

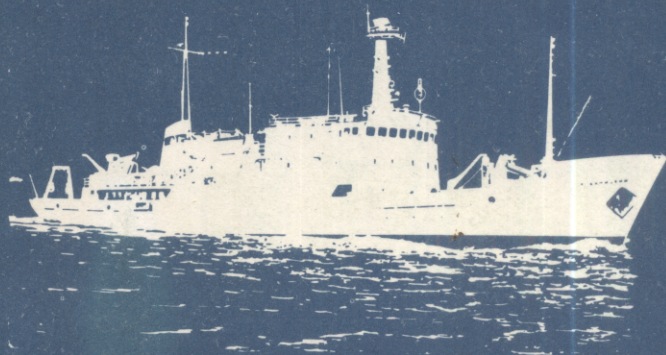
579:574.582

3-17

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
НАУЧНЫЙ ЦЕНТР БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ
ИНСТИТУТ ОБЩЕЙ ГЕНЕТИКИ им. Н. И. ВАВИЛОВА

В. Е. ЗАЙКА, В. А. ШЕВЧЕНКО, К. В. БУЛАТОВ

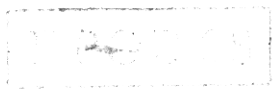
ЭКОЛОГИЯ МОРСКОГО
ФОТОТРОФНОГО
ПИКОПЛАНКТОНА



МОСКВА · 1989

ПРОВ 2010

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
НАУЧНЫЙ ЦЕНТР БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ
ИНСТИТУТ ОБЩЕЙ ГЕНЕТИКИ им. Н. И. ВАВИЛОВА



В. Е. ЗАЙКА, В. А. ШЕВЧЕНКО, К. В. БУЛАТОВ

**ЭКОЛОГИЯ МОРСКОГО
ФОТОТРОФНОГО
ПИКОПЛАНКТОНА**

Институт биологии
морских организмов УССР
БИБЛИОТЕКА
35679

МОСКВА · 1989

Заика В.Е., Шевченко В.А., Булатов К.В.

ЭКОЛОГИЯ МОРСКОГО ФОТОТРОФНОГО ПИКОПЛАНКТОНА

Аннотация

Первая в отечественной литературе сводка данных о морфологическом разнообразии, вертикальном распределении и обилии прокариотных и эукариотных хлорофиллсодержащих организмов размерами менее 2 мкм в водах Мирового океана, в связи с факторами среды. Основная часть материалов получена авторами в ходе экспедиционных исследований в Атлантическом и Индийском океанах, Средиземном и Черном морях.

Приводятся результаты спектральных, фотометрических и радиоавтографических исследований, данные по размножению пикопланктона. Обсуждаются вопросы методик исследования. Оценивается вклад пикопланктона в биомассу и первичную продукцию пелагических экосистем.

ВВЕДЕНИЕ

Морская планктонология за долгую историю своего развития накопила огромный объем информации о составе и распределении организмов в пелагиали Мирового океана. Давно обнаружена и стала тривиальной истиной невозможность создания универсальных орудий сбора и методов обработки, пригодных для всего обширнейшего спектра планктеров. Селективность орудий лова зависит от того, как их конструкция и процедура использования адаптированы прежде всего к размерам, подвижности и обилию тех или иных организмов. Но подвижность и обилие, в свою очередь, обычно коррелируют с размерами, которые поэтому приобретают значение важного сравнительного признака для планктеров самой разной природы. Эколого-физиологические исследования показали, что от размеров организмов в существенной мере зависят скорости их питания, обмена, роста и других процессов на индивидуальном и популяционном уровнях, а также принадлежность популяции к тому или иному функциональному звену сообществ. Размеры организмов и их обилие определяют, в конечном счете, количественную роль вида или группы в трансформации вещества и энергии в экосистеме.

Уже ранние исследования планктона охватили весь доступный спектр организмов. Создавалась и терминология для обозначения разных размерных групп. Если таксономический, трофический и другие подобные подходы к классификации планктона основываются на качественных различиях видов, учитывают природное единство групп или наличие естественных границ между ними, то разбиение по размерам всегда довольно искусственное, что и вызывает критику (см. Киселев, 1969). Тем не менее оно необходимо и не должно противопоставляться другим принципам классификации.

Организмы меньше 5 мкм более 60 лет именуют ультрапланкто-

ном (Киселев, 1969). В его составе численно преобладает и наиболее широко изучается бактериопланктон. Специалисты по зоо- и фитопланктону уделяли ультрапланктону мало внимания, не выявив в этой группе с помощью классических методов экологически важных представителей эукариот. Изучение морфологии столь мелких организмов с помощью световой микроскопии также затруднено, к тому же они обычно теряются при фиксации и окраске, относительно плохо развиваются в культурах. В итоге и таксономия ультрапланктонных эукариот не могла получить надлежащего развития. Среди прокариот не считались распространенными хлорофиллсодержащие, фототрофные организмы бактериальных размеров. Соответственно и методы определения растительных пигментов планктона, первичной продукции адаптировались к более крупным клеткам. Следует подчеркнуть, что именно в методической области отнесение организмов к той или иной размерной группе играет очень важную роль. Например, какое бы определение не давали растворенному органическому веществу, практически в это звено пелагических экосистем включают все, что проходит через фильтр с ячейей 0,45-1 мкм (Романкевич, 1977).

К 80-м годам нашего века мельчайшие представители ультрапланктона, в первую очередь - фотосинтезирующие формы, привлекли большое внимание. Одной из основных причин этого можно считать вскрытое несовершенство методов определения первичной продукции, особенно в олиготрофных водах Мирового океана. Попытки расчета баланса органического вещества в трофических сетях пелагиали показали, что первичной продукции в отдельных районах недостаточно для покрытия общих расходов органики. Если для локальных зон приемлемым объяснением дисбаланса казалось несоответствие максимумов фотосинтетической продукции и деструкции во времени и пространстве, то дальнейшее накопление данных по большому числу акваторий привело к иным выводам. Дисбаланс часто является кажущимся и связан с недооценкой первичной продукции. Среди выявленных разнообразных методических причин неверного определения продукции упомянем недоучет фотосинтеза мельчайших фототрофных организмов и пренебрежение трофическими взаимодействиями в экспериментальных склянках при изучении продукции. Последнее опять-таки связано с мельчайшими организмами, как фото-, так и гетеротрофными.

Указанная потребность в дополнительных исследованиях ультрапланктона оказалась обеспеченной теми методическими возможностями, которые дают электронная и эпифлуоресцентная микроскопия. Ранее эпизодически применявшиеся в планктонологии, к этому вре-

мени упомянутые методы показали свою пригодность для количественного учета ультрапланктона, его разделения на фото- и гетеротрофные компоненты.

Возросло число работ по фракционированию мельчайшего планктона фильтрацией с определением вклада отдельных размерных групп в общее содержание органического вещества, АТФ, растительных пигментов, в общий фотосинтез. Обнаружилось, что вклад мельчайших фракций часто весьма значителен. При дробном фракционировании ультрапланктона возникла необходимость дробления и самого понятия ультрапланктон.

В этих условиях своевременным оказался пересмотр прежних классификаций, приведший к выделению таких размерных классов, как нано (2–20 мкм), пико (0,2–2 мкм) и фемто (0,02–2 мкм) (Sieburth e.a., 1978). Новая система размеров организмов была быстро подхвачена и рекомендована микробиологам (Мишустина, Батурина, 1984). Хотя новые группы имеют столь же искусственные границы, какими страдали прежние классификации, дополнительная детализация позволила более точно именовать наиболее актуальные для экологов группы планктона.

Пикопланктон в значительной мере упускался из виду при исследованиях первичной продукции. Состав и распределение фототрофных представителей пикопланктона и примыкающей по размерам части нанопланктона планктонологи сочли подлежащими скорейшему изучению, чему способствовал целый ряд новых фактов. Выявилась распространенность фототрофных коккоидных цианобактерий соответствующих пикопланктону размеров и возможность их учета с помощью эпифлуоресцентной, а также электронной микроскопии (Waterbury e.a., 1979; Johnson, Sieburth, 1979), высокое обилие в разных типах вод эукариотных фототрофов бактериальных размеров (Johnson, Sieburth, 1982), высокая фотосинтетическая активность фракции < 1 мкм (Li, 1982; Bienfang, Takahashi, 1983 и др.).

Можно назвать много более ранних работ, результаты которых в той или иной мере вели к выявлению роли автотрофных представителей пикопланктона, либо указывали на пригодность для их исследования электронной и флуоресцентной микроскопии. Для примера сошлемся на данные Т.М.Кондратьевой (1975), по которым в поверхностных водах Средиземного моря до 60% общей первичной продукции приходилось на долю очень мелких синезеленых водорослей, причем ультрапланктон преобладал по темпам размножения над всеми другими группами фитопланктона. И.А.Мельников (1974) показал эффективность электронной микроскопии в изучении мель-

чайших фракций взвеси. Но возникшая на рубеже 80-х годов вспышка интереса к фототрофному пикопланктону, при ее обусловленности всеми упомянутыми обстоятельствами, непосредственным толчком имела регистрацию высокого обилия цианобактерий и пиководорослей в морской эпипелагиали с помощью флуоресцентной и электронной микроскопии. Появилась и первая сводка зарубежных данных по пикофитопланктону (Platt, Li, 1986).

В настоящей работе центральными вопросами для обсуждения выбраны состав, распределение и обилие фототрофного пикопланктона (пикофитопланктона), поскольку именно по этим вопросам авторы располагают наибольшим массивом собственных данных. Значительная часть этих материалов публикуется впервые, поэтому изложены они развернуто, в то время как литературные сведения даются более сжато (детали можно найти в первоисточниках). На характере изложения отразилась и позиция авторов: ввиду методического несовершенства многих работ по первичной продукции, соотношение ее общих величин и продукции пикопланктона обсуждается с определенной осторожностью. Большая литература по фракционированию первичной продукции, растительных пигментов, АТФ и других "немикроскопических" показателей имеет прямое отношение к оценке роли пикопланктона, но требует критического анализа с учетом конкретных методов, использованных фильтров и процедур. Не ставилась задача сколько-нибудь полного обзора или анализа этих данных, поскольку авторы в своей работе основывались на эпифлуоресцентной микроскопии, на прямом счете клеток и не считают себя вправе углубляться в другие направления исследований пикопланктона.

Изучение этой группы только разворачивается, поэтому наряду с относительно надежными заключениями большое место занимают в работе предварительные данные и результаты поисковых работ, полезные для дальнейшего выбора и уточнения методов, ведущих к углубленному выяснению роли фототрофного пикопланктона.

Собственные материалы по пикопланктону получены в I5, I6, I9 и 20-м рейсах НИС "Профессор Водяницкий" в Черном и Средиземном морях, Индийском и Атлантическом океанах (рис. I-5). Помимо авторов настоящей работы, в микроскопических исследованиях фототрофного пикопланктона принимали участие В.А.Яшин и В.И.Кулаков (I5-й рейс), И.И.Малиночка (I9-20-й рейсы). В проведении опытов и наблюдений также участвовали В.Б.Владимиров, Н.Н.Ханайченко, В.Б.Владимирцев (20-й рейс). Выражаем глубокую признательность названным лицам. Во всех рейсах изучение пикопланктона проводилось в комплексе с другими исследованиями, в частности, опреде-

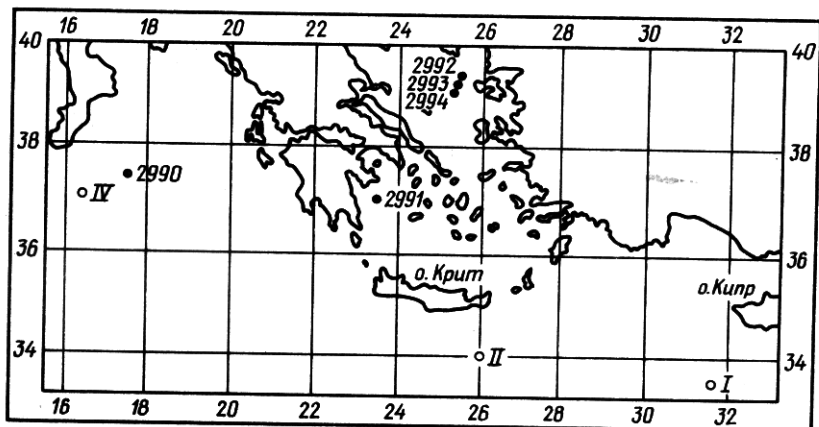


Рис.1. Районы работ в восточной части Средиземного моря. Светлые кружки - полигоны 15-го рейса НИС "Профессор Водяницкий" (июнь-июль 1983 г.), темные - станции 20-го рейса (январь 1986 г.).

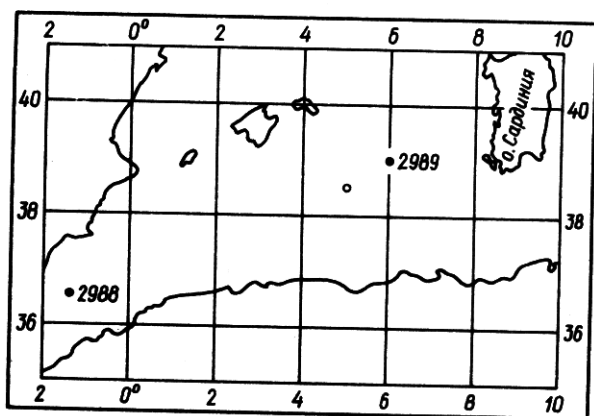


Рис.2. Районы работ в западной части Средиземного моря. Обозначения - как на рис.1.

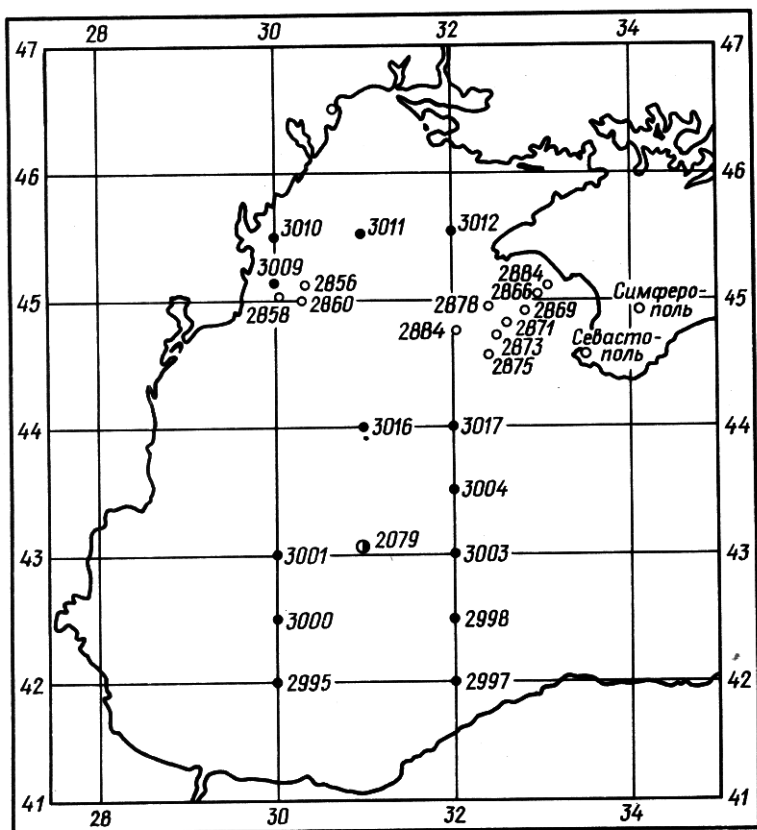


Рис. 3. Районы работ в Черном море. Ст. 2979 - 15-й рейс (август, 1983 г.), светлые кружки - 19-й рейс (август, 1985 г.), темные - 20-й рейс (январь, 1986 г.).

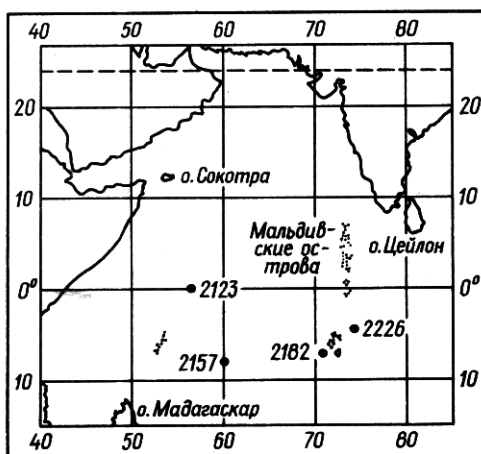


Рис. 4. Районы работ в Индийском океане. Февраль-апрель 1984 г., 16-й рейс. Ст. 2123 - у горы Экватор, ст. 2157 - у б. Сянде-Малья, ст. 2182 и 2226 - архипелага Чагос.

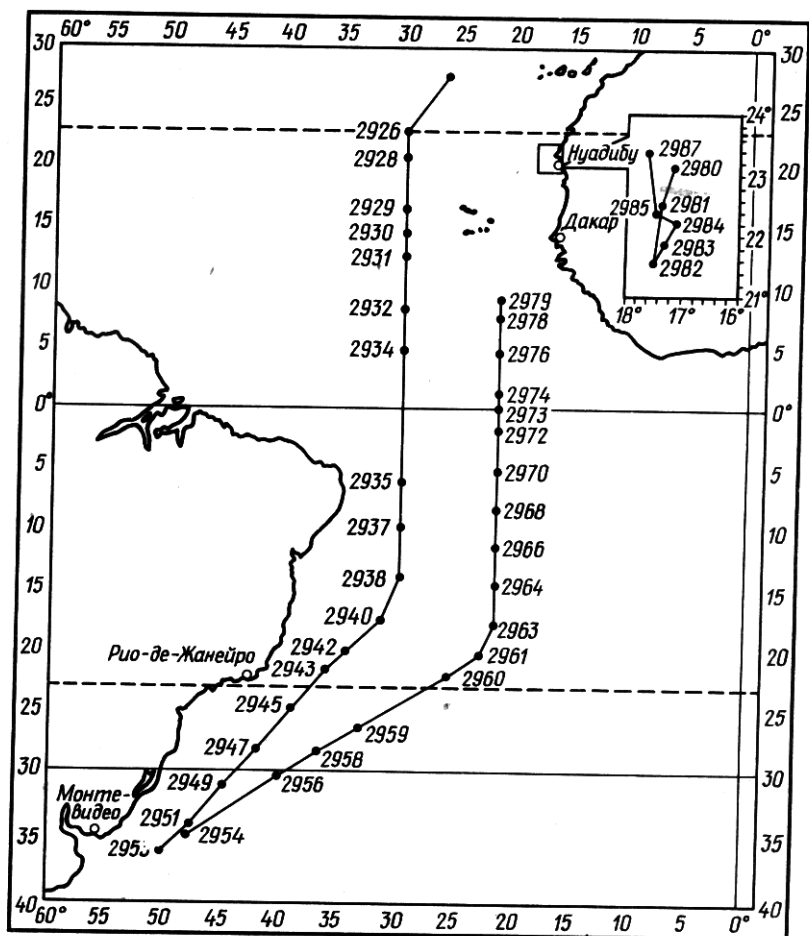


Рис. 5. Районы работ в Атлантическом океане. Ноябрь-декабрь 1985 г., 20-й рейс. I, II - основные разрезы, на врезке - станции у м. Кап-Блан.

лением (по размерным фракциям) содержания растительных пигментов, АТФ, потребления С-14 в ходе фотосинтеза. Значение этих материалов, а также данных по бактерио-, фито-, микрзоопланктону и фоновых гидрохимических сведений для анализа пикопланктона очевидно. Не перечисляя здесь всех участников рейсов, авторы благодарны им за предоставление необходимых данных.

ГЛАВА I

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ПИКОПЛАНКТОНА

I.1. Пикопланктон и пикофракция взвеси

Обсудим сначала методологические вопросы, возникающие при исследовании пикопланктона. Поскольку по определению это планктонные организмы 0,2–2 мкм ("шириной"), то их учет сопряжен с определением размеров, а сбор проб – с применением методов, не упускающих частицы указанного размерного диапазона.

Для получения проб пикопланктона в "чистом виде" заманчиво использовать последовательную фильтрацию воды через фильтры с порами 2 и 0,2 мкм, поскольку на втором фильтре окажется искомая размерная фракция. Именно этот метод и практикуется сейчас наиболее широко. Однако следует ясно представлять себе, что описанный метод дает искаженное представление о составе пикопланктона, причем, степень искажения зависит как от конкретных материалов, оборудования и приемов фильтрации, так и от методов обработки полученных проб. Дело в том, что фильтры из разных материалов, разной технологии изготовления, при одинаковом номинальном размере пор (пропускной способности), фактически сепарируют частицы по разному. Результаты фильтрации варьируют также в зависимости от засоренности фильтра (при неоднократном его использовании), обилия взвеси в воде, диаметра рабочей поверхности, используемого давления или вакуума. В итоге фильтр либо задерживает частицы, которые мельче номинального размера пор, либо пропускает более крупные частицы. Оба эти эффекта могут наблюдаться и одновременно, что связано также с формой частиц, их твердостью, склонностью к образованию агрегатов. Живые организмы могут также разрушаться при фильтрации и тогда в фи-

трате, а следовательно, и на фильтре 0,2 мкм окажутся фрагменты клеток, относящихся к более крупной фракции планктона. Если при микроскопировании проб такие фрагменты можно пытаться дифференцировать, то применение немикроскопических методов обработки проб (к таким методам отнесем определение растительных пигментов, органического углерода, АТФ, скоростей физиологических процессов по включению метки, либо выделению тех или иных продуктов обмена) будет сопровождаться дополнительным искажением результатов.

Таким образом, последовательная фильтрация воды через фильтры 2 и 0,2 мкм оставляет на "нижнем" фильтре (0,2 мкм) частицы, которые назовем пикофракцией взвеси (сестона), причем эта пикофракция в общем случае не идентична пикопланктону. Другими словами, пикофракция взвеси (то, что проходит через фильтр 2 и задерживается на фильтре 0,2 мкм) — понятие, непосредственно связанное с определенным выбором фильтров при фракционировании. Пикопланктон (организмы размерами 0,2–2 мкм) не обязательно получать фракционированием пробы, тем более, что он не целиком попадает в пикофракцию. С другой стороны, в последней иногда оказываются некоторые представители нанопланктона, а также фрагменты клеток, разрушившиеся при фильтрации. Судя по имеющимся данным, фильтры 0,2 мкм (нуклеопор, миллипор) хорошо задерживают фототрофный пикопланктон. В этих условиях при микроскопических исследованиях пикопланктона вполне допустимо отказаться от фильтрации через 2 мкм и осаждать взвесь непосредственно на фильтр 0,2 мкм. Так и делают некоторые исследователи, выделяя пикопланктон от более крупных организмов путем измерения клеток под микроскопом.

Для микробиологов индивидуальный учет формы, размеров и других особенностей клеток представляется естественным, наиболее надежным способом изучения группы и не требует специального обоснования. Здесь в деталях объясняются различия между пикофракцией взвеси и пикопланктоном из-за широкого распространения немикроскопических методов обработки проб, когда содержание изучаемого вещества "вслепую" определяют в пикофракции взвеси, но считают полученную величину характеризующей пикопланктон. Практика показывает, что исследователи физиолого-биохимических составляющих планктона иногда плохо представляют изучаемые ими объекты, особенности их распределения по выделенным фракциям.

От немикроскопических методов нельзя отказаться, они дают разностороннюю и крайне важную для экологов информацию. Пока

не существует способов выделить из естественного планктона отдельные виды или узкие группы организмов для соответствующих анализов, и наиболее приемлемым методом остается изучение размерных фракций. Но ввиду описанных различий между пикофракцией взвеси и пикопланктоном весьма желательно параллельное использование немикроскопических и микроскопических методов, т.к. последние при интерпретации результатов анализов дают возможность ввести поправки, с учетом фактического состава взвеси в пикофракции.

Как показывает практика, сравниваемые результаты можно получить лишь при полном копировании процедур фильтрации для микроскопического исследования и биохимических анализов. Именно поэтому при комплексном изучении пикопланктона разными методами микробиологам не следует отказываться от фракционирования проб. При изучении пикопланктона на фильтре 0,2 мкм, если вода не подвергалась предварительной фильтрации через фильтры 2 мкм, микробиолог может учесть весь пикопланктон, но не сможет сообщить коллегам состав пикофракции, которую они использовали для анализов или опытов. Микробиологу необходимо исследовать параллельно фильтры 0,2 и 2 мкм, полученные при тех же условиях фильтрации, которые применяли коллеги для немикроскопических анализов. Изучение двух фильтров увеличивает объем работы, но дает и определенные преимущества. Состав организмов в пикофракции относительно однороден по размерам, поэтому достаточны лишь выборочные измерения, и в целом, учет облегчается. При исследовании "верхнего" фильтра следует учесть лишь клетки (или клеточные агрегаты) представителей пикопланктона, не попавшие в пикофракцию.

При использовании фильтрационных колонок, когда выделяют последовательно несколько размерных фракций, весьма желательно микроскопическое исследование всех фильтров. Как будет показано в последующих разделах, распределение организмов по фракциям зависит не только от характера фильтров, но и от числа последовательных фильтраций.

Описанное несовпадение пикопланктона и пикофракции взвеси не дает оснований для противопоставления этих двух объектов исследования. Немикроскопическое изучение разных размерных фракций взвеси дает ценные результаты и пока не имеет методической альтернативы. В этом фракционирование находит свое веское обоснование. Необходимость микроскопического контроля состава взвеси в изучаемых фракциях представляется доказанной вышеизложенным, но было бы неоправданным приспособлять методы

фракционирования для наиболее полного выделения пикопланктона в "чистом" виде. Впрочем, и такие варианты отбора проб были бы полезными, но не будем забывать об искусственности границ пикопланктона, который в этом смысле имеет даже меньше "прав на существование", чем планктон пикофракции.

Поэтому вряд ли следует считать сложным, например, вопрос о том, включать ли в пикопланктон клетки шириной 3-4 мкм, ввиду гибкости оболочек попадающие в пикофракцию. Достаточно при описании методов конкретного исследования указать, как была фактически проведена граница между размерными группами. Более принципиальным представляется вопрос о применении размерной классификации к достаточно цельным в таксономическом или эколого-физиологическом отношении группам. Так, большинство планктонных морских цианобактерий, по имеющимся данным, без оговорок следует отнести к пикопланктону. В пикофракцию попадают и палочковидные цианобактерии, длина которых достигает 3-5 мкм, а в период деления - и того больше. Если изучаются цианобактерии пикопланктона (или фотосинтезирующий пикопланктон), то представляется целесообразным относить к пикопланктону все цианобактерии пикофракции. Но встречаются также колонии цианобактерий разных размеров. Часть из них не попадает в фильтр даже при использовании фильтра 10 мкм и формально не может быть отнесена даже к нанопланктону. В то же время, по имеющимся данным, при разрушении колонии отделившиеся клетки попадают в пикофракцию. Кроме того, жизненный цикл колониальных форм может оказаться сложным, включающим стадию одиночных клеток. Поэтому для более цельного и полного изучения планктонных цианобактерий следует охватить все их формы, независимо от формальной принадлежности к разным размерным группам. По сходным причинам, усматривая некоторую цельность мелких эукариотных водорослей как группы (хотя они таксономически разнородны), продолжают использовать термин ультрапланктон, ссылаясь при этом на отсутствие разрыва в размерном распределении клеток в пределах от 0,5 до 5-8 мкм.

Следовательно, некоторые различия в выборе объектов исследования влияют на выбор классификации и терминологии, что неизбежно. Это не вызывает путаницы, если выделяемые границы групп, соответствующие термины и методы изучения четко указаны. При использовании фильтров разных марок следует учитывать имеющиеся данные по особенностям прохождения сквозь них фототрофного пикопланктона (Li, 1986). Остается заключить, что основными объектами обсуждения в настоящей работе являются самые мелкие представители фототрофного планктона, в большинстве своем попа-

дающие в разряд пикопланктона, а при фракционировании фильтрацией – в пикофракцию. В необходимых случаях привлекаются данные о клетках и агрегатах, при фильтрации попадающих во фракции крупнее 2 мкм.

1.2. Эпифлуоресцентная микроскопия

Люминесцентная микроскопия – далеко не новый метод биологических исследований, и некоторая новизна характерна лишь для растущей тенденции называть ее флуоресцентной микроскопией, поскольку объекты становятся видимыми именно за счет флуоресценции, возбуждаемой при облучении препарата в коротковолновом участке спектра. Довольно долгую историю развития имеет и флуоресцентная микроскопия в падающем свете (эпифлуоресцентная микроскопия), при которой препарат освещается сверху. Наконец, планктонные водоросли также – давний объект флуоресцентной микроскопии, что можно легко иллюстрировать с помощью нескольких ссылок, не претендующих на полноту (Горюнова, 1952; Горюнова, Кабанова, 1958; Горюнова, Ржанова, 1961).

Однако широкое применение для учета планктона эпифлуоресцентная микроскопия нашла при вспышке интереса к фототрофному, морскому пикопланктону на рубеже 70–80-х годов, как наиболее приемлемый из имевшихся методов дифференцировки основных групп и определения их обилия с помощью прямого счета на фильтрах.

Выбор этого метода объясняется следующими причинами. Невозможно сколько-нибудь надежно определить численность пикопланктона без ступения, в "живой кашле". Кроме того, обычный световой микроскоп не позволяет различить даже основные группы пикопланктона. Обычные для планктологов методы ступения с последующим изучением смыва дают для столь мелких клеток большие потери, т.к. неизвестная часть клеток остается на фильтре. Поэтому лучше учитывать пикопланктон непосредственно на фильтре, как принято у микробиологов. Фотосинтезирующие клетки легко отличить от организмов, не содержащих растительных пигментов, по характерной автофлуоресценции. При этом падающий свет позволяет проводить их учет без просветления фильтров и другой их специальной обработки, непосредственно после фильтрации.

Первые же специальные исследования морского пикопланктона показали, что среди фотосинтезирующих его представителей нередко преобладают цианобактерии. Характерный для последних набор пигментов приводит к особенностям свечения, позволяющим легко отличать эту группу от эукариотных водорослей, что повы-

сило эффективность эпифлуоресцентной микроскопии. Наконец, для полного учета всего пикопланктона оказалось достаточным применить люминесцентные красители.

По флуоресцентной микроскопии существует обширная методическая литература, поэтому остановимся лишь на вопросах, непосредственно относящихся к исследованию пикопланктона. Эпифлуоресцентное изучение фильтров с осажденными на них пробами пикопланктона проводят как в судовой лаборатории, вскоре после фильтрации, так и после рейса, используя в последнем случае разные методы хранения проб. Подбираются фильтры, позволяющие достичь наибольшего контраста в свечении эукариотных водорослей, цианобактерий, других частиц взвеси и самого фильтра. Обычно добиваются, чтобы хлорофилл давал яркочерное или темнокрасное свечение. При этом цианобактерии имеют желтооранжевую окраску и легко отличимы от красных эукариотных водорослей. Особенности автофлуоресценции цианобактерий связаны с большим содержанием в клетках фикобилипротеинов, среди которых доминирует обычно фикоэритрин. Единственная известная группа эукариотного фитопланктона, также содержащая фикобилипротеины - криптозоаны. Указывается, что их легко отличить от цианобактерий по размерам и строению клеток, а также по сильному свечению в области хлорофилльного максимума (Murphy, Naugen, 1985). Судя по имеющимся данным, криптозоаны в пикофракции морского планктона при полевых исследованиях пока не отмечались.

При микроскопировании фототрофного пикопланктона наблюдателю следует тщательно адаптировать глаза к темноте. Это вызвано тем, что мелкие клетки в освещенном поле микроскопа подвергаются быстрой деструкции, так что время для счета, промеров и других наблюдений очень ограничено. Поместив препарат под микроскоп, добиваются резкого изображения клеток пикопланктона в центральной области препарата. Учет пикопланктона следует вести при использовании объектива с увеличением не менее 40-60-х, а измерения клеток - при максимальном увеличении. Поскольку учет ведется во многих полях зрения с последующим усреднением, необходимо охватить учетом разные участки фильтра (в связи с неравномерностью осаждения клеток при фильтрации) и одновременно обеспечить случайный выбор полей зрения для счета (независимо от числа клеток в нем). Поэтому удобно после наведения на резкость сместить препарат, чтобы под объективом оказался относительно близкий к краю участок фильтра и произвести учет клеток. Далее препарат перемещают "челноком", не глядя в микроскоп (обязательное условие!) и производят последующие учеты клеток при

произвольных остановках. Если направление перемещения препарата каждый раз одинаковое, наблюдатель даже после перерывов в работе легко определяет, какая часть фильтра уже "обработана".

При подсчете фототрофного пикопланктона лучше сначала учесть все пиководоросли в поле зрения, во вторую очередь — цианобактерии. Это связано с несколькими обстоятельствами. Пиководоросли часто мельче, хуже видны, быстрее выгорают. Кроме того, целые клетки желательно дифференцировать от фрагментов, обрывков хлоропластов, что довольно быстро утомляет зрение и потому должно производиться после отдыха, сопровождаемого перемещением препарата и записью результатов. Цианобактерии всегда выглядят более "стандартными", клеточных осколков такой же окраски не встречается, поэтому учитывать их можно во вторую очередь. К тому же, часто исходно "бледные" цианобактерии становятся ярче в течение первой минуты освещения под микроскопом.

В стратифицированной эпилепелагиали обилие пикопланктона резко различается по глубине. Когда на станции исследуются подряд фильтры с разных горизонтов, то условия счета клеток также неодинаковы. Поэтому, чтобы не менять объем фильтруемой воды (тем более, что априорных сведений о численности клеток не имеется), удобно в окуляр микроскопа вставлять стекло с нанесенными рамками разного размера, либо с изображением креста, делящего поле зрения на четыре сектора. Это позволяет при разной плотности клеток учитывать их то во всем поле зрения (или в пределах наибольшей рамки), то в определенной части поля зрения, не забывая отмечать это в журнале.

Выбор числа полей зрения определяется задачами исследования. Некоторые авторы добиваются того, чтобы суммарное число учтенных клеток было не менее 50—100 экз. Это позволяет статистически более надежно устанавливать численность пикопланктона в каждой пробе, но при малом обилии клеток требует обследования очень большого числа полей зрения. Наша практика показывает, что наблюдатель может за день исследовать пробы с двух станций, по 6—8 горизонтам, в двух повторностях. При таком режиме работы удобнее ограничиться просмотром 10 полей зрения на каждом препарате. Недостатком этого метода является то, что на бедных пикопланктоном горизонтах указывается иногда нулевая численность клеток (фактически они встречаются, но не попадают в 10 полей зрения). Однако на большинстве станций и горизонтов в слое 0—100 м просмотр 10 полей зрения достаточен. Разумеется, сказанное справедливо при соблюдении других условий получения препаратов: не менее 20 мл воды пропускается через фильтр с

рабочим диаметром 10 мкм. Уже упоминалось, что наши материалы получены при исследовании двух проб с каждого горизонта, что также повышает надежность результатов.

Счет клеток можно проводить и по фотографиям, полученным с использованием эпифлуоресцентного микроскопа (Takahashi e.a., 1985). Получают два снимка каждого поля зрения: при длине волн-450-490 нм и 546 нм. Соответственно на снимке видны только пиководоросли или только цианобактерии, что позволяет проводить их раздельный учет.

Учет клеток методом эпифлуоресцентной микроскопии в определенной мере затрудняется, когда фильтр имеет сильное собственное свечение, на фоне которого менее контрастно выглядят клетки, что препятствует счету либо ускоряет утомление. Значительную флуоресценцию обнаруживают в голубой области спектра фильтры "Миллипор" (Карнаухов, Яшин, 1980). "Миллипор" NA (так называемые "черные" фильтры) сильно светятся в красной области спектра. Сравнительное изучение люминесценции фильтров других типов (Карнаухов, Яшин, 1980) показало, что наиболее пригодными являются фильтры "Нуклеопор". Они мало светятся в широкой области спектра, при этом слабо окрашиваются некоторыми люминесцентными красителями, что облегчает применение последних для окраски клеток. Тем не менее, некоторые исследователи предпочитают предварительно подавить свечение ядерных фильтров (г.Дубна) и "Нуклеопор", выдерживая их 48 час в красителе судан черный (Миказян, 1987; Douglas, 1984).

Некоторые авторы пришли к заключению о неполном учете пико-планктона при эпифлуоресцентной микроскопии (Johnson, Sieburth, 1979), поскольку учет по электронномикроскопическим снимкам дал на порядок более высокую численность цианобактерий. Трудно назвать возможные причины такого расхождения. Скорее всего, это результат каких-то особенностей данного конкретного исследования.

Наша практика свидетельствует, что при эпифлуоресцентном учете следует опасаться скорее завышения численности пиководорослей за счет отнесения к ним фрагментов клеток и хлоропластов. Поскольку красное свечение дает хлорофилл, который не распределяется по всей клетке, то клеточная оболочка не видна, по крайней мере, у мелких пиководорослей. Поэтому ведется счет общего числа красных частиц. На некоторых горизонтах в отдельных районах океана в пикофракции резко повышается число красных частиц размерами около 0,2-0,5 мкм или крупнее, имеющих неправильные "рваные" очертания. Они явно отличаются от более круп-

Биологический институт
Тихоокеанского океанологического
института им. П. П. Шмидта
Дальневосточного государственного
университета
Дальних морей АН УССР

БИБЛИОТЕКА

35679

ных красных частиц, по очертаниям близких к округлым, овальным, веретенновидным клеткам. Поэтому красные частицы "правильной" формы в наших исследованиях относили к пиководорослям, мелкие частицы с неровными краями - к фрагментам и не включали в общий счет пиководорослей. Некоторые дополнительные опыты и наблюдения подтвердили, что мельчайшие красные частицы не являются целыми клетками. В то же время округлые хлоропласты размерами 1-2 мкм трудно отличить от целых водорослей, за счет чего возможны соответствующие ошибки в определении численности. Некоторые исследователи на этом основании указывают число красных частиц и подчеркивают, что истинная численность целых водорослей остается неизвестной.

Отмеченные обстоятельства мешают также определить истинные размеры клеток фототрофного пикопланктона. Для крупных водорослей особенно очевидны резкие различия между формой, размерами и общим объемом клетки и светящихся хлоропластов. Для пиководорослей это расхождение не может, по-видимому, быть большим, что показывают ультраструктурные данные электронной микроскопии и сравнение размеров пикопланктона, оцененных с помощью электронного и эпифлуоресцентного микроскопа. Тем не менее, о неточности измерения размеров клеток по их свечению следует помнить при анализе некоторых вопросов, например, об особенностях прохождения клеток через поры фильтра. Так, по данным электронной микроскопии клетки цианобактерий обычно имеют относительно тонкий поверхностный слой, который можно предположительно считать несветящимся. Но наличие колониальных цианобактерий с несветящейся студенистой основой колонии показывает, что и одиночные клетки могут быть окружены невидимым при эпифлуоресцентной микроскопии студенистым чехлом, существенно влияющим на общие размеры и на прохождение клеток через поры того или иного диаметра.

Выше обсуждались методические особенности эпифлуоресцентного изучения фотосинтезирующих представителей пикопланктона. Если параллельный фильтр окрасить люминесцентным красителем (наиболее употребителен акридин оранжевый), то на окрашенном фильтре можно установить общее число всех пикопланктонов, и вычитая численность фототрофных клеток, рассчитать количество гетеротрофов (Davis, Sieburth, 1982). В других случаях обычными в микробиологии методами определения общего счета клеток (с просветлением фильтров, окрашенных, например, эритрозином) устанавливают численность бактериопланктона, который считают гетеротрофным компонентом пикопланктона.

В последние годы отрабатываются методы учета пикофитопланк-

тона с помощью проточной цитометрии (Ли, 1986).

1.3. Спектральные исследования пикопланктона

Поскольку возможности и приемы спектральных исследований в значительной мере определяются имеющейся аппаратурой, ограничимся кратким изложением преимущественно собственного опыта. Наиболее эффективным оказалось использование в некоторых рейсах НИС "Профессор Водяницкий" микроспектрофлуориметра МСФ-1, разработанного и изготовленного в секторе микроспектрального анализа клетки Института биологической физики АН СССР (г.Пушино). Первый опыт использования МСФ-1 в условиях морской экспедиции и соответствующие методические приемы детально описаны (Карнаухов, Яшин, 1980). В 15-м рейсе судна МСФ-1 был применен специально для изучения фототрофного пикопланктона (Залка, Яшин, 1984).

Использование МСФ-1 позволило получить многочисленные спектры пиководорослей и цианобактерий, как одиночных, так и колониальных. Дополнительные методические замечания немногочисленны и сформулированы В.А.Яшиным, любезно разрешившим их воспроизвести.

В Средиземном море большинство исследованных клеток пиководорослей не показало существенных различий в спектрах. То же относится и к цианобактериям. Своеобразие спектра было отмечено лишь у некоторых цианобактерий, например, у относительно крупных (диаметром 1,2-1,6 мкм), встречающихся реже, чем массовая для летнего периода в Средиземном море эллипсоидная разновидность. В Черном море летом зарегистрировано большое разнообразие спектров цианобактерий. Это позволяет предложить анализ спектров для дифференцировки некоторых форм цианобактерий. На такую возможность обращают внимание (Wood e. a., 1985) и в связи с установленной разнокачественностью фикоэритрина у разных штаммов морских цианобактерий.

Необходимо учитывать и устойчивость пигментов к выгоранию в ходе регистрации спектра. Упомянутые округлые цианобактерии при обычной записи спектра из синей области в красную не обнаружили "плеча" в полосе изучения хлорофилла (685 нм). Было обращено внимание на то, что регистрация в этой области спектра происходит после того, как клетка облучается синим светом (436 нм) до 20 сек. Для проверки возможного выгорания хлорофилла запись спектра стали начинать с 650 нм (и далее в красную область). При этом на спектре округлых цианобактерий появилось

плечо в области хлорофильного максимума. Это доказывает выгорание хлорофилла в течение нескольких добавочных секунд освещения клетки при обычном режиме записи. Характерно, что у типичных эллипсоидных цианобактерий хлорофилл более устойчив к фотодеструкции. У них особенности спектра в полосе излучения хлорофилла не менялись в зависимости от способа записи.

Таким образом, спектральные исследования позволяют в некоторых случаях выявить разновидности цианобактерий, отличающиеся как набором пигментов, так и устойчивостью хлорофилла к фотодеструкции. Указывается (Wood, e.a., 1985), что при освещении в зеленой (546 нм) области спектра светятся клетки всех исследованных клонов цианобактерий, тогда как освещение в синеволетовой области (436 нм) не вызывает свечения клонов с фикоэритриновым типом 2 (фикоэритробилином). Это обстоятельство может приводить к недоучету цианобактерий в природных популяциях. С другой стороны, попеременное использование разных фильтров при исследовании пробы позволяет дифференцировать разные формы цианобактерий.

Микроспектрофлуориметр МФ-1 позволяет регистрировать изменение интенсивности свечения клетки во времени в ходе ее освещения, подбирая желательные характеристики возбуждающего света и область регистрации. Это дает большие возможности в исследовании хода фотодеструкции у разных форм пикопланктона и в зависимости от физиологического состояния клеток.

Для тех же целей в 20-м рейсе НИС "Профессор Водяницкий" была использована приставка ФМЭЛ-1А с фотометрическим зондом и светочувствительным элементом ФЭУ-79А, в сочетании с люминесцентным микроскопом "Лабовал - 2а-11" (ГДР). Измерения проводили при объективе 40х, в синем возбуждающем свете. Регистрацию свечения цианобактерий осуществляли в области 580 нм, пиководорослей - 680 нм (Владимиров и др., 1986). Из каждой пробы изучали не менее 20 клеток с последующей статистической обработкой данных. Измерения проводили в относительных единицах по шкале электрометрического усилителя 5-7 при вычитании фона. В качестве эталона использовали свечение ядерного фильтра (г.Дубна) с порами 0,5 мкм, принимаемое за 10 единиц. По сравнению с МФ-1 неудобство данного метода заключается в необходимости отсчета времени по секундомеру, записи считываемых показаний, при одновременном контроле положения зонда. Все это требовало участия в работе двух исследователей. Полученные результаты (гл.9) показывают пригодность метода для исследования эколого-физиологических особенностей фототрофного пикопланктона.

1.4. Другие методы изучения пикопланктона, фиксации и хранения проб

Трансмиссионная электронная микроскопия дает незаменимую информацию об ультраструктуре клеток пикопланктона, что важно при изучении состава пиководорослей и цианобактерий. По электронно-микроскопическим снимкам производят также подсчет численности пикопланктона (Johnson, Sieburth, 1979, 1982; Takahashi, Hori, 1984). Для фиксации мельчайших водорослей рекомендуют глютаральдегид. Методы подготовки материала для электронной микроскопии здесь нет необходимости описывать.

Глютаральдегид пока считают лучшим из фиксаторов, но при испытаниях на культуре прасинофитовых водорослей обнаружено, что и он приводит к потере 15–20% клеток непосредственно при фиксации, а еще 35–40% теряется в течение 8 суток хранения пробы (Murphy, Naugen, 1985). С другой стороны, хранение в глютаральдегиде с параформальдегидом не приводит к потере свечения хлорофилла, что позволяет проводить эпифлуоресцентные исследования после длительного хранения препаратов (Tsuji, Yanagita, 1981). Рекомендуется добавление фиксатора в соотношении (по объему) 1% глютаральдегида и 0,03–1% параформальдегида. Затем фильтры заключают в глицерин-желатиновые препараты и хранят при -20°C . За два месяца хранения только 20% водорослей утратили свечение, в дальнейшем изменений не наблюдалось в течение полугода (Tsuji, Yanagita, 1981). Приведены детальные методические указания по всем этапам приготовления препаратов длительного хранения.

В холодильнике (-20°C) можно длительно хранить пробы пикопланктона и без всякой подготовительной обработки. Нами в 20-м рейсе НИС "Профессор Водяницкий" (при участии В.Б.Владимирцева, Н.Н.Ханайченко) исследованы пробы профильтрованной через фильтр 2 мкм воды, замороженные в холодильной камере при -20°C . Установлено, что при хранении таких проб более 1 мес цианобактерии сохранили как свечение, так и жизнеспособность.

Для подсчета фототрофного пикопланктона и одновременной оценки скорости размножения клеток предлагается использовать также технику радиоавтографии (Douglas, 1984). Пробы экспонируются на свету с добавлением меченого минерального углерода. Через 24 час экспозиции готовят препараты для радиоавтографии, на которых учитывают клетки с зернами серебра, а по потреблению углерода в сопоставлении с содержанием его в клетках оценивается прирост.

Нами в Атлантическом океане для изучения роста пикопланктона использован метод, основанный на включении в клетки ^3H -тимидина. Использовали (метил- ^3H) $_2$ -тимидин с удельной активностью 3,8 Ки/ммоль, из которого на дистиллированной воде готовили рабочий раствор с активностью 54 мКи/мл.

Пробы воды фильтровали через прокипяченный ядерный фильтр (г. Дубна) с порами 2,5 мкм. Для опытов *in situ* использовали склянки 0,5 л, в лабораторных экспериментах — конические колбы объемом 1 л. В приготовленные к опыту пробы добавляли рабочий раствор ^3H -тимидина, получая радиоактивность 0,216 мКи/мл. Склянки опускали на глубины (20–60 м), с которых были взяты исходные пробы воды. Через каждые 4 часа в течение суток склянки поднимали для отбора проб. В параллельных лабораторных опытах часть колб содержали в фотостате (освещенность 10 тыс.лк, свет снизу), другая часть — в темноте. Лабораторные опыты проводили при температуре 24–26°C, в течение суток. Через каждые 1–3 часа по 10–20 мл воды из колб фильтровали через фильтры Сынпор 0,3 мкм с рабочим диаметром 12 мм, при 3–4 повторностях. Часть полученных фильтров использовали для определения интенсивности включения ^3H -тимидина в клетки пикопланктона с помощью жидкостного сцинтилляционного счетчика, другую часть — для радиоавтографического анализа.

Оба вида анализов проводились после рейса. Для хранения фильтры фиксировали в парах формалина и отмывали от морской воды, помещая на увлажненную дистиллированной водой фильтровальную бумагу, в чашках Петри. На внутреннюю сторону крышки помещали кусочек фильтровальной бумаги, смоченной 40% формалином. Позже фильтры, предназначенные для определения интенсивности мечения на счетчике, высушивали, а фильтры для радиоавтографических исследований помещали в чашки Петри на фильтровальную бумагу, пропитанную раствором эритрозина. Окраску вели 24 часа, затем избыток эритрозина удаляли многократным промоканием фильтров на увлажненной фильтровальной бумаге. Далее фильтры высушивали, на их поверхность наносили фотоэмульсию. Для этого фотоэмульсию плавил на водяной бане при 55° и вдвое разводили дистиллированной водой. Нанесение эмульсии на лицевую сторону фильтра производили с помощью петли из тонкой проволоки, что позволяло получать тонкие пленки эмульсии. Все операции производили в темноте при подсветке с применением темно-зеленого светофильтра. Покрывать тонкой пленкой фотоэмульсии фильтры высушивали в течение 15 мин и помещали в светонепроницаемые коробки экспонирования. Через 7–10 сут фильтры проявляли в стандартном метол-гидрохиноновом проявителе в течение 2–3 мин, фик-

сировали, промывали и высушивали. Для дальнейшего хранения готовили постоянные препараты, заключая фильтры в канадский бальзам.

Описанный метод дал удовлетворительную интенсивность мечения с низким фоновым мечением фотоэмульсии. Четко выявляются клетки с включенным ^3H -тимидином. Окраска эритрозином позволяет учесть соотношение меченных и немеченных клеток и, тем самым, определить интенсивность синтеза ДНК в клетках пикопланктона. Степень мечения клеток определяют подсчетом числа зерен серебра, попадающих на объем клетки. При достаточно высокой интенсивности мечения зерна серебра оконтуривают клетку (у более крупных объектов — ядро или хромосомы). Для цианобактерий получено равномерное мечение контуров клетки, что характерно для прокариот. Видны делящиеся клетки, с перетяжкой. В ходе опытов наблюдалось увеличение содержания метки, что позволяет проследить динамику включения ^3H -тимидина и на этой основе определить время генерации.

Для определения времени генерации учитывают также прирост числа клеток в экспонируемых *in situ* или в лаборатории пробах природного пикопланктона при допущении, что предварительная фильтрация удаляет полностью потребителей пикопланктона (Bienfang e.a., 1984). Наши опыты в Атлантическом океане были поставлены с фильтрованной (через фильтры 2,5 мкм) и нефилтрованной водой, в разное время суток, а также в световом (при экспонировании на глубине отбора пробы) и темновом вариантах, для последующего сравнительного анализа результатов.

Оценка митотической активности клеток может проводиться путем учета процента делящихся клеток. Этот показатель дает неплохие сравнительные оценки для цианобактерий с разных глубин и районов (Микаэлян, 1987). Предложены также различные способы расчета времени генерации клеток по доле делящихся в природных популяциях (8.3), но при этом необходимо знать особенности суточной ритмики деления, особенно существенной у фотосинтезирующих микроорганизмов, а также обладать другой дополнительной информацией.

Несомненно важной основой эколого-физиологических и биохимических исследований морского фототрофного пикопланктона является культивирование отдельных видов и изолят. Представители пикопланктона считаются трудно поддающимися культивированию, но получено уже довольно много штаммов морских цианобактерий, изучение которых дало ценные результаты (Morris, Glover, 1981; Alberte e.a., 1984; Barlow, . 1985; Wood e.a., 1985; Glover

е.а., 1986; Brand, 1986 и др.).

Культуры цианобактерий получают инокуляцией воды на среды f/2 (Takahashi, e.a., 1985), f/10 (Morris, Glover, 1981; ASP-2 и BC-II (Johnson, Sieburth, 1979), на их модификациях и других средах (Waterbury e.a., 1986). Нами показана возможность длительного содержания пикопланктона на герметизированных фильтрах в темноте или при слабом освещении.

Выше кратко рассмотрены некоторые методы, связанные с микроскопическим изучением пикопланктона. Немикроскопические методы не требуют специальной адаптации к пикопланктону и применяются при исследовании пикофракции пиковзвеси (Li, 1986). Следовательно, в этих случаях специальное внимание должно обращать прежде всего на способы выделения пикофракции (фильтры, фильтрующие устройства) и на микроскопический контроль состава взвеси в пикофракции. Некоторые методические замечания можно найти в других главах. Вопросы, связанные с фильтрацией, выбором фильтров имеют более широкое значение и вынесены в отдельную главу. Исследование фототрофного пикопланктона - новая и развивающаяся область планктонологии, поэтому следует ожидать и быстрого расширения методического арсенала.

ГЛАВА 2

ФИЛЬТРАЦИЯ КАК МЕТОД ВЫДЕЛЕНИЯ ПИКОПЛАНКТОНА ИЗ МОРСКОЙ ВОДЫ

2.1. Влияние выбора фильтров на состав пикофракции

В начале предыдущей главы рассмотрены в общей форме различия между пикопланктоном и пикофракцией взвеси, имеющие большое значение для интерпретации результатов как микроскопических, так и немикроскопических исследований этих объектов. Теперь обсудим конкретные данные и вопросы, связанные с выбором фильтров при решении различных задач.

Пикопланктон по определению охватывает организмы от 2 до 0,2 мкм, и его можно сконцентрировать из пробы морской воды на любом фильтре, задерживающем частицы этих размеров. Очевидно, фильтр не должен иметь поры крупнее 0,2 мкм. Как показывает практика, фильтры не производят сортировку любых (по форме, твердости и т.п.) частиц в соответствии с номинальной пропускной способностью. Приходится учитывать, что фильтры 0,2 мкм могут задерживать организмы несколько меньшего размера и пропускать - большего. Судя по имеющимся данным о составе фототрофного пикопланктона, клетки мельче 0,5 мкм почти не встречаются ни среди эукариотных водорослей, ни среди цианобактерий. Либо их действительно крайне мало, либо они проходят фильтр 0,2 мкм, но последнее маловероятно. Следует добавить, что точное измерение частиц подобного размера затруднено при эпифлуоресцентной микроскопии, поскольку они мельче одного деления окуляр-микрометра, так что размеры указываются приблизительно. Чтобы исключить возможные потери клеток при фильтрации через фильтр 0,2 мкм, применяли двукратное сгущение пропущенных через фильтры 20 и

2 мкм проб, объемом от 2 до 11 л центрифугированием при 14000 с последующим изучением под электронным микроскопом (Johnson, Sieburth, 1982). Эукариотных гетеротрофов в этих пробах не нашли, наименьшие из найденных эукариотных водорослей имели диаметр от 0,5 до 1 мкм и сочтены самыми мелкими из известных фототрофных эукариот. Другие сведения можно найти в обзоре (Li, 1986).

С учетом этих данных, представляется достаточным фильтровать воду через фильтры с порами около 0,2 мкм. В разных исследованиях авторы используют фильтры от 0,17 до 0,23 мкм, что определяется, по-видимому, наличием фильтров с соответствующими характеристиками. Этим же обстоятельством в какой-то мере обусловлен выбор материала фильтра, его типа. При исследовании фототрофного пикопланктона фильтры с порами 0,2 мкм используют, по-видимому, всех встречающихся марок, производимые разными фирмами.

Для сравнения укажем материалы, из которых производятся некоторые типы фильтров (Мишустина, Батурина, 1984):

- СЫНПОР (СССР) - нитроцеллюлоза,
- Миллипор (США) - ацетат и нитрат целлюлозы,
- Нуклеопор (США) - поликарбонатная пленка,
- Ядерные фильтры (г.Дубна, СССР) - лавсан

Эти и другие типы фильтров с порами 0,2 мкм считаются одинаково пригодными для осаждения на них пикопланктона, и выбор между ними производится с учетом пригодности для микроскопирования или других операций.

О различной собственной светимости фильтров при флуоресцентной микроскопии уже упоминалось (I.2). Сравнение, проведенное по содержанию хлорофилла показало, что стекловолокнистые фильтры Ватман GF/C, покрытые карбонатом магнезии, дают те же результаты, что и фильтры Миллипор 0,22 мкм (Takahashi, e. a., 1985). Выбор типа фильтров может определяться необходимостью последующего растворения в ацетоне, окраски и просветления для исследования в проходящем свете и т.д.

Ранее (I.1) обосновывалась целесообразность микроскопического исследования на фильтрах 0,2 мкм с предшествующей фильтрацией через фильтры 2 мкм, с учетом неизбежности такого подхода при немикроскопических исследованиях пикофракции. В связи с этим возникает вопрос о выборе и свойствах "верхнего" ("первого") фильтра, который приходится решать с учетом гораздо большего числа факторов.

Именно при устранении фильтрацией более крупных, чем пико-

планктон, организмов результаты сильно зависят от используемого давления (вакуума), формы клеток, гибкости их оболочек (Murphy, Haugen, 1985) и еще многих факторов, что приводит к неопределенности сепарации частиц. Неоднократно проводились исследования фильтров с порами 0,4-0,6; 1, 2, 3 и 5 мкм.

Показано, что через Нуклеопор I мкм проходит до 25% хлорофилла "а" (Berman, 1975), по другим данным - 40-60% (Herbland, Le Bouteiller, 1981). С учетом состава хлорофиллоносного планктона это означает, что многие водоросли разрушаются при фильтрации, особенно "грубой" (при сильном вакууме), так что во фракцию менее I мкм попадают в значительной мере хлоропласты и фрагменты клеток. Не меньшее разрушение относительно крупных клеток фитопланктона происходит при использовании фильтров с порами 2-3 мкм, что при недостаточном микроскопическом контроле ведет к завышению обилия фототрофного планктона в пикофракции, содержания в нем хлорофилла и т.п. При фильтрации может разрушаться 35-40% фитопланктона (Runge, Ohman, 1982). Не случайно, сопоставляя вертикальные профили хлорофилла "а" с результатами микроскопических исследований, приходят к выводу, что распределение пигмента лучше согласуется с численностью хлоропластов, чем с обилием целых клеток фитопланктона (Wanthy, e.a., 1967). При использовании мягкой фильтрации через разные наборы фильтров Нуклеопор с последующим исследованием методом сканирующей электронной микроскопии, не было обнаружено появления фрагментов клеток. Но фильтрация приводила к увеличению количества растворенного углерода, что отражает потерю цитоплазмы, т.е. опять-таки разрушение клеток (Joint, Pomroy, 1983). Итак, один из факторов, которые следует учитывать при изучении фототрофного пикопланктона и растительных пигментов пикофракции - разрушение крупных водорослей, вызывающее завышенное содержание светящихся частиц и хлорофилла в пикофракции.

Целые клетки могут проходить сквозь поры, более мелкие, чем длина или диаметр клеток. Через фильтры Нуклеопор бактерии проходят в следующей пропорции: при диаметре пор 3 мкм - 88%, 2 мкм - 86% и I мкм - 62% от общей численности (Larsson, Hagstrom, 1982). По другим данным, через Нуклеопор I мкм проникает 90% активных бактерий морской воды (Burney, e.a., 1979). В известной мере это характеризует различный состав бактериопланктона, но заблуждаться на этот счет не следует. Даже при мягкой фильтрации без вакуума (самотеком) клетки проходят поры мельче их размеров: в фильтрате после фильтра Гельман 3 мкм обнаруживаются клетки крупнее 3 мкм, фильтр Гельман 0,8

мкм пропускает цианобактерии диаметром 1-2 мкм (Murphy, Haugen, 1985). Сравнение фильтров Миллипор 3 мкм и Нуклеопор 2 мкм показало, что первые пропускают около 25% бактерий, вторые - 75% от общего числа (Salonen, 1974). Аналогичные результаты получены нами при сравнении фильтров Миллипор 3 мкм с ядерными фильтрами 2 и 2,5 мкм. Первые фильтры (использованные в 1983 г. в Средиземном море) задерживали в среднем более 50% цианобактерий, тогда как вторые (примененные в последующих рейсах) пропускали практически все одиночные клетки цианобактерий.

Одновременно нами было проведено исследование соотношения цианобактерий при последовательном использовании фильтров Миллипор 3, 1, 0,5 и 0,2 мкм. Фильтрацию вели с помощью шприца и насадки к нему фирмы Миллипор, число фильтраций соответствовало числу фильтров (т.е. колонки для одновременной фильтрации не применялись). На фильтре 3 мкм оказалось 54% цианобактерий, на фильтре 1 мкм - более 40%, на фильтр 0,5 мкм попали единичные клетки, на 0,2 мкм их практически не было. Таким образом, во фракциях крупнее 1 мкм находилось более 94% цианобактерий. Эти результаты интересно сопоставить с полученными при использовании фильтровальной колонки, в которой воду пропускали через фильтры Нуклеопор 5, 1, 0,6 и 0,2 мкм (Krempin, Sullivan, 1981). Во фракциях крупнее 1 мкм оказывалось в среднем только 17% цианобактерий. Несмотря на возможные влияния различий в размерном составе доминирующих цианобактерий, других условий фильтрации, несомненно ведущую роль сыграла разная пропускная способность фильтров Миллипор и Нуклеопор. Приведенные данные свидетельствуют, что фильтры могут не только пропускать клетки крупнее размеров пор, но и задерживать частицы мельче диаметра пор. В целом, можно заключить: для выделения пикопланктона лучше использовать фильтры Нуклеопор и ядерные, т.к. судя по микроскопическим измерениям прошедших через них клеток, последние редко имеют размеры крупнее диаметра пор, а по пропусканию более мелких частиц эти типы фильтров заметно эффективнее, чем Миллипор.

Таковы некоторые особенности используемых при исследовании пикопланктона фильтров, проявляющиеся при одинаковых условиях фильтрации. Но используется большое число вариантов фильтрации, что, в свою очередь, серьезно влияет на ее результаты.

2.2. Пропускная способность фильтров при разных условиях фильтрации

При выборе конкретной техники фильтрации исследователю при-

ходится искать оптимизированное сочетание нескольких условий, оказывающих зачастую противоположное воздействие на результаты. Увеличение объема фильтруемой воды повышает статистическую надежность подсчета частиц или биохимических анализов, но сильно увеличивает время фильтрации. Одно из очевидных негативных последствий этого — денатурация физико-химических условий в пробе. Так, при наличии в эпипелагиали большого температурного градиента изучение вертикальных профилей в условиях длительной фильтрации неизбежно влечет температурный сдвиг в части проб, что может менять физиологическое состояние клеток, вызывать их разрушение и в конечном счете искажать результаты. У мельчайших организмов многие процессы протекают быстро, меняется соль-гель состояние растворенных органических соединений, так что эффект изоляции пробы может неизвестным образом отразиться на результатах фильтрации и без существенного температурного сдвига.

Увеличение рабочей поверхности фильтра повышает общую скорость фильтрации, но снижает плотность частиц на единицу площади. Кроме того, растет вероятность неравномерного распределения частиц на фильтре. Эти обстоятельства снижают статистическую надежность микроскопического учета клеток. Соотношение пропускаемого объема воды и площади фильтра, в зависимости от плотности взвеси в море, вызывает разную степень засорения пор. Некоторые исследователи практикуют неоднократное употребление фильтров (Нуклеопор и ядерных), работа которых при этом не может быть одинаковой и зависит от способа и тщательности промывания.

Усиление принудительной фильтрации (вакуума в отсасывающих устройствах и давления при использовании шприцевой техники) ускоряет процесс, но увеличивает разрушение клеток, продавливание через поры более крупных частиц. В последние годы все большее число исследователей отказывается от применения сильного разряжения в пользу мягкой фильтрации. Наиболее мягкой считается фильтрация самотеком, под действием гравитации.

К сожалению, каждый из упомянутых факторов трудно обсуждать в отрыве от остальных, поскольку все определяет конечная цель: по возможности быстрое осаждение на фильтр взвеси с минимальными искажениями против естественного состава и в количестве, пригодном для получения статистически надежных данных.

В связи с изложенным большое значение приобретает сохранение стабильности техники и процедур в пределах каждого отдельного исследования. Действительно, если избранный автором способ фильтрации поневоле несовершенен, то он должен давать сравнимые данные, отражать верно хотя бы в относительных величинах динамику

содержания клеток или веществ в изучаемой фракции. Приближение к истинным величинам в этих условиях может быть достигнуто, прежде всего, путем сопоставления и анализа данных, получаемых при разных вариантах фильтрации.

В целом, на сегодня изучение пикопланктона и пикофракции взвеси проводится при использовании пестрого набора техники фильтрации: объем фильтруемой воды от 10–20 мл до 2–5 л, использование гравитации или слабого вакуума, различная рабочая площадь фильтров, разные способы сбора воронок, их заполнения водой и т.д. При этом для разных фракций иногда используется разная техника, например, все фракции фильтруют самотеком, а через фильтр 0,2 мкм – под вакуумом.

Выше шла речь о вариантах фильтрации только через один фильтр. Но для выделения пикофракции требуется использовать две фильтрации. Усилившаяся одновременно тенденция к дробному делению на разные фракции более крупного планктона вызвала естественное желание сократить число операций применением фильтровальных колонок. Конструкции последних разнообразны, но принцип действия сводится к тому, что проба воды последовательно проходит набор фильтров с уменьшающимися размерами пор. Следовательно, одна фильтрация позволяет получить сразу несколько смежных размерных фракций, что весьма заманчиво.

В разных исследованиях, связанных с анализом пикопланктона, использовали, например, колонку производства фирмы Миллипор, которую заряжали фильтрами Нуклеопор 5, 1, 0,6 и 0,2 мкм (Krempin, Sullivan, 1981); колонку с фильтрами "Гельман" 8, 3, 0,8 мкм с гравитационной фильтрацией, но следующую фракцию получали на фильтре Нуклеопор 0,2 мкм при использовании вакуума 125 мм ртутного столба (Murphy, Haugen, 1985). Каскад из фильтров Нуклеопор удается использовать и без применения вакуума (Joint, Pomroy, 1983). Фильтровальная колонка оригинальной конструкции (Лопухин, 1985) сейчас широко используется исследователями Института биологии южных морей АН УССР.

Нами в Атлантическом океане для микроскопического исследования фототрофного пикопланктона использована оригинальной конструкции насадка для шприца, представляющая собой микроколонку с двумя фильтрами: сначала вода подавалась на ядерный фильтр 2 мкм, затем на Сынпор 0,2 мкм. Параллельно для исследования хлорофилла, АТФ, опытов по первичной продукции в том же рейсе использованы разные способы выделения фракций, включая колонки, разные типы фильтров. Все это дало возможность сравнить получаемые результаты. В частности, проводился микроскопический контроль

состава взвеси в одноименных размерных фракциях, полученных при независимой фильтрации через два фильтра, сепарирующие определенную фракцию, через те же два фильтра, помещенные в колонку, наконец, при добавлении в колонку других фильтров для улавливания смежных фракций.

Оказалось, что во всех трех вариантах фильтрации состав взвеси, в том числе фотосинтезирующего пикопланктона, не идентичен. Таким образом, применение фильтровальных колонок следует рассматривать еще как один фактор, заметно влияющий на пропускную способность фильтров.

Конкретные причины этого различны. Если отдельно взятый фильтр может пропускать частицы крупнее диаметра пор и задерживать более мелкие, то в колонке сильнее сказывается второй из упомянутых эффектов. Конечно, тип фильтра и здесь по-прежнему важен. Но при использовании фильтров одного типа становится заметным, что даже небольшая задержка клеток мельче, чем размеры пор, суммируется и возрастает с увеличением числа фильтров в колонке, что особенно наглядно проявляется при использовании фильтров Миллипор и подобных им по структуре. Так, если получать пикофракцию с помощью колонки при использовании фильтров 3 и 0,2 мкм, то микроскопические и другие методы покажут большие величины числа клеток, содержания растительных пигментов и т.д., чем та же фракция, выделенная при добавлении в колонку фильтров с порами, скажем 5 и 10 мкм. Во всяком случае, фотосинтезирующих клеток в пикофракции становится меньше, хотя может иногда возрастать количество фрагментов и "разлитого" хлорофилла. Последний воспринимается при эпифлуоресцентной микроскопии как слабо светящееся пятно неопределенных очертаний. Кстати, сканирование фильтра 0,2 мкм с помощью микроспектрофлуориметра часто показывает небольшие скачки свечения над фоновым свечением фильтра в полосе хлорофильного максимума. При этом визуально "капля" хлорофилла может и не регистрироваться. Это явление имеет отношение не только к использованию фильтровальных колонок, но иллюстрирует многообразие форм хлорофилла в "нижних" фракциях. В связи с описанными эффектами затрудняется сравнение микроскопического и биохимического состава размерных фракций пикопланктона при использовании разных способов их выделения параллельно работающими специалистами. Это проявляется в том, например, что не совпадают вертикальные профили по численности фотосинтезирующих клеток, концентрации растительных пигментов и т.д. Возможно, разрушением и угнетением клеток фитопланктона объясняется и такое явление: общая первичная про-

дукция (измеряемая как сумма продукции по всем фракциям) снижается линейно с увеличением числа фракций в пределах размерного диапазона 0,2-5 мкм (Larsson, Hagstrom, 1982).

Можно предполагать, что применение двух фильтров дает более верное представление о составе соответствующей фракции, чем при использовании в колонке дополнительных фильтров "по обе стороны" от основных. В то же время наблюдается явная тенденция к возрастающему использованию фильтровальных колонок, особенно при немикроскопических анализах. В этих условиях можно рекомендовать все немикроскопические анализы проводить при идентичных наборах фильтров в колонках, сопровождая их микроскопическим изучением состава взвеси в тех же фракциях, при тех же методах фильтрации. Сейчас, в период активных методических поисков, речь идет об унификации колонок, типов фильтров и последовательности фильтров с разными порами лишь при комплексных исследованиях мелких фракций планктона группами специалистов одной экспедиции, когда данные используются при расчетах удельного содержания пигментов в клетке, других сравнительных анализах состава. Специальные методические поиски и естественные различия методов у разных групп помогут накоплению материала о сравнительных достоинствах разных процедур фильтрации.

Следует иметь в виду, что "помехи" вносит добавление фильтров в колонки не только "кверху", но и "книзу" от определенной пары фильтров. Наблюдения показывают, скажем, что фракция 3-1 мкм отличается по составу, если ее выделить фильтрацией только через два указанных фильтра либо с добавлением в колонку фильтра 0,5 мкм (0,2 мкм). Наиболее вероятная причина отмечаемого эффекта - в изменении общей скорости протекания воды через колонку и связанные с этим вариации в сепарационных свойствах фильтров.

Рекомендуя микроскопический контроль состава фракций при любом способе их выделения, следует остановиться еще на одном методическом вопросе. Если конструкция колонки и последовательность операций ориентированы на немикроскопические методы, то упускается из виду характер распределения осаждаемой взвеси по поверхности фильтра. Когда фильтр целиком поступает в анализ, например, для экстрагирования некоторых веществ растворителем, то распределение взвеси на фильтре не играет роли. Если же в качестве повторностей или для разных анализов берутся не целые фильтры, а их половинки, определенные сектора, то требуется обеспечение равномерного распределения взвеси по рабочей поверхности фильтра. Особенно важно соблюдать такое условие при

микроскопическом количественном учете численности клеток и других частиц. При неравномерном распределении взвеси на фильтре счет в большом числе полей зрения или при охвате значительной части поверхности лишь отчасти компенсирует возможные ошибки. Причинами неравномерного распределения взвеси могут быть особенности струйного и капельного стекания воды внутри фильтровальной колонки, а также образование под фильтром воздушного пузыря. Последнее играет большую роль не только в колонках, но во всех типах фильтровальных установок. Наиболее простой способ соответствующей проверки фильтровальной техники и процедур — многократное повторение фильтрации с применением подкрашенной воды. Если фильтр окрашивается неравномерно, значит данная техника фильтрации не пригодна для микроскопического учета количества взвеси. Если неравномерность окраски фильтров каждый раз одинакова (например, светлое пятно посреди фильтра), то и это делает метод непригодным, т.к. фактическая рабочая поверхность фильтра уменьшена, а коэффициент такого уменьшения вряд ли будет постоянным, что не позволяет верно определить численность частиц. Разумеется, можно выполнять дополнительно методические проверки с помощью счета частиц во многих полях зрения. Полученные результаты статистически обрабатываются и сравниваются с исходной гипотезой о распределении частиц при "нормальной" фильтрации. В качестве дополнительного замечания сошлемся на наши наблюдения в связи с изучением колониальных цианобактерий на фильтрах с порами 2–3 мкм. Поверхность фильтра Миллипор не является гладкой, но образует небольшие углубления, микроканалы, в которых группируются цианобактерии. На ядерных фильтрах, Нуклеопоре и даже на Миллипоре 0,2 мкм таких бороздок не наблюдается. Подобные свойства фильтров следует иметь в виду при анализе распределения частиц по поверхности, при исследовании микроколоний. Наконец, ядерные фильтры производятся из тонкой пленки, которая легко морщится при неаккуратных операциях по заправке фильтра в фильтрующее устройство, при неудачной конструкции последнего. Сморщивание меняет распределение клеток, делает фильтр непригодным для учета численности.

При использовании фильтровальных колонок большая тщательность нужна при съеме фильтров, т.к. каждая небольшая капля воды в любой секции является концентратом частиц соответствующих размеров. Опыт показывает, что даже у опытного оператора не очень редко микроколичества такого концентрата попадают при разборке колонки на нижележащий фильтр, резко искажая результаты, особенно при малой рабочей поверхности фильтров.

Для исключения подобных методических ошибок, мы готовили параллельно два одинаковых препарата для эпифлуоресцентного микрокопирования пикофракции. При близких результатах величины усредняли, при резком расхождении значений браковали препарат с низкой численностью, считая, что фильтр прорван, либо образовался пузырек воздуха, хотя процедуры почти исключали такую вероятность. Браковали также препараты с резко увеличенным против обычного содержанием клеток крупнее пор "верхнего" фильтра, считая, что это результат случайного попадания микроколичеств концентрата из вышележащей секции колонки.

2.3. Физиологические опыты и фракционирование планктона фильтрацией

При исследовании скоростей различных физиологических процессов у отдельных групп планктона и в опытах по взаимодействию разных групп широко используется экспонирование природного планктона в изолированных пробах. Усилившаяся тенденция получения соответствующих данных применительно к дробным размерным фракциям требует сепарации планктона на той или иной стадии эксперимента. В опытах такого рода действуют дополнительные факторы, которые следует учитывать при анализе функциональной роли отдельных фракций планктона.

Речь идет о сложных, быстрых и недостаточно изученных процессах изменения размерного состава частиц и обмена веществом между компонентами пиковзвеси, между нею и смежными фракциями. Поэтому интерпретация результатов обсуждаемых экспериментов может быть неверной. В методическом плане важная роль должна отводиться как оптимальному выбору времени экспозиции проб, так и тому, на каком этапе опыта производится сепарация планктона на размерные фракции. Большое разнообразие задач подобных экспериментов и слабое знание всей совокупности протекающих в микрокосмосах процессов не позволяют глубоко вдаваться в соответствующие вопросы. Поэтому сошлемся лишь на некоторые факты, иллюстрирующие необходимость обдуманной последовательности процедур, связанных с фильтрацией и определенной осторожностью в оценке вклада разных фракций, в первую очередь пикопланктона, в те или иные процессы.

Если в опытах по определению первичной продукции с помощью радиоуглерода фракционирование планктона производится после относительно длительной экспозиции пробы воды с добавленной меткой, то имеется возможность попадания метки от фитопланктона

через выделенное РОВ (растворенное органическое вещество) к гетеротрофным клеткам, в первую очередь, бактериям. Тем самым к концу опыта часть продукции нано- и микропланктона может попасть в пикопланктон и после фильтрации будет ошибочно отнесена к первичной продукции мельчайшей фракции водорослей (Smith, e.a., 1984; Sondergaard, 1985). Вместе с перераспределением вещества по размерным классам при фильтрации это приводит к завышению роли пикопланктона в суммарном фотосинтезе. Изложенное выше - не предположение, а доказанное фактами явление, но его количественное выражение пока не установлено надежно для разных условий.

Сепарацию планктона можно производить перед внесением меченого углерода в склянки, но каждая дополнительная операция с планктоном денатурирует его физиологическое состояние, как и состав микрэкосистемы. Количественные оценки влияния подобных процедур на скорости процессов (в частности, на потребление фитопланктоном разных размерных групп неорганического углерода) отсутствуют, либо предварительны. Поэтому выбор этапа эксперимента, на котором производится фракционирование планктона, должен быть обоснован дальнейшими специальными исследованиями.

Описано образование в течение 4-6 час агрегатов разного размера в предварительно профильтрованной морской воде, при продувании воздуха (Тамбиев, 1986). Исследования в 20-м рейсе НИС "Профессор Водяницкий" с помощью счетчика частиц показали, что в изолированной пробе происходит быстрая и сложная динамика числа частиц размерами 5-10 и 10-25 мкм, включающая рост и последующее снижение их обилия (Шаловенков, 1986). Характер кривых менялся при разных условиях экспозиции (на свету, в темноте, после предварительной фильтрации, при постоянном встряхивании склянки). Использованный счетчик не регистрировал частицы мельче 5 мкм, но резкие изменения обилия более крупных частиц неизбежно должны сопровождаться динамикой числа частиц пикофракции с амплитудой того же порядка. Судя по имеющимся сведениям (Тамбиев, 1986), эта динамичная по размерам взвесь является преимущественно органической, представляет собой колониальные агрегаты, тесно связанные с микрофлорой. Не случайно в изолированных пробах наблюдается быстрая и значительная по амплитуде динамика содержания АТФ.

Описанные процессы быстрого образования и разрушения органических агрегатов, варьирующие в зависимости от условий экспозиции и характера предварительного фракционирования, не могут не отражаться на валовом биохимическом составе размерных фракций. В зависимости от времени экспозиции изолированных проб эта ди-

намика приводит к варьированию в распределении вещества по фракциям. Именно поэтому оценка характера и скорости процессов в отдельных фракциях по результатам опытов с изоляцией проб воды должна быть осторожной, а выбор этапа, на котором производится размерная сепарация планктона - адекватным задаче.

ГЛАВА 3

ОСНОВНЫЕ КОМПОНЕНТЫ ПИКОФРАКЦИИ ВЗВЕСИ

3.1. Общий состав пиковзвеси

Экологическое исследование фототрофного пикопланктона предполагает выяснение его роли в сообществе организмов сходных размеров и во всей пелагической экосистеме, как по структурным, так и по функциональным показателям. Для этого фототрофное звено требуется соотнести с остальными компонентами пикопланктона.

Кроме того, изучение пикопланктона методически основывается пока преимущественно на анализе пикофракции взвеси. Поэтому, имея целью определить, скажем, биохимический состав, скорости физиологических процессов, динамику численности природного пикофитопланктона, фактически часто приходится проводить тотальные анализы пикофракции и оценивать долю фотосинтезирующих организмов расчетным путем, с учетом микроскопических данных. Таким образом, при экологическом исследовании пикофитопланктона необходимо знание полного состава пикофракции и взаимодействия между ее компонентами.

Однако в настоящее время качественный состав пиковзвеси можно охарактеризовать лишь в самых общих чертах. С другой стороны, нет сомнений в том, что широкий экологический подход к изучению мельчайшего планктона, наблюдающийся в настоящее время, будет сопровождаться быстрым накоплением знаний о всех компонентах пиковзвеси, поскольку ограничиваться только живым планктоном этой фракции нецелесообразно ни с методических, ни с методологических позиций.

В морской воде взвесь размерного диапазона 2-0,2 мкм состоит из пикопланктона и неживых частиц. При общеэкологическом

подходе пикопланктон целесообразно расчленять на автотрофный (а именно — фототрофный) и гетеротрофный, поскольку в эпипелагиали это наиболее резко различающиеся в функциональном отношении звенья. В специальных исследованиях, в зависимости от их задач, можно подразделять пикопланктон иначе.

Указанные группы в настоящее время наиболее четко дифференцируются и методически, при использовании эпифлуоресцентной микроскопии. Этот метод одновременно позволяет в фототрофном пикопланктоне отдельно учитывать пиководоросли (эукариотные клетки) и цианобактерии. Следует оговориться, что приведенные названия групп не совсем точно соответствуют возможностям метода. Фактически эпифлуоресцентная микроскопия позволяет, учитывая различия в окраске, отдельно регистрировать частицы, содержащие хлорофилл и частицы, в которых преобладает фикоэритрин. Дополнительное изучение формы и размеров требуется для того, чтобы отличить пиководоросли от фрагментов разрушенных клеток. Фрагментация цианобактерий при фильтрации пока не описана, так что все фикоэритринсодержащие частицы обычно уверенно отождествляют с клетками цианобактерий. Но водоросли и цианобактерии не во всех физиологических состояниях светятся характерным для них образом. Кроме того, известны штаммы цианобактерий, содержащие мало фикоэритрина. Наконец, присутствие соответствующих пигментов не обязательно свидетельствует о полной фототрофии как пиководорослей, так и цианобактерий в исследуемом биотопе. Но все светящиеся учитываемые клетки являются, во всяком случае, потенциальными фототрофами с хорошо выраженной обычно облигатностью фототрофии, поэтому используемые названия основных подразделений пикопланктона вполне приемлемы.

В гетеротрофном пикопланктоне резко доминируют бактерии, гетеротрофные эукариоты в пикофракции пока не отмечены. В данном конкретном контексте подразделять бактерии на морфологические или функциональные группы не целесообразно, по крайней мере, на данном этапе исследований общей структуры и функционирования пикопланктона.

Неживую часть пиковзвеси условно разделим на минеральные частицы и пикодетрит. Последний отличается большим содержанием органического вещества. Точной границы между этими группами, по-видимому, не существует, но пограничные случаи пока нет необходимости рассматривать. Совершенно очевидно, что к пикодетриту должны быть отнесены фрагменты водорослей, сохранившие хлорофилл, разного рода органические агрегаты типа "морского снега", попадающие в пикофракцию при сепарации планктона. Сре-

ди пикодетрита в общем случае необходимо различать частицы, попавшие из проб воды в неизменном виде, а потому характеризующие состав природной пиковзвеси и частицы, образовавшиеся в результате изоляции пробы, фильтрации и других процедур.

Информация о пикодетрите наиболее скудна, хотя его предполагаемая роль значительна, в частности, мельчайших агрегатов коллоидной структуры (Мельников, 1974; Beers, e.a., 1986), а легкость и быстрота их образования в изолированных пробах воды (Тамбиев, 1986) заставляет усилить внимание к этим образованиям в связи с принятыми методами изучения пикофракции взвеси.

С учетом основной темы настоящей работы, изложенного достаточно для общей характеристики состава пиковзвеси, принятого подразделения ее на компоненты. Более детально должен быть описан состав пикофитопланктона. Однако полученные к настоящему времени сведения о морфологическом разнообразии, таксономической принадлежности, других показателях качественного богатства группы сильно различаются по объему в отношении пиководорослей и цианобактерий. По этой причине в следующем разделе приведена скудная информация об эукариотных представителях фототрофного пикопланктона, тогда как соответствующие данные о цианобактериях составили содержание всей последующей главы.

3.2. Эукариотные представители пикофитопланктона

Эта экологическая группа в таксономическом отношении неоднородна. В нее попадают мельчайшие представители различных флористических подразделений. При этом верхняя граница пикофракции выглядит довольно искусственной в отношении пиководорослей.

Если построить распределение по размерам различных морфологических разновидностей морских планктонных одиночных хроокоидных цианобактерий, то большинство их окажется принадлежащими пикопланктону. Следовательно, границы обсуждаемой фракции относительно удачно охватывают эту группу. Но у эукариотных организмов, по-видимому, не существует в размерном распределении видов и надвидовых групп никакой естественной границы в диапазоне 2-3 мкм, поэтому некоторые исследователи сохраняют термин ультрафитопланктон, изучая последний в составе нано- и пикофракций.

Поскольку систематика фитопланктона построена на морфологических признаках, полученных с помощью (главным образом) световой микроскопии, а сколько-нибудь детальное описание строения пиководорослей, можно дать лишь при использовании элект-

ронной микроскопии, то таксономический состав пикофитопланктона пока можно охарактеризовать лишь в общих чертах. Обычным видом для эстуарных вод в летний период называют представителя микржгутиковых *Micromonas pusilla* (Butcher) Nanton et Parke размерами 1x1,5 мкм (Johnson, Sieburth, 1982). Во многих пробах пикопланктона встречаются клетки приблизительно тех же размеров, относящиеся к безжгутиковым хлорофитам, типа *Nannochloris* и *Chlorella*. Наиболее ubiquitous оказался безжгутиковый представитель *Prasinophyta*, зарегистрированный в Атлантическом океане на разных широтах и горизонтах. Этот вид имеет клетки диаметром 0,5–1 мкм и считается наиболее мелкой известной науке формой фототрофных эукариот (Johnson, Sieburth 1982).

Хлореллоподобные клетки диаметром 1,2–1,5 мкм описаны из разных районов Тихого океана (Takahashi, Hori, 1984). Разные исследователи при инокуляции морской воды на культуральные среды сумели выделить изоляты видов, по размерам относящихся к пикофитопланктону, а по таксономической принадлежности – к прасинофитам, примнезиофитам, хризофитам (Murphy, Haugen, 1985). Обзор эукариотных морских представителей фитопланктона размерами мельче 5 мкм дополняет эти данные (Thomsen, 1986).

Таким образом, если не касаться ультраструктурных особенностей строения, то можно констатировать, что морфологическое разнообразие пикофитопланктона невелико, таксономическую их принадлежность устанавливают пока лишь в самых общих чертах. Поскольку пиководоросли – явно сборная группа, то затрудняется сравнение физиологического состояния клеток на разных глубинах и станциях. При регистрации каких-либо изменений остается неясным, являются ли они результатом различий в составе смешанной популяции или проявлением адаптации близких форм к условиям биотопа.

Сходные проблемы возникают и в отношении цианобактерий, поскольку систематика последних еще менее разработана. Тем не менее по морфологическому составу цианобактерий получено гораздо больше сведений. Это объясняется некоторыми методическими обстоятельствами, более очевидным разнообразием форм и отчасти, большей смелостью исследователей при анализе адаптаций. Такую смелость придает вошедшее в практику отнесение всех встречающихся в море коккоидных цианобактерий к роду *Synechococcus*. С помощью этой не очень обоснованной операции все цианобактерии признаются близкими родственниками, а отмечаемые морфолого-физиологические различия – адаптациями к условиям среды.

Так, или иначе, изложенным выше исчерпываются общие сведения о составе пиководорослей. Имеющиеся электронномикроскопические данные об ультраструктуре клеток не способствуют анализу экологических вопросов, например, обсуждению встречаемости тех или иных форм. Наши исследования обилия пиководорослей на большом числе станций в разных морях подтверждают, что эпифлуоресцентная микроскопия не дает возможности получения данных о качественном составе пикофитопланктона.

ГЛАВА 4

ЦИАНОБАКТЕРИИ МОРСКОЙ ПЛАНКТОНА

4.1. Морские планктонные сине-зеленые водоросли

Обсуждаемую группу прокариот сейчас называют как сине-зелеными водорослями, так и цианобактериями. В большинстве публикаций по пикопланктону используется второй термин. Кроме того, при постоянных сопоставлениях этой группы со вторым компонентом фототрофного пикопланктона — эукариотными водорослями, во избежание путаницы удобнее использовать название цианобактерии. Чтобы отличить обе группы от тех же организмов иных размеров, уместны наименования пиководоросли и пикоцианобактерии. В связи со сказанным, в настоящей работе термины сине-зеленые водоросли и цианобактерии используются как синонимы, но хроматоидные формы в пикопланктоне именуется, как правило, цианобактериями.

Для морского планктона давно известны нитевидные сине-зеленые водоросли *Trichodesmium* (*Oscillatoria*) нередко вызывающие мощное "цветение" воды в тропических широтах. Указание на присутствие других представителей этой группы в морском планктоне были до недавнего времени редкими и неопределенными. Предполагалось присутствие одноклеточных форм в Средиземном море (Lohmann, 1911). Обсуждалась возможная принадлежность к сине-зеленым, так называемых, "оливково-зеленых" клеток из южной Атлантики (Hentschel, 1936). Позже сообщалось о высоком обилии таких клеток в афотной зоне, на глубинах 600–1000 м в Средиземном, Аравийском морях, Атлантическом, Индийском океанах вплоть до субантарктических вод (Bernard, Lecal, 1960). При этом указывалось на возможную принадлежность к *Nostoc* найденных форм,

самая массовая из которых имела диаметр 3–5 мкм. Однако эти сведения не были надежно подтверждены, т.к. обычная световая микроскопия оказывается здесь непригодной. Последующие упоминания оливково-зеленых клеток показали, что этим названием обозначают любые мелкие организмы неопределенной окраски и природы. Не случайно исследование с помощью микроспектрофлуориметра клеток, предположительно отнесенных к оливково-зеленым, обнаружило случайный набор форм гетерогенной природы, судя по различиям в составе пигментов (Нарусевич и др., 1979).

Естественно, что в даже относительно недавних сводках (Fogg, e.a. 1973) обращалось внимание на почти полное отсутствие сине-зеленых водорослей в планктоне открытых вод Мирового океана, несмотря на их обилие и разнообразие (особенно – прикрепленных форм) в эстуариях, приливных зонах, скалистой сублиторали, а также в пресноводном планктоне. Выпадение сине-зеленых, за исключением *Trichodesmium* из морского планктона казалось трудно объяснимым из-за явной убиквитности группы. В итоге, когда эпифлуоресцентная и электронная микроскопия привели к обнаружению широкого распространения и большого обилия хроококкоидных одиночных цианобактерий в морском планктоне, это оказалось неожиданным.

Трудность идентификации одиночных цианобактерий морского планктона с помощью обычной световой микроскопии объясняется их малыми размерами и морфологической простотой, что не позволяет уверенно дифференцировать цианобактерии от эукариотных водорослей, бактерий, спор разной природы. Если же метод учета фито-планктона включает сгущение проб фильтрацией, то столь мелкие клетки либо проходят через фильтр (при диаметре пор около 1 мкм и более), либо плохо смыываются с фильтра.

Любопытно, что большинство одиночных морских цианобактерий относится по своим размерам к пикопланктону. Попадают ли они практически в пикофракцию – зависит во многом от условий фильтрации.

С помощью люминесцентной микроскопии нами исследованы сине-зеленые водоросли не только в пикофракции планктона. Изучались формы, задерживаемые на фильтрах, с порами 2–3 мкм, что позволило выявить колонии цианобактерий. Обследовался ситной фито- и зоопланктон, фекальные пеллеты, нефтяные агрегаты и плавающие на поверхности пластмассовые предметы. Это привело к обнаружению сине-зеленых водорослей – эпибионтов, а также симбионтов (Зайка, Малиночка, 1986). Таким образом, свободноживущие цианобактерии, одиночные и колониальные – это лишь часть представителей сине-зеленых, обитающих в пелагиали открытых районов Ми-

рового океана.

Сине-зеленые водоросли привлекали мало внимания, их интенсивное изучение начато лишь два-три десятилетия назад. Систематика их несовершенна. Даже ранг и название всей этой группы прокариот являются предметом разногласий ботаников и микробиологов. Нет общепринятого мнения о ранге отдельных признаков. Культивировать удается далеко не все формы, что затрудняет получения дополнительной информации для выделения видов.

Сине-зеленые водоросли разделяют на одноклеточные, колониальные и нитевидные. Но часть представителей двух последних групп имеют в своем цикле одноклеточную стадию, или возможно, в некоторых условиях распадаются на одиночные клетки.

Мельчайшие одноклеточные формы при исследовании с помощью обычного светового микроскопа обнаруживают крайне мало различных и надежных морфологических признаков, что не способствует разработке системы.

К *Croococcales* отнесены одиночные и колониальные формы с неполярными колониями (Pritsch, 1945). Клетки этой группы размножаются бинарным делением или эндоспорами. Одноклеточные цианобактерии со сферическими клетками были объединены в род *Chroococcus* с цилиндрическими клетками - в род *Synechococcus*

Позже (Stanier, e.a., 1971) одноклеточные и колониальные цианобактерии были разделены на три группы неопределенного ранга, из которых группа I - с тремя подгруппами. Эти группы различаются по форме клеток (сферические или цилиндрические), по наличию или отсутствию светопреломляющих полярных гранул, по особенностям деления клеток, чем определяется взаимное расположение клеток в колониях.

В последние годы электронномикроскопическое изучение полевых материалов дает информацию об ультраструктуре цианобактерий морского планктона. В то же время изменчивость соответствующих признаков почти не известна, чем затруднено их использование в систематике. Исследователи пикоцианобактерий, проявляя осторожность, относят массовые планктонные формы к хрококковым (*Chroococcales*). Изучение нескольких изолятов из океанического планктона (Waterbury, e.a. 1979) позволило отнести их к роду *Synechococcus*

Позже массовые цианобактерии морского планктона некоторые авторы стали относить к *Synechococcus*, но следует помнить, что это делается условно (Johnson, Sieburth, 1979).

В протоплазме сине-зеленых, в среднем по сухой массе, содержится 50% протеина, 30% углеводов, 5% липидов и 15% золь (Fogg, e.a., 1973), т.е. доля протеина у них выше, чем в водорослях других групп. Сухая масса составляет у сине-зеленых около 0,6 мг/мм³.

Исследования на изолятах морских пикоцианобактерий показали, что в клетках содержится углерода органического $0,4 \text{ пг/мкм}^3$, азота $0,054 \text{ пг/мкм}^3$, хлорофилла "а" $0,0038 \text{ мкг/мкм}^3$; соответственно, $C/хл=22$, $C/N=7,32$ (Takahashi e.a., 1985).

4.2. Морфология одиночных цианобактерий

Вначале сжато изложим некоторые сведения, полученные с помощью электронной микроскопии. На основе данных по ультраструктуре цианобактерий пикофракции из Атлантического океана было выделено три типа клеток (Johnson, Sieburth, 1979), но различия между ними невелики. Все клетки были сферическими или овальными. Указываются размеры $0,8 \times 1,0$ (тип I), $0,7 \times 0,9$ (II), $0,4 \times 0,5$ (III), но на фотографиях представлены и несколько иные по величине клетки.

Для северо-западной части Тихого океана и Южно-Китайского моря указаны пределы размеров цианобактерий $0,5-2 \text{ мкм}$ (Takahashi, Hori, 1984). Вблизи Японии большинство пикоцианобактерий были сферическими, либо овальными, но встречались также палочковидные формы, обитание которых было на порядок ниже (Takahashi, e.a., 1985). Приведена длина палочковидных клеток до $1,5 \text{ мкм}$, но сведения о размерах изложены недостаточно четко. Во всех упомянутых случаях изучались лишь те цианобактерии, которые прошли через фильтр с ячейей 2 (либо 3) мкм , т.е. попавшие в пикофракцию.

По периферии клеток, под плазмолеммой, концентрически располагаются тилакоиды (фотосинтетические ламеллы). Нуклеоплазма занимает центральное положение.

Все исследованные пикоцианобактерии, как и другие сине-зеленые водоросли, имеют вокруг клеточной мембраны (плазмолеммы) мощную наружную структуру, обычно называемую оболочкой. Последняя двуслойна, внутренний слой именуют стенкой, наружный - чехлом. Граница между стенкой и чехлом не всегда видна, для последнего характерно наличие микрофибрилл. Стенка и чехол в значительной мере состоят из мукополисахаридов, могут у разных форм и даже у одного вида различаться по консистенции (гель-соль), по толщине. Есть указания на то, что чехлы сильнее выражены у активно растущих клеток (Fogg e.a., 1973).

На планктонных морских цианобактериях показано, что слизистый чехол иногда может иметь дополнительную структурированность, в частности, когда клетки объединены в микроколонии. В других случаях чехол выглядит как слой радиально направленных нитей, ворсинок (Johnson, Sieburth, 1979).

Обычно объем клетки со стенкой и чехлом значительно превышает ее объем в пределах плазмолеммы, что создает методические трудности при определении размеров клетки на базе эпифлуоресцентной микроскопии. Вообще наблюдения в люминисцентный микроскоп не добавляют морфологических деталей по сравнению с электронной микроскопией и позволяет судить лишь о форме светящейся части клетки.

Если слизистые структуры снаружи от плазмалеммы не содержат пигментов, то регистрируемые при эпифлуоресцентной микроскопии размеры клеток меньше истинных. Наши многочисленные наблюдения за колониями цианобактерий показали, что студень колонии, как правило, не светится. Это позволяет предполагать, что не светится и чехол индивидуальных клеток, т.е. размеры цианобактерий занижаются. Но имеются указания и на завышение размеров клеток при люминисцентной микроскопии из-за появления ореола (Takahashi, e.a., 1985). Последнее нашими наблюдениями не подтверждается. Возможно, ореолы появляются при смещении клеток из фокуса, что приходится учитывать при изучении цианобактерий на микрофотографиях.

Тем не менее любопытно, что размеры планктонных морских цианобактерий, указываемые разными авторами на основе изучения электронномикроскопических снимков, т.е. с учетом слизистых структур, не превышают результатов наших промеров. Последние выполнены в разных акваториях, с применением люминисцентных микроскопов разных марок, несколькими наблюдателями. Если высказанные выше предположения о занижении общих размеров цианобактерий при эпифлуоресцентном изучении справедливы, то остается допустить, что обработка проб для электронномикроскопического исследования сопровождается некоторым сжатием цианобактерий.

Известны формы сине-зеленых водорослей с окрашенными чехлами, в частности, среди наземных видов. Установлено, что окраска чехлов зависит от pH среды, от уровня освещенности (Fogg e.a., 1973). В Атлантическом океане нам неоднократно встречались колонии цианобактерий со студнем, обнаруживавшим свечение. Это были колонии, явно отличавшиеся от других по ряду признаков. Значит, свечение студня здесь было свойственно не всем формам, а определенным таксонам. Интенсивность свечения студня была гораздо слабее, чем у клеток колонии, а окраска соответствовала комбинации пигментов для данного вида.

Отметим также изменчивость размеров, связанную с индивидуальным клеточным циклом. Все изученные нами и другими исследователями пикоцианобактерии удлинненной (несферической) формы имеют поперечное деление клетки. В период между делением ширина циано-

бактерий меняется мало, тогда как длина удваивается. Имеется рекомендация давать описание формы и размеров цианобактерий по клеткам, только что поделившимся (Stanier e.a., 1971). Следуя этому принципу, при полевых исследованиях смешанных популяций требуется для каждой формы строить описание на клетках минимальных размеров. Возможно, для таксономических целей этим и стоит ограничиваться, но экологически (и методически - с учетом фильтрации) важно знать как средние и предельные размеры клеток, так и долю крупных, в первую очередь, делящихся клеток в популяции.

Наконец, при содержании в лаборатории изолированных проб воды, как с добавками, так и без них, наблюдаются изменения размерного состава и отчасти формы цианобактерий, неоднократно регистрировавшиеся нами, а также другими исследователями (Takahashi e.a., 1985). Эти явления могут объясниться как популяционно-видовой реакцией на смену условий, так и сукцессионными изменениями в соотношении разных форм.

4.3. Пигменты цианобактерий

Мембраны тилакоидов, расположенные в клетках цианобактерий обычно концентрическими слоями, прилегающими к плазмолемме, содержат фотосинтетические пигменты. Вся группа сине-зеленых отличается от других водорослей тем, что из хлорофиллов содержит только хлорофилл - *a* с максимумом люминисцентного излучения (λ_{max}) при длине волны около 670 нм. Кроме того, только в этой группе и у красных водорослей имеются фикобилипротеины (Марценюк, Карнаухов, 1979; Fogg e.a., 1973; Barlow, Alberte, 1985), а именно - фикоцианин ($\lambda_{\text{max}} = 620$ нм), аллофикоцианин (650 нм), фиксэритрин (560-574 нм).

Сине-зеленые содержат также различные каротиноиды, включая ксантофиллы, в том числе характерный для группы зеаксантин. Основной функцией каротиноидов считается улавливание световой энергии и ее передача на фотосистему I для обеспечения фотосинтеза. Кроме того, они затеняют хлорофилл при избыточном освещении. Фикобилипротеины являются дополнительными пигментами, у сине-зеленых они весьма обильны, составляя до 40% общих растворимых протеинов (Fogg e.a., 1973). Локализируются фикобилипротеины не в мембранах тилакоидов, но в соседствующих с ними особых гранулах, названных фикобилисомами. Последние не только выполняют функцию светособирающих комплексов, но служат также резервом азота в клетках. При дефиците азота в среде происходит снижение количества фикоцианина и деградация фикобилисом у цианобактерий (Allen, 1985).

Соотношение пигментов непостоянно, зависит от физиологического состояния и условий обитания клеток. Для *Synechococcus* показано, что при освещении красным либо белым светом содержание хлорофилла в клетках различается в 4 раза; в меньшей мере, меняется при этом содержание фикоцианина и каротиноидов (Jones, Myers, 1965). При обитании в глубоких водах и затененных местах пигментация сине-зеленых приобретает красноватые оттенки, что также отражает изменения в составе пигментов (Fogg e.a., 1973).

Молодые клетки некоторых сине-зеленых не обнаруживают в спектре излучения полос фикобилинов, но при фотодеструкции максимум свечения смещается сначала в область 660 нм, затем - к 644-647 нм (Марценюк, Карнаухов, 1979). Таким образом, фотодеструкция может использоваться как метод выявления отдельных пигментов, маскируемых другими, более обильно представленными.

Трихомные сине-зеленые *Trichodesmium* в Атлантическом океане встречались в массе без хлорофилла (Карнаухов, Яшин, 1980). На пресноводном виде *Synechococcus linearis* при культивировании в хемостате показано, что с увеличением скорости разведения и при снижении освещения возрастает содержание хлорофилла a и билипротеинов на единицу углерода клетки (Healey, 1985). У другой пресноводной формы *Merismopedia tenuissima* обнаружено снижение содержания хлорофилла, фикоцианина и протеинов на клетку при лимитировании по биогенам (Канорка, Schuur, 1981). На четырех клонах морских планктонных цианобактерий найдено, что 50-80% общего количества каротиноидов приходится на зеаксантин (Guillard e.a., 1985). Выделены штаммы морского *Synechococcus* с доминированием в одних случаях фикоэритрина, в других - фикоцианина (Morris, Glover, 1981). С помощью электронной микроскопии показано, что в Тихом океане клетки пикопланктона на глубине 60 м имели более многочисленные тилакоиды, чем на глубине 10 м (Takahashi, Hori, 1984).

Исследование планктонных цианобактерий с помощью микроспектрофлуориметра в Средиземном и Черном морях показало (Заика, Яшин, 1984), что типичным для них был спектр автофлуоресценции, изображенный на рис. 6а. В то же время цианобактерии, отличавшиеся по форме от типичных овальных клеток, имели иногда и несколько иной спектр (рис. 6б). У типичных клеток в спектре выделялась полоса излучения фикоэритрина (575 нм) и полоса (675 нм), представляющая собой сумму полос фикоцианина и хлорофилла. В спектре крупных округлых цианобактерий из Средиземного моря полоса излучения хлорофилла практически отсутствовала, т.к. пик при 645 нм соответствует фикоцианину. Это объясняется методическими причинами (I.2).

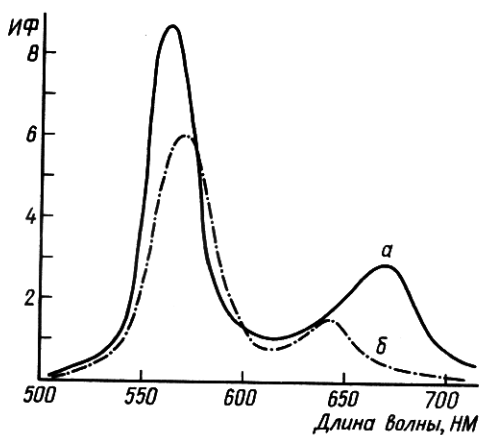


Рис.6. Спектры люминесценции цианобактерий Средиземного моря.

ИФ - интенсивность флуоресценции в относительных единицах, а - типичные эллипсоидные клетки размерами $1,5 \times 0,8$ мкм, б - округлые клетки диаметром $1,2-1,6$ мкм. Спектры сняты с помощью МФ-1, возбуждающий свет 436 нм, отрезающие светофильтры ЖС19+ЖС18.

Эти наблюдения над природными популяциями дополняются данными, полученными на изолятах морских пикоцианобактерий (Barlow, Alberte, 1985). Установлено, что у одних штаммов фикоэритрин (как в клетках, так и очищенный) дает пик эмиссии в области 560 нм, у других - при 574 нм (в клетках) и 570 нм (очищенный). Содержание фикоэритрина в расчете на клетку у изученных штаммов было в 15-20 раз больше, чем хлорофилла и в 5-10 раз больше, чем

фикоцианина. Возбуждение клеток зеленым светом (525 нм), по сравнению с синим (420 нм) дает более высокий выход флуоресценции как хлорофилла, так и фикоэритрина. Наличие фикоэритрина - специфического пигмента позволяет выделить цианобактерии среди других групп морского планктона по особенностям спектра автофлуоресценции, что можно использовать для дистанционного мониторинга (Barlow, Alberte, 1985). У морских цианобактерий представлено несколько спектрально различающихся фикоэритринов (Waterbury e.a., 1986).

4.4. Изменчивость спектральных характеристик автофлуоресценции

Основной способ "узнавания" цианобактерий при полевых исследованиях с применением элифлуоресцентной микроскопии - по желто-оранжевому свечению, которое наблюдается у большинства кле-

ток. Но при одном и том же режиме освещения в части проб встречаются клетки, отличающиеся по окраске от массовой формы. Нередко в таких случаях клетки отличаются и морфологически. Сказанное касается также колоний цианобактерий.

Опыт наблюдения позволяет узнавать цианобактерии даже при значительных отклонениях окраски от типичной. С учетом редких форм, набор вариантов окраски цианобактерий, встреченных нами в обследованных акваториях, весьма широк: темно- и светло-оранжевые, желтые, желто-зеленые, салатные. Разумеется, в отдельных случаях могут возникнуть сомнения в принадлежности клеток нетипичной окраски к цианобактериям и требуется проверка с помощью, скажем, электронной микроскопии. Кстати, светло-зеленые клетки из пелагиали океана в некоторых случаях отнесены к цианобактериям после электронномикроскопического контроля (Johnson, Sieburth, 1979).

Различия в спектральных характеристиках автофлуоресценции могут объясняться не только таксономическими причинами, но также изменениями в физиологическом состоянии клеток цианобактерий. На примере *Microcystis* для сине-зеленых водорослей показано изменение окраски у одного вида в зависимости от возраста культуры - молодые клетки при люминесцентном освещении почти красные, благодаря повышению содержания фикобилинов, но встречаются в это время и салатные клетки (Марценюк, Карнаухов, 1979).

4.5. Подвижность пикоцианобактерий

Одиночные цианобактерии морского планктона, как правило, обнаруживают некоторую подвижность (Заика, Яшин, 1984). Она трудно отличима от броуновского движения, но и не сводима к нему, причем характерна именно для пикоцианобактерий. Находящиеся рядом водоросли и детритные частицы тех же размеров остаются неподвижными при тех же условиях наблюдения.

Движение пикоцианобактерий хаотическое, включает колебания (иногда показывающие, что клетка закреплена одним концом), короткие смещения, вращения на месте. Подвижность может усиливаться в первую минуту после попадания клетки в освещенное поле зрения. Среди одновременно наблюдаемых цианобактерий часть клеток может оставаться неподвижной - такие всегда расположены ниже подвижных, лежат на фильтре. Доля неподвижных клеток невелика и непостоянна для разных проб. Подсыхание препарата снижает долю подвижных клеток.

Подвижность известна для многих форм сине-зеленых водорослей, ее механизм не очень понятен. Основной тип их движения - сколь-

жение, но и в основе других форм подвижности сине-зеленых всегда лежит выделение слизистых микротяжей, состоящих из пектиновых кислот и мукополисахаридов (Fogg e.a., 1973). На электронномикроскопических снимках одиночных цианобактерий из морского планктона также иногда ясно видны микрофибриллы, торчащие радиально во все стороны и составляющие наружный слой мукоидного чехла (Johnson, Sieburth, 1979).

Можно предположить, что все подвижные цианобактерии имеют такие микрофибриллы, не позволяющие клеткам плотно прилегать на препаратах к поверхности фильтра. Клетка как бы приподнята на студенистых "ножках", что само по себе способствует ее реакции на микротоки жидкости, т.е. пассивному перемещению. К этому добавляется активное перемещение, вероятно, связанное со слабоизученным "выстреливанием" через поры плазмолеммы новых порций слизи, образующих микрофибриллы (Fogg e.a., 1973).

Цианобактерии в колониях неподвижны. В то же время приходилось неоднократно наблюдать отрыв крайних клеток от колонии и приобретение ими описанной выше подвижности. Такое явление представляется еще одним косвенным свидетельством в пользу предположения, что наблюдаемые в составе колоний клетки и одиночные клетки той же морфологии нередко принадлежат одному виду.

В последнее время получены данные о способности некоторых морских *Synechococcus* к плавательному движению (Waterbury e.a., 1985). Такую способность обнаружили клетки 6 из 40 выделенных из Атлантического океана штаммов. Подвижные формы коккоидны или палочковидны, длиной 1,25-2,5 мкм и диаметром 0,7-0,9 мкм. В упомянутых штаммах в фазе экспоненциального роста более половины клеток плавают в среде, не касаясь поверхностей, со скоростью 5-25 мкм/с. По ходу клетки описывают спирали, делают повороты, иногда крутятся на месте, могут производить колебательные движения, закрепившись на субстрате одним концом. По наблюдениям авторов, подвижность клеток не менялась при изменениях освещения, при выдерживании в темноте до 12 ч.

Описанные данные подвижности цианобактерий, в сущности, не отличаются от результатов наших наблюдений (Заика, Яшин, 1984). Но если авторы направленное перемещение клеток признают плаванием, то мы придерживались более осторожной интерпретации, поскольку даже в окантованном герметично препарате возможны микротоки жидкости, переносящие цианобактерий. Таким образом, способность цианобактерий подниматься над субстратом, вращаться, совершать краткие перемещения мы считаем доказанной. Но это свойство клеток облегчает возможность их переноса микротоками, возникающими за счет градиентов температуры, плотности жидкости,

особенно в негерметичном препарате. Поэтому способность цианобактерий к направленному плаванию требует дополнительных доказательств.

Несомненно интересны различия штаммов по признаку подвижности (Waterbury e.a., 1985). Нами установлено, что различающиеся по подвижности клетки из смешанной природной популяции имеют достоверно разное время фотодеструкции (9.3). Следовательно, обсуждаемые признаки могут быть полезными как при оценке физиологического состояния клеток, так и для различения таксономических групп.

ГЛАВА 5

ФОРМЫ ЦИАНОБАКТЕРИЙ И ИХ ВСТРЕЧАЕМОСТЬ

5.1. Одиночные свободноживущие цианобактерии

Наблюдения в режиме эпифлуоресцентной микроскопии охватили обширные морские акватории и дают общее представление о морфологическом разнообразии и встречаемости разных форм цианобактерий в исследованных акваториях. Эти сведения для отдельных районов будут дополнены имеющимися электронномикроскопическими данными о форме и размерах клеток.

При исследовании Средиземного моря в июне-июле 1983 г. (Заика, Яшин, 1984) в олиготрофных водах открытых районов, от Балеарских о-вов на западе до о. Кипр на востоке, наиболее массовыми среди одиночных цианобактерий были клетки эллипсоидной формы $1,5 \times 0,8$ мкм. Эта форма особенно преобладала на глубине пика цианобактерий. Кроме того, в отдельных районах выше и ниже глубины пика довольно обильными были округлые клетки диаметром около 1 и $1,5-2$ мкм.

В январе 1986 г. в открытой части Ионического моря (ст. 2990) обнаружено большое разнообразие цианобактерий, округлых и овальных. Довольно часто встречались микроколонии и цепочки из 4-8 клеток. Встречались также цепочки из овальных клеток, соединенными длинными сторонами, что может свидетельствовать об их продольном делении. Найдены очень вытянутые палочковидные формы, длиной 4-5 мкм и диаметром 0,6-0,7 мкм, которые на этой станции были не единичными, хотя и составляли не более 1% от общего числа цианобактерий. В Эгейском море в этот период по обилию преобладали округлые мелкие цианобактерии диаметром 0,9-1,2 мкм. Эти клетки в приповерхностной воде были, в основном, тусклыми и неподвижными. В то же время типичные для летнего средиземномор-

ского планктона эллипсоидные клетки были зимой в Эгейском море яркими и подвижными, не уступали по обилию мелким коккоидным формам. В тех же пробах было немало эллипсоидных цианобактерий, отличавшихся от типичных по размерам: $1,3 \times 1,1$; 2×1 ; $2,3 \times 1,3$ мкм.

В Индийском океане весной 1984 г. (Заика, 1986) цианобактерии, в основном, были представлены округлыми клетками диаметром $0,5-0,8$ мкм. Следующая по обилию форма – овалы $1 \times 0,8$ мкм. Таким образом, здесь преобладали очень мелкие цианобактерии.

В открытой части Черного моря в июле 1983 г. обнаружено большое разнообразие цианобактерий без выраженного доминирования какой-либо формы. Массовыми были 3–4 морфологических разновидности, крайние из которых по линейным размерам различались приблизительно втрое. В мелководной северо-западной части моря в августе 1985 г. цианобактерий было очень мало, зарегистрированы они лишь на некоторых станциях. Встречались округлые клетки менее 1 мкм, овалы $1,5 \times 0,8$ мкм и шаровидные крупные диаметром 2–3 мкм. В январе 1986 г. в западной и северо-западной частях моря преобладали округлые цианобактерии диаметром $0,5-0,6$ мкм. В 2–5 раз меньше было округлых клеток диаметром 1,3 мкм. Встречались также единичные палочковидные тусклые клетки длиной до 5 мкм, еще реже – палочковидные $2,6 \times 1,3$ мкм.

В Атлантическом океане среди одиночных цианобактерий обычно доминировали округлые клетки диаметром $1-1,5$ мкм, овалы $1,5 \times 0,8$ мкм. Изредка попадались единичные яркие шаровидные клетки диаметром 2–3 мкм, однажды найдены цианобактерии длиной 1,5 мкм, имеющие каплевидную форму.

В некоторых районах Атлантики массовыми были палочковидные клетки длиной 2,5–6, диаметром $0,5-0,8$ мкм. Указанные пределы размеров охватывают несколько разновидностей. Обычно в пробе преобладала одна из следующих форм: $1-2 \times 0,5$; $2,5-3 \times 0,5-0,8$; $4-6 \times 0,5-0,7$ мкм. Указаны размеры клеток, не имеющих перетяжки и наиболее массовых в пробе, тем не менее различать клетки, находящиеся на разных стадиях жизненного цикла, не всегда возможно, поэтому три формы выделены условно. Палочковидные цианобактерии распадаются на две группы по признаку подвижности. Относительно "толстые" и короткие клетки обычно были неподвижными, яркими, сохраняли постоянно форму прямой палочки. Более тонкие клетки (какими почти всегда были цианобактерии длиной более 3–3,5 мкм) проявляли подвижность, причем их тело червеобразно изгибалось. Часто на препарате такие червеобразные клетки "висели" в жидкости вертикально, не касаясь поверхностей. Для этой формы характерно также тусклое свечение во многих случаях, разгорание в

ходе освещения. Иногда более яркими были концы клетки при тусклой средней части. При содержании на герметичных препаратах среди червеобразных цианобактерий через несколько дней появлялись уродливые клетки — согнутые углом, с утолщенным концом или утолщением в средней части.

Интересны данные по встречаемости палочковидных цианобактерий в Атлантическом океане. На II станциях первого этапа рейса (от 24° с.ш. до 14° ю.ш.) ни на одном горизонте такие клетки не отмечались. Начиная с 15° ю.ш. (ст. 2938) они стали массовыми, доминировали на глубине пика цианобактерий. На разрезе П палочковидные клетки встречались до м. Кап-Блан и позже — в Средиземном море, но были массовыми на обоих разрезах лишь в полосе между 15° и 21° ю.ш.

Приведенные сведения дают общую характеристику встречаемости основных морфологических разновидностей цианобактерий в исследованных акваториях, но далеко не исчерпывают список форм. Это особенно наглядно проявляется при периодическом обследовании герметизированных парафином препаратов (см. 8.2), на которых в результате сукцессии появляются формы, не отмеченные при начальном изучении пробы. В этих условиях сильнее проявляется способность некоторых разновидностей клеток образовывать колонии. Для более полной характеристики разнообразия палочковидных цианобактерий отметим, что именно на препаратах была найдена форма 3-3,2 мкм длиной и 0,6 мкм в диаметре со строго палочковидными (не червеобразными) неподвижными клетками, соединенными концами в короткие ломаные цепочки. В свежих пробах подобные по размерам "тонкие" палочковидные цианобактерии всегда были одиночными и червеобразными.

Имеющиеся в литературе сведения о форме и размерах цианобактерий морского пикопланктона не позволяют существенно дополнить наши наблюдения. Предполагая, что анализ электронномикроскопических снимков может быть полезен для характеристики общей морфологии клеток, наряду с эпифлуоресцентной микроскопией, можно сослаться на следующие сведения. В северной части Атлантического океана и Карибском море зарегистрированы цианобактерии 0,8x1; 0,7x0,9 и 0,4x0,5 мкм (Johnson, Sieburth, 1979). Из вод умеренной зоны Южной Атлантики выделены подвижные округлые клетки, а также палочковидные, длиной 1,25-2,5 и диаметром 0,7-0,9 мкм (Waterbury e.a., 1985). Для северо-западной части Тихого океана и Южно-Китайского моря указаны цианобактерии размерами от 0,5 до 2 мкм (Takahashi, Hori, 1984), в океанических и прибрежных водах вблизи Японии преобладали округлые и овальные клетки, на порядок меньше было палочковидных цианобактерий длиной 0,6-

1,5 мкм (Glover e.a., 1985).

Таким образом, нашими наблюдениями обнаружен более широкий спектр размеров одиночных цианобактерий. Палочковидные клетки, особенно их подвижные разновидности – червеобразные цианобактерии, по нашим данным, могут достигать 4–6 мкм, а делящиеся – еще большей длины. При фильтрации практически все они проникают через "Нуклеопор" с порами 2 мкм, тем самым попадая в пикофракцию планктона.

С учетом приводимых в настоящей работе сведений о колониальных и прикрепленных цианобактериях, общее морфологическое разнообразие этой группы в морской эпипелагиали оказывается весьма большим. В стратифицированных водах на разных горизонтах обычно хорошо выражено доминирование отдельных разновидностей цианобактерий, наиболее адаптированных к соответствующим условиям. В районах с интенсивным вертикальным и горизонтальным перемешиванием вод морфологический состав цианобактерий более разнообразен, доминирование отдельных форм не выражено столь явно.

Отмечается увеличение средних размеров цианобактерий с глубиной. На трех станциях в разных водных массах северо-западной части Атлантического океана выше термоклина подавляющая часть цианобактерий попадала во фракцию 0,6–1 мкм, тогда как в нижележащих слоях возрастала их доля во фракции 1–5 мкм (Glover e.a., 1986). При этом морфологически и серологическими методами не установлено различий между цианобактериями с разных глубин.

В субантарктических водах Тихого океана (Микаэлян, 1987) микроскопические измерения размеров показали, что диаметр клеток, усредненный по данным 14 станций, выше термоклина был в 1,2 раза меньше, чем у цианобактерий из более глуболежащих горизонтов.

Такая тенденция увеличения размеров цианобактерий с глубиной иногда отмечалась и по нашим данным, но сопоставление с формой клеток показывает, что картина довольно сложна. В Средиземном море летом, как упоминалось в начале раздела, на отдельных станциях ниже пика основной, эллипсоидной разновидности преобладали более крупные округлые клетки. Впрочем, иногда они доминировали и выше глубины пика эллипсоидных цианобактерий. В тех районах Атлантического океана, где максимум образовывали крупные палочковидные клетки, в вышележащих водах доминирование переходило к овальным и округлым клеткам меньших размеров.

Таким образом, в основе размерных различий цианобактерий по глубинам лежит расхождение отдельных разновидностей по экологическим требованиям к среде. В пределах вертикального профиля регистрируются смешанные популяции, но каждая из форм в той или

иней мере доминирует на предпочитаемой глубине, что отражается в изменениях среднего размера клеток по глубинам. Эти особенности распределения изменчивы во времени и пространстве, в связи с динамикой гидрологических условий. Поэтому до появления надежных методов выявления генетической разнокачественности цианобактерий трудно определить, в какой мере изменение средних размеров связано со сменой разновидностей по глубинам и с адаптацией одной формы к существованию в разных условиях освещения, температуры, снабжения биогенными элементами. На трех станциях в Атлантическом океане (Glover e.a., 1986; Prezelin e.a., 1986), не выявив у цианобактерий с разных глубин иных различий, кроме размерных, и полагая, что популяция генетически однородна, авторы связывают увеличение размеров клеток при возрастании глубины с повышением числа мембран тилакоидов (ростом числа или плотности фотосистем I и II), а также с увеличением концентрации биогенных солей.

5.2. Прикрепленные пикоцианобактерии

При исследовании "верхнего" фильтра (2,5 мкм) в Атлантическом океане нередко встречались группы и колонии цианобактерий не в свободном состоянии, но в составе микрообраста, т.е. прикрепленные к тем или иным субстратам. Поскольку объем проб составлял 20 мл, то речь идет лишь об очень мелких и обильных частицах. Встречаемые на всех станциях зеленоватого или голубоватого свечения детритные частицы пикофракции прикрепленных к ним цианобактерий не имели. Обычно последние встречались на частицах детрита размерами 5–20 мкм, отличающихся буроватым свечением. По нашему предположению, эти частицы имеют больше органических компонентов в своем составе, в частности, продуктов разложения растительных пигментов. Они могут оказаться, скорее всего, фрагментами фекальных пеллет растительноядных животных.

Ассоциации цианобактерий с такими бурными частицами встречались в пробах единично, приблизительно, на половине станций, на глубинах от 0 до 150 м, но преимущественно в слое 100–120 м. Мелкие округлые цианобактерии диаметром 0,4–0,7 мкм, имеющие золотистую окраску, регистрировались в числе 20–50, иногда – до нескольких сот на частице детрита. Встречались и более крупные цианобактерии – до 2–3 мкм, а также палочковидные формы.

Приблизительно с той же частотой встречались цианобактерии, ассоциированные с пиководорослями (либо также с изолированными хлоропластами, что различить не удавалось). Эти ассоциации характерны также для глубин 100–120 м, причем, в ассоциацию вхо-

дила не обязательно единственная "красная" частица. По численному соотношению пикоцианобактерий и пиководорослей в ассоциации встречались, например, комбинации 3:1, 25:1, 8:2, 30:10, 50:26 и др.

Прикрепленные цианобактерии обнаруживаются также при исследовании сетного планктона, являясь компонентами микрообраста организмов, а иногда и симбионтами, тесно связанными с хозяином. В Средиземном море (при участии В.А.Яшина) на крупных обломках раковин планктонных фораминифер были найдены колонии из почковидных цианобактерий. Явный симбиоз цианобактерий с динофлагеллятами *Dinophysiales* установлен на материале из тропической Атлантики (Заика, Малиночка, 1986). Все обследованные виды этой группы из родов *Histioneis*, *Parahistioneis*, *Ornithocercus* содержали обычно по 20-50, иногда - сотни цианобактерий на клетку, локализованных в полости разросшихся оторочек шва створок. Следует отметить, что это явление давно известно, но цианобактерий считали тельцами неизвестной природы. Называли их "феосомами", причем, для некоторых тропических динофлагеллят были описаны специальные "феосомамеры", несомненно, образованные в результате адаптации партнеров к постоянному сожительству. Обычно симбиотические цианобактерии динофлагеллят имеют размеры 4-8 мкм, т.е. крупнее пикопланктона. Здесь они упомянуты для лучшего понимания экологического спектра группы. В частности, приведенный пример показывает, что некоторые пикоцианобактерии могут оказаться приуроченными не к детриту, как таковому, а к планктонным организмам. В тех случаях, когда отмирание хозяев не сопровождается немедленной элиминацией цианобактерий, последние могут регистрироваться на результирующих детритных частицах.

При микроспектрофлуориметрическом обследовании сетного планктона тропической Атлантики полосы фикозеритрина были найдены в спектре некоторых радиолярий и диатомовой водоросли *Triceratium* (Карнауков, Яшин, 1980). Это позволило авторам сделать предположение о симбиозе данных организмов с цианобактериями. Хотя последние микроскопическими наблюдениями не удалось зарегистрировать, возможность наличия симбиоза или эпобиоза цианобактерий у названных хозяев следует исследовать дополнительно.

К вопросу о прикрепленных цианобактериях имеют отношение и полученные нами данные по встречаемости этих организмов в фекальных пеллетах планктонных ракообразных.

5.3. Цианобактерии в кишечнике и фекалиях планктонных животных

В Атлантическом океане было исследовано с помощью эпифлуоресцентной микроскопии несколько десятков планктонных животных. Обнаружено, что в пищеварительной системе некоторых копепод и личинок гастропод встречаются в небольшом числе золотистые цианобактерии. В районе м. Кап-Блан все исследованные аппендикулярии содержали в кишечнике цианобактерий, но водорослей было гораздо больше. Окраска цианобактерий не показывала признаков разрушения пигментов и остается неясным, явилось ли это следствием недавнего попадания клеток в кишечник, либо способности цианобактерий сохранять жизнеспособность при поедании их некоторыми формами планктонных животных. Впрочем, результаты исследования фекалий ракообразных свидетельствуют скорее в пользу второго предположения.

Зоопланктон из сетных проб, полученных вертикальными ловами в слое 100-0 м, помещали в сосуды с водой и исследовали появляющиеся на дне сосуда фекальные пеллеты. Эти наблюдения проводились в районе, где на глубинах 65-100 м были отмечены колонии, состоящие из сотен округлых цианобактерий диаметром 1,0-1,5 мкм, обладающих золотистым свечением.

В крупных фекальных пеллетах, имеющих диаметр 0,06-0,11 мм и длину до 1 мм, оказалось очень много золотистых цианобактерий. Обычно отдельные участки пеллет были плотно "нашпигованы" цианобактериями, тогда как смежные участки их почти не содержали, имея буроватое свечение. Это может свидетельствовать о переменном случайном потреблении рачками колоний цианобактерий, наряду с другой пищей. В то же время, в сопоставлении с низкой концентрацией колоний в планктоне, количество клеток в фекалиях и их встречаемость необычно велики. В одной пробе планктона из 34 исследованных фекальных пеллет 29 содержали многие сотни цианобактерий. Поскольку последние имели золотистую окраску, уместно предположить их способность проходить интактными через кишечник копепод. Их обилие в фекалиях довольно трудно объяснить: либо рачки активно потребляют колонии цианобактерий, хотя последние не усваиваются, либо цианобактерии размножаются, находясь в пищевом комке рачков и позже, в фекальных пеллетах. Разумеется, наличие в свежееотложенных фекалиях сотен клеток цианобактерий невозможно считать потомством нескольких заглоченных, но описанная выше встречаемость цианобактерий на мелких детритных частицах свидетельствует о том, что некоторые их формы предпочитают

прикрепленный образ жизни, контакт с оформленным органическим веществом. Прикрепленные к детриту цианобактерии несомненно размножаются. Отметим также, что мы неоднократно наблюдали на частицах детрита подвижность цианобактерий (округлых и палочковидных), т.е. их контакт с детритом не вынужденный. По-видимому, попадая в фекальные пеллеты, некоторые формы не покидают их при разрушении, находя на частицах детрита благоприятные условия существования.

5.4. Типы колониальных цианобактерий и их встречаемость

В Атлантическом океане на меридиональных разрезах I-II колонии цианобактерий (все типов вместе, кроме зеленых) встречены на 23 станциях (64% от общего числа станций), причем на II станциях они найдены только на одном из горизонтов. Колонии регистрировались от 0 до 150 м, и зона их встречаемости в целом располагалась несколько ниже полосы максимума одиночных цианобактерий (рис.7).

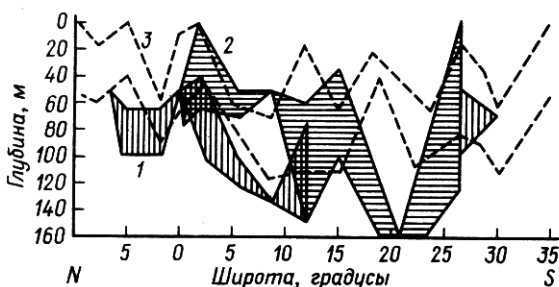


Рис.7. Вертикальная зона распространения колониальных цианобактерий в Атлантическом океане (разрез II).

I — колонии с желто-оранжевыми, 2 — с зелеными клетками, 3 — границы полос максимального обилия одиночных цианобактерий.

Приняв за 100% общее число проб (с разных глубин по всем станциям), в которых встречены колонии, получаем, что на глубине пика одиночных цианобактерий встречаемость колоний составляет 21%, выше пика 21%, ниже 58%. Чаще всего колонии встречались в слое 40-80 м (рис.8.).

Аналогичные расчеты проведены для района м.Кап-Блан. Здесь колонии найдены на всех 7 станциях, причем в 5 случаях на 3-6 горизонтах. Таким образом, встречаемость колоний в этом районе

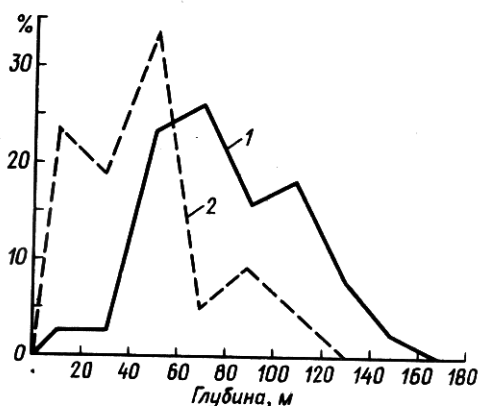


Рис. 8. Встречаемость (в %) колониальных цианобактерий по глубинам в Атлантическом океане.

I — на основных разрезах, 2 — на станциях у м. Кап-Блан.

была существенно выше, а глубина нахождения — меньше (рис. 8.2).

Колонии с клетками зеленой окраски ("зеленые колонии") регистрировались, начиная со II разреза. Не исключено, что они спорадически попадали в пробы и на разрезе I, но не были отнесены к цианобактериям, а привлекли внимание лишь при повышенной встречаемости. На разрезе II они зарегистрированы на 7 станциях (колонии типичной окраски — на 9), у м. Кап-Блан — на 5 станциях. Встречались зеленые колонии на глубинах от 0 до 150 м и даже 175–190 м (ст. 61). В целом по разрезу II зона их встречаемости, приблизительно, соответствовала полосе пика одиночных цианобактерий.

Численность колоний в I л, как правило, не превышала 25–50, лишь в единичных случаях возрастала до 500–600.

На основе таких признаков, как форма и размеры клеток, характер их взаимного расположения в колонии и, в меньшей мере — особенности автофлуоресценции, для Атлантического океана выделено несколько типов колониальных цианобактерий. Вероятно выделенные типы принадлежат разным таксонам.

Тип I. Относительно часто встречались колонии с округлыми клетками диаметром около 1 мкм. Студенистая основа этих колоний содержала рыхло расположенные клетки. Иногда клетки образовывали недлинные цепочки, формирующие рыхлый клубок. Студень колонии не светится, клетки имеют различную окраску, от бледно-жел-

той до ярко-оранжевой. В колонии от 7-8 до 100-200 клеток. Анализ выборки из 24 колоний этого типа показал, что 67% от их числа содержали до 40 клеток (в том числе 50% - до 20), 12% - 41-80 и 21% колоний - более 80 клеток. Ясно, что размеры колоний при этом варьировали. Поскольку рыхлые колонии на фильтре уплотняются, меняя размеры, последние не приводятся.

Тип II. Столь же часто встречались колонии с округлыми (часто шаровидными) клетками диаметром 1,3-1,5 мкм. Как и в предыдущем случае, клетки одной колонии обычно светились сходно. В разных колониях окраска клеток варьировала от бледно-желтой до темно-оранжевой. Обычно свечение было более интенсивным и сдвинутым ближе к красной области спектра, по сравнению с типом I. По расположению клеток в колонии тип II более гетерогенный: наряду с рыхлыми колониями, в которых клетки расположены без видимого порядка, изредка встречались еще два вида "упаковки" - колонии плотные и иерархической структуры. В первом случае несколько десятков клеток тесно сближены между собой, образуют комок, сохраняющий форму на фильтре. В колониях иерархической структуры сотни попарно собранных клеток образуют подгруппы из 15-20 клеток, последние оформлены в десятков групп, составляющих колонию. Единицы каждой более высокой ступени различаются по возрастанию "просвета" - свободного от клеток студня.

Для более многочисленных колоний рыхлого строения на выборке из 28 колоний выяснено распределение по числу клеток (рис. 9), причем до 40 клеток содержало 64% колоний, сходно с типом I. Колонии не содержали более 100 клеток.

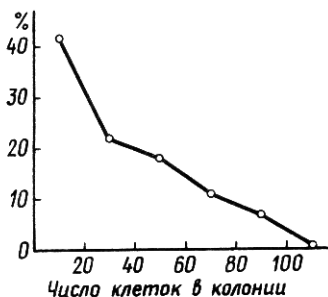


Рис. 9. Распределение колоний цианобактерий (тип II) по числу клеток в Атлантическом океане

Тип III. Колонии с типичными для летних олиготрофных средиземноморских вод клетками: овальными, 1,3-2,0 x 0,7-0,8 мкм (длина до 2 мкм характерна для делящихся). Обычно образуют рыхлые клубки из небольших цепочек. В Атлантическом океане изредка встречались некрупные колонии этого типа, иногда плотные. Иногда клетки объединены попарно.

Тип IV. Колонии из мелких округлых клеток диаметром 0,5-0,7 мкм. В небольших колониях - 20-25 клеток. Более крупные обнаруживают иерархическую структуру: по 10-20 клеток образуют шаро-

образные группы диаметром 6-8 мкм, таких шаров в колонии - до 50-70. Мелкие цианобактерии часто выглядят золотистыми.

Тип У. Колонии из 16-30 ярких округлых клеток диаметром около 3 мкм. Выделен из-за крупных размеров клеток.

Тип УІ. Условно объединяет формы с характерной автофлуоресценцией: центральная часть клетки выглядит тусклой, краевой ободок яркий. Колонии (за одним исключением) довольно плотные, но с угадываемой иерархической структурой, содержат 15-20 шаровидных клеток диаметром 2,5 мкм. Одна колония имела 180 округлых клеток диаметром 1,2-1,5 мкм.

Тип УІІ. Колонии диаметром 30-40 мкм, содержащие 15-20 конусовидных клеток (выглядят как треугольные или каплевидные). Длина клеток в одной колонии варьирует от 2,5 до 7-8 мкм. Наиболее крупные из клеток - это делящиеся. Характерной чертой является явная флуоресценция студня колонии того же желтоватого тона, что и у клеток, но гораздо менее интенсивная. Клетки могут быть объединены в двойки, тетрады и более крупные группы, в пределах колонии.

Тип УІІІ. Колонии рыхлой структуры, содержащие от 6-7 до 80-100 клеток. Характерна палочковидная форма клеток. Обычные их размеры 2,6-4,0 x 0,5-0,7 мкм. Наибольшая указанная длина свойственна делящимся клеткам. Изредка встречались клетки длиной 2 мкм. Наконец, однажды найдена колония с крупными клетками 4,5 x 1,5 мкм.

"Зеленые колонии" выглядели на фильтрах более уплотненными. Их округлые клетки зеленой окраски имели обычно диаметр 1,3-1,5 мкм. Иногда клетки образовывали цепочки, в отдельных колониях до 50% клеток были двояными. По разу встречены колонии с клетками диаметром 3 мкм и с каплевидными клетками длиной 2 мкм. Зеленые колонии содержали до 100 клеток, но в большинстве случаев - не более 30. Студенистая основа колоний обычно имеет слабую автофлуоресценцию того же тона.

Можно предполагать, что описанные колонии принадлежат описанным выше типам (прежде всего типу П), в которых по неизвестным причинам клетки приобрели зеленое свечение. Но встречаемость (по районам и глубине) зеленых колоний отличается от желто-оранжевых (рис. 7, 2), что свидетельствует скорее о самостоятельности формы с зеленой автофлуоресценцией. Таким образом, природа зеленых колоний пока остается неясной.

В Средиземном море летом 1983 г. встречались колонии цианобактерий только двух типов. На полигонах П-Ш колонии состояли из клеток, по форме, размерам и спектру не отличавшихся от типичных

для этих районов одиночных цианобактерий, т.е. были овальными, размерами 1,5 x 0,8 мкм.

На полигоне II колонии представляли собой рыхлые клубки из извитых цепочек небольшой длины (в Атлантическом океане такие колонии отнесены к типу III). Расстояние между клетками в цепочках 2-7 мкм. В 8 изученных колониях насчитывалось от 22 до 70, в среднем 45 клеток. Колонии встречались, в основном, на глубине 100 м, где в разных пробах их концентрация составляла от 30 до 800 колоний в 1 л.

На полигоне III была найдена лишь одна крупная шарообразная колония диаметром около 20 мкм, содержащая сотни клеток.

Рекордное обилие колоний зарегистрировано на полигоне IV; на глубине пика одиночных цианобактерий (75 м). Колонии состояли из округлых клеток диаметром около 1,5 мкм, отличавшихся от типичных и по спектру флуоресценции. Концентрация колоний составляла 19 тыс./л. В 70 колониях определили число клеток, которое в среднем составляло 45, доходило до 187. Анализ распределения колоний по числу клеток показал, что оно близко к нормальному, если по оси абсцисс отложить число клеток в геометрической прогрессии (рис. 10).

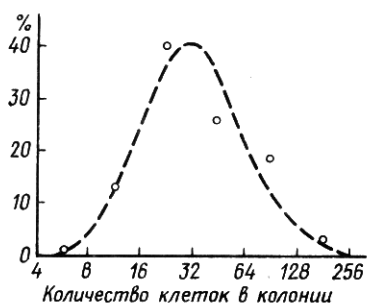


Рис. 10. Распределение колоний цианобактерий по числу клеток в Средиземном море.

Число клеток цианобактерий в составе колоний на глубине 75 м составляло 850 кл/мл, а одиночных здесь же насчитывалось 13 тыс. кл/мл. Это показывает, что даже при рекордном обилии колонии не давали существенного вклада в общую численность цианобактерий. Интересно отметить, что через сутки после содержания пробы воды в лаборатории, при температуре около 20°C и минимальном освещении, все колонии цианобактерий находились у поверхности воды, причем значительно возрос процент делящихся клеток.

В январе 1986 г. в Средиземном море встречены единичные колонии, содержащие около сотни золотистых клеток диаметром менее 1 мкм. Найдены также "зеленые" колонии с клетками диаметром 1,5 мкм, при числе клеток до 50 экз. на колонию. Такие же колонии найдены в этот период и в Черном море, где зарегистрированы единичные колонии еще

двух типов: 1) очень мелкие золотистые клетки, диаметром около 0,5 мкм, по 20-100 клеток в колонии; 2) иерархическая колония размером около 0,2 мм, состоящая из мелких цианобактерий. В последнем случае колония представляла собой ассоциацию многочисленных цианобактерий со столь же многочисленными пиководорослями. В августе 1985 г. в северо-западной части Черного моря колонии не найдены.

В Индийском океане колонии встречены на двух полигонах. Число колоний достигало 1,5 тыс./л. В основном, это были колонии иерархического строения, содержащие до 200 слегка удлинённых клеток, приблизительно, $1 \times 0,8$ мкм. Клетки внутри колонии были спаренными и собранными в группы по 16-30 экз.

ГЛАВА 6

ВЕРТИКАЛЬНОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПИКОФИТОПЛАНКТОНА

6.1. Неоднородность распределения пикофитопланктона по глубинам

При очевидной методической сложности и трудоемкости исследования пикопланктона, обработка проб с большого числа горизонтов, что требуется для детального анализа вертикального распределения ("профилей") по станциям, проводилась лишь несколькими исследователями. Но уже первые специальные работы по пикопланктону, при малом охвате глубин, выявили скопления цианобактерий в нижней части эвфотической зоны (Johnson *et al.*, 1982). Эти сведения нашли косвенное подтверждение в физиологических экспериментах с культурами морских цианобактерий, показавших, что последние могут давать больший вклад в первичную продукцию при низких интенсивностях света (Morris, Glover, 1981). Измерения продукции фитопланктона по размерным фракциям также показали в разных акваториях, что с увеличением глубины доля пикофракции в общем фотосинтезе часто возрастает. Все это увеличивало интерес к специальному исследованию вертикальных профилей пикофитопланктона.

Профиль для слоя 0–40 м был получен по цианобактериям в 15 км от побережья Южной Калифорнии (Krempin, Sullivan, 1981), при общей глубине 600 м. Небольшой пик обилия отмечен на 30 м. Те же авторы на станции в мелководном канале нашли, что численность цианобактерий убывала с глубиной.

В олиготрофных водах Средиземного моря в летний период было получено 7 вертикальных профилей на 4 станциях, причем в слое от 0 до 120–200 м брали 7–10 горизонтов (Заика, Яшин, 1984).

По этим материалам впервые было показано, что в стратифицированных водах цианобактерии и пиководоросли распределены по глубине очень неравномерно, образуют резко выраженные максимумы. Последние закономерно разобщены по глубине: единственный пик цианобактерий располагался на глубинах 65–80 м, основной максимум пиководорослей – в слое 100–120 м, или 60–85 м, как правило, ниже пика цианобактерий на 10–30 м.

Более детально эти материалы рассмотрены (Зайка, 1986) с привлечением данных по мезотрофным водам Индийского океана, где подтвердились (на 5 профилях) те же черты вертикального распределения обеих групп пикофитопланктона (рис. II-12). Были сделаны следующие заключения:

1. При анализе вертикальных профилей цианобактерии обычно обнаруживают единственный максимум, пиководоросли – от I до 3, из которых нижний обычно основной.

2. Максимумы обеих групп, в обсуждаемых типах вод при выраженной их стратификации, редко совпадают по глубине; обычно пик цианобактерий располагается выше.

3. Как правило, основной максимум пиководорослей наблюдается в пределах глубин 50–120 м, цианобактерий – в слое 30–80 м.

Эти обобщения касались открытых районов Средиземного моря и Индийского океана, при выраженной вертикальной стратификации эпипелагиали. Вскоре отмеченные выше закономерности были подтверждены на обширных материалах по северной Атлантике (Murphy, Haugen, 1985). Эти данные, вместе с результатами наших исследований вдоль протяженных меридиональных разрезов в Тропической Атлантике позволяют проследить как широтные изменения вертикальных профилей пикофитопланктона, так и влияние на них других океанографических факторов. Соответствующие материалы изложены в следующем разделе, и здесь коснемся лишь некоторых вопросов.

Получение в Атлантическом океане большого массива данных по вертикальным профилям существенно пополнило представления о возможных отклонениях от типичной картины распределения пикофитопланктона по глубине. Если наличие 2–3 максимумов для пиководорослей было зарегистрировано еще в Средиземном море, то второй пик цианобактерий, расположенный у поверхности и уступающий основному, был обнаружен нами на меридиональных разрезах в Атлантике, на 13 станциях из 36 (не считая своеобразного района прибрежного апвеллинга у м. Кап-Блан). Обычно приповерхностный максимум встречался на 0 м, в четырех случаях – на 15–35 м. Сходное явление зарегистрировано и на ряде станций в более северных районах океана (Murphy, Haugen, 1985). По нашим материалам, об-

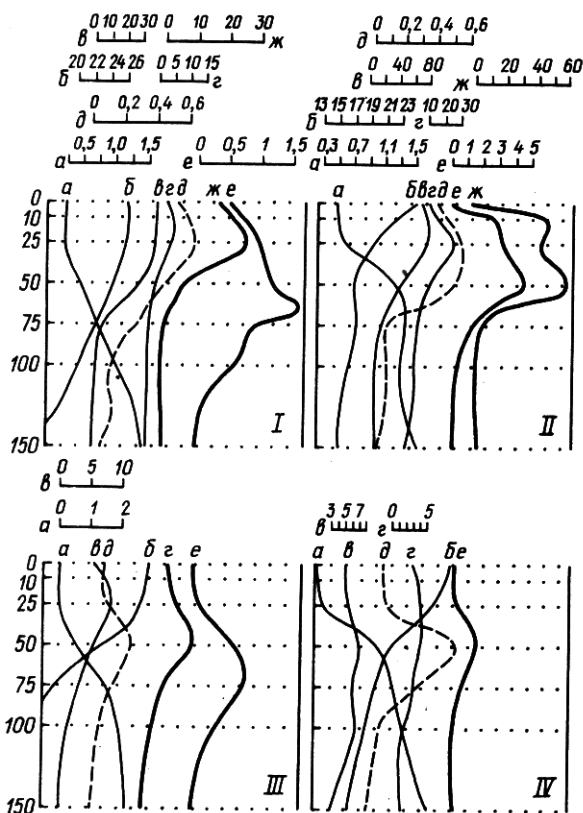


Рис. II. Вертикальные профили пикофитопланктона и других переменных в Индийском океане.
 I - ст. 2123, II - ст. 2157, III - ст. 2182, IV - ст. 2226;
 а - фосфаты ($\text{мкг} \cdot \text{ат} \cdot \text{л}^{-1}$); б - температура ($^{\circ}\text{C}$);
 в - АТФ ($\text{нг} \cdot \text{л}^{-1}$); г - микрозоопланктон ($\text{экз} \cdot \text{л}^{-1}$);
 д - хлорофилл ($\text{мг} \cdot \text{м}^{-3}$); е - пиководоросли (тыс. экз. мл^{-1}); ж - цианобактерии (тыс. экз. мл^{-1}). (Зайка, 1986).

суждаемый дополнительный максимум был выражен слабо, по концентрации клеток значительно уступал основному, глубинному пику. Поэтому в дальнейшем обсуждается лишь основной пик обилия цианобактерий.

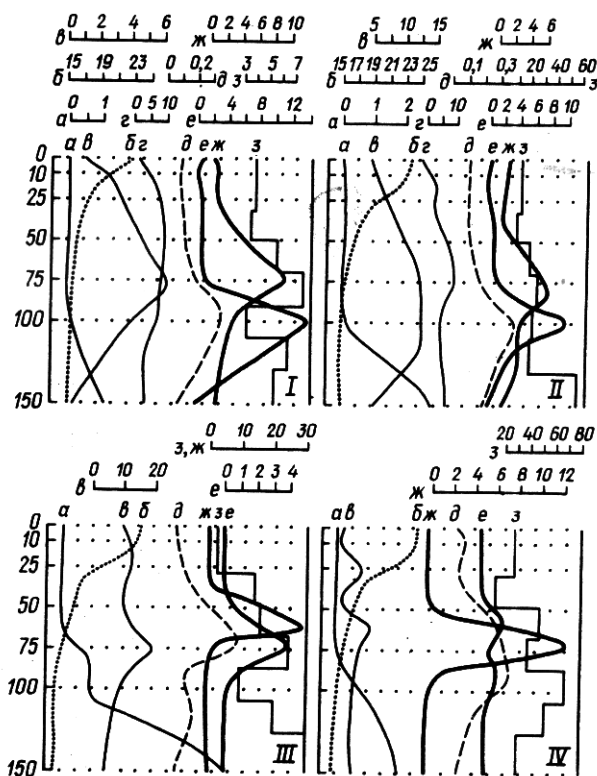


Рис. 12. Вертикальные профили пикофитопланктона и других переменных в Средиземном море.

I-IV - полигоны, а - натраты ($\text{мкг}\cdot\text{ат}\cdot\text{л}^{-1}$); з - сетной микропланктон ($\text{мг}\cdot\text{м}^{-3}$); остальные обозначения - как на рис. II (Зайка, 1986).

Сравнивая изменения обилия цианобактерий и пиководорослей по обе стороны от глубины пика, отметим более плавное снижение концентрации клеток в сторону поверхности и резкое - с увеличением глубины. На материалах по Атлантическому океану это наглядно показано при анализе "размытости" максимумов (6.2). Резкое понижение обилия цианобактерий и пиководорослей книзу от максимума отмечено и для умеренных вод северной Атлантики (Murray, Naugle, 1985). Усиление вертикального водообмена в Средиземном

море в зимний период сопровождается относительным выравниванием обилия пикопланктона кверху от глубины верхнего пика, снижение численности клеток обычно становится более плавным, что, в среднем, сильнее выражено у цианобактерий.

Поскольку в большинстве исследований на каждой станции получают единственный вертикальный профиль пикопланктона, об устойчивости наблюдаемой картины приходится судить косвенно, сравнивая профили по близко расположенным станциям, в пределах однородных водных масс. В наших исследованиях в некоторых случаях выполнялись длительные (до нескольких суток) станции, на которых удавалось провести повторные исследования вертикального распределения пикопланктона. Это позволило установить, что в открытых водах Индийского, Атлантического океанов и Средиземного моря (в летний период) глубины залегания максимумов цианобактерий и пиководорослей на протяжении нескольких дней не меняются или смещаются незначительно (на 10–20 м). К тому же, такие смещения могут быть кажущимися, связанными с различиями в выборе горизонтов отбора проб. С другой стороны, на положение пиков несомненно влияют такие короткопериодические явления, как внутренние волны.

В последние годы появилась информация об особенностях вертикальных профилей фототрофного пикопланктона в южных районах Тихого океана. В субтропической зоне максимум цианобактерий обнаружен на 75 м (Iturriaga, Mitchell, 1986). В этой зоне и на некоторых станциях в субтропической фронтальной зоне максимумы пиководорослей располагались на глубине 120 м, на 10–30 м ниже, чем пик цианобактерий (Микаэлян, 1987). По данным этого автора, на других станциях в субтропической фронтальной и в субантарктической зонах максимумы обеих групп пикофитопланктона регистрировались на одинаковой глубине, обычно в пределах слоя 40–100 м. На единственной станции, выполненной в антарктической зоне, максимумы поднимались на глубину 25 м.

Подобный подъем пиков обеих групп характерен, как будет показано далее, и для водных масс умеренной зоны при зимнем снижении температуры и интенсивном вертикальном перемешивании, а также для районов апвеллингов. В прибрежных водах мелководных районов, судя по имеющимся данным, вертикальные профили пикофитопланктона отличаются пестротой и неустойчивостью.

6.2. Широтные изменения вертикальных профилей в Атлантическом океане

Наиболее детально проследить широтные изменения в глубине залегания максимумов цианобактерий и пиководорослей позволяют протяженные разрезы, выполненные нами в Атлантическом океане. На рис. 13 представлено положение максимума обилия каждой из двух групп по всем станциям. Прежде всего можно отметить, что

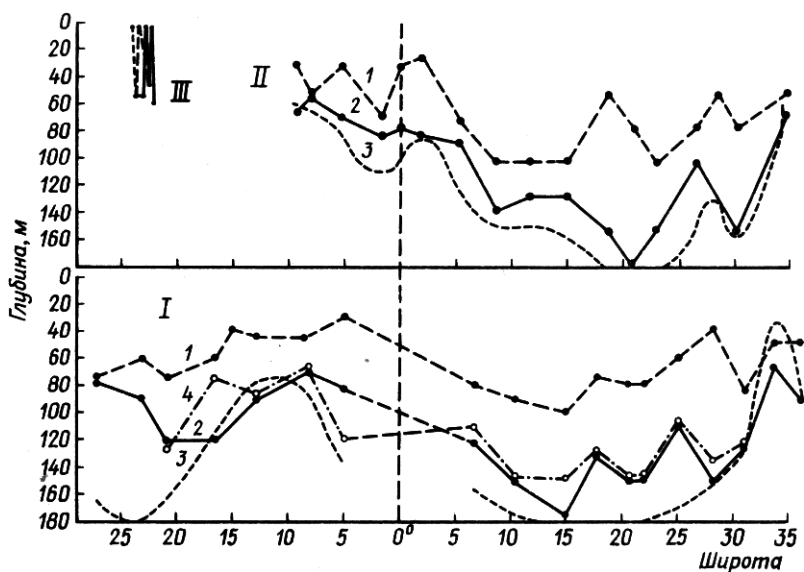


Рис. 13. Глубина залегания максимума численности цианобактерий (I) и пиководорослей (2) в Атлантическом океане. I-II - основные разрезы, III - квазиразрез у м. Кап-Блан. 3 - положение изотермы 18°C , 4 - граница нижнего слоя (обсуждается в 10.3).

почти на всех станциях основных разрезов (I-II) максимум пиководорослей располагался ниже, чем цианобактерий. Исключение составляли две станции, на которых пики обилия обеих групп были на одной глубине. Видно также, что на основных разрезах пики обилия располагались не у поверхности океана. Максимум цианобактерий обычно находился не выше 40 м и лишь на 5 станциях вблизи экватора - на 25-30 м. Максимум пиководорослей соответственно не поднимался выше 70 м (за 5 исключениями) и ни разу - выше 50 м. Совершенно иной характер распределение пикопланктона

имело на полигоне в районе м.Кап-Блан. Для сравнения эти данные представлены на рис.13 в виде квазиразреза (Ш). Здесь пики обеих групп располагались от 0 до 55 м; кроме того, обращает внимание неустойчивость залегания их от станции к станции. В некоторых случаях максимум пиководорослей оказывался выше, чем цианобактерий. В целом, наблюдаемая картина, несомненно, отражает сильное вертикальное перемешивание вод в обсуждаемом приповерхностном слое.

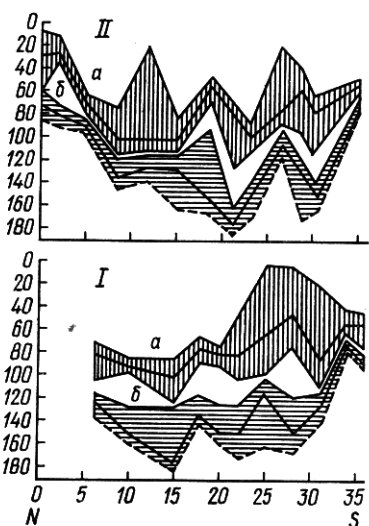
Возвращаясь к основным разрезам, отметим ещё одну особенность глубины залегания пиков: их положение для обеих групп менялось практически синхронно как в пределах каждого разреза, так и по широтам (одновременно на двух разрезах). Действительно, максимум цианобактерий был наиболее заглубленным на обоих разрезах в зоне от 5° до $23-24^{\circ}$ ю.ш., достигая 100 м и не поднимаясь до 70 м (за исключением ст.2963). Устойчивое верхнее положение пика цианобактерий (выше 70 м) наблюдалось от 5° ю.ш. до 20° с.ш., а также южнее 25° ю.ш., с приближением к побережью и устью Ла-Платы. Аналогичные изменения в залегании максимума, но на более низких горизонтах, прослеживаются и у пиководорослей.

По данным, полученным в северной части Атлантического океана, от 18° до 63° с.ш. (Murphy, Haugen, 1985), пик цианобактерий в стратифицированных океанических водах располагался на глубинах 50-75 м, пиководорослей - на 10-25 м ниже. На станциях, выполненных в области континентального склона, максимум цианобактерий смещался в слой 25-50 м, а в неритической зоне - на глубины 10-30 м. В районах интенсивного вертикального перемешивания вод пики обеих групп были размытыми и совпадали по глубине. Таким образом, описанные черты вертикального распределения цианобактерий и пиководорослей обоснованы обширными материалами разных исследователей, проявляются на больших пространствах Атлантического океана и могут считаться надежно установленными закономерностями.

Обсуждаемые данные о глубине залегания пика на каждой станции получены по максимальным величинам обилия клеток для вертикальных профилей, построенным по дискретным точкам. Дискретность отбора проб по глубинам не позволяет точно определить истинное положение пика для каждой станции. Поэтому основываться на общем ходе линий на рис.13 надежнее, чем на отдельных точках. Кроме того, имеет значение и степень размытости пиков, т.к. случайные ошибки в определении обилия клеток, при большой дискретности в отборе проб, могут сильно исказить форму профиля.

Чтобы проверить надежность заключений о залегании пика и показать степень его размытости, произвели следующие расчеты. Обилие клеток на всех горизонтах каждого профиля сравнили с максимальной величиной. Глубины, на которых обилие отличалось от максимального не более, чем на 25%, относили к области пика, переходя в таких случаях от глубины максимума к слою максимума. Принимали также, что истинный пик, если он пропущен, помещается не далее середины слоя между горизонтами отбора проб, примыкающего сверху и снизу к слою максимума. За счет этого ширина "вероятного слоя максимума" еще более увеличивалась.

Результирующие полосы показаны на рис. 14 для зоны южнее экватора. Очевидно, что сделанные выше заключения о взаимном рас-



положении максимумов цианобактерий и пиководорослей вполне надежны, т.к. полосы не перекрываются. Мало того, при данном способе анализа синхронность в изменении глубины залегания пиков обеих групп проявляется даже более наглядно.

Помимо того, что анализ "доверительного интервала" подтверждает возможность достоверного суждения о динамике залегания максимумов обилия по рис. 13, он полезен и для характеристики размытости пиков. С этой точки зрения наиболее интересен участок от 15° до 21° ю.ш. (рис. 14), где пик цианобактерий выражен наиболее резко, т.е. ширина полосы минимальна. Именно в этой зоне пик был образован червеобразными клетками (подвижной разновидностью палочковидных цианобактерий). Таким образом, раз-

Рис. 14. Положение слоя максимального обилия цианобактерий (а) и пиководорослей (б) в Атлантическом океане (южнее экватора).
I-II - основные разрезы.

мытость пика может свидетельствовать как об интенсивном вертикальном перемешивании вод, так и о физиологической неоднородности группы, когда каждая разновидность имеет сходное обилие

на глубине собственного пика, а пики эти расположены на разных горизонтах. Что касается цианобактерий, то на разрезах I-II размытый пик (с шириной полосы более 50 м) отмечен менее, чем на 10 станциях. Как правило, клетки концентрировались в довольно узком слое воды. То же самое характерно и для пиководорослей. Можно также отметить, что у обеих групп размытость максимума "вверх" выражена обычно сильнее, чем "вниз", т.е. к поверхности океана обилие клеток понижалось более плавно. По пиководорослям нижняя граница полосы очерчена менее надежно, т.к. отбор проб иногда завершали на глубине их максимума, но данные по другим станциям, а также по другим акваториям подтверждают сделанное заключение.

Изменение в залегании глубины максимумов пикопланктона по разрезам важно сопоставить с динамикой абсолютного обилия клеток на соответствующей глубине. Этот показатель, представленный на рис. 15, менялся плавно на основных разрезах, в отличие от стан-

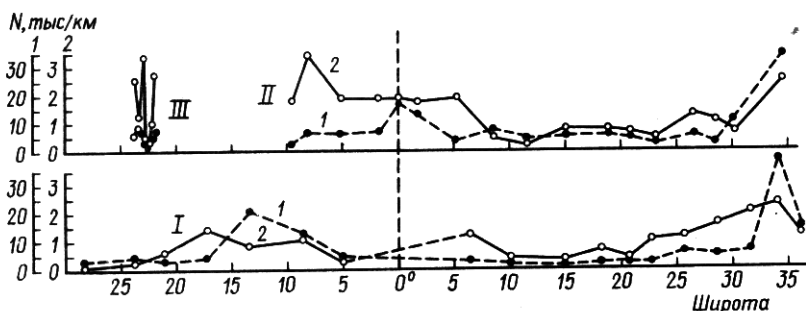


Рис. 15. Численность цианобактерий (I) и пиководорослей (2) на глубине максимума в Атлантическом океане.

I-II - основные разрезы, III - квазирезерв у м. Кап-Блан.

ций полигона у м. Кап-Блан, где на малом пространстве наблюдались резкие скачки в обилии клеток, особенно пиководорослей.

Численность пиководорослей на глубине их максимума была небольшой (не выше 0,7 тыс./мл) на обоих разрезах в зоне от 7-8° до 21° ю.ш. Столь же низкой она была к северу от 20° с.ш. на разрезе I. Высокое обилие в пике (более 2 тыс./мл) наблюдалось лишь

на 6 станциях - на двух, расположенных рядом, наиболее южных станциях обоих разрезов, на ст. 2978 в районе 8° с.ш. и на трех станциях полигона у м.Кап-Блан.

Обилие цианобактерий в общем менялось синхронно с пиководорослями, при небольших отличиях. Зона минимальной численности в пике (не более 5 тыс/мл) была протяженнее: от 9° до 29° ю.ш. на обоих разрезах и севернее $15-16^{\circ}$ с.ш. - на разрезе II. Наибольшее обилие цианобактерий зарегистрировано на тех же южных станциях двух разрезов, что и у пиководорослей. Кроме того, свыше 15 тыс/мл цианобактерий найдено на экваторе (разрез II) и в области 13° с.ш. (разрез I). У м.Кап-Блан обилие цианобактерий на глубине их пика было низким.

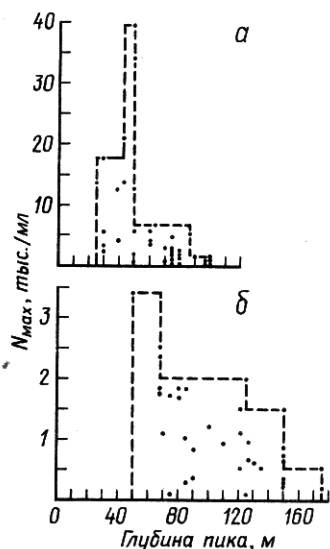


Рис.16. Связь максимальной численности цианобактерий (а) и пиководорослей (б) с глубиной залегания пика в Атлантическом океане.

Сравнение рис. 13-15 показывает, что на основных разрезах уменьшение глубины залегания максимумов цианобактерий и пиководорослей сопровождается увеличением обилия клеток обеих групп. Однако это справедливо лишь для горизонтов ниже 50 м, что отчетливо является на рис. 16. Концентрация цианобактерий свыше 7,5 тыс/мл наблюдалась только в тех случаях, когда их пик был в слое 25-50 м, а обилие свыше 20 тыс/мл - при залегании пика на 45-50 м. Это объясняется статистическими причинами, т.к. встречаемость пика была одинаковой, к примеру, в слоях 45-50 и 75-80 м.

Таким образом, обилие цианобактерий в максимуме растет при смещении последнего от 100 м вверх, вплоть до 45-50 м. Аналогичное явление характерно и для пиководорослей. Их концентрация

свыше 1,5 тыс/мл наблюдалась при залегании пика в слое 50–125 м, а три случая обилия, превышающего 2 тыс/мл, зарегистрированы в пиках, расположенных в пределах 50–65 м.

По материалам из северной Атлантики, полученным другими исследователями, численность пикопланктона на глубине максимума колебалась, приблизительно в тех же пределах, которые установлены нами. Для цианобактерий эти пределы составили 0,1–340 тыс/мл, для водорослей "ультрапланктона" – 1–42 тыс/мл (Murphy, Haugen, 1985). По нашим данным, цианобактерий на глубине пика насчитывалось 0,3–40 тыс/мл, пиководорослей 0,1–3,5 тыс/мл. Если учесть, что в цитируемой работе учитывали все водоросли, проходящие через фильтр с порами 8 мкм (хотя и указано, что доминировали пиководоросли), а концентрация бактерий свыше 100 тыс/мл найдена на 8 станциях, из 50, причем в 5 случаях – в неритической области, то сравниваемые величины следует признать довольно близкими. При этом отметим различия в использованных типах фильтров, способах фильтрации и учета клеток.

Общий характер изменений обилия пикопланктона на глубине максимумов для Атлантического океана показан на картах (рис. 17–18). Следует иметь в виду, что концентрация цианобактерий и пиководорослей изображены в разных масштабах и фактически цианобактерий обычно на порядок больше.

В северной Атлантике цианобактерии были наиболее многочисленными в зал. Мэн и в зоне Гольфстрима, приблизительно, между 35 и 55° с.ш., но далее к северу их концентрация снижалась. Много водорослей ультрапланктона (Murphy, Haugen, 1985) было также в зал. Мэн и в зоне Гольфстрима. Но они сохранили высокое обилие и севернее 60° с.ш., а также были многочисленны в области верхней ветви Азорского течения.

Согласно нашим материалам, наиболее высокая численность цианобактерий была там, где Бразильское течение подходит к устью Ла-Платы. Возможно, что помимо влияния речного стока здесь имела значение и близость Фолклендского холодного течения. Концентрация цианобактерий была повышена также в области экватора на 22° з.д. и в зоне северного пассатного течения на 30° з.д. Относительно мало цианобактерий зарегистрировано как в олиготрофных водах южно- и североатлантического антициклонных круговоротов, так и в зоне прибрежного апвеллинга у м. Кап-Блан.

Пиководорослей в олиготрофных водах тоже было мало, но их обилие увеличивалось в области экватора (где зарегистрирован подъем вод) и с приближением к побережьям Южной Америки и Африки, а также на части станций мелководного полигона у м. Кап-Блан.

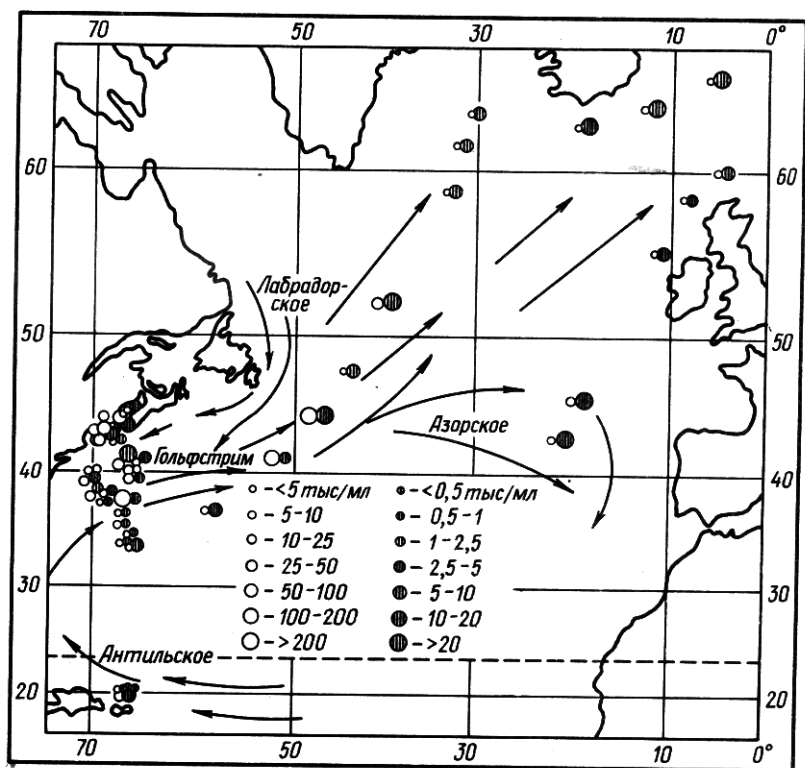


Рис. 17. Численность пикофитопланктона на глубине максимума в северной части Атлантического океана. Светлые кружки - цианобактерии, темные - пиководоросли (по данным Murphy, Naugen, 1985).

Таким образом, как в северной, так и в южной Атлантике изменение обилия цианобактерий и пиководорослей от станции к станции не всегда менялось в одном направлении. Это естественно, поскольку обе группы предъявляют разные требования к условиям среды, что явно выражено в существенном разобщении их пиков по вертикали в стратифицированных водах. Соответственно обе группы находятся под влиянием несколько различающихся океанологических факторов. Так, пиководоросли с их более заглубленным максимумом мало связаны с поверхностными течениями, а иногда находятся даже в иных водных массах, нежели выше лежащие цианобактерии. По этим причинам закономерности, а главное - причины наблюдаемого

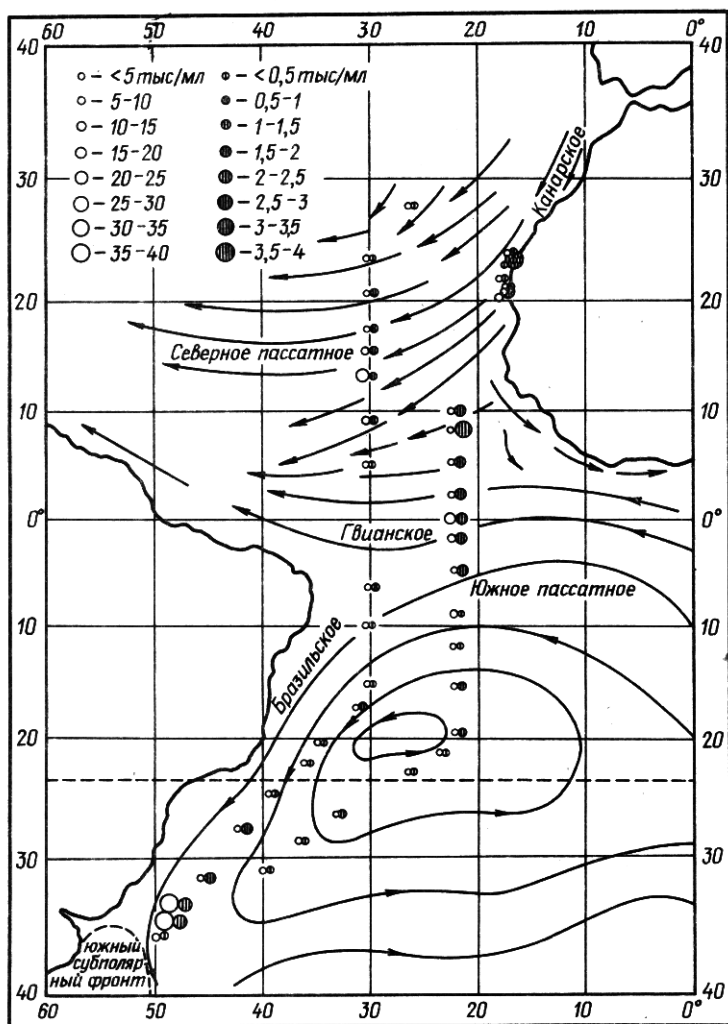


Рис. 18. Численность пикофитопланктона на глубине максимума в южной части Атлантического океана.
 Светлые кружки - цианобактерии, темные - пиководоросли.

распределения и обилия обеих групп в океане невозможно выявить при простом наложении данных на батиметрические карты и схемы общей циркуляции приповерхностных вод. Для каузального анализа экологии обеих групп пикопланктона по полевым данным необходим сравнительный анализ вертикальных профилей различных экологичес-

ких факторов.

Численность пикопланктона в поверхностной воде (0м) Атлантического океана на основных разрезах в общем повторяла характер изменения обилия на глубине максимума, но с гораздо более сильными флуктуациями у цианобактерий (рис. 19).

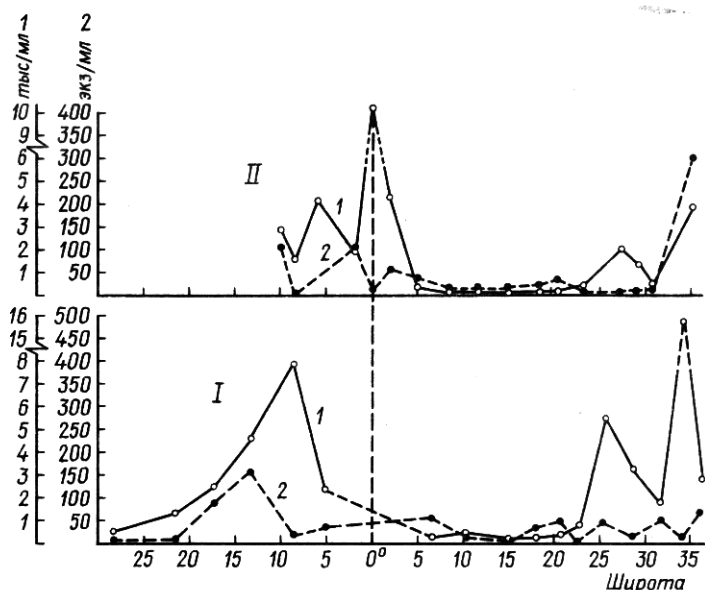


Рис. 19. Численность пикофитопланктона в Атлантическом океане у поверхности.

I - цианобактерии, 2 - пикодинофиты, I-II - основные разрезы.

Концентрация пикодинофитов на разрезе I не превышала 50 кл/мл, за исключением двух станций, где она составляла 70 и 150 кл/мл. На многих станциях разреза II пикодинофиты на 0м не были обнаружены. В районе экватора (от 10° с.ш. до 6° ю.ш.) их обилие повысилось до 10-50 кл/мл, и лишь на самой южной станции разреза достигло 300 экз/мл. По сравнению с обилием пикодинофитов на глубине их максимума приведенные величины очень низки.

Противоположная картина наблюдалась на полигоне у м. Кап-Блан. При большом общем размахе флуктуаций (от 140 до 3200 кл/мл), на 4 из 7 станций полигона обилие у поверхности превышало 1300 кл/мл, причем, на 3 станциях максимум пикодинофитов зарегистрирован именно на 0м. Концентрация клеток у поверхности в этом районе соответствовала самым высоким значениям обилия пикодинофитов

лей из обнаруженных во всей исследованной акватории Атлантического океана.

Концентрация цианобактерий у поверхности на разрезе I обычно не превышала 4 тыс/мл, на трех станциях повышалась до 5-8 тыс/мл и на южной ст. 295I составляла 15,5 тыс/мл. На разрезе II цианобактерии на Ом были крайне малочисленны (менее 0,3 тыс/мл) от 5° до 25° ю.ш. Южнее и севернее этой зоны их обилие возрастало до 1-4 тыс/мл, а на экваторе составило 10 тыс/мл. Как и в случае пиководорослей, обилие цианобактерий на Ом было значительно ниже, чем на глубине пика.

На полигоне у м. Кап-Блан, несмотря на перемещение максимума цианобактерий к поверхности на 5 из 7 станций, концентрация их не превышала 7 тыс/мл, т.е. намного уступала рекордным для изученной акватории величинам. Следовательно, в приповерхностных водах обсуждаемого района условия развития были менее благоприятными для цианобактерий, чем для пиководорослей.

6.3. Сезонные различия профилей в Средиземном море

Сопоставляя между собой все летние и все зимние профили пикопланктона, полученные в Средиземном море, прежде всего, отметим сходство средних для зимы и для лета величин обилия каждой из групп автотрофного пикопланктона на глубине их максимумов. Летом численность цианобактерий в пике колебалась от 6 до 44 тыс/мл (в среднем 20), пиководорослей - от I до 14 тыс/мл (в среднем, 5). В зимний период максимальное для каждого профиля обилие цианобактерий колебалось от 9 до 26 тыс/мл (среднее 16), а пиководорослей - от 0,3 до 17 тыс/мл (среднее 3). Следовательно, в целом для разных открытых районов бассейна не отмечено больших различий между зимой и летом в концентрации цианобактерий и пиководорослей на глубине залегания их пика.

В двух районах Средиземного моря выполненные летом и зимой станции располагались относительно близко (рис. I-2), а именно в Алжиро-Прованском бассейне (пол. III и ст. 2989) и в Ионическом море (пол. IV и ст. 2990). Это позволяет более детально сравнить отличия в вертикальном распределении пикопланктона в разные сезоны (рис. 20). В период летней стратификации в обоих районах цианобактерии образовывали резко выраженный пик на глубине 65 и 75 м с концентрацией клеток 44 и 25 тыс/мл. При этом за пределами слоя от 40-50 до 90-100 м цианобактерии встречались в очень малом числе. Зимой в тех же районах максимальное обилие цианобактерий не превышало 13-14 тыс/мл, пик не был резко выраженным,

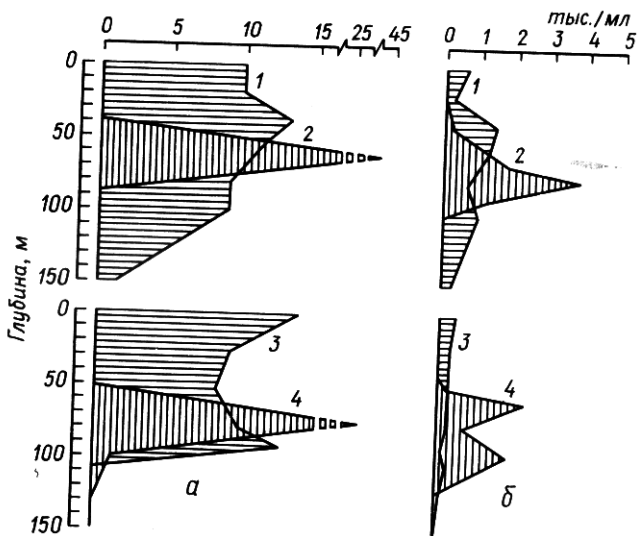


Рис. 20. Сравнение летних и зимних профилей обилия цианобактерий (а) и пиководорослей (б) на смежных станциях в Средиземном море.

1 - ст. 2989 (зима), 2 - полигон III (лето),
3 - ст. 2990 (зима), 4 - полигон IV (лето).

Т.к. близкие концентрации клеток регистрировались в слое 0-100 м. Ниже 100 м обилие падало столь же быстро, что и летом. Выше этого горизонта интенсивное перемешивание вод вызывало относительно равномерное распределение цианобактерий. Благодаря увеличенной мощности слоя развитие цианобактерий, их общая численность в столбе воды зимой даже превышает летние значения. Сравнение заштрихованных площадей на рис. 20 показывает, что в слое 0-150 м число цианобактерий зимой было выше в Алжиро-Прованском бассейне в 1,1, а в Ионическом море - в 1,5 раза. Следовательно, общее количество цианобактерий в открытых водах этих районов мало меняется от лета к зиме, но характер распределения пищи для потенциальных потребителей этой группы в обсуждаемые сезоны резко различен. Кроме того, если особенности летних профилей цианобактерий для олиготрофных вод этих районов позволяют предполагать, что максимальная скорость их размножения наблюдается на глубине залегания пика, то для зимних профилей анализ усложняется. В этом случае сильное вертикальное перемешивание

вод затрудняет ответ на вопрос — на каких глубинах в пределах слоя 0–100 м наблюдаются наибольшие скорости размножения цианобактерий в зимний период?

Вертикальные профили пиководорослей в зимний и летний периоды в тех же районах обнаруживают сходные различия. Как и в случае цианобактерий, летом наблюдаются резко выраженные пики в нижней части зоны обитания пиководорослей. Зимой происходит "размывание" пиков, связанное с выравниванием обилия клеток во всем слое от 0 до 120–150 м, и слабо выраженные максимумы плотности смещаются ближе к поверхности. Общее обилие пиководорослей в слое 0–150 м зимой в Алжиро-Прованском бассейне было в 1,4 раза выше, а в Ионическом море — втрое ниже, чем летом.

Поскольку в сравниваемых районах зимой и летом выполнено лишь по одной станции, то более надежными представляются те сезонные различия, которые проявляются в обоих районах и на обеих группах пикопланктона. Что же касается общего обилия цианобактерий и пиководорослей, то его скорее нужно признать мало меняющимся по сезонам. Кроме того, сезонные изменения в обилии пикопланктона целесообразно сопоставить с привлечением материалов по всему Средиземному морю.

Судя по всем 7 профилям, полученным в Средиземном море летом, максимум цианобактерий находился в это время на глубинах от 60 до 80 м, пиководорослей — на 10–25 м ниже (от 75 до 100 м). Лишь в одном случае основной максимум (2,4 тыс/мл) пиководорослей был на 60 м (выше пика цианобактерий), но при этом на 95 м наблюдался второй максимум, близкий по величине (1,9 тыс/мл).

Для зимнего периода, также по данным 7 профилей, выявилась более пестрая картина вертикального распределения пикопланктона, но со следующими явными тенденциями: более равномерное, чем летом распределение клеток в слое 0–100 м, относительно слабая выраженность основных пиков и частое их смещение на меньшие глубины, появление дополнительных пиков. Цианобактерии обнаружили основные пики на глубинах от 0 до 50 м, лишь однажды на 75 м. В двух случаях наблюдались дополнительные пики на 90 и даже на 150 м. Пиководоросли также показали основные максимумы в слое 0–50 м, в том числе трижды — у самой поверхности. Однажды мощный дополнительный максимум наблюдался на 150 м.

Неустойчивость вертикальных профилей пикопланктона в зимний период иллюстрируется, в частности, на примере трех близко расположенных станций в Эгейском море (ст. 2992–2994). Все станции различались по глубине залегания пиков каждой из групп автотрофного пикопланктона. Значительными были колебания численности

клеток на каждом горизонте. Так, обилие цианобактерий на Ом составляло 2,6–9,2 тыс/мл, на 100 м – от 0 до 9,9 тыс/мл. Численность пиководорослей на Ом менялась от 0,04 до 0,5 и на 100 м – от 0 до 0,4 тыс/мл.

6.4. Зимние профили пикофитопланктона в Черном море

На 9 станциях в Черном море, где зимой пробы брали до 100 м (остальные станции – мелководные), вертикальное распределение обеих групп пикофитопланктона походило на зимние профили для Средиземного моря, но с сильнее выраженным смещением максимумов к поверхности. На всех этих станциях наблюдали по одному пику цианобактерий, у пиководорослей лишь однажды был дополнительный максимум (на 65 м). На 7 станциях пики обеих групп располагались на 0 или 25 м, на двух станциях – на 50 м, причем в 6 случаях пики цианобактерий и пиководорослей совпадали по глубине.

На примере Средиземного моря уже обсуждалось зимнее "размывание" максимумов, для которого характерно выравнивание обилия клеток, более явно выраженное кверху от глубины максимума. Зона максимума расширяется и книзу, но к горизонту 100 м численность пиководорослей обычно снижается зимой до очень низких значений. То же характерно и для Черного моря, но при более сдвинутых к поверхности пиках особенности профилей в слое 80–100 м проявляются еще нагляднее. Так, на всех станциях численность пиководорослей в слое 80–100 м не превышала 40 экз/мл, тогда как концентрация цианобактерий на 7 станциях составляла от 1,3 до 7,6 тыс/мл, что соответствовало 14–18% от максимальной для каждого профиля.

ГЛАВА 7

ЧИСЛЕННОСТЬ И БИОМАССА ПИКОФИТОПЛАНКТОНА В ЭВФОТИЧЕСКОМ СЛОЕ

7.1. Атлантический океан

Приведенные в предыдущей главе материалы о резкой вертикальной стратификации пикофитопланктона свидетельствуют, что для надежной оценки обилия этой группы во всей толще эпипелагиали недостаточно исследовать пробы с одного-двух горизонтов, как делают некоторые авторы. Тем не менее, попытаемся сравнить все доступные данные, что позволит наиболее широко охарактеризовать концентрацию пиководорослей и цианобактерий в разных акваториях Мирового океана. Биомасса этих групп и пикофитопланктона в целом оценивалась далеко не во всех работах, и мы не считаем себя вправе производить расчеты по материалам соответствующих публикаций, не имея достаточных сведений о доминирующих формах и их размерах.

В первых специальных исследованиях пикопланктона, выполненных современными методами на отдельных станциях в Атлантическом океане, было обнаружено, что общая численность фотосинтезирующего пикопланктона составляет 10^3 - 10^5 кл/мл (Li, 1982), причем концентрация только цианобактерий в слое 0-50 м достигает в открытых водах 10^3 - 10^4 кл/мл, а на банке Джорджес - 10^5 кл/мл (Johnson, Sieburth, 1979; Johnson e.a., 1982).

Для северо-западной части Атлантического океана было установлено изменение численности пикофитопланктона с приближением к берегам и эстуариям: среднее обилие в океанических водах составило 10^2 кл/мл, в прибрежных 10^4 кл/мл, в эстуарных 10^3 - 10^4 кл/мл (Davis, Sieburth, 1982; Davis e.a., 1985).

Последующие исследования на большом числе станций с детальным учетом вертикального распределения клеток позволили сравнить в Северной Атлантике не только районы с разной удаленностью от берегов, но и проследить широтные изменения численности (Murphy, Haugen, 1985). Концентрация цианобактерий в столбе воды оценена величинами: в океанических районах 10^2 – 10^3 кл/мл, над континентальным склоном 10^4 кл/мл и в прибрежных водах 10^4 – 10^5 кл/мл. В верхнем изотермическом слое всех стратифицированных вод цианобактерий было на порядок больше, чем эукариот во фракции 5–0,2 мкм.

С продвижением от 37° до 61° с.ш. обилие цианобактерий снижалось в 10–100 раз и доминирование постепенно переходило к водорослям фракции 3–0,2 мкм, которые на самых северных станциях составляли до 96% всех фототрофных клеток пикофракции (Murphy, Haugen, 1985). В районе Канады суммарная численность пикофитопланктона указывается в пределах 4– $49 \cdot 10^6$ кл/мл (Douglas, 1984).

В Кельтском море в апреле численность цианобактерий в слое 0–30 м была 10^4 кл/мл (Joint e.a., 1986). В Балтийском море и его проливах летом и осенью концентрация фототрофного пикопланктона колебалась в пределах 10^3 – 10^4 кл/мл (Schmaljohann, 1984). По другим данным, в Балтийском море в зимне-весенний период насчитывается $0,5$ – $2 \cdot 10^4$ кл/мл пикофитопланктона, который позже (после истощения эпипелагиали в отношении азота) дает вспышку развития и летом имеет концентрацию 3 – $8 \cdot 10^4$ кл/мл (Larsson, Hagstrom, 1982). Здесь мы получаем некоторое представление о сезонной динамике численности. Уместно сослаться на данные по оз. Онтарио, где пик численности цианобактерий в эпилимнионе совпадает с максимальной температурой воды (Caron e.a., 1985).

Усредненная для исследованного столба воды численность пикофитопланктона и основных его компонентов по нашим данным, полученным преимущественно в тропической зоне, приведена в таблице I. Можно видеть, что концентрация цианобактерий на основных разрезах менялась в пределах 10^2 – 10^4 кл/мл, т.е. была такой же, как в изученных открытых районах умеренных широт Северной Атлантики. Минимальная численность цианобактерий наблюдалась на станциях разреза II в зоне 10 – 20° ю.ш. На тех же широтах разреза I численность этой группы также снижалась, но в меньшей мере, в связи с удалением от центральной части круговорота и приближением к побережью. Наиболее высокие концентрации зарегистрированы на разрезе I в области широт 8 – 13° с.ш. (ст. 2931–2932), против устья Ла-Платы (ст. 2951–2954) и на разрезе II – на экваторе (ст. 2973). В прибрежных водах у м. Кап-Блан, в зоне дейст-

Таблица I.

Численность и биомасса пикофитопланктона в Атлантическом океане
(средняя для исследованного слоя)

Станция	Глубина слоя, м	тыс. кл/мл			мг/м ³		
		Цианобак- терии	Пиково- доросли	Всего	Циано- бакте- рии	Пиково- доросли	Всего
I	2	3	4	5	6	7	8
2924	90	1,02	0,04	1,06	0,55	0,01	0,56
2926	85	1,47	0,20	1,67	0,79	0,03	0,82
2928	175	1,31	0,18	1,49	0,71	0,02	0,73
2929	150	1,22	0,69	1,91	0,66	0,09	0,75
2931	120	4,27	0,48	4,75	2,31	0,06	2,37
2932	150	4,81	0,43	5,24	2,60	0,06	2,66
2934	150	1,89	0,16	2,05	1,02	0,02	1,04
2935	150	0,87	0,19	1,06	0,47	0,03	0,50
2937	150	0,51	0,07	0,58	0,28	0,01	0,29
2938	150	0,41	0,07	0,48	0,22	0,01	0,23
2940	175	0,60	0,12	0,72	0,32	0,02	0,34
2942	150	0,60	0,10	0,7	0,32	0,01	0,33
2943	150	1,04	0,20	1,24	0,56	0,03	0,59
2945	150	2,95	0,35	3,30	1,59	0,05	1,64
2947	150	2,53	0,38	2,91	1,37	0,05	1,42
2949	150	2,65	0,58	3,23	1,43	0,08	1,51
2951	150	10,60	0,63	11,23	5,72	0,08	5,80
2953	150	4,75	0,38	5,13	2,56	0,05	2,61
2954	150	4,88	0,45	5,33	2,63	0,06	2,69
2956	150	0,62	0,17	0,79	0,33	0,02	0,35
2958	150	1,12	0,04	1,16	0,61	0,01	0,62
2959	150	2,28	0,33	2,61	1,23	0,04	1,27
2960	150	0,71	0,05	0,76	0,38	0,01	0,39
2961	150	0,23	0,08	0,31	0,12	0,01	0,13
2963	150	0,31	0,24	0,55	0,17	0,03	0,20
2964	150	0,19	0,22	0,41	0,10	0,03	0,13
2966	150	0,20	0,04	0,24	0,11	0,01	0,12
2968	150	0,27	0,12	0,39	0,15	0,02	0,17
2970	150	0,64	0,30	0,94	0,35	0,04	0,39
2972	120	3,40	0,36	3,76	1,84	0,05	1,89
2973	120	8,40	0,71	9,11	4,54	0,09	4,63
2974	120	2,88	0,88	3,76	1,55	0,12	1,67

Продолжение таблицы I.

I	2	3	4	5	6	7	8
2976	I25	2,01	0,71	2,72	1,08	0,09	1,17
2978	I50	1,50	0,48	1,98	0,81	0,06	0,87
2979	I20	1,37	0,47	1,84	0,74	0,06	0,80
2980	I25	3,32	0,32	3,64	1,79	0,04	1,83
2981	75	4,17	2,42	6,59	2,25	0,32	2,57
2982	I00	2,96	0,96	3,92	1,60	0,13	1,73
2983	55	1,75	0,30	2,05	0,94	0,04	0,98
2984	55	0,74	0,14	0,88	0,40	0,02	0,42
2985	I25	1,20	0,06	1,26	0,65	0,01	0,66
2987	I25	2,70	0,57	3,27	1,12	0,07	1,19

вия апвеллинга, численность цианобактерий не превышала средних величин, характерных для основных разрезов (10^3 кл/мл).

Концентрация пиководорослей на разрезах I-II менялась в пределах 10^2-10^3 кл/мл (за исключением станции 2924). Минимальные и максимальные значения обнаруживались в целом в тех же районах, что и для цианобактерий. В районе м.Кап-Блан концентрация пиководорослей также составляла 10^2-10^3 кл/мл, но несколько превышала средний уровень для основных разрезов.

Численность цианобактерий практически всегда была выше. Но если в более богатых пикофитопланктоном районах цианобактерий было обычно в 10 раз больше, то на бедных станциях - только в 2-5 раз, а иногда обилие обеих групп даже уравнивалось (ст.2963-2964). На большей части станций у м.Кап-Блан численность цианобактерий и пиководорослей, как и в богатых районах основных разрезов, различалась на порядок величин.

Соотношение разных форм цианобактерий и пиководорослей не было постоянным на исследованных станциях и на отдельных горизонтах. Но учитывать соответствующую вариабельность средних размеров клеток при подсчетах биомассы не представлялось целесообразным. Поэтому для всей исследованной акватории приняты усредненные размеры клеток. Основываясь на соответствующих расчетных величинах индивидуальных объемов, приняли, что 1 тыс.кл/мл цианобактерий соответствует биомассе $0,54$ мг/м³, а 1 тыс.кл/мл пиководорослей - $0,13$ мг/м³. Таким образом, масса клетки пиководоросли в 4 раза меньше, чем цианобактерии. Значительное доминирование цианобактерий в пикофитопланктоне по численности в связи с различием индивидуальных масс еще сильнее выражается при пере-

ходе к величинам биомассы. Отметим, что при расчетах биомассы по другим материалам (Черного и Средиземного морей, Индийского океана), в зависимости от размеров доминирующих клеток использовались и другие переходные коэффициенты, приведенные в соответствующих разделах работы.

Полученные в результате расчетов величины биомассы пикофитопланктона для Атлантического океана представлены в таблице I.

Средняя для исследованного слоя (в большинстве случаев 0-150 м) биомасса цианобактерий на 24 станциях находилась в пределах 0,1-1,0 мг/м³, на 18 станциях - превышала 1 мг/м³, в отдельных случаях достигая 4,5-5,7 мг/м³ (ст.2951, 2973). Биомасса пиководорослей на 28 станциях составляла 0,005-0,05 мг/м³, на 14 станциях - свыше 0,05 мг/м³, в том числе в трех случаях повышалась до 0,11-0,31 мг/м³, а именно вблизи экватора (ст.2974) и у м.Кап-Блан (ст.2981-2982).

Отношение биомасс цианобактерий и пиководорослей широко варьировало, на большинстве станций находилось в пределах 10-40, с модельным значением около 20. Поэтому можно принять, что в обсуждаемых акваториях Атлантического океана биомасса цианобактерий, в среднем, в 20 раз превышает таковую пиководорослей.

Приведенные данные по пикофитопланктону тропической Атлантики уместно в самых общих чертах сравнить с материалами по другим группам планктона, обобщенными в недавней сводке по южно-атлантическому антициклональному круговороту ("Биопродукционная система"..., 1984).

В осадочном фитопланктоне почти во всех водных массах 80-90% по численности составлял нанофитопланктон - клетки, по объему приравненные к шару диаметром 5-20 мкм (Ройхияйнен, 1984). В зоне смешения вод бразильского и фолклендского течений 55% численности в слое 0-100 м приходилось на клетки диаметром до 5 мкм, в связи с массовым развитием золотистой водоросли *Phaeocystis pouchaetii* (диаметр клеток 3-5 мкм).

Средний диаметр клеток фитопланктона в разных районах круговорота оценен величинами 12,4-18 мкм. Отмечено укрупнение клеток во фронтальных зонах.

Усредненная численность нанофитопланктона почти во всех типах вод не превышала 5-15 кл/мл, при биомассе до 2-5 мг/м³. Сравнивая эти данные с приведенными выше по пикофитопланктону, легко убедиться, что последний является наиболее обильной по численности фракцией, т.к. доминирующие в осадочном фитопланктоне клетки нанофракции имеют концентрацию, в среднем, в 100 раз ниже. Биомасса нанофитопланктона, по этим данным, обычно неско-

лько выше, чем у пикофитопланктона.

Средняя численность бактериопланктона (Лебедева и др., 1984) в слое 0-100 м в тех же районах составляла 10^5 - 10^6 кл/мл, а биомасса 100-700 мг/м³. Таким образом, гетеротрофная микрофлора резко преобладает в пикопланктоне.

7.2. Тихий и Индийский океаны

Для прибрежных вод Калифорнии указана концентрация цианобактерий 10^3 - 10^5 кл/мл, причем минимум наблюдался зимой. Весной численность возрастала и достигала максимума поздним летом (Krempin, Sullivan, 1981). Эти данные согласуются с материалами по Балтийскому морю в отношении сезонных изменений обилия пикофитопланктона и соответствуют сведениям о численности цианобактерий в прибрежных водах Атлантического океана.

В районах течений Куроисио, Оясио и в прибрежных водах Японии цианобактерии составляют 8,3-79,4% (обычно - более 50%) от биомассы пикофитопланктона, выраженной в углероде (Takahashi, e.a., 1985). В субтропических водах Тихого океана на цианобактерий приходится более 90% биомассы пикофитопланктона (Iturriaga, Mitchell, 1986). Численность цианобактерий в тропической зоне и в прибрежных водах у Перу соответствует таковой в Атлантическом океане (Waterbury e.a., 1979; Li e.a., 1983). С продвижением высокие широты Южного полушария численность цианобактерий в целом снижается (Микаэлян, 1987). В субтропической и субантарктических фронтальных зонах Тихого океана она составляет в слое 0-100 обычно до 10^3 кл/мл (на самых богатых станциях - до 10^4 кл/мл), в антарктических водах - 1-10 кл/мл. При этом цианобактерии на всех исследованных станциях преобладали по численности, в среднем, на эту группу приходилось 56% клеток фототрофного пикопланктона. Но по массе пиководоросли были в среднем вдвое обильнее, чем цианобактерии.

Изменение обилия фототрофного пикопланктона по широте не происходило плавно. Так, повышение концентрации наблюдалось в районе 50° ю.ш. и между 43° и 35° ю.ш., где биомасса пикофитопланктона составляла в среднем около 1 г/м² (Микаэлян, 1987).

Сопоставляя эти данные с материалами по изучению обилия пикофитопланктона в Атлантическом океане при продвижении на север (Murphy, Naugen, 1985), можно констатировать, что в высоких широтах обоих полушарий численность цианобактерий снижается. Одновременно растет доля пиководорослей в биомассе пикофитопланктона. Но если в северных районах Атлантического океана

это происходит за счет доминирования пиководорослей по численности, то в южной части Тихого океана – за счет крупных размеров эукариотного пикофитопланктона. Здесь преобладали клетки диаметром 1,5 мкм (Микаэлян, 1987).

В Аравийском море численность цианобактерий соответствовала таковой в открытых районах Атлантического и Тихого океанов (Walterbury e.a., 1979). В тропических районах Индийского океана цианобактерии обнаружены нами на двух станциях из четырех. Остаются неясными причины, по которым на станциях 2182 и 2226 у архипелага Чагос цианобактерии не зарегистрированы. На экваторе (ст.2123) средняя численность цианобактерий в слое 0–100 м составила $8,7 \cdot 10^3$ кл/мл, в районе б.Саяде-Малья (ст.2157) – $29 \cdot 10^3$ кл/мл. Клетки этой группы в среднем были мельче, а клетки пиководорослей – существенно крупнее, чем в Атлантическом океане и Средиземном море. Поэтому для расчетов биомассы приняты соотношения 1 тыс.кл/мл цианобактерий соответствует $0,12 \text{ мг/м}^3$, 1 тыс.кл/мл пиководорослей – $2,14 \text{ мг/м}^3$.

Усредненное для исследованного слоя обилие пиководорослей по станциям отражено в таблице 2.

Таблица 2.

Численность и биомасса пиководорослей в Индийском океане (средняя для исследованного слоя)

Станция	Глубина слоя	Тыс. экз/мл	мг/м ³
2123	120	0,9	2,0
2157	100	2,4	5,1
2182	150	0,3	0,7
2226	100	0,6	1,2

Биомасса цианобактерий составляла 1 мг/м^3 на ст.2123 и $3,5 \text{ мг/м}^3$ на ст.2157. Сравнение по этим двум станциям показывает, что средняя для столба воды численность цианобактерий была на порядок выше, чем пиководорослей, тогда как по биомассе в 1,5–2 раза преобладали эукариотные фотосинтезирующие клетки. В этом отношении обсуждаемые материалы по Индийскому океану значительно отличаются от результатов по тропическим и умеренным широтам Атлантического океана, но сходны с соотношениями цианобактерий и пиководорослей в субантарктических водах Тихого океана.

На ст.2123 и 2157 соотношение этих двух групп пикофитопланктона было сходным, хотя вторая из станций была приблизительно втрое богаче первой по абсолютной численности и биомассе циано-

бактерий, пиководорослей и пикофитопланктона в целом. Если для обеих групп более или менее синхронные колебания обилия характерны для тропических вод Индийского океана, то зарегистрированное отсутствие цианобактерий в районе архипелага Чагос можно связать с неблагоприятностью каких-то местных условий для всего пикофитопланктона. Как видно из таблицы, пиководорослей здесь тоже было существенно меньше, чем на других станциях.

Разумеется, в целом полученный материал пока не позволяет сколько-нибудь надежно охарактеризовать развитие фототрофного пикопланктона в тропической зоне Индийского океана.

7.3. Средиземное и Черное моря

В летний период в разных районах Средиземного моря средняя для исследованного слоя численность цианобактерий была сходной (табл. 3-4). Крайние величины отмечены в разные дни на полигоне III, в остальных точках наблюдалось от 3 до 8 тыс. кл./мл. Численность пиководорослей была в 2-14 раз ниже. В данной экспедиции учитывали все "красные" частицы, не проводя различий между целыми водорослями и фрагментами клеток. Поэтому средний размер пиководорослей мог оказаться заниженным, а численность - завышенной за счет фрагментов.

Таблица 3.

Численность и биомасса пикофитопланктона в Средиземном море летом (в среднем для исследованного слоя)

Полигон	Дата	тыс. кл./мл			мг/м ³		
		Циано-бактерии	Пико-водоросли	Всего	Циано-бактерии	Пико-водоросли	Всего
I	8.06.83	7,7	3,8	11,5	4,11	0,42	4,53
II	20.06.83	5,2	2,5	7,7	2,76	0,28	3,04
	24.06.83	2,9	0,5	3,4	1,57	0,05	1,62
	27.06.83	6,1	0,7	6,8	3,21	0,07	3,28
III	19.07.83	12,3	0,9	13,2	6,68	0,10	6,78
	26.07.83	1,7	0,5	2,2	0,74	0,06	0,80
IV	30.07.83	5,8	0,7	6,5	3,10	0,08	3,18

Для расчетов биомассы приняли, что для цианобактерий 1 тыс. кл./мл соответствует 0,54 мг/м³, для пиководорослей - 0,065 мг/м³. При столь малых средних размерах пиководорослей их биомасса во

всех исследованных профилях была значительно ниже, чем цианобактерий. При этом возможные искажения величин биомассы за счет фрагментов водорослей вряд ли были существенными, т.к. заниженные объемы компенсировалось завышением численности.

Таблица 4.

Численность и биомасса пикофитопланктона в Средиземном море зимой (в среднем для исследованного слоя)

№ стан- ций	тыс. кл./мл			мг/м ³		
	Циано- бакте- рии	Пико- водо- росли	Всего	Циано- бакте- рии	Пико- водо- росли	Всего
2988	1,4	7,7	9,1	0,76	0,50	1,26
2989	8,6	0,7	9,3	4,64	0,05	4,69
2990	6,3	0,2	6,5	3,41	0,01	3,42
2991	10,0	3,3	13,3	5,20	0,43	5,63
2992	13,0	0,4	13,4	6,76	0,05	6,81
2993	10,9	0,2	11,1	5,67	0,03	5,70
2994	7,8	0,3	8,1	4,06	0,04	4,10

Сравнение с нашими данными по Атлантическому океану показывает, что численность цианобактерий и суммарная биомасса пикофитопланктона были, в среднем, более высокими в Средиземном море.

В зимний период в Средиземном море средние для исследованного слоя значения численности цианобактерий несколько превышали летние (табл.4). Численность пиководорослей в общем понижалась, но на этот раз не учитывались частицы, отнесенные к фрагментам клеток. Тем не менее, средние размеры клеток пиководорослей в западной части Средиземного моря оказались в зимний период почти такими же, как летом. В Эгейском море зимой средние размеры пиководорослей были приняты при расчетах биомассы такими, как для Атлантического океана. Практически одинаковыми летом и зимой в Средиземном море были средние размеры цианобактерий.

Полученные для зимнего периода величины суммарной биомассы пикофитопланктона в среднем несколько выше летних, как в среднем по всем данным, так и для близко расположенных зимних и летних станций (полигон III и ст.2989, полигон IV и ст.2990).

Численность и биомасса пикофитопланктона по зимним наблюдениям в Черном море приведены в табл.5. С учетом выборочных из-

мерений клеток, средние размеры пиководорослей были приняты такими же, как в Атлантическом океане. Среди цианобактерий преобладали мелкие округлые формы, и при расчетах биомассы 1 тыс.кл/мл считали соответствующей 0,13 мг/м³. Можно видеть, что численность пиководорослей была более, чем в 10 раз ниже, чем цианобактерий. Суммарная биомасса пикофитопланктона в Черном море зимой была несколько ниже, чем в Средиземном море в тот же период года.

Таблица 5.

Численность и биомасса пикофитопланктона в Черном море зимой (в среднем для исследованного слоя)

№ стан- ций	тыс.кл/мл			мг/м ³		
	Циано- бакте- рии	Пико- водо- росли	Всего	Циано- бакте- рии	Пико- водо- росли	Всего
2995	9,0	0,6	9,6	2,34	0,78	3,12
2997	2,8	0,1	2,9	0,73	0,01	0,74
2998	7,3	0,4	7,7	1,90	0,05	1,95
3000	4,9	0,5	5,4	1,27	0,07	1,34
3001	4,8	0,7	5,5	1,25	0,09	1,34
3003	21,3	0,4	21,7	5,54	0,05	5,59
3004	6,4	0,1	6,5	1,66	0,01	1,67
3009	3,2	0,1	3,3	0,83	0,01	0,84
3010	0,4	0,1	0,5	0,10	0,01	0,11
3011	5,2	0,2	5,4	1,35	0,03	1,38
3012	2,0	0,2	2,2	0,52	0,03	0,55
3016	15,3	0,4	15,7	3,98	0,05	4,03
3017	22,6	0,3	22,9	5,88	0,04	5,92

Для открытых районов Черного моря в летний период получены лишь единичные сведения о пикофитопланктоне. На ст.2079 в слое 0-100 м средняя численность цианобактерий достигала рекордной величины - около 160 тыс.кл/мл, а биомасса - 86 мг/м³. В северо-западной части моря, под влиянием стока рек и загрязнений, пикофитопланктона было очень мало.

Опубликованы результаты многолетних наблюдений за динамикой обилия цианобактерий, с большой частотой выполненных в поверхностной воде гавани Вудс-Хола и на пяти станциях в районе шельфа и континентального склона южнее мыса Код (Waterbury e.a., 1986). В гавани в течение восьми лет отмечали практически пов-

торящиеся циклы, четко связанные с ходом температурной кривой. Зимой, при низких температурах, кривые обилия цианобактерий имели резкий провал, причем, начало падения, как и начало весенней вспышки развития совпадали с моментом пересечения температурной кривой порогового значения 6°C . Весь теплый период года наблюдался растянутый максимум обилия клеток, иногда - с незначительно выраженными весенним и осенним пиками. С некоторыми отклонениями в выраженности этих пиков та же картина наблюдалась и на удаленных от берега станциях.

Поскольку эти данные получены только для поверхностного горизонта, то с учетом приведенных выше данных о сезонных изменениях вертикальных профилей цианобактерий и общей их численности в столбе воды Средиземного моря, можно предполагать, что и в данном районе сезонный ход обилия клеток во всей толще пелагиали не обязательно повторяет кривую численности у поверхности.

ГЛАВА 8

ЭКОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПИКОФИТОПЛАНКТОНА

8.1. Наблюдения над пикофитопланктоном в изолированных пробах

В период работ в Средиземном море в июне 1983 г. в палубной установке с проточной водой, при частичном затемнении экспонировалась вода в стеклянных емкостях объемом 20 л. Было обнаружено, что через 7–10 сут. экспозиции в емкостях воды, взятой с богатой цианобактериями горизонтов, клетки при очень высокой плотности регистрируются в приповерхностном слое толщиной около 1 см. При этих единичных наблюдениях осталось неясным, произошло ли скопление цианобактерий за счет снижения удельного веса, либо имело место массовое размножение клеток вблизи поверхностной пленки.

Для проверки во время рейса в Атлантический океан воду с глубины пика цианобактерий наливали в стеклянные цилиндры объемом 0,5 л и высотой 30 см, без предварительного удаления возможных потребителей цианобактерий. Один цилиндр помещали в лаборатории (21–25°C, слабое освещение), второй – в холодильник (7°C, темнота). Через 1–2 сут осторожно отбирали пипеткой по 20 мл воды у поверхности воды и у дна для подсчета цианобактерий. Опыты повторяли 4 раза на разных станциях, при доминировании как округлых, так и червеобразных цианобактерий. Выяснилось, что в обоих вариантах (при 21–25 и 7°C) более высокая плотность клеток незаконномерно наблюдается то у поверхности, то у дна цилиндра. Различия плотности достигали 7–10 раз, но в большинстве случаев не превышали 2 раз. Таким образом, через 1–2 сут после переноса одиночных цианобактерий в описанные условия не об-

наружено закономерного скопления их у дна или поверхности сосуда, а следовательно – и направленных изменений в удельном весе клеток. Наблюдавшееся в средиземноморском рейсе плотное приповерхностное скопление клеток пока остается не объясненным.

Следует отметить, что хотя специальные количественные сравнения для пиководорослей в описанных опытах производились не во всех случаях, полученные данные свидетельствуют об их преобладании у дна цилиндра при 7° в темноте, тогда как при $21-25^{\circ}$ в слабо освещенном цилиндре пиководорослей было больше в верхней его части.

В отличие от одиночных цианобактерий все зарегистрированные микроколонии (из 4–10 клеток), более крупные колонии, а также большинство делящихся пар встречено в нижней части цилиндров как при 7° , так и при $21-25^{\circ}$. Следовательно, одиночные и объединенные в группы цианобактерии отличаются по гидростатическим свойствам, несмотря на морфологическую неразличимость клеток в данном случае. Возможно, этим объясняется преимущественная встречаемость колоний ниже пика одиночных цианобактерий (5.4). Определенное значение в отмеченных различиях может иметь и то обстоятельство, что в колониях клетки всегда неподвижны. Описанный характер подвижности одиночных цианобактерий (4.5) вызывает сомнения в возможности ее влияния на глубину обитания клеток, но вопрос заслуживает дальнейшего изучения.

Что касается размножения цианобактерий, то некоторую информацию дают результаты последнего из опытов с цилиндрами, в котором подсчет клеток вели в течение 6 сут (рис.21).

Исходную концентрацию клеток не определяли. При высокой температуре численность клеток в разные дни была выше то у поверхности воды, то у дна. При 7° численность у дна была постоянно более высокой. Как видно из графиков, при высокой температуре число цианобактерий в целом снижалось в течение опыта. При 7° в последние дни экспозиции наблюдался рост популяции. Если при этом, что элиминации клеток в этот период не было, то время генерации оценивается в среднем величиной $g = 2,6$ сут.

В Атлантическом океане ставили опыты по сохранению проб воды с глубины пика цианобактерий путем замораживания в холодильной камере при $-18-20^{\circ}\text{C}$. Через месяц пробы разморозили и при микроскопировании обнаружили яркие и подвижные клетки цианобактерий. Далее эти пробы в стеклянных колбах держали в лаборатории ($20-22^{\circ}$, слабое освещение) и в течение 10 суток определяли плотность клеток. Усредненные результаты показали (рис.22), что после 3-суточной лаг-фазы в течение двух суток наблюдался рост по-

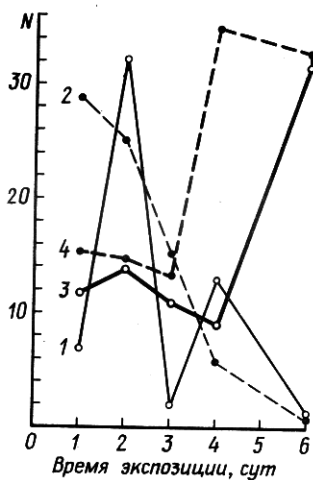


Рис. 21. Динамика численности цианобактерий в стеклянных цилиндрах. 1-2 - соответственно у поверхности и у дна цилиндра (свет, 21-25°C); 3-4 - то же (темнота, 7°C); N - среднее число клеток в поле зрения (на фильтре).

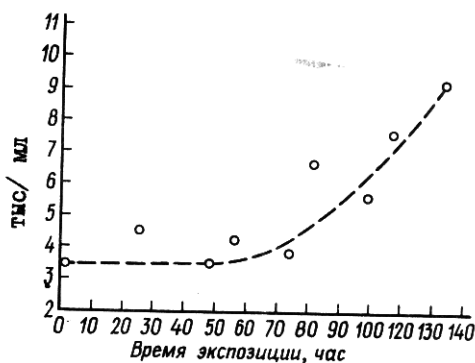


Рис. 22. Динамика численности цианобактерий в колбах после месячного хранения в замороженном виде.

пуляции, а через 6 суток после размораживания началось снижение плотности клеток. Для периода активного роста время генерации цианобактерий оценивается величиной $g = 1,8$ сут. Таким образом, при замораживании цианобактерии длительное время сохраняют жизнеспособность, причем последующая скорость размножения не уступает наблюдавшейся при экспонировании воды в цилиндрах.

Описанные результаты позволяют предложить замораживание как метод сохранения жизнеспособного материала по цианобактериям для последующих экспериментов.

8.2. Сукцессии в пикофитопланктоне при содержании на герметизированных фильтрах

В Атлантическом океане после прижизненного микроскопического изучения пикопланктона на фильтрах Сынпор 0,2 мкм, некоторые препараты сохраняли, герметизируя их обмазкой покровных стекол парафином или вазелиновым маслом. Периодическое исследование таких препаратов показало, что клетки пикопланктона сохраняются, судя по всем признакам, в живом состоянии.

В связи с этим, описанный метод использовали для длительного хранения препаратов и наблюдений за состоянием пикопланктона в динамике. Воду с глубины пика цианобактерий фильтровали, как обычно (по 20 мл через 2 мкм, затем 0,2 мкм), готовили серии параллельных препаратов (от 8 до 30), герметизируя их описанным способом. Для препаратов использовали фильтры Сынпор 0,2 мкм. Препараты содержали в лаборатории при 21–25°C в темноте, либо при очень слабом освещении, а также в термостате при 20°C и постоянном умеренном освещении. Две серии препаратов приготовлены при доминировании в исходной воде червеобразных цианобактерий.

На таких сериях препаратов была исследована яркость цианобактерий при содержании в темноте и на свету (гл. 9), проведены наблюдения длительностью до I мес. за состоянием клеток пико-планктона. Трудность точного количественного учета вызывалась неравномерностью распределения клеток на препаратах и нежелательностью повторного частого изучения одних и тех же участков фильтров из-за возможного необратимого повреждения клеток за счет фотодеструкции. Результирующая неточность учета отчасти компенсировалась сравнением данных по многим параллельным фильтрам. Кроме того, сведения о плотности клеток приводятся в самом общем и усредненном виде.

При содержании в темноте препаратов (вода с глубины 80 м, ст. 2935) с исходно доминировавшими овальными цианобактериями I, 5x 0,8 мкм и округлыми клетками диаметром I, I–I,3 мкм, через 3 сут. было зарегистрировано 17% делящихся цианобактерий. От общего числа обследованных клеток I, 3% составляли группы из трех цианобактерий. Через 6 сут. доля делящихся цианобактерий не изменилась (13,7%), одиночные клетки сохраняли подвижность. Через 7 сут. на отдельных препаратах впервые обнаружили единичные цепочки из 4 клеток цианобактерий, через 8 сут. – число групп по 4–6 цианобактерий возросло, обнаружено несколько колоний, со-державших по 10–15 экз. типичных овальных клеток. Через 10 сут.

найдено 2 колонии из 24 и 26 клеток, доля делящихся цианобактерий составляла 5,5%, одиночные клетки сохраняли подвижность. Через 17 сут от начала опыта число колоний и групп цианобактерий возросло, причем колонии явно относились к разным типам (в основном - рыхлые, из извитых цепочек, но также колонии иерархической структуры). Число пиководорослей снизилось, но появились подвижные округлые водоросли длиной 1,5-2 мкм, в том числе делящиеся, и единичные клетки диаметром 12-15 мкм, видимо, разившиеся из спор. Одиночные цианобактерии сохраняли подвижность, но кроме доминировавших ранее форм появились отдельные палочковидные клетки (эти были неподвижными). Через 20 сут доля делящихся цианобактерий составляла 12,6%, часть делящихся клеток отличалась тем, что в образующейся паре дочерние клетки были разной яркости. Через 23 сут доля делящихся составляла 18,9%, клетки сохраняли подвижность, соотношение одиночных цианобактерий и групп (колоний) не изменилось. На некоторых препаратах увеличилось число пиководорослей. В последний день наблюдений (через 30 сут) среди цианобактерий отмечено преобладание мелких округлых клеток (около 0,8 мкм), хотя было довольно много овальных. Наблюдались и пиководоросли.

Таким образом, наблюдения показали наличие явной сукцессии форм как среди цианобактерий, так и среди пиководорослей. Соответствующие изменения протекали не одинаково на разных препаратах. Представляет интерес появление очень крупных водорослей (12-15 мкм), если учесть предварительную фильтрацию через Нуклеопор 2 мкм. Появление нетипичных одиночных и колониальных цианобактерий легко объясняется исходной малочисленностью соответствующих клеток, получивших затем преимущество в размножении. Все колонии несомненно образовались из исходно одиночных клеток, поскольку Нуклеопор 2 мкм пропускает лишь пары, изредка - тройки соединенных цианобактерий. Содержание в темноте увеличивает яркость цианобактерий (гл.9). Что касается пиководорослей, то до окончания опыта они сохраняли обычную окраску (все наблюдения вели в режиме эпифлуоресценции). Следует отметить, что при сукцессии изменения общей численности клеток не отражают темп размножения определенных видов, поскольку сукцессия происходит именно за счет изменений в соотношении скоростей деления. Тем не менее, информация об общей динамике численности будет дана по усредненным результатам всех серий опытов.

О темпе размножения косвенно позволяет судить доля делящихся клеток. Выше указывалось, что делящиеся цианобактерии составляли в период наблюдений 13-19%. Это следует признать очень

большой величиной, плохо согласующейся с оценками скорости размножения клеток в обсуждаемых опытах. Возникает предположение, что число делящихся клеток, оцениваемое по наличию перетяжки, в данных опытах завышено за счет поделившихся, но не разошедшихся пар. По-видимому, в море условия способствуют более быстрому расхождению таких пар. В серии препаратов с доминированием червеобразных цианобактерий (вода с глубины 100 м, ст. 2938), содержащейся при 20°C и постоянном освещении, в первые дни отмечалось, что часть червеобразных клеток имела длину несколько меньше обычной. Цианобактерии обнаруживали подвижность и в основном были "тусклыми", причем усиливали свечение в ходе освещения под микроскопом. Через 7 сут наблюдались очевидные признаки сукцессии: червеобразные клетки составляли только 40% от общего числа цианобактерий, а 60% приходилось на овальные клетки 1,5x0,8 мкм, среди которых был заметный процент делящихся. Меньше делящихся было среди червеобразных клеток. Последние сохраняли подвижность, но появились единичные аномальные клетки, у которых один из концов образовывал вздутие. Некоторые червеобразные цианобактерии имели клетки резко изогнутые, как бы с изломом. Численность пиководорослей к этому времени возросла против исходной. Через 9 сут число уродливых клеток среди червеобразных цианобактерий заметно увеличилось на некоторых препаратах. Появилось много клеток почти удвоенной длины, без признаков перетяжки. Среди них отмечались клетки со вздутием в средней части.

Через 14 сут червеобразные клетки наблюдались в незначительном числе, многие - с описанными выше аномалиями. В то же время среди них отмечались делящиеся. Среди цианобактерий резко преобладали овальные клетки 1,5x0,8 мкм и более мелкие формы. Через 25 сут наблюдалось общее снижение численности пикопланктона. Червеобразные клетки стали единичными, а доминирование среди цианобактерий перешло к округлым мелким клеткам диаметром 0,6-0,8 мкм.

Аналогичные изменения происходили в серии препаратов из той же исходной пробы воды, содержащихся в темноте. Следует отметить, что в этих сериях препаратов из воды, взятой на глубине 100 м (ст. 2938), не отмечено образования колоний и микрогрупп цианобактерий.

Таким образом, при содержании пикопланктона на герметизированных фильтрах как цианобактерии, так и пиководоросли в течение месяца сохраняли жизнеспособность. Клетки делились, причем в результате дифференциального размножения происходили сукцес-

сии форм. Во всех вариантах опытов доминирование постепенно перешло к наиболее мелким округлым цианобактериям. На параллельных препаратах изменения происходили не всегда синхронно, что можно объяснить случайными различиями в исходном наборе и соотношении форм, сгущенных из 20 мл воды.

Выше указывались трудности в определении динамики общей численности на каждом из препаратов. Усредненные данные по каждой серии опытов, при большом разбросе точек, позволяют все же охарактеризовать изменения численности цианобактерий за период наблюдений. В течение первых 7-9 сут происходило медленное нарастание общего числа клеток. Плотность цианобактерий увеличивалась в среднем в 3-5 раз. Расчеты показывают, что среднее время генерации для смешанной популяции цианобактерий составляло в этот период 3-6 сут. Затем в течение 11-16 сут общая численность этой группы держалась, приблизительно, на одном уровне, после чего снижалась. При этом за 5-8 сут плотность цианобактерий падала в два раза.

Сопоставляя результаты всех типов экспериментов, описанных в данном разделе, убеждаемся, что минимальное время генерации цианобактерий оценивается сходными величинами, составляя около 2-3 сут. Поскольку условия среды во всех этих случаях сильно отличались от природных, и вряд ли в сторону оптимизации, то можно предполагать, что в океане, в частности, на глубине пика цианобактерий, темп их размножения не ниже зарегистрированного. Размножение пикопланктона изучалось и в специальных экспериментах, условия среды в которых и время экспозиции позволяют более обосновано экстраполировать результаты на естественные популяции. Эти материалы изложены в последующих разделах.

8.3. Встречаемость делящихся цианобактерий и оценка времени генерации клеток

Данные о соотношении делящихся и неделящихся особей в природных популяциях одноклеточных организмов характеризуют их физиологическое состояние, косвенно отражают условия среды при сравнении участков биотопа по этому признаку. В сочетании с дополнительными сведениями по проценту делящихся можно оценивать темп размножения клеток.

Применительно к эпифлуоресцентной микроскопии цианобактерий возможности выбора признаков, по которым можно надежно судить о проценте делящихся клеток, довольно ограничены. Клетки перед делением увеличиваются в размерах, и этот признак, казалось бы,

можно использовать. Но при изучении на фильтрах смешанных популяций, при слабой изученности существующих форм цианобактерий, различия в размерах невозможно уверенно использовать для дифференцировки стадий клеточного цикла. Фаза собственно деления, сопровождаемого появлением и углублением перетяжки, при наблюдениях цианобактерий в режиме эпифлуоресценции, выражена не очень четко и трудно отличима от фазы нераззошедшейся пары поделившихся клеток. Не исключено, что время углубления перетяжки меньше периода от деления до расхождения пары. Во всяком случае, для цианобактерий наиболее четко удавалось регистрировать именно двойные клетки, которые мы условно считали одной делящейся клеткой. Приведенные ниже данные, кроме специально оговоренных, получены на основе только что описанного методического подхода.

Делящиеся цианобактерии встречаются на различных глубинах, но их подсчет производился нами лишь эпизодически, особенно в пробах, где было много двойных клеток. Так, на ст. 2953 в Атлантическом океане, на глубине 65 м двойные клетки составляли 16%. На ст. 2951, где в период наших исследований обнаружена максимальная для южной Атлантики численность цианобактерий (39 тыс./мл на 50 м), подсчет числа делящихся клеток на нижележащих горизонтах дал следующие результаты: 65 м - 31%, 80 м - 31%, 100 м - 24,7%. Кроме того, на глубинах 65 и 80 м по 3,4% от общего числа цианобактерий приходилось на тройные клетки.

В Средиземном море в летний период доля делящихся цианобактерий также достигала в отдельных пробах 30%, в частности, на полигоне 2 (глубина 100 м). В целом, полученные нами данные о встречаемости делящихся цианобактерий в природных популяциях отрывочны и позволяют судить лишь о максимальных значениях этого показателя.

В Атлантическом океане, при содержании пикопланктона в лаборатории, в частности, на герметизированных фильтрах, долю делящихся цианобактерий определяли многократно (8.2). В этих условиях в течение длительного времени регистрировался устойчиво высокий процент делящихся, обычно 13-19%.

Исследования вертикального распределения митотической активности, также по проценту делящихся цианобактерий, выполнены в южной части Тихого океана (Микаэлян, 1987). Наибольшие значения не превышали 2-14%, причем максимальная для каждой станции величина обычно встречалась в слое 40-60 м, при освещенности, составлявшей 5-15% от приповерхностной. Пики численности цианобактерий располагались глубже. В субантарктических водах это расхождение составляло 20-40 м, в субтропической фронтальной зоне

уменьшалось до 20 м. На глубине пика численности процент делящихся составлял около половины от максимального.

Большой по объему материал относительно суточных изменений доли делящихся цианобактерий был получен в районе Вудс-Хола (**Waterbury, e.a., 1986**). К концу светлого времени суток эта доля достигала максимума (10–20, иногда до 35%), ночью снижалась, причем минимум регистрировался через 4 часа после восхода солнца (2–5%). Аналогичная динамика отмечена и для поверхностных вод Саргассова моря, причем явный суточный ход имела и кривая общей численности цианобактерий, но со смещением: максимум перед или после заката, минимум – приблизительно в полдень. Численность при этом менялась, примерно, вдвое.

Обнаружен и четкий сезонный ход доли делящихся цианобактерий для гавани Вудс-Хола, где в феврале–апреле она приближалась к нулю и была наивысшей в сентябре–ноябре.

В первую очередь эти данные важно учитывать при сравнении доли делящихся клеток в разных районах и по глубинам – различия могут быть связанными с неодинаковым временем исследования проб. В то же время амплитуда и время экстремумов на разных глубинах могут отличаться от поверхностных. Отметим также, что в разных условиях максимальная величина доли делящихся цианобактерий (по нашим и цитированным данным) приближается к 30–35%.

Имея большой материал как по динамике доли делящихся клеток, так и по изменению численности цианобактерий в течение суток, нескольких дней и сезонов, авторы использовали его для оценки скорости размножения клеток (**Waterbury, e.a., 1986**). Проведен и специальный анализ возможности таких расчетов применительно к цианобактериям (**Chisholm, e.a., 1986**), с учетом ранее предлагавшихся для фитопланктона и бактериопланктона формул и подходов (**Weiler, Chisholm, 1976; Larsson, Hagstrom, 1982**). Ввиду недостатка знаний о продолжительности самого деления, о возможной задержке начавшегося деления (нерасхождении пар клеток) в темноте и при дефиците азота в среде, к расчету времени генерации цианобактерий по доле делящихся следует подходить пока с большой осторожностью (**Chisholm, e.a., 1986**).

Действительно по доле делящихся клеток (n) можно оценивать среднее время генерации (g) в популяциях видов, размножающихся бинарным делением. Но для этого требуется знать продолжительность самого деления (τ), т.е. время существования той морфологической стадии, которую исследователь учитывает как делящуюся клетку. Перечисленные показатели связаны (для несинхрониз-

зированной популяции) простым соотношением (Макарова, 1975; Заика, 1983):

$$g = \frac{c}{n} ,$$

где g и τ выражены в одинаковых единицах времени.

Проверочные исследования на бактериальной культуре позволили решить обратную задачу (Заика, Макарова, 1975): в ходе роста культуры от экспоненциальной к стационарной фазе g менялось от 9 до 22 ч, n - от 0,25 до 0,07 (т.е. от 25% до 7%). По этим данным с помощью приведенной выше формулы определили τ . Величина этого показателя для всего периода роста бактерий оказалась постоянной (2-2,2 ч).

Есть основания предполагать, что у любых микроорганизмов величина τ не подвержена большой вариабельности при изменениях экологических условий. Установив продолжительность деления, заманчиво по доле делящихся клеток оценивать темп размножения популяций непосредственно в природных популяциях. Ту же цель преследуют и другие сходные методы определения скорости размножения (Weiler, Chisholm 1976; Larsson, Hagstrom, 1982). Разумеется, подлежит проверке возможность остановки деления цианобактерий в темноте (см. выше).

Определить продолжительность деления цианобактерий при их исследовании методом люминесцентной микроскопии не удается из-за фотодеструкции клеток при длительном освещении. В этих условиях сделана попытка решить обратную задачу (Микаэлян, 1987). В субантарктических водах Тихого океана по результатам 7 опытов с инкубацией *in situ* проб воды с глубин 30-55 м удельная скорость роста цианобактерий в среднем составила 0,9 (0,55-1,2) сут⁻¹, что соответствует времени генерации 18,5 (14-31) час, поскольку существует соотношение $\mu = \ln 2/g$. Сравнивая удельную скорость размножения по разным опытам с соответствующей долей делящихся цианобактерий, рассчитали продолжительность деления, составившую 12-80 м, откуда среднее $\tau = 35 \text{ мин} = 0,58 \text{ ч}$. Основываясь на этой усредненной оценке, провели расчеты удельной скорости роста популяции для разных станций по горизонтам, с учетом соответствующего процента делящихся клеток. Это позволило, в свою очередь, ориентировочно определить продукцию цианобактерий (Микаэлян, 1987), поскольку удельная продукция микроорганизмов равна их удельной скорости роста (Заика, 1983).

Приведенные выше расчеты следует считать весьма ориентировочными, т.к. особенности размножения цианобактерий недостаточно исследованы. В частности, если основываться на значении $\tau =$

0,58 ч, то зарегистрированной в Тихом океане максимальной величине $\mu = 0,14$ (%) должно соответствовать $g = 4,1$ ч, а при найденной нами в Атлантическом океане и Средиземном море максимальной доле делящихся (30%) получим еще менее правдоподобную величину времени генерации $g = 1,9$ ч. Кроме того, имеются данные о том, что у морских цианобактерий $g = 2-9$ ч (Chisholm, e.a., 1986). Такое несоответствие может объясняться двумя причинами. Во-первых, при использованном методе определения доли делящихся клеток, как уже упоминалось, велика вероятность отнесения к делящимся неразшедшихся пар. Косвенно это подтверждается высоким процентом делящихся цианобактерий на герметизированных фильтрах, где время генерации, судя по изменению числа клеток, составляло 3-6 сут. Видимо, условия на фильтрах замедляли расхождение пар, в результате чего доля делящихся оказалась завышенной. Как уже упоминалось, есть основания предполагать остановку деления у цианобактерий при недостаточном освещении.

Во-вторых, расчет времени генерации по доле делящихся клеток усложняется при наличии синхронизации деления (Заика, Макарова, 1975), причем приближение этой доли к значению 0,5 указывает на то, что синхронизация существует. У фототрофных микроорганизмов суточная ритмика деления обычно четко выражена. Для морских цианобактерий показаны суточные изменения фотосинтеза (Prezelin e.a., 1986).

Кроме того, доказаны существенные суточные изменения как доли делящихся цианобактерий, так и их общей численности (Waterbury e.a., 1986), несомненно указывающие на ритмику размножения. В этих условиях характер изменения численности во времени, при ориентировочной оценке уровня элиминации клеток, может привести к более надежному суждению о скорости размножения цианобактерий (Waterbury e.a., 1986), причем анализ хода доли делящихся клеток приобретает лишь вспомогательное значение.

8.4. Скорость размножения пикофитопланктона

Сравнительные исследования темпов размножения у одноклеточных водорослей и инфузорий показывают, что существует общая тенденция возрастания частоты делений с уменьшением размеров клеток (Заика, 1983). Поэтому априорно предполагались потенциально высокие скорости размножения у пикофитопланктона. Разумеется, потенциалы популяционного роста лучше реализуются с приближением условий среды к оптимальным, так что в океане скорости размножения клеток заведомо различаются по глубинам и районам.

Определяя скорость размножения фитопланктона по приросту числа клеток в затянутых ситом цилиндрах, помещенных *in situ* Т.М.Кондратьева (1975) показала, что наиболее интенсивное размножение большинства видов водорослей в открытых районах Средиземного моря наблюдается на глубинах 0-5 и 50-75 м. При этом на 75 м регистрируется основной пик размножения пиррофитовых водорослей и мелких жгутиковых. Произведенные расчеты среднего для фитопланктона в целом времени генерации показали, что в Калифорнийском заливе на глубине пика флуоресценции хлорофилла оно в несколько раз больше, чем над этим слоем (Redalje, 1983).

На пиководоросли можно с большей вероятностью, чем на цианобактерий, экстраполировать закономерности изменчивости времени генерации в зависимости от размеров клеток, глубины и других факторов, установленные для более крупного фитопланктона. Физиолого-биохимическое своеобразие сине-зеленых не позволяет ставить их в один ряд с фототрофными эукариотами. Но имеющиеся экспериментальные данные по размножению определенных видов сине-зеленых в культурах привели к предположению, что морские цианобактерии могут делиться до нескольких раз в сутки (Johnson, Sieburth, 1979; Johnson e.a., 1982). В то же время в культурах планктонных хроококкоидных цианобактерий пока получают относительно невысокие темпы размножения. Минимальное время генерации для морского штамма *Synechococcus* составляло II-III час (Morris, Glover, 1981), для пресноводного - II час (Healey, 1985). Крайне быстро размножается специализированная термофильная форма *Synechococcus* (*Anacystis nidulans*), у которой время генерации может снижаться до 2 час, но это наблюдается в культурах при 39-41°C.

Опыты с радиоавтографическим определением потребления меченого углерода, при экспозиции 24 часа, привели к заключению, что скорость роста фототрофного пикопланктона варьирует в пределах 0,9-8,9 сут⁻¹ (Douglas, 1984). Расчеты по результатам опытов с оценкой прироста углерода дали величину скорости размножения цианобактерий 1,6 сут⁻¹ (Iturriaga, Mitchell, 1986). В поверхностных прибрежных водах близ Гавайских островов, где условия не являются олиготрофными, в ноябре-декабре скорость роста пикофитопланктона оценена величинами 1,3-2,5 сут⁻¹. Ее рассчитывали по приросту хлорофилла в пробах (Bienfang, Takahashi, 1983). В более поздней работе (Bienfang e.a., 1984) по тем же исследованиям приведено число делений в сутки, находившееся в пределах 0,97-3,62. Для того же района, на основе сравнения разных методов оценки темпов деления клеток, максимальная вероятная

скорость размножения фитопланктона и цианобактерий при 27°C составила 1,63 сут⁻¹ (Laws e.a., 1984).

Другие авторы принимают для цианобактерий 1,4-2 сут⁻¹ (Landy e.a., 1984, из Laws e.a., 1984). Но в культуре два клона, исследованные при разной освещенности, показали при 25 мкЕ.м⁻².с⁻¹ максимальную удельную скорость роста только 0,59 сут⁻¹ (Barlow, Alberte, 1985). Таким образом, о скоростях размножения цианобактерий в море, при разных условиях среды, судить довольно сложно, что подтверждают и другие опубликованные данные (Waterbury e.a. 1986; Chisholm e.a. 1986).

О высокой физиологической активности природного пикофитопланктона свидетельствуют результаты измерения первичной продукции по размерным фракциям. Так, для прибрежных вод района Гавайских о-вов установлено (Bienfang e.a., 1984), что по содержанию хлорофилла на пикофракцию приходится 16-52%, тогда как по первичной продукции - 34-63%. Вклад пикофракции в первичную продукцию в 18 раз больше, откуда заключают, что удельная скорость роста (как и фотосинтеза) у фототрофного пикопланктона выше, чем у более крупного фитопланктона.

В Атлантическом океане в опытах *in situ* с пробами, освобожденными предварительной фильтрацией от потребителей пикопланктона, нами прямым счетом определен прирост числа клеток цианобактерий и пиководорослей отдельно в дневное и ночное время. У пиководорослей в ночное время прироста численности клеток не было. Днем наблюдался прирост, соответствовавший времени генерации 4-44 часа.

Для цианобактерий в светлые часы суток время генерации составило 11-12 час, в темные - 20-34 часа. Показательно, что в параллельных опытах с нефилтрованной водой прирост числа клеток был существенно ниже, что отражает постоянное выедание цианобактерий в природных условиях.

В этих же экспериментах *in situ* исследовали динамику включения ³H-тимидина в клетки проб, освобожденных предварительной фильтрацией от потребителей пикопланктона, и без фильтрации (см. раздел 1.4). Определяли радиоактивность фильтров путем подсчета их активности в жидкостном сцинтилляционном счетчике. Результаты экспериментов представлены на рис. 23. На рисунке отдельно приведены данные, полученные при проведении экспериментов в дневное (исходная проба взята в 10 час утра) и ночное время (проба взята в 10 час вечера). Отметим, что радиоактивность фильтра характеризует суммарную метку, включенную в ДНК пиководорослей, цианобактерий и гетеротрофных микроорганизмов,

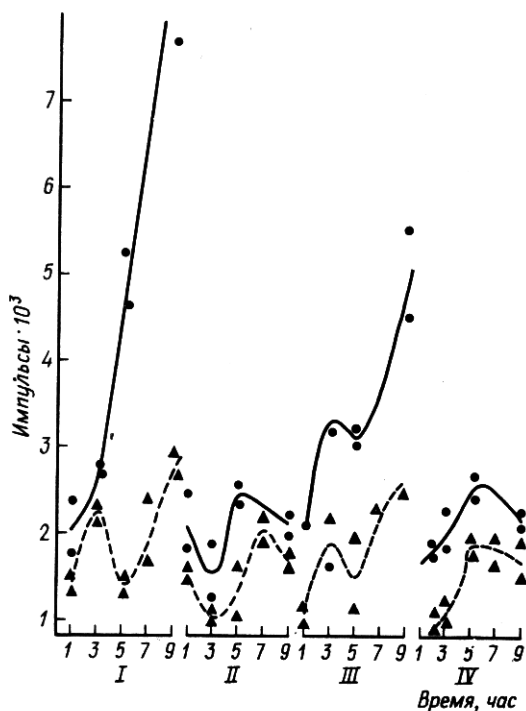


Рис. 23. Динамика включения радиоактивной метки ^3H -тимидина в клетки пиковзрелости в дневное (---) и ночное (—) время.

I — пробы предварительно фильтрованы и помещены на свет; II — пробы не фильтрованы и помещены на свет; III — пробы предварительно фильтрованы и выращивались в темноте; IV — пробы не фильтрованы и выращивались в темноте.

относительная численность которых в данной серии опытов составила 2,18 и 80%, соответственно. Наибольший прирост метки получен для ночного периода в варианте "свет + предварительная фильтрация". В это время пиководоросли не размножались, а цианобактерии делились с временем генерации 20 часов. В варианте ночного опыта "темнота + предварительная фильтрация" тоже получен значительный прирост метки. Можно предположить, что эти максимумы прироста метки соответствуют максимуму размножения цианобактерий и гетеротрофных микроорганизмов. Полученные результа-

ты свидетельствуют в пользу синхронизации *in situ* деления клеток, входящих в состав различных популяций пикопланктона. Во всяком случае, это можно констатировать в отношении цианобактерий.

В целом, радиоактивность проб, взятых в дневное время, ниже, чем радиоактивность проб, взятых в ночное время (рис.23). При этом форма кривых для ночного и дневного опытов чаще всего совпадает. Из этого можно сделать вывод, что общая численность пикопланктона достигает максимума в ночное время. Этот вывод подтверждается прямыми подсчетами числа клеток на фильтрах. В ночное время цианобактерий, приблизительно, в 2 раза, а пиководорослей в 3 раза больше, чем в дневное время. К утру численность пикопланктона сокращается за счет выедания. В пользу большой роли в определении численности пиководорослей и цианобактерий потребителей пикопланктона свидетельствуют данные, полученные при сопоставлении вариантов опыта с фильтрацией воды перед опытами (потребители пикопланктона удалены) и без фильтрации (потребители пикопланктона оставлены). В вариантах без фильтрации скорость прироста метки значительно ниже, чем в вариантах с фильтрацией (рис.23), что связано с потреблением пикопланктона соответствующими более крупными представителями планктонного сообщества.

В экспериментах, проведенных на станции 2972 в Атлантическом океане, производили сопоставление динамики включения метки ^3H -тимидина в пикопланктон, определяемой при помощи прямого подсчета меченых клеток методом радиоавтографии, и подсчета интенсивности меченых клеток на фильтрах, подготавливаемых параллельно с предыдущими, в сцинтилляционном счетчике. Пробы отбирали с двух горизонтов - 25 и 100 м. На глубине 25 м численность пиководорослей и цианобактерий составила, соответственно, 90 и 15000 клеток в мл. На глубине 100 м численность этих представителей пикопланктона была равна 195 и 70 клеток в мл, соответственно. На глубину 25 м приходится максимум численности цианобактерий и максимум количества хлорофилла, определяемого флуориметрически. Сосуды с фильтрованной и нефилтрованной водой, отобранной на глубине 25 м, погружали на эту же глубину, а сосуды с водой, взятой на глубине 100 м, погружали на глубину 60 м. Через каждые 4 часа производили подъем сосудов и отбор материала из них для определения интенсивности мечения клеток. Методическая сторона этих экспериментов представлена в разделе I.4. На рисунке 24 приведены кривые динамики включения метки ^3H -тимидина в клетки пикопланктона, определяемые двумя методами.

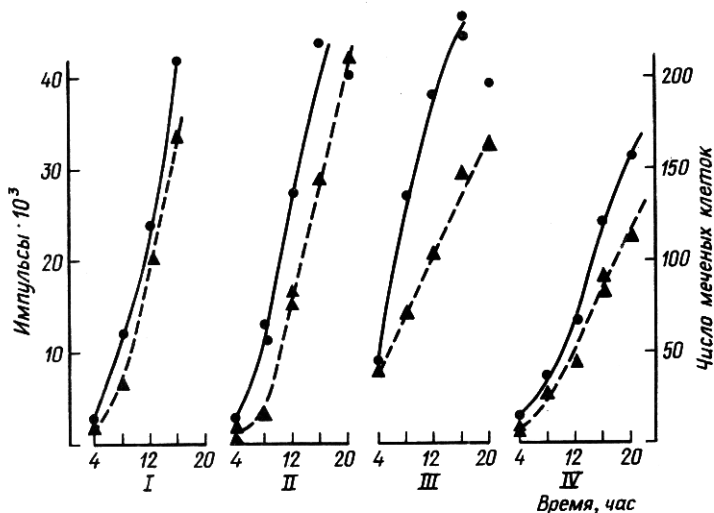


Рис. 24. Динамика включения радиоактивной метки ^3H -тимидина в клетки пиковзвеси, определяемая в параллельных опытах путем учета радиоактивности фильтров в сцинтилляционном счетчике (---) и методом радиоавтографии (—). I — проба с глубины 25 м, предварительно фильтрована; II — проба с глубины 25 м, не фильтрована; III — проба с глубины 100 м, предварительно фильтрована; IV — проба с глубины 100 м, не фильтрована.

Наблюдается удовлетворительное качественное совпадение данных, полученных обоими методами. Из этого следует, что в дальнейшем для целей изучения динамики включения ^3H -тимидина в ДНК пиководорослей, цианобактерий и гетеротрофных микроорганизмов могут быть использованы в одинаковой мере оба метода, хотя анализ динамики меченых клеток методом радиоавтографии является более трудоемким.

На рисунке 24 видно, что наименее интенсивно накопление метки происходит в варианте нефилтрованной пробы, взятой на глубине 100 м, наиболее интенсивно — в этой же пробе, но фильтрованной. На глубине 25 м получены, приблизительно, одинаковые результаты для фильтрованной и нефилтрованной воды. Из этого эксперимента следует, что на данной станции на глубине 100 м имеется относительно большее число потребителей пикопланктона, чем на глубине 25 м.

Сопоставляя все полученные к настоящему времени сведения и проявляя определенную осторожность, можно заключить, что в природных условиях, на глубинах наибольшего обилия пикофитопланктона и при высокой доле делящихся клеток, среднее время генерации обычно не превышает 12 час. Не исключена вероятность и более высоких темпов размножения цианобактерий и пиководорослей в благоприятных условиях.

8.5. Содержание хлорофилла в клетках и фотосинтез пикофитопланктона

Для эколого-физиологического анализа суммарно показатели для пикопланктона и смежных фракций желательнее сопоставить с удельными (в расчете на клетку) величинами содержания тех или иных веществ (например, пигментов) и удельными скоростями процессов. Это необходимо при выяснении путей адаптации клеток к различным условиям. Соответствующие данные, полученные на лабораторных штаммах пикофитопланктона, характеризуют лишь отдельные разновидности при конкретных условиях культивирования. Сопоставление полевых материалов по составу пиковзвеси и численности клеток с содержанием изучаемых веществ и скоростями процессов в пикофракции позволяет оценить удельные величины лишь приблизительно. Обычно приходится пользоваться не очень надежными пересчетами, основанными на упрощающих и усредняющих предположениях. Иногда полезным оказывается сравнение изучаемых величин в смежных дробных фракциях с результатами микроскопического учета клеток. Если в таких фракциях, с интервалом около 1 мкм, наблюдается заметная сепарация планктона по составу (например, в одной из фракций резко доминируют цианобактерии, в другой — пиководоросли и т.д.), то появляется возможность показатели немикроскопических анализов связывать в первую очередь с соответствующей группой организмов.

Например, при определении содержания углерода в клетке цианобактерий в одной из работ (Krempin, Sullivan, 1981) клетку принимали за сферу диаметром 1 мкм, отсюда получая объем 0,542 мкм³. Плотность брали по аналогии с литературными данными для гетеротрофных бактерий 1,1 г.см⁻³ сырого вещества. По тем же источникам отношение сухой массы к сырой принимали равным 0,23, а содержание углерода в сухой массе — 0,344 гС.г⁻¹. В итоге получили содержание углерода в клетке цианобактерий 45,6 фгС.

В другой работе расчеты проведены на единицу объема клетки цианобактерий, по результатам измерений для изолят и смешанных

природных популяций (Takahashi e.a., 1985). Для клеток культивируемых изолят получили среднее содержание хлорофилла a - $0,0038$ мг.мкм⁻³, органического углерода - $0,4$ мг.мкм⁻³, органического азота - $0,054$ мг.мкм⁻³. Расчет для природных популяций дал ту же величину содержания $C_{орг}$, но существенно большее содержание хлорофилла: $0,018$ мг.мкм⁻³. Отношение $C_{орг}$ к хлорофиллу a оценено для изолят величиной 22, для природных популяций - от 15 до 79. Отношение углерода к азоту в изолятах составляло 7,32. При этом объем клеток по полевым данным варьировал в пределах $0,1-2,0$ мкм³.

Легко убедиться, что при пересчете на клетку диаметром 1 мкм только что приведенные данные дают в 4,75 раза более высокое содержание углерода, нежели в предыдущей работе.

При исследовании штамма цианобактерий в условиях разного освещения установили, что при слабом освещении возрастает отношение содержания фикоэритрина к хлорофиллу, но содержание самого хлорофилла изменяется не более, чем вдвое, достигая уровня $2,2$ фг.клетка⁻¹ (Barlow, Alberte, 1985). В то же время расчеты по полевым данным показали, что содержание хлорофилла в клетке цианобактерий сильно варьирует, причем верхний предел около 100 фг.клетка⁻¹ достигается при адаптации к низкой освещенности (Prezelin e.a., 1986). В той же работе много важных экологических выводов делается на основе расчета и сопоставления различных удельных величин для пикофитопланктона.

Так, концентрация хлорофилла у цианобактерий и пиководорослей в течение суток оставалась неизменной, хотя фотосинтез в поверхностном слое в полдень был в несколько (до семи) раз выше, чем утром и вечером. Под термоклином суточные изменения фотосинтеза выражались слабо, но у основания эвфотического слоя снова отчетливо проявлялись. Здесь, при освещенности, составляющей 2% от поверхностей, наибольший фотосинтез у всех размерных фракций зарегистрирован в утренние часы (Prezelin e.a., 1986).

На этих глубинах все фракции имели сходную скорость ассимиляции минерального углерода. Предполагается, что на глубине максимума хлорофилла фотосинтез, в расчете на единицу хлорофилла, у крупного фитопланктона значительно выше, чем у цианобактерий. Содержание хлорофилла на клетку было минимальным у поверхности и до 50 раз возрастало на глубине 12-15 м во фракциях 0,6-1 и 1-5 мкм. Эти изменения привели авторов к выводу о постоянстве вертикальной стратификации условий. Действительно, изменение содержания хлорофилла и скоростей физиологических процессов отражает адаптацию пикофитопланктона к смене освещения и других

условий, а сама адаптация требует определенного времени. Следовательно, клетки устойчиво обитают на определенной глубине в районах стратифицированных вод. Кривые, отражающие зависимость фотосинтеза от освещенности, показывают приуроченность цианобактерий к малым интенсивностям света, особенно у клеток, обитающих на нижних горизонтах (Prezelin e.a., 1986).

Предпочтение, отдаваемое цианобактериями низким уровням освещенности, показано несколькими авторами как при изучении культур, так и в опытах с фракционированным природным фитопланктоном. Кривые фотосинтеза - освещение для двух штаммов позволили установить, что максимальные скорости фотосинтетической ассимиляции углерода наблюдаются при 110-130 мкЕ·м⁻²·с⁻¹, а максимальные скорости роста - при освещенности 45-55 мкЕ·м⁻²·с⁻¹ (Morris, Glover, 1981). Насыщение роста при более низкой освещенности, чем фотосинтеза, известно и для других водорослей, но цианобактерии отличаются тем, что соответствующие абсолютные величины облученности заметно меньше.

Оба изученных штамма снижали фотосинтез при прокачке через культуру кислорода. Этот эффект наблюдался только при насыщающих интенсивностях света. Высокая освещенность, насыщение воды кислородом, а также недостаток CO₂ - неблагоприятные факторы для цианобактерий. Поэтому ожидается, что в нижней части эвфотической зоны условия для них более благоприятны (Morris, Glover, 1981).

Фракция 0,6-1 мкм показывает рост скорости фиксации меченого углерода пропорционально снижению освещенности по глубине (Morris, Glover, 1981), что достигается, по-видимому, увеличением числа фотосинтетических единиц на клетку при уменьшении размеров этих единиц (Barlow, Alberte, 1985). Во всяком случае, с глубиной растет содержание хлорофилла и фикоэритрина в клетках цианобактерий, о чем уже упоминалось. Увеличение содержания хлорофилла при снижении освещенности характерно и для эукариотного фитопланктона.

Скорость фотосинтеза, выражаемую через производство кислорода, для двух клонов цианобактерий оценили величиной 4·10⁻¹¹ мкмоль O₂·кл⁻¹·мин⁻¹ (Barlow, Alberte, 1985). Это больше, чем у крупных диатомовых. В естественном планктоне скорость фотосинтеза фракции менее 3 мкм оказалась вдвое выше, чем у более крупного фитопланктона (Bienfang, Takahashi, 1983).

Все эти сведения, не всегда надежные по отдельности, в совокупности свидетельствуют о большом потенциальном вкладе пико - фитопланктона в первичную продукцию, особенно в олиготрофных акваториях морей.

ГЛАВА 9

ИНТЕНСИВНОСТЬ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ И ФОТОДЕСТРУКЦИИ КАК ПОКАЗАТЕЛИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ КЛЕТОК

9.1. Встречаемость "ярких" и "тусклых" цианобактерий

Наши исследования с помощью эпифлуоресцентной микроскопии показали, что при одинаковом режиме наблюдений за цианобактериями из разных проб, удается даже визуально уверенно различать яркие и тусклые клетки. Встречаемость тех и других может быть существенно неодинаковой в пробах из разных районов и глубин.

Так, в олиготрофных водах Средиземного моря в летний период тусклые клетки чаще отмечались в слоях 0-40 и 90-200 м, т. е. за пределами пика численности цианобактерий, который здесь неизменно приходился на глубины 60-80 м. Но обсуждаемые слои различались и по встречаемости типичных, мелких и крупных форм (см. 5.1). Поэтому отмеченные изменения яркости клеток с глубиной можно предположительно интерпретировать следующим образом: типичные и мелкие цианобактерии являются яркими в области пика общего обилия группы (60-80 м) и относительно тусклыми - в слое 0-40 м. На глубинах более 80 м возрастает доля крупных цианобактерий, которые обычно выглядят тусклыми. Можно отметить, что и в зимний период в Эгейском море у поверхности преобладали тусклые цианобактерии.

Последующие наблюдения в Атлантическом океане и Черном море показали, что хотя яркость цианобактерий явно различается по глубинам, с положением пика их обилия она не обнаруживает определенной связи. Например, в Атлантике при нахождении пика на глубине 40 м (ст. 2947) здесь преобладали тусклые клетки цианобактерий, а в пике, расположенном на 80 м (ст. 2942), доля яр -

ких клеток была высокой. Подсчеты ярких и тусклых клеток на больших выборках проводились лишь эпизодически. Так, на ст.295I, на глубине 100 м яркие цианобактерии составляли 51%. В целом, судя по визуальным наблюдениям, в Атлантическом океане доля ярких клеток обычно возрастала с глубиной, что отмечено и другими авторами (Murphy, Hausen, 1985).

В Черном море зимой вертикальное распределение ярких и тусклых клеток различалось по станциям: на ст.2997 наибольшая доля (50%) ярких цианобактерий отмечена на глубине пика обилия этой группы (50 м), тогда как на станции 3000 (пик - на 50 м) и 3016 (пик - на 25 м) большинство клеток на глубине 50 м были тусклыми, но на 65 м доля ярких возрастала. Общим для всех акваторий признаком можно считать малую долю ярких цианобактерий в приповерхностных водах.

Выше описаны результаты визуальной регистрации сравнительной яркости цианобактерий, полученные при одинаковых условиях наблюдения, а именно: на свежеприготовленных препаратах, в первые часы после отбора батометрических проб, причем яркость клеток отмечали сразу после их попадания в освещенное поле люминесцентного микроскопа. Дело в том, что в ходе освещения клеток под микроскопом происходят быстрые и существенные изменения их яркости.

Разумеется, исследование обсуждаемых свойств желательно производить не визуально, а с помощью количественных инструментальных методов. По существу, между яркими и тусклыми клетками нет резкой грани, а наблюдения за изменениями яркости во времени без количественной регистрации мало информативны. Поэтому использовались доступные способы количественного изучения яркости клеток, т.е. интенсивности автофлуоресценции. Результаты изложены в последующих разделах. Но количественные методы удалось применить далеко не во всех случаях, и результаты визуальной регистрации яркости клеток сохраняют свое значение.

9.2. Изменения свечения цианобактерий в освещенном поле микроскопа

Применение микроспектрофлуориметра позволило инструментально зарегистрировать ход кривой свечения цианобактерий после попадания клетки в освещенное поле микроскопа (Заика, Яшин, 1984). В наиболее полном виде кривая изменений автофлуоресценции для типичных средиземноморских форм летнего планктона показана на рис.25, I.

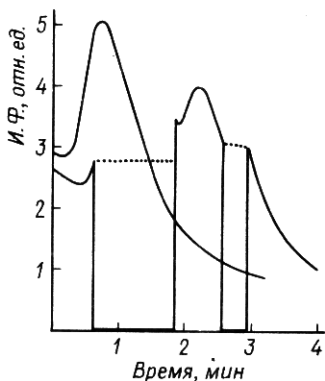


Рис. 25. Изменение интенсивности люминесценции цианобактерий от начала освещения.

1 — непрерывное освещение, 2 — освещение выключали в фазах возрастания и снижения интенсивности свечения. Возбуждающий свет 436 нм, регистрация при 570 нм (Зайка, Яшин, 1984).

(рис. 25, 2). Если освещение выключить на некоторое время в фазе нарастания свечения, то при последующем включении запись на самописце отразит увеличение автофлуоресценции. Следовательно, в темноте продолжались реакции, сопровождающиеся усилением свечения. Если же освещение прервать в фазе "выгорания", то судя по результирующему графику, в темноте соответствующие реакции прекращаются.

Не имея необходимых биофизических данных для интерпретации этих интересных явлений, укажем на их методическое значение. Проводить сравнительные измерения интенсивности свечения клеток необходимо с учетом изменения автофлуоресценции во времени, т.е. в одной и той же фазе цикла. Практически удобным оказалось, при использовании фотометрической приставки ФМЭЛ-1А после быстрого перемещения попавшей в поле зрения клетки под зонд, сни-

После короткой "лаг-фазы" свечение цианобактерий быстро нарастает до максимума. Такое "разгорание" хорошо заметно и при визуальном наблюдении не очень ярких исходно цианобактерий. Следующий этап — экспоненциальное падение интенсивности люминесценции. Это снижение свечения связано с разрушением пигментной системы и называется фотодеструкцией. Исследование особенностей фотодеструкции у разных форм пресноводных сине-зеленых позволило предложить их использование для дифференциации генетически различающихся популяций (Марценюк, Карнаухов, 1974).

Полный цикл изменений свечения, нашедший отражение на рис. 25, 1 наблюдается не всегда. В зависимости от физиологического состояния клеток, их исходной яркости, лаг-фаза и фаза разгорания могут быть и не выражены. Общее время "выгорания" (фотодеструкции) также варьирует.

Были зарегистрированы также особенности автофлуоресценции в случае прерывистого освещения клетки

мать максимальное показание интенсивности ее свечения. Произведя такие измерения для 20 и более клеток из сравниваемых проб, удалось получить объективные и статистически надежные данные о характере изменений автофлуоресценции цианобактерий на разных глубинах. Аналогичные исследования выполнены, но в меньшем объеме, на пиководорослях.

Как показали предварительные наблюдения, скорость фотодеструкции цианобактерий (при одинаковых условиях освещения) также различаются для популяций с разных глубин, либо содержавшихся в лаборатории в разных условиях. Несомненно, эти различия связаны с физиологическим состоянием клеток, так что показатели фотодеструкции могут служить для косвенной оценки последнего. Упрощенное визуальное определение времени "выгорания", с использованием секундомера, оказалось полезным при изучении реакции клеток на те или иные воздействия.

При учете численности пиководорослей методом эпифлуоресцентной микроскопии некоторая неопределенность вызывается возможностью попадания в пикофракцию клеточных осколков, кусков хлоропластов более крупных водорослей, разрушенных при фильтрации.

Относя мельчайшие красные частицы неправильной формы к клеточным фрагментам и не учитывая их в составе пиководорослей, мы попытались сравнить эти две группы по реакции на прерываемое освещение под микроскопом (Владимиров и др., 1987). Для этого измеряли ИФ (интенсивность флуоресценции) красных частиц в начале освещения и через 1 мин. Затем свет выключали на 2-3 мин, а по окончании темновой фазы снова измеряли ИФ.

У частиц, отнесенных к пиководорослям, при действии возбуждающего синего света интенсивностью около 300 клкс в течение 1 мин ИФ снижается на 10-20%. После темновой фазы обнаруживается полное восстановление величины ИФ. При более длительном освещении ИФ падает экспоненциально и необратимо, т.е. фотоингибирование сменяется фотодеструкцией. Отмечено, что у клеток, обитающих на большей глубине, увеличивается показатель экспоненты, описывающей падение ИФ, сопровождающее деструкцию хлорофилла.

У частиц, отнесенных к клеточным фрагментам, после темновой фазы восстановление величины ИФ не наблюдалось. Таким образом, описанные наблюдения не только характеризуют реакцию пиководорослей с разных глубин на сильное освещение, но и подтверждают обоснованность принятого нами визуального разделения красных частиц на пиководоросли и клеточные фрагменты.

9.3. Время фотодеструкции разных форм цианобактерий

Визуальные наблюдения в режиме эпифлуоресцентной микроскопии показали, что в фазе "выгорания" исходная оранжевая или желтая окраска цианобактерий не только бледнеет. В течение немногих минут желтые тона вообще исчезают, свечение становится бледно-салатным, позже - голубоватым. Наконец, клетки делаются неразличимыми. Описанные изменения в видимой окраске цианобактерий объясняются неодинаковой устойчивостью разных пигментов к сильному облучению. Микроспектрофлуорометрические исследования доказали это вполне определенно: выцветание начинается с области хлорофилльного максимума, тогда как фикобилиновые пигменты более устойчивы. Зеленовато-голубоватые тона свечения в конце фазы выгорания напоминают автофлуоресценцию мелких детритных частиц, не содержащих хлорофилла и близких по свечению пигментов.

Описанные наблюдения дают возможность визуально определять для цианобактерий время фотодеструкции при эпифлуоресцентной микроскопии, даже без инструментальной регистрации спектра клеток или интенсивности свечения на определенной длине волны. Достаточно выбрать подходящий показатель окончания определенной стадии фотодеструкции. Таким показателем может быть, например, полное прекращение автофлуоресценции. В условиях наших наблюдений в Атлантическом океане цианобактерии полностью выгорали за 10-15 мин, что требовало больших затрат времени для сравнительных исследований. Кроме того, большой интерес представляют изменения в состоянии хлорофилла и других пигментов, непосредственно связанных с фотосинтезом, причем вариабельность клеток в этом отношении оказалась и более явной. Поэтому временем фотодеструкции считали период от попадания клетки в поле зрения микроскопа до исчезновения оранжево-желтых тонов свечения (по секундомеру). При контрольных проверках на клетках одной популяции два наблюдателя получили близкие результаты. Каждая серия описанных ниже исследований проводилась одним наблюдателем, т.е. при одинаковой способности улавливать изменения окраски. Сохранялись постоянные условия освещения, неизменный набор фильтров, одинаковое увеличение (объектив 85^X). Каждая приводимая ниже величина времени фотодеструкции представляет собой среднее арифметическое из определений для 6-10 клеток.

В Атлантическом океане на ст. 2938 (глубина 100 м) и ст. 2942 (80 м) с помощью обсуждаемого метода проведено сравнение пало-

чковидных и овальных цианобактерий. При этом для каждой из двух форм отдельно учитывали клетки, проявляющие характерную подвижность и неподвижно лежащие на фильтре.

Время фотодеструкции овальных цианобактерий составило: для подвижных клеток 358 ± 90 сек (100 м) и 401 ± 93 сек (80 м), для неподвижных 235 ± 56 и 191 ± 49 сек соответственно. Таким образом, различия между выборками с двух означенных глубин можно считать недостоверными, тогда как время фотодеструкции подвижных клеток было определено выше, чем у неподвижных (в 1,5 раза - на 100 м и в 2 - на 80 м).

Это заключение усиливается материалами по палочковидным цианобактериям с глубины 100 м: подвижные клетки имели время фотодеструкции 462 ± 136 , неподвижные 235 ± 34 сек. На 80 м данные получены только о неподвижных клетках - здесь время фотодеструкции составляло 308 ± 103 сек.

В то же время, как видно по приведенным величинам, время фотодеструкции палочковидных и овальных цианобактерий при сходной подвижности перекрывалось. Следовательно, на глубинах 80-100 м две исследованных морфологически различных популяции цианобактерий практически не отличались по времени фотодеструкции, тогда как подвижные клетки обеих форм были заметно устойчивее неподвижных к выгоранию. Этот результат в методическом отношении важен тем, что при сравнительном изучении одиночных цианобактерий время выгорания следует определять на клетках, сходных по признаку подвижности. В последующих наблюдениях фотодеструкцию определяли для подвижных и относительно ярких клеток каждой популяции, так как неподвижность предположительно связывали с угнетением цианобактерий, ведущим к снижению устойчивости к выгоранию. Однако сопоставление результатов всех наблюдений по фотодеструкции и анализ литературы по флуоресценции цианобактерий показали, что малое время фотодеструкции может отражать как пониженную жизнеспособность клеток, так и их адаптацию к условиям освещения (см. 10.2).

Во всяком случае, подвижность характерна для большинства одиночных цианобактерий почти в каждой пробе, поэтому их использование при наблюдениях за фотодеструкцией вряд ли давало смещенные оценки. По нашим наблюдениям, подвижность клеток нередко усиливается в первые минуты после попадания цианобактерий в освещенное поле микроскопа.

Таким образом, описанные данные позволяют заключить, что время фотодеструкции косвенно отражает состояние пигментной системы и клетки в целом. Для проверки возможной связи устой-

чивости к выгоранию с жизнеспособностью цианобактерий, провели исследование фотодеструкции при воздействии поврежденных агентов.

Предполагая, что уменьшение времени фотодеструкции отражает снижение устойчивости клеток к выгоранию, изучили фотодеструкцию цианобактерий после их помещения в 70° спирт или дистиллированную воду. Эти жидкости каплями добавляли на препарат с цианобактериями у одного края покровного стекла и с помощью полосок фильтровальной бумаги оттягивали морскую воду с другого края. После быстрой замены морской воды на испытуемую жидкость периодически замеряли время фотодеструкции отдельных клеток цианобактерий. Полученные величины нанесены в виде точек на график (рис. 26).

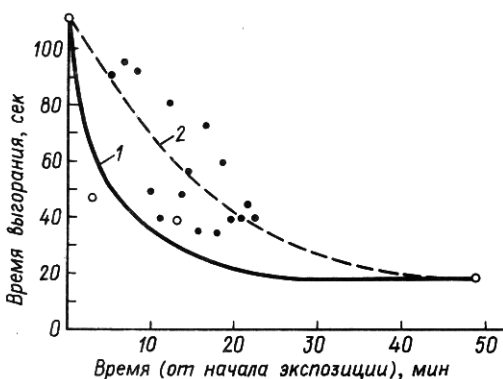


Рис. 26. Время фотодеструкции цианобактерий при действии спирта (1) и дистиллированной воды (2).

Проведены ориентировочные кривые, отражающие общий характер изменений времени фотодеструкции под действием спирта и дистиллированной воды (от начала их воздействия). Можно видеть, что устойчивость к выгоранию быстро падает в обоих случаях, более резко — при помещении цианобактерий в спирт. Сравнивая величины фотодеструкции с приведенными в предыдущем разделе, убеждаемся, что исходное время выгорания клеток, использованных в опытах с повреждающими жидкостями, было относительно небольшим, за первые 10–20 мин время фотодеструкции снизилось до величин, редко регистрировавшихся на клетках их свежих проб. Отметим также, что параллельно с уменьшением времени фотодест-

рукции быстро снижалась доля ярких клеток.

Приведенные результаты подтверждают предположение, что повреждение или угнетение клеток сопровождается уменьшением времени фотодеструкции. Кроме того, эти данные дают некоторое представление о предельно малых значениях времени фотодеструкции, которое можно ожидать у жизнеспособных цианобактерий, при использовании описанного метода регистрации. Впрочем, очень низкие величины времени фотодеструкции клеток были получены в дальнейшем также на свежих пробах, как с больших глубин, так и с глубины пика обилия цианобактерий, что требует осторожности в интерпретации данных.

9.4. Фотодеструкция цианобактерий в связи с освещением и температурой

В Атлантическом океане в судовой лаборатории проводились различные опыты с цианобактериями. В нескольких случаях попутно определили время фотодеструкции. Это дало хотя и отрывочные, но интересные сведения о различиях в выгорании клеток, содержащихся в разных условиях.

В одном опыте серия фильтров с цианобактериями (из одной исходной пробы воды), на герметично окантованных парафином препаратах, в течение 9 сут. находилась в лаборатории (температура $21-25^{\circ}\text{C}$) при очень слабом освещении в дневное время. Затем часть фильтров поместили в полную темноту. Еще через 11 сут. измерили время фотодеструкции для цианобактерий, находившихся как при слабом освещении, так и в темноте. Рассчитывали среднее по показателям отдельных клеток на фильтре, затем - среднее по разным флуоресценциям.

В этом случае, среднее для клеток с отдельных фильтров, на свету составляло 254-314 сек, в темноте - 147-164 сек. Это показывает, что состояние клеток на отдельных фильтрах в каждой партии мало различалось, тогда как темновая и световая партии существенно отличались между собой. Среднее для фильтров световой партии составляло 284, для темновой - 155 сек, их отношение - 1,8.

В другом опыте вода с богатого цианобактериями горизонта была налита в стеклянные мерные цилиндры высотой 30 см, один из которых поместили при слабом освещении ($t^{\circ}=21-25^{\circ}\text{C}$), второй - холодильник (темнота, 7°C). Через 3 сут. сравнили время фотодеструкции клеток из верхней и нижней части каждого цилиндра. Получены величины (сек.):

	верх цилиндра	низ
слабый свет, 21-25°C	203±32	394±78
темнота, 7°C	132±20	99±7

Одновременно отмечено, что в верхней части цилиндра, находившегося на свету, цианобактерии были более тусклыми, чем в остальных вариантах. Кроме того, у дна цилиндров скапливались клетки, объединенные в группы и микроколонии.

По приведенным величинам видно, что время фотодеструкции сильно снизилось за три дня содержания клеток в темноте, при низкой температуре. Клетки в верхней и нижней части каждого цилиндра также достоверно различались по времени выгорания. Отсюда следует, что дифференцировка цианобактерий в цилиндрах по времени фотодеструкции оказалась связанной и с различиями в пловучести клеток, что привело к их расслоению в пределах цилиндра.

Сравнение результатов обоих описанных экспериментов показывает, что время фотодеструкции было одинаковым у клеток, находившихся при слабом освещении и высокой температуре, как на фильтрах, так и в цилиндре. Это свидетельствует о сходном состоянии клеток при столь разных условиях содержания в отношении объема воды и плотности клеток. Если так, то различия времени выгорания у клеток, находившихся в холодильнике, следует искать во влиянии температуры. В верхней части цилиндра и на фильтрах (в темноте) клетки отличались по фотодеструкции несущественно, тогда как ко дну опустились цианобактерии с наименьшим временем выгорания, возможно, с пониженной жизнеспособностью. Последнее заключение сделано на основе сравнения с временем фотодеструкции клеток под действием спирта.

Отметим, что в освещенном цилиндре у дна скапливались, наоборот, клетки с наибольшим временем выгорания. В этом случае, появление микрогрупп можно толковать как проявление наибольшей скорости деления клеток. Впрочем, микрогруппы скапливались у дна цилиндра и в холодильнике, так что эти наблюдения однозначно свидетельствуют лишь о пониженной плавучести микрогрупп. Уместно напомнить, что колониальные цианобактерии обычно встречались ниже глубины пика одиночных клеток.

Получив общее представление о влиянии на время фотодеструкции цианобактерий различий в морфологии и подвижности клеток, в освещенности и температуре, мы провели на ст. 2972 в Атлантическом океане сравнение фотодеструкции клеток в свежих пробах воды с семи горизонтов. Результаты приведены на рис. 27, где показаны также профиль температуры и положение пика обилия ци-

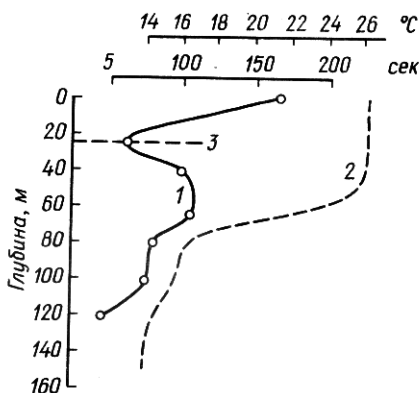


Рис. 27. Изменение времени фотодеструкции цианобактерий с глубиной.

1 - время фотодеструкции,
2 - температура, 3 - положение пика обилия цианобактерий.

Поскольку кривая изменений времени фотодеструкции цианобактерий с глубиной получена лишь на одной станции и имеет сложную форму, детальное ее обсуждение может казаться необоснованным. Но далее будет показано, что ход кривой определенно коррелирует с ходом кривых вертикального изменения интенсивности свечения клеток. Поэтому мы еще вернемся к обсуждению изменений фотодеструкции с глубиной при сравнительном анализе всех данных по автофлуоресценции пикопланктона (10.2).

9.5. Интенсивность свечения клеток пикопланктона с разных глубин

В Атлантическом океане были получены детальные вертикальные профили интенсивности флуоресценции (ИФ) пикопланктона. Измерения с помощью приставки ФМЭЛ-1А (см. I.3) выполнены для цианобактерий на 5 и для пиководорослей - на 3 станциях (Владимиров и др., 1987).

Полученные профили автофлуоресценции представлены на рис. 28. Можно видеть, что квантовый выход флуоресценции в целом возрастает с глубиной, особенно существенно - у цианобактерий. Эти

цианобактерий.

Время фотодеструкции было максимальным у поверхности (165 сек) и с глубиной снижалось в 3,4 раза. Но это снижение проходило не плавно. В области пика обилия клеток (25 м) также наблюдалось значительное падение времени фотодеструкции. В этой зоне (до скачка на 50 м) температура была неизменной. На всех исследованных глубинах фотодеструкцию определяли для морфологически неразличимых клеток.

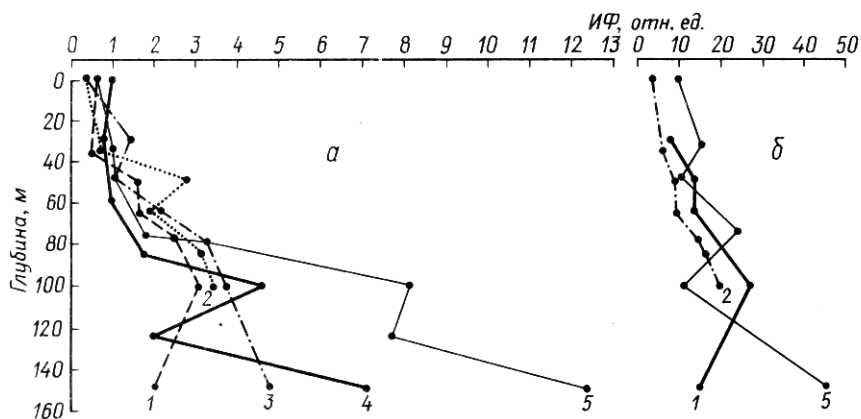


Рис. 28. Изменение интенсивности флуоресценции (ИФ) цианобактерий (а) и пиководорослей (б) с глубиной.

1 - ст. 2954; 2 - ст. 2953; 3 - ст. 2951; 4 - ст. 2949; 5 - ст. 2959.

изменения ИФ достоверны, что иллюстрируется на примере ст. 2959 (рис. 29). Убеждаемся также, что вариабельность квантового выхода как у индивидуальных клеток, так и между сравниваемыми станциями, также возрастает с глубиной.

Минимальные величины ИФ получены у поверхности океана, либо на глубинах 30-35 м. По станциям максимальные значения ИФ (на глубинах 100-150 м) превышали минимальные в 7-15 раз для цианобактерий и в 3-5 раз - для пиководорослей. При этом отношение $I_{\text{Ф, max}}/I_{\text{Ф, min}}$ изменялось по станциям сходно для цианобактерий и пиководорослей:

станция	цианобактерии	пиководоросли
2953	7	4
2954	5	3
2959	14	5

Аналогичное соответствие наблюдалось и для минимальных значений ИФ обеих групп пикопланктона.

Кроме того, по общему ходу изменений ИФ с глубиной обе груп-

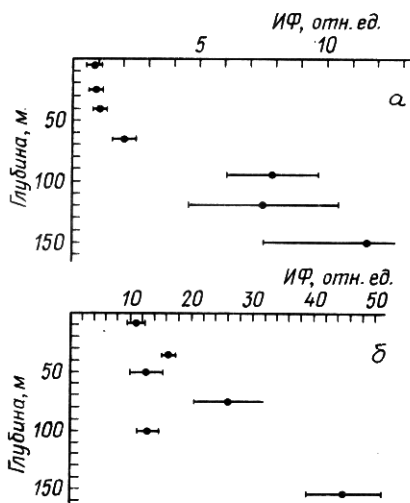


Рис. 29. Изменение интенсивности флуоресценции (ИФ) цианобактерий (а) и пиководорослей (б) с глубиной на ст. 2959. Приведены доверительные интервалы.

ны, как правило, повторяли одна другую. Например, на ст. 2954 максимальная ИФ зарегистрирована на 100 м, тогда как на 150 м наблюдалось снижение свечения. Таким образом, интенсивность флуоресценции цианобактерий и пиководорослей менялось по сходным законам как на разных глубинах каждой станции, так и на сравниваемых станциях. Это позволяет предполагать сходство реакции обеих групп в отношении квантового выхода автофлуоресценции, при воздействии таких факторов, как освещенность в зоне обитания и концентрация питательных веществ.

Следует отметить, что на всех 5 станциях интенсивность свечения цианобактерий было близкой к минимальной в слое от поверх-

ности до глубины пика их обилия, либо повышение ИФ лишь начиналось с этой глубины. Важно при этом, что глубина пика обилия на обсуждаемых станциях не была постоянной, изменяясь от 50 до 85 м. Поэтому можно предполагать определенную связь между резким снижением обилия цианобактерий ниже глубины пика их обилия и параллельным возрастанием квантового выхода автофлуоресценции.

У пиководорослей на глубине максимального их обилия, расположенного ниже, чем у цианобактерий, ИФ заметно превышала приповерхностные величины, но основное увеличение свечения также наблюдалось в более глубоких слоях.

Вертикальные профили флуоресценции индивидуальных клеток цианобактерий были получены также с применением проточного цитометра в зоне течения Гольфстрим (Chisholm e.a., 1986). Профиль свечения показал минимальные значения в слое 0-40 м (где численность клеток была наивысшей), максимум на 60 м (где числен-

ность цианобактерий резко снизилась) и возвращение к минимальным величинам на 120 м. Сопоставление интенсивности оранжевого свечения при разном рассеянии света (по глубине) привело авторов к заключению, что на 60 и 100 м находились разные популяции цианобактерий, чем и объясняются особенности профиля. Это согласуется с нашими выводами о различиях в автофлуоресценции у морфологически различающихся форм цианобактерий. При этом затрудняется анализ профилей автофлуоресценции под углом зрения изменений физиологического состояния клеток с глубиной, т.к. требуется доказать, что не оказывает помехи смена качественного состава цианобактерий по вертикали в исследуемом районе.

В ходе исследований в Атлантическом океане было отмечено, что цианобактерии из одной пробы воды, осажденные на фильтрах с разным диаметром пор, могут отличаться по яркости. Для соответствующих инструментальных измерений на ст.2954 вода с трех горизонтов была последовательно профильтрована через ядерные фильтры "Нуклеопор" 0,5 мкм и "Сынпор" 0,23 мкм. На том и другом фильтре находились округлые цианобактерии диаметром около 0,6-0,8 мкм, не имеющие видимых морфологических различий.

Измерения с помощью приставки ФМЭЛ-1А показали (Владимиров и др., 1987), что клетки, прошедшие сквозь ядерные фильтры 0,5мкм, отличались более высокими значениями ИФ (табл.6).

Таблица 6.

Светимость клеток на разных фильтрах (ИФ в относительных единицах)

Горизонт	Нуклеопор 0,5 мкм	Сынпор 0,23 мкм
75 м	2,05±0,98	1,67±0,5
100 м	2,23±0,35	3,1±0,31
125 м	3,82±0,7	7,68±0,77

Хотя фильтры двух обсуждаемых типов имеют разное собственное свечение, использованный метод определения ИФ, с учетом фонового свечения, не дает оснований сомневаться в достоверности результатов.

Отсюда следует, что морфологически неразличимые цианобактерии в слое 75-125 м относились к двум разновидностям. Клетки первой проникают через поры 0,5 мкм, второй - задерживаются. Это может объясняться различиями в эластичности клеточных стенок, либо разной выраженностью наружного фибриллярного чехла,

При условии, что последний не обладает автофлуоресценцией. Как показано, клетки разновидности, проникающей через поры 0,5 мкм, отличаются заметно большей интенсивностью свечения, особенно на глубине 125 м.

Разновидности, выделенные по различиям в светимости и реакции на фракционирование фильтрацией, могут оказаться как генетическими, так и физиологическими вариациями. Во всяком случае, описанные результаты наблюдений указывают на возможные методы разделения неоднородных популяций цианобактерий.

На двух клонах морской цианобактерии *Synechococcus* sp. изучена зависимость нескольких физиологических характеристик, в том числе ИФ клеток, от уровня освещенности при выращивании культур (Barlow, Alberte, 1985). Измеряли, в основном, флуоресценцию фикоэритрина при 560 и 574 нм, но также и хлорофилла при 680 нм.

Сравниваемые клоны при всех условиях культивирования показали более низкую флуоресценцию хлорофилла, чем фикоэритрина, поэтому основные наблюдения сделаны на последнем, как на основном светозапасающем пигменте данных клонов. Клоны различались по уровню ИФ фикоэритрина, хотя имели сходное его содержание в расчете на клетку. Относительная флуоресценция фикоэритрина у обоих клонов была выше при выращивании в условиях сильного освещения ($100-250 \text{ мкЕ.м}^{-2}.\text{с}^{-1}$), что показывает на потерю большей доли абсорбированного света, идущего не на фотосинтез, а на свечение. В целом, величина ИФ оказалась положительно связанной со световыми условиями выращивания культур и отрицательно — с максимальным фотосинтезом. Последний зарегистрирован при низкой освещенности ($10-25 \text{ мкЕ.м}^{-2}.\text{с}^{-1}$), когда абсорбируемая световая энергия утилизируется на фотосинтез более полно, что отражается и в снижении ИФ.

Таким образом, фотоингибирование фотосинтеза сопровождается увеличением светимости цианобактерий, причем, по данным авто-ров, корреляция двух процессов очень высока. Описанные экспериментальные результаты по влиянию освещенности в среде обитания на ИФ в определенной мере затрудняют интерпретацию наших данных об увеличении светимости цианобактерий с глубиной. Анализ этих данных проводится в главе 10.

ГЛАВА 10

ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА РАСПРЕДЕЛЕНИЕ И ОБИЛИЕ ПИКОФИТО- ПЛАНКТОНА

10.1. Общие причины и механизмы вертикальной стратификации пикопланктона

Материалы предыдущих глав позволяют обсудить распределение фототрофного пикопланктона под углом зрения его реакции на основные экологические факторы. Естественно, что при нынешнем уровне знаний возможен лишь предварительный анализ, позволяющий не столько прийти к надежным заключениям, сколько наметить пути дальнейших поисков.

В первую очередь привлекает внимание надежно установленная и значительная вертикальная неоднородность профилей пикофитопланктона в стратифицированных водах. Устойчивые и резко выраженные пики обилия цианобактерий и пиководорослей, разобоченные по вертикали, говорят о многом.

В общем случае пики обилия мелких организмов, практически не обладающих собственной подвижностью и способностью менять гидростатические свойства, образуются на определенных глубинах либо за счет дифференциальных скоростей размножения и элиминации клеток, либо путем пассивной задержки погружения.

Для некоторых сине-зеленых доказана возможность активной регуляции удельного веса и выяснены морфологические механизмы этого явления. По пикоцианобактериям подобных сведений нет. Допустив наличие у них такой регуляции, естественно ожидать, что она используется для перемещения цианобактерий в благоприятные условия. Отсюда придется заключить, что клетки перемещаются на глубины, наиболее подходящие, в частности, для их раз-

множения. Предположение о регулярных вертикальных миграциях из зоны оптимальной для столь мелких организмов с малым временем генерации представляется невероятным. Следовательно, предположение об активном изменении гидростатических свойств не противоречит гипотезе о том, что клетки цианобактерий скапливаются на глубине, где скорость их размножения оптимальна. В сущности, вторая гипотеза поглощает первую, делает ее излишней по отношению к пикофитопланктону.

А.С.Микаэлян (1987) обращает внимание на то, что максимальный процент делящихся цианобактерий наблюдался на 20-40 м выше пика обилия этой группы, при освещенности 5-15% от поверхностной. Здесь же часто регистрировались скопления зоофлагеллат и мелких инфузорий. Это привело к предположению, что на глубине максимума митотической активности численность цианобактерий понижена из-за сильного выедания.

При наличии вертикального разобщения пика митотической активности и максимума численности такое предположение кажется обоснованным, при дополнительном условии, что существуют причины, препятствующие перемещению потребителей в зону более высокой концентрации цианобактерий. В этом случае пик обилия объясняется, как упоминалось, наличием существенных вертикальных градиентов скоростей размножения цианобактерий и их выедания.

Эта же гипотеза приемлема для пиководорослей, по экологии которых еще меньше данных, и рассматривать какие-либо альтернативы нет оснований. В то же время для обеих групп не исключена вероятность определенного влияния пассивной задержки клеток ("ложного дна") на глубине максимума численности.

Пики обилия устойчивы, что подтверждается всеми имеющимися данными по глубинам их залегания. Отсюда следует, что клетки имеют достаточно времени для адаптации к условиям существования на определенной глубине. Действительно, у цианобактерий отмечается заметное изменение некоторых физиолого-биохимических свойств по вертикали (интенсивности свечения, скорости фотосинтеза, содержания пигментов). Эти адаптации, в свою очередь, показывают, что клетки постоянно находятся на данной глубине. Альтернативным является предположение, что на разных горизонтах доминируют различные формы (виды?) цианобактерий и пиководорослей, отличающиеся как физиологически, так и генетически. В некоторых случаях смена доминирования морфологических разновидностей цианобактерий по глубинам была нами фактически установлена. Другие исследователи отмечают изменение средних размеров цианобактерий с глубиной, но считают это результатом адаптации, а

не признаком смены генетически различных форм. Этот вопрос требует дополнительных исследований, но определенная направленность физиологических изменений клеток с глубиной, несомненно, отражает их адаптацию к соответствующим условиям.

Данные по Средиземному и Черному морям показали, что в зимний период стратификация пикофитопланктона нарушается в результате интенсивного вертикального перемешивания водных масс. По-видимому, в таких условиях клетки пиководорослей и цианобактерий подвержены быстрому вертикальному перемещению, не могут накапливаться преимущественно в зоне оптимальных условий. Но перемешивание вод может менять и вертикальное распределение благоприятных биотопов. Этот вопрос можно анализировать только с учетом конкретных факторов среды.

Учитывая, что сетной фитопланктон, пиководоросли и цианобактерии в стратифицированных водах образуют максимумы на разных глубинах, можно заключить, что эти группы (во всяком случае, наиболее массовые их представители) по-разному реагируют на условия, имеют несовпадающие требования к среде. Соответствующие особенности пиководорослей и цианобактерий подлежат дальнейшему анализу с привлечением имеющихся данных о реакции этих групп на отдельные факторы.

10.2. Фотосинтезирующий пикопланктон и свет

При обсуждении в литературе вертикального распределения пикофитопланктона наибольшее внимание уделяется действию света. Поэтому, обращаясь к конкретным факторам среды, в первую очередь, изложим материалы и гипотезы, связанные со светом, имеющим несомненно влияние на условия существования любых фотосинтезирующих организмов.

О возможной приуроченности пикофитопланктона к нижней части эвфотического слоя указывалось еще до того, как были получены детальные профили его распределения в разных акваториях (Morris, Glover, 1981). Основанием послужили опыты с естественным пикопланктоном, в которых фракция 0,6-1 мкм показала увеличение скорости фиксации меченого неорганического углерода, пропорциональное снижению уровня освещенности. В той же работе приведены результаты лабораторных исследований на двух штаммах морских цианобактерий, подтвердившие неблагоприятность высокого уровня освещенности (а также избытка кислорода и недостатка углекислоты) для этих форм. Насыщающая освещенность для роста и фотосинтеза цианобактерий оказалось значительно более низкой,

чем у диатомовых и зеленых жгутиковых. Таким образом, уже этих данных оказалось достаточно для понимания основной причины образования пикофитопланктоном максимумов на определенном удалении от поверхности моря.

Дальнейшие исследования подтвердили и детализировали заключение об адаптации пикофитопланктона к малым количествам света. Выделенная из природного планктона фракция I-0,4 мкм, при сравнении с более крупными организмами, обнаружила меньшие значения насыщающей фотосинтез освещенности, более крутой наклон кривой, описывающей зависимость фотосинтеза от света. В этой фракции оказалось и более высокое ассимиляционное число (отношение скорости фотосинтеза к содержанию хлорофилла). Все эти особенности свидетельствуют о том, что для фотосинтеза пикофитопланктона более благоприятны низкие интенсивности света (Platt e.a., 1983).

Получение профилей разноплановых показателей, отражающих фотосинтетическую способность цианобактерий (Glover e.a., 1986; Prezelin e.a., 1986), дало дополнительные доказательства их адаптации к пониженной освещенности. Для фитопланктона во фракциях крупнее 5 мкм, на трех станциях с разной структурой вод, требовалась гораздо более высокая интенсивность света для насыщения фотосинтеза, чем во фракциях I-5 и 0,6-I мкм. Цианобактерии даже в поверхностных пробах обнаруживали насыщение фотосинтеза (выход на плато) при освещенности менее $50 \text{ мкЕ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$, а взятые с глубины максимума хлорофилла - при $5 \text{ мкЕ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$.

Сравнивая фотосинтетическую активность пикопланктона с глубины, где освещенность составляла 2% от поверхностной, нашли, что при доминировании пиководорослей фотосинтез был выше. Эти данные привели к предположению, что пиководоросли могут использовать малые количества сине-фиолетового света для фотосинтеза и роста более эффективно, чем цианобактерии. Поэтому возрастает доля пиководорослей в пикофитопланктоне с увеличением глубины (Glover e.a., 1986). Таким образом, различия в реакции на свет используются и для объяснения вертикального расхождения максимумов двух групп пикофитопланктона. Однако пиководоросли остаются менее исследованными в отношении физиологических свойств, чем цианобактерии, в частности, в условиях лабораторных культур.

При культивировании двух клонов цианобактерий было установлено, что максимальная скорость деления клеток наблюдается при освещенности $25 \text{ мкЕ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$. Темп размножения снижается с повышением интенсивности света и при $250 \text{ мкЕ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ рост прек-

ращается. При $10 \text{ мкЕ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ скорость деления также снижалась вдвое против максимальной (Barlow, Alberte, 1985). В этой работе обсуждаются и морфологические механизмы адаптации цианобактерий к низкой освещенности. Показано, что при снижении интенсивности света содержание хлорофилла и фикоэритрина в клетках возрастает в 1,5 раза (причем фикоэритрина содержится вообще в 15–20 раз больше, чем хлорофилла). Одновременно увеличивается число фотосинтезирующих единиц, уменьшаются их размеры. Все это ведет к возрастанию фотосинтеза в расчете на фотосинтетическую единицу, к максимизации захвата и утилизации доступной световой энергии. Авторами показано увеличение эффективности фотосинтеза цианобактерий при низкой освещенности. Фотосинтез клеток, выращиваемых при $10\text{--}50 \text{ мкЕ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$, снижался на 20–30%, если освещенность повышали до $150 \text{ мкЕ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ и более. Все это ведет к тому, что благоприятные для цианобактерий условия наблюдаются на глубинах, где освещенность составляет 1–10% от поверхностной. Полевые данные показывают, что максимум численности цианобактерий в стратифицированных водах Атлантики регистрируется на глубинах с освещенностью 1%, а пиководорослей – 0,5% от поверхностной (Murphy, Haugen, 1985). В субантарктической зоне Тихого океана пики обилия обеих групп приходились на освещенность менее 4%, а в субтропической фронтальной зоне – 10% от поверхностной (Микаэлян, 1987).

Изучение природных смешанных популяций цианобактерий привело к заключению, что у них содержание хлорофилла на клетку возрастает с глубиной в 50–100 раз (Prezelin e.a., 1986). Обращается внимание на то, что это может отражать рост числа тилакоидов, т.е. возрастание числа или плотности фотосистем I и II. Одновременно ожидается увеличение размеров клеток, которое и показано авторами. Предлагается также, что при слабом освещении изменяется упаковка тилакоидов, и это ведет к увеличению относительной квантовой эффективности фотосинтеза. Наконец, возрастает светопропускающая активность фикоэритрина за счет роста его содержания в клетках.

В связи с обсуждаемыми адаптациями цианобактерий к низким интенсивностям света затрагивается и вопрос об их автофлуоресценции (Barlow, Alberte, 1985). У двух исследованных клонов относительная флуоресценция фикоэритритрина была выше, когда клетки росли в условиях повышенного свечения. В полосе хлорофильного максимума свечение не зависело от уровня освещения культур. Это показывает, что значительная доля поглощенной кле-

тками энергии (при высокой интенсивности света) не используется на фотосинтез, а расходуется на свечение. При сходном содержании фикоэритрина в расчете на клетку, один из клонов всегда давал более высокий выход флуоресценции фикоэритрина. Это является показателем физиологических различий клонов; у них разная доля фикоэритрина связана энергетически с процессом фотосинтеза.

Относительная интенсивность свечения была связана с уровнем освещения культур прямой зависимостью, с фотосинтезом — обратной. Между флуоресценцией и концентрацией пигментов связь была слабой. Отсюда следует, что измерения флуоресценции не могут служить для определения количества пигментов у цианобактерий и расчета их биомассы. Характер связи флуоресценции с освещением культур и фотосинтезом авторы объясняют тем, что усиление интенсивности света вызывает фотоингибирование фотосинтеза. В результате этого возрастает доля фикоэритрина, расходуемого при свечении. В итоге ожидается, что при перемещении цианобактерий к поверхности моря их автофлуоресценция увеличивается (Barlow, Alberte, 1985).

Напомним, что в обсуждаемых опытах клетки, выращиваемые при пониженной освещенности, показали увеличение хлорофилла и фикоэритрина только в 1,5 раза, тогда как в море с глубиной содержание хлорофилла может возрастать в 50–100 раз (Prezelin e.a., 1986). Это ведет к заключению, что изменения автофлуоресценции клеток в море с глубиной могут существенно отличаться от полученных в лабораторных условиях.

В связи с вышеизложенным, обратимся к нашим полевым данным по флуоресценции пикофитопланктона (гл.9). Наиболее "яркие" клетки в Средиземном и Черном морях летом и зимой отмечались не в поверхностных водах. В Атлантическом океане визуальные данные о нарастании "яркости" цианобактерий с глубиной достоверно подтверждены специальными измерениями. Интенсивность флуоресценции была минимальной практически во всем верхнем слое, до глубины пика обилия цианобактерий. Далее свечение постепенно нарастало, превышая поверхностное в 7–15 раз. Согласно предварительным заключениям (Владимиров и др., 1986), это связано с возрастанием содержания пигментов и другими адаптациями клеток к снижению освещенности.

Отметим, что возрастание интенсивности флуоресценции цианобактерий глубже пика их численности шло параллельно резкому снижению их обилия. Если обилие клеток отражает благоприятность условий среды, то можно заключить, что увеличение флуорес-

ценции на глубинах ниже пика обилия отражает ухудшение состояния клеток, точнее - ухудшение условий для фотосинтеза. Предположительно, механизмы этого явления можно объяснить теми же эффектами, которые привлечены при обсуждении действия избыточного света (Barlow, Alberte, 1985). Если избыточное освещение вызывает фотоингибирование фотосинтеза, сопровождаемое значительным расходом пигментов на свечение, то и растущий дефицит света, возможно, увеличивает долю пигментов, не задействованных в фотосинтезе. Таким образом, наша гипотеза сводится к следующему. Вблизи поверхности моря цианобактерии угнетаются избытком света. Возможно, значительная доля не участвующих в фотосинтезе пигментов при этом вызывает повышенную автофлуоресценцию. С увеличением глубины то же количество пигментов обеспечивает более высокий выход фотосинтеза, но различия в интенсивности свечения относительно малы (при наших методах регистрации не выходят за пределы ошибки). На глубине пика обилия цианобактерий условия освещения либо близки к оптимальным, либо небольшой дефицит света компенсируется увеличением содержания пигментов, числа фотосинтетических единиц, изменением их размеров. Чем больше дефицит света, тем менее эффективны подобные адаптации, так что доля не участвующих в фотосинтезе пигментов возрастает. Это имеет следствием существенное увеличение автофлуоресценции клеток.

Изложенная гипотеза подтверждается и данными по изменению времени фотодеструкции цианобактерий с глубиной. Быстрее всего клетки "выгорают" в нижней части исследованного слоя пелагиали, где они имеют наибольшее содержание пигментов. У поверхности моря устойчивость цианобактерий к фотодеструкции максимальна. Эти данные отчасти можно объяснить тем, что в поверхностном слое клетки адаптируются к избыточному освещению, увеличивая защиту своих фотосистем от разрушения. Но снижение времени фотодеструкции в нижней части исследованного слоя отражает скорее всего ухудшение общего физиологического состояния клеток. Локальное снижение устойчивости клеток к выгоранию на глубине пика обилия цианобактерий требует дополнительных объяснений, которые вряд ли будут противоречить основной гипотезе.

Опыты по фотодеструкции цианобактерий, содержавшихся в лаборатории при разных температурных и световых условиях, также показали, что устойчивость к выгоранию отражает состояние клеток. Содержание в темноте снижало устойчивость к выгоранию, к тому же эффекту приводило понижение температуры до 7°C. С другой стороны, при освещении цилиндра сверху у дна скапливались

цианобактерии более яркие и с большей устойчивостью к выгоранию. Все эти данные в целом увязываются с гипотезой о причинах и механизмах наблюдаемой неравномерности автофлуоресценции и фотодеструкции. К сожалению, при наших исследованиях в Атлантическом океане не производились измерения уровней освещенности в море и при постановке экспериментов в судовых лабораториях, что препятствует анализу влияния освещенности в ее абсолютном выражении.

Следует обсудить детальнее результаты наблюдений над цианобактериями, содержащимися в темноте. Морские коккоидные цианобактерии считаются облигатными фотосавтотрофами, т.е. не могут использовать сахара или органические кислоты в качестве единственного источника углерода. Однако в этом отношении они изучены пока явно недостаточно. По способности к выключению органических соединений заметно различаются даже близкие виды сине-зеленых (Гусев, Никитина, 1978). Показано, что многие сине-зеленые становятся зависимыми от органических веществ в условиях, затрудняющих ассимиляцию CO_2 (при низкой освещенности, преобладании синего света, в среде с дефицитом CO_2). Более 20 видов обнаружили способность к гетеротрофному росту, хотя время генерации при этом возрастает в 3-5 раз. Правда, гетеротрофный рост зарегистрирован лишь у 4 из 38 изученных хрококковых цианобактерий. Известно, что клетки сине-зеленых способны до 1,5 мес. сохранять жизнеспособность в темноте, особенно - при добавлении глюкозы и фосфатов. Очень долго сохраняется хлорофилл, но его защита от фотоокисления в темноте ослабляется, и при последующем переносе на свет, пигменты быстро разрушаются. У некоторых форм при росте в темноте в течение нескольких лет полностью сохраняется пигментный аппарат. Даже у облигатно фототрофных сине-зеленых существуют механизмы длительного выживания в темноте и сохранения способности к фотосинтезу (Гусев, Никитина, 1978).

Наши наблюдения по выживанию морских планктонных цианобактерий в темноте, по их флуоресценции и фотодеструкции в этих условиях вполне увязываются с приведенными сведениями. Для цианобактерий, обитающих в условиях пониженного освещения, вероятность переноса в нижележащие слои велика, и способность сохранения жизнеспособности в темноте обеспечивает им возможность возобновления активности в случае обратного переноса при нарушениях стратификации вод.

Выше обсуждались преимущественно цианобактерии, как более изученная группа пикофитопланктона. Но наши данные по вертикальным изменениям интенсивности флуоресценции пиководорослей

показывают, что они проявляют те же черты, причем смещения характерных точек на профилях свечения обеих групп происходят синхронно, т.е. наблюдаются на одних и тех же станциях. Поэтому можно полагать, что закономерности реакций обеих групп на изменения освещенности качественно сходны, хотя механизмы реакций и адаптаций у прокариот и эукариот различаются в некоторых деталях. Во всяком случае, увеличение с глубиной содержания хлорофилла в клетках хорошо известно и для эукариот, а на пиководорослях показано также повышение числа тилакоидов в нижней части эвфотического слоя (Takahashi, Hori, 1984). Очевидны различия в реакции двух групп на абсолютные величины освещенности, что выражается в разобщенности их максимумов обилия по глубине. Впрочем, последнее может объясняться не только действием света.

Вообще, все изложенное в настоящем разделе не должно создавать представления о зависимости вертикального распределения пикофитопланктона только от освещенности. Даже столь значительный в жизни фототрофных организмов фактор не определяет полностью характер профилей их обилия. В модели, отражающей динамику пространственной структуры сообществ эвфотической зоны тропических районов океана (Виноградов и др., 1971), ясно и убедительно показано, что в пределах вертикального профиля оптимальная для всего фитопланктона зона определяется минимизацией лимитирующего действия противоположно меняющихся факторов. В данном случае ведущую роль играет поступление света сверху, а биогенов — снизу.

Пикофитопланктон в этом смысле не является исключением. Если бы вертикальное распределение пиководорослей и цианобактерий определялось только светом, то соответствующие профили оставались бы неизменными на всех станциях со сходным вертикальным распределением освещенности. Характер изменения профилей пикофитопланктона вдоль протяженных разрезов в Атлантическом океане — наглядная иллюстрация того, что помимо анализа роли отдельных факторов требуется рассматривать их взаимодействие.

10.3. Сравнение профилей пикофитопланктона и сопутствующих переменных

Экспериментальные сведения о реакции пиководорослей и цианобактерий на другие факторы среды (кроме света), практически отсутствуют. Поэтому обсуждение возможного влияния разных факторов приходится основывать на результатах полевых исследований. Поскольку пикофитопланктон в море испытывает действие одновре-

менно многих факторов, то сначала лучше проследить корреляции между распределением обсуждаемых организмов и всех тех переменных, которые параллельно учитывались на станциях.

Взяв за основу материалы по вертикальным профилям пикофитопланктона (и всех "фоновых" переменных) в стратифицированных океанических водах, в качестве показателей изменчивости профилей можно использовать вариации в максимальной численности клеток, смещение в глубине залегания максимумов и немногие производные показатели.

При этом само наличие у цианобактерий и пиководорослей хорошо выраженных максимумов обилия, в значительной мере связанных с действием света, оказывается как бы тривиальным явлением. Поэтому представилось удобным обсуждение роли света предпослать анализу других факторов.

В основу предлагаемой последовательности анализа заложены следующие общие соображения. Как показывают предшествующие исследования, нашедшие удачное по ясности и логичности обобщение в работе М.Е.Виноградова и др. (1971), отдельные экологические группы планктона концентрируются в зоне оптимального сочетания ведущих факторов. Назовем ее зоной генерального оптимума, чтобы отличить от частных оптимумов по каждому из факторов. Эти частные оптимумы (по отношению к рассматриваемой экологической группе) не совпадают по глубине.

Поясним это с помощью заключений уже упоминавшегося исследования (Виноградов и др., 1971). Заглубленный максимум фитопланктона наблюдается в олиготрофных водах не потому, что на соответствующую глубину приходится оптимальные для него условия по всем основным факторам. Этот максимум располагается в зоне наименьшего лимитирования по свету и биогенам. Оптимальная для сетного фитопланктона освещенность находится в верхней части эвфотической зоны, но там - острый дефицит биогенов, оптимальное содержание которых наблюдается ниже фактического максимума фитопланктона. Последний располагается в зоне генерального оптимума, по нашей терминологии.

Такой генеральный оптимум относителен, т.к. в сущности не дает благоприятных условий для развития организмов. Фитопланктон в зоне глубинного максимума находит условия, лучшие лишь в пределах данного столба воды. В акваториях, сходных по условиям освещенности, но при увеличенном поступлении биогенов к поверхности, максимум фитопланктона смещается вверх, в слой оптимальной освещенности. Можно сказать, что при этом относительный генеральный оптимум приближается к абсолютному. Это выражается

в увеличении абсолютных величин обилия фитопланктона на глубине его максимума. Иными словами, в приповерхностном максимуме фитопланктон имеет большую численность и биомассу, чем в заглубленном максимуме, в олиготрофных водах.

Изложенный подход представляется перспективным при анализе динамики профилей в разных акваториях. Можно исходить из того, что в пределах определенной широтной зоны оптимум по свету для любой рассматриваемой группы фототрофов находится на неизменной глубине, поскольку на него не влияет динамика вод. Это позволяет рассматривать фактор света несколько обособленно от остальных факторов, что и сделано в настоящей главе. Такие факторы, как температура и распределение биогенов гораздо больше связаны с динамикой водных масс. Вертикальные профили пикофитопланктона, других групп организмов также меняются в связи с этими факторами. Одновременно происходит большее или меньшее приближение относительного генерального оптимума условий развития пикофитопланктона к абсолютному оптимуму. Анализ соответствующих показателей позволит на определенном этапе обсуждения вернуться и к действию света.

Вообще возможность какого-либо анализа профилей пикофитопланктона открылась недавно, с появлением достаточно представительных данных о его вертикальном распределении. Соответствующие материалы по северной части Атлантического океана (Murphy, Haugen, 1985) обсуждены, с точки зрения действия света и температуры. Построены графики, показывающие, что с увеличением температуры от 5 до 18°C наблюдается, приблизительно линейный рост численности цианобактерий. Однако авторы указывают, что выявленная связь с температурой не обязательно значима, поскольку с уменьшением температуры (при продвижении к северу) параллельно увеличивалась длительность фотопериода, и вычленить возможное действие каждого из этих факторов не удалось. Кроме того, возможно влияние широтных изменений в содержании биогенов, но их в рейсе не регистрировали. Таким образом, большой массив данных по пикофитопланктону оказался не подкрепленным сопутствующими исследованиями.

Летние исследования в Средиземном море и материалы по Индийскому океану позволили обсудить некоторые корреляции между пикофитопланктоном и другими показателями (Заика, 1986). Отмечено, что в Средиземном море пиководоросли показали максимум на той глубине, которая разделяла верхний слой с "аналитическим нулем" нитратов и нижележащие воды с резким возрастанием нитратов (рис. 12). Скачок нитратов был на глубинах 95-100 м (поли-

гоны I–II–IV) и 75 м (полигон III), но во всех случаях максимум пиководорослей находился строго над скачком. Фосфаты в период исследований в Средиземном море были в следовых количествах во всем слое 0–150 м.

В Индийском океане пиководоросли имели связь со скачком фосфатов, сходную с описанной для нитратов в Средиземном море, но пик численности располагался в нижней части скачка фосфатов, который совпадал с основанием термоклина (рис. II). Нитраты в этой экспедиции не определяли.

Как в Средиземном море, так и в Индийском океане максимум пиководорослей совпадал обычно по глубине с пиком хлорофилла, хотя обилие сетного фитопланктона нередко было максимальным в вышележащих слоях.

С учетом этих данных сделано заключение об определенной связи вертикального распределения пиководорослей с профилями биогенных элементов в стратифицированных водах. О том, что нижний (основной) максимум пиководорослей не является механическим скоплением отмирающих или неактивных клеток, свидетельствуют два обстоятельства. Во-первых, в Средиземном море на глубине их пика не отмечено градиентов плотности воды, которые могли бы объяснить механическое скопление водорослей. Во-вторых, пики настолько резко выражены, что могут поддерживаться только путем активного размножения клеток на данной глубине.

Материалы по Средиземному морю показали, что сетной мезозопланктон обычно обнаруживал два максимума, причем нижний был, как правило, под максимумом пиководорослей и хлорофилла, а верхний совпадал с пиками сетного мезозопланктона, АТФ и находился в области максимума цианобактерий (рис. I2). Связь между пиками микрзоопланктона, АТФ и цианобактерий намечается и по материалам из Индийского океана (рис. II).

Была показана корреляция максимальных величин АТФ и численности цианобактерий (Зайка, 1986). Расчеты показали, что не цианобактерии определяют содержание АТФ. Наоборот, увеличение концентрации АТФ сопровождается ростом численности цианобактерий. В связи с этим обращено внимание на низкие величины АТФ на двух станциях в районе архипелага Чагос, где цианобактерии не зарегистрированы.

Отмечено, что в Средиземном море пики цианобактерий приходились на слои с температурой 15–17°C. В Индийском океане основная часть цианобактерий концентрировалась в пределах слоя 10–50 м при температуре (по двум станциям) 22–26° и 16–21°. На двух других станциях, где цианобактерий не было,

температура в обсуждаемом слое составляла 24–29° и 21–29°.

Наконец, обращалось внимание, что на всех профилях в Индийском океане и Средиземном море пик цианобактерий находился на 20–40 м ниже пика кислородного насыщения, который в Индийском океане примыкал к поверхности, а в Средиземном море располагался в пределах глубин от 15 до 60 м.

Таким образом, если не касаться роли света, то несколько факторов, судя по полевым данным, имеет отношение к формированию профилей пикофитопланктона, причем, цианобактерии и пиководоросли коррелируют с разными группами факторов. Разумеется, при анализе полевых данных сложно выяснить относительную роль отдельных факторов и выделить ложные корреляции.

Наши исследования в тропической части Атлантического океана сопровождалось определением многих абиотических и биотических переменных. В результате получен большой массив данных, что сделало анализ корреляций еще более сложным. Поэтому были использованы разные подходы.

По результатам исследований на разрезе I был проведен кластерный анализ (использовано более 20 переменных, включая обилие пиководорослей и цианобактерий). Это позволило установить (Шаловенков и др., 1986), что вся исследованная толща воды может быть охарактеризована как два относительно автономных слоя. Внутри каждого из слоев связь между исследованными абиотическими и биотическими переменными гораздо более тесная, чем между слоями. Граница между обсуждаемыми слоями меняла глубину расположения вдоль разреза в пределах 70–150 м. Показательно, что ей почти точно соответствовала глубина максимума пиководорослей (рис. 13). Таким образом, пиководоросли концентрировались в самой нижней части той зоны эпипелагиали, под которой вся экосистема (как физические, так и биологические ее переменные) приобретала значительные структурные отличия.

Теснота связи между отдельными переменными была различной в пределах каждого из выделенных описанным методом слоев. В верхнем слое цианобактерии обнаружили наиболее тесную корреляцию с содержанием АТФ в пикофракции и количеством частиц размерами 5–10 и 10–25 мкм, регистрировавшимся с помощью счетчика частиц. Менее тесная связь обнаружена между цианобактериями, содержанием органического фосфора и NH_4 в пробах воды.

Показательно, что пиководоросли попали в иную корреляционную "плеяду" переменных. В верхнем слое они обнаружили наиболее тесную связь с содержанием кислорода, менее тесную – с соленостью, АТФ крупной фракции взвеси.

Это интересное направление анализа пока не продолжено, хотя материалы (после дополнительной камеральной обработки) позволяют применить его более детализировано. Так, помимо абсолютных значений переменных следовало бы использовать их производные по глубине, отражающие градиенты. Такие группы, как зоо- и фитопланктон, следовало бы дифференцировать на подгруппы, дающие пики на разных глубинах.

Дальнейший анализ проводился более простыми методами. Прежде всего сопоставляли изменения глубин залегания максимумов пиководорослей и цианобактерий с характером расположения изолиний по другим переменным, вдоль меридиональных разрезов.

Максимум пиководорослей располагался на разрезе I у границы нижнего слоя, выделенного с помощью кластерного анализа. Поскольку далее этот анализ производился для двух слоев отдельно, то о характере границы между слоями нагляднее свидетельствуют располагающиеся здесь изолинии. Сразу под максимумом пиководорослей на обоих разрезах проходила изотерма 18° (рис. 13). Этим глубинам на разрезе I севернее экватора соответствовали изолинии 25 мкг/л фосфатов и 50-60% насыщения воды кислородом, южнее экватора - 6-10 мкг/л фосфатов и около 80% насыщения кислородом (кроме самых южных станций, где оно превышало 100%). На разрезе II на глубинах максимума пиководорослей в северной части разреза фосфатов было 30-35 мкг/л, южнее 10° ю.ш. - 6-100 мкг/л; насыщение кислородом было менее 70-90% (также за исключением самых южных станций).

В целом, анализ глубины расположения максимумом в Атлантическом океане, в связи с абиотическими переменными, дополняет характеристику генерального оптимума для пиководорослей и цианобактерий. Затруднительно назвать количественные значения факторов, обуславливающих вертикальное перемещение пиков, зарегистрированное по ходу протяженных меридиальных разрезов. В то же время несомненна связь этих смещений с общей структурой водных масс, положением верхней границы богатых биогенными элементами глубинных вод. Об этом свидетельствует соответствие положения максимума пиководорослей и хода изолиний температуры, солености и плотности, а также границы нижней зоны, выделенной по всем исследованным переменным. При иных конкретных значениях абиотических факторов находится пик цианобактерий, и его связь со структурой вод менее заметна. На перемещение максимумов обеих групп пикофитопланктона происходит синхронно, и это косвенно свидетельствует об их зависимости от одних и тех же общих причин.

Представляет интерес выясненная с помощью кластерного анализа некоторая связь цианобактерий с содержанием азота в аммиачной форме. Уместно сопоставить это с другими сведениями об особенностях потребления ими азота. Все сине-зеленые потребляют в экспериментальных культурах соли аммония на порядок активнее, чем нитратный азот (Гусева, 1952). Поэтому при недостатке нитратов в среде сине-зеленые за счет солей аммония могут обгонять в росте диатомовых и протококковых. Максимальный рост пресноводных сине-зеленых в культурах наблюдается при концентрации нитратов 0,6-2 мг/л, аммонийного азота - 0,06 - 0,2 мг/л (Гусева, 1952).

Увеличение содержания фикоэритрина у цианобактерий с глубиной интерпретируется не только в связи с светоулавливающими функциями этого пигмента. Предполагается, что фикоэритрин является также накопителем запасов азота. При недостатке азота в среде цианобактерии могут быстро мобилизовать азот фикобилинпротеинов для синтеза других протеинов (Allen, 1984; Barlow, Alberte, 1985). Возрастание флуоресценции цианобактерий с глубиной может быть связано с этой дополнительной функцией фикоэритрина, с его запасами, не идущими на фотосинтез.

Расположение пика цианобактерий на глубинах, где нитратный азот остро дефицитен, может вести к тому, что они в какой-то мере привязаны к источникам аммиачного и аммонийного азота. Если эти последние, в свою очередь, приурочены к слоям с высокой концентрацией каких-то организмов, то и цианобактерии должны обнаружить корреляции с биотическими переменными. Материалы по этому вопросу вынесены в следующий раздел.

Завершая обсуждение влияния абиотических переменных на профили пикофитопланктона, вернемся к вопросу об оптимальной освещенности. Сопоставляя два основных разреза, выполненных нами в Атлантическом океане, для больших групп станций можно принять распределение освещенности по глубине относительно постоянным. Соответственно и оптимальная для каждой группы освещенность приурочена к определенному слою. Вертикальное перемещение пиков обилия пикофитопланктона в пределах однородных по освещенности зон определялось, как указывалось, различиями в структуре водных масс. При таких перемещениях пикофитопланктон попадал в более или менее благоприятные условия освещения, т.е. относительный генеральный оптимум приближался к абсолютному или удалялся от него. Показателем того, как упоминалось, может служить абсолютное обилие клеток на глубине максимума.

На рис. 16 абсолютные величины численности пиководорослей и

цианобактерий в максимумах сопоставлены с глубиной залегания этих максимумов. Не проводя какой-либо статистической обработки данных, обратим внимание на то, что с уменьшением глубины залегания максимума, обилие клеток в нем все более вариabelно. Наибольшие из зарегистрированных значений численности возрастают при смещении пиков на меньшие глубины. Это позволяет предположительно заключить, что оптимальная освещенность для обеих групп пикофитопланктона в тропической Атлантике в период наших исследований находилась в слое 45-65 м.

Предварительность сделанного заключения очевидна. На график нанесены все точки, полученные на протяженных разрезах, без учета вариаций в фактической освещенности на поверхности и прозрачности воды. Вычисление среднемаксимального обилия по классам глубин, для исключения случайных вариаций, также может изменить характер распределения величин. Наконец, все эти данные получены в стратифицированных водах, где приповерхностный слой обеднен биогенными элементами. Однако достаточно сравнить полученные результаты с профилями пикофитопланктона в районе м. Кап-Блан, в Средиземном и Черном морях (в зимний период), чтобы убедиться, что в хорошо перемешиваемых водах определить оптимальную освещенность для пикофитопланктона еще затруднительней. Таким образом, проведенный анализ позволяет судить о приближении освещенности к оптимальной в слое 45-65 м тропических стратифицированных вод, хотя фактический оптимум может лежать выше, но быть недостижимым из-за лимитирования другими факторами. По этой причине лишь предположительно можно считать, что оптимум освещенности для пиководорослей ниже, чем для цианобактерий.

10.4. Профили цианобактерий и биотические факторы

В наших экспедициях накоплен большой объем материалов по распределению различных биологических переменных, полученных параллельно с данными по распределению пикофитопланктона. Полученные разными исследователями, эти материалы находятся на различных стадиях камеральной обработки и анализа. Часто при сопоставлении профилей пикофитопланктона с соответствующими показателями возникают вопросы методического и методологического характера, требующие дополнительных анализов и проверок. Все это на данном этапе ограничивает возможности углубленного обсуждения пикофитопланктона с привлечением всех данных по планктону, что остается задачей на будущее.

Так, несомненный интерес представляет анализ профилей хлоро-

филла по фракциям, полученных методом ацетоновых экстрактов, флуориметрических профилей хлорофилла, биомассы пикофитопланктона по группам и осадочного фитопланктона. Для Атлантического океана (по данным О.А.Юнева) предварительные данные показали, хлорофилл фракции 0,85-0,23 мкм часто показывает максимум на глубине пика цианобактерий, в то же время пик хлорофилла по результатам флуориметрического зондирования обычно наблюдается на глубине максимума пиководорослей и не согласуется с пиком хлорофилла, определенного по сумме размерных фракций. Привлекать эти материалы к обсуждению возможного вклада пикофитопланктона в общий пул хлорофилла можно будет после уточнения вопросов об изменении удельной флуоресценции хлорофилла. Известно, например, что флуоресценция на единицу хлорофилла "а" снижается с уменьшением размерной фракции клеток. Во фракции менее 5 мкм флуоресценция на единицу хлорофилла в четыре раза меньше, чем у фитопланктона крупнее 22 мкм (Alpine, Cloern, 1985).

В настоящее время мы ограничимся сопоставлением глубины залегания максимумов пикофитопланктона и хлорофилла, полученного суммированием его содержания во фракциях (рис.30).

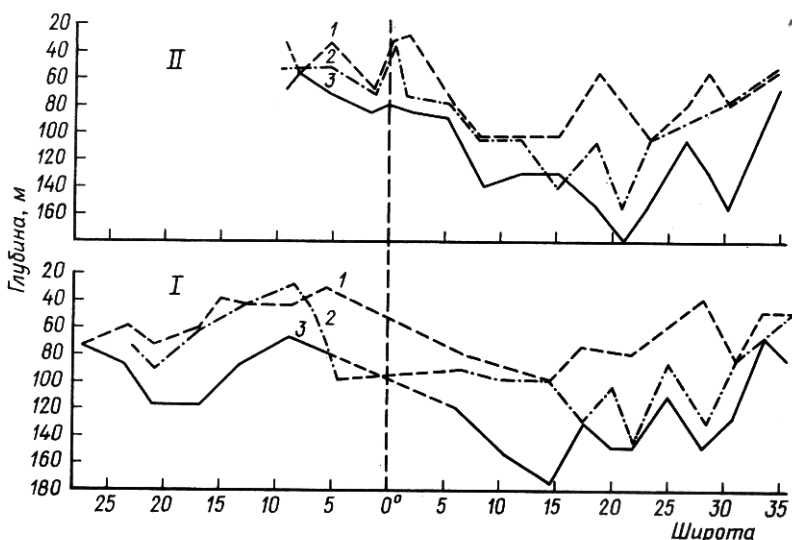


Рис.30. Глубина залегания максимумов обилия цианобактерий (1), пиководорослей (3) и содержания хлорофилла в воде (2) на разрезах I-II в Атлантическом океане.

Видно общее соответствие в изменении глубины расположения

всех сравниваемых максимумов, отражающее их зависимость от одних и тех же общих факторов, определяемых структурой водных масс.

Несомненный интерес представляет сравнение профилей цианобактерий с гетеротрофным мелким планктоном. Здесь проявляются достаточно определенные корреляции, как непосредственные, так и через общее содержание АТФ (исследованное во всех наших рейсах А.Г.Бенжиджим). Возможно, о том же свидетельствует и связь цианобактерий с относительно неустойчивыми формами минерального азота.

При исследовании пикопланктона в Средиземном море в летний период одним из авторов (В.Е.Заика) были получены профили микрозоопланктона. Сравнение их с профилями цианобактерий показало, что на глубине пика последних наблюдается наиболее выраженный максимум науплиусов и копепоидных стадий веслоногих рачков (рис. 31). Возможно, что наличие нескольких максимумов на профи-

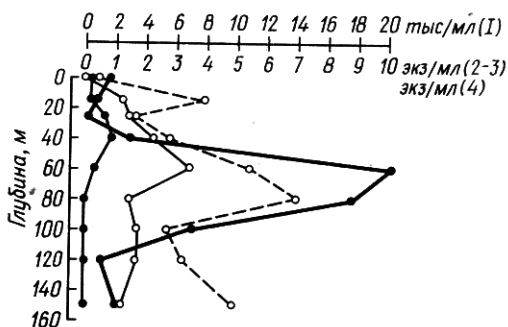


Рис. 31. Профили цианобактерий (1), науплиусов (2) и копепоидных стадий (3) веслоногих рачков, инфузорий (4) в Средиземном море (полигон П).

лях вертикального распределения ювенильных копепод отражают экологическую неоднородность этой группы, причем одна из подгрупп имеет тенденцию концентрироваться в области пика цианобактерий. Аналогичная тенденция отмечена и в Индийском океане на двух полигонах, где получены профили цианобактерий (рис. 32). Данные по микрозоопланктону,

любезно предоставленные В.К.Моряковой, показали один пик, приходящийся на слой повышенного обилия цианобактерий. В микрозоопланктоне численно преобладали науплиусы копепод.

Более обширные материалы по этому вопросу получены в тропической Атлантике, где параллельно с пикопланктоном исследовался и микрозоопланктон (данные В.А.Скрябина). На рис. 33 глубина залегания пика цианобактерий сопоставлена с таковой для науплиу -

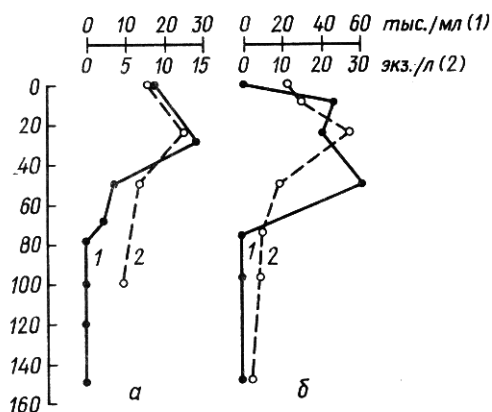


Рис.32. Профили цианобактерий (1) и микрозоопланктона (2) в Индийском океане.
а - ст.2123; б - ст.2157.

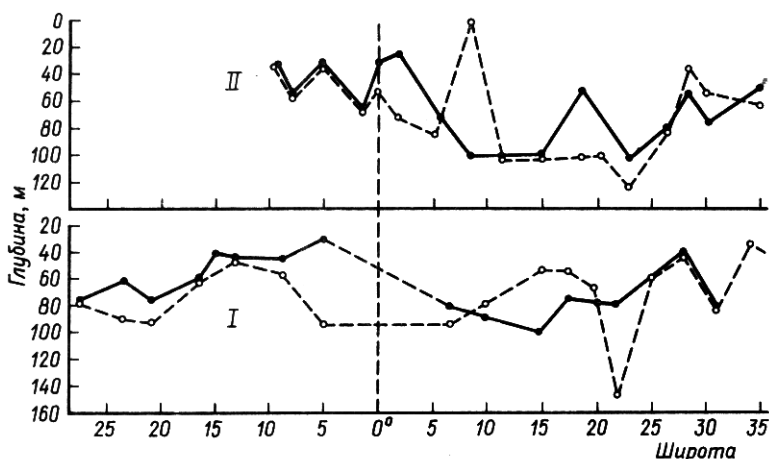


Рис.33. Глубина залегания максимумов цианобактерий (1) и науплиусов копепод (2) на разрезах I-II в Атлантическом океане.

сов. Если на станции обнаруживалось два пика науплиусов, то использовали верхний (нижний пик часто залегал на глубине максимума пиководорослей). Обнаруживается вполне определенное соответствие сравниваемых показателей. Следует подчеркнуть, что согла-

судется не только глубина залегания пиков наутилиусов и цианобактерий. Сравнение обилия цианобактерий в их пике и концентрации наутилиусов на той же глубине показало тенденцию к положительной связи абсолютных величин этих показателей до достижения концентрации цианобактерий 3–5 тыс/мл (рис.34). Дальнейшее возрастание

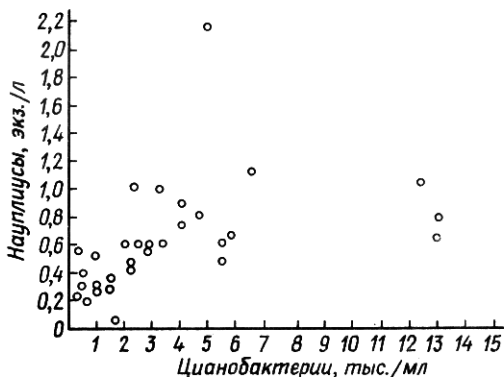


Рис.34. Связь между численностью цианобактерий на глубине их пика и численностью наутилиусов копепод на той же глубине.

пика цианобактерий отмечены также верхние максимумы копеподитных стадий веслоногих рачков (нижние – вблизи максимума пиководорослей) и нижние пики инфузорий (верхние – обычно вблизи поверхности).

Несмотря на наиболее определенные свидетельства связи пиков цианобактерий и микрозоопланктона, для ее интерпретации требуются дополнительные данные. Прежде всего, напрашивается предположение, что те представители микрозоопланктона, которые концентрируются на глубине пика цианобактерий, питаются последними. Этому противоречат имеющиеся в литературе утверждения о том, что цианобактерии не усваиваются копеподами (Johnson e.a., 1982; Caron e.a., 1985; Iturriaga, Mitchell, 1986), хотя очевидно, что подавляющее большинство ювенильных копепод, да и другие представители микрозоопланктона, в этом отношении не исследованы.

Следует напомнить, что между максимумами цианобактерий и пиководорослей обычно располагается пик хлорофилла. По рис.30 видно, что последний нередко совпадает с пиком цианобактерий. Скопление ювенильных копепод и инфузорий может объясняться их реак-

обилия цианобактерий не сопровождается увеличением числа наутилиусов, что позволило в целях оптимизации пропорций графика не включать 4 точки с обилием цианобактерий от 17 до 39 тыс/мл (число наутилиусов в этих случаях не превышало 1,6 экз/л).

На значительном числе станций в Атлантическом океане в области

цией не на цианобактерий, но на другие пищевые объекты — те водоросли, которые обуславливают хлорофильный максимум. Это возвращает к пока не решенному вопросу о вкладе цианобактерий в обсуждаемый максимум хлорофилла.

Уже упоминалось, что в субантарктических водах скопление зоофлагеллят и мелких инфузорий обычно находили на глубине пика митотической активности цианобактерий (Микаэлян, 1987). Это позволило предположить интенсивное выедание цианобактерий на данной глубине. Мало вероятно, что потребители предпочитают делящиеся клетки, обычно они скапливаются в зоне наибольшей концентрации кормовых организмов. Поэтому максимальное выедание цианобактерий в слое их повышенной активности может наблюдаться в случае, если какие-то факторы препятствуют перемещению потребителей в слой пика обилия цианобактерий.

Вообще, особенности взаимоотношений фототрофов и мелких гетеротрофов в море исследованы пока недостаточно, но ясно, что они не сводятся к прямым трофическим связям. Статистическая обработка большого количества профилей по Средиземному морю и южной части Атлантического океана показала, что существует отрицательная корреляция между физиологической активностью бактерий и фитопланктона, что отражается и на взаимном расположении максимумов их обилия (Чепурнова, Лебедева, 1973; Лебедева и др., 1975). Это явление слабо изучено на бактериях и сетном фитопланктоне и совершенно не исследовано для пикофитопланктона, в том числе своеобразных по физиолого-биохимическим свойствам фототрофных прокариот.

Это затрудняет анализ корреляций между цианобактериями и содержанием АТФ, показанных на материалах из Средиземного моря и Индийского океана (Заика, 1986). Положительная связь между цианобактериями и АТФ отмечена и в Атлантическом океане (Шаловенков и др., 1986). На основе измерения хлорофилла и АТФ по размерным фракциям А.С. Лопухин (1985) заключил, что фототрофный пикопланктон (0,45–2,5 мкм) образует более 50% биомассы в олиготрофных водах и до 40% — в мезо- и эвтрофных. Это заключение не согласуется со всеми имеющимися данными о соотношении фототрофного и гетеротрофного пикопланктона; ошибка вызвана тем, что гетеротрофная микрофлора параллельно не исследовалась, а расчеты по хлорофиллу и АТФ были проведены, видимо, некорректно. При исследовании тех же ориентировочных пересчетных коэффициентов данные по Средиземному морю и Индийскому океану показали, что цианобактерии не дают большого вклада в суммарное содержание АТФ (Заика, 1986). Корреляция, следовательно, объясняется час-

тым скоплением цианобактерий и гетеротрофных организмов на одних и тех же глубинах. Причинно-следственные отношения при этом пока не ясны. Совпадение максимумов может быть результатов сходной реакции на некоторые факторы, скопления потребителей цианобактерий в зоне их наибольшей концентрации. Наконец, определенную вероятность имеет возможность скопления цианобактерий в области высокой концентрации микрогетеротрофов, детрита и растворенного органического вещества, если эти условия способствуют появлению в среде аммиачного и аммонийного азота, снижению концентрации кислорода и другим благоприятным для цианобактерий локальным изменениям.

В настоящей главе влияние различных факторов на пикофитопланктон рассматривалось на материалах по его вертикальному распределению в стратифицированных водах. Дополнительные сведения о зависимости распределения и обилия пиководорослей и цианобактерий от условий среды дает сравнение открытых районов океана с прибрежными водами, областями апвеллингов и гидрофронтот, сравнение разных сезонов для морей умеренной климатической зоны, изменений, связанных с продвижением в приполярные воды.

Соответствующие данные (гл.6-7) не требуют дополнительного обсуждения. Проблема комплексного воздействия факторов среды на распределение и обилие любой группы планктона - одна из наиболее сложных. По отношению к пикофитопланктону, изучение которого только разворачивается, на данном этапе невозможно было ставить иных задач обсуждения этой проблемы, кроме привлечения внимания к наиболее интересным фактам и предположениям.

ГЛАВА II

ФОТОТРОФНЫЙ ПИКОПЛАНКТОН КАК КОМПОНЕНТ ПЕЛАГИЧЕСКИХ ЭКОСИСТЕМ

II. I. Фототрофный и гетеротрофный пикопланктон, суммарный фитопланктон

Растущее число публикаций по результатам исследования пикофитопланктона иллюстрирует его обилие в разных акваториях Мирового океана. Особенно обильны, как мы убедились из вышеизложенного, цианобактерии. Но сопоставление с более старыми и обширными сведениями о морском бактериопланктоне, т.е. гетеротрофном прокариотном пикопланктоне, со всей очевидностью показывает, что последний является доминирующим в пикофракции. Большой интерес к пикофитопланктону вызван его неизвестным ранее вкладом в суммарный фотосинтез планктона. Но для правильного понимания трансформации вещества и других сторон функционирования экосистемы необходимо знать и структуру всей системы, в частности, соотношение фототрофов и гетеротрофов в пикофракции.

Учитывая пространственную и временную вариабельность распределения и обилия микроорганизмов, можно заключить, что сопоставление старых данных по бактериопланктону с появляющимися материалами по пикофитопланктону не может заменить параллельно получаемые из одних проб сведения. Поэтому интерес к пикопланктону заставил в какой-то мере заново изучить бактериопланктон. При этом и методы учета адаптируют для параллельного определения численности фото- и гетеротрофов на одних и тех же фильтрах, например, при использовании эпифлуоресцентной микроскопии. Для общей характеристики структуры пикопланктона ограничимся такими параллельными материалами, хотя при углубленном анализе не-

которых вопросов неизбежно должны привлекаться специальные публикации по бактериопланктону (см. также 7.1 и IC.4).

Первые оценки возможного вклада цианобактерий в суммарную биомассу микробияльного планктона были сделаны при анализе содержания АТФ по фракциям (Sieburth, 1977). В дальнейшем параллельный микроскопический учет привел к заключению, что цианобактерии в Атлантическом океане составляют около 10% по численности и до 50% по биомассе в разных типах вод. В среднем вклад цианобактерий в биомассу пикопланктона оценивался в 20% (Johnson, Sieburth, 1979). В северо-западной части Атлантического океана вклад фототрофного пикопланктона в общую численность может быть и меньшим: бактерии в 100-1000 раз обильнее по полученным данным (Davis, Sieburth, 1982). В Балтийском море в летне-осенний период цианобактерии составляли 0,5-2,6% от численности бактериопланктона и 5% - от его биомассы (Schmaljohann, 1984). В изученных пробах из района Калифорнии цианобактерии составляли около 3% по численности и 20% по биомассе от всех прокариот, а по углероду - около 1% для всей взвеси в диапазоне от 200 до 0,2 мкм (Krempin, Sullivan, 1981). В прибрежных водах Тихого океана у Гавайских о-вов по содержанию углерода на цианобактерий пришлось 2-3%, на бактерий 41-44%, а 29-35% - на гетеротрофных жгутиковых нанопланктона (Laws, e.a., 1984). Приведенные величины характеризуют соотношение в объединенной фракции пико+нанопланктон, где фототрофы составляли по численности 25%. Добавим, что по углероду на весь нанопланктон приходилось 54-56%, на пикопланктон 44-46%.

В нанопланктоне, по имеющимся данным из Атлантического океана, хлорофиллсодержащие и бесцветные клетки характеризуются численностью одного порядка: по 10^4 кл/мл в эстуарных зонах и 10^2 кл/мл в открытых районах (Davis e.a., 1985). Вообще с продвижением от берегов в обедненные биогенными элементами субтропические поверхностные воды биомасса крупного фитопланктона снижается, что сопровождается усилением доминирования пикофитопланктона. В океанических водах Тихого океана фототрофный пикопланктон составляет 60-80% по биомассе от суммарного фитопланктона (Bienfang e.a., 1984). В северной части Атлантического океана на большом числе проб установлено, что 73-84% фототрофных клеток проникает через фильтр 3 мкм, причем из них до 68-75% проходит даже через фильтр 0,8 мкм (Murphy, Naugen, 1985).

С приближением к берегам и в периоды цветения более крупных водорослей вклад фототрофного пикопланктона в суммарный фитопланктон снижается. Мала доля пикофракции в биомассе фитопланк-

тона и в исследованных водах Южного океана (Микаэлян, 1987). Здесь, в антарктических водах на пикофитопланктон приходились тысячные доли процента от всего фитопланктона. С продвижением к северу до 35° ю.ш. соотношение менялось и в субтропической фронтальной зоне пикофракция достигала 10-15%, но далее в субтропических водах ее доля снова снизилась до 1-3%.

Значительные материалы накоплены по содержанию хлорофилла в размерных фракциях взвеси, также отражающие вклад пикофракции в суммарный фитопланктон. В Атлантическом океане во фракцию 1-0,2 мкм попадает 20-70% хлорофилла (Li, 1982), такова же доля этой фракции в восточной части канадской Арктики (Smith e.a., 1985).

В северной части Тихого океана и Южно-Китайском море, при исследовании на глубине максимума хлорофилла, его содержание во фракции менее 3 мкм составляло более 70% (Takahashi e.a., 1984). В районах Курисио, Ойясио и прибрежных водах Японии в эту фракцию попадало 20-100% хлорофилла (Takahashi e.a., 1985), в районе Гавайских о-вов - около 60-70% (Bienfang, Takahashi, 1983; Laws e.a., 1984). В океанических водах как по хлорофиллу, так и по азоту, углероду, АТФ получают, приблизительно, следующие соотношения: сетной фитопланктон - 2%, нанофитопланктон - 18%, пикофитопланктон - 80% (Takahashi, Bienfang, 1983).

II.2. Вклад пикофитопланктона в первичную продукцию

Доля пикофракции в общем содержании хлорофилла обычно столь велика, что при достаточно высоких скоростях размножения фототрофного пикопланктона не приходится сомневаться в его значительном вкладе в суммарную первичную продукцию эпипелагиали. Полученные к настоящему времени конкретные величины не всегда безоговорочно сравнимы, т.к. получены на разных по объему материалах, при использовании различных фильтров, иногда - лишь на отдельных горизонтах. Но порядок величин в целом весьма показателен и наглядно убеждает в необходимости пересмотра ранее сложившихся представлений о потоках вещества между основными звеньями эпипелагических экосистем, об их функционировании.

Наибольшие показатели вклада пикофитопланктона в первичную продукцию приводят для тропических районов Мирового океана. В восточных районах тропической Атлантики первые определения доли фототрофного пикопланктона дали величины 20-80% от общей первичной продукции (Li, 1982), причем в слое максимума хлорофилла (65-89 м) в районе Срединно-Атлантического хребта только фракция менее 1 мкм обеспечивает до 60% первичной продукции

(Platt e.a. 1983). В субтропическом районе Тихого океана пикопланктон дает 64% первичной продукции в эвфотическом слое (Iturriaga, Mitchell, 1986). В Саргассовом море цианобактерии дают 20-30% первичной продукции (Waterbury e.a., 1985). На трех станциях с различными типами вод в районе Вудс-Холла цианобактерии давали вклад в первичную продукцию от 6 до 46% (Glover e.a., 1986), при 46% - $300 \text{ мгС} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сут}^{-1}$.

С продвижением на север доля пикофитопланктона в продукции, по имеющимся данным, постепенно снижается. У Канады потребление радиоуглерода фракцией менее 1 мкм еще велико: 12,7-65,1% от общего (Douglas, 1984). В Кельтском море вклад пикофракции в суммарную первичную продукцию максимален летом (35%), тогда как крупный фитопланктон при весеннем цветении диатомовых обеспечивает - 80% продукции (Joint, Pomroy, 1983; Joint, Pipe, 1984; Joint e.a., 1986). В арктических широтах Атлантического океана пикофитопланктон дает 5-25% первичной продукции (Li, 1982; Smith e.a. 1985).

В Балтийском море зимой фракция менее 3 мкм производит до 40% общей первичной продукции. Летом эта доля снижается до 3-10% (Larsson, Hagstrom, 1982).

Приведенные данные со всей очевидностью показывают не только значительную, но часто ведущую роль пикофитопланктона в производстве органического вещества в море.

II.3. Основные потребители фототрофного пикопланктона

Сведения о потребителях фитопикопланктона пока скудны. Пиководоросли таксономически разнородны, их физиолого-биохимические свойства, очевидно, не идентичны. Следовательно, и усвояемость разных пиководорослей теми или иными гетеротрофами может отличаться. В целом, по аналогии с исследованными видами нанофитопланктона, можно предполагать, что пиководоросли потребляются и усваиваются многими гетеротрофами, из числа способных захватывать частицы таких размеров.

Спектр потребителей цианобактерий, по-видимому, более узок. Указывается, в частности, что как морские, так и пресноводные разновидности проходят интактными через кишечник исследованных копепод (Johnson, e.a., 1982; Caron e.a., 1985). Наши данные о встречаемости цианобактерий в фекалиях копепод (5.3) также свидетельствуют о такой возможности. В опытах с использованием меченого по углероду штамма *Synechococcus* науплиусы копепод вывели метку с фекалиями, что доказывает неусвоение потреблен-

ных цианобактерий (Iturriaga, Mitchell, 1986).

Два вида тинтиннид в культурах показали хороший рост популяций при кормлении водорослями разной таксономической принадлежности, но использование в качестве корма *Synechococcus* sp. вызвало большую смертность обоих видов потребителей (Verity, Villalreal, 1986). Приведенные сведения показывают, что не все фитофаги усваивают цианобактерий.

С другой стороны, на монокультуре *Synechococcus* более года содержали гелиофлагеллят *Actinomonas* и инфузорий *Uronema*. Наблюдалось быстрое переваривание заглоченных цианобактерий в вакуолях этих простейших (Johnson e.a., 1982). В озерах цианобактерии потребляются микрожгутиковыми, встречаются в желудках коловерток (Caron e.a. 1985).

В опытах с добавкой меченного по углероду штамма *Synechococcus* в сосуды со смешанным морским планктоном регистрировали быстрое накопление метки у простейших размерами 10-50 мкм. В первые сутки метка обнаруживалась также в головном отделе щетинкочелюстных, что свидетельствует о быстрой передаче органического вещества цианобактерий по пищевой цепи (Iturriaga, Mitchell, 1986). На основании этих опытов авторы оценивают выедание цианобактерий в море как очень значительное (30-40% биомассы за сутки).

Некоторое представление о выедании пикофитопланктона дают опыты по изменению численности клеток и содержания хлорофилла в пикофракции, при сопоставлении предварительно фильтрованных и нефильтрованных проб. При этом фильтрация через фильтр 2-3 мкм рассматривается как способ удаления потребителей фототрофного пикопланктона. Показано, например, что при инкубации в склянках количество хлорофилла в пикофракции возрастало только в пробах морской воды, предварительно профильтрованных через Нуклеопор 3 мкм (Lawe e.a., 1984). Следовательно, в нефильтрованных пробах выедание пикофитопланктона не уступало его приросту. В наших опытах с пикопланктоном Атлантического океана прирост числа клеток пиководорослей и цианобактерий за 9 час. экспозиции (по данным прямого учета с применением эпифлуоресцентной микроскопии) в склянках, где потребители были удалены фильтрацией через ядерные фильтры 2,5 мкм, был существенно выше, чем в склянках с нефильтрованной водой.

Таким образом, потребители пикофитопланктона изучены недостаточно, но они всегда существуют среди мелких гетеротрофов и даже в небольших объемах воды представлены в количестве, достаточном для заметного влияния на динамику численности пиково-

дорослей и цианобактерий.

II.4. Пикофитопланктон и необходимость уточнения моделей функционирования экосистем

Выявление общего обилия пиководорослей и цианобактерий, особенно их вертикального и пространственного распределения, сезонной динамики – все эти данные влекут необходимость дополнения наших представлений о структуре фотосинтезирующего звена пелагических экосистем. Столь же очевидна задача уточнения, а по некоторым вопросам – значительного пересмотра представлений о функционировании этих экосистем. Ввиду ограниченности данных на нынешнем этапе исследований детальный анализ проблемы представляется преждевременным, но некоторые направления предстоящих коррекций моделей довольно очевидны. Существовавшие до недавнего времени представления об общем уровне продуктивности Мирового океана и отдельных его районов сложились по данным, полученным без специального внимания к фототрофным организмам столь малых размеров. Это методологическое упущение отражалось на процедурах микроскопических и немикроскопических исследований. Наиболее очевидной причиной недоучета общей продукции и общего хлорофилла было использование во многих работах фильтров с недостаточно малыми размерами пор. Ввиду значительного разбоя в выборе фильтров, введение поправок в старые данные по содержанию растительных пигментов и уровням первичной продукции акваторий крайне затруднено. По-видимому, исследователи сочтут более надежным заново определить структуру мелких звеньев морских экосистем и их продуктивность, на новом методическом и методологическом уровне. Кстати, создание и усовершенствование современных зондирующих и палубных проточных флуориметров, разработка методов дистанционной регистрации растительных пигментов влекут начало переисследования фитопланктона, его распределения, даже без связи с проблемой познания пикофитопланктона.

Задача более полного и точного определения первичной продукции также связана не только с необходимостью адекватного по методам учета пикофракции. В последние годы происходит критический анализ и пересмотр всех методических звеньев, начиная от физико-химических свойств батометров для отбора проб, склянок для их экспонирования, чистоты реактивов и кончая более обоснованным выбором времени суток для опытов и продолжительности экспозиции.

Ожидается, что обновление методов приведет к получению более высоких уровней первичной продукции, особенно для олиготрофных акваторий. Это имеет прямое отношение к уточненному решению задач по выяснению баланса вещества в экосистемах, соотношения автотрофных и гетеротрофных звеньев.

Однако общий уровень продуктивности планктона — одна сторона проблемы. Обнаруженный большой вклад пикопланктона в первичную продукцию требует уточнения представлений как о динамике самого процесса продуцирования вещества за счет фотосинтеза, так и о последующей его судьбе. Пиководоросли, а тем более цианобактерии — слишком своеобразные по своим экологическим и физиологическим свойствам группы, чтобы можно было ограничиться их прибавлением к фитопланктону в существующих моделях строения и функционирования экосистем пелагиали.

Имеющиеся модели более или менее явно учитывают эколого-физиологические особенности относительно крупных эукариотных водорослей, так сказать — сетного фитопланктона. Учитываются соответствующие этому звену реакции на освещенность, температуру, концентрацию биогенных элементов, особенности гидростатики, наконец, усвояемость и т.п. При анализе пищевых цепей, начинающихся с диатомовых водорослей, как типичных представителей фитопланктона, в качестве первого звена потребителей рассматривают относительно крупных животных, адаптированных к питанию водорослями соответствующих размеров. При этом не только бактерии, но и мелкие гетеротрофные эукариоты рассматриваются как звенья побочных пищевых цепей, основанных на растворенном органическом веществе, мельчайшем детрите.

Подчеркнем, что модельные построения, основанные на анализе сетного фитопланктона и прямо связанных с ним звеньев пищевой сети, сохраняют свою ценность. Но они отражают лишь часть общей картины, поскольку значительная доля органического вещества поступает в системы через пикофитопланктон, который иначе распределен, иначе реагирует на факторы среды, находится в основании иных пищевых цепей.

Этот своеобразный микромир организмов пока слишком слабо изучен, но ясно, что у микрогетеротрофов взаимоотношения с пикофитопланктоном не такие, как с сетным фитопланктоном. Качественно и количественно своеобразными могут оказаться связи между фототрофным и гетеротрофным пикопланктоном, растворенным органическим веществом, мелкими органическими агрегатами типа "морского снега". Далеко не ясны отношения копепод с цианобактериями. Если они не усваивают этих прокариот и даже не лишают пос-

ледних жизнеспособности в результате заглатывания, то сотни цианобактерий в фекальных комках копепод можно объяснить безвыборочной фильтрацией. Но если такое "псевдоповедение" цианобактерий происходит в больших масштабах, то оно экологически значимо, т.к. в фекальных комках цианобактерии могут быстро переноситься на большие глубины, заглатываться потребителями фекалий. Во всяком случае, цианобактерии при этом элиминируются из популяции соответствующих горизонтов моря.

Общая картина функционирования экосистем пелагиали выглядит иначе и за счет новых знаний об их вертикальной структуре в стратифицированных водах. Здесь максимумы концентрации пикодорослей и цианобактерий крайне резко выражены и пространственно разобщены как между собой, так и с максимумами сетного фитопланктона. Это должно отражаться и на вертикальных профилях обилия потребителей соответствующих групп, и на особенностях функционирования сообществ в разных слоях воды. В результате усложняется анализ вертикального переноса вещества по пищевым цепям.

Значительной доле первичной продукции, приходящейся на пикофитопланктон, должна соответствовать не меньшая часть общего потребления биогенных элементов. В связи с этим, фототрофный пикопланктон оказывается серьезным конкурентом более крупного фитопланктона. Соответствующие вопросы, с учетом вертикальной разобщенности групп и возможных различий в скоростях высвобождения биогенных элементов (их "рециклинга") представляют интересные задачи будущих структурно-функциональных исследований.

ЛИТЕРАТУРА

- I. Биопродукционная система крупномасштабного океанического круговорота / Под. ред. В.Н. Грезе. - Киев: Наук. думка, 1984. - 264 с.
2. Виноградов М.В., Гительзон И.И., Сорокин Ю.И. О пространственной структуре сообществ эвфотической зоны тропических вод океана // Функционирование пелагических сообществ тропических районов океана. - М.: Наука, 1971. - С. 255-264.
3. Владимирова В.Б., Булатов К.В., Шевченко В.А. Вертикальное распределение интенсивности флуоресценции пиковзвеси в тропической Атлантике // Пикофракция в составе планктона тропической зоны Атлантического океана. - Деп. ВИНТИ. 1987. - № 3798-В87. - С. 71-76.
4. Горюнова С.В. Применение метода флуоресцентной микроскопии для определения живых и мертвых клеток водорослей // Тр. ин-та микробиол. - 1952. - Вып. 2. - С. 64-77.
5. Горюнова С.В., Кабанова Ю.Г. Особенности автолитического распада клеток у некоторых перидиней // Изв. АН СССР. Сер. биол. - 1958. - № 4. - С. 431-438.
6. Горюнова С.В., Ржанова Г.Н. Состояние и перспективы развития методов люминесцентного анализа в гидробиологии // Усп. совр. биол. - 1961. - 51, Вып. 3. - С. 369-378.
7. Гусев М.В., Пикитина К.А. Физиология и биохимия цианобактерий // Успехи гидробиол. - 1978. Вып. 13. - С. 30-49.
8. Гусева К.А. "Цветение" воды: его причины, прогноз и меры борьбы с ним // Труды Всес. Гидробиол. о-ва. - 1952. - 4. - С. 3-92.
9. Зайка В.Е. Сравнительная продуктивность гидробионтов. - Киев: Наук. думка, 1983. - 206 с.
10. Зайка В.Е. Вертикальное распределение автотрофного пикопланктона в Индийском океане и Средиземном море // Океанология. - 1986. - 26. Вып. 2. - С. 291-296.
- II. Зайка В.Е., Макарова Н.П. Время генерации, продолжительность деления и доля делящихся клеток у двух видов микроорганизмов // Биология моря. - Киев. - 1975. - Вып. 33. - С. 119-121.
12. Зайка В.Е., Яшин В.А. Люминесцирующая пиковзвесь (0,2-2,0 мкм) в олиготрофных водах Черного и Средиземного морей // Докл. АН СССР. - 1984. - 275, № 6. - С. 1514-1516.
13. Зайка В.Е., Малиночка И.И. Симбиоз цианобактерий с динофлагеллятами *Dinophysiales* // Докл. АН УССР. Сер. А. -

- 1986, № 12 .- С.67-69.
14. Заика В.Е., Шевченко В.А., Булатов К.В., Малиночка И.И. Исследования фототрофного пикопланктона в тропической Атлантике // Пикофракция в составе планктона тропической зоны Атлантического океана.-Деп.ВИНИТИ, 1987.- № 3798-В87.- С.34-70.
 15. Заика В.Е., Малиночка И.И. Фототрофный пикопланктон в западной части Черного моря // Деп.ВИНИТИ, 1986.-№ 8747-В86.- 8 с.
 16. Карнаухов В.Н., Яшин В.А. Спектральные исследования морского пикопланктона.-Пушино, 1980.- 60 с.- (Препринт/ АН СССР. Ин-т биол.физики).
 17. Киселев И.А. Планктон морей и континентальных водоемов.- Л.: Наука, 1969.-I. - 658 с.
 18. Кондратьева Т.М. Темпы деления и продукция водорослей // Биологическая структура и продуктивность планктонных сообществ Средиземного моря.-Киев: Наук.думка, 1975.-С.164-174.
 19. Лебедева М.Н., Чепурнова Э.А., Шумакова Г.В. Интенсивность размножения и скорость деления бактериальных сообществ из различных районов Атлантики и Средиземного моря // Экспедиционные исследования в Южной Атлантике и Средиземном море. - Киев: Наук.думка, 1975.- С.217-229.
 20. Заика В.Е., Бенжицкий А.Г. Крупномасштабные исследования пикопланктона в Атлантическом океане на ИИС "Профессор Водяницкий" // Пикофракция в составе планктона тропической зоны Атлантического океана.-Деп.ВИНИТИ, 1987.- № 3798-В87.-С.3-6.
 21. Лебедева М.Н., Чепурнова Э.А., Гутвейб Л.Г., Шумакова Г.В., Бучакчийская А.Н. Бактериопланктон вод Южноатлантического антициклонального круговорота // Биопродукционная система крупномасштабного океанического круговорота.-Киев: Наук.думка, 1984.- С.195-220.
 22. Лопухин А.С. Аденозинтрифосфат как показатель роли размерных фракций фитопланктона в олиготрофных районах тропической Атлантики // Докл.АН СССР.-1985.-285, № 2.-С.509-512.
 23. Макарова Н.П. Метод расчета времени генерации по доле делящихся микроорганизмов //Биология моря.-Киев.-1975. Вып.33.-С.116-118.
 24. Марценюк П.П., Карнаухов В.Н. Люминесцентные спектральные характеристики клеток сине-зеленых водорослей (цианобак-

- терий) // Гидробиол.ж.-1979.-15, № 1.-С.69-73.
25. Мельников И.А. Характеристика органических компонентов океанического сестона: Автореф.дис.... канд.биол.наук.-М., 1974.-25 с.
 26. Микаэлян А.С. Пикофитопланктон субантарктических вод Тихого океана // Океанология, 1987.
 27. Мишустина И.Е., Батуркина М.В. Ультрамикрорганлизмы и органическое вещество океана.-М.: Наука. 1984.-94 с.
 28. Нарусевич Т.Ф., Марценюк П.П., Карнаузов В.Н. Спектры люминесценции морских ультрапланктонных "оливково-зеленых" клеток // Биология моря.-Киев.-1979. Вып.51.-С.52-55.
 29. Романкевич Е.А. Геохимия органического вещества в океане.-М.: Наука, 1977.-256 с.
 30. Ройхиняйнен М.И. Фитопланктон вод Южноатлантического антициклонального круговорота // Биопродукционная система крупномасштабного океанического круговорота.-Киев: Наук. думка, 1984.-С.83-106.
 31. Тамбиев С.Б. Аутигенное взвесеобразование в океанах // Океанология.-1986.-26. Вып.2.-С.224-232.
 32. Чепурнова Э.А., Лебедева М.Н. Темпы размножения бактерий в зоне фотосинтеза в некоторых морях Средиземноморского бассейна // Экспедиционные исследования в Средиземном море.-Киев: Наук.думка, 1973.-С.98-105.
 33. Шаловенков Н.Н. Пространственное распределение взвешенных частиц в тропической и южной Атлантике // Пикофракция в составе планктона тропической зоны Атлантического океана.-Деп.ВНИИТИ, 1987.- № 3798-В87.-С.71-76.
 34. Шаловенков Н.Н., Владимиров В.Б., Николаев В.М. Вертикальная неоднородность фотического слоя в тропической Атлантике // Пикофракция в составе планктона тропической зоны Атлантического океана.-Деп.ВНИИТИ, 1987.- № 3798-В87.- С.146-156.
 35. Alberte R.S., Wood A.M., Kursar T.A., Guillard R.R. Novel phycoerythrins in marine *Synechococcus* spp. // Plant Physiol.-1984.-75, N 5.-P.732-739.
 36. Allen M.M. Cyanobacterial cell inclusions // Ann. Rev. Microbiol.-Palo Alto, Calif.-1984.-38.-P.1-25.
 37. Alpine A.E., Cloern J.E. Differences in in vivo fluorescence yield between three phytoplankton size classes // J. Plankton Res.-1985.-7, N 3.-P.381-390.
 38. Barlow R.G., Alberte R.S. Photosynthetic characteristics of phycoerythrin - containing marine *Synechococcus* sp. //

- Mar. Biology.-1985.-86, N 1.-P.63-74.
39. Beers J.R., Trent J.D., Reid F.M.H., Shanks A.L. Macroaggregates and their phytoplanktonic components in the Southern California Bight // J. Plankton Res.-1986.-8, N 3.-P.475-488.
 40. Berman T. Size fractionation of natural aquatic populations associated with autotrophic and heterotrophic carbon uptake // Mar. Biology.-1975.-33, N 2.-P.215-220.
 41. Bernard F., Lecal J. Plancton unicellulaire recoltée dans l'océan Indien par le Charcot (1950) et le Norsel (1955-56) // Bull. Inst. Océanogr.-1960.-N 1166.-P.1-59.
 42. Bienfang P.K., Takahashi M. Ultraplankton growth rates in a subtropical ecosystem // Mar.-Biol.-1983.-76, N 2.-P.213-218.
 43. Bienfang P.K., Morales L., Klein K., Takahashi M. Picoplankton growth rates in subtropical Hawaiian embayments // Pacific Sci.-1984.-38, N 2.-P.134-140.
 44. Brand L.E. Nutrition and culture of autotrophic ultraplankton and picoplankton // Photosynthetic picoplankton.-Can. Bull. Fish. Aquat. Sci., Ottawa.-1986.-214.-P.205-233.
 45. Burney C.M., Johnson K.M., Lavoie D.M., Sieburth J.McN. Dissolved carbohydrate and microbial ATP in the North Atlantic: concentrations and interactions // Deep-Sea Res.-1979.-26A.-P.1267-1290.
 46. Caron D.A., Pick F.R., Lean D.K.S. Chroococcoid cyanobacteria in lake Ontario: vertical and seasonal distribution during 1982 // J. Phycol.-1985.-21, N 1.-P.171-175.
 47. Chisholm S.W., Armbrust E.V., Olson R.S. The individual cell in phytoplankton ecology: cell cycles and applications of flow cytometry // Photosynthetic picoplankton.-Can. Bull. Fish. Aquat. Sci., Ottawa.-1986.-214.-P.343-369.
 48. Davis P.G., Sieburth J.M. Differentiation of phototrophic and heterotrophic nanoplankton populations in marine waters by epifluorescence microscopy // Ann. Inst. Océanogr.-1982.-58, suppl.-P.249-259.
 49. Davis P.G., Caron D.A., Johnson P.W., Sieburth J.McN. Phototrophic and apochlorotic components of picoplankton and nanoplankton in the North Atlantic: geographic, vertical, seasonal and diel distributions // Mar. Ecology - Progress Ser.-1985.-21, N 1-2.-P.15-26.

50. Douglas D.J. Microautoradiography-based enumeration of photosynthetic picoplankton with estimates of carbon-specific growth rates // Mar. Ecology - Progress Ser.-1984.-14, N 2-3.-P.223-228.
51. Fogg G.E., Stewart W.D.P., Fay P., Walsby A.E. The blue-green algae // Acad. Press. London - New York.-1973.-459 P.
52. Fritsch F.E. The structure and reproduction of the algae // University Press: Cambridge.-1945.-2.-340 P.
53. Glover H.E., Campbell L., Prézelin B.B. Contribution of Synechococcus spp. to size-fractionated primary productivity in three water masses in the Northwest Atlantic ocean // Mar. Biology.-1986.-91, N 2.-P.193-204.
54. Guillard R.R.L., Murphy L.S., Foss P., Liaaen-Jensen S. Synechococcus spp. as likely zeaxanthin-dominant ultraplankton in North Atlantic // Limnology and Oceanography.-1985.-20, N 2.-P.412-414.
55. Healey F.P. Interacting effect of light and nutrient limitation on the growth rate of Synechococcus linearis (Cyanophyceae) // J. Phycol.-1985.-21, N1.-P.134-146.
56. Hentschel E. Allgemeine Biologie des Südatlantischen Ozeans // Wissensch. Ergebnisse Deutsch. Atlant. Exp. "Meteor" 1925-1927: Berlin.-1936.-9.-540 S.
57. Herbland A., Le Bouteiller A. The size distribution of phytoplankton and particulate organic matter in the Equatorial Atlantic ocean: importance of ultraseston and consequences // J. Plankton res.-1981.-3, N 4.-P.659-673.
58. Iturriaga R., Mitchell B.G. Chroococcoid cyanobacteria: a significant component in the food web dynamics of the open ocean // Mar. Ecology - Progress ser.-1986.-28, N 3.-P.291-297.
59. Johnson P.W., Sieburth J.McN. Chroococcoid cyanobacteria in the sea: A ubiquitous and diverse phototrophic biomass // Limnology and Oceanography.-1979.-24, N 5.-P.928-935.
60. Johnson P.W., Sieburth J.M. In-situ morphology and occurrence of eucaryotic phototrophs of bacterial size in the picoplankton of estuarine and ocean waters // J. Phycol.-1982.-18, N 3.-P.318-327.
61. Johnson P.W., Xu H.-S., Sieburth J.M. The utilization of chroococcoid cyanobacteria by marine protozooplankters but not by calanoid copepods // Ann. Inst. Océanogr.-1982.-58 (Suppl.).-P.297-308.

62. Joint I.R., Pomroy A.J. Production of picoplankton and small nanoplankton in the Celtic sea // Mar. Biology.-1983.-77, N 1.-P.19-27.
63. Joint I.R., Pipe R.K. An electron microscope study of a natural population of picoplankton from the Celtic Sea // Mar. Ecology - Progress Ser.- .-20, N 1.-P.113-118.
64. Joint I.R., Owens N.J.P., Pomroy A.J. Seasonal production of photosynthetic picoplankton and nanoplankton in the Celtic sea // Mar. Ecology - Progress Ser.-1986.-28, N 3.-P.251-258.
65. Jones L.W., Myers J. Pigment variations in *Anacystis nidulans* induced by light of selected wavelengths // J. Phycol.-1965.-1, N 1.-P.7-14.
66. Kanopka A., Sohuur M. Biochemical composition and photosynthetic carbon metabolism of nutrient limited cultures of *Merismopedia tenuissima* (Cyanophyceae) // J. Phycol.-17, N 2.-P.118-122.
67. Krempin D.W., Sullivan C.W. The seasonal abundance, vertical distribution, and relative biomass of chroococcoid cyanobacteria at a station in southern California coastal waters // Can. J. Microbiol.-1981.-27, N 12.-P.1341-1344.
68. Larsson U., Hagström A. Fractionated phytoplankton primary production, exudate release and bacterial production in a Baltic eutrophication gradient // Mar. Biology.-1982.-67, N 1.-P.57-70.
69. Laws E.A., Redalje D.G., Haas L.W., Bienfang P.K., Eppley P.W., Harrison W.G., Karl D.M., Marra J. High phytoplankton growth and production rates in oligotrophic Hawaiian coastal waters // Limnology and Oceanography.-1984.-29, N 6.-P.1161-1169.
70. Li W.K.W. Oxygenic photosynthetic micro-organisms and primary productivity // BIO Review: Canada.-1982.-P.23-25.
71. Li W.K.W., Subba Rao D.V., Harrison W.G., Smith J.C., Cullen J.J., Irwin B., Platt T. Authotrophic picoplankton in the tropical ocean // Science: N.Y.-1983.-N 219.-P.292-295.
72. Li W.K.W. Experimental approaches to field measurements: methods and interpretation // Photosynthetic picoplankton.- Can. Bull. Fish. Aquat. Sci., Ottawa.-1986.-214.-P.251-286.
73. Lohmann H. Über das Nannoplankton und die Zentrifugierung kleinster Wasserproben zur Gewinnung des selben in leben-

- den Zustände // Internat. Rev. ges. Hydrobiol. und Hydrogr.-1911.-4, N 1-2.-S.1-38.
74. Morris J., Glover H. Physiology of photosynthesis by marine coccoid cyanobacteria - Some ecological implications // Limnology and Oceanography.-1981.-26, N 5.-P.957-960.
 75. Murphy L.S., Haugen E.M. The distribution and abundance of phototrophic ultraplankton in the North Atlantic // Limnology and Oceanography.-1985.-30, N 1.-P.47-58.
 76. Platt T., Subba Rao D.V., Irwin B. Photosynthesis of picoplankton in the oligotrophic ocean // Nature: London.-1983.-301, N 5902.-P.702-704.
 77. Platt T., Li W.K.W. (ed.). Photosynthetic picoplankton // Can. Bull. Fish. Aquat. Sci., Ottawa.-1986.-214.-583P.
 78. Prézelin B.B., Putt M., Glover H.E. Diurnal patterns in photosynthetic capacity and depth-dependent photosynthesis-irradiance relationships in *Synechococcus* spp. and larger phytoplankton in three water masses in the North-west Atlantic ocean // Mar. Biology.-1986.-91, N 2.-P. 205-217.
 79. Redalje D.G. Phytoplankton carbon biomass and specific growth rates determined with the labelled chlorophyll *a* technique // Mar. Ecology - Progress Ser.-1983.-11, N 3.-P.217-225.
 80. Runge J.A., Ohman M.D. Size fractionation of phytoplankton as an estimate of food available to herbivores // Limnology and Oceanography.-1982.-27, N 3.-P.570-576.
 81. Salonen K. Effectiveness of cellulose ester and perforated polycarbonate membrane filters in separating bacteria and phytoplankton // Ann. Bot. Fennici.-1974.-11, N 1.-P.133-135.
 82. Schmaljohann R. Morphological investigations on bacterioplankton of the Baltic Sea, Kattegat and Skagerrak // Bot. Mar.-1984.-27, N9.-P.425-436.
 83. Sieburth J.McN., Smetacek V., Lenz J. Pelagic ecosystem structure: heterotrophic compartments of the plankton and their relationships to plankton size fractions // Limnology and Oceanography.-1978.-23, N 6.-P.1256-1263.
 84. Smith R.E.H., Geider R.J., Platt T. Microplankton productivity in the oligotrophic ocean // Nature.-1984.-311, N 2117.-P.252-254.
 85. Smith J.C., Platt T., Li W.K.W., Horne E.P.W., Harrison W.G., Subba Rao D.V., Irwin B.D. Arctic marine photoauto-

- trophic picoplankton // *Mar. Ecology - Progress Ser.*-
1985.-20, N 3.-P.207-220.
86. Sondergaard M. On the radiocarbon method: filtration or the acidification and bubbling method? // *J. Plankton Res.*-1985.-17, N 3.-P.391-397.
 87. Stanier R.Y., Kunisawa R., Mandel M., Cohen-Bazire G. Purification and properties of unicellular blue-green algae (order chroococcales) // *Bacteriol. Rev.*-1971.-35.-P.171-205.
 88. Takahashi M., Bienfang P.K. Size structure of phytoplankton biomass and photosynthesis in subtropical Hawaiian waters // *Mar. Biol.*-1983.-76, N 2.-P.203-211.
 89. Takahashi M., Hori T. Abundance of picophytoplankton in the subsurface chlorophyll maximum layer in subtropical and tropical waters // *Mar. Biology.*-1984.-79, N 2.-P.177-186.
 90. Takahashi M., Kikuchi K., Hara Y. Importance of picocyanobacteria biomass (unicellular, blue-green algae) in the phytoplankton population of the coastal waters off Japan // *Mar. Biology.*-1985.-89, N 1.-P.63-70.
 91. Thomsen H.A. A survey of the smallest eucaryotic organisms of the marine phytoplankton // *Photosynthetic picoplankton. - Can. Bull. Fish. Aquat. Sci., Ottawa.*-1986.-214.-P.121-158.
 92. Tsuji T., Yanagita T. Improved fluorescent microscopy for measuring the standing stock of phytoplankton including fragile components // *Mar. Biology.*-1981.-64, N 2.-P.207-211.
 93. Van Baalen C. Studies on marine blue-green algae // *Bot. Mar.*-1962.-4, N 1.-P.129-139.
 94. Verity P.G., Villareal T.A. The relative food value of diatoms, dinoflagellates, flagellates, and cyanobacteria for tintinnid ciliates // *Arch. Protistenk.*-1986.-131, N 1-2.-S.71-84.
 95. Wantha R., Desrosières R., Bourhis I. Importance présumée de l'ultraplancton dans les eaux tropicales oligotrophes du Pacifique central sud // *Cahier ORSTOM, ser. océanogr.*-1967.-5, N 2.-P.302-313.
 96. Waterbury J.B., Willey J.M., Franks D.G., Valcis F.W., Watson S.W. A cyanobacterium capable of swimming motility // *Science.*-1985.-230, N 4721.-P.74-76.
 97. Waterbury J.B., Watson S.W., Buillard R.R.L., Brand L.E.

Widespread occurrence of a unicellular, marine, planktonic cyanobacterium // *Nature*.-1979.-277.-P.293-294.

98. Waterbury J.B., Watson S.W., Valois F.W., Franks D.G. Biological and ecological characterization of the marine unicellular cyanobacterium *Synechococcus* // *Photosynthetic picoplankton*. - *Can. Bull. Fish. Aquat. Sci.*, Ottawa.-1986.-214.-P.71-120.
99. Weiler C.S., Chisholm S.W. Phased cell division in natural populations of marine dinoflagellates from shipboard cultures // *J. Exp. Mar. Biol. and Ecol.*-1976.-25, N 3.-P.239-247.
100. Wood A.M., Horan P.K., Muirhead K., Phinney D.A., Yentsch C.M., Waterbury J.B. Discrimination between types of pigments in marine *Synechococcus* spp. by scanning spectroscopy, epifluorescence microscopy, and flow cytometry // *Limnology and Oceanography*.-1985.-30, N 6.-P.1303-1315.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.	3- 9
ГЛАВА I. Методы исследования пикопланктона.	10-24
I.1. Пикопланктон и пикофракция взвеси	10-14
I.2. Эпифлуоресцентная микроскопия	14-19
I.3. Спектральные исследования пикопланктона	19-20
I.4. Другие методы изучения пикопланктона, фиксации и хранения проб.	21-24
ГЛАВА 2. Фильтрация как метод выделения пикопланктона из морской воды	25-36
2.1. Влияние выбора фильтров на состав пикофрак- ции	25-28
2.2. Пропускная способность фильтров при разных условиях фильтрации	28-34
2.3. Физиологические опыты и фракционирование планктона фильтрацией	34-36
ГЛАВА 3. Основные компоненты пикофракции взвеси	37-41
3.1. Общий состав пиковзвеси	37-39
3.2. Эукариотные представители пикофитопланктона	39-41
ГЛАВА 4. Цианобактерии морского планктона	42-52
4.1. Морские планктонные сине-зеленые водоросли.	42-45
4.2. Морфология одиночных цианобактерий.	45-47
4.3. Пигменты цианобактерий.	47-49
4.4. Изменчивость спектральных характеристик автофлуоресценции	49-50
4.5. Подвижность цианобактерий	50-52
ГЛАВА 5. Формы цианобактерий и их встречаемость	53-65
5.1. Одиночные свободнодвижущие цианобактерии.	53-57
5.2. Прикрепленные цианобактерии	57-58
5.3. Цианобактерии в кишечниках и фекалиях планктонных животных.	59-60
5.4. Типы колониальных цианобактерий и их встречае- мость	60-65
ГЛАВА 6. Вертикальное распределение пикофитопланктона	66-83
6.1. Неоднородность распределения пикофитопланктона по глубинам	66-70
6.2. Широтные изменения вертикальных профилей в Атлантическом океане.	71-80
6.3. Сезонные различия профилей в Средиземном море	80-83
6.4. Зимние профили пикофитопланктона в Черном море.	83

ГЛАВА 7. Численность и биомасса пикофитопланктона в эвфотическом слое	84-94
7.1. Атлантический океан	84-89
7.2. Тихий и Индийский океаны.	89-91
7.3. Средиземное и Черное моря	91-94
ГЛАВА 8. Эколого-физиологические особенности пикофитопланктона.	95-113
8.1. Наблюдения над пикофитопланктоном в изолированных пробах	95-97
8.2. Сукцессии в пикофитопланктоне при содержании на герметизированных фильтрах	98-101
8.3. Встречаемость делящихся цианобактерий и оценка времени генерации клеток.	101-105
8.4. Скорость размножения пикофитопланктона.	105-111
8.5. Содержание хлорофилла в клетках и фотосинтез пикофитопланктона	111-113
ГЛАВА 9. Интенсивность люминесценции и фотодеструкции как показатели физиологического состояния клеток.	114-127
9.1. Встречаемость "ярких" и "тусклых" цианобактерий	114-115
9.2. Изменения свечения цианобактерий в освещенном поле микроскопа.	115-117
9.3. Время фотодеструкции разных форм цианобактерий.	118-121
9.4. Фотодеструкция цианобактерий в связи с освещением и температурой	121-123
9.5. Интенсивность свечения клеток пикофитопланктона с разных глубин	123-127
ГЛАВА 10. Факторы, влияющие на распределение и обилие пикофитопланктона	128-149
10.1. Общие причины и механизмы вертикальной стратификации пикопланктона	128-130
10.2. Фотосинтезирующий пикопланктон и свет.	130-136
10.3. Сравнение профилей пикофитопланктона и сопутствующих переменных	136-143
10.4. Профили цианобактерий и биотические факторы.	143-149
ГЛАВА 11. Фототрофный пикопланктон как компонент пелагических экосистем.	150-157
11.1. Фототрофный и гетеротрофный пикопланктон, суммарный фитопланктон	150-152
11.2. Вклад пикофитопланктона в первичную продукцию.	152-153
11.3. Основные потребители фототрофного пикопланктона.	153-155
11.4. Пикофитопланктон и необходимость уточнения моделей функционирования экосистем.	155-157

ЛИТЕРАТУРА.....	158 -166
СОДЕРЖАНИЕ	167 -169

Т21155. 20.12.88 г. Уч.-изд.л. 10,5. Усл.-печ.л. 10,6. Тираж
583 экз. Заказ 1678Р. Цена 2р.10к. Изд.№ 33. Бумага офсетная.
Отпечатано с оригинала-макета на ротаприте в Отделе научно-тех-
нической информации Научного центра биологических исследований
АН СССР в Пушкине