

ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА ФИТОПЛАНКТОНА КИСЛО-СЛАДКОГО ОЗЕРА СПЕТКРОФОТОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

*Кузнецов Владислав Анатольевич¹, Григорьева Анастасия Александровна¹, Краснова Елена
Дмитриевна²*

¹ — *Кафедра биофизики, физический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва*

² — *Беломорская биологическая станция им. Перцова Н.А. Биологического факультета МГУ им. М.В.
Ломоносова, Москва*

Целью данной работы являлось определение доминирующих групп организмов в разных массах отделяющегося водоема. Исследование было решено провести путём определения пигментного состава различных слоев воды Кисло-сладкого озера и сравнения в них концентраций пигментов.

Определение пигментного состава производилось методом спектрофотометрии. Спектрофотометрия— физико-химический метод исследования растворов и твёрдых веществ, основанный на изучении спектров поглощения. Для получения спектра измеряется оптическая плотность - логарифм светопропускания (т.к. она зависит линейно от концентрации вещества) падающего света от длины волны. Спектрофотометрия предоставляет возможность оценить качественный состав смесей, а также концентрации входящих компонентов.

Одним из ключевых определительных признаков таксономических групп, обитающих в водной среде, является различие пигментов, используемых фотосинтезирующим аппаратом. Различие пигментов, в числе прочего, заключается в различных спектрах поглощения. Поэтому, получив экстракт пигментов организмов, обитающих на той или иной глубине, методом спектрофотометрии по положению и величине пиков полученных спектров мы можем определить пигментный состав данного экстракта и сравнить концентрации различных компонентов. Эти данные позволяют нам делать предположения о таксономической принадлежности обитающих там организмов и об их распространенности на данной глубине.

После гидрологических исследований Кисло-Сладкого озера были получены визуальные оценки качества воды на различных глубинах. Выяснилось, что на глубинах от 0 до 1,7 м вода была прозрачной, начиная с глубины 1,7 м, приобретала зеленоватый оттенок, на уровне 2,2-2,4 м имелся красный слой, а с глубины 2,7 метра вода имела желтовато-зеленый цвет и характерный запах сероводорода. Для исследования нами были отобраны образцы с глубин 0; 1; 2,1; 2,2; 2,3; 2,4; 2,5; 2,7; 4 м.

Первичное изучение проводилось на световом микроскопе LEICA DM 2500 с использованием фильтра TRITC 515-560/580 и на увеличении 20*10 выявило наличие одноклеточных водорослей Rhodomonas малинового цвета (флуоресцировали оранжевым при освещении зеленым) и зеленых кокков (флуоресцируют красным при освещении зеленым) в качестве доминирующих групп. Наибольшее количество представителей рода Rhodomonas было обнаружено на глубинах 2,2 и 2,4 м – т.е. в особо интересующем нас красном слое.

Изучаемые образцы воды центрифугировали для седиментации клеток, после чего из образца удаляли воду. Пробирки с концентратом клеток замораживали для разрушения клеток, что необходимо для выхода из них пигментов. Снятие спектров поглощения производили в ацетоне, а именно в растворе 20% воды и 80% ацетона, на спектрофотометре HITACHI 220, были использованы кварцевые кюветы. Образцы с глубин 0; 1; 2,7 и 4 метра использовали в концентрированном виде (из 400 мл вместо 15 мл для остальных образцов) для большей четкости получаемых графиков (из-за низкой концентрации организмов в исходных образцах и, следовательно, малости пиков в спектрах поглощения). По полученным спектрам были определены длины волн пиков спектра поглощения и соответствующие им пигменты. Были зарегистрированы: хлорофилл а, хлорофилл

b, бактериохлорофилл a, бактериохлорофилл c или g (нельзя определить точно из-за близости характерных пиков) и фикоэритрин. Количественные оценки проводились путем сравнения высоты пиков определенных пигментов на различных глубинах.

При анализе спектров образцов были отмечены некоторые особенности. Спектры поглощения образцов с глубин 0 м и 1 м были практически идентичны спектру поглощения раствора ацетона соответствующей концентрации, что свидетельствует об отсутствии живых организмов в данных пробах. Многие пигменты имели максимум концентрации на глубинах 2,2–2,4 м, поскольку данный слой оказался наиболее населенным, а характер пигментного состава позволяет подтвердить предположение, что доминирующей группой является криптофитовая водоросль рода *Rhodomonas*. Спектры образцов с глубин 2,7 м и 4 м имели одинаковую форму и различались лишь высотой пиков, исходя из чего, можно сделать вывод, что разнообразие и количественное соотношение групп живых организмов на этих глубинах одинаковое, и с увеличением глубины меняется лишь их распространенность.

Полученные методом спектрофотометрии данные хорошо согласуются с наблюдениями посредством микроскопа, а именно – на глубинах 0 м и 1 м практически нет живых организмов, которые начинают появляться на глубинах около 2 м (по данным микроскопа – с 1,7 м); родомоносов много на глубине 2,2 м, меньше на глубине 2,4 м и практически нет на остальных глубинах; слои ниже 2,7 м имеют малое количество организмов, различимых под световым микроскопом.

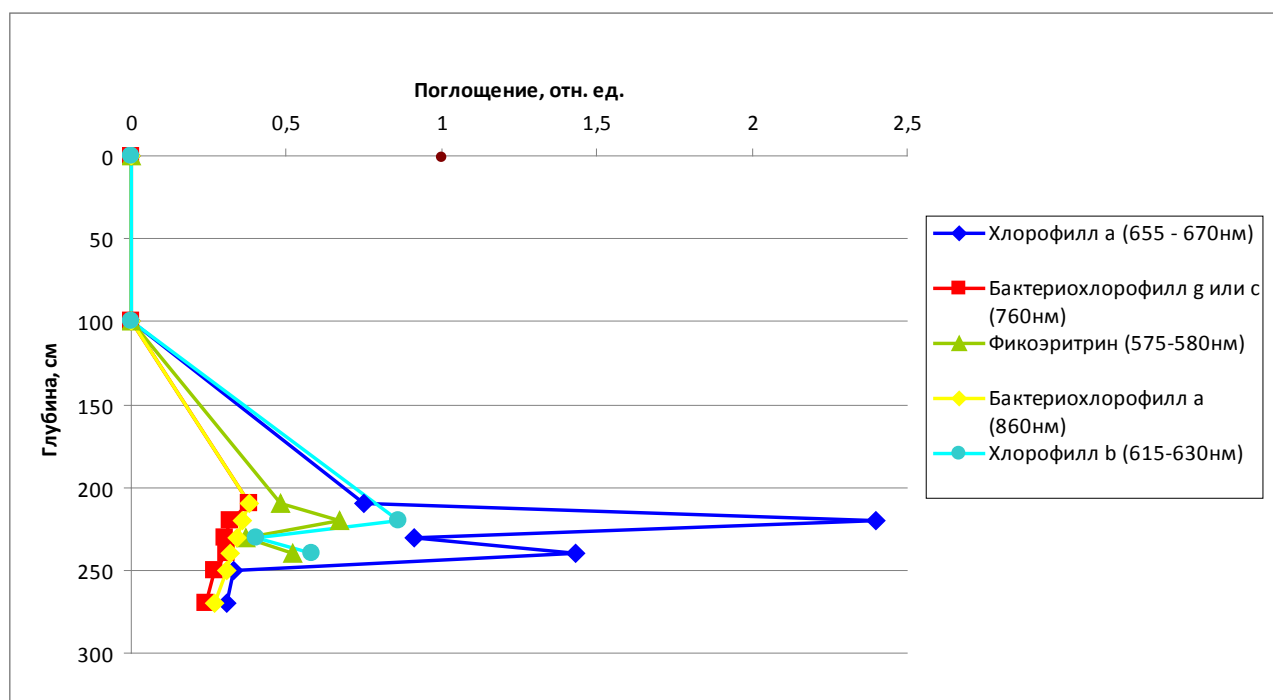


Рис. 1 Распределение пигментов по глубинам.

На Рис. 1 представлено распределение концентраций пигментов по глубинам, из которого мы можем сделать следующие выводы:

В цветных слоях воды обнаружены пигменты хлорофилл a, хлорофилл b, бактериохлорофилл a, бактериохлорофилл c или g, а также фикоэритрин, что свидетельствует о присутствии в пробах криптофитовых водорослей рода *Rhodomonas*, сине-зеленых бактерий и зеленых серобактерий. Данные организмы распределены по слоям следующим образом:

0 – 1,7 м – организмы практически отсутствуют;

1,7 – 2,2 м – преобладают сине-зеленые бактерии;

2,2 – 2,4 м – проявляются пики фикоэритрина и хлорофиллов a и b, что подтверждает наличие большого количества криптофитовых водорослей рода *Rhodomonas*;

2,4 – 2,7 м – виден спад в концентрации пигментов, что подтверждает наблюдения о малом количестве зелёных кокков и криптофитовых водорослей в этих слоях

2,7 – 4 м – преобладают организмы, содержащие бактериохлорофиллы, т.е. зеленые серобактерии, что согласуется с наблюдениями о качестве воды в пробах.