by the Eppli method and measured proved to be practically the same. Results of the method in oligotrophic waters are unreliable. Enrichment in biogenic elements induces changes in the species composition, as concentration of the added biogenic elements increases considerably their concentration in sea water. The calculated and measured specific productions in calculated and measured specific productions in this case have an order difference.

УДК 539.163:546.1:577.475(262.5)

А. В. ПАРХОМЕНКО, З. З. ФИНЕНКО,
В. Н. ЕГОРОВ

ОСОБЕННОСТИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОГЛОЩЕНИЯ НЕОРГАНИЧЕСКОГО ФОСФОРА МИКРОПЛАНКТОНОМ В ОЛИГОТРОФНЫХ ВОДАХ С ПРИМЕНЕНИЕМ РАДИОИЗОТОПНОГО ИНДИКАТОРА

Обычно в открытых и прибрежных водах морей и океанов, где часто наблюдаются низкие концентрации фосфатов, скорость их включения в продукционные процессы определяют с помощью радиофосфора [2, 5, 7, 8]. Недостатком этого метода является то, что с его помощью учитывается не все количество поглощенного организмами радиоактивного фосфора, так как часть поглощенных атомов, принимая участие в обменных процессах, выводится из клеток в среду. Какая доля поглощенного микроорганизмами радиофосфора попадает в среду, зависит от многих условий, в частности от продолжительности опыта и физиологического состояния организмов.

Задача настоящего исследования состояла в выявлении характера кинетики поглощения ^{32}P микроорганизмами в олиготрофных водах с тем, чтобы определить количество поглощенного и усвоенного неорганического фосфора микропланктонным сообществом.

Материал и методика. Исследования выполнены в августе — сентябре 1980 г., в центре циклонического круговорота западной части Черного моря. В этот период значения первичной продукции и содержания фосфатов в верхнем квазиоднородном слое были крайне низки и типичны для олиготрофных районов моря [4]. Пробы морской воды для экспериментов отбирали батометром с глубины 1—5 м. Опыты проводили в светлых литровых склянках, которые заполняли водой, профильтрованной через газ № 49. Затем вносили исходный радиоактивный раствор *орто*-фосфорной кислоты без изотопного носителя. Общая радиоактивность ^{32}P в склянках составляла $(500\text{—}700) \times 10^3$ имп · мин $^{-1}$ · л $^{-1}$. Пробы экспонировали в аквариуме с проточной водой. В конце экспозиции концентрировали микроорганизмы на мембранных фильтрах типа СЫНПОР с размером пор 0,4 мкм и вакуумном разрежении — 0,4 атм. Контролем на адсорбцию ^{32}P , которая не связана с биологическим поглощением, служили идентичные пробы, зафиксированные насыщенным раствором сулемы. Чтобы обеспечить минимальную адсорбцию радиофосфора на мембранных фильтрах и взвешенных частицах, пробы после фильтрации промывали подкисленной 0,5%-ным HCl морской водой, содержащей 0,5% NaH_2PO_4 , после чего их высушивали. Общую радиоактивность ^{32}P в опыте определяли следующим образом: 1 мл морской воды отбирали в алюминиевую тарелочку и выпаривали под инфракрасной лампой. Пробы с радиофосфором измеряли на пересчетном приборе ПП-16 с торцовым счетчиком МБТ-13 в свинцовой защите. Относительная погрешность радиометрических измерений не превышала 5%. Содержание неорганического фосфора в морской воде определяли стандартным гидрохимическим методом¹ [1].

Количество неорганического фосфора, поглощенного микропланктоном за время экспозиции, рассчитывали по формуле

$$P = \frac{rk}{RtV}, \quad (1)$$

где P — скорость поглощения неорганического фосфора микроорганизмами, мкгР · л $^{-1}$ · ч $^{-1}$; r — активность ^{32}P в организмах, имп · мин $^{-1}$ · л $^{-1}$; R — общая активность ^{32}P в опыте, имп · мин $^{-1}$ · л $^{-1}$; k — содержание минерального фосфора в морской воде, мкгР · л $^{-1}$; t — время экспонирования; V — объем профильтрованной пробы, л.

Результаты и их обсуждение. В период исследований содержание фосфатов в верхнем однородном слое составляло 0,8—1,2 мкгР · л $^{-1}$. В этих условиях скорость поглощения неорганического фосфора, измеренная с помощью ^{32}P в течение 1 ч, равна 0,15—0,17 мкгР · л $^{-1}$, а скорость оборота, рассчитанная как частное от деления начальной концентрации фосфатов на время их оборота, находилась в пределах 14—16 мкгР · л $^{-1}$ · сут $^{-1}$. Как видно из приведенных расчетов, весь неорганический фосфор может полностью потребиться микропланктонным сообществом в течение 6 ч. Однако результаты измерений динамики поглощения радиофосфора микропланктоном показывают, что радиоактивность микроорганизмов возрастает пропорционально времени только в течение первого часа, после чего наступает фаза замедленного роста «метки» и в течение последующего времени она остается постоянной (рис. 1). Такой ход кривой может быть обусловлен несколькими причинами: одна из них — повышение радиоактивности в организмах до состояния динамического равновесия между стабильным и

¹ Измерения выполнили М. В. Кирикова и Д. Л. Гвоздева, авторы признательны им за предоставленные данные.

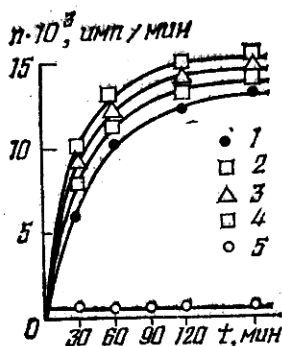


Рис. 1. Кинетика поглощения ^{32}P микропланктоном после добавления (изотопа) через разные промежутки времени: 1 — 5 мин; 2 — 3 ч; 3 — 6 ч; 4 — 24 ч. Поглощение ^{32}P микропланктоном в присутствии сулемы (5).

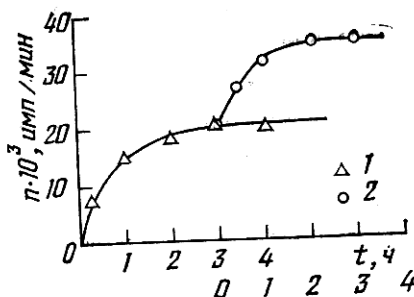


Рис. 2. Кинетика поглощения ^{32}P микропланктоном: 1 — через 5 мин после добавления изотопа; 2 — после повторного добавления ^{32}P в момент наступившего динамического равновесия.

радиоактивным фосфором в воде и микропланктоне, другая — уменьшение концентрации фосфатов в воде до минимальных значений в процессе его усвоения организмами планктона.

Чтобы проверить второе предположение, были проведены некоторые эксперименты. В пробы воды добавляли одинаковые количества ^{32}P через 5 мин, 3, 6 и 24 ч после их отбора. До внесения изотопа пробы находились в аквариуме с проточной морской водой. Затем в течение 3 ч в каждом из вариантов опыта через 15, 30 и 60 мин определяли количество ^{32}P , поглощенного микропланктоном. Как видно из результатов, представленных на рис. 1, количество поглощенного ^{32}P несколько повышалось в зависимости от времени его введения в пробу. Поскольку начальная радиоактивность во всех вариантах опыта была одинаковой, содержание радиофосфора в микропланктоне возросло после изменения удельной радиоактивности фосфора в воде, которое является результатом незначительного уменьшения концентрации фосфатов за период между отбором проб и добавлением изотопа. На основании этих данных можно заключить, что выход кривых на плато обусловлен не понижением концентрации фосфатов, а есть в основном результат быстрого замещения стабильного фосфора в организмах радиоактивным. Если это так, то, повысив удельную радиоактивность фосфора в пробе внесением новой порции изотопа после выхода кривой на плато, мы должны наблюдать повторное увеличение радиоактивности микропланктона до установления динамического равновесия. Результаты такого опыта представлены на рис. 2. В обоих случаях характер кривых поглощения ^{32}P при изменении количества радиоактивных атомов по отношению к стабильным одинаков.

Таким образом, двумя различными путями показано, что в начальный период радиоактивность микропланктона увеличивается в основном в результате замещения стабильного фосфора радиоактивным. Поэтому для расчета усвоенной части неорганического фосфора микропланктоном воспользуемся данными, когда изотоп вносился через определенные промежутки времени после отбора проб. Если считать, что в течение 3 ч фосфаты поглощались микропланктоном с одинаковой скоростью, то для восходящего участка кривых 1—4 (см. рис. 1) можно записать, что $P_1 = \frac{rk}{R}$, $P_2 = \frac{r_1 k_1}{R}$ и $P_1 = P_2$. После приравнивания левых частей уравнений и проведения сокращений получим соотношение

$$k_1 = \frac{r_1}{r} k. \quad (2)$$

где k — начальная концентрация фосфатов в воде, измеренная прямым путем; k_1 — концентрация фосфатов в воде через 3 ч; r и r_1 — радиоактивность микропланктона в разных вариантах при одинаковой экспозиции проб.

Концентрация фосфатов в воде и скорость их поглощения определены по результатам опытов с 15-минутной экспозицией после внесения изотопа. Для расчетов использованы эксперименты, когда изотоп вносился через 5 мин, 3 и 6 ч после отбора пробы. Оценка величины k_1 по результатам наблюдений показала, что в течение 6 ч содержание фосфатов уменьшилось всего на $0,11 \text{ мкгР} \cdot \text{л}^{-1}$ (таблица). Тогда скорость ассимиляции фосфора микро-

Изменение концентрации фосфатов в воде; скорости поглощения и ассимиляции фосфора микропланктоном во времени

Опыт	Время, ч	Концентрация фосфатов в воде, $\text{мкгР} \times \text{л}^{-1}$	Скорость поглощения фосфатов	Количество усвоенного фосфора
			$\text{мкгР} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{ч}^{-1}$	
1*	0,1*	0,85	0,164	—
2	3	—	0,133	0,023
3	6	0,78	0,164	0,018
Среднее	—	0,74	0,153	0,021

планктоном составит $0,018 \text{ мкгР} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{ч}^{-1}$, или $0,43 \text{ мкгР} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$. Из приведенных данных следует, что количество усвоенного неорганического фосфора составляет лишь 12% поглощенного микроорганизмами. Такое соотношение усвоенного и поглощенного фосфора, очевидно, обусловлено низкой скоростью роста микроорганизмов (в частности, в период исследований суточное Р/Б фитопланктона в поверхностном слое не превышало 0,2). Но даже при такой скорости роста количество усвоенного микропланктоном минерального фосфора за сутки составляет 50% его содержания в воде, а это отнюдь не малая величина при крайне низком содержании фосфатов в воде. Однако следует отметить, что по данным, полученным в ходе опытов по поглощению $^{32}\text{Р}$ размерными фракциями микропланктона, высокая скорость оборота фосфора обусловлена активностью бактериопланктона в большей степени, чем фитопланктона.

В зависимости от физиологического состояния организмов радиоактивность микропланктона может постепенно повышаться до стационарного состояния в течение относительно длительного периода времени [2, 5, 8], причем угол наклона в начальный период значительно выше, чем в последующие отрезки времени. По наблюдениям в Чесапикском заливе И. Л. Тафт с соавторами [8] считают, что первый участок кривой обусловлен адсорбцией $^{32}\text{Р}$ на неживых частицах взвешенного вещества. Поэтому количество фосфатов, усвоенное микропланктоном, они определяют по разности радиоактивности, измеренной в конце эксперимента и зафиксированной в начале перегиба кривой. Следует отметить, что быстрое увеличение «метки» в начальный период не связано с химической адсорбцией радиофосфора, так как в пробах, зафиксированных сулемой, согласно нашим наблюдениям, она не изменяется в течение опыта (см. рис. 1). В связи с этим полученные данные дают верное представление о количестве фосфора, ассимилированного микроорганизмами, поскольку практически учитывается замещение стабильного фосфора радиоактивным. Сходный прием для определения скорости ассимиляции фосфора микропланктоном используют в последнее время американские авторы [7, 8]. Гораздо труднее понять смысл результатов, когда количество ассимилированного фосфора рассчитывают по общей радиоактивности микропланктона, зафиксированной в конце опыта независимо от его длительности [2, 3]. Очевидно, в этих исследованиях предполагается, что поглощенный $^{32}\text{Р}$ расходуется на синтез органического вещества и не участвует в обменных процессах. В свете изложенных результатов ясно, что повышение радиоактивности микропланктона в процессе поглощения $^{32}\text{Р}$ отражает лишь часть фосфора, ассимилированного микроорганизмами.

В целом полученные результаты позволяют заключить о возможности использования $^{32}\text{Р}$ для измерения скорости поглощения неорганического фосфора микропланктоном в течение короткого промежутка времени, которое необходимо измерять в каждом конкретном случае. Чтобы определить усвоенную часть фосфора, необходимо использовать схему опыта и расчеты,

описанные выше, либо измерять одновременно поглощение и выведение ^{32}P организмами, хотя последнее связано с рядом методических трудностей.

1. *Методы гидрохимических исследований океана* / Под ред. О. К. Бордовского, В. Н. Иваненко. — М.: Наука, 1978. — 171 с.
2. *Сорокин Ю. И., Вышкварцев Д. И.* Исследование потребления минерального фосфата планктонным сообществом тропических вод. — *Океанология*, 1974, 14, вып. 4, с. 688—692.
3. *Федоров В. К., Сорокин Ю. И.* Потребление минерального фосфата фитопланктоном и бактериями в водах восточной части Тихого океана по измерениям с помощью ^{32}P . — *Тр. Ин-та океанологии*, 1975, 102, с. 199—205.
4. *Финенко З. З.* Продукция фитопланктона. — В кн.: *Основы биологической продуктивности Черного моря*. Киев: Наук. думка, 1979, с. 88—99.
5. *Harrison W. C., Azam F., Renger E. H., Epply R. W.* Some experiments on phosphate assimilation by coastal marine plankton. — *Mar. Biol.*, 1977, 40, p. 9—18.
6. *Perry M. J.* Phosphate utilization by an oceanic diatome in phosphorus — limited chemostat culture and in the oligotrophic waters of the central North Pasific. — *Limnol. and Oceanogr.*, 1976, 21, N 1, p. 88—107.
7. *Perry M. J., Epply R. W.* Phosphate uptake by phytoplankton in the central North Pacific Ocean Deep-Sea Res, 1979, 28a, p. 39—49.
8. *Taft J. L., Taylor W. R., McCarthy J.* Uptake and release of phosphorus by phytoplankton in the chesapeake bay estuary USA. — *Mar. Biol.*, 1975, 33, p. 21—32.

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

Поступила в редколлегию
19.10.81

A. V. PARKHOMENKO, Z. Z. FINENKO,
V. N. EGOROV

PECULIARITIES OF DETERMINATION OF INORGANIC PHOSPHORUS ABSORPTION BY MICROPLANKTON IN OLIGOTROPHIC WATERS APPLYING A RADIOISOTOPIC INDICATOR

Summary

The paper is concerned with a problem on the ratio of inorganic phosphorus absorbed and assimilated by the Black Sea microplankton with its low concentrations in water. The data calculated from kinetics of ^{32}P absorption by microplankton show that assimilation of inorganic phosphorus by microplankton accounts for 12% of the total absorbed amount. A method is suggested to determine the part of phosphorus assimilated by microplankton from ^{32}P absorption kinetics.

УДК 581.526.325:547(267.37)

А. Г. БЕНЖИЦКИЙ

ОПЫТ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АДЕНОЗИНТРИФОСФАТА В МИКРОПЛАНКТОНЕ АРАВИЙСКОГО МОРЯ

В настоящее время для количественной оценки живого вещества в морях и океанах широко используют сравнительно чувствительный индикатор — аденозинтрифосфорную кислоту (АТФ), присущую только живым организмам и выполняющую важную роль в процессах обмена вещества и энергии в клетках [1, 2].

В 1946 г. Мак Элрой [10] открыл специфическую способность АТФ вызывать *in vitro* световое излучение при добавлении ее к водным экстрактам светонесущих органов светляков, что легло в основу метода количественного определения АТФ. Принцип метода заключается в изменении интенсивности светового потока, который возникает при добавлении к раствору препарата люциферин-люциферазы пробы, содержащей аденозинтрифосфат. Метод количественного определения АТФ введен и в практику гидробиологических исследований [4]. В дальнейшем был предложен расчет биомассы микрор-