

ГРАНИЦЫ НОРМЫ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ФИТОПЛАНКТОНА В ЭКСПЕРИМЕНТАХ С ЛАБОРАТОРНЫМИ АЛЬГОЦЕНОЗАМИ

Бобырев П.А., Фурсова П.В., Рисник Д.В., Воронова Е.Н., Погосян С.И.

Биологический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

fursova@biophys.msu.ru

Аннотация: на лабораторных данных апробирован метод локальных экологических норм (ЛЭН), позволяющий оценить состояние экосистемы в условиях одновременного воздействия множества факторов среды. Проведены эксперименты с культурами водорослей и цианобактерий в контролируемых условиях воздействия трех химических агентов в диапазоне качества среды от нормы до очевидного неблагополучия. Анализ результатов позволил констатировать работоспособность метода ЛЭН и подобрать оптимальные параметры его работы.

1. Введение

Для оценки воздействия на экосистему тех или иных факторов широко используют биоиндикацию – метод оценки качества природной среды по состоянию ее биоты. Традиционными показателями, играющими индикационную роль в исследованиях водоемов, являются видовой состав, численности, биомассы, сапробности видов-индикаторов и многие другие. Гидробиологические методы, основанные на таких показателях, имеют ряд недостатков, в связи с чем предприняты попытки поиска альтернативных подходов. Одним из таких подходов можно считать комплекс биофизических методов, основанных на интерпретации показателей флуоресценции хлорофилла зеленых растений. В настоящее время эти методы получают все более широкое распространение в прикладных исследованиях, связанных с оценкой состояния экосистем и определением пороговых уровней неблагоприятных воздействий различной природы. Однако, несмотря на возможность использования индикаторов с высокой биоиндикационной способностью, сохраняется проблема установления численных границ нормы (разделяющих норму и отклонение от нормы) для индикаторов.

В настоящей работе проведена апробация метода локальных экологических норм (Рисник и др., 2016) по данным экспериментов с моно- и поликультурами водорослей и цианобактерий.

2. Объекты и методы

Для экспериментов были выбраны культуры микроводорослей *Anabaena variabilis*, *Pleurochloris magna*, *Ankistrodesmus falcatus* и *Stichococcus bacillaris*. Клетки этих видов обладают схожими условиями оптимального роста (свет, температура, потребности в элементах питания) и, в тоже время, характеризуются морфологическими различиями, достаточными для высокой точности подсчета численности при микроскопировании. В качестве действующих токсикантов использовали медь, цинк и диурон. Концентрации токсикантов меняли в пределах от 1 до 100 ПДК для цинка и меди и до 10 ПДК для диурона.

Культивирование водорослей проводили накопительным методом на основе среды BG11, модифицированной для работы с пресноводными видами и с добавками микроэлементов (Allen, 1968).

Флуоресценцию фитопланктона измеряли на модифицированной версии флуориметра «Мега 25». Измерения спектров поглощения света суспензией водорослей проводили на портативном однолучевом спектрофотометре на базе спектрометра USB4000 (Ocean Optics).

Подсчет клеток осуществляли по фотоснимкам, обработанным специализированным программным обеспечением (программа Fiji (Schindelin et. al, 2012), базирующаяся на программном обеспечении ImageJ 1.49f). В результате получали численности и средние размеры клеток каждого вида в поликультуре, затем рассчитывали общую биомассу.

Анализ полученных экспериментальных данных проводили методом локальных экологических норм. Метод основан на компьютерном анализе взаимного распределения биологических и физико-химических характеристик, а именно на поиске таких границ норм фактора (ГНФ) и индикатора (ГНИ), чтобы благополучные значения индикатора соответствовали допустимым значениям фактора, а недопустимые значения фактора – неблагоприятным значениям индикатора. Расчеты проводили при помощи программы по установлению границ качественных классов (Гончаров и др., 2012), реализующей алгоритмы метода ЛЭН.

2. Результаты и обсуждение

В работе проанализировали данные по 28-ми биоиндикаторам: различные показатели флуоресценции, спектральные характеристики; численности и средние объемы клеток каждого вида; параметры ранговых распределений численностей видов в пробе; индексы выравнимости; непараметрические индексы видового разнообразия; индекс сапробности фитопланктона.

Для каждого индикатора рассчитывали границу нормы, определяли существенные факторы и их границу нормы. Оценивали полноту вклада фактора в степень неблагоприятия индикатора. Проводили сравнение биоиндикаторов по средней силе связи с факторами количеству найденных существенных факторов и их среднегеометрическому значению. Полученные данные показали, что в лабораторных условиях все три рассматриваемых фактора действовали хотя бы на один из представленных показателей флуоресценции.

Экологическое неблагоприятие при воздействии диурона регистрировали при концентрациях свыше 1.3 мг/л, что близко к минимальной из исследованных концентраций и лишь незначительно превышает ПДК. Наиболее чувствительным индикатором к действию диурона оказалась биомасса *Stichococcus bacillaris*.

Переход лабораторного альгоценоза в состояние «неблагополучия» был зарегистрирован при превышении концентрации цинка в 28.8 мг/л. При этом первым ответом клеток было изменение содержания хлорофилла «а» (индикатор D678 – коэффициент поглощения на длине волны 678 нм).

Негативное влияние меди отмечали при концентрации выше 51.8 мг/л. Показателем, для которого была установлена такая ГНФ, оказался индекс Симпсона. Хорошим сенсором загрязнения медью показал себя индикатор D678/D480 (отношение хлорофилл «а»/каротиноиды).

Данные по индикатору D678/D628, характеризующему отношение содержания хлорофилл/фикобилины, позволили предположить, что спектральное определение цианобактериального развития является более чувствительным методом диагностики воздействия химических факторов, представленных в настоящей работе, нежели гидробиологическое.

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ (проект № 15-04-02601).

Литература

- Гончаров И.А., Левич А.П., Рисник Д.В. Программа установления границ качественных классов для количественных характеристик систем и установления взаимосвязи между характеристиками (Программа установления ГKK). Роспатент, № 2012616523; 2012.
- Рисник Д.В., Левич А.П., Фурсова П.В., Гончаров И.А. Алгоритм метода по расчету границ качественных классов для количественных характеристик систем и по установлению взаимосвязей между характеристиками. Часть 1. Расчеты для двух качественных классов // Компьютерные исследования и моделирование. – 2016. – Т. 8, № 1. – С. 19–36.
- Allen M.M. Simple conditions for growth of unicellular blue-green algae on plates // J. Phycol. 1968. Vol. 4. P. 1–4.
- Schindelin J., Arganda-Carreras I., Frise E., Kaynig V., Longair M., Pietzsch T., Preibisch S., Rueden C., Saalfeld S., Schmid B., Tinevez J.-Y., White D. J., Hartenstein V., Eliceiri K., Tomancak P., Cardona A. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis // Nature Methods. 2012. Vol. 9. N 7. P. 676–682.