

АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНСКОЙ ССР
ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ЮЖНЫХ МОРЕЙ ИМ. А.О. КОВАЛЕВСКОЙ

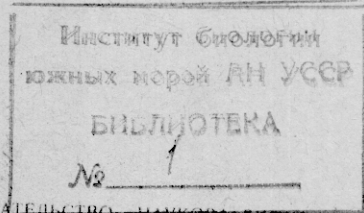
ПРОВ 2010

БИОЛОГИЯ МОРЯ

Вып. 28

ИССЛЕДОВАНИЯ ПЛАНКТОНА ЮЖНЫХ МОРЕЙ

РЕСПУБЛИКАНСКИЙ МЕЖВЕДОМСТВЕННЫЙ СБОРНИК



ИЗДАТЕЛЬСТВО «НАУКОВА ДУМКА»

КИЕВ - 1973

Белогорская Е.В., Кондратьева Т.М. Распределение фитопланктона в Черном море. - В кн.: Исследов. планктона Черного и Азовского морей. "Наукова думка", К., 1965.

Миронов О.Г. Диатомовые водоросли у берегов Феодосии. - Бот. журн., 46, 1961.

Морозова-Водяницкая Н.В. Некоторые результаты количественного исследования фитопланктона в Черном море. - Тр. Новорос. биол. ст., 2, 3, 1940.

Морозова-Водяницкая Н.В. Численность и биомасса фитопланктона в Черном море. - ДАН СССР, 73, 4, 1950.

Морозова-Водяницкая Н.В. Суточные изменения фитопланктона в июне в районе Ялты. - Тр. Севастоп. биол. ст., 10, 1958.

Прошкина-Лавренко А.И. и Алфимов Н.Н. Об использовании диатомовых водорослей при оценке санитарного состояния морских вод. - Бот. журн., 39, 1, 1954.

Пицык Г.К. О количественном развитии и горизонтальном распределении фитопланктона в западной половине Черного моря. - В кн.: Тр. АзЧерНИРО, 14, 1950.

Пицык Г.К. О количестве, составе и распределении фитопланктона в Черном море. - Тр. ВНИРО, 28, 1954.

Пицык Г.К., Георгиева Л.В., Сеничкина Л.Г. Фитопланктон тропической Атлантики как основа ее биологической продуктивности. - В кн.: Планктон и биол. продукт. тропич. Атлантики. 1971.

Роухияйнен М.И., Георгиева Л.В., Сеничкина Л.Г. Состав, количественное развитие и распределение фитопланктона в Центрально-Американских морях. - В кн.: Исслед. Центр.-Амер. морей, 2. "Наукова думка", К., 1968.

ЕЩЕ РАЗ К МЕТОДИКЕ КОНСЕРВИРОВАНИЯ МЕЛКИХ ЖГУТИКОВЫХ ВОДОРосЛЕЙ

М.И.Роухияйнен

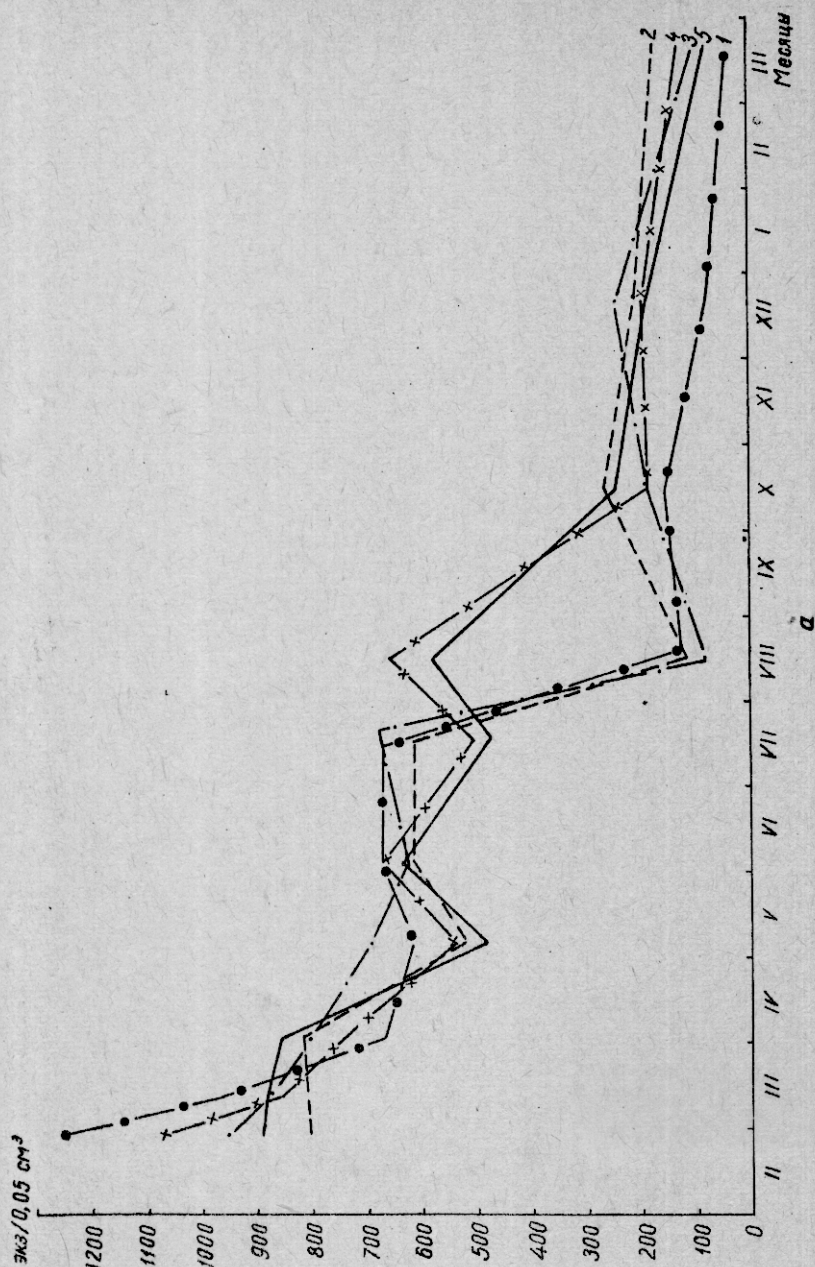
Как известно, существующие методы консервирования мелких жгутиковых водорослей не позволяют сохранить их для последующего количественного учета. В связи с этим в лаборатории фитопланктона Института биологии южных морей предприняты исследования по подбору новых фиксаторов или оптимальных концентраций уже применя-

емых реактивов. Некоторые полученные данные опубликованы ранее (Роухияйнен, 1966)¹.

В настоящей статье приведены результаты регистрируемых изменений численности клеток мелких жгутиковых водорослей в пробах, фиксированных формалином и люголевским раствором, а также наблюдений при пониженной температуре. Учет жгутиковых в пробах проводили в течение одного-полутора лет, т.е. в срок, вполне достаточный для обработки проб после их взятия. В качестве объектов использованы монокультуры зеленой водоросли *Platymonas bilobatus* Roich. и перидиней *Amphidinium klebsi* Kof. a. Sw. var. *minima* Roich. Суспензию культуры с предварительно исходной численностью разливали по 10-15 мл в склянки и фиксировали параллельно люголевским раствором и формалином, каждым в пяти концентрациях: 0,25, 0,5, 1, 2 и 4%. Всего получено 20 проб, в которых просчитывали клетки вначале один раз в декаду, затем один раз в месяц, иногда реже. Для предотвращения испарения проб и сохранения прежних их объемов, склянки после каждого подсчета организмов заливались парафином.

Из полученных данных видно, что в отдельных случаях величины последующих подсчетов монад оказались выше предыдущих. В связи с этим кривые, сохраняя общую тенденцию, характеризуются наличием нескольких пиков (рис. 1-2). Это связано с тем, что из-за трудности подсчета организмов анализировали только 3-4 выборки (по 0,05 см³). В результате получаемые средние показатели выборки $\bar{x}$ не всегда близки к средним арифметическим генеральных совокупностей $\hat{x}$. Это иллюстрируется величинами средне-квадратических отклонений σ и уровнями доверительных интервалов ϵ (табл. 1-2). Тем не менее, видно, что численность *Platymonas bilobatus* к концу наблюдений в отдельных вариантах снизилась до 6,7-21,3%. Минимальный процент отмечался при самом низком содержании люголевского раствора, в остальных случаях сохранившееся количество клеток было примерно одинаковым (табл. 1, рис. 1, а). Различие численности клеток панцирной перидиней *Amphidinium klebsi* к концу наблюдения в разных вариантах оказалось еще более значительным. Наибольший их процент (21,4 и 23,7) оставался при фиксации проб 2-4%-ным люголевским раствором.

¹ Роухияйнен М.И. К методике консервирования мелких морских жгутиковых водорослей для количественного учета. - Бот. журн., 51, 1966.



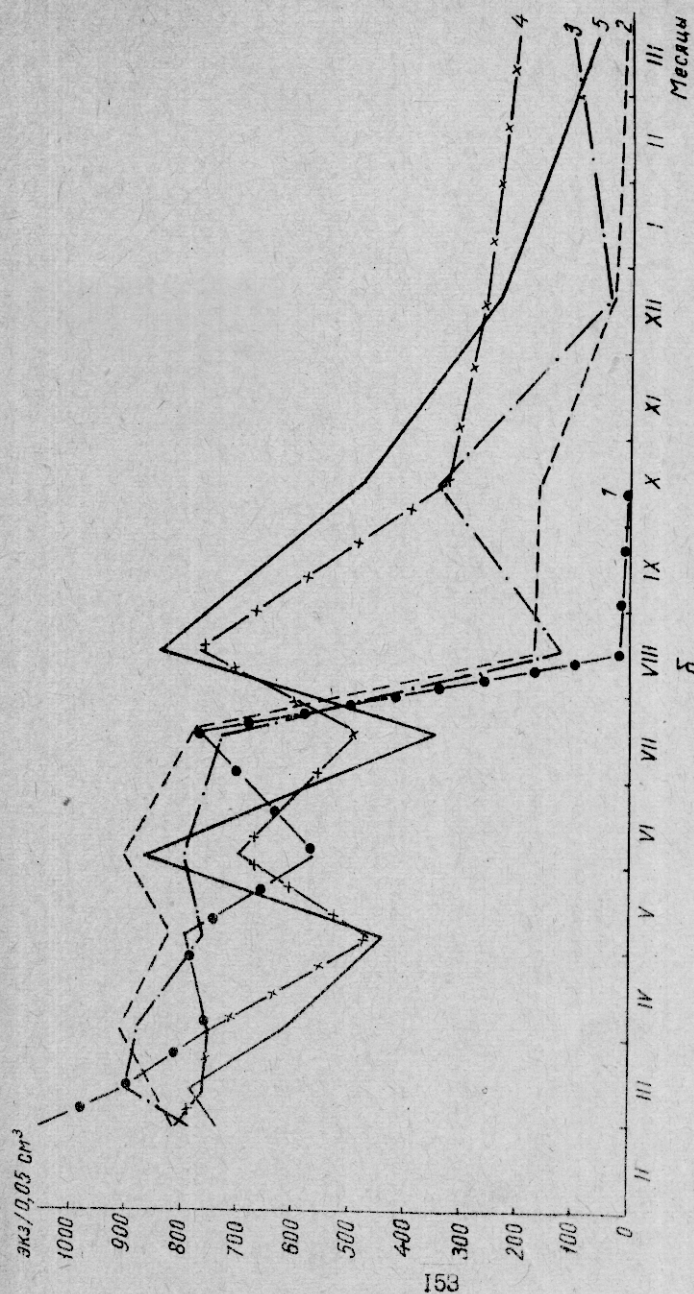


Рис. 1. Изменение численности клеток *Platygonus bilobatus* (а) и *Amphidinium klebsi* (б) при фиксации легочевским раствором в концентрации (в %): 1 - 0,25; 2 - 0,5; 3 - 1,0; 4 - 2,0; 5 - 4.

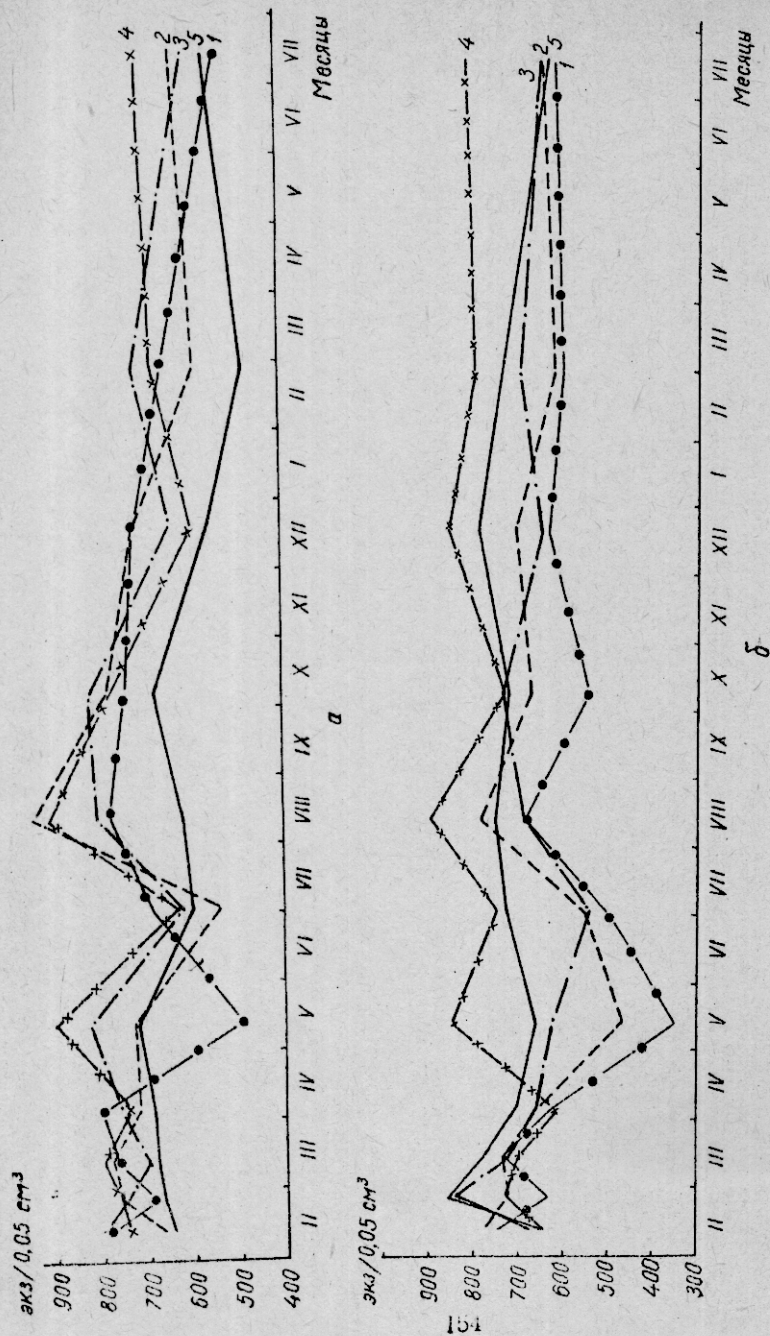


Рис.2. Изменение численности клеток *Platymonas bilobatus* (а) и *Ampelidium klebsii* (б) при фиксации формалином. Обозначения те же, что на рис.1.

При минимальной концентрации (0,25%) фиксатора организмы полностью разрушились, а при 0,5 и 1,0% сохранялись единичные клетки (2,7 и 2,9% соответственно) (рис.1,б, табл.1).

Таким образом, приводимые величины убедительно показывают, что люголевский раствор без добавок других компонентов в качестве фиксатора для рассматриваемых объектов непригоден.

При фиксации формалином клетки обоих видов в общем сохранились лучше. Так, *Pl.bilobatus* к концу наблюдения оставался почти в исходном количестве. Наилучшие результаты получены при содержании формалина 0,12-0,5 см³ на 10 см³ пробы, т.е. при 0,5 - 2%-ном растворе. Несколько ниже количество клеток оказалось при минимальной (0,25%) и максимальной (4%) концентрациях формалина, что составило около 76 и 80% исходной численности соответственно. Что касается *A.klebsi*, то по сравнению с *Pl.bilobatus* его клетки разрушились сильнее. В общем итоге к концу наблюдения их осталось 58,4 - 77,8%, причем, как и у *Platymonas*, немногим больше их количество сохранялось при 0,5-2%-ном растворе фиксатора (табл.2, рис.2,а,б). Однако, если количество клеток рассматриваемых видов при фиксации формалином и оставалось через год хранения довольно высоким, то внешняя морфология, особенно у *Pl.bilobatus*, изменилась настолько, что установить их систематическую принадлежность довольно трудно. В связи с этим по консервированным пробам можно только с некоторым допущением судить о суммарном количестве клеток. Качественная же характеристика возможна только при наличии живой пробы.

Цель экспериментов при пониженной температуре заключалась, во-первых, в определении параметров, при которых организмы остаются жизнеспособными и численность их сохраняется неизменной, т.е. они не размножаются. Во-вторых, важно было определить хотя бы примерные сроки хранения монад для количественного учета. Опыт проводили при минус 0,8 - 1° и плюс 3 - 5°С, с использованием холодильника. В первом случае в качестве объекта использовали *Pl.bilobatus*. Суспензию культуры с определенным исходным количеством клеток этого вида, разбавленную таким же количеством стерильной морской воды, разливали в десять пробирок по 2,5 см³. В следующие 10 пробирок прибавляли по 2,5 см³ суспензии и по 2,5 см³ 30%-ного раствора глицерина для предотвращения разрушения клеток в случае заморзания жидкости. Раствор глицерина приготавливали на стерильной морской воде. Опыт-

Таблица I

Количественные данные по сохранности водорослей при фиксации различными концентрациями люголевского раствора

Дата	0,25%			0,5%			1,0%			2,0%			4,0%		
	численность	б	ε	численность	б	ε	численность	б	ε	численность	б	ε	численность	б	ε

Platymonas bilobatus

1968 г.

28.II	1245	213,2	339,2	796	211,8	337,0	946	40,1	63,9	1067	359,4	571,8	883	66,6	106,0
1.III	962	248,9	618,3	792	234,1	581,8	873	100,5	249,7	851	199,0	494,4	873	106,5	264,5
2.IV	638	87,6	217,6	806	275,6	684,6	796	240,4	597,2	737	194,2	482,4	850	2,8	25,4

5.V	610	52,6	130,8	518	125,7	312,3	684	35,9	213,5	527	81,7	203,0	474	12,2	109,7
3.VI	666	115,9	288,1	606	185,7	461,2	619	132,4	329,0	663	105,5	262,0	623	113,8	282,7

17.VIII	661	48,8	121,2	607	171,8	426,7	663	81,3	202,1	496	88,4	219,6	464	50,5	125,4
15.VIII	116	88,6	220,0	104	41,3	65,6	79	16,5	41,0	652	30,6	76,1	576	152,4	189,2

14.X	148	61,7	98,1	256	100,6	124,9	181	31,2	77,5	183	59,4	533,6	289	158,9	394,9
19.XII	75	34,9	55,5	203	33,4	53,1	239	61,1	151,8	192	73,6	182,8	182	90,4	143,8

Amphidinium klebsi

1968 г.

28.II	1054	149,9	238,5	821	76,4	121,6	789	43,9	69,9	812	113,5	180,6	738	68,4	108,8
-------	------	-------	-------	-----	------	-------	-----	------	------	-----	-------	-------	-----	------	-------

1969 г.

19.III	36	40,1	99,5	167	43,5	108,2	98	56,8	141,1	129	34,4	85,6	79	116,8	290,2
--------	----	------	------	-----	------	-------	----	------	-------	-----	------	------	----	-------	-------

11. III	907	111,9	277,9	849	77,8	193,3	901	66,3	164,7	757	221,9	551,2	785	150,3	373,4
2. IV	757	82,0	203,7	916	56,3	139,9	881	99,8	247,9	750	38,4	95,5	617	69,5	172,7
5. V	792	168,6	419,2	822	68,6	170,5	763	150,9	375,1	458	34,4	85,5	439	84,8	762,4
3. VI	562	140,6	349,3	904	59,9	148,7	793	83,6	207,8	706	128,5	319,3	867	62,1	154,4
17. VII	770	61,7	153,2	783	22,7	56,4	726	117,4	291,6	482	104,9	260,6	344	55,2	137,2
15. VIII	15	12,0	19,1	172	31,6	50,2	117	6,8	16,9	777	122,5	304,3	840	384,8	477,7
14. X	0	0	0	161	39,0	62,1	340	79,6	197,8	334	48,0	432,0	475	276,6	687,2
19. XII	0	0	0	30	12,6	20,0	32	7,4	11,8	255	48,5	77,2	230	171,3	272,6

1969 r.

15. 19. III	0	0	0	9	8,3	20,6	99	73,8	183,5	199	35,3	87,8	67	151,6	376,6
-------------	---	---	---	---	-----	------	----	------	-------	-----	------	------	----	-------	-------

Amphidinium klebsi

1968 r.

12. II	744	114,8	285,3	774	150,7	374,5	674	125,5	311,8	642	80,1	199,0	646	184,1	396,1
26. II	690	137,1	181,9	718	62,5	155,3	844	116,4	289,3	728	107,9	268,0	853	220,8	351,3
13. III	727	83,7	133,1	734	138,2	343,3	723	112,3	279,0	668	59,6	147,9	780	56,4	140,2
4. IV	618	101,5	252,1	653	100,3	249,1	660	81,6	202,8	607	100,2	249,0	707	23,3	57,9
12. V	345	110,8	176,3	466	136,1	338,2	619	98,3	244,3	848	237,6	590,4	606	29,8	74,0
2. VI	498	123,1	305,8	537	45,8	115,8	408	128,7	319,7	741	82,6	205,1	726	5,3	13,2
12. VII	684	63,5	157,8	784	148,7	369,5	688	89,8	806,8	894	117,4	41054,6	747	4,3	39,1
7. X	542	80,5	128,1	671	81,7	129,9	736	143,8	228,8	730	137,5	218,7	720	81,4	129,5
159 19. XII	634	79,0	125,7	711	81,6	129,7	647	133,2	211,9	861	87,0	138,4	787	59,2	94,1

1969 r.

28. II	605	86,5	107,4	627	26,3	41,8	706	13,4	21,3	805	115,7	184,0	742	133,6	212,5
13. VII	652	137,9	219,4	662	124,4	197,9	667	187,4	298,1	841	279,8	445,2	652	207,8	330,6

ные склянки содержали в испарителе холодильника. Просмотр и подсчет клеток производили каждый раз в $0,05 \text{ см}^3$ при двукратной повторности из двух пробирок с глицерином и двух без него. Уже на следующий день во всех случаях монады сбросили жгуты. Однако форма и окраска клеток сохранились хорошо. При наличии глицерина они стали значительно светлее. В дальнейшем на протяжении семи дней наблюдений происходило постепенное изменение формы клеток и разрушение хроматофоров, хотя клетки оставались еще достаточно оформленными. Содержимое одной из пробирок, в которую был добавлен глицерин, оказалось замороженным и в таком состоянии находилось около двух месяцев. После оттаивания форма клеток несколько изменилась, но все они были хорошо различимы. При этом исходное количество в этом варианте, как и во всех других, в течение указанного времени почти полностью сохранилось (табл.3).

Т а б л и ц а 3

Численность клеток (в 1 см^3) *Platymonas bilobatus* в эксперименте при температуре минус $0,8-1^\circ\text{C}$ (1969 г.)

Дата	Без глицерина	С глицерином
10.П	700	700 ^x
11.П	556	566
12.П	580	725
13.П	620	599
14.П	576	586
17.П	580	530
24.П	630	640

^x/ Исходное количество.

Все пробы после двухмесячного содержания в холодильнике были выставлены на северное окно в лаборатории, однако развитие вида не возобновилось. Таким образом, при заданной температуре в клетках *Platymonas* произошли необратимые процессы. Бесцветные же формы, присутствовавшие в период опыта в суспензии в незначительном количестве, при комнатных условиях в дальнейшем интенсивно развивались даже в той пробирке, где содержимое находилось значительное время в замороженном состоянии. Аналогичное явление нами наблюдалось и ранее. В воде, взятой зимой у берега моря, после таяния льда бесцветные жгутиконосцы были подвижны и хорошо развивались.

Второй эксперимент проведен с *Cryptomonas vulgaris* B o u c h., при температуре 3-5°C. В данном случае суспензию культуры раз-
ливали в 10 пробирок, которые также содержались в холодильнике.
Просчет, как и в первом варианте, производили одновременно
на двух препаратах каждой из двух пробирок в течение пяти дней.
Через 20 дней сделан повторный просчет. Оказалось, что при за-
данной температуре монады в течение всего наблюдаемого периода
оставались подвижными, но не размножались. В течение первой
недели количество клеток оставалось постоянным и почти равным
исходному. При повторном же просчете численность подвижных мо-
над почти во всех вариантах снизилась более чем в пять раз по
сравнению с первоначальной (табл.4). Оставшиеся экземпляры были
мало подвижны, под покровным стеклом они быстро останавлива-
лись и разрушались. Однако при последующем выдерживании на се-
верном окне развитие водоросли проходило активно.

Т а б л и ц а 4

Количественные изменения *Cryptomonas vulgaris*
в опыте при температуре 3-5°C (1969 г.)

Дата	Численность в 1 см ³
14.V	16370 ^x
15.V	11375
16.V	15170
19.V	14365
20.V	14935
21.V	14255
Повторный просчет	
4.VI	3210
5.VI	2842

x/ Исходное количество.

Таким образом, на примере исследованных видов видно, что
мелкие жгутиковые водоросли можно сохранять при пониженной тем-
пературе. В этих условиях монады могут находиться в неподвижном
либо в подвижном состоянии, не размножаясь.