

АКАДЕМИЯ НАУК УССР
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ЮЖНЫХ МОРЕЙ им. А. О. КОВАЛЕВСКОГО
ОДЕССКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ

Д.А.Нестерова

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО СБОРУ
И ОБРАБОТКЕ МОРСКОГО ФИТОПЛАНКТОНА

- Одесса - 1988

Составила' Д.А.Нестерова

Отдел **гидробиологии** активных поверхностей
моря

- 2 -

ВВЕДЕНИЕ

Термин планктон (от греческого планктос - парящий), введенный в науку в 1887 г. немецким физиологом В. Гензеном, означает блуждающий вокруг. Планктон - многочисленная группа организмов, свободно парящая в водной толще, представлена микроскопическими одноклеточными, ценобиальными и многоклеточными организмами бактериального, растительного и животного происхождения.

Фитопланктон (от греческого фитос - растение) - свободно парящие в водной толще, одноклеточные и колониальные водоросли, которые, благодаря использованию энергии солнечной радиации, осуществляют процесс фотосинтеза. Изучение фитопланктона представляет большой интерес из-за его широкого распространения и большего значения в биологической продуктивности и формировании качества поверхностных вод.

В состав фитопланктона входят представители многих систематических отделов водорослей: диатомовых (*Bacillariophyta*), динофлагеллят (*Dinophyta*), кокколитофорид (*Chrysochromales*), кремнежгутиковых (*Silicoflagellata*), криптоноад (*Cryptophyta*), хризомонад (*Chrysochromales*), зеленых (*Chlorophyta*) и синезеленых (*Cyanophyta*) водорослей.

Фитопланктон морей и океанов представлен, в основном, диатомовыми, динофлагеллятами, кокколитофоридами и кремнежгутиковыми водорослями. Криptomonадные, хризомонадовые, зеленые и синезеленые водоросли предпочитают для своего развития пресные воды. В морских водах они встречаются в зонах влияния речных вод и мо-

тут служить индикаторами их распространения в морях и океанах.

Количество видов фитопланктона составляет тысячи. Только в Черном море найдено 746 видов и разновидностей водорослей,

Размеры клеток фитопланктона колеблются от 1 мкм до 1 мм, В зависимости от диаметра клеток различают сетной планктон (диаметр более 50 мкм), наннопланктон (от 10 до 50 мкм) и ультрапланктон (менее 10 мкм).

Микроскопические растительные клетки обладают способностью к движению в водной толще. Одни из них активно передвигаются с помощью жгутов и даже совершают вертикальные мигриации. Другие приспособились к свободному плаванию благодаря наличию выростов, шипов, тонких нитей, увеличивающих поверхность клеток и повышающих плавучесть. Улучшению плавучести способствуют также жировые включения и пузырьки воздуха, так называемые газовые вакуоли.

В состав фитопланктона входят автотрофные или фотосинтезирующие организмы, гетеротрофные, использующие для своего питания растворенное органическое вещество и фаготрофные, питающиеся отдельными частицами, иногда встречается миксотрофный способ питания.

Автотрофные организмы, содержащие хлорофилл, преобладают по численности и являются основными продуцентами органического вещества водной толщи. В процессе фотосинтеза двуокись углерода, вода и неорганические вещества синтезируются в органическое вещество. При этом в водную толщу выделяется кислород. Количество чистой органической продукции фитопланктона составляет 1,2 -

Фитопланктон, обеспечивающий пищей растительные организмы (зоопланктон, многие виды рыб, донные организмы), является начальным звеном пищевых цепей в море.

Обильное развитие фитопланктона, когда "численность клеток превышает 10⁶ клеток в литре, называется "цветением" воды. Во время "цветения" меняется окраска воды, по которой можно предположить, представители какого систематического отдела водорослей вызывают это явление. Так, во время вспышек развития некоторых видов кокколитофидов вода становится мелового или молочно-зеленого цвета. Вспышки развития диатомовых придают воде темно-зеленый или коричневый цвет. При "цветении" воды, сформированного перидиниевыми водорослями, вода приобретает розовый, розово-красный или красный цвет.

Интенсивное развитие на водной поверхности микроскопических водорослей чаще всего перидиниевых, вызывающих образование полос или пятен красного, красно-коричневого или розового цвета, известно под названием "красного прилива" или "красной воды". Явление "красного прилива" интересно и опасно тем, что его причиной часто становятся водоросли, которые обладают способностью накапливать в своих клетках яды различного действия. Один из них - саритоксин - самый сильный из всех известных ядов. Наибольшая опасность, которая таится в "красном приливе", это отравление животных и людей. Интоксикация происходит в результате употребления в пищу некоторых морских организмов (двустворчатых моллюсков), которые, в свою очередь, питаются ядовитыми водорослями.

В настоящее время имеется достаточное количество руководств, •в которых подробно описаны общепринятые методы изучения природного фитопланктона (Морозова-Водяницкая, 1954; Киселев, 1969; Федоров, 1979а, 1979б). Цель настоящего методического пособия - объединить классические методы исследования фитопланктона с новыми, появившимися в последнее десятилетие, и помочь начинающим исследователям в их освоении.

МЕТОДЫ ОТБОРА ПРОБ ФИТОПЛАНКТОНА

Отбор проб из водной толщи. Для изучения фитопланктона отбирают количественные и качественные пробы. Пробы собирают по горизонтам: качественные - сетями, количественные - батометрами.

Планктонная сеть (чаще всего сеть Джеджи) состоит из металлического кольца и пришитого к нему конической формы мешка из так называемого мельничного газа или сита, изготовляемого из шелка или капрона. Вверху и внизу к газовому мешку пришивают более крепкую ткань (лучше льняную). Внизу сеть заканчивается металлическим стаканчиком, в который собирается осадок планктона при фильтрации воды через мельничный газ. Подробное описание планктонных сетей различных конструкций даны И.А.Киселевым (1989).

Для планктонной сети, предназначенной для сбора фитопланктона, используют густой (№ 68 и выше) шелковый газ (шелковое сито), отличающееся прочностью и одинаковыми размерами его ячеек (отверстий). Раскрой планктонной сети показан на рисунке I.

Сетью можно облавливать весь столб воды от дна до поверхности, либо производить сборы по горизонтам: **10 - 0** м, **25 - 10** м.

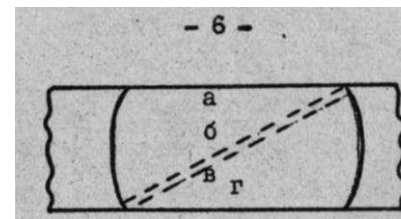


Рис. I. Раскрой сети. Сшиваются а с в, б с г (из Киселева, 1969).

50 - 25 м, 75 - 50 м, 100 - 75 м и т.д.

При сетном сборе фитопланктона в планктонную сеть попадают чаще всего крупные одиночные клетки и мелкие колониальные формы. Одиночные клетки небольших размеров проходят через ячейки сети. Некоторые исследователи полагают, что только 10% клеток от их общего числа улавливается сетью при употреблении фильтрующей поверхности газа с диаметром ячеек 40 мкм. Этот метод не является количественным, он дает только качественную оценку состояния фитопланктона. Следует отметить, что при фильтрации больших объемов воды сеть улавливает редкие виды фитопланктона, что дает в возможность пополнить видовую характеристику фитопланктона исследуемой области моря или океана.

В практике гидробиологических исследований не существует достаточно обоснованного метода выбора горизонтов для сбора количественных проб фитопланктона. Существуют так называемые стандартные горизонты, на которых отбирают пробы большинство фитопланктологов. Такой метод отбора проб дает возможность получить сопоставимые результаты. Стандартные горизонты: 0 м, 10 м, 25 м, 50 м, 75 м, 100 м, 150 м, 200 м, и, если нужно 500 м, 1000 м, 2000 м, 3000 м. Кроме перечисленных горизонтов желательно

брать пробы в слое температурного скачка. В последнее время стандартные горизонты подвергается критике и выбор горизонтов для отбора проб фитопланктона осуществляется исходя из конкретных задач исследования.

Для экспресс-оценки продуктивности того или иного района моря можно использовать интегральную пробу. Для ее получения пробы, собранные на стандартных горизонтах, сливают в одну большую емкость, перемешивают и для дальнейшего анализа берут 1-5 л воды.

Для сбора количественных проб фитопланктона используют батометры различных типов, конструкции которых подробно описаны И.А.Киселевым (1969). Однако наиболее часто используют батометры Нансена. Сейчас доказано, что лучше применять батометры из химически нейтрального стекла или пластика, объемом от 1 до 5 л. Для морского фитопланктона, особенно, если работы ведутся в олиготрофных водах, рекомендуются 5-литровые батометры.

Батометры крепят на металлическом тросе и с помощью блок-счетчика опускают на заданную глубину. В количественных пробах фитопланктона учитываются водоросли всех размеров.

Отбор проб в приповерхностном горизонте МОРЯ. Изучение фитопланктона пленки поверхностного натяжения поверхности моря толщиной до 200 мкм и нейстали (слой 0-5 см) требует специальной методики для отбора проб. .А.

Основным фильтрующим орудием сбора качественных проб фитопланктона в нейстали служит нейстонная сеть конструкции Ю.П.

Зайцева (1970). Нейстонная сеть имеет прямоугольное входное отверстие, размер рамы входного отверстия 60 x 20 см, длина сети 250 см (рис. 2).

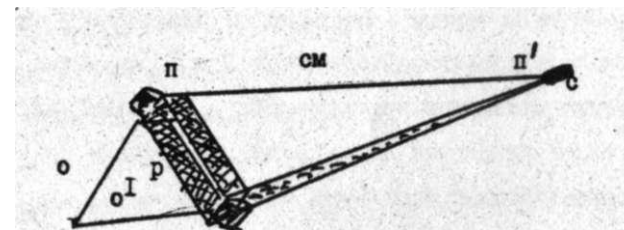


Рис. 2. Нейстонная сеть (Зайцев, 1964).

Рама сети (р) сделана из биметаллической проволоки (стальная сердцевина, медное покрытие), диаметром 4 мм или из бронзовой диаметром 6 мм. Сетной мешок (см) прикреплен основанием к раме, а вершиной к пластмассовому стаканчику (с) посредством поясков из полотна шириной 10 см (п, п*). Нейстонная сеть имеет только передние оттяжки - поводки (о, о') из лески толщиной 1 мм и прочностью на разрыв не менее 15 кг. Отрезок лески длиной 230 см привязывают к середине коротких сторон рамы, а спереди завязывают в петлю. К коротким сторонам рамы крепят пенопластовые поплавки размером 20 x 10 x 4 см.

Для получения количественных проб фитопланктона в нейстали батометр Нансена неприменим, так как он срабатывает на глубине

50 - 70 см от водной поверхности. Для получения количественных проб в нейстали используется "приповерхностный" батометр (Нестерова, 1969)*

"Приповерхностный" батометр состоит из **СТЕКЛЯННОГО** широкогорлого сосуда емкостью 500 см³ и высотой 15 см; резиновой пробки, в которую вмонтированы трубки - стеклянная, диаметром 3 мм, длиной 15 см, и узкая дренажная длиной до 1 м. "Приповерхностный" батометр утяжеляют свинцовым грузилом. Сосуд оплетен капроновым шнуром, к которому прикреплен линв. Перед погружением дренажную трубку перекрывали зажимом Мора (рис. 3).

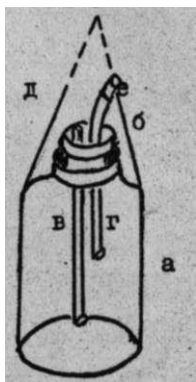


Рис. 3. Приповерхностный батометр

а - стеклянный сосуд, б - резиновая пробка,
вг - трубки, д - линв, е - зажим Мора.

Для получения пробы в нейстали "приповерхностный" батометр погружали в воду так, чтобы верхняя плоскость пробки находилась в **2 - 3** см от поверхности воды. Затем зажим расслабляли и вода

пр стекляннной трубке проникала в сосуд, вытесняя воздух через дренажную трубку.

Отбор проб с пленки поверхностного натяжения моря. С пленки поверхностного натяжения отбирают только количественные пробы фитопланктона.

Отбор количественных проб с поверхностной пленки моря толщиной до 200 мкм осуществляется при помощи квадратной металлической или нейлоновой сетки (величина ячеек 2 x 2 мм), натянутой на металлический или деревянный каркас. Следует помнить, что металлическая сетка и каркас должны быть из нержавеющей стали. Собранную сеткой воду осторожно сливают в таз или кювету (Нестерова, 1980).

Качественные и количественные пробы фитопланктона обязательно снабжают этикетками, на которых указывается номер рейса, название судна, дата отбора проб, глубина и время. Пробы желательно собирать в светлое время суток, так как в ночное время начинается активная миграция зоопланктона из глубинных слоев моря к поверхности, а это может отразиться на количественных показателях фитопланктона.

ФИКСАЦИЯ ПРОБ ФИТОПЛАНКТОНА

Качественные и количественные пробы фитопланктона могут сохраняться в течении длительного времени. С этой целью применяются различные фиксаторы, каждый из которых обладает своими достоинствами и недостатками. Подробная характеристика разнообразных фиксаторов фитопланктона дана В.Д.Федоровым (1979 б).

Для фиксации проб фитопланктона чаще всего применяют 40% формалин и раствор Люголя.

Перед употреблением формалин, имеющий кислую реакцию, нейтрализуют. Это необходимо для того, чтобы по возможности сохранить как коллиформиды и некоторые виды диатомовых, которые при длительном хранении проб растворяются в кислой среде. Формалин нейтрализуют бурой, содой, зубным порошком. Последний не только нейтрализует формалин, но также очищает его от взвеси. После добавления зубного порошка формалин в течение нескольких дней отстаивают, а затем осторожно, чтобы не повредить осадок, сливают или фильтруют через бумажный фильтр*

В качественную пробу формалин добавляют до тех пор, пока не появится слабый запах, а в 0,5 литровую количественную пробу добавляют 20-30 мл.

Фиксированные формалином пробы сохраняются: без особых изменений до 3 лет. Однако следует учитывать, что группа мелких жгутиковых и некоторые кокколитофориды сохраняются в фиксированных формалином пробах только 2-3 недели, а голые перидинен разрушаются почти сразу же после фиксации.

Раствор люголя более мягкий, чем формалин фиксатор. В пробы раствор люголя добавляют до появления бледножелтого цвета. Фиксированные раствором Люголя пробы могут сохраняться без видимых изменений до 3-х месяцев. В таких пробах сохраняются мелкие жгутиковые и реснитчатые формы, а обработка проб облегчается, благодаря контрастированию иодом.

Все фиксированные пробы должны храниться в затемненном месте при сравнительно низкой температуре.

ОБРАБОТКА ПРОБ ФИТОПЛАНКТОНА

При исследованиях фитопланктона прежде всего необходимо добиться правильного освещения объекта. Правильное освещение препарата достигается при установке света по методу Келлера, подробно изложенного Н.А.Наумовым и В.Е.Козловым (1954). Напомним этот метод. 1) Микроскоп и осветитель устанавливают на соединительную пластинку; 2) осветитель через трансформатор включают в сеть и направляют пучок света на середину плоского зеркала микроскопа; 3) диафрагму осветителя закрывают и патрон с лампочкой передвигают в корпусе осветителя так, чтобы получилось резкое изображение нити накала на листке белой бумаги, лежащей на зеркале микроскопа. Затем бумагу удаляют и поворотом зеркала пучок света направляют в тубус микроскопа; 4) на столик микроскопа помещают препарат; 5) поворотом макро- и микро-винта препарат устанавливают на фокус; 6) диафрагму конденсора микроскопа суживают; 7) регулируя конденсор микроскопа достигают того, чтобы край диафрагмы осветителя был резко виден в поле зрения микроскопа; 8) поворотом зеркала изображение открытого отверстия диафрагмы приводят в центр поля зрения; 9) диафрагму осветителя раскрывают так, чтобы осветилось только поле зрения.

Из отечественных осветителей к микроскопам (типа Биолам, МБИ-3) пригодны ОИ-19 и ОИ-24.

Знакомство с увлекательным и разнообразным миром фитопланктона полезно начинать с обработки свежих, нефиксированных проб. Для этой цели лучше всего качественные пробы, в которых в значительных количествах могут находиться крупные виды фитопланктона. Их легче, чем мелкие, рассмотреть, описать, зарисовать. На начальных этапах знакомства с фитопланктоном необходимо зарисовывать встречающиеся виды и с помощью окуляр-микрометра измерять и записывать длину, ширину и толщину клеток. Затем можно приступить к установлению систематической принадлежности найденных видов. Начинать лучше с массовых, наиболее часто встречающихся видов, которые составляют основу численности и биомассы фитопланктона.

Если нет условий для обработки живого материала, обрабатывают фиксированные пробы, но при этом следует учитывать, что в процессе хранения проб растительные клетки теряют свой цвет, что может затруднить их определение (особенно синезеленых). При обработке качественных проб используют метиленовую синьку. Водоросли, окрашенные этим красителем, становятся более контрастными, что облегчает их определение. Для того, чтобы лучше рассмотреть студенистые шары, в которые погружены некоторые водоросли (например **chaetoceros aocialie**), используют черную тушь.

Количественные пробы фитопланктона, собранные в 0,5 - 3 литровые емкости, перед обработкой сгущают.

Осадочный метод широко применяют в практике фитопланктон-

ных исследований. Суть его состоит в следующем: фиксированные пробы морской воды объемом 0,5 - 1 литр в зависимости от района исследований (в эвтрофных районах можно брать 0,5 л., в олиготрофных - 1 л и более) отстаивают в течении 2-3 недель в неподвижном состоянии в затемненном месте. Затем пробы сливают по каплям из среднего слоя воды, используя для этой цели тонкий стеклянный сифон с загнутым на 2 см вверх концом. На наружный конец сифона надевают резиновую трубку необходимой длины, которая также заканчивается стеклянной. Для начала отсифонивания пробы воду через стеклянную трубку подтягивают резиновой грушей и затем, когда вода начинает стекать резиновую трубку перекрывают зажимом Мора и регулируют скорость отсифонивания. На отсифонивание пробы объемом 1 л. тратится около часа. Во время отсифонивания проб нужно все время следить за тем, чтобы не повредить верхний слой воды, в котором могут скапливаться синезеленые водоросли. Воде дают стекать до тех пор, пока уровень воды не окажется в сантиметре над концом сифона. В этот момент сифон либо плотно перекрывают зажимом Мора, либо осторожно вынимают. Обычно пробу концентрируют до объема 30-80 мл. Далее при необходимости можно провести повторное отстаивание проб, но уже в цилиндрах объемом 100 мл с последующим сливом по каплям. Этот метод требует значительной затраты времени. Чаще всего для повторного сгущения проб используют центрифугирование на электрической центрифуге сое скоростью 3000 оборотов/мин. в течение 5 мин. Каждая проба помещается в отдельный центрифужный стаканчик, а после каждого центрифугирования вода над осад-

ком осторожно удаляется резиновое грушей, в которую вставлена стеклянная трубка с надетым на ее конец мельничным ситом. Затем вновь доливают оставшуюся воду и в соответствующей пробе. Окончательный объем пробы составляет от 1 до 5 мл.

Метод обратной фильтрации. В последние годы в практике фитопланктонных исследований стал применяться метод обратной фильтрации (Суханова, 1983). Используя этот метод, можно сразу получить суспензию, готовую к дальнейшей обработке пробы.

Прибор для обратной фильтрации фитопланктонных проб, описанный И.Н. Сухановой (1983), изготавливается из оргстекла, откидные болты, шайбы, гайки - из латуни. Прибор состоит из двух основных частей: корпуса и крышки. Корпус имеет нижнюю часть камеры и крестовину - подставку, на которой крепится весь прибор. В боковых стенках крышки и нижней камеры ввернуты штуцеры, через которые вода втекает и вытекает из камеры.

Суть этого метода состоит в следующей. Вода из бутылки или кислотницы с нижним тубусом, отмаркированная до начала работ соответственно литрам, через тонкий резиновый шланг, надетый на штуцер подается в нижнюю часть воронки. Для фильтрации между верхней и нижней частями воронки кладется лавсановый фильтр, предварительно замоченный в воде, с диаметром пор 1,0 мкм или 1,5 мкм. На штуцер верхней части воронки также надевают резиновый шланг, через который стекает профильтрованная вода. По окончании фильтрации фильтрат из нижней части воронки выливают.

Этот метод имеет ряд преимуществ перед осадочным. Используя

метод обратной фильтрации можно профильтровывать значительный объем воды, а малый объем получаемой пробы дает возможность быстро обработать, собранный материал. Кроме того малый объем получаемой пробы удобен при транспортировке и хранении проб.

Обработка количественных проб. При интенсивном развитии фитопланктона обрабатывают несугущенную пробу фитопланктона, т.е. клетки водорослей просчитывают в капле морской воды. Если пробы сгущены, то перед началом счета нужно точно измерить объем осадочной пробы, который необходим для дальнейших расчетов численности клеток в 1 л . Для этого пробу переливают в мерный цилиндр или стакан и измеряют объем. Затем пробу тщательно и аккуратно перемешивают и шпатель-пипеткой объемом 0,1 мл или микропипеткой часть пробы переносят в счетную камеру. Для счета проб используют камеру Ножотта, камеру Горяева или предметное стекло с продольной штриховкой (расстояние между штрихами не более 1-1,5 мм) и просматривают челночным способом. Помещенная на предметное стекло или в камеру капля пробы покрывается покровным стеклом размером 24x24 мм или 18x18 мм. Подготовка предметных и покровных стекол к работе подробно описана Н.В. Морозовой* Водяницкой (1954). Подсчет клеток фитопланктона ведут при увеличении микроскопа $\times 10$, 7×20 , или 10×10 , 10×20 . В ряде случаев при определении систематического состава **фитопланктона** используют иммерсионную систему. Данные счета **фитопланктона** записываются в специальный журнал обработки проб.

Крупные формы фитопланктона такие как ***Ceratium***, ***Coscinodiscus***, ***Rhizosolenia***

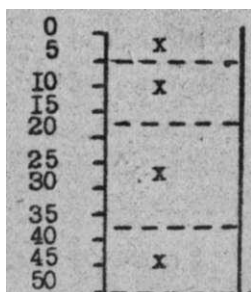
просчитываются под **бинокулярск ВС**

всем объеме концентрата в камере Богорова.

Все показатели численности клеток фитопланктона, полученные на основании прямого счета проб, переводя? ва Г л. воды. Для этого используют способ расчета, предложенный Н.В.Морозовой - Водяницкой (1954). Автор приводит следующий пример пересчета: взято морской воды 1550 мл, проба отцежена до 25 мл, количество клеток в 0,1 см при сгущении до 25 мл оказалось 50. При определении числа клеток того или иного вида в л получаем

$$\text{число клеток в л} = \frac{50 \times 10 \times 25 \times 1000}{1550} = 8064.5$$

После расчета численности клеток в литре по горизонтам необходимо установить их среднюю численность в столбе воды. Метод расчета численности клеток в стобе воды также предложен Н.В.Морозовой - Водяницкой (1954)



5 x 5 млн • 25 млн
 12,5 x 10 млн = 125 млн
 20 x 15 = 300 млн
 12,5 x 10 = 125 млн

Всего под 1 м* = 575 млн

Автор считает, что численность фитопланктона на глубине 0 м-5000 клеток в литре характеризует только верхний 5-метровый слой от 0 до 5 м, принимая, что населенность слоя" от 5 до Юм характеризуется уже показателем численности, установленной для

горизонта 10 м. Численность клеток, которая установлена на глубине 10 м, характеризует слой от 5 до 17,5 м, т.е. до половины слоя 10 - 25м (всего 12,5 м); 15000 клеток в литре, обнаруженные на глубине 25 м, относятся к 20-метровому слою с 17,5 до 37,5 м глубины и, наконец, 10000 клеток в литре, обнаруженных на глубине 50 м, относятся к 12,5 метровому слою с 37,5 до 50 м. Следовательно, условно принято, что каждый показатель численности, полученный на основании количественного учета фитопланктона в определенном горизонте, характеризует населенность в половине слоя от данного горизонта до ближайшего вышележащего обследованного горизонта и в половине слоя от данного горизонта до нижележащего обследованного горизонта.

Суммируя все полученные величины, получаем численность фитопланктона под 1 м*, в данном примере 575 млн клеток под м^, разделив полученную величину на глубину водного столба (в данном примере 50 м) получаем численность фитопланктона в м^.

Определение биомассы фитопланктона. Наряду с численностью биомасса фитопланктона относится к важнейшей характеристики структуры сообщества. Для вычисления биомассы существует несколько методов, подробно описанных И.А.Киселевым (1969), из которых в практике фитопланктонных исследований почти постоянно используется наиболее точный, хотя и очень трудоемкий расчетный метод определения "истинного объема" клеток. Суть этого метода состоит в определении среднего объема клеток каждого вида водорослей. При этом клетка приравнивается к соответствующей фигуре

Принимая удельный вес клетки равным единице, устанавливают средний вес.

Многообразие форм клеток водорослей можно свести к нескольким группам. Преобладающее их число имеет цилиндрическую, коническую, эллиптическую, шаровидную или полусферическую формы. Напомним формулы для расчета объемов:

Цилиндр прямой круговой	$V = \pi R^2 H$
Конус прямой круговой	$V = 1/3 \pi R^2 H$
Эллипсоид двухосный	$V = 4/3 \pi R^2 z$
Шар	$V = 4/3 \pi R^3$
Половина шара	$V = 2/3 \pi R^3$

При расчете клеточных объемов удобно пользоваться таблицей некоторых размерных параметров клеток водорослей (Сеничкина, 1978), в которой для измеренных диаметров клеток рассчитаны величины πR^2 мкм², V мкм³, S' мкм².

Суммарную биомассу фитопланктона получают путем суммирования биомасс отдельных видов. Расчет биомассы фитопланктона в М³ или под м² производят аналогично численности.

В литературе имеются сведения об объемах клеток фитопланктона (Морозова-Водяницкая, 1954; Макарова, Пичкилы, 1970; Кольцова, 1970; Нестерова, Василенко, 1986). Однако размеры клеток каждого вида могут меняться в зависимости от сезона года, условий и т.д. Поэтому желательно при обработке проб фитопланктона измерять клетки, а затем рассчитывать объемы массовых видов фитопланктона, которые составляют основу его биомассы.

Таблица

Рассчитанные объемы (мкм³) наиболее многочисленных видов фитопланктона западной части Черного моря

Bacillariophyta

Melosira granulata	1400
M. granulata var. angustissima	800
Skeletonema costatum	300
Stephanodiscus hantzschii	2000
Thalassiosira parva + Th. subsalina	1900
Cyclotella caspia	400
Leptocylindrus danicus	1800
Rhizosolenia alata	16000
Rh. calcar avis	180000
Rh. fragilissima	12000
Chaetoceros compressus	7000
Ch. curvisetus	2500
Ch. insignis	5300
Ch. lorenzianus	1600
Ch. Mulleri	300
Ch. similis f. solitarius	1600
Ch. socialis	200
Ch. subtilis	300
Ditylum brightwellii	80000
Cerataulina bergonii	18000
Synedra berroiensis	200
Striatella delicatula	600
Licmophora ehrenbergii	4600
Nitzschia closterium	100
N. seriata	900
N. tenuirostris	200

Pyrrophyta

Cryptomonadineae

Hylea fusiforme	300
-----------------	-----

продолжение таблицы

Dinophlagellata

<i>Exuviaella compressa</i>	20000
<i>Ex. cordata</i>	4000
<i>Ex. marina</i>	37000
<i>Prorocentrum micans</i>	22000
<i>Pr. obtusum</i>	15000
<i>Phalacroma rotundatum</i>	28000
<i>Dynophysis acuta</i>	94000
<i>D. baltica</i>	77000
<i>D. sacculus</i>	26000
<i>D. sphaerica</i>	28000
<i>Gymnodinium fusus</i>	50000
<i>G. najadeum</i>	1300
<i>G. neapolitanum</i>	3500
<i>G. rhomboides</i>	900
<i>G. splendens</i>	36000
<i>Gyrodinium adriaticum</i>	23000
<i>G. cornutum</i>	1600
<i>Glenodinium lenticula</i>	13000
<i>Gl. penardii</i>	13000
<i>Peridinium cinctum</i>	57000
<i>P. globulus</i>	100000
<i>P. granii</i>	170000
<i>P. granii f. mite</i>	70000
<i>P. knipowitschii</i>	180000
<i>P. longispinum</i>	2000
<i>P. trochoideum</i>	5000
<i>P. triquetrum</i>	9000
<i>Goniaulax diegensis</i>	37000
<i>G. digitale</i>	20000
<i>G. minima</i>	3000
<i>G. spinifera</i>	17000
<i>Protoceratium reticulatum</i>	16000

продолжение таблицы

Dinophlagellata

<i>Ceratium furca</i>	90000
<i>C. fusus</i>	98000
<i>C. tripos</i>	640000
Pterospermales	
<i>Pterosperma cristatum</i>	1800
<i>Pt. jorgensii</i>	700
Silicoflagellatae	
<i>Distephanus speculum</i>	36000
Euglenophyta	
<i>Eutreptia lanowii</i>	1900
Protococcineae	
<i>Ankistrodesmus acicularis</i>	200
<i>A. longissimus</i>	400
<i>Dictiosphaerium pulchellum</i>	180
<i>Crucigenia tetrapedia</i>	100
<i>Actinastrum hantzschii</i>	1300
<i>Scenedesmus acuminatus</i>	300
<i>Sc. quadricauda</i>	600
<i>Micractinium pusillum</i>	500
Cyanophyta	
<i>Gleocapsa limnetica</i>	500
<i>Gl. minima</i>	4
<i>Gl. minor</i>	100
<i>Gl. minor f. minor</i>	200
<i>Merismopedia minima</i>	1
<i>M. punctata</i>	10

Использование люминесцентной микроскопии для изучения фитопланктона расширило возможности его исследования.

Определение живых и мертвых клеток фитопланктона методом люминесцентного анализа. Для выяснения соотношения живых, отмирающих и мертвых клеток фитопланктона используют метод люминесцентного анализа (Горюнова, 1951). Физическая сущность люминесценции, подбор светофильтров и принцип работы с люминесцентным микроскопом описаны Ю.Н.Зубжицким (1964).

Метод люминесцентного микроскопирования, который характеризуется малой затратой времени на проведение исследований и отсутствием отрицательного воздействия на изучаемые объекты, основан на способности липоидно-растворимой фракции флорофилла люминесцировать. Суть этого метода состоит в следующем: хлоропласта живых клеток фитопланктона под действием падающего на них синего, синефиолетового или ультрафиолетового света люминесцируют разными цветами в зависимости от физиологического состояния клеток» При этом живые клетки светятся ярко-красным светом, отмирающие - розово-красным или бордовым, мертвые - зеленым. Светится лишь хлоропласт, а очертания клеток едва улавливаются на темном фоне поля зрения микроскопа.

Для изучения физиологического состояния водорослей каплю пробы объемом 1 см³ помещают на предметное стекло, накрывают покровным и исследуют в люминесцентном микроскопе при увеличении 8х, 20х, 40х. Изучение физиологического состояния клеток проводят на живом нефиксированном материале.

Изучение пикопланктона. Исследования последних лет показали большое значение в образовании общего количества фитопланктона мелких, размером менее 2 мкм клеток - пикопланктона (Заика, Янин, 1984).

Для изучения пикопланктона 20 мл свежей морской воды фильтруют с помощью шприца через фильтры "Миллипор" диаметром 10 мм. Фильтрация пробы идет последовательно через фильтры с размерами пор 3,0 и 0,2 мкм. Затем фильтр с осадком помещают на предметное стекло с каплей воды и исследуют препарат с использованием объективов 70х, 90х. Счет клеток пикопланктона ведут по до случайно выбранным полям зрения.

Для изучения люминесцирующего пикопланктона применяется макроспектрофлуориметр МФ - I.

СПИСОК РЕКОМЕНДУЕМЫХ ОПРЕДЕЛИТЕЛЕЙ.

1. Голлербах М.М. Определитель пресноводных водорослей. - М.: Советская наука, 1953.
2. Киселев Й.А. Панцирные жгутиконосцы (**Dinoflagellata**) морей и пресных вод. Определитель по фауне СССР. № 33 - 14; Д.: Изд-во АН СССР, 1950.
3. Косинская Е.К. Определитель морских синезеленых водорослей **И.**:Л.: Изд-во АН СССР, 1948.
4. Прошкина-Лавренко А.И. Диатомовые водоросли планктона Черного моря. - М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1955.
5. Прошкина-Лавренко А.И. Диатомовые водоросли планктона Азовского моря. - М.: Л.: Изд-во АН СССР, 1963.
6. Прошкина-Лавренко А.И., Макарова И.В. Водоросли планктона Каспийского моря. - Л.: Наука, 1968.

ЛИТЕРАТУРА

1. Горюнова С.В. Распознавание живых и мертвых клеток водорослей методом люминесцентной микроскопии. - Вестник АН СССР, 1951, т*:б, о. •
2. Заика В.Е., Янин В.А. Люминесцирующая пиковзвесь (0,2 - 2,00 мкм) в олиготрофных водах Средиземного и Черного морей. - ДАН СССР, 1984, т. 275, » 6, с. 1514-1516.
3. Зайцев Ю.П. Морская нейстонология. "Наукова думка". К., 1970, 264 с.
4. Зубжицкий Ю.Н. Метод люминесцентной микроскопии. Изд-во "Медицина", Л., 1964,
5. Киселев И.А. Планктон морей и континентальных водоемов, т. I. Изд-во "Наука", Ленинградское отделение, 1969, 439 с.
6. Макарова И.В., Пичкилы Л.О. К некоторым вопросам методики вычисления биомассы фитопланктона. - Ботанический журн., 1970, т. 55, * **10**, с. 1488-1493.
7. Морозова-Водяницкая Н.В. Фитопланктон Черного моря. ч. II. - Труды Севастоп. биол. ст. 1954, т. 8, с. II - 99.
8. Наумов Н.А., Козлов В.Е. Основы ботанической микротехники. Советская наука, **М.**, 1954, 312 с.
9. Нестерова Д.А. К методике сбора фитопланктона в приповерхностном слое моря. - Гидробиол. журн., 1969, т. 5, л 3, с. 87-89.
- 10» Нестерова Д.А. Фитонейстон западной части Черного моря. - Гидробиол. журн», 1980, т. 16, л 5, с. 26-31.

11.* Нестерова Д.А., Василенко Л.С. Размерная характеристика массовых видов фитопланктона западной части Черного моря. - Гидробиол. журн., 1988, т. 22, № 3, с. 16-21.

12. Сеничкина Л.Г. К методике вычисления объемов клеток планктонных водорослей. - Гидробиол. журн., 1978, т. 14, **Я** 5, с. 102-105.

13. Суханова И.Н. Концентрирование фитопланктона в пробе. В кн.: Современные методы количественной оценки распределения морского планктона. М. "Наука", 1983, с. 97-105.

14. Федоров В.Д. а. Методы изучения морского фитопланктона. В кн.: Руководство по методам биологического анализа морской воды и донных отложений. Гидрометеиздат, Л., 1980, с. 80-99.

15. Федоров В.Д. б. Методы изучения морского фитопланктона. **ИЕД-ЕО** Московск. ун-та, 1979, 165 с.