

06

И-71

ISSN 0320—9652

РОССИЙСКАЯ
АКАДЕМИЯ
НАУК

**БИОЛОГИЯ
ВНУТРЕННИХ
ВОД**

№

ИНФОРМАЦИОННЫЙ БЮЛЛЕТЕНЬ

91

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК

ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ВНУТРЕННИХ ВОД им. И. Д. ПАПАНИНА
НАУЧНЫЙ СОВЕТ ПО ПРОБЛЕМАМ
ГИДРОБИОЛОГИИ, ИХТИОЛОГИИ И ИСПОЛЬЗОВАНИЯ
БИОЛОГИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ ВОДОЕМОВ

БИОЛОГИЯ ВНУТРЕННИХ ВОД

ИНФОРМАЦИОННЫЙ БЮЛЛЕТЕНЬ

№ 91



Санкт-Петербург

„Наука”

С.-Петербургское отделение

1992

Academy of Sciences of the USSR

**I.D.Papanin Institute of Biology of Inland Waters
Scientific Council for problems of hydrobiology,
ichthyology and utilization of biological
resources of waterbodies**

**Biology of Inland Waters
Information Bulletin**

N 91

УДК 574.5(28)

В бюллетене представлены результаты комплексного исследования влияния химического состава воды, закисления, биогенных элементов и тяжелых металлов на видовой состав и структуру основных звеньев пресноводных экосистем (фитопланктон, микробиота, зоопланктон, перифитон). Кроме того, содержатся сообщения, в которых анализируются воздействие химического состава воды и тяжелых металлов на ионный обмен, рост и развитие молоди промысловых видов рыб. Описаны некоторые новые методы экологических исследований.

Для экологов, гидробиологов, физиологов, ихтиологов, водных токсикологов, преподавателей и студентов биологических факультетов вузов.

Ответственный редактор Г.А.ВИНОГРАДОВА

Рецензенты: ХЛЕБОВИЧ В.В., ФЛЕРОВ Б.А.

Научное издание

БИОЛОГИЯ ВНУТРЕННИХ ВОД

Информационный бюллетень № 91

Утверждено к печати

*Институтом биологии внутренних вод
им. И.Д.Папанина Академии наук СССР*

Редактор издательства Л.А.Бабушкина

Технический редактор М.Л. Гофман

Корректор С.И. Лукомская

ИБ № 44722

ИИБД. №

37003-7

Подписано к печати 10.01.92. Формат 60 x 90 / 16. Бумага
офсетная № 1. Печать офсетная. Усл.печ.л. 5.00. Усл.кр.-от. 5.25.
Уч.-изд.л. 4.44. Тираж 700. Тип. зак. № 1867. С 28.

Ордена Трудового Красного Знамени

издательство „Наука“. С.-Петербургское отделение.

198034, С.-Петербург, В-34, Менделеевская лин., 1.

Ордена Трудового Красного Знамени

Первая типография издательства „Наука“.

198034, С.-Петербург, В-34, 9 лин., 12.

**В 1903040100-508
042(02)-92 404-91, II полугодие**

© Коллектив авторов, 1992

**© Редакционная подготовка —
издательство „Наука“, 1992**

В.Б.Вербицкий, А.К.Клерман, Н.П.Клайн**ЭКСПЕРИМЕНТ В ПРОТОЧНЫХ МЕЗОКОСМАХ.
МЕТОДИКА И СХЕМА ОПЫТОВ**

Действию тяжелых металлов и закисления на гидробионтов посвящена обширная литература [5-12]. Особенно полная информация накоплена в этой области исследований при проведении кратковременных экспериментов по острой токсичности отдельных тяжелых металлов для планктонных ракообразных.

Значительно меньше известно о хроническом воздействии закисления и тяжелых металлов в концентрациях, близких к сублетальным. Методология этих исследований связана с определением влияния тяжелых металлов и других факторов на комплекс организмов, которые обитают в замкнутых емкостях, изолированных от окружающей водной среды. При кратковременных экспериментах такой подход оправдан и дает хорошие результаты. Однако для изучения динамики природных сукцессий необходимо проведение более продолжительных наблюдений. Метод замкнутых объемов в этом случае малопригоден, поскольку приводит к изменению множества физико-химических параметров (в первую очередь концентрации исследуемых веществ и метаболитов). Для устранения этих негативных явлений мы использовали открытые (проточные) экспериментальные экосистемы (мезокосмы), в которых осуществлялась постоянная смена речной воды при сохранении концентрации испытуемых веществ.

С целью изучения хронического воздействия ацидификации, эвтрофикации и тяжелых металлов на сообщества экспериментальных мезокосмов на фоне природной сукцессии в полевых условиях был проведен эксперимент, в котором для создания стабильных параметров изучаемых факторов в проточной среде нами была использована полевая диллютерная установка

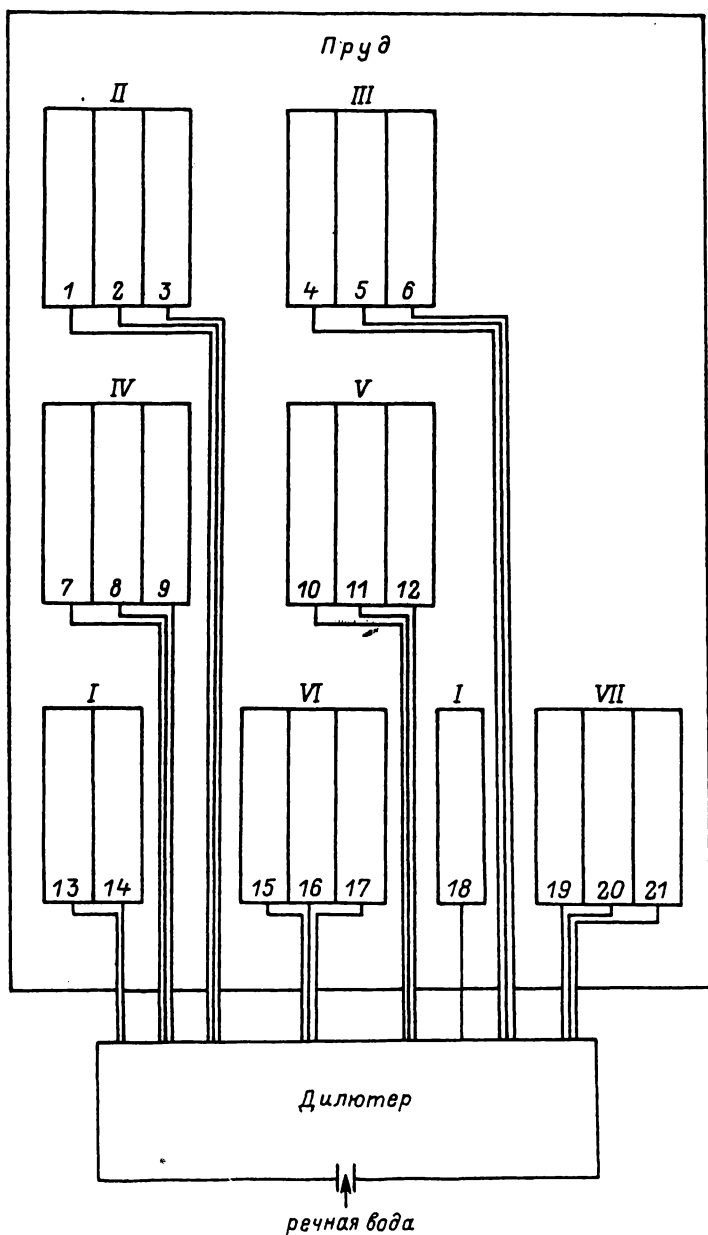


Рис. 1. Схема расположения экспериментальных мезокосмов.

I-VII — варианты опыта. 1-21 — лотки с мезокосмами.

Схема эксперимента в мезокосмах

Вариант опыта	Номер лотка	Заданная концентрация веществ	pH
I	13, 14, 18	Контроль	8.6–9.4
II	1, 2, 3	Защеление	5.4–6.0
III	4, 5, 6	Защеление + тяжелые металлы, мкг/л (ТМ ₁) (200 Zn + 100 Cd + 10 Cu + 5 Hg)	5.4–6.0
IV	7, 8, 9	Фосфор (1 мг/л)	8.6–9.4
V	10, 11, 12	Азот (2 мг/л)	8.6–9.4
VI	15, 16, 17	Тяжелые металлы, мкг/л (ТМ ₁) (200 Zn + 100 Cd + 10 Cu + 5 Hg)	8.6–9.4
VII	19, 20, 21	Тяжелые металлы, мкг/л (ТМ ₂) (400 Zn + 200 Cd + 20 Cu + 10 Hg)	8.6–9.4

оригинальной конструкции. Описание и порядок ее работы даны в статьях Г.А.Виноградова с соавторами [3, 4]. Исследования проводили в 21 пластиковом лотке с объемом воды 1.5 м³ каждый и скоростью протѣка 0.5 м³/сут. Для уменьшения суточных колебаний температуры лотки размещали в залитом водой пруду. Через дилутерное устройство в них подавалась речная вода, предварительно очищенная от взвесей фильтрацией через мельничное сито № 76. Каждый вариант опыта ставили в 3 повторностях (рис. 1).

Известно, что токсичность тяжелых металлов и ацидификации для гидробионтов во многом определяется химическим составом воды [6, 10]. В связи с этим для установления необходимых в длительном опыте концентраций тяжелых металлов было проведено несколько серий предварительных экспериментов по определению острой токсичности (LC₅₀ = 48) ртути, меди, кадмия и цинка для доминирующих видов зоопланктона. Тяжелые металлы добавляли в соотношении и концентрациях, приблизительно соответствующих их содержанию в зонах индустриального загрязнения.

Оказалось, что зарослевые формы ветвистых в 5 и более, а веслоногих ракообразных — в 25 и бо-

Содержание биогенов в воде
экспериментальных мезокосмов, мг/л

Дата	Варианты опыта						
	I	II	III	IV	V	VI	VII
Ф о с ф о р							
17 VII	0.084	0.049	0.056	0.064	0.093	0.077	0.076
24 VII	0.328	0.059	0.042	0.036	0.044	0.041	0.051
31 VII	0.120	0.097	0.130	0.112	0.069	0.131	0.095
7 VIII	0.058	0.056	0.066	0.053	0.074	0.059	0.082
28 VIII	0.045	0.066	0.042	1.208	0.032	0.100	0.091
4 IX	0.043	0.044	0.044	1.231	0.035	0.053	0.071
11 IX	0.052	0.062	0.042	0.753	0.031	0.063	0.098
Н и т р а т ы							
17 VII	0.005	0.095	0.009	0.006	0.001	0.005	0.005
24 VII	0.009	0.007	0.008	0.004	0.005	0.001	0.001
31 VII	0.003	0.001	0.003	0.003	0.004	0.003	0.005
7 VIII	0.018	0.000	0.001	0.012	0.014	0.012	0.020
14 VIII	0.028	0.000	0.002	0.017	0.058	0.023	0.019
28 VIII	0.011	0.000	0.000	0.009	0.021	0.012	0.019
4 IX	0.022	0.000	0.000	0.009	0.022	0.024	0.055
Н и т р и т ы							
17 VII	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
24 VII	0.012	0.013	0.002	0.003	0.003	0.003	0.002
31 VII	0.002	0.000	0.002	0.000	0.001	0.003	0.003
7 VIII	0.014	0.007	0.004	0.005	0.009	0.001	0.005
14 VIII	0.008	0.000	0.004	0.002	0.018	0.004	0.009
28 VIII	0.001	0.003	0.000	0.003	0.021	0.004	0.005
4 IX	0.002	0.000	0.000	0.005	0.005	0.004	0.005
11 IX	0.000	0.000	0.000	0.000	0.005	0.000	0.000

лее раз устойчивее к сильно токсичной меди, чем другие представители зоопланктона. Полученные результаты по острой токсичности позволили установить концентрации тяжелых металлов при хроническом эксперименте в мезокосмах (табл. 1).

В опытах с закислением использовали серную кислоту. Тяжелые металлы вносили в виде солей ZnSO_4 , $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$, CuSO_4 , HgCl_2 , биогены — в форме NH_4Cl и KH_2PO_4 . Их концентрацию определяли еженедельно по содержанию цинка на атомно-абсорбционном спектрофотометре ААС-1. Анализ биогенных элементов (фосфаты, нитраты, нитриты и аммонийный азот) проводи-

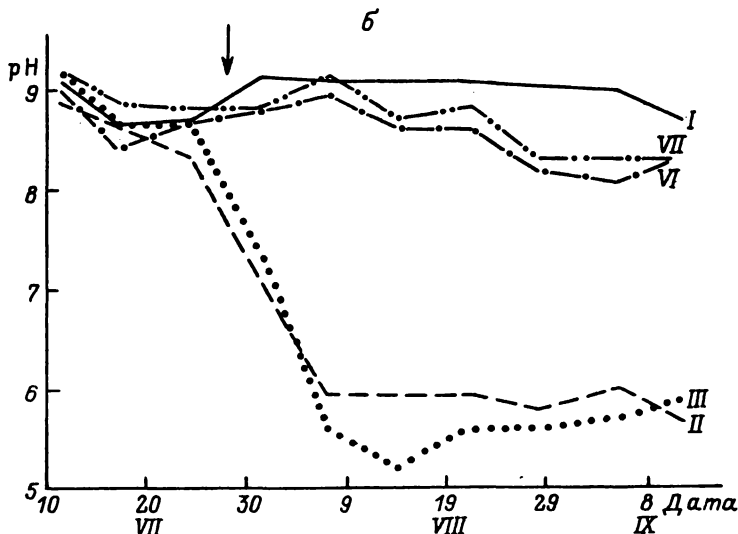
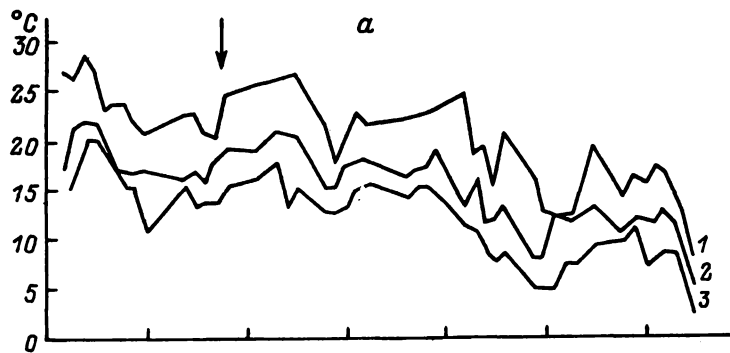


Рис. 2. Сезонная динамика температуры (а) и pH (б) в экспериментальных мезокосмах.

Температура: 1 — максимальная, 2 — срочная, 3 — минимальная. Стрелка — начало воздействия факторов. I-VII — варианты опыта.

ли по общепринятым методикам [1, 2]. Динамика биогенов в мезокосмах отражена в табл. 2.

Активную реакцию и температуру воды в лотках измеряли ежедневно в 9 ч с использованием иономера ЭВ-74 и комплекта метеорологических термометров (минимальный, максимальный, срочный) (рис. 2).

Эксперимент состоял из 2 основных этапов. На протяжении первого, длительностью 3 нед, во всех лотках после заливания речной водой и внесения зарядки зоопланктона изучали сукцессию биоты в усло-

виях экспериментальных мезокосмов. На втором этапе, продолжительностью 6 нед, исследовали воздействие задаваемых факторов на следующие звенья сложившихся экспериментальных экосистем: 1) видовой состав, динамику численности и биомассы фитопланктона; 2) динамику численности и биомассы бактериопланктона, а также 3) микобиоты (грибы и дрожжи); 4) видовой состав и динамику численности зоопланктона; 5) ход сукцессии в фито- и зооперифитонных сообществах.

Литература

1. Алекия О.А., Семенов Д.Д., Скопинцев Б.А. Руководство по химическому анализу вод суши. Л., 1973.
2. Бикбулатов Э.С. Определение общего фосфора в природных водах // Гидрохим. матер. 1974. Т. 60.
3. Виноградов Г.А., Тагунов В.Б. Установка для изучения влияния различных веществ на рыб и беспозвоночных в проточных условиях // Гидробиол. журн. 1989. Т. 25, № 3.
4. Виноградов Г.А., Маврин А.С., Тагунов В.Б., Ершов И.Ю. Влияние кальция, магния и тяжелых металлов на молодь леща. Условия проведения эксперимента // Наст. бюл.
5. Biesinger K.K., Christensen G.M. Effects of Various metals on survival, growth, reproduction and metabolism of *Daphnia magna* // J. Fish. Res. Board Canad. 1972. Vol. 29.
6. Hartung K. Biological effects of heavy metal pollutants in water // Metal ions in biological systems. New York, 1973.
7. Havas M., Hutchinson T.C. Aquatic invertebrates from the Smoking Hills, N.W.T.: effect of pH and metals on mortality // Canad. J. Fish and Aquatic Sci. 1982. Vol. 39, N 6.
8. Griffiths P.R.E. Morphological and ultrastructural effects of sublethal cadmium poisoning on *Daphnia* // Environ. Res. 1980. Vol. 22, N 2.
9. Marshall G.S., Parker G.I., Mellinger D.L., Lei C. Bioaccumulation and effects of cadmium and zinc in a Lake Michigan plankton community // Canad. J. Fish and Aquatic Sci. 1983. Vol. 40, N 9.
10. Paulauscis J.D., Winnes R.W. Effects of water hardness and humic acid on zinc toxicity to *Daphnia magna* Straus // Aquat. Toxicol. 1988. Vol. 12, N 3.

11. Price E.E., Michael C.S. Inter and Intra-specific variability in the response of zooplankton to acid stress // Canad. J. Fish. and Aquat. Sci. 1985. Vol. 42, N 11.
12. Venkataraman K., Manoharan T. Effect of copper on survival, growth and reproduction of *Daphnia carinata* King (Cladocera: Daphnidae) // Sci. Cult. 1983. Vol. 49, N 10.

Институт биологии внутренних вод
им. И.Д.Папанина АН СССР

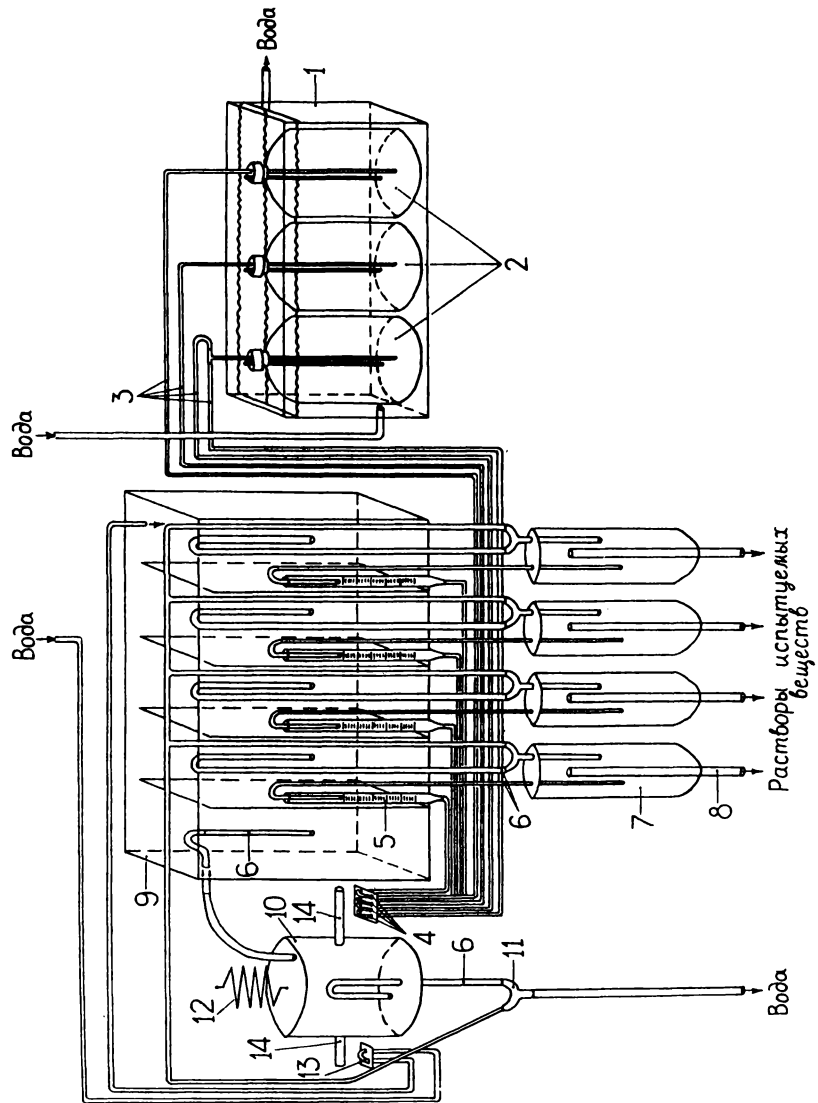
УДК 597.08 : 574.64

Г.А.Виноградов, А.С.Маврин, В.Б.Тагунов,
И.Ю.Ершов

ВЛИЯНИЕ КАЛЬЦИЯ, МАГНИЯ И ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА МОЛОДЬ ЛЕЩА. УСЛОВИЯ ПРОВЕДЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

В работах, посвященных изучению влияния естественных абиотических факторов среды на рост и физиологическое состояние рыб, основное внимание уделяется зависимости их роста и развития от температуры, содержания растворенного в воде кислорода, длины светового дня, интенсивности освещения, солености [7]. В последнее время установлено, что рыбы поглощают из воды в виде ионов от 80 до 100 % кальция через жабры [1, 6, 10-12]. Однако зависимость роста рыб от жесткости, т.е. в основном от суммы концентраций кальция и магния, а также только от концентрации первого, изучена недостаточно [2, 8, 9]. В настоящее время в связи с интенсивным загрязнением рек, озер и других водных систем возникла проблема оценки влияния тяжелых металлов на рыб. Поскольку многие тяжелые металлы в микроконцентрациях, так же как кальций и магний, важны для нормального роста и развития последних [4], возникает необходимость изучения их воздействия на молодь рыб в экспериментальных системах (условиях), моделирующих естественные проточные водоемы.

Цель данного исследования — выяснить влияние кальция и магния на молодь леща и выявить последствия хронического воздействия на нее тяжелых металлов. Для этого была использована модифицирован-



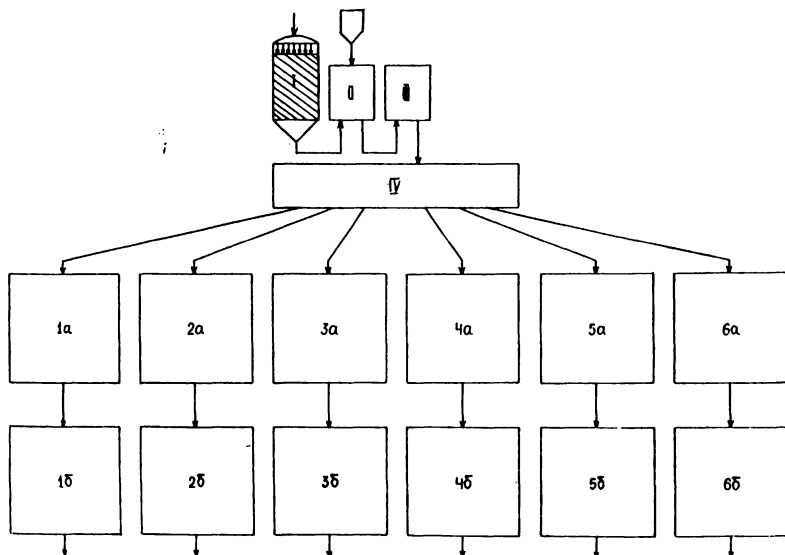


Рис. 2. Схема эксперимента.

I — Н-катионитный фильтр 1-й ступени; *II* — сосуд для перемешивания воды с 8%-ной NaOH, поступающей из титровальной системы; *III* — сосуд для удаления из воды углекислого газа; *IV* — дилутерная установка; 1а-6а — экспериментальные пластиковые лотки в 1-й серии опытов, 1б-6б — то же, во 2-й серии.

ная установка конструкции Г.А.Виноградова и В.Б.Тагунова [3], позволяющая в полевых условиях поддерживать в проточных бассейнах необходимую концентрацию различных веществ (рис. 1).

Слабоминерализованную воду получали, пропуская речную воду через Н-катионитный фильтр (сульфо-

Рис. 1. Схема устройства дилутерной установки.

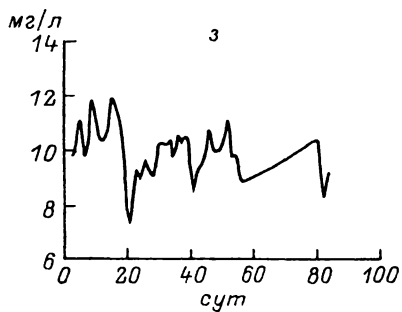
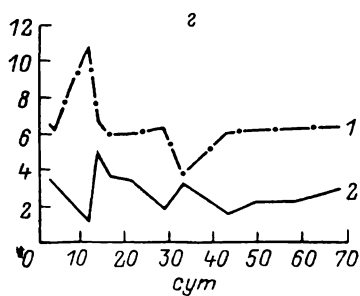
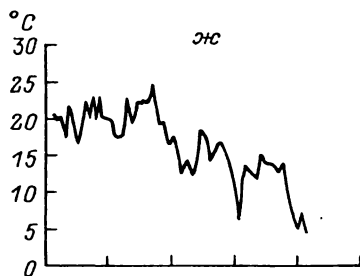
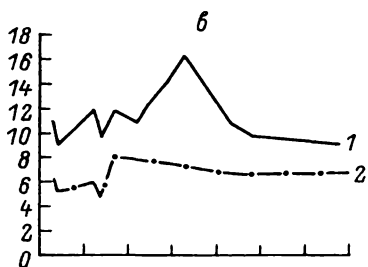
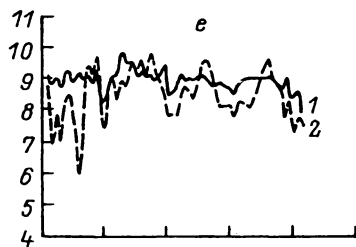
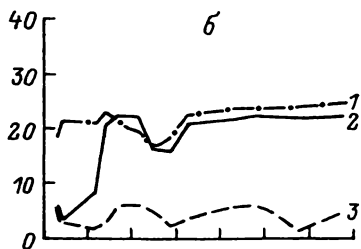
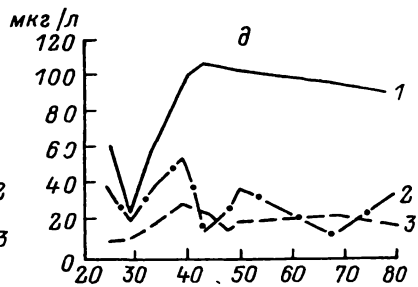
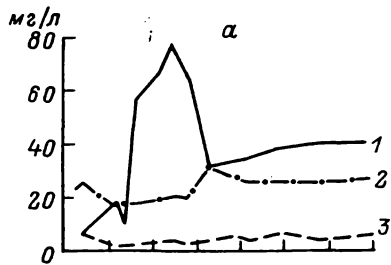
1 — термостатирующая камера, 2 — сосуды равномерного истечения с испытуемыми веществами, 3 — трубки для поступления испытуемого вещества в мерные пипетки, 4 — нипельные трубки, 5 — мерные пипетки для точного отбора испытуемых веществ, 6 — сифонные трубки, 7 — смеситель, 8 — сливная трубка, 9 — сосуд с отсеками для воды, 10 — подвижный сосуд, 11 — струйный насос, 12 — пружина, 13 — пережимной шланг для воды, 14 — пережимная планка.



Рис. 3. Общий вид экспериментальной установки.

Рис. 4. Динамика физико-химических параметров воды в опытах.

а — кальций: 1 — опыт 4, 2 — то же, 6, 3 — то же, 1, 2, 3, 5; *б* — магний: 1 — опыт 6, 2 — то же, 3, 3 — то же, 1, 2, 4, 5; *в* — натрий: 1 — опыт 1-5, 2 — то же, 6; *г* — калий: 1 — опыт 6, 2 — то же, 1-5; *д* — цинк: 1 — опыт 2, 2 — то же, 1, 3 — то же, 5; *е* — pH: 1 — опыт 6, 2 — то же, 1-5; *ж* — температура: опыт 1-6; *з* — кислород: опыт 1-6.



уголь) 1-й ступени [5]. Титрованием NaOH вытекающей из катионита воды добивались значения pH 6.5. Автоматическую добавку растворов солей металлов осуществляли с помощью дилутерной установки, из которой вода поступала сначала в 6 пластиковых лотков одинакового размера (100 x 100 x 50 см) (1-я серия опытов), затем — в следующие 6 лотков (2-я серия опытов) (рис. 2). Все лотки были помещены в пруд с проточной речной водой для уменьшения колебания в них температуры. В течение всего эксперимента объем воды в каждом из них составлял 250 л, проточность — 250 л/сут. Вода в лотках барбатировалась.

Эксперимент проводили в 1989 г. в течение 89 сут (рис. 3). Материалом в 1-й серии опытов служили мальки леща (*Abramis brama* L.) на этапе „F“, полученные от производителей рыбинского леща и подроженные в пруду; по 2-й — мальки ленского осетра (*Acipenser baeri* Br.), полученные в Волго-реченском ПЭРХ. 10 июля рыб взвешивали, измеряли и рассаживали в лотки по 25 экз. в каждый. Мальки леща имели среднюю длину 24.3 мм и среднюю массу 0.22 г.

Первоначально лотки были заполнены речной водой. Время адаптации к этим условиям составило 7 сут. В дальнейшем вода поступала через Н-катионитный фильтр 1-й ступени и постепенно разбавляла речную воду в лотках. Период адаптации к слабоминерализованной воде (во всех лотках, кроме 6-го) продолжался 10 сут. Во время эксперимента леща кормили планктоном, который отлавливали в пруду, перемешивали в 6-литровом полиэтиленовом ведре и вносили одновременно по 1 л в каждый лоток один или 2 раза в день в зависимости от выедаемости корма. Мальков осетра кормили рыбным фаршем.

С 27 июля в лотки стали поступать испытуемые вещества: в 1-й лоток — смесь солей тяжелых металлов (TM₁), мкг/л — Zn (20), Cd (5), Cu (1), Hg (0.5), — концентрации соответствуют уровню антропогенного загрязнения европейских рек; во 2-й — то же (TM₂) — Zn (80), Cd (20), Cu (4), Hg (2), — сублетальные концентрации для данной жесткости воды установлены на основании предварительного опыта; в 3-й — 24 мг/л Mg, концентрация равна содержанию ионов в речной воде; в 4-й — 39 мкг/л Са, концентрация несколько выше, чем в речной воде; в 5-й — слабоминерализованная вода (контроль); в 6-й — речная вода (контроль). В опытах

использовали соли $ZnSO_4$, $Cd(NO_3)_2$, $CuSO_4$, $HgCl_2$, $MgSO_4$ и $CaCl_2$.

Через определенные интервалы времени с помощью атомного абсорбционного спектрофотометра ААС-1 контролировали содержание в лотках Ca, Mg, Na, K и Zn. Ежедневно измеряли pH, температуру, количество кислорода. Результаты представлены на рис. 4.

Литература

1. Богоявленская М.П. Возможность использования Ca^{45} в качестве метки рыб // Рыб. хоз-во. 1955. № 11.
2. Бодрова Н.В., Крахив Б.В. Про значения кальцию для молоди коропа // Деякки питания фізіології травлення та обміну речовин у рыб. Київ, 1962.
3. Виноградов Г.А., Тагунов В.Б. Установка для изучения влияния различных веществ на рыб и беспозвоночных в проточных условиях // Гидробиол. журн. 1989. Т. 25, № 3.
4. Воробьев В.И. Микроэлементы и их применение в рыбоводстве. М., 1979.
5. Гурвич С.М. Справочник химика-энергетика. М., 1972.
6. Кирпичников В.С., Световидов А.Н., Трошин А.С. Поглощение и отдача радиоактивного кальция дафниями, циклопами и гуппиями // ДАН СССР. 1956. Т. 110, № 6.
7. Мина М.В., Клевезаль Г.А. Рост животных. М., 1976.
8. Романенко В.Д., Арсан О.М., Соломатина В.Д. Кальций и фосфор в жизнедеятельности гидробионтов. Киев, 1982.
9. Скадовский С.Н. Задачи гидробиологических исследований озер в связи с проблемой продуктивности // Учен. зап. МГУ. 1936. Вып. 8.
10. Berg A. Studies on the metabolism of calcium and strontium in freshwater fish. 1. Relative contribution of direct and intestinal absorption // Met. ist. ital. idrobiol. 1968. Vol. 23, N 1.
11. Fleming W.R. Electrolyte metabolism of teleost including calcified tissues // Chemical Zoology. New York, 1968. Vol. 8.
12. Simkiss K. Calcium metabolism of fish in relation to ageing. The ageing of fish. Surrey, 1974.

Институт биологии внутренних вод
им. И.Д.Папанина АН СССР

Т.Ю. Землянична, Г.И. Виноградова

ВЛИЯНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ, ЗАКИСЛЕНИЯ ВОДЫ
И БИОГЕННЫХ ЭЛЕМЕНТОВ НА ФИТОПЛАНКТОН
В ПРОТОЧНЫХ МЕЗОКОСМАХ

Цель настоящей работы — выяснение закономерностей влияния воздействия смеси тяжелых металлов, закисления воды, неорганического фосфора и азота на фитопланктон. Эксперименты проводили при определенных условиях в проточных лотках объемом 1.5 м^3 . Изучали влияние закисления воды до величины pH 5.4–6.0 (pH 5.5) смеси тяжелых металлов в 2 концентрациях — TM_1 и TM_2 , мкг/л: Zn (200) + Cd (100) + Cu (10) + Hg (5) и Zn (400) + Cd (200) + Cu (20) + Hg (10), а также закисления на фоне тяжелых металлов (pH 5.5 + TM_1), минеральных форм фосфора (1 мг/л) и азота (2 мг/л). Схема и методика эксперимента изложена в статье В.Б. Вербицкого и др. (см. наст. сб., с. 3).

Видовой состав фитопланктона во всех вариантах опыта небогат. Было обнаружено 48 таксонов водорослей. Из них 90 % составляли зеленые, в частности протококковые. Наибольшего видового разнообразия достигал фитопланктон контрольного пруда.

С целью выявления основных видов фитопланктона была проведена выборка наименьшего числа таксонов водорослей, численность и биомасса которых в сумме составляли не менее 80 % от общей. Таких таксонов оказалось 11. В основном это протококковые водоросли *Scenedesmus quadricauda*, *S. acuminatum*, *Coelastrum microporum*, *C. sphaericum*, *Pediastrum duplex*, *P. boryanum*, синезеленые *Microcystis aeruginosa*, *Oscillatoria nitida*, эвгленовые рода *Trachelomonas*, разнотрутовиковые *Tribonema vulgare*, диатомовые рода *Tabellaria*. Пять из них присутствовало в течение всего эксперимента. Встречаемость отдельных видов достигала 87–100 % (*Scenedesmus quadricauda*). Биомасса каждого отдельного вида была невелика, но при низкой общей биомассе фитопланктона она составляла не менее 25 %.

Весь исследованный фитопланктон был протококково-синезеленым. Находили формы, способные к гетеротрофному питанию: *Trachelomonas volvocina*, *Euglena* sp., *Coelastrum microporum* и *C. sphaericum*, *Chlamydomonas* sp. Фитопланктонные сообщества характеризовались быстрой сменой массовых видов. Од-

Динамика общей численности фитопланктона,
млн кл./л

Вариант опыта	Номер лотка	25 VII	9 VIII	28 VIII	6 IX	14 IX	Среднее
Контроль рН 5.5	Пруд	5.55	0.53	—	0.74	0.66	1.87
	1	0.85	0.94	1.13	0.96	0.60	0.90
	2	1.31	0.96	2.13	3.38	0.37	1.63
рН 5.5+ + ТМ ₁	3	1.56	1.49	3.75	2.35	1.17	2.06
	4	0.93	0.72	2.58	2.56	0.53	1.46
	5	0.71	1.48	1.22	1.45	1.40	1.25
Фосфор	6	0.81	0.68	2.04	2.64	0.94	1.42
	7	0.42	0.45	2.71	0.75	—	1.08
	8	0.23	0.28	0.76	0.48	—	0.44
Азот	9	0.25	0.28	0.63	0.74	—	0.47
	10	0.56	0.70	1.31	0.84	—	0.85
	11	0.50	0.51	1.44	0.97	—	1.11
Контроль	12	0.43	0.14	0.28	0.36	—	0.30
	13	0.21	—	0.77	0.53	0.47	0.49
	14	0.52	0.54	0.48	0.26	0.22	0.40
ТМ ₂	18	0.26	0.58	0.72	0.22	0.27	0.41
	19	0.38	0.79	3.14	0.76	1.31	3.08
	20	0.33	2.96	18.80	0.67	0.70	4.69
ТМ ₁	21	0.68	6.68	1.37	0.57	0.81	2.02
	15	0.35	3.08	3.12	0.75	0.68	1.60
	16	0.48	4.00	1.74	0.60	1.06	1.58
	17	0.49	4.00	2.08	0.86	0.84	1.65

нако какой-либо зависимости изменения видового состава, а также количества видов синезеленых водорослей от вариантов опыта не наблюдали. Общее количество видов водорослей увеличилось в середине эксперимента, к концу его произошел спад не только видового разнообразия, но также численности и биомассы. Это связано с изменением условий освещенности и снижением температуры воды в сентябре.

Во всех вариантах опыта четко прослеживался один пик численности и биомассы (табл. 1, 2). Максимальные их показатели для фитопланктона были отмечены в варианте с ТМ₂: самая высокая биомасса наблюдалась в период развития водорослей рода *Trachelomonas*, а максимальная численность — в период массового развития многоклеточных синезеленых водорослей рода *Oscillatoria*. Видовой состав планктонных водорослей во всех мезокосмах был одинаков.

Анализ структуры и динамики численности и биомассы фитопланктона показал, что в течение экспе-

Динамика общей биомассы фитопланктона, мг/л

Вариант опыта	Номер лотка	25 VII	9 VIII	28 VIII	6 IX	14 IX	Среднее
Контроль	Пруд	1.56	0.10	—	0.08	0.08	0.45
pH 5.5	1	0.37	0.15	0.14	0.16	0.08	0.18
	2	0.21	0.07	0.24	0.80	0.12	0.31
	3	0.30	0.12	0.67	0.44	0.24	0.35
pH 5.5 +	4	0.14	0.05	0.54	0.34	0.07	0.27
+ TM ₁	5	0.13	0.23	0.24	0.35	0.34	0.26
	6	0.14	0.09	0.41	0.80	0.17	0.30
Фосфор	7	0.08	0.03	0.09	0.14	—	0.08
	8	0.35	0.06	0.06	0.14	—	0.15
	9	0.07	0.02	0.04	0.12	—	0.06
Азот	10	0.08	0.12	0.06	0.07	—	0.08
	11	0.07	0.08	0.09	0.08	—	0.08
	12	0.05	0.06	0.08	0.04	—	0.06
Контроль	13	—	0.10	0.06	0.06	0.06	0.06
	14	0.08	0.05	0.12	0.05	0.07	0.07
	18	0.03	0.07	0.10	0.02	0.08	0.06
TM ₂	19	0.07	1.65	0.49	0.38	0.09	0.54
	20	0.04	0.43	2.72	0.11	0.05	0.67
	21	0.13	1.17	0.16	0.03	0.06	0.03
TM ₁	15	0.09	0.44	0.28	0.08	0.07	0.19
	16	0.06	0.59	0.17	0.03	0.08	0.19
	17	0.04	0.51	0.23	0.21	0.06	0.21

римента в сообществах происходила перестройка, вызванная адаптацией к новым условиям обитания.

Самое сильное влияние на фитопланктон оказали тяжелые металлы в концентрации от 10 до 400 мкг/л. Практически не влияли добавки азота и фосфора. В вариантах с добавлением тяжелых металлов резко возросли численность и биомасса фитопланктона, а также содержание хлорофилла „а“ (хл. „а“) (табл. 3). При этом из фитоценозов планктона не происходило выпадения видов. Достоверные различия в уровне развития фитопланктона (по биомассе, численности, содержанию хл. „а“) между контролем и опытом наблюдали также в вариантах с низким pH, добавкой тяжелых металлов в низких концентрациях и с совокупным действием тяжелых металлов и низкого pH. Достоверная разница между средними за время эксперимента значениями численности, биомассы и содержания хл. „а“ в пруду и в контрольном варианте свидетельствует о некорректности перенесения результатов камеральных опытов на экосистему естест-

Динамика содержания хлорофилла „а“, мкг/л

Вариант опыта	Номер лотка	25 VII	9 VIII	23 VIII	6 IX	14 IX	Среднее
Контроль	Пруд	3.51	2.32	3.34	1.88	1.61	2.53
pH 5.5	1	3.46	2.20	3.77	3.14	4.36	3.99
	2	2.77	1.53	2.83	9.07	3.48	3.86
	3	0.38	2.69	2.62	8.00	7.88	4.31
pH 5.5 +	4	1.32	4.08	11.80	10.30	5.08	6.52
+ TM ₁	5	0.28	3.34	5.95	14.20	11.88	7.13
	6	1.53	—	8.13	12.40	6.06	7.03
Фосфор	7	0.26	1.37	0.76	1.07	2.41	1.17
	8	0.25	1.91	0.53	1.14	1.00	0.97
	9	4.28	1.46	3.63	1.35	2.63	2.67
Азот	10	2.99	2.03	2.00	2.41	3.41	2.57
	11	3.66	2.14	2.04	1.31	1.85	2.20
	12	1.00	1.65	4.35	4.75	2.66	2.88
Контроль	13	1.42	0.68	1.77	0.69	0.94	1.10
	14	1.72	1.20	1.19	0.77	1.24	1.22
	18	3.10	1.38	0.58	1.18	0.71	1.39
TM ₂	19	2.39	16.73	22.65	2.28	4.67	9.74
	20	1.39	18.18	17.62	3.32	—	10.13
	21	1.25	15.91	44.04	2.00	1.75	12.99
TM ₁	15	3.00	14.25	24.44	4.91	10.60	11.44
	16	1.38	13.64	15.74	2.00	3.54	7.26
	17	1.98	13.28	11.54	2.71	5.39	6.98

венных водоемов, но в целом они подтверждают (в случае с азотом и фосфором) ранее полученные данные о низкой эффективности удобрения прудов азотом и фосфором в концентрациях, использованных в эксперименте. Результаты исследований позволяют пересмотреть ряд традиционных положений по удобрению водоемов. Изучение механизма действия добавленных веществ требует, по всей видимости, постановки отдельных биохимических экспериментов.

В отдельно взятых вариантах опыта нет достоверной корреляции между биомассой фитопланктона и содержанием хл. „а“ (табл. 4). Исключение составляет вариант с совокупным влиянием низкого pH и тяжелых металлов. Отмечена также достоверная корреляция между этими показателями для всей выборки в целом. По-видимому, внесение различных загрязнителей влияет на фитопланктон таким образом, что соотношение авто- и гетеротрофов в его составе изменяется в сторону последних.

Соотношение между биомассой фитопланктона (у, мг/л) и содержанием хлорофилла „а“ (х, мкг/л)

Вариант	Уравнение зависимости
Контрольный пруд	—
Контроль	—
ТМ ₁	—
ТМ ₂	—
pH 5.5	—
pH 5.5 + ТМ ₁	$y = 5.237 + 3.339x$ (=0.67)
Фосфор	—
Азот	—
Общая выборка	$y = 1.353 + 2.402x$ (=0.36) $y = 8.454 + 1.623x$ (=0.39) $y = 2.014 + 6.531x - 1.404x^2$ (=0.47)

На протяжении всего опыта в фитопланктоне находили формы, способные к гетеротрофному питанию: *Trachelomonas volvocina*, виды родов *Euglena* и *Coe-lastrum*. Частая встречаемость водорослей рода *Coe-lastrum*, по-видимому, также связана со способностью его представителей к более интенсивному росту в гетеротрофных, чем в строго автотрофных условиях.

Таким образом, воздействие антропогенных загрязнений на фитопланктон не влияет на его видовой состав, но приводит к увеличению общей численности и биомассы фитопланктонных водорослей (в основном за счет наиболее часто встречающихся видов), содержанию хл. „а“ в них и, по-видимому, к переходу части из них на гетеротрофное питание, в связи с чем изменяется характер корреляции между биомассой фитопланктона и содержанием хл. „а“. По силе влияния на планктонные фитоценозы изученные факторы распределяются следующим образом: ТМ₂ > ТМ₁ > ТМ₁ + pH 5.5 > фосфор > азот. Видимо, совокупное действие pH и тяжелых металлов было более слабым, чем влияние каждого из них по отдельности. Биогенные элементы в использованных концентрациях не оказывали существенного воздействия на фитопланктон.

Институт биологии внутренних вод
им. И.Д.Папанина АН СССР

В.Б.Вербицкий, А.К.Клерман, Е.А.Коренева

ВОЗДЕЙСТВИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И ЗАКИСЛЕНИЯ ВОДЫ
НА СООБЩЕСТВА ЗООПЛАНКТОНА В ПРОТОЧНЫХ
МЕЗОКОСМАХ

Цель данной работы заключалась в изучении хронического воздействия ацидификации и тяжелых металлов на зоопланктонное сообщество и организмы, его составляющие. Подробные методические разъяснения и схема постановки опыта даны в статье В.Б.Вербицкого с соавторами (см. наст. сб., с. 3).

Зоопланктон, отловленный в пруду, в равных количествах был внесен во все лотки. Для предотвращения его выноса с током воды в них установили сливные фонари с мельничным ситом № 76. В каждом лотке пробоотборником оригинальной конструкции объемом 0.5 л отбирали интегральную пробу из 6 точек, т.е. ее объем составлял 3 л. Зоопланктон фиксировали 4%-ным формалином с добавлением сахарозы [3], затем обрабатывали по общепринятым методикам [2].

Эксперимент состоял из 3 этапов: 1) адаптация зоопланктонного сообщества к существованию в проточных мезокосмах без каких-либо дополнительных воздействий (21 сут), 2) сукцессия зоопланктона при воздействии факторов (24 сут), 3) сукцессия зоопланктона при действии последних в условиях осеннего снижения температуры (20 сут). В вариантах I-III эксперимент продолжался 65 сут, в VI и VII был закончен на 45-е сутки (к началу третьего этапа) в связи с почти полной гибелью зоопланктона. Для сравнительной оценки динамики численности последнего использовали непараметрический критерий Уайта, применяемый для оценки выборочных данных небольшого объема [1].

На первом этапе эксперимента зоопланктон во всех лотках развивался сходным образом. Общее число видов уменьшилось с 24-29 до 13-16, т.е. почти вдвое (рис. 1). При этом снижение видового разнообразия шло в основном за счет выпадения коловраток. Из группы *Cladocera* во всех вариантах исчезла *Daphnia cristata* и в 4 — *Alona rectangula*. Из группы *Copepoda* полностью выпал *Macrocyclus albidus* и в отдельных вариантах — *Mesocyclops leucartii* и *Acanthocyclops viridis* (см. таблицу). В целом во всех мезокосмах значительно возросла доля

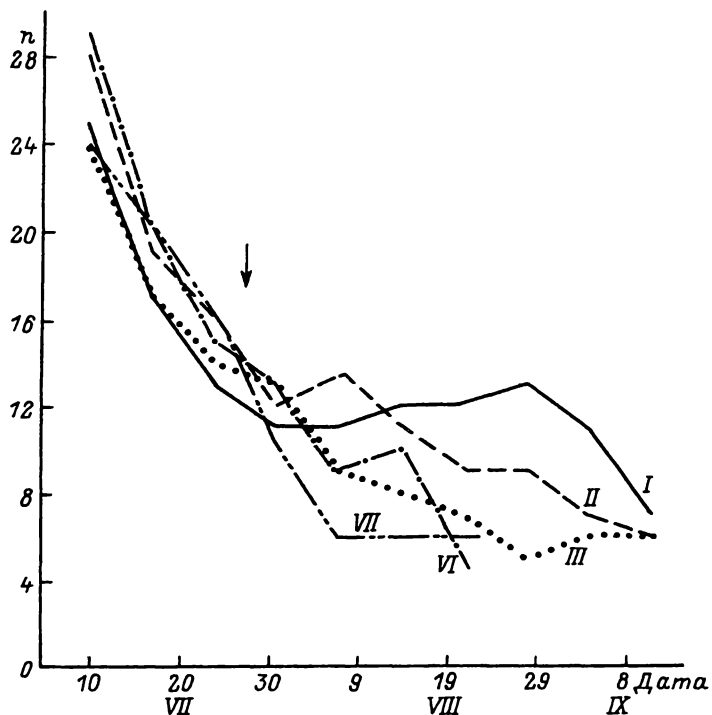
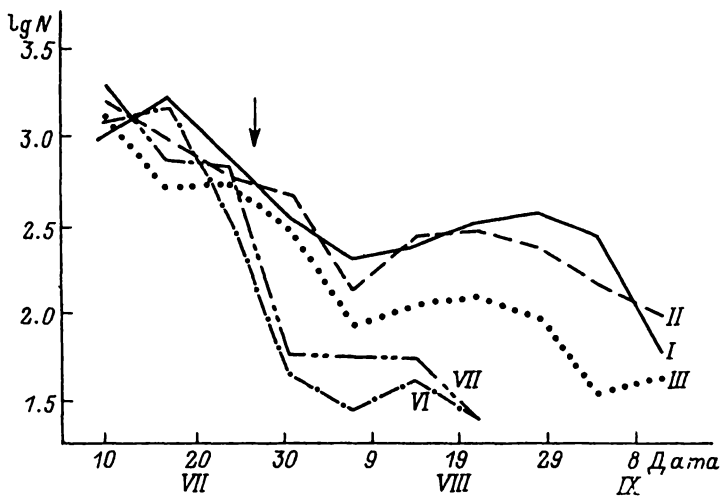


Рис. 1. Динамика количества видов зоопланктона (n) в мезокосмах.

I-VII — варианты опыта. Стрелка — начало воздействия.



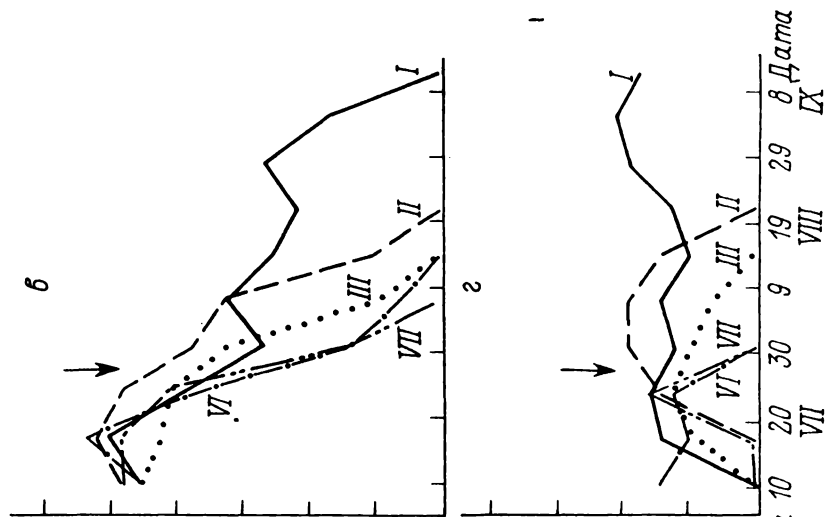
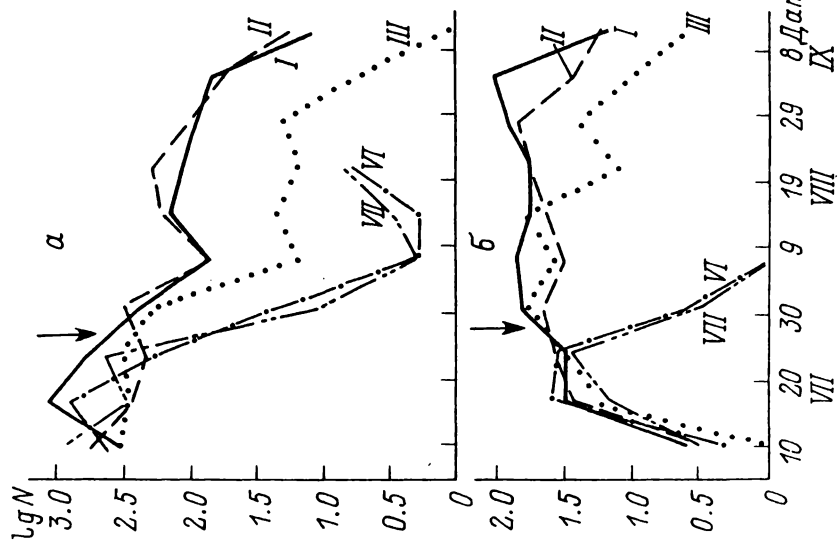
Cladocera, количество которых к концу первого этапа составляло 93–98 % от общей численности зоопланктона. Динамика численности как отдельных групп, так и зоопланктона в целом носила сходный характер во всех вариантах (рис. 2). Парная проверка по критерию Уайта показала статистическую недостоверность различий между ними. Доминирующим видом в этот период везде была *Bosmina longirostris* (25–75 % от общей численности зоопланктона), субдоминантами — *Daphnia longispina* и *Ceriodaphnia quadrangula*. У босмин и цериодафний во всех вариантах наблюдались сходные колебания численности. Популяции *Daphnia longispina* и *Polyphemus pediculus* (в 4 вариантах) интенсивно наращивали численность (рис. 3).

На втором этапе ход сукцессии начался быстро меняться. Общее число видов в контрольном варианте сохранялось на одном уровне (11–13 видов), в остальных вариантах видовое разнообразие снижалось с разной скоростью (рис. 1). К концу этого этапа в закисленной воде оставалось 79 % видов *Cladocera*, в вариантах с TM_1 — 46, а с TM_1 и TM_2 — по 34 % от числа видов в контроле. Количество видов колесовиков в вариантах с закисленной водой снизилось до 56 %, с TM_1 увеличилось до 169, с TM_2 — до 125 % от контроля. Достоверных изменений в группе *Copepoda* не было установлено вследствие преобладания в опыте науплиальных стадий неопределенной видовой принадлежности (см. таблицу).

По суммарной численности в контроле и в закисленной воде продолжали преобладать ветвистоусые (96–99 % от общего количества организмов зоопланктона), в варианте с TM_1 их доля снизилась с 94 до 27, а доля веслоногих раков увеличилась с 5 до 72 %. В воде с тяжелыми металлами доминировали веслоногие (52–91 %). Ветвистоусые в контроле на втором этапе были представлены 8 видами. Доминировали *Daphnia longispina* и *Bosmina longirostris*, субдоминант — *Ceriodaphnia quadrangula*. В закисленной воде преобладали те же виды, субдоминанты сменились на *Simoscephalus vetulus* и *Polyphemus pediculus*. В закисленной воде с TM_1 доминировала

Рис. 2. Динамика общей численности зоопланктона в мезокосмах.

Обозначения те же, что и на рис. 1.



Daphnia longispina, субдоминантами стали *Bosmina longirostris*, *Diaphanosoma brachyurum* и *Chydorus sphaericus*. В вариантах с TM_1 и TM_2 остались лишь единичные особи дафний, босмин, симоцефалов и хидорусов. У веслоногих везде преобладала молодь, половозрелые раки остались только в контроле и в варианте с TM_1 в единичных экземплярах. Из коло-враток сохранились *Keratella quadrata*, *K. cochlearis* и *Euchlanis dilatata*. При этом в контроле их число не превышало 10 экз./л, а в остальных лотках — менее 1 экз./л.

Характер динамики общей численности зоопланктона в контроле и при закислении оставался таким же, как и до начала воздействия, а в лотках с тяжелыми металлами существенно изменился. Оценка по критерию Уайта показала отсутствие значимых различий между контролем и закисленной водой, а также между вариантами с TM_1 и TM_2 . В то же время эти 2 пары вариантов достоверно различались как между собой, так и с вариантом III (рис. 2).

Bosmina longirostris на протяжении второго этапа во всех мезокосмах, кроме вариантов с TM_1 и TM_2 , сохраняла высокую численность (рис. 3, а). У *Daphnia longispina* в закисленной воде с добавлением тяжелых металлов в конце этого этапа началось снижение численности, а в вариантах с TM_1 и TM_2 в течение 9 сут с начала воздействия произошла полная элиминация (рис. 3, б). *Ceriodaphnia quadrangula* и *Polyphemus pediculus* оказались менее устойчивы к примененным факторам. Влияние на эти виды возрастало в ряду закисление—закисление с TM_1 и TM_2 (рис. 3, в, г).

На третьем этапе эксперимента на фоне прошедшей существенной смены видов продолжалось снижение общей численности зоопланктона. Характер количественных соотношений его групп в контроле остался прежним. В вариантах с закислением снизилась доля

Рис. 3. Динамика численности ветвистоусых ракообразных в мезокосмах.

а — *Bosmina longirostris*, б — *Daphnia longispina*, в — *Ceriodaphnia quadrangula*, г — *Polyphemus pediculus*. Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

Встречаемость видов зоопланктона в мезокосямах

[illegible]

ветвистоусых (до 40 и 17 %) и увеличилась доля веслоногих (до 59 и 81 %). К концу эксперимента босмины сохранились только в контроле и в закисленной воде, численность дафний во всех лотках продолжала снижаться, цериодафнии выпали полностью везде, включая контроль, полифемусы остались лишь в контроле, где их количество практически не изменилось (рис. 3).

Таким образом, воздействие солей тяжелых металлов привело в течение 7-10 сут к снижению общей численности зоопланктона в 4-6 раз, к полному исчезновению ветвистоусых рачков родов *Diaphanosoma* и *Daphnia*, к массовой гибели доминирующих видов и в конечном счете к полному уничтожению зоопланктонных сообществ через месяц после внесения металлов. Самое слабое влияние на зоопланктонное сообщество оказало закисление, лишь незначительно нарушив структуру и снизив численность зоопланктеров. Закисление речной воды приблизительно до 5.7 частично нейтрализовало воздействие тяжелых металлов на организмы зоопланктона. Из числа исследованных видов этот эффект наиболее сильно проявился на *Bosmina longirostris*, *Daphnia longispina* и *Polypheumus pediculus*.

Литература

1. Лакин Г.Ф. Биометрия. М., 1980.
2. Методика изучения биогеоценозов внутренних водоемов. М., 1975.
3. Haney J.F., Hall D.J. Sugar-coated *Daphnia*: A preservation technique for *Cladocera* // Limnol. and Oceanogr. 1973. Vol. 18, N 2.

Институт биологии внутренних вод
им. И.Д.Папанина АН СССР

Н.Ю.Метелева

СОДЕРЖАНИЕ ХЛОРОФИЛЛА „А“ В ПЕРИФИТОНЕ В ПРОТОЧНЫХ МЕЗОКОСМАХ И В ЭКСПЕРИМЕНТЕ С РЫБАМИ

Цель данной работы — изучить влияние смеси тяжелых металлов (Zn, Cd, Cu, Hg) разной концентрации, закисления воды, минерального азота и фосфора в речной воде, а также смеси тяжелых металлов, магния и кальция в воде низкой минерализации на содержание хлорофилла „а“ (хл. „а“) в перифитоне.

Литературные данные о действии тяжелых металлов на развитие перифитона весьма малочисленны. В обоих экспериментах изучение динамики хл. „а“ проводили на искусственных субстратах. В лотки помещали специальные установки с вертикально закрепленными предметными стеклами стандартного размера 76x26 мм.

В первом опыте субстраты для обрастания были помещены в лотки объемом 1.5 м³ с проточной речной водой (эксперимент с мезоэкосмами). Исследовали воздействие на перифитон закисления воды (рН 5.4–6.0 (5.5)) и смеси тяжелых металлов в 2 концентрациях — ТМ₁ и ТМ₂, мкг/л: Zn (200) + Cd (100) + Cu (10) + Hg (5) и Zn (400) + Cd (200) + Cu (20) + Hg (10), а также закисления на фоне тяжелых металлов (рН 5.5 + ТМ₁), минеральных форм фосфора (1 мг Р/л) и азота (2 мг N/л). Схема и методика эксперимента подробно изложена в статье В.Б.Вербицкого с соавторами (см. наст. сб., с. 3).

Во втором опыте (эксперимент с рыбами) исследовали влияние смеси тяжелых металлов также в 2 концентрациях — ТМ₁ и ТМ₂, мкг/л: Zn (20) + Cd (5) + Cu (1) + Hg (0.5) и Zn (80) + Cd (20) + Cu (4) + Hg (2), а также 24 мг Mg/л (Mg), 39 мг Ca/л (Ca), которые добавляли в воду низкой минерализации. В эксперименте было 2 контроля: контроль с речной водой (К_р) и с низкоминерализованной (К_с). Более детально условия постановки опыта приводятся в статье Г.А.Виноградова с соавторами (см. наст. сб., с. 9). На протяжении экспериментов в лотках определяли содержание биогенных соединений.

После постановки опыта из каждого лотка с одного предметного стекла с интервалом в 7 сут отбирали пробы на пигментный, качественный и количест-

венный анализы. Обрастания смывали зубной щеткой, иногда счищали скальпелем в предварительно отфильтрованную речную воду. Взвесь концентрировали на фильтры марки Синпор-2. Собранный материал хранили над селикагелем при температуре около 0 не более 2 мес.

Анализ пигментов выполняли на спектофотометре СФ-46 по стандартной методике [4] с последующим расчетом концентраций хлорофиллов по формуле Джеффри и Хамфри [1], феопигментов — по Лоренцу [2], растительных каротиноидов — по Парсонсу и Стрикланду [3].

Э к с п е р и м е н т с м е з о к о с м а м и. 5-6 июля в лотки объемом 1.5 м³, заполненные проточной речной водой, были поставлены предметные стекла. Условия среды в лотках были максимально приближены к естественным. Длительность эксперимента составила 70 сут. В течение первых 3 нед перифитон формировался в речной воде. С 26 июля в лотки стала поступать смесь тяжелых металлов (ТМ₁ и ТМ₂); ее угнетающее влияние на рост и развитие перифитона прослеживалось на протяжении всего эксперимента (рис. 1). 28 августа в лотки были поставлены чистые предметные стекла. В данном случае на рост перифитона влияла смесь ТМ₁ и ТМ₂. Обрастание шло очень медленно, особенно в лотках с ТМ₂.

Содержание хл. „а“ в опытах с тяжелыми металлами было в 4, а в лотках с пониженной величиной рН (варианты рН 5.5, рН 5.5 + ТМ₁) — в 1.5 и 3 раза ниже контрольных значений (рис. 1). 29 июля в лотки добавили неорганический азот и фосфор. В первом случае концентрация хл. „а“ увеличилась по сравнению с контролем более чем в 3 раза, достигнув максимальных значений (96-99 мг хл. „а“/м²). Вероятно, это связано с весьма значительным содержанием минеральных форм азота (NH_4^+ — 0.43 мг N/л, NO_2 — 0.0094 и NO_3 — 0.0184 мг N/л.)¹. В лотках с фосфором также повышался уровень хл. „а“, но он был ниже, чем в контроле (рис. 1).

Э к с п е р и м е н т с р ы б а м и. Были поставлены 2 серии опытов: с лещом и осетром. 30 июня в лотки с лещом и 4 июля — с осетром были опу-

¹ Данные по биогенам любезно предоставлены сотрудниками лаборатории экспериментальной экологии Н.П. Клайн и Т.А. Васильевой.

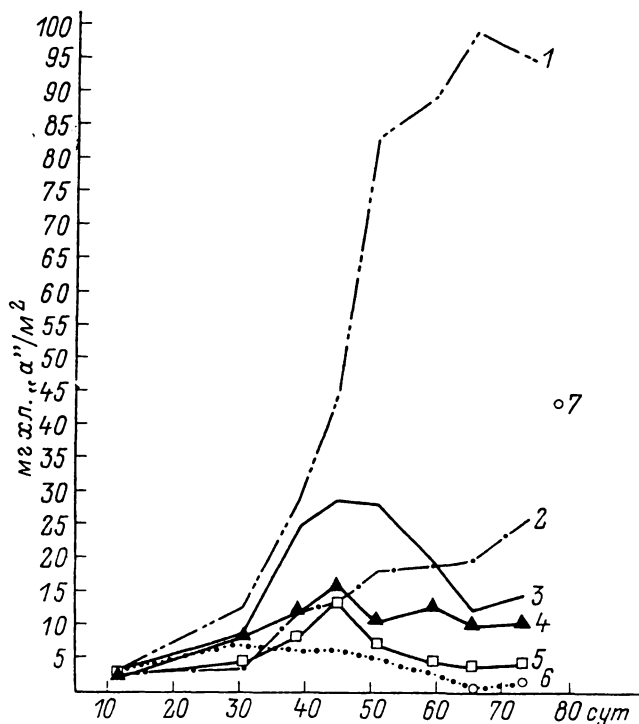


Рис. 1. Изменение содержания хл. „а“ в перифитоне в проточных мезокосмах.

1 — минеральный азот, 2 — неорганический фосфор, 3 — контроль, 4 — pH 5.5, 5 — pH 5.5 + TM_1 , 6 — TM_1 и TM_2 , 7 — измерения после 28 августа.

щены предметные стекла, которые оставались в них до конца эксперимента, т.е. 96 сут.

Проведенный анализ концентраций биогенных соединений показал, что содержание PO_4^- (мг P/л) в опытах было практически одинаковым, уровень же минеральных форм азота (мг N/л) в лотках с осетром оказался выше, чем с лещом:

	Опыты с лещом	Опыты с осетром
NH_4^+	0.190 ± 0.045	0.870 ± 0.216
NO_2^-	0.001 ± 0.001	0.006 ± 0.002
NO_3^-	0.016 ± 0.003	0.026 ± 0.003
PO_4^-	0.079 ± 0.008	0.063 ± 0.007

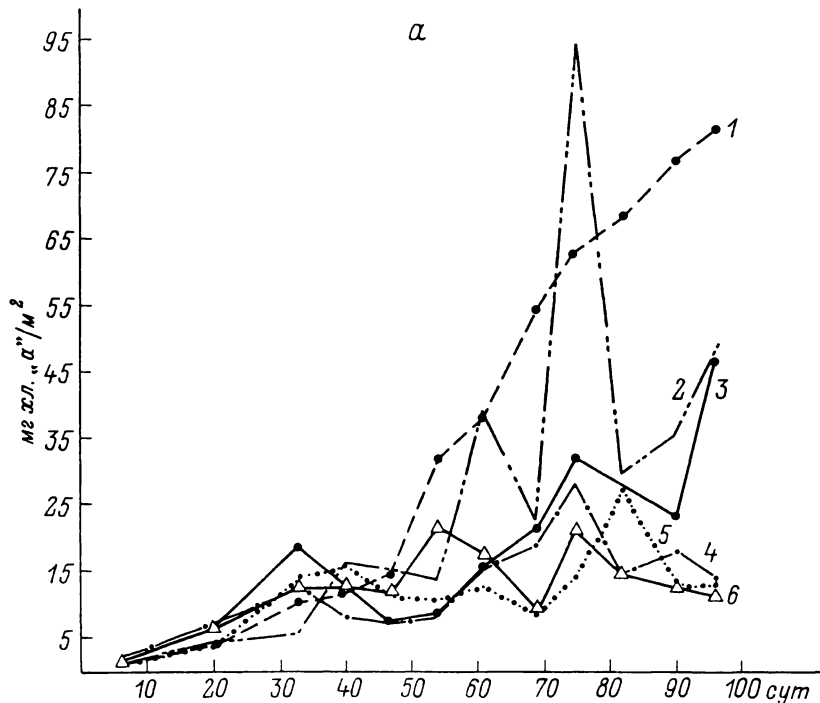
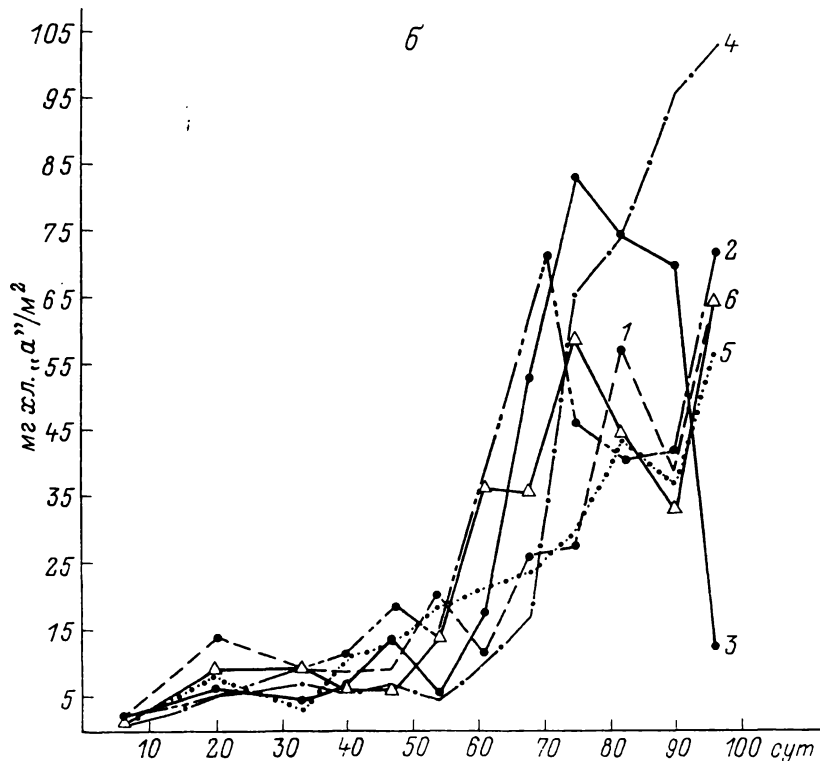


Рис. 2. Динамика хл. „а“ в перифитоне в воде с низкой минерализацией.

a — серия опытов с лещом, *б* — то же, с осетром; 1 — TM_2 , 2 — контроль с речной водой,

В течение первых 6–10 сут перифитон формировался в речной воде, затем более 2 нед в воде с низкой минерализацией. 27 июля в лотки стали поступать Mg , Ca и тяжелые металлы.

В обеих сериях опытов в первые 60 сут каких-либо закономерных изменений выявить не удалось. По истечении 60 сут во всех лотках наблюдалось угнетение роста перифитона (рис. 2). И только в лотке с TM_2 (серия опытов с лещом) уровень хл. „а“ был в 2 раза выше, чем в контрольном (K_c). По всей вероятности, это вызвано данными концентрациями TM_2 , которые незначительно превышали фоновые значения и в воде низкой минерализации стимулировали рост перифитона.



3 — контроль с водой низкой минерализации,
4 — Mg^{2+} , 5 — Mn^{2+} , 6 — Ca^{2+} .

В лотках с осетром концентрации хл. „а“ были в 1.5–2 раза выше, чем с лещом. Видимо, это вызвано последовательным соединением лотков в эксперименте лещ → осетр, что способствовало понижению концентраций тяжелых металлов, поступающих в лотки с осетрами, и увеличению содержания биогенов за счет дополнительного поступления отмерших организмов и продуктов жизнедеятельности рыб.

Поступление же Mg и Ca (мг/л) в лотки в обоих вариантах было практически одинаковым:

	Опыты с лещом	Опыты с осетром
Mg	(3–38) 18	(4–40) 19
Ca	(5–76) 30	(1–72) 35

Однако в лотках с лещом при добавлении Mg и Ca увеличения концентраций хл. „а“ не отмечалось, тогда как с осетром — происходил его рост (рис. 2). Вероятно, этому способствовал более высокий уровень биогенных веществ.

Таким образом, в эксперименте с проточными мезокосмами добавление смеси тяжелых металлов приводит к угнетению роста перифитона, определяемого по содержанию хл. „а“. Противоположный эффект вызывает повышенное содержание минеральных форм азота. В воде с низкой минерализацией (эксперимент с рыбами) тяжелые металлы в концентрациях, незначительно превышающих фоновые, стимулируют развитие перифитона.

Литература

1. Jeffrey S.W., Humphrey G.F. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c₁ and c₂ in higher plants algae and natural phytoplankton // Biochem. und Physiol. Pflanz. 1975. Bd 167, N 2.
2. Lorenzen C.J. Determination of chlorophyll and pheopigments: spectrophotometric equations // Limnol. and Oceanogr. 1967. Vol. 12, N 2.
3. Parsons T.R., Strickland J.D.H. Discussion of spectrophotometric determination of marine plant pigments with revised equations for ascertaining chlorophylls and carotenoids // J. Mar. Res. 1963. Vol. 21, N 3.
4. Scor-Unesco Working Group 17. Determination of photosynthetic pigments in sea water // Monographs on oceanographic methodology. Paris, 1966.

Институт биологии внутренних вод
им. И.Д.Папанина АН СССР

Б.Ф. Жуков, В.А. Золотарев

ЖГУТИКОНОСЦЫ ПЕРИФИТОНА
В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ

Жгутиконосцы модельных сообществ микроперифитона служат удобным индикатором трофности, токсичности и закисления водоемов [1, 2]. В настоящих экспериментах в качестве субстрата были использованы некоррозионные предметные стекла для микроскопов. Их помещали в проточные лотки, в которых содержали молодь леща и осетра. Изучали влияние смеси тяжелых металлов в 2 концентрациях — TM_1 и TM_2 , мкг/л: Zn (20) + Cd (5) + Cu (1) + Hg (0.5) и Zn (80) + Cd (20) + Cu (4) + Hg (2), а также 25 мг/л Mg (Mg), 40 мг/л Ca (Ca), — на формирование микроперифитонных сообществ в слабоминерализованной воде (контроль K_c). Вторым контролем служила речная вода средней минерализации (контроль K_p) (см. наст. сб., с. 9). Субстраты устанавливали 31 июля, 1 и 2 августа сроком на 3 и 7 сут, 10 сентября — на 8 и 12 сут. В целом на стеклах обростания было обнаружено более 30 видов гетеротрофных флагеллят, относящихся к 7 отрядам:

КЛАСС *Zoomastigophorea* CalkinsОтряд *Choanoflagellida* Kent*Codonosiga botrytis* (Ehrenb.) Kent, *Salpingoeca amphoridium* Kent, *Lagenoeca variabilis* SkujaОтряд *Bicosoecida* Grasse et Deflandre*Bicosoeca lacustris* ClarkОтряд *Kinetoplastida* Honigberg*Bodo saltans* Ehrenb., *B. minimus* Klebs, *B. repens* Klebs, *B. globosus* Stein, *B. variabilis* Lemm., *B. curvifilus* Griessman, *Bodo* sp., *Rhynchomonas nasuta* Klebs, *Pleuromonas jaculans* PertyОтряд *Cercomonadida* Mylnikov*Cercomonas longicauda* Senn., *Cercomonas* sp., *Bodomorpha reniformis* ZhukovОтряд *Chrysomonadida* Stein*Anthophysa vegetans* (O.F.M.) Stein, *Monas uniguttata* Skuja, *M. vulgaris* Skuja, *Monas* sp., *Histiona aroides* Pascher, *Physomonas vestita* Skuja, *Dendromonas virgaria* (Weisse) SteinОтряд *Euglenida* Bütschli*Peranema trichophorum* Stein, *Petalomonas pusilla* Skuja, *Anisonema ovale* Dujardin

Отряд *Cryptomonadida* Senn
Cyatomonas truncata Fromental.

Анализ полученных данных позволяет заключить, что в воде с низкой минерализацией (K_c) в лотках с лещом наблюдается высокое видовое разнообразие, уступающее только опыту с добавлением Mg: 7 прикрепленных и 7 неприкрепленных видов, т.е. доминирование экологических группировок не выражено. Однако в численном отношении преобладают прикрепленные формы *Monas* и воротничковые жгутиконосцы. В контроле (K_c) с осетром встречаются только 1 прикрепленный (*Monas* вр.) и 3 неприкрепленных вида жгутиконосцев.

В речной воде (K_p) с лещом существенных отличий в видовом разнообразии от контроля (K_c) не наблюдается. Отмечено 5 прикрепленных и 6 неприкрепленных видов. Однако численность прикрепленных форм гораздо выше в начальной стадии формирования ценоза: на 3-и сутки зарегистрировано 1.4 тыс. экз./см²; на 7-е — эти виды почти полностью исчезли, что свидетельствует о более высокой скорости сукцессии. В контроле с осетром отмечено 2 вида прикрепленных форм (хризомонады) и 5 неприкрепленных. В данном случае (также на 7-е сутки) почти все жгутиконосцы вытесняются нитчатыми водорослями.

Эксперименты с добавлением тяжелых металлов показали, что в этом опыте в первую очередь изменяется видовой состав микроперифитонного ценоза флагеллят. При низкой концентрации тяжелых металлов (TM_1) в лотках с лещами полностью исчезают воротничковые жгутиконосцы. Основу составляют 3 вида прикрепленных хризомонад и 7 неприкрепленных видов зоофлагеллят. В численном отношении доминируют ползающие формы *Bodomorpha reniformis* (1.3 тыс. экз./см²) и *Bodo repens* (1 тыс. экз./см²). В аналогичном опыте с осетром встречаются 2 вида прикрепленных и 3 неприкрепленные формы (единичные экземпляры), доминирует другой вид. Общая численность жгутиконосцев и видовое разнообразие в данном случае значительно ниже, чем в опыте с лещом. При более высокой концентрации тяжелых металлов (TM_2) в последнем опыте развиваются те же виды, что и в варианте с TM_1 : 3 прикрепленных и 6 неприкрепленных, хотя их численность в данном случае

существенно ниже. Доминируют (с общей численностью 0.4 тыс. экз./см²) *Bodomorpha reniformis* и *Cyathomonas truncata*, отсутствующие в контроле. В варианте с ТМ₂ и осетром присутствуют лишь единичные экземпляры 2 прикрепленных видов и 3 неприкрепленных. На 7-е сутки последние полностью исчезают.

Интересные данные получены при действии магния. На 3-и сутки экспозиции отмечено 9 видов прикрепленных жгутиконосцев, численность которых составила 12 тыс. экз./см², что на порядок выше, чем в контроле (К_с). Зарегистрировано также 9 неприкрепленных форм, доминируют те же виды, что и в варианте с лещом (ТМ₁). Анализируя действие магния,

можно отметить, что фауна гетеротрофных флагеллат в лотках с осетром при добавлении магния также существенно богаче, чем в контроле. Отмечено 4 прикрепленных вида и 6 неприкрепленных форм жгутиконосцев. Среди прикрепленных явно доминирует *Monas*, его численность превышает таковую контроля в 20 раз (4.8 тыс. экз./см²). Среди неприкрепленных форм доминирует тот же вид, что и в варианте с ТМ₁.

При добавлении кальция в лотках с лещом отмечено 6 прикрепленных видов, но их численность в 4 раза ниже, чем в опыте с повышенной концентрацией магния: неприкрепленных жгутиконосцев 4 вида. Замечены некоторые отличия в видовом составе по сравнению с контролем и вариантом с магнием. В аналогичном варианте в лотках с осетром зарегистрировано 5 прикрепленных видов, численность которых на порядок выше, чем в контроле, и доминируют воротничковые жгутиконосцы (*Salpingoeca*), неприкрепленных видов 4. Характер доминирования четко отличается от контроля и варианта с добавлением магния.

В целом можно отметить высокую чувствительность сообществ перифитонных жгутиконосцев к изменению минерального состава, жесткости воды, содержания тяжелых металлов и биогенных элементов. Чувствительность сообществ к внешним воздействиям снижается при увеличении концентрации биогенных элементов и растворенного органического вещества.

Литература

1. Золотарев В.А. Простейшие перифитона водоемов различной сапробности // Фауна и биология пресноводных организмов. Л., 1987.

2. Золотарев В.А. Бесцветные жгутиконосцы: перифитона внутренних водоемов: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1988.

Институт биологии внутренних вод
им. И.Д.Папанина АН СССР

УДК 579.68

И.О.Солищева, Л.В.Воронин, Г.И.Виноградова

МИКОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ВОДЫ И РЫБ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ

При исследованиях экспериментальные экосистемы включали в себя разные компоненты биоты. Основную их часть вносили специально в известных количествах, другие же постоянно присутствовали как фоновые и случайные. К последним относили бактерии и грибы. Было проведено 2 эксперимента: с проточными мезокосмами и с рыбами.

В первом эксперименте использовали лотки объемом 1.5 м^3 с проточной речной водой. Изучали воздействие закисления воды ($\text{pH } 5.4\text{--}6.0$ (5.5)) и смеси тяжелых металлов в 2 концентрациях — TM_1 и TM_2 , мкг/л : $\text{Zn } (200) + \text{Cd } (100) + \text{Cu } (10) + \text{Hg } (5)$ и $\text{Zn } (400) + \text{Cd } (200) + \text{Cu } (20) + \text{Hg } (10)$, а также закисления на фоне тяжелых металлов ($\text{pH } 5.5 + \text{TM}_1$), минеральных форм фосфора (1 мг/л) и азота (2 мг/л). Методика эксперимента изложена в статье В.Б.Вербицкого с соавторами (см. наст. сб., с. 3).

Второй эксперимент проводили в 2 вариантах: с молодью леща и осетра. Изучали влияние смеси тяжелых металлов в 2 концентрациях — TM_1 и TM_2 , мкг/л : $\text{Zn } (20) + \text{Cd } (5) + \text{Cu } (1) + \text{Hg } (0.5)$ и $\text{Zn } (80) + \text{Cd } (20) + \text{Cu } (4) + \text{Hg } (2)$, а также магния (25 мг/л) и кальция (40 мг/л) в слабоминерализованной воде. В этом эксперименте было 2 контроля: один — со слабоминерализованной водой (K_c), второй — с речной водой средней минерализации (K_p). Подробно условия эксперимента изложены в статье Г.А.Виноградова с соавторами (см. наст. сб., с. 9).

В данном сообщении приводятся результаты микологического контроля воды и рыб в экспериментальных лотках на фоне закономерно изменяющихся абиотических факторов. В работе были использованы методы глубинного посева и отпечатков, описанные нами ранее [1, 2]. Кроме общей численности были получены показатели частоты встречаемости клеток (диаспор) и массовости того или иного рода от общего количества грибов.

Эксперимент с проточными мезокосмами. Численность дрожжей и грибов с гифальной структурой строения таллома в контроле и эксперименте составляла в среднем 4 клетки (диаспоры) на 1 мл пробы. Те и другие присутствовали примерно в равных количествах, но грибы встречались чаще (98 %), чем дрожжи (72 %). Наиболее часто отмечались виды родов *Rhodotorula*, *Penicillium* и *Trichoderma*. Спорадическое развитие представителей отдельных родов (например, дрожжей рода *Rhodotorula* в условиях закисления на фоне тяжелых металлов (TM_1) или при их добавлении (TM_2) можно объяснить случайным внесением органических субстратов извне (листовой опад, пыль и т.п.). При этом численность дрожжей достигала 200 кл./мл, что соответствовало 0.013 мг/л биомассы.

Родовой состав гифальных грибов свидетельствует о том, что в экспериментальных лотках присутствовали так называемые наземные, сухоспоровые грибы (табл. 1). Их следы обнаруживаются в любых биотопах, так как споры переносятся по воздуху, с атмосферными осадками и текучими водами. Вероятнее всего, отдельные „вспышки“ численности некоторых грибов, особенно *Penicillium* (например, в варианте с добавлением азота или солями тяжелых металлов), были вызваны поступлением их спор со случайными субстратами, дождевой водой или были занесены ветром.

Таким образом, динамика общей численности гифальных грибов и численности представителей отдельных родов не отражает каких-либо закономерных изменений микобиоты под воздействием экспериментальных факторов и также (как в случае с дрожжами) носит случайный характер.

Эксперимент с рыбами. В серии опытов с рыбами отмечена повышенная в сравнении с предыдущей серией численность дрожжей и грибов: в среднем 12 клеток (диаспор) на 1 мл пробы (от 0 до 260 кл./мл). Частота встречаемости дрожжей в пробах в варианте с молодью леща составила 89 %, с осетрами

Массовость и частота встречаемости родов дрожжей и грибов в

Вариант опыта	Дрожжи					Грибы		
	<i>Can-dida</i>	<i>Cryp-tococ-cus</i>	<i>Deba-ryo-mycet</i>	<i>Rhodo-torula</i>	<i>Tricho-sporon</i>	<i>Acre-moni-um</i>	<i>Alter-naria</i>	<i>Asper-gillus</i>
Контроль	$\frac{8}{29}$	$\frac{22}{71}$	$\frac{8}{29}$	$\frac{22}{71}$	—	$\frac{3}{14}$	—	$\frac{5}{14}$
pH 5.5	$\frac{1}{43}$	$\frac{3}{29}$	$\frac{7}{57}$	$\frac{39}{86}$	$\frac{3}{29}$	$\frac{1}{29}$	$\frac{1}{29}$	—
pH 5.5+	$\frac{15}{57}$	—	$\frac{5}{71}$	$\frac{18}{71}$	$\frac{4}{71}$	—	—	—
TM ₁	$\frac{4}{71}$	$\frac{2}{29}$	$\frac{<1}{29}$	$\frac{11}{71}$	$\frac{<1}{14}$	—	—	$\frac{1}{29}$
TM ₂	$\frac{1}{43}$	$\frac{1}{29}$	—	$\frac{54}{86}$	—	$\frac{<1}{29}$	$\frac{<1}{14}$	$\frac{<1}{29}$
N	$\frac{2}{71}$	$\frac{1}{29}$	$\frac{1}{14}$	$\frac{41}{100}$	$\frac{<1}{14}$	—	$\frac{<1}{29}$	$\frac{<1}{14}$
P	$\frac{8}{71}$	$\frac{3}{43}$	$\frac{<1}{14}$	$\frac{53}{100}$	$\frac{1}{57}$	$\frac{<1}{14}$	$\frac{<1}{14}$	$\frac{<1}{14}$

П р и м е ч а н и е. Здесь и в табл. 2, 3 над чертой — мас-

Массовость и частота встречаемости родов дрожжей и грибов

Вариант опыта	Дрожжи					Грибы		
	<i>Can-dida</i>	<i>Cryp-tococ-cus</i>	<i>Deba-ryo-mycet</i>	<i>Kloe-ckera</i>	<i>Rhodo-torula</i>	<i>Tricho-sporon</i>	<i>Acre-moni-um</i>	<i>Alter-naria</i>
K _p	$\frac{9}{11}$	$\frac{4}{44}$	$\frac{1}{11}$	—	$\frac{13}{44}$	—	—	—
TM ₁	$\frac{2}{67}$	$\frac{<1}{11}$	$\frac{1}{11}$	—	$\frac{10}{100}$	$\frac{1}{22}$	—	$\frac{<1}{11}$
TM ₂	$\frac{2}{67}$	—	—	—	$\frac{9}{67}$	—	—	$\frac{<1}{11}$
Mg	$\frac{5}{78}$	$\frac{<1}{11}$	$\frac{<1}{11}$	—	$\frac{38}{78}$	—	$\frac{<1}{11}$	—
Ca	$\frac{6}{44}$	$\frac{<1}{11}$	$\frac{<1}{11}$	—	$\frac{29}{89}$	$\frac{3}{44}$	—	$\frac{<1}{11}$
K _c	$\frac{13}{33}$	$\frac{15}{44}$	—	—	$\frac{33}{78}$	—	—	—

Таблица 1

проточных мезокосмах

Грибы									
<i>Aureo-basidium</i>	<i>Botrytis</i>	<i>Clado-sporium</i>	<i>Cyto-spora</i>	<i>Mor-tie-rella</i>	<i>Mu-cor</i>	<i>Pho-ma</i>	<i>Peni-cil-lium</i>	<i>Scle-ro-tium</i>	<i>Tricho-derma</i>
—	—	—	—	$\frac{2}{14}$	—	$\frac{2}{14}$	$\frac{25}{71}$	—	$\frac{3}{29}$
$\frac{14}{71}$	$\frac{3}{29}$	$\frac{2}{57}$	—	$\frac{2}{29}$	$\frac{2}{57}$	—	$\frac{19}{71}$	—	$\frac{4}{86}$
$\frac{11}{100}$	$\frac{2}{57}$	$\frac{1}{43}$	$\frac{<1}{14}$	$\frac{<1}{14}$	$\frac{1}{57}$	—	$\frac{39}{86}$	—	$\frac{3}{71}$
$\frac{22}{86}$	$\frac{3}{14}$	$\frac{<1}{43}$	—	$\frac{14}{43}$	$\frac{<1}{29}$	$\frac{<1}{14}$	$\frac{24}{100}$	—	$\frac{17}{100}$
$\frac{3}{57}$	$\frac{3}{14}$	$\frac{<1}{29}$	$\frac{10}{29}$	$\frac{1}{14}$	$\frac{3}{43}$	$\frac{1}{29}$	$\frac{11}{100}$	—	$\frac{11}{100}$
$\frac{21}{86}$	$\frac{1}{43}$	$\frac{1}{43}$	—	$\frac{1}{29}$	$\frac{1}{29}$	—	$\frac{29}{100}$	—	$\frac{1}{43}$
$\frac{18}{71}$	$\frac{1}{14}$	$\frac{<1}{29}$	—	$\frac{<1}{14}$	$\frac{1}{29}$	$\frac{1}{14}$	$\frac{11}{100}$	$\frac{<1}{14}$	$\frac{2}{57}$

совость, %; под чертой — частота встречаемости, %.

Таблица 2

в эксперименте с молодью леща

Грибы										
<i>As-per-gil-lus</i>	<i>Botrytis</i>	<i>Aureo-basidium</i>	<i>Clado-sporium</i>	<i>Fusa-rium</i>	<i>Mor-tie-rel-la</i>	<i>Mu-cor</i>	<i>Peni-cil-lium</i>	<i>Pho-ma</i>	<i>Sap-ro-leg-nia</i>	<i>Tri-cho-der-ma</i>
—	$\frac{2}{56}$	$\frac{60}{56}$	$\frac{2}{33}$	$\frac{<1}{11}$	$\frac{1}{11}$	$\frac{<1}{22}$	$\frac{5}{78}$	$\frac{1}{44}$	$\frac{1}{11}$	$\frac{1}{22}$
$\frac{<1}{11}$	$\frac{1}{11}$	$\frac{4}{44}$	$\frac{11}{33}$	—	—	—	$\frac{56}{67}$	$\frac{14}{22}$	—	$\frac{1}{67}$
—	$\frac{<1}{11}$	$\frac{38}{56}$	$\frac{4}{33}$	—	$\frac{1}{33}$	$\frac{<1}{11}$	$\frac{23}{100}$	$\frac{19}{11}$	—	$\frac{3}{33}$
—	$\frac{1}{22}$	$\frac{9}{78}$	$\frac{<1}{22}$	—	$\frac{3}{11}$	$\frac{1}{44}$	$\frac{5}{78}$	$\frac{7}{22}$	—	$\frac{1}{56}$
—	$\frac{<1}{22}$	$\frac{11}{78}$	$\frac{<1}{11}$	—	$\frac{<1}{11}$	—	$\frac{8}{78}$	$\frac{39}{22}$	—	$\frac{3}{44}$
—	$\frac{<1}{22}$	$\frac{1}{56}$	$\frac{<1}{22}$	—	$\frac{1}{22}$	$\frac{<1}{22}$	$\frac{4}{78}$	$\frac{28}{33}$	—	$\frac{3}{67}$

Массовость и частота встречаемости родов дрожжей и грибов

Вариант опыта	Дрожжи						Грибы	
	<i>Candida</i>	<i>Cryptococcus</i>	<i>Debaryomyces</i>	<i>Metschnikowia</i>	<i>Rhodotorula</i>	<i>Trichosporon</i>	<i>Acronium</i>	<i>Alternaria</i>
K _p	$\frac{4}{44}$	$\frac{12}{56}$	$\frac{4}{11}$	—	$\frac{26}{67}$	—	—	$\frac{<1}{11}$
TM ₁	$\frac{1}{44}$	—	—	—	$\frac{6}{100}$	—	$\frac{<1}{11}$	$\frac{<1}{11}$
TM ₂	$\frac{7}{44}$	$\frac{1}{11}$	$\frac{<1}{22}$	—	$\frac{21}{100}$	—	—	$\frac{<1}{11}$
Mg	$\frac{21}{67}$	$\frac{<1}{22}$	—	$\frac{<1}{11}$	$\frac{37}{100}$	$\frac{22}{33}$	—	$\frac{<1}{22}$
Ca	$\frac{4}{44}$	$\frac{3}{11}$	—	—	$\frac{37}{89}$	—	—	$\frac{<1}{22}$
K _c	$\frac{<1}{11}$	$\frac{<1}{22}$	—	—	$\frac{81}{78}$	—	$\frac{<1}{11}$	—

— 96 %, число же положительных проб по грибам — 98 и 100 % соответственно. Процентное содержание гифальных грибов почти во всех лотках было больше, чем дрожжей, за исключением некоторых контрольных вариантов и варианта с добавлением Mg, где дрожжи составляли 80 % от суммарного числа грибов и дрожжей. Повышенное содержание последних в воде с добавками Mg было отмечено нами ранее в экспериментах, проведенных в 1988 г. по аналогичной методике на озерах Карелии Кривом и Круглом. По сравнению с контролем число клеток в опыте с добавлением Mg (24 мг/л) возросло в одном случае (оз. Кривое) в 73 раза, в другом (оз. Круглое) — в 14 раз, а по сравнению с природной водой — в 5 и 11 раз соответственно; при этом биомасса дрожжей достигала 0.24 мг/л. Мы затрудняемся дать объяснение полученным фактам. Очевидно, необходимо провести дополнительные исследования для выяснения роли Mg в развитии микобиоты.

В экспериментальных лотках с рыбами в обоих вариантах доминирующее положение, так же как и в серии опытов с беспозвоночными, занимали дрожжи рода *Rhodotorula*, но при этом в ряде случаев в качестве содоминанта развивались кандиды и трихоспорон, что связано, как правило, с повышенным содержанием органического субстрата (табл. 2, 3).

в эксперименте с молодью осетра

Грибы										
<i>Aspergillus</i>	<i>Aureobasidium</i>	<i>Botrytis</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>Mortierella</i>	<i>Mucor</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Phoma</i>	<i>Rhizoctonia</i>	<i>Saprolegnia</i>	<i>Trichoderma</i>
-	$\frac{26}{56}$	$\frac{<1}{33}$	$\frac{<1}{22}$	$\frac{<1}{22}$	$\frac{<1}{11}$	$\frac{21}{78}$	$\frac{1}{33}$	-	$\frac{1}{11}$	$\frac{2}{56}$
-	$\frac{32}{78}$	$\frac{<1}{22}$	$\frac{<1}{11}$	$\frac{<1}{11}$	$\frac{2}{44}$	$\frac{47}{89}$	$\frac{11}{11}$	-	-	$\frac{<1}{56}$
-	$\frac{25}{78}$	$\frac{2}{33}$	$\frac{<1}{11}$	$\frac{<1}{11}$	$\frac{2}{22}$	$\frac{35}{89}$	$\frac{1}{11}$	-	-	$\frac{4}{67}$
-	$\frac{4}{56}$	$\frac{<1}{33}$	$\frac{2}{44}$	$\frac{2}{22}$	$\frac{<1}{22}$	$\frac{4}{78}$	$\frac{4}{22}$	$\frac{<1}{11}$	-	$\frac{2}{22}$
-	$\frac{9}{44}$	$\frac{<1}{22}$	$\frac{2}{44}$	$\frac{3}{22}$	$\frac{<1}{33}$	$\frac{10}{78}$	$\frac{29}{33}$	-	-	$\frac{<1}{33}$
-	$\frac{7}{78}$	$\frac{<1}{33}$	$\frac{4}{11}$	$\frac{<1}{11}$	-	$\frac{1}{67}$	$\frac{5}{44}$	-	-	$\frac{1}{67}$

Грибы с гифальной структурой строения таллома наряду с сухоспоровыми (*Penicillium*, *Cladosporium*, *Botrytis* и др.) были представлены видами, споры которых покрыты слизью и могут распространяться в воде (*Phoma*, *Aureobasidium*), причем частота их встречаемости и массовость не связаны напрямую с воздействием того или иного фактора. Так, представители рода *Aureobasidium* со случайно изменившимися показателями массовости были отмечены во всех вариантах эксперимента, а грибы рода *Phoma* к октябрю достигали максимума во всех вариантах, за исключением контрольного с речной водой. Мы объясняем их развитие накоплением органических веществ в лотках (остатки корма для рыб, отторгнутая слизь и т.д.).

Микобиота поверхностного покрова рыб. Были проведены исследования микобиоты поверхностного покрова погибших рыб (70 экз.), находившихся в эксперименте. Пробы, за редким исключением, были положительными, с относительно высоким уровнем заспоренности, в среднем 140 кл./см². В микобиоте (в соотношении 30 : 1) отмечалось явное преимущество дрожжей (до 980 кл./см²) по сравнению с гифальными грибами (до 70 кл./см²).

В качественном составе микобиоты рыб и воды наблюдались незначительные отличия: несмотря на то что дрожжи рода *Rhodotorula* обычно доминировали в микобиоте поверхностного покрова, во всех пробах были отмечены дрожжи родов *Candida*, *Debaryomyces*, *Trichosporon*, нередко в значительных количествах. Гифальные грибы были представлены в основном теми же родами, что и в воде, с доминированием *Penicillium*. В единичных случаях на погибших осетрах найдены виды рода *Saprolegnia*. Зависимости численности и состава микобиоты от какого-либо исследуемого фактора обнаружено не было.

Таким образом, заспоренность воды и родовой состав дрожжей и гифальных грибов носят случайный характер, и эта микобиота не показывает четкой реакции на исследованные факторы. Используемые в эксперименте концентрации тяжелых металлов, биогенов, закисление (рН 5.5) в данных условиях не могут быть лимитирующими или стимулирующими факторами в развитии дрожжей и грибов. Увеличение органического вещества в лотках, где содержалась рыба, привело к увеличению численности дрожжей и грибов и к изменению родового состава. Присутствие в воде в значительном количестве *Phoma*, *Aureobasidium*, *Candida*, *Trichosporon* может при определенных неблагоприятных условиях быть причиной микозов рыб, что следует учитывать при определении нагрузки органических веществ и рыб в экспериментальных лотках.

Литература

1. Воронин Л.В. Грибы, развивающиеся на лещах и судаках некоторых пресных водоемов // Микология и фитопатология. 1986. Т. 20, № 5.
2. Солицева И.О., Виноградова Г.И. Численность и видовой состав дрожжей в разнотипных озерах Эстонии // Микология и фитопатология. 1989. Т. 23, № 4.

Институт биологии внутренних вод
им. И.Д.Папанина АН СССР

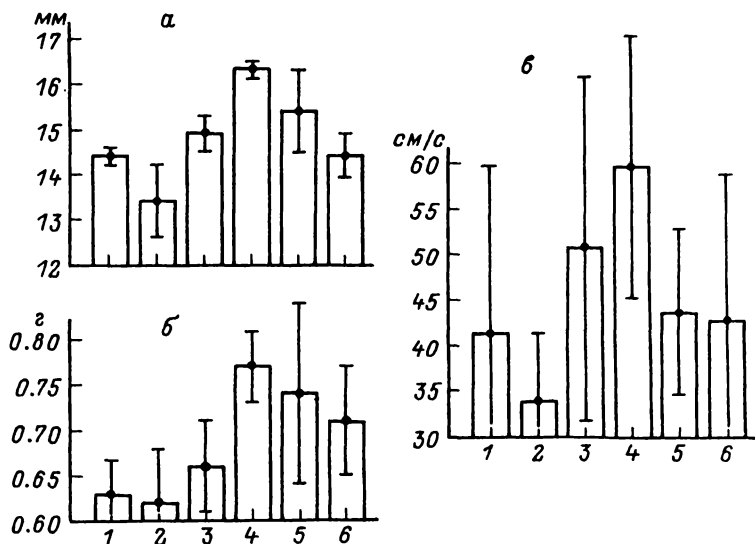
А.С.Маврин, Г.А.Виноградов, Т.Б.Лапирова,
И.Ю.Ершов, Т.Ф.Микрякова

**ВЛИЯНИЕ КАЛЬЦИЯ, МАГНИЯ И ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ
НА МОЛОДЬ ЛЕЩА *ABRAMIS BRAMA* L.
РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Для оценки состояния сеголеток леща были использованы абсолютные приросты длины и массы тела [4], которые рассчитывали по разнице между средними исходными и конечными значениями для 25 экз. рыб в каждом опыте; средние критические скорости течения [3], устойчивость к возбудителю краснухи (*Aeromonas hydrophila*) при внутрибрюшном заражении суточной культурой в дозе 100 микробных тел/г массы для 15 экз.; содержание микроэлементов в теле рыб [2], определяемое с помощью атомного абсорбционного спектрофотометра ААС-1 и анализатора ртути „Юлия-2“. Статистическая обработка данных велась общепринятыми методами [5].

Установлено, что в воде с концентрацией Mg 5 мг/л и относительно высоким содержанием Ca (40 мг/л) наблюдается максимальный прирост длины тела и массы рыб (см. рисунок, а, б). Наименьший темп роста зарегистрирован в опыте с концентрацией тяжелых металлов (TM_2), незначительно превышающей фоновый уровень загрязнения европейских рек [10]. Второе место по отрицательному воздействию на рыб занимает среда с более низким содержанием тяжелых металлов (TM_1).

В мягкой воде (контроль — K_c) молодь леща росла достаточно хорошо, уступив первенство лишь рыбам из варианта с добавлением кальция. Большой интерес представляют данные о низком приросте массы и длины мальков в речной воде (K_p) и в среде с внесением магния. Темп роста рыб в этих опытах примерно одинаков. В этой связи важно отметить, что ионный состав и содержание отдельных элементов в воде с добавлением магния и в речной принципиально различны. Общее между этими вариантами — одинаковая концентрация магния в среде, поэтому складывается впечатление, что его ионы в концентрации 20–25 мг/л, типичной для водоемов средней минерализации, оказывают неблагоприятное влияние на развитие молоди леща. Кроме того, интересно отметить однозначную взаимозависимость между росто-



Размерно-массовые характеристики сеголеток леща в конце эксперимента и критические скорости течения для них.

а — линейные размеры, *б* — массовые размеры, *в* — критические скорости течения для них. По оси абсцисс — номер опыта.

выми характеристиками молоди леща и функциональным состоянием рыб (см. рисунок, *в*). Анализ результатов по определению устойчивости мальков к различной скорости течения воды дает полное основание для этого вывода.

В пользу такого заключения свидетельствуют также данные о восприимчивости рыб к инфекции. Оказалось, что наиболее устойчивы к возбудителю краснухи рыбы из „благополучного“ варианта опыта, в котором концентрация кальция в воде существенно превышала содержание магния. Здесь смертность рыб составила 83 %, в остальных — от 90 до 100 %.

Определение уровня содержания тяжелых металлов в теле рыб по окончании эксперимента позволило выявить ряд интересных закономерностей. Во-первых, наличие в мягкой воде ртути в концентрации 0.5 мкг/л приводит к увеличению ее аккумуляции (табл. 1). Здесь следует напомнить, что эти значения мало отличаются или не отличаются совсем от величин фоновых концентраций для водоемов промышленных районов. По-видимому, полученные результаты позво-

ляют прийти к принципиальным выводам: во-первых, в естественных водоемах с нейтральными и щелочными значениями pH начальная пороговая токсическая концентрация ртути составляет величину, значительно меньшую, чем 0.5 мкг/л; во-вторых, содержание цинка и меди в теле рыб практически одинаково во всех вариантах опыта, за исключением „благополучного“, в котором мальки леща аккумулировали почти в 2 раза меньшее количество меди по сравнению с рыбами, содержащимися в воде с другим минеральным составом.

Отсутствие заметного накопления в теле рыб цинка и меди дает основание считать, что используемые в опыте концентрации приблизительно равны величинам содержания этих металлов в природных водах, представляющим опасность для леща. Однако, принимая во внимание данные о низком уровне накопления данных элементов в мышцах и больших различиях в интенсивности их аккумуляции в органах (жабрах, печени и т.д.) рыб [8, 9, 10], можно заключить, что начальная токсическая для леща концентрация цинка и меди несколько ниже, чем в варианте опыта с TM_1 , поскольку масса органов — „накопителей металлов“ (жабры, печень, почки), своеобразных индикаторов загрязнения среды, составляет меньшую часть массы тела. Об этом также свидетельствует небольшое превышение содержания в теле рыб цинка и меди по сравнению с контролем (K_c) в вариантах с добавлением тяжелых металлов.

Что касается объяснения феномена наиболее низкого уровня накопления меди у рыб, содержавшихся в опыте с добавлением кальция, то здесь можно высказать несколько предположений. Наиболее вероятно, что ионы меди поступают в организм через „кальциевые“ каналы жабр рыб [1]. Эта гипотеза хорошо объясняет защитное действие ионов кальция, так как, согласно такой модели, увеличение в воде концентрации кальция должно приводить к снижению скорости проникновения меди в организм.

Способность водных растений накапливать в больших количествах минеральные вещества, в том числе тяжелые металлы, хорошо известна [10]. Это позволяет использовать их как модельные организмы для исследования ионного обмена, а также в качестве индикаторов загрязнения воды тяжелыми металлами. В связи с этим представляло интерес сравнивать уровни аккумуляции тяжелых металлов в рыбах и водных растениях, содержащихся в полностью идентичных условиях, т.е. в тех же лотках. В опытах был ис-

Таблица 1

Общее содержание тяжелых металлов
(мг/кг сухой массы) в сеголетках леща

Металл	$K_C + TM_1$	$K_C + TM_2$	$K_C + 25 \text{ мг/л Mg}$	$K_C + Ca$	K_C	K_P
Hg	0.072 ± 0.004	0.140 ± 0.002	0.039 ± 0.01	0.046 ± 0.002	0.044 ± 0.001	0.043 ± 0.001
Zn	24.7 ± 0.5	25.5 ± 0.9	22.2 ± 0.5	22.8 ± 0.5	22.8 ± 0.6	21.9 ± 0.4
Cu	1.05 ± 0.06	1.17 ± 0.007	1.01 ± 0.03	0.70 ± 0.02	1.17 ± 0.03	1.34 ± 0.04

Таблица 2

Содержание тяжелых металлов (мкг/г сухой массы)
в роголистнике

Металл	$K_C + TM_1$	$K_C + TM_2$	$K_C + Mg$	$K_C + Ca$	K_C	K_P
Cu	1.78 ± 0.03	2.89 ± 0.29	1.52 ± 0.02	1.59 ± 0.04	1.65 ± 0.11	0.25 ± 0.03
Cd	4.90 ± 0.41	8.92 ± 0.59	0.38 ± 0.18	0.22 ± 0.09	0.25 ± 0.19	0.11 ± 0.04
Zn	34.3 ± 1.6	52.1 ± 3.9	17.4 ± 0.6	21.6 ± 2.8	22.1 ± 3.0	14.2 ± 1.5

Примечание. Исходное содержание Cu — (0.31 ± 0.05) мкг/г сухой массы, Cd — (0.13 ± 0.12) , Zn — (25.2 ± 4.5) .

пользован роголистник — один из наиболее распространенных представителей водной растительности, который был в равном количестве помещен в лотки с лещом.

Через 32 сут после изменения в воде концентрации микроэлементов, кальция и магния было определено содержание тяжелых металлов в роголистнике (табл. 2). Сравнительный анализ данных по кумуляции металлов лещом и роголистником подтверждает значимость водных растений как биомаркеров степени загрязненности вод тяжелыми металлами, поскольку в отличие от леща содержание цинка и меди в вариантах с TM_1 и TM_2 возрастает весьма существенно. Ис-

следование же жабр или печени рыб, возможно, могло бы дать не менее отчетливые результаты по накоплению этих элементов. На наш взгляд, принципиальными и важными являются данные о практически одинаковых уровнях присутствия последних в столь различных гидробионтах. По-видимому, большое разнообразие данных о величинах кумуляции микроэлементов у разных видов рыб и других гидробионтов [9, 10] связано главным образом с различием условий обитания.

Полученные результаты не противоречат литературным данным. В работах американских ученых экспериментально показано, что концентрации тяжелых металлов (Zn — более 140–200 мкг/л, Cd — 15–30, Cu — 10–20, Hg — 0.03–0.09 мкг/л) оказывают в хронических опытах негативное влияние на развитие и рост эмбрионов, личинок, мальков рыб [8, 9, 11]. Примерно при таком же содержании этих элементов начинается их избыточная кумуляция в различных тканях и органах [6, 7, 10]. Результаты нашего исследования по накоплению тяжелых металлов в теле рыб (табл. 1) полностью соответствуют данным других авторов, полученным в сходных экспериментах [6, 7, 9].

Итак, на основании проведенных экспериментов можно заключить, что Zn, Cd, Cu, Hg в концентрациях, характерных для водоемов, подверженных антропогенному загрязнению, угнетают линейный и массовый рост, уменьшают устойчивость к потоку воды, ослабляют иммунную систему молоди леща. Увеличение концентрации кальция на фоне низкого содержания магния улучшает рост рыб, устойчивость к инфекционным заболеваниям, сопротивляемость потоку воды.

Литература

1. Виноградов Г.А. Обмен кальция и натрия при вариации концентраций ионов алюминия, меди, кадмия, магния, водорода // Наст. бюл.
2. Морозов М.П., Петухов С.А. Определение тяжелых металлов в рыбах // Типовые методики исследования продуктивности видов рыб в пределах их ареалов. Вильнюс, 1978. Ч. 2.
3. Павлов Д.С., Фомина В.К. Методика определения критических скоростей течения для рыб // Рыб. хоз-во. 1978. № 11.
4. Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб (преимущественно пресноводных). М., 1966.
5. Урбах В.Ю. Математическая статистика для биологов и медиков. М., 1963.
6. Brungs W.A., Leonard E.N., McKim J.M. Acute and long-term accumulation of copper by the brown bullhead, *Ictalurus nebulosus* // J. Fish. Res. Board Canad. 1973. Vol. 30, N 4.
7. Holcombe G.W., Benoit D.A., Leonard E.N. Long-term effects of zinc exposures on brook trout (*Salvelinus fontinalis*) // Transactions of the American Fisheries Society. Lawrence, 1979. Vol. 108.
8. McKim J.M., Eaton J.G., Holcombe G.W. Metal toxicity to embryos and larvae of eight species of freshwater fish-II: Copper // Bull. Environ. Contam. and Toxicol. 1978. Vol. 19.
9. McKim J.H., Olson G.F., Holcombe G.W., Hunt E.P. Long-term effects of methylmercuric chloride on three generations of brook trout (*Salvelinus fontinalis*): toxicity, accumulation, distribution and elimination // J. Fish. Res. Board Canad. 1976. Vol. 33, N 12.
10. Moore J.W., Ramamoorthy S. Heavy metals in natural waters. New York et al., 1984.
11. Spehar R.L. Cadmium and zinc toxicity to flagfish, *Jordanella floridae* // J. Fish. Res. Board Canad. 1976. Vol. 33, N 9.

Институт биологии внутренних вод
им. И.Д.Папанина АН СССР

Н.П.Клайн, П.П.Уморин

**ЗАВИСИМОСТЬ ТОКСИЧНОСТИ ХЛОРАТОВ ДЛЯ ВОДОРОСЛЕЙ
ОТ ФОРМ МИНЕРАЛЬНОГО АЗОТА**

В настоящее время хлораты широко применяются в народном хозяйстве, что ведет к неизбежному их попаданию в водоемы. Известно, что хлораты токсичны и поэтому оказывают негативное влияние на гидробионтов. Сведения по воздействию хлорат-иона на водные организмы немногочисленны [2, 9, 10]. Известны работы по влиянию на бактерий и простейших сходных веществ (перхлоратов и хроматов) [3, 6, 7]. Степень повреждающего воздействия токсикантов на планктонные организмы зависит от многих условий: температуры, освещенности, pH среды, содержания растворенных газов, а также от наличия различных форм биогенов. Особую значимость сейчас приобретают количественные оценки ответных реакций организмов и их сообществ на токсические воздействия. Фитопланктон относится к числу традиционных объектов, используемых для характеристики водных экосистем и оценки состояния водоемов. Поэтому научный интерес представляет изучение реакции водорослей на воздействие хлоратов в зависимости от наличия в среде аммонийной или нитратной формы азота.

Поставленную задачу решали экспериментально. Тест-объектом служили водоросли *Scenedesmus quadricauda* Bréb., которые культивировали на среде Чу-10 [8]. Опыты проводили в герметических сосудах объемом 350 мл, которые заполняли 200 мл среды, а оставшиеся 150 мл занимал атмосферный воздух. Были поставлены 2 серии опытов: с нитратной и аммонийной формами азота. Каждая серия состояла из 2 вариантов: первый — без хлоратов (контроль), второй — с хлоратом в концентрации 400 мг $\text{ClO}_3^-/\text{л}$. Сосуды экспонировали в люминостате при освещенности 7 тыс. лк и температуре 22–24 °C. Опыт длился 20 сут, в каждом его варианте (в начале и в конце) проводили анализ газовой фазы для определения парциального давления O_2 ($p\text{O}_2$). Пробы газа брали шприцем через мембрану из самозапечатавающейся резины, а сам анализ производили на газовом хроматографе ЛХМ-8МД. Биомассу водорослей и концентрацию РОВ определяли методом персульфатного сжигания фильтрованной (через мембранный фильтр № 9) и нефилт-

рованной фракции с последующим анализом образовавшегося CO_2 на хроматографе [1].

Кроме того, концентрацию общего органического вещества (мг С/л) рассчитывали по изменению содержания O_2 в сосудах за время эксперимента по формуле

$$S_t = (\text{O}_{2 \text{ кон.}} - \text{O}_{2 \text{ исх.}}) \cdot 0.37 \cdot 1000/200 + S_0,$$

где $(\text{O}_{2 \text{ кон.}} - \text{O}_{2 \text{ исх.}})$ — прирост O_2 в сосуде, который можно записать следующим образом:

$$(\text{O}_{2 \text{ кон.}} - \text{O}_{2 \text{ исх.}}) = p \text{ O}_{2 \text{ кон.}} [s \text{ O}_2 (V_{\text{г}} - \Delta V_{\text{г}}) + \\ + d \text{ O}_2 (V_{\text{г}} + \Delta V_{\text{г}})] - p \text{ O}_{2 \text{ исх.}} (s \text{ O}_2 V_{\text{г}} + d \text{ O}_2 V_{\text{г}}),$$

где $p \text{ O}_2$ — парциальное давление кислорода, атм.; $V_{\text{г}}$ — объем жидкой фазы в сосуде, мл; $V_{\text{г}}$ — то же, газовой фазы; $\Delta V_{\text{г}}$ — изменение объема газовой фазы, мл; $s \text{ O}_2$ — растворимость O_2 в воде (0.0442 г/л) при $p \text{ O}_2$, равном 1 атм.; $d \text{ O}_2$ — плотность O_2 при давлении 1 атм. (1.43 г/м³); S_t — общее ОВ (не-фильтрованная фракция) в конце эксперимента, мг С/л; S_0 — содержание РОВ опыта, мг С/л; индексы „исх.“ и „кон.“ — начальные и конечные значения величины; 0.375 — коэффициент перехода от O_2 к С; 1000/200 — переход от объема сосуда к концентрациям на 1 л.

Было также принято, что $S_0 = \text{РОВ} = 0$, так как исходный засев водорослей мал, а сама среда не содержит органического вещества. Для дальнейших расчетов использовали среднюю из полученных 2 способами, т.е. $\bar{S}_t = (S_t \text{ по сжиганию} + S_t \text{ по } p \text{ O}_2)/2$. Все варианты экспериментов проводили в 5 повторностях, опыт длился 20 сут.

Приведенные данные (табл. 1) позволяют судить об общем ходе процессов в экспериментах. Более высокие величины биомассы водорослей и общего содержания органического вещества (ОВ) в конце опыта (B_t и S_t) в вариантах без хлората указывают на то, что в них значительнее интенсивность роста и фотосинтеза. Об этом же можно судить и по изменению объема газовой фазы ($\Delta V_{\text{г}}$). Поскольку растворимость выделяющегося при фотосинтезе кислорода ниже, чем поглощенного углекислого газа, $\Delta V_{\text{г}}$ нарастал, не-

Таблица 1

Данные эксперимента через 20 сут

Вариант	B_t , мг С/л	S_t , мг С/л		S_t , мг С/л	ΔV_g , мл	P_{O_2} , атм.
		по сжи- ганию	по P_{O_2}			
NO ₃ без хлората (1)	8.47	10.23	11.84	11.04	4.12	0.231
NH ₄ без хлората (2)	9.58	11.09	12.91	12.00	4.47	0.233
NO ₃ + хло- рат (3)	3.82	5.54	6.44	5.99	2.37	0.221
NH ₄ + хло- рат (4)	6.29	7.27	9.06	8.17	3.05	0.226

смотря на то что объемное отношение O_2 к CO_2 было равно 1:1. Все эти данные свидетельствуют о том, что хлорат обладает токсическим действием на водоросли. Однако, как следует из сравнения вариантов 3 и 4, его токсическое действие неоднозначно и зависит от формы источника азота.

Для более детального анализа влияния хлората на водоросли были рассчитаны удельные скорости роста (μ_P) и фотосинтеза (μ_S) (табл. 2) на основе математической модели $\frac{dB}{dt} = \mu_P B$, $\frac{dS}{dt} = \mu_S B$. После интегрирования модели имеем

$$B_t = B_o e^{\mu_P t}, \quad S_t = \frac{\mu_S B_o}{\mu_P} (e^{\mu_P t} - 1) + S_o,$$

откуда

$$\mu_P = \frac{\ln B_t - \ln B_o}{t}, \quad \mu_S = \frac{(S_t - S_o) \mu_P}{B_t - B_o}.$$

В формулах B_o — биомасса водорослей в начале опыта, мг С/л; B_t — то же, в конце опыта; e — основание натуральных логарифмов; t — время; остальные обозначения даны ранее.

Кроме того, для суждения о достоверности сходства и различия между вариантами была проведена статистическая обработка результатов [4] (табл. 3).

Таблица 2

Параметры развития водорослей в экспериментах
(средние 5 повторностей и ошибки средних)

Вариант	$S_t - B_t$ (РОВ), мг С/л	РОВ/ $S_t \times$ $\times 100$, %	μ_P , сут ⁻¹	μ_S , сут ⁻¹	μ_S (средние), сут ⁻¹
1	2.57	23.3	0.136±0.0020	0.179±0.0098	0.1795±0.0057
2	2.42	20.1	0.142±0.0011	0.180±0.0073	
3	2.17	36.2	0.095±0.0031	0.160±0.0056	0.1600±0.0037
4	1.88	23.0	0.120±0.0019	0.160±0.0054	

Таблица 3

Достоверность различий между вариантами
эксперимента по величинам роста (μ_P) и (μ_S)

Вариант	По величине μ_P			
	1	2	3	4
1	<div style="position: relative; height: 150px;"> <div style="position: absolute; top: 0; right: 0; width: 100%; height: 100%; border-left: 1px solid black; border-bottom: 1px solid black; transform: rotate(45deg);"></div> </div>			
2				
3				
4				
		По величине μ_S		

Примечание. Над чертой — критерий t_d
для разности, под чертой — доверительная вероят-
ность.

Расчет позволил выявить почти абсолютное равен-
ство удельных скоростей фотосинтеза в вариантах 1
и 2, а также в вариантах 3 и 4, что не очевидно из
исходных данных табл. 1. По величине μ_S варианты 1
и 2 (как одна совокупность) достоверно отличаются
от вариантов 3 и 4. Критерий Стьюдента для разницы
равен 2.85, что соответствует вероятности 0.99.

Это означает, что хлорат достоверно снижает скорость фотосинтеза водорослей, причем это влияние не зависит от формы источника азота (разница между вариантами 3 и 4 недостоверна, как следует из табл. 3).

Сравнение величин μ_p во всех вариантах (табл.

2) показывает, что влияние хлората на скорость роста водорослей носит более сложный характер. В вариантах 3 и 4 по сравнению с 1-м и 2-м скорость роста понижена, что свидетельствует о подавлении хлоратом синтеза биомассы водорослей, так же как и общего синтеза ОВ (т.е. фотосинтеза). В этом проявляется общетоксическое действие хлората. Однако интересно то, что разница между вариантами без хлората недостоверна (при принятом уровне значимости 1 %), а разница между вариантами 3 и 4 достоверна и даже превышает таковую между вариантами 2 и 4, а также 1 и 4 (табл. 3). Следовательно, подавление хлоратом процессов синтеза биомассы достоверно зависит от формы источника азота: наиболее сильно оно тогда, когда азот нитратный.

В литературе [11] имеются указания на то, что хлорат в некоторых процессах может выступать как аналог нитрата и возможна конкуренция между ними за нитратредуктазу — фермент, ответственный за восстановление окисленных форм азота. Таким образом, снижение скорости роста под влиянием хлората при развитии водорослей на нитратах, как на единственном источнике азота, можно объяснить тем, что он конкурентно тормозит восстановление нитрата, препятствуя этим вовлечению азота в синтез белка, и, следовательно, замедляет синтез биомассы вообще, т.е. рост. Этот вывод подтверждается еще и тем, что в варианте с нитратом доля выделенного РОВ от общего ОВ, созданного в процессе фотосинтеза, наибольшая (табл. 2). В варианте 4 рост и фотосинтез подавлены пропорционально, что следует из примерного равенства долей выделенного РОВ в вариантах 1, 2 и 4. Поскольку в варианте 3 рост подавлен сильнее, чем фотосинтез, то значительное количество его продуктов, не использованное для роста биомассы, выделяется наружу. Подобная же зависимость доли экскретируемого РОВ от обеспеченности культуры водорослей азотом наблюдалась нами ранее [5].

Таким образом, хлораты оказывают неспецифическое общетоксическое и специфическое действие на водоросли. Общетоксическое воздействие проявляется в снижении скорости фотосинтеза и скорости роста водорослей и не зависит от формы источника азота.

Специфическое токсическое воздействие хлоратов заключается в замедлении роста водорослей на среде с нитратным азотом и сопровождается увеличением доли экскретируемого POB . Его можно объяснить конкуренцией между хлоратом и нитратом за нитратредуктазу.

Литература

1. Бикбулатов Э.С. Простой способ окисления органического вещества природных вод для определения углерода // Гидрохим. матер. 1974. Т. 60.
2. Грачева Г.А. Влияние хлорноватокислого натрия на одноклеточные водоросли // Вопросы экологии и охраны природы в Нижнем Поволжье. Саратов, 1986.
3. Жуков Б.Ф. Отношение бесцветных пресноводных жгутиконосцев *Bodonina* Holl. (*Protozoa*) к различным концентрациям перхлората аммония // Биология внутренних вод: Информ. бюл. Л., 1971. № 11.
4. Зайцев Г.Н. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. М., 1984.
5. Клайн Н.П., Уморин П.П. Рост водоросли *Diatoma elongatum* Ag. в культуре с сопутствующими бактериями // Биол. науки. 1990. № 7.
6. Романенко В.И. Разрушение NH_4ClO_4 в иловых отложениях водоемов // Биология внутренних вод: Информ. бюл. Л., 1976. № 31.
7. Романенко В.И., Величко И.А. Влияние ионов хрома на жизнедеятельность бактерий и водорослей // Биология внутренних вод: Информ. бюл. Л., 1974. № 21.
8. Сиренко Л.А. Состав питательных сред для лабораторного культивирования водорослей // Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике. Киев, 1975.
9. Тихонова Т.Н. Влияние хлорноватокислого натрия на личинок *Chironomis dorsalis* Meig. // Вопросы экологии и охраны природы в Нижнем Поволжье. Саратов, 1986.
10. Фетисова Н.Б., Клевцова Л.Б. Влияние хлорноватокислого натрия на низших ракообразных // Вопросы экологии и охраны природы в Нижнем Поволжье. Саратов, 1986.
11. Balch W.M. Differences between dinoflagellates and diatoms in the uptake of $^{36}\text{Cl}-\text{ClO}_3$, an ana-

Институт биологии внутренних вод
им. И.Д.Папанина АН СССР

УДК 582.264 + 574.64 : 582.264 + 574.632

Н.П.Клайн

ВЛИЯНИЕ ХЛОРАТ-ИОНА НА ВОДОРОСЛИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВЕЛИЧИНЫ pH

Соединения хлорноватой кислоты HClO_3 (хлораты) широко применяются в ряде производств химической промышленности. Попадание этих веществ в водоемы приводит к ухудшению качества воды. Известно, что эффективность воздействия токсикантов на природные планктонные сообщества в значительной мере определяется факторами внешней среды — температурой, освещенностью, наличием кислорода, активной реакцией среды.

В данной статье представлены материалы по реакции одной из ведущих групп фитопланктона (зеленых водорослей) на хлораты в зависимости от значений pH среды, которые могут служить исходными при разработке допустимых выпусков сточных вод в водоемы с разными физико-химическими параметрами.

Протококковую водоросль *Scenedesmus quadricauda* Vreb., широко применяемую в качестве стандартного тест-объекта в токсикологических экспериментах [2], помещали в сосуды объемом 350 мл с культуральной средой Чу-10. Были проведены 2 серии опытов: с хлоратами ($400 \text{ мг ClO}_3^-/\text{л}$) и без хлоратов (контроль). Каждая серия состояла из 4 вариантов, различающихся значением pH среды. Нужного значения pH добивались добавлением разбавленной серной кислоты (1:4). Исходный засев водорослей составил 18 тыс. экз./мл . Все сосуды экспонировались в люминесценте при освещенности 7 тыс. лк и температуре $22-24^\circ \text{C}$ в течение 10 сут. Рост водорослей выражали через удельную его скорость и описывали общепринятым уравнением [4]

$$\mu_p = \frac{\ln N_t - \ln N_0}{t},$$

где N_0 и N_t — численность водорослей в начале и в конце опыта через определенное время t . Каждый вариант ставили в 5 повторностях (см. таблицу).

Предварительные опыты по воздействию $KClO_3$ на динамику численности популяции *Scenedesmus quadricauda* показали, что в концентрации менее 400 мг/л хлорат-ион либо практически не влияет на рост водорослей, либо слабо его стимулирует. Четко выраженное токсическое воздействие начинало проявляться только с концентрации, превышающей указанную величину, поэтому она и была выбрана для проведения экспериментов. Контрольные опыты выявляют прямую корреляцию между ростом водорослей и величиной рН среды: чем больше рН, тем выше удельная скорость роста (см. таблицу). Хлораты оказывают заметное влияние на динамику численности популяции водорослей, причем их токсичность существенно зависит от рН среды. Значение рН, равное 6-7, считается оптимальным для роста *Scenedesmus quadricauda* [1].

В наших экспериментах в этом интервале рН, наиболее благоприятном для жизнедеятельности водорослей, токсическое действие хлората не проявлялось, наблюдался лишь слабый стимулирующий эффект, численность клеток в опыте по отношению к контролю составляла 104-112 %. Наиболее сильное действие хлората обнаруживалось в варианте с рН 5: в этом случае численность клеток водорослей в опыте равнялась 47 % от контроля. Это можно объяснить, вероятно, тем, что хлораты — окислители, свойства которых в кислой среде резко усиливаются. При снижении рН до 4 действие хлорат-иона было менее ингибирующим. В этом случае сказывается общее угнетение жизнедеятельности клеток водорослей при низких значениях рН и непосредственное токсическое влияние хлоратов как бы маскируется этим угнетением.

Известно, что рост водорослей сопровождается подщелачиванием среды до 4, что можно объяснить связыванием свободной углекислоты в процессе фотосинтеза. В наших экспериментах подавление жизнедеятельности водорослей хлоратами выражается и в том, что в интервале рН от 4 до 5 реакция среды от начала до конца опыта остается на прежнем уровне, в то время как в контроле и при рН 7 наблюдается

Влияние хлорат-иона на водоросли
в зависимости от величины pH

Исходная величина pH	Численность водо- рослей через 10 сут, $\times 10^3$ кл./мл	Величина pH через 10 сут	Удельная ско- рость роста водорослей, сут^{-1}
7	107.5 ± 10.3	8.5 ± 0.3	0.178
	103.2 ± 7.4	8.5 ± 0.2	0.174
6	82.5 ± 2.2	6.8 ± 0.4	0.152
	73.7 ± 2.5	7.1 ± 0.3	0.141
5	40.3 ± 4.1	5.2 ± 0.3	0.080
	85.5 ± 8.1	5.9 ± 0.5	0.155
4	21.1 ± 1.4	4.2 ± 0.2	0.016
	29.9 ± 2.0	4.2 ± 0.2	0.051

П р и м е ч а н и е. Над чертой — опыт, под чертой — контроль.

подщелачивание (см. таблицу). Можно отметить также и морфологические изменения клеток водорослей при воздействии хлорат-иона: клетки скапливаются группами, теряют четкую форму, нарушается пигментация.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о неоднозначном воздействии ClO_3^- на зеленые водоросли. Отмечена зависимость токсического влияния хлората калия на величины pH среды. Токсичность ClO_3^- ниже при значениях pH, близких к нейтральным, и сильно возрастает при подкислении среды. Обнаруженная зависимость, очевидно, имеет важное экологическое значение и должна учитываться при разработке ПДК хлоратов и других сильных окислителей для водоемов с различными средними величинами активной реакции среды.

Литература

1. Минеева Л.А. Влияние pH на автотрофное и гетеротрофное питание *Chlorella* // Микробиология. 1962. Т. 31, вып. 2.
2. Мосненко Т.К. Методические указания по проведению токсикологических экспериментов на водорослях. Л., 1974.

3. Хоботьев В.Г., Король В.М. Изменение активной реакции (рН) среды как показатель состояния водорослей при токсическом действии на них химических веществ // Методики биологических исследований по водной токсикологии. М., 1971.
4. (Pirt S.J.) Перт С.Дж. Основы культивирования микроорганизмов и клеток. М., 1978.

Институт биологии внутренних вод
им. И.Д.Папанина АН СССР

УДК 597.08 : 574.64

Г.А.Виноградов

**ОБМЕН КАЛЬЦИЯ И НАТРИЯ У РЫБ
ПРИ ВАРИАЦИИ КОНЦЕНТРАЦИЙ ИОНОВ
АЛЮМИНИЯ, МЕДИ, КАДМИЯ, МАГНИЯ И ВОДОРОДА**

В настоящее время имеется множество работ, свидетельствующих, что токсичность некоторых тяжелых металлов и алюминия для рыб и беспозвоночных в значительной степени зависит от химического состава воды, в первую очередь от величины рН, концентрации кальция, содержания растворенного органического вещества [5, 6, 10, 11, 14]. Основная закономерность — увеличение токсичности металлов при снижении концентрации кальция в воде, не находит пока убедительного объяснения. Также известно, что основным источником поступления кальция и многих других элементов в организм беспозвоночных и рыб служит их абсорбция из воды через жабры [4, 9, 13, 16]. Приведенные факты позволяют предположить взаимосвязь между интенсивностью обмена кальция и токсичностью ионов металлов у водных животных. Возможно, существуют общие механизмы транспорта (абсорбции) из воды в организм ионов кальция и других металлов. Проверке этой гипотезы и посвящено данное исследование.

Эксперименты проводили на сеголетках семги (*Salmo salar*) массой 0.5–1.2 г и радужной форели (*Salmo gairdneri*) массой 2.0–2.4 г. Обмен кальция и натрия у рыб изучали по методике, описанной ранее [2]. Содержание в воде Na^+ и K^+ определяли на пламенном фотометре ПАЖ-2, концентрацию кальция — на атомном абсорбционном спектрофотометре ААС-1.

Опыты, в которых измеряли минеральный обмен моллюски, были выполнены на Беломорской биологической станции Зоологического института АН СССР. Рыб содержали в проточных аквариумах. Вода, поступающая в аквариум из оз. Кривого, имела следующие гидрохимические показатели (мг/л): 6.4–8.0 Cu^{2+} , 3.2–3.9 Mg^{2+} , 1.4–1.6 K^+ , 9.6–12.1 Na^+ , 10.0–12.4 Cl^- , 30.0–32.0 HCO_3^- , 7.0–8.0 SO_4^{2-} . Концентрация водородных ионов за период работы (июль–сентябрь) колебалась в пределах 6.7–7.4 pH, изменения температуры составляли 8–19 °C. Для поддержания необходимых концентраций Mg^{2+} , Ca^{2+} , величины pH и Al^{3+} в проточных опытных емкостях объемом 30 л на протяжении 3 мес эксперимента была использована дилуэтная установка оригинальной конструкции [3]. Обмен кальция определяли при температуре 14–17 °C.

Эксперименты с радужной форелью были выполнены в лабораторных условиях в ИБВВ АН СССР. Рыб содержали в артезианской воде, имеющей следующие гидрохимические показатели (мг/л): 4.6 Na^+ , 1.5 K^+ , 36 Ca^{2+} , 24 Mg^{2+} и pH 7.9–8.0. Поглощение и потери катионов у форели исследовали при температуре 11 °C. Необходимые концентрации катионов в воде создавали за счет добавления растворов CuSO_4 , $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$, MgCl_2 , CaCl_2 и AlCl_3 . Во время процедуры изучения обмена кальция в опытах с использованием алюминия величина pH изменялась в пределах 4.5–6.0. В остальных опытах ее значения колебались от 6.4 до 7.1.

Исследование обмена кальция у форели позволило установить, что скорость его поглощения из воды снижается, если концентрация алюминия выше 0.1 мг/л. Поступление кальция в организм практически прекращается при содержании Al^{3+} 0.4 мг/л. Одновременно с повышением концентрации алюминия усиливается утечка кальция во внешнюю среду (рис. 1). Изучение баланса Na^+ и K^+ между организмом и средой в этих экспериментах не выявило отклонений от нормы. Остротоксичная концентрация Al^{3+} (0.5 мг/л) также не оказывала влияния на процессы поглощения и потери этих катионов.

Полученные данные свидетельствуют о том, что первичное действие алюминия на ионорегулирующие функции жабр рыб заключается в изменении скорости потоков кальция через жаберный эпителий. В этой связи следует отметить, что ионы магния в концент-

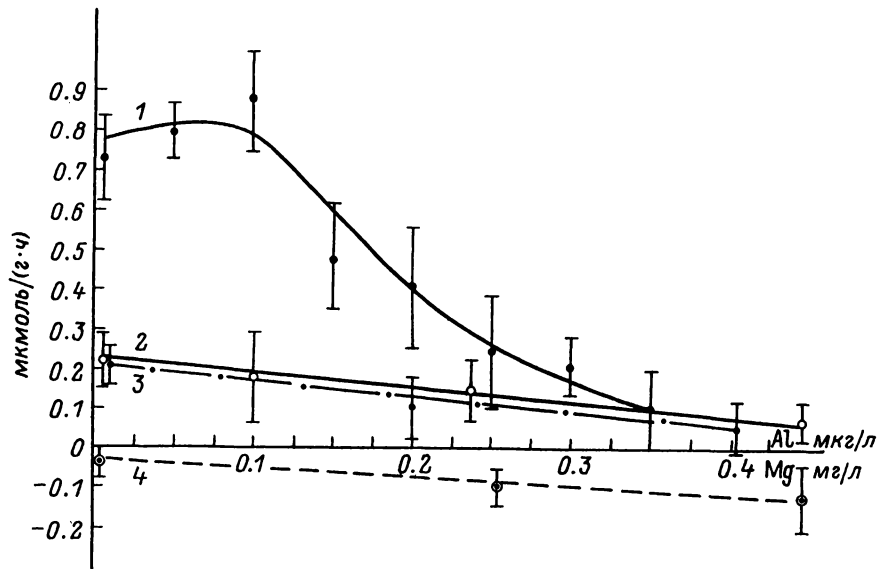


Рис. 1. Влияние алюминия и магния на обмен кальция у форели.

1 — поглощение кальция из раствора 0.5 ммоль/л CaCl_2 при добавлении алюминия, 2 — то же, из раствора 0.1 ммоль/л, 3 — влияние магния на поглощение кальция из раствора 0.1 ммоль/л CaCl_2 , 4 — влияние алюминия на потерю кальция в дистиллированной воде. По оси ординат — поглощение и потери кальция, по оси абсцисс — концентрация магния и алюминия в воде.

рациях на порядок выше, чем алюминия, вызывают такой же эффект, как и ионы алюминия. Содержание Al^{3+} в водоемах зависит от величины pH. При значениях pH, близких к нейтральным, ионизированный алюминий составляет малую часть общего, однако при уменьшении значений pH ниже 6.0 происходит резкое увеличение концентрации Al^{3+} [15]. Поэтому представляло интерес провести исследование по выявлению степени воздействия определенной концентрации общего алюминия на обмен кальция в диапазоне pH 4.5–7.0.

Результаты этого опыта однозначно свидетельствуют о том, что снижение pH воды не оказывает влияния на сорбцию кальция. Нарушение обмена каль-

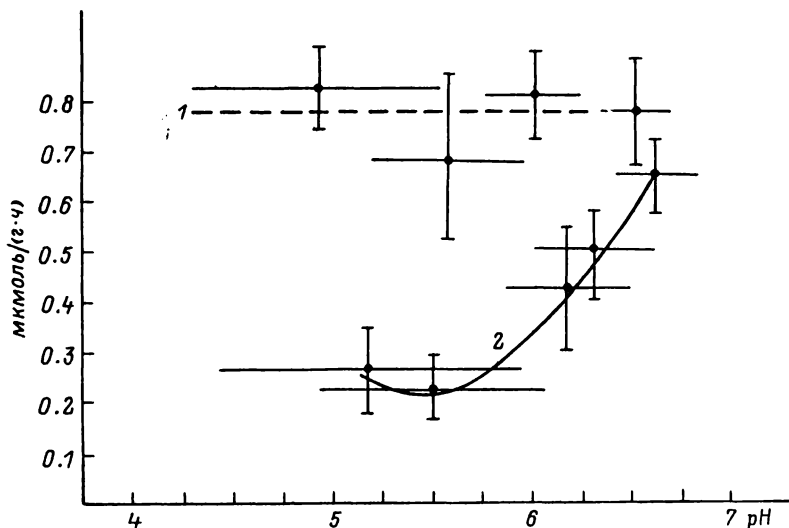


Рис. 2. Скорость поглощения кальция форелью при различных рН из раствора 0.5 ммоль/л CaCl_2 (1) с добавлением 0.3 мг/л алюминия (2).

Горизонтальные линии — изменение рН за время эксперимента.

ция связано с увеличением в среде концентрации ионизированной формы алюминия (рис. 2). Максимальный эффект наблюдается при рН 4.5–5.0, т.е. когда практически весь алюминий находится в форме Al^{3+} . Эти данные целесообразно проанализировать в комплексе с результатами полевых исследований и информацией о токсичности алюминия для рыб.

Во многих статьях [10–12] отмечается, что негативное действие закисления на биоту пресных водоемов определяется главным образом увеличением концентрации Al^{3+} , которая может достигать 0.2–0.3 мг/л и более. В этих работах установлено негативное влияние на личинок и молодь лососевых рыб алюминия в концентрациях, вызывающих изменение в обмене кальция. Необходимо также напомнить, что токсичность алюминия для рыб особенно велика в водоемах с содержанием кальция менее 2 мг/л, довольно типичным для мест обитания лососевых рыб. Важное значение для понимания механизма действия ионов алюминия на рыб и оценки последствий увеличения концентраций Al^{3+} в пресных водах в связи с про-

цессами антропогенного закисления водоемов различного гидрохимического состава имеют факты, свидетельствующие о патологических изменениях ультраструктуры жабр и накоплении алюминия в клетках жабрного эпителия рыб [7].

Полученные данные позволяют предложить концепцию, объясняющую особенность воздействия алюминия на рыб в зависимости от химического состава природных вод. Ее суть заключается в том, что ионы алюминия конкурируют с ионами кальция за „кальциевые“ каналы в жабрном эпителии. Увеличение концентрации Al^{3+} , чему в естественных условиях способствует низкое содержание органического вещества и величины pH меньше 6.0–5.5, вызывает его интенсивную абсорбцию и соответственно снижение потока кальция из воды через жабры. Особенно значительно поток Al^{3+} должен возрасти в среде с низкой концентрацией кальция, поскольку обмен последнего у пресноводных костистых рыб отличается незначительно и константа полунасыщения (K_m) составляет 1–2 мг/л Ca^{2+} [1]. Накопление алюминия в жабрах, и в частности в хлоридных клетках, может служить причиной нарушения обмена натрия и хлора. Таким образом, предлагаемая концепция позволяет объяснить как результаты собственных исследований, так и многочисленные литературные данные, полученные в полевых и лабораторных условиях.

Изучение обмена кальция у молоди семги позволило установить, что поступление его в организм снижается при концентрации меди более 20 мкг/л, кадмия — выше 80–100 мкг/л (рис. 3). В воде, содержащей медь и кадмий, совместное воздействие этих металлов на обмен кальция суммируется, т.е. наблюдается аддитивный эффект. Анализ данных дает основание предположить, что ионы этих металлов, так же как и алюминия, конкурируют с кальцием за „места“ переноса в жабрах. По-видимому, поступление или, точнее, абсорбция ионов металлов из воды по „кальциевым“ каналам осуществляется не только у морских беспозвоночных [8], но и у пресноводных рыб в специализированных ионотранспортирующих хлоридных клетках. Эта закономерность отражает, вероятно, универсальные общебиологические черты обменных процессов между организмом и средой. Кроме того, полученные данные позволяют объяснить хорошо известный в водной токсикологии факт, что токсичность некоторых тяжелых металлов, в том числе меди и кадмия, значительно снижается при увеличении

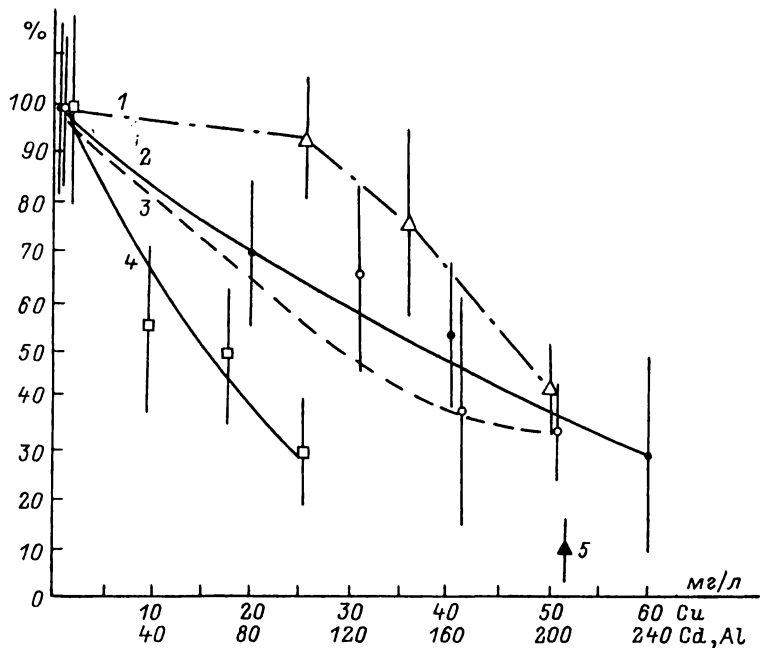


Рис. 3. Поглощение кальция семгой из воды в зависимости от концентрации меди, кадмия и алюминия.

1 — Al, pH 4.9-6.1; 2 — Cd; 3 — Cu; 4 — Cu + Cd; 5 — после 6 сут акклимации к 200 мкг/л Al, pH 4.9-6.0.

жесткости, главным образом содержания кальция в воде.

Эксперименты, в которых изучалась выживаемость сеголеток семги, показали, что при 2-месячной экспозиции в природной воде с добавлением солей тяжелых металлов (20 мкг/д Cu, 40 мкг/л Cd, 230 мкг/л Zn) смертность рыб не отличается от таковой в контрольном варианте. Таким образом, сублетальные концентрации меди и кадмия способны угнетать метаболизм кальция у рыб.

Рассматривая вопросы, связанные с выявлением механизмов действия тяжелых металлов на гидробионтов, необходимо упомянуть результаты исследований, свидетельствующие о конкурентном характере взаимоотношений за „места“ транспорта между ионами кальция и магния у рыб [1, 2]. В этой связи представлялось целесообразным выяснить, как изменяется соотношение потоков кальция и магния после длитель-

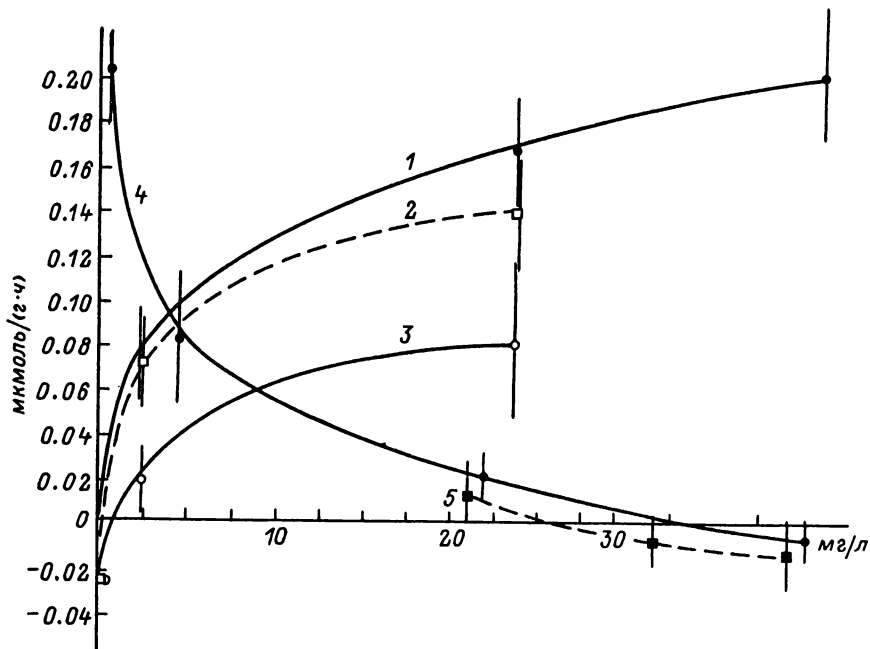


Рис. 4. Потери и поглощение кальция семгой до и после 2 мес акклимации к воде с различными концентрациями кальция и магния.

1 — поглощение Ca^{2+} рыбами из озерной воды (о.в.) в растворах CaCl_2 различной концентрации, 2 — то же, после 2 мес акклимации к о.в. + 50 mg/l Ca^{2+} , 3 — то же, после 2 мес акклимации к о.в. + 25 mg/l Mg^{2+} , 4 — поглощение кальция рыбами из о.в. в растворе 0.2 ммоль/л CaCl_2 , 5 — то же, после 2 мес акклимации к о.в. + 25 mg/l Mg^{2+} .

ной акклимации молоди рыб к воде с различным содержанием этих ионов.

Двухмесячная акклимация рыб к воде различного ионного состава позволила установить 2 существенных момента. Во-первых, кинетика поглощения кальция практически не изменяется в результате увеличения концентрации кальция; во-вторых, все закономерности влияния магния на обмен кальция, которые обнаруживаются сразу после изменения концентрации магния, сохраняются и после 2 мес акклимации (рис. 4). Результаты этого эксперимента позволяют сделать вывод, что чем больше концентрация магния в

воде, тем меньше абсорбция кальция из воды, и чем меньше концентрация кальция (особенно ниже K_m), тем большую роль играют ионы магния в метаболизме кальция.

Таким образом, ионы алюминия при концентрации более 100–150 мкг/л нарушают у рыб обмен кальция между организмом и средой. Максимальный эффект алюминия на кальциевый баланс отмечается при pH около 5.0. Относительно низкие величины pH (4.0–5.5) не оказывают существенного воздействия на поглощение и потери кальция у молодых рыб. В сублетальных концентрациях солей меди и кадмия у сеголеток семги снижается поступление кальция из воды. Совместное действие кадмия и меди на обмен кальция суммируется. Увеличение в воде концентрации магния уменьшает абсорбцию кальция рыбами и не влияет на сродство к нему физиологических механизмов транспорта кальция. Акклимация семги к повышенному содержанию магния не вызывает существенных изменений в обмене кальция. Предполагается, что Al^{3+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} , Mg^{2+} конкурируют с Ca^{2+} за перенос через „кальциевые“ каналы, локализованные в клетках жабрного эпителия.

Литература

1. Виноградов Г.А. Процессы ионной регуляции у пресноводных костистых рыб // Структура и функционирование пресноводных экосистем. Л., 1988.
2. Виноградов Г.А., Комов В.Т. Обмен катионов у карася в средах с различным ионным составом // Физиол. журн. 1987. Т. 73, № 7.
3. Виноградов Г.А., Тагунов В.Б. Установка для изучения влияния различных веществ на рыб и беспозвоночных в проточных условиях // Гидробиол. журн. 1989. Т. 25, № 3.
4. Кирпичников В.С., Световидов А.Н., Трошин А.С. Поглощение и отдача радиоактивного кальция дафниями, циклопами и гуппиями // Докл. АН СССР. 1956. Т. 110, № 6.
5. Brković-Popović I., Popović M. Effects of heavy metals on survival and respiration rate of tubificid worms // Environ. Pollut. 1977. Vol. 13, N 1.
6. Brown V.M. The calculation of the acute toxicity of mixtures of poisons to rainbow trout // Water Res. 1968. Vol. 2, N 4.

7. **Brumbaugh W.G., Kane D.A.** Variability of aluminum concentrations in organs and whole bodies of smallmouth bass (*Micropterus dolomieu*) // Environ. Sci. Technol. 1985. Vol. 19, N 9.
8. **Dalmers-Lambert C., Noel-Lambert F., Bouquenean J.M.** Le canal calcique; une voie d'entree des me taux lourds dans les cellules des organismes marins // Oceans. 1988. Vol. 14, N 4.
9. **Fleming W.R.** Electrolyte metabolism of teleost including calcified tissues // Chem. Zool. New York, 1968. Vol. 8.
10. **Haines T.A.** Acid precipitation and its consequences for aquatic ecosystems: a review // Trans. Amer. Fish. Soc. 1981. Vol. 110.
11. **Howels G.** Acid waters — the of low pH and acid associated factors on fisheries // Adv. Appl. Biol. 1983. Vol. 9.
12. **Hunn J.B., Cleveland L., Little E.E.** Influence of pH and aluminium on developing brook trout in a low calcium water // Environ. Pollut. 1987. Vol. 43, N 1.
13. **Krogh A.** Osmotic regulation in aquatic animals. Cambridge, 1939.
14. **Moore J.W., Ramamoorthy A.** Heavy metals in natural waters. Applied monitoring and impact assessment. New York et al., 1984.
15. **Norton S.A., Henriksen A.** The importance of CO₂ in evaluation of effects of acid deposition // Vatten, 1983. Vol. 39, N 4.
16. **Payan P., Mayer-Costan N., Pang P.** Site of calcium uptake in the freshwater trout gill // J. Exp. Biol. 1981. Vol. 216.

Институт биологии внутренних вод
им. И.Д.Папанина АН СССР

А.С.Маврин, В.А.Цельмович**К ВОПРОСУ О МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ
ЧЕШУИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАСТРОВОГО ЭЛЕКТРОН-
НОГО МИКРОСКОПА И РЕНТГЕНОВСКОГО МИКРО-
АНАЛИЗАТОРА**

В настоящее время в экологических работах все больше внимания стали уделять элементному составу внутренней среды организмов в связи с изменением состава внешней среды. Это связано с поиском биологических маркеров, необходимых для установления внутренних ритмов, выявления периодичности (суточной, сезонной, многолетней) различных процессов, происходящих в организме, а также для контроля качества среды обитания, поскольку последняя, испытывая мощный антропогенный пресс, воздействует на организм, меняя при этом элементный состав [11, 28] и в конечном итоге — физиологию и морфологию организма [19, 24, 29].

Наиболее удобными для поиска биологических маркеров качества среды обитания у рыб являются кости, отолиты и чешуя, которые позволяют анализировать очень многие важные биологические характеристики, такие как возраст, темп роста, продолжительность жизни, сезонный рост, и устанавливать принадлежность рыб к той или иной популяции [1-5, 7, 9, 10, 12-15, 17, 18, 21, 26, 27, 30]. Кроме того, кости, отолиты и чешуя являются твердыми, кальцинированными структурами, которые депонируют различные элементы, необходимые организму для нормальной жизнедеятельности и роста в непрерывно изменяющихся условиях внешней среды [6, 25]. Без наличия всех необходимых (в том числе и минеральных) компонентов в среде невозможно строительство нового организма, в частности его опорно-двигательного и вестибулярного аппаратов, чешуйного покрова, других органов и их систем, а уже построенный организм в условиях такого дефицита начинает разрушаться. Все это свидетельствует о важности поиска и установления связей между элементным составом внутренней среды организма и внешними условиями его обитания.

С нашей точки зрения, чешуя — наиболее удобный объект анализа элементного состава у рыб, поскольку позволяет прижизненно наблюдать за рыбой в течение длительного времени и в то же время является достаточно изученной во многих аспектах. В пользу

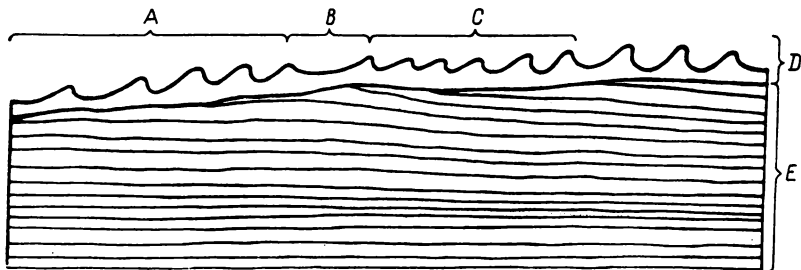


Рис. 1. Поперечный срез через центр чешуи четырехгодовика синца в области годового кольца (x1250).

A — зона склеритов, образовавшаяся в весенний период ускорения роста; *B* — годовая зона; *C* — зона склеритов, образовавшаяся в осенне-зимний период замедления и остановки роста; *D* — костный кальцинированный слой чешуи; *E* — фибриллярные слои.

этого выбора говорит тот факт, что на чешуе сильнее отражаются изменения внешних условий жизни [16]. Использование чешуи в экологических исследованиях предусматривает переход к микроанализу ее составляющих — костного и фибриллярных слоев, поэтому особую важность приобретает методика подготовки чешуи. При ее разработке для изучения морфологии последней с помощью растрового электронного микроскопа (РЭМ) и элементного состава — рентгеновского микроанализатора (РМА) мы стремились получить универсальный метод, не нарушающий естественной морфологии чешуи разного размера и необходимый для объективного анализа. В результате эксперимента была найдена методика, отвечающая этим требованиям.

При подготовке образцов чешуи для исследования в РМА необходимо:

- 1) снять пинцетом, не содержащим исследуемых элементов, нерегенерированную чешую в количестве 3–5 шт. в строго определенном горизонтальном ряду чешуйного покрова рыбы с учетом видовой аллометрии роста тела и чешуи [8] и поместить в ту же воду, где находилась рыба;

- 2) удалить с поверхности чешуи эпидермис с помощью мягкой кисточки и заточенных деревянных палочек;

- 3) перенести в ту же чистую воду очищенную чешую и отмыть от оставшихся на ее поверхности кусочков эпидермиса;

4) нанести на предварительно протертый спиртом предметный столик для исследования в РМА каплю (размер ее зависит от размера чешуи) водостойкого быстросохнущего клея (например, суперцемента), не содержащего исследуемых элементов, и быстро поверх клея поместить каплю дистиллированной воды;

5) убрать заточенной палочкой с поверхности капли воды тонкую пленку клея;

6) поместить в каплю воды, предварительно сориентировав исследуемым слоем вверх, отмытую чешую, слегка придавив ее по всей поверхности к клею;

7) отсосать обеззоленным фильтром воду, коснувшись им края водяной капли;

8) прижать чистым предметным стеклом чешую по всей поверхности к предметному столику, удалив тем самым излишки клея из-под чешуи.

Если размеры чешуи очень малы, то все операции проводятся под биноклем. В результате проведенных операций с чешуей вершины склеритов после высыхания клея расположатся в основном по одной линии, таким образом образец будет готов для анализа с использованием РМА. Для выявления элементного состава в РМА лучшие результаты дает напыление углеродом, так как использование золота приводит к увеличению фона при рентгеновском микроанализе в 3-4 раза [20].

Подготовка образцов для РЭМ не требует применения специальных пинцетов и дистиллированной воды. Предлагаемый метод имеет некоторые преимущества перед предложенным ранее [23], так как позволяет готовить к анализу чешуйные пластинки, имеющие очень маленькие размеры.

Для лучшего понимания процесса анализа образцов в РМА и правильности интерпретации полученных данных рассмотрим поперечный срез чешуи синца известного возраста и профили распределения кальция по линии сканирования участка размером 40x40 мкм, а также фосфора — по продольной оси чешуи, полученные с использованием РМА „КАМЕВАХ“.

На поперечном срезе чешуи (рис. 1) видно, что верхний кальцинированный слой, состоящий в основном из слившихся между собой кристаллов гидроксипатита $3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot \text{Ca}(\text{OH})_2$ с адсорбированным карбонатом [22, 31], имеет в разных местах различную толщину: наибольшую в вершине и наименьшую между вершинами склеритов. Совпадение пиков на профилях распределения Са и Р по линии сканирования заднего сектора чешуи сеголетка синца подтверждает взаимозависимый характер размещения данных элементов в костном слое (рис. 2).

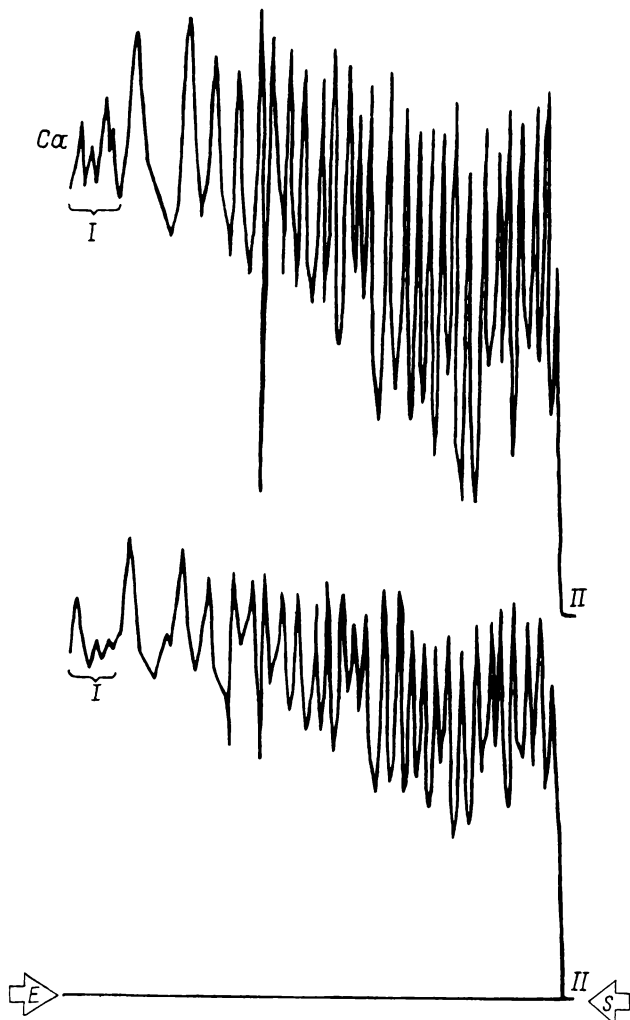


Рис. 2. Профиль распределения кальция и фосфора по линии сканирования через центр вдоль продольной оси заднего радиуса чешуи сеголетка синца.

I — центр чешуи, *II* — задний край чешуи.

Рентгеновский микроанализ чешуи происходит следующим образом: пучок электронов, входя в поверхностный слой чешуи, возбуждает характеристическое рентгеновское излучение (рис. 3), величина которого зависит от плотности образца и может иметь разные размеры: для чешуи с плотностью костного слоя 2 г/см^3 — порядка 2 мкм в глубину образца [20].

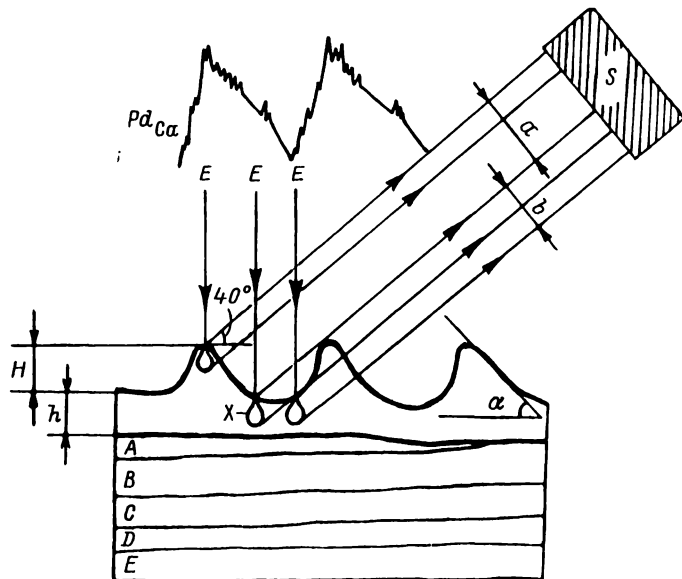


Рис. 3. Схема анализа рентгеновского излучения (срез чешуи, $\times 2000$).

E — пучок электронов, X — область возбуждения рентгеновского излучения, H — высота склерита, $A-E$ — фибриллярные слои. α — область беспрепятственного прохождения рентгеновского излучения, β — область с поглощением рентгеновского излучения вершиной склерита. S — кристалл-дифракционный спектрометр, Pd_{Ca} — профиль распределения кальция.

Поскольку толщина кальцинированного костного слоя чешуи сеголеток равна 3–8 мкм под вершиной склерита и 1.6–3.5 мкм между склеритами, то область возбуждения находится в верхнем слое, где происходит анализ элементного состава.

Далее необходимо разобраться, каким образом происходит анализ выходящего рентгеновского излучения. Кристалл-дифракционный спектрометр расположен под углом 40° к горизонтально сориентированной плоскости предметного столика и находящегося на его поверхности образца, поэтому интенсивность рентгеновского излучения зависит от топографии исследуемого участка. Анализ излучения будет оптимален для вершин склеритов, поскольку на его пути нет никаких преград. Если рентгеновское излучение генерируется в межсклеритных пространствах, то

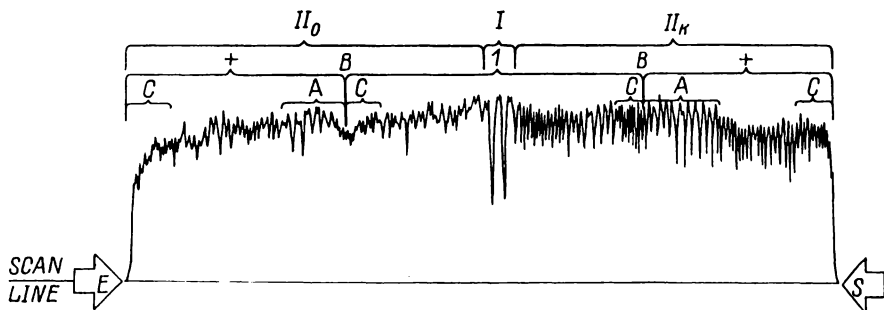


Рис. 4. Профиль распределения фосфора по линии сканирования через центр чешуи двухлетка синца.

I — центр чешуи, II_O — оральный (передний) радиус, II_K — каудальный (задний радиус); 1 — профиль распределения фосфора за 1 год, + — то же, за весенне-летне-осенний период. Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

часть его поглощается вершиной склерита и полуколичественный анализ тем самым будет осложнен. Таким образом, интенсивность рентгеновского излучения между склеритами зависит от расстояния до склерита, находящегося между точкой падения пучка электронов и спектрометром, а также от угла наклона склерита и его высоты (рис. 3).

При анализе профиля распределения исследуемого элемента можно отметить следующие закономерности: чем больше высота склерита и меньше угол его наклона, тем больше разница в показаниях прибора между максимальным (вершина склерита) и минимальным (межсклеритное пространство) значениями (рис. 3). На разницу влияет также положение спектрометра относительно склеритов. Она максимальна при расположении спектрометра со стороны, противоположной углу наклона склерита. Это необходимо учитывать при анализе профилей распределения элементов по линии сканирования через всю поверхность чешуи, поскольку склериты имеют наклон к центру.

Таким образом, если образец подготовлен для РМА правильно, т.е. вершины склеритов находятся на одной линии, можно приступать к полуколичественному анализу образца, в результате чего будет установлено, в какой его части содержание исследуемого элемента больше или меньше. Так, например, нами был проведен рентгеновский микроанализ чешуи двухлетка синца вдоль продольной оси (рис. 4).

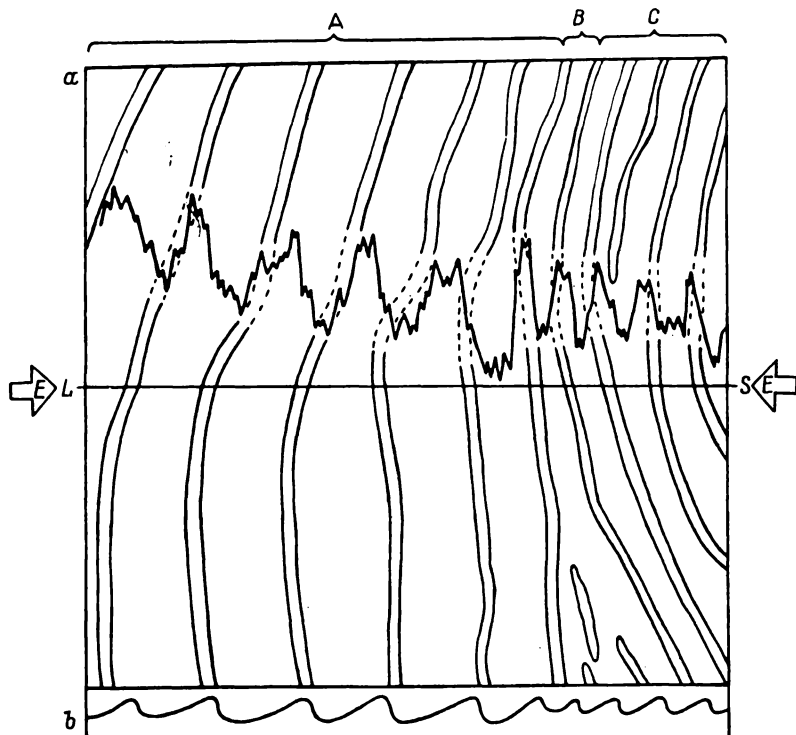


Рис. 5. Профиль распределения кальция по линии сканирования поверхности участка чешуи (40x40 мкм) двухлетка синца в области годового кольца.

a — участок чешуи (вид сверху), *LS* — линия сканирования, *b* — рельеф поверхности участка чешуи по линии сканирования (вид сбоку). Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

Установлено, что число пиков на профиле распределения фосфора соответствует количеству склеритов чешуи по линии сканирования, расстояния между пиками — расстояниям между вершинами склеритов, высота пиков — относительной концентрации фосфора в вершине склерита, низкие значения — межсклеритным пространствам. Рентгеновский микроанализ в области годовой зоны чешуи двухлетка синца показал, что она характеризуется более низкими значениями Ca в осенне-зимний период (время замедления и остановки роста) по сравнению с весенним (ускорения роста) (рис. 5). Для того чтобы доказать, является ли это закономерностью или частным случаем, необходимо

вести дальнейшие исследования в данном направлении. Использование РМА позволило установить в чешуе сеголетка синца наличие кальция, фосфора, цинка, меди, железа, магния, алюминия, кремния, марганца (следы). Элементы расположены в ряду по мере убывания их количества.

Предлагаемая методика подготовки образцов для РЭМ и РМА проста и универсальна. Она позволяет готовить чешую разных размеров — от микроскопически малых до очень больших, не меняя при этом естественную топографию ее поверхности. Рентгеновский микроанализ дает возможность определять относительное содержание элементов в чешуе. Это может быть использовано в экологических исследованиях как для изучения периодичности роста рыб, так и для оценки качества воды на протяжении их жизни.

Литература

1. Брызгин В.Л. Методы изучения роста рыб по чешуе, костям и отолитам. Киев, 1969.
2. Бугаев В.Ф. Об использовании структуры зон сближенных склеритов на чешуе в качестве критерия для дифференциации локальных группировок нерки (*Oncorhynchus nerka* (Walb.)) в бассейне р. Камчатки // Вопр. ихтиологии. 1978. Т. 18, вып. 5.
3. Ваганов Е.А. Склеритограммы как метод анализа сезонного роста рыб. Новосибирск, 1978.
4. Васин О.П. Морфологическая структура популяций и проблемы рационального использования лососевидных рыб // Тез. Координационного совещания по лососевидным рыбам. Л., 1983.
5. Вовк Ф.И. О методике реконструкции роста рыб по чешуе // Тр. биол. ст. „Борок“. М.;Л., 1956. Вып. 2.
6. Воробьев В.И. Микроэлементы и их применение в рыбоводстве. М., 1989.
7. Гончаров А.И., Сметанин М.М. Способ объективного определения возраста и изучения рыб по чешуе // Биология внутренних вод: Информ. бюл. Л., 1974. № 22.
8. Маврин А.С. Формирование чешуйного покрова у синца *Abramis brama* в первый год жизни // Вопр. ихтиологии. 1988. Т. 28, вып. 6.
9. Мина М.В., Клевезаль Г.А. Принципы исследования регистрирующих структур // Успехи соврем. биологии. 1970. Т. 70, вып. 3.

10. Монастырский Г.Н. К методике определения возраста и роста рыб. Красноярск, 1926.
11. Русанов В.В. Влияние различных гидрохимических условий на содержание кальция в костях и чешуе сеголеток и двухлеток карпа // Современные вопросы экологической физиологии рыб. М., 1979.
12. Темных О.С. Применение многомерных статистических методов анализа склеритограмм чешуи для изучения популяционной структуры минтая Японского моря // Биологические ресурсы шельфа, из рациональное использование и охрана: Тез. докл. Владивосток, 1983.
13. Чугунова Н.И. О восстановлении истории индивидуальной жизни рыбы по чешуе // Зоол. журн. 1955. Т. 34, вып. 5.
14. Чугунова Н.И. Руководство по изучению возраста и роста рыб. М., 1959.
15. Bagenal T.B., Mackereth F.J.H., Heron J. The distinction between brown trout and sea trout by the strontium content of their scales // J. Fish Biol. 1973. Vol. 5.
16. Casselman J.M. Calcified tissue and body growth of northern pike, *Esox lucius* Linnaeus. Toronto, 1978.
17. Castonguay M., Fitz G., Gerard J. Critique de la methode de distinction entre poissons anadromes de la meme espece par la teneur en strontium de leurs scailles // Canad. J. Fish. and Aquat. Sci. 1982. Vol. 39, N 10.
18. Doyle R.W., Talbot A.J., Nicholas R.M. Statistical interrelation of length, growth, and scale circulus spacing: appraisal of a growth rate estimator for fish // Canad. J. Fish. and Aquat. Sci. 1987. Vol. 44, N 9.
19. Dwyer F.J., Schmitt C.J., Finger S.E., Mehrlex P.M. Biochemical changes in longear sunfish, *Lepomis megalotis*, associated with lead cadmium and zinc from mine tailings // J. Fish Biol. 1988. Vol. 33, N 2.
20. (Goldstein J.I., Jakowitz H.) Гоулдстейн Дж., Яковид Х. Практическая растровая электронная микроскопия. М., 1978.
21. Jarvis R.S., Klodlowski H.F., Sheldon S.P. New method of quantifying scale shape and an application to stock identification on in walleye (*Stizostedion vitreum vitreum*) // Trans. Amer. Fish. Soc. 1978. Vol. 107.
22. Hiroshi Ouzato, Norimitcu Watabe. Studies on fish scale formation and resorption. 3. Eine strukture und calcification of the fibrillary

- plates of the scales in *Cardssius auratus* (Cypriniformes: Cyprinidae) // Cell and Tissue Res. 1979. Vol. 201, N 3.
23. Hyghes D.R., Haines T.A., Buckler D.R. Preparation of fish scales for sem. Electron microscopy // Micron. Melbourne, 1980. Vol.11, N 3-4.
 24. Lagoe C.H., Haines T.A., Buckler D.R. Abnormal gill development in atlantic salmon (*Salmo salar*) fry exposed to aluminium at low pH // Ann. Soc. roy. zool. Belg. 1987. Vol. 117, Suppl. 1.
 25. Lall S.P. Minerals in finfish nutrition // Finfish nutrition and fishfeed technologie: Proc. world symp. Hamburg. 1978. Berlin, 1979. Vol. 1.
 26. Lapi L.A., Mulligan T.J. Salmon stok identification using a microanalytic technique to measure elements present in the freshwater growth region of scales // Canad. J. Fish. and Aquat. Sci. 1981. Vol. 38, N 7.
 27. Lea E. On the metods used in the herring investigations // Publ. de circonstance. 1910. Vol. 53.
 28. (Moore J.W., Ramamoorthy S.) Мур Дж.В., Рамамурти С. Тяжелые металлы в природных водах. М., 1987.
 29. Pesch H.J., Meyer G.A., Henschke F., Wunder W., Seibold H. Zum Cadmiumorgangehalt von Forellen aus Wöllerchof und Crangfischen aus dem Bodensee. Eine quantitativ analytische und statistische Untersuchung mittels Zeeman — AAS // Fischer und Teichwirt. 1988. Bd 39, N 10.
 30. Segersträl C. Über scalimetrishe Methoden zur Bestimmung des linearen Wachstum bei Fischen // Acta. zool. fenn. 1933. T. 15.
 31. Wallin O. On the growth structure and development physiology of the scale of fishes // Rept. Inst. Freshwater Res. Drottningholm. 1957. Vol. 38.

Институт биологии внутренних вод
им. И.Д.Папанина АН СССР

СОДЕРЖАНИЕ

Вербицкий В.Б., Клерман А.К., Клайн Н.П. Эксперимент в проточных мезокосмах. Методика и схема опытов	3
Виноградов Г.А., Маврин А.С., Тагунов В.Б., Ершов И.Ю. Влияние кальция, магния и тяжелых металлов на молодь леща. Условия проведения эксперимента	9
Земляничная Т.Ю., Виноградова Г.И. Влияние тяжелых металлов, закисления воды и биогенных элементов на фитопланктон в проточных мезокосмах	16
Вербицкий В.Б., Клерман А.К., Коренева Е.А. Воздействие тяжелых металлов и закисления воды на сообщества зоопланктона в проточных мезокосмах . .	21
Метелева Н.Ю. Содержание хлорофилла „а“ в перифитоне в проточных мезокосмах и в эксперименте с рыбами	29
Жуков Б.Ф., Золотарев В.А. Жгутиконосцы перифитона в экспериментальных экосистемах	35
Солнцева И.О., Воронин Л.В., Виноградова Г.И. Микологический контроль воды и рыб в экспериментальных экосистемах	38
Маврин А.С., Виноградов Г.А., Лапирова Т.Б., Ершов И.Ю., Микрякова Т.Ф. Влияние кальция, магния и тяжелых металлов на молодь леща <i>Abramis brama</i> L. Результаты исследований	45
Клайн Н.П., Уморин П.П. Зависимость токсичности хлоратов для водорослей от форм минерального азота	51
Клайн Н.П. Влияние хлорат-иона на водоросли в зависимости от величины рН	57
Виноградов Г.А. Обмен кальция и натрия у рыб при вариации концентраций ионов алюминия, меди, кадмия, магния и водорода	60
Маврин А.С., Цельмович В.А. К вопросу о микроскопических исследованиях чешуи с использованием электронного микроскопа и рентгеновского микроанализатора	69

CONTENTS

Verbitsky V.B., Klerman A.K., Klain N.P. Experiments in flowing mesocosms. Experimental methods and scheme	3
Vinogradov G.A., Mavrin A.S., Tagunov V.B., Yershov I.Yu. Effect of calcium, magnesium and heavy metals on bream juvenile. Experimental procedure	9
Zemlyanitsyna T.Yu., Vinogradova G.I. Effect of heavy metals, water acidification and biogenous elements on phytoplankton in flowing mesocosms . . .	16
Verbitsky V.B., Klerman A.K., Koreneva Ye.A. Impact of heavy metals and water acidification on zooplankton communities in flowing mesocosms . . .	21
Metel'eva N.Yu. Chlorophyll "a" content in periphyton during the experiment with flowing mesocosms and fishes	29
Zhukov B.F., Zolotarev V.A. Perifiton flagellates in experimental ecosystems	35
Solntseva I.O., Voronin L.V., Vinogradova G.I. Mycological water and fish control in experimental ecosystems	38
Mavrin A.S., Vinogradov G.A., Lapirova T.B., Yershov I.Yu., Mikryakova T.F. Effect of calcium, magnesium and heavy metals on juvenile of bream <i>Abramis brama</i> L. Results of investigations	45
Klain N.P., Umorin P.P. Dependence of chlorates toxicity on mineral nitrogen forms for algae . . .	51
Klain N.P. Effect of chlorate-ions on algae depending on pH value	57
Vinogradov G.A. Calcium and sodium exchange at dif- ferent concentrations of aluminium, copper, cadmium, magnesium, hydrogen ions	60
Mavrin A.S., Tseltmovich V.A. To the question of micro- scopic studies of scales by the help of scanning electron microscope and x-ray microanalyzer . . .	69