

ЭКОЛОГИЯ

УДК 574.6.632:581.52.325.3:504.054

ВЛИЯНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА МОРСКОЙ ФИТОПЛАНКТОН

В.И. Капков, О.А. Беленикина, В.Д. Федоров

(кафедра гидробиологии; e-mail: chelena45@mail.ru)

Ответные реакции фитопланктонного сообщества были использованы в системе биологического мониторинга загрязнения морской среды тяжелыми металлами (ТМ). При исследовании токсичности ТМ при их совместном присутствии в среде на популяции планктонных водорослей в опытах *in situ* на Белом море использован многофакторный эксперимент. Установлено, что в условиях изоляции преимущества имеют водоросли с высокой скоростью роста численности, выделяющие метаболиты, которые ограничивают развитие партнеров по сообществу. Водоросли реагировали на добавки в среду отдельных металлов и их комбинаций чрезвычайно индивидуально. Изменение численности доминирующих видов приводило к нарушению структуры фитопланктонного сообщества. Показано, что на фоне конкуренции за биогенные элементы и пространство при загрязнении среды ТМ в развитии фитопланктона имеются кардинальные точки, определяющие рост отдельных популяций водорослей и планктонного сообщества в целом.

Ключевые слова: морской фитопланктон, тяжелые металлы, биологический мониторинг, полный факторный эксперимент, опыты *in situ*.

При проведении биологического мониторинга загрязнения морских экосистем первостепенное значение приобретают не столько изменения среды как таковой, сколько отклики гидробионтов на воздействие антропогенных факторов. Ответные реакции фитопланктона как основного продуцента органического вещества в море на добавки в среду тяжелых металлов (ТМ) могут быть успешно использованы в системе биомониторинга загрязнения морской среды. Следует отметить, что ранее обычно изучалось влияние отдельных металлов на тестовые организмы как в лаборатории, так и в изолированных контейнерах с планктоном в опытах *in situ*, в то время как в природной среде гидробионты сталкиваются с ситуацией, в которой на них воздействуют одновременно комбинации нескольких факторов. Эксперименты по исследованию комбинированной токсичности ТМ были впервые проведены на культурах одноклеточных водорослей в лабораторных условиях [1, 2]. Однако данные о токсичности металлов, полученные в лаборатории, с большими оговорками можно экстраполировать на природное фитопланктонное сообщество, состоящее из десятков видов и функционирующее в присутствии многих абиотических и биотических факторов среды. В этой связи особый интерес представляли исследования отклика фитопланктонного сообщества на действие нескольких ТМ при их совместном присутствии в среде. Получение информации по данному вопросу связано, как было показано, с определенными трудностями при постановке эксперимен-

та, с последующей обработкой и интерпретацией полученных результатов [3, 4].

Существенный прогресс в изучении действия ТМ на водные организмы наметился в опытах с изолированными объемами природной среды, которые стали широко использоваться как один из подходов при исследовании влияния загрязняющих веществ на планктонное сообщество. Стало очевидным также, что стратегическую основу изучения комбинированной токсичности металлов на природные популяции фитопланктона должен составлять многофакторный эксперимент, планируемый на базе математически обоснованных схем его постановки. В этой связи с целью повышения эффективности исследования необходимо было отказаться от классической схемы и использовать метод многофакторного эксперимента, который предусматривает варьирование сочетаний концентраций ТМ и позволяет оценивать эффекты их комбинированной токсичности, которые проявляются не только во взаимном усилении или ослаблении влияния, но и в появлении качественно новых эффектов [5, 6]. Такой подход также дает возможность исследовать одновременно и независимо друг от друга действие различных по природе факторов на биологические сообщества.

Данная работа представляет собой часть комплексного исследования по программе биомониторинга состояния фитопланктонного сообщества экосистемы Белого моря.

Материал и методы

Экспериментальные исследования проводили в августе в Нильмо-губе Кандалакшского залива Белого моря. В работе использовали стеклянные емкости объемом 20 л с морской водой, отобранной с поверхностного горизонта моря и отфильтрованной через газ № 37 для удаления организмов зоопланктона. Для выравнивания исходной численности водорослей в опытные сосуды вносили по 1 л концентрированного сетного фитопланктона, полученного в результате 20 ловов планктонной сетью (газ № 76) и добавленного в 10 л фильтрованной морской воды с места проведения эксперимента. В сосуды добавляли растворы солей кадмия, кобальта и меди по плану полного факторного эксперимента ПФЭ 2³. За нижний уровень факторов была принята уже имеющаяся концентрация тяжелых металлов в воде. В этом случае в матрице планирования опытный сосуд без добавок солей металлов служил одновременно контролем. На верхнем уровне факторов в опытные сосуды были внесены добавки солей металлов в сублетальной концентрации 50 мкг/л, установленной в предварительном эксперименте. Сосуды экспонировали в поверхностном горизонте моря на глубине 0,5 м на специальном плоту в течение 7 сут. Пробы фитопланктона из опытных сосудов и моря отбирали на 1, 3, 5 и 7-е сут, фиксировали 2%-м нейтральным раствором формалина и концентрировали осадочным способом в течение недели в темноте. После осаждения водорослей воду из сосуда над осадком планктона декантировали с помощью сифона со стеклянным фильтром со скоростью падения уровня в пробе 3 см/час до объема 25 мл. Счет водорослевых клеток и определение видового состава производили в камере Ножотта объемом 1/20 мл. Доминирующие виды фитопланктона определяли по методу, предложенному В.Д. Федоровым [7]. При определении численности фитопланктона в каждой пробе просчитывали не менее 3000 клеток. Кроме того, крупные по размеру виды водорослей, такие как *Ceratium fusus* ($V > 40 \times 10^3$ мкм³), *Dityllum brightwellii* ($V > 95 \times 10^3$ мкм³) и *Coscinodiscus concinnus* ($V > 1300 \times 10^3$ мкм³) были просчитаны в камере Богорова во всем объеме пробы. В статье приводятся данные по изменению численности 12 видов водорослей, которые постоянно обнаруживались во всех пробах.

Для определения в фитопланктонном сообществе групп водорослей, которые сходным образом реагировали на добавки в среду исследуемых металлов, использовали метод иерархического кластерного анализа [8].

Результаты и их обсуждение

В августе фитопланктон представлен переходным комплексом (когда в сообществе наряду с

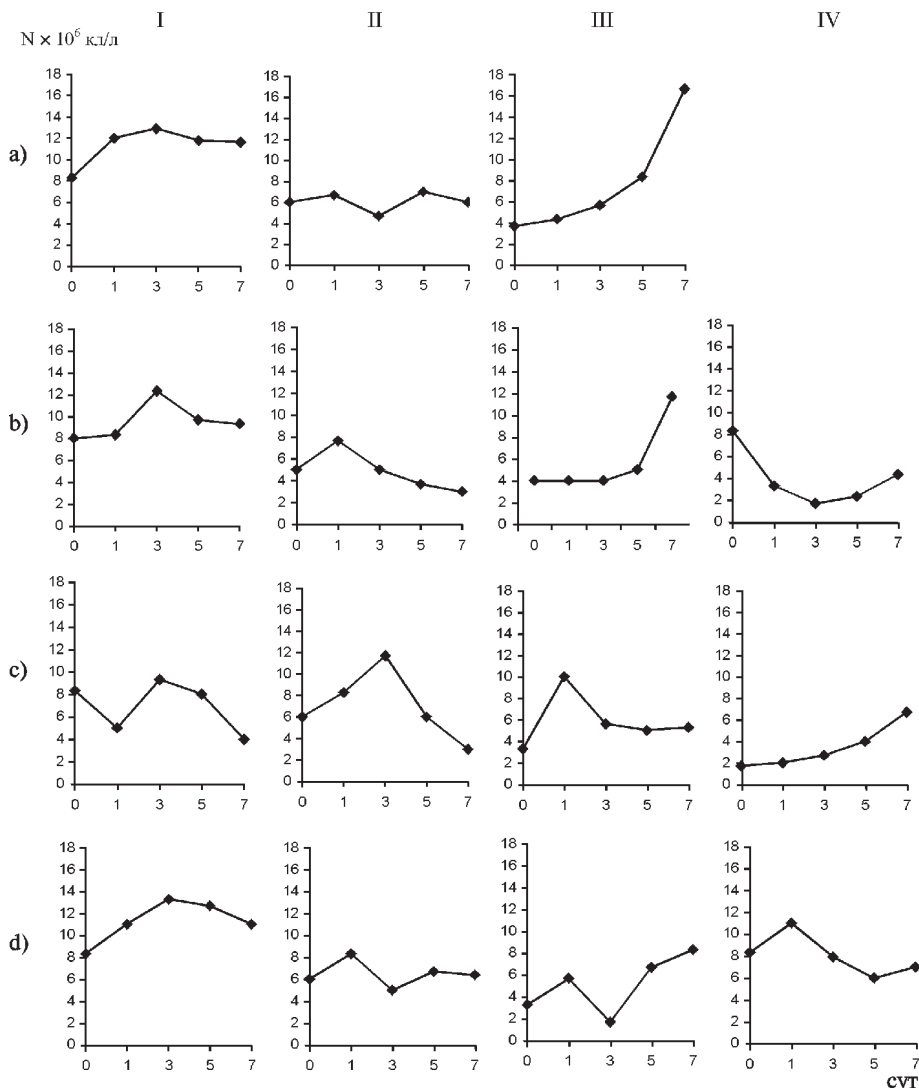
осенними формами сохраняются в большом количестве водоросли летнего комплекса), поэтому индекс видового разнообразия достаточно высок [9]. В фитопланктоне во время проведения эксперимента было обнаружено 33 вида, среди которых на долю диатомовых водорослей приходилось почти 80%. В пробах были также обнаружены мелкие жгутиковые формы, таксономическую принадлежность которых не идентифицировали. Структурными доминантами оказались диатомовые водоросли: *Navicula* sp., *Chaetoceros constrictus* Gran. и *Dityllum brightwellii* (West.) Grunow. Субдоминантными водорослями, численность которых составляла менее половины от численности массовых видов были: *Chaetoceros curvisetus* Cl., *Chaetoceros radicans* Schutt, *Coscinodiscus concinnus* W.Sm. Среди динофлагеллят, которые составляли 15% численности сообщества, массовыми видами были: *Ceratium fusus* (Erh.) Dujard., *Dinophysis norvegica* Clap. et Lach. и *Gymnodinium* sp.

Как следует из данных, приведенных на рисунке (aI, aII, aIII), в контроле на фоне конкуренции за биогенные элементы и пространство преимущество в росте получили С-стратеги с высокой скоростью роста популяций за счет быстрого изъятия минерального ресурса, выделения токсичных метаболитов (*Navicula* sp., *Ch. diadema* (Ehr.) Gran.) и способности некоторых из них (*Thalassionema nitzschioides* (Grunow) Meresch.) к гетеротрофному питанию. Численность популяций этих мелких по объему водорослей ($0,6\text{--}2,2 \times 10^3$ мкм³) с высокой скоростью деления клеток (< 10 ч) за время эксперимента увеличилась в несколько раз.

Сравнение результатов изменения численности в опытных и контрольных сосудах свидетельствует о том, что разнообразие откликов водорослей обусловлено в первую очередь наличием в среде тяжелых металлов (ТМ), определяющих развитие некоторых популяций в сообществе. При этом большинство видов реагировало на добавки в среду ТМ индивидуально и разнонаправлено. Среди массовых по численности видов не обнаружено по крайней мере двух водорослей, ответные реакции которых были бы сходными на одиночные металлы и их комбинации. Наиболее чувствительными к действию ТМ оказались диатомовые водоросли *Ch. radicans* и *Dityllum brightwellii* (West.) Grunow, особенно в присутствии ионов кадмия и меди. Следует отметить, что размерные и морфологические характеристики этих водорослей существенно различаются. Одиночные клетки *D. brightwellii* на два порядка больше, чем клетки *Ch. radicans* ($< 1,0 \times 10^3$ мкм³) собранные в цепочки. Как правило, водоросли с высоким отношением площади к объему (S/W) имеют большую скорость потребления минеральных солей, включая тяжелые металлы, что приводит к накоплению их токсичных концентраций

в клетке [10]. В то же время другие водоросли с малыми объемами клеток оказались устойчивыми к ТМ, что предполагает наличие у них других механизмов обеспечения устойчивости. Высокая устойчивость к ТМ обнаружилась у *Th. nitzschoides* и в меньшей степени у другой диатомеи — *Ch. curvisetus*. Ранее на культурах морских одноклеточных водорослей были выявлены виды с разными формами устойчивости к ТМ. Водоросли с упругой устойчивостью были способны переносить токсический стресс и после периода угнетения возвращаться к нормальному росту. Водоросли с резистентной устойчивостью поддерживали близкий к контролю рост в широком диапазоне концентраций ТМ в среде [11]. Токсичность для водорослей тяжелых металлов обусловлена их накоплением в клетке в результате связывания в хелатные комплексы белками и другими макромолекулами. В то же время одной из защитных систем клетки является связывание токсичных ТМ с образованием металлотионеинов, синтез которых индуцируется некоторыми тяжелыми металлами [12].

В норме в летний период смена доминирующих видов в фитопланктоне Нильмо-губы происходит в разные годы с интервалом от одной до полутора недель. При этом функциональные доминанты фитопланктона не всегда оказываются доминирующими по численности водорослями. Испытанные ТМ вызывали гибель наиболее чувствительных водорослей, изменяя численность отдельных популяций в течение первых и последующих суток эксперимента, что приводило к смене доминирующих видов и нарушению важнейших показателей структуры фитопланктонного сообщества. При добавках в среду ионов кадмия и меди или комбинации этих металлов доминирующими видами становились *Th. nitzschoides* и две субдоминантные диатомеи *Ch. curvisetus* и *C. concinnus*. Наблюдаемый рост этих устойчивых к ТМ видов на фоне элиминации чувствительных, вероятно, обусловлен пере-



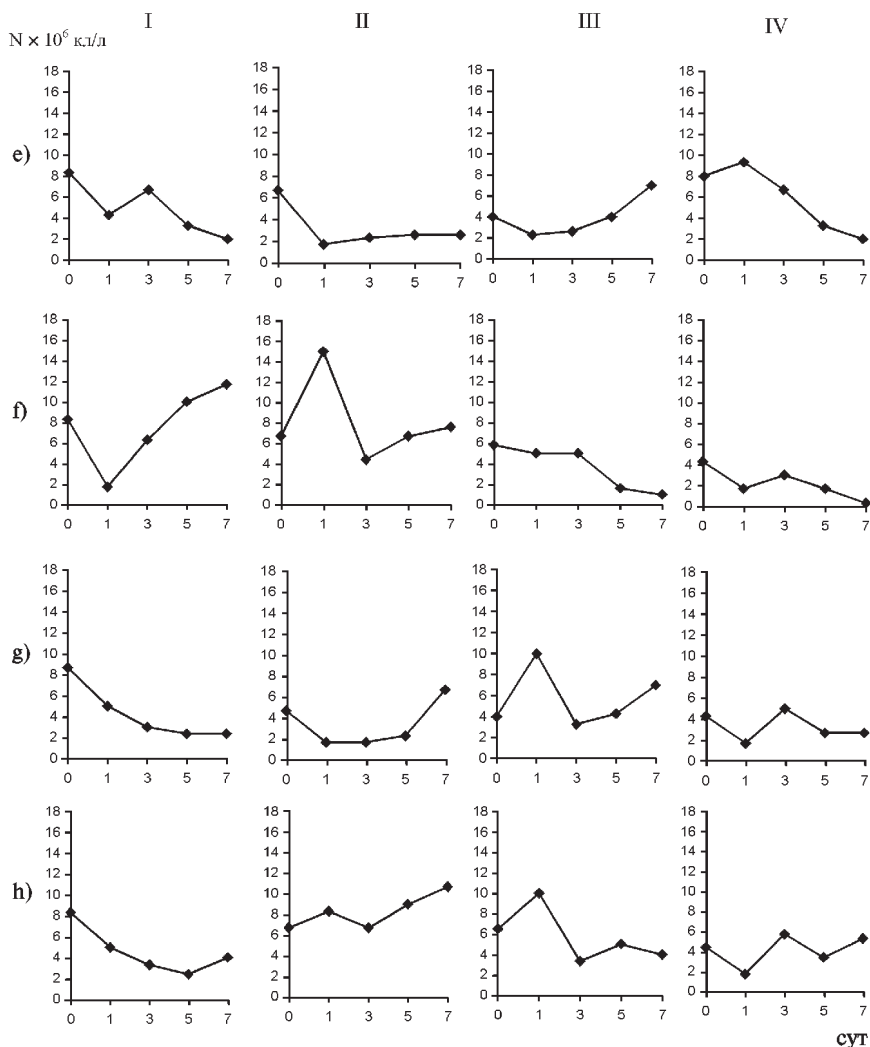
Изменение численности популяций
По оси ординат — численность клеток водо-
а) контроль, ТМ: б) Cd; в) Cu; г) Co; д) Cd + Cu;

I, II, III, IV — кластеры, в которые

- а) I — *Chaetoceros constrictus*, *Ch. curvisetus*, *Coscinodiscus concinnus*, *Gymnodinium* sp.; а) II — *Me-*
ма, *Ch. radicans*, *Thalassionema nitzschio-*
б) I — *Ch. constrictus*, *D. norvegica*; б) II — *Navicula* sp., *Ch. radicans*, *Ch. diadema*, *D. brightwellii*,
muloides, *D. norvegica*,
в) I — *Ch. constrictus*, *C. fusus*, *Gymnodinium* sp.; в) II — *Navicula* sp., *Ch. diadema*, *D. brightwellii*,
lodes, *Th. nitz-*
д) I — *Navicula* sp., *Ch. constrictus*, *Ch. curvisetus*, *C. concinnus*, Жзымиковые; д) II — *Ch. radi-*
д) IV — *D. norvegi-*
е) I — *Navicula* sp., *Ch. diadema*, *Ch. radicans*, *C. fusus*; е) II — *Ch. constrictus*, *M. nummuloides*,
schiodes, *Gymno-*
ф) I — *Ch. constrictus*, *Ch. curvisetus*, *Th. nitzschoides*, Жзымиковые; ф) II — *Ch. diadema*, *Gymnodi-*
г) I — *Navicula* sp., *Ch. radicans*, *D. brightwellii*, *Gymnodinium* sp.; г) II — *Ch. constrictus*, *Ch. cur-*
M. nummuloides,
h) I — *Navicula* sp., *Ch. constrictus*, *Ch. radicans*, *D. brightwellii*, *Gymnodinium* sp.; h) II —
h) IV — *D. norvegica*,

ходом резистентных особей в экспериментальных сосудах на гетеротрофное питание продуктами распада отмирающих клеток.

Устойчивое существование видов в природных комплексах фитопланктона обеспечивается способностью отдельных популяций водорослей противостоять экстремальным экологическим и антропо-



водорослей под действием ТМ.
 рослей, по оси абсцисс — время в сутках.
 ф) Cd + Co; г) Cu + Co; h) Cd + Cu + Co.
 сгруппировались водоросли.

losira nummuloides, *Dinophysis norvegica*, *Dityllum brightwellii*; а) III — *Navicula* sp., *Ch. diadema*, *Ceratium fusus*, Жгутиковые; б) III — *Ch. curvisetus*, *Th. nitzschoides*, *C. fusus*, *C. concinnus*; в) IV — *M. nummuloides*, *Gymnodinium* sp.; *D. norvegica*; г) III — *Ch. curvisetus*, *Ch. radicans*, *C. concinnus*, Жгутиковые; д) IV — *Ch. curvisetus*, *Ch. diadema*, *D. brightwellii*; е) III — *M. nummuloides*, *Th. nitzschoides*, *Gymnodinium* sp.; *ca*, *C. fusus*; *D. norvegica*; е) III — *Ch. curvisetus*, *C. concinnus*, Жгутиковые; е) IV — *D. brightwellii*, *Th. nitzschoides* sp.; ф) III — *Ch. radicans*, *D. brightwellii*, *D. norvegica*, *C. fusus*; ф) IV — *M. nummuloides*, *visetus*, *Th. nitzschoides*, *C. concinnus*, Жгутиковые; г) III — *Ch. diadema*, *C. fusus*; г) IV — *D. norvegica*; *Ch. curvisetus*, *C. concinnus*, *Th. nitzschoides*; h) III — *Ch. diadema*, *C. fusus*, Жгутиковые; *M. nummuloides*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hutchinson T.S. Comparative studies of the toxicity of heavy metal to phytoplankton and their synergistic interaction // Water Pollut. Res. in Canada. 1973. Vol. 8. P. 68—90.
2. Braek G.S., Jensen A., Mohus A. Heavy metal tolerance of marine phytoplankton. III Combined effects of cop-

per and zinc ions on culture of four common species // J. Exp. Mar. Biol. 1976. Vol. 25. P. 37—50.

3. Максимов В.Н., Капков В.И. Исследование комбинированного действия загрязняющих веществ на биологические системы водоемов // Информационный бюлле-

генным факторам и восстанавливаться после перенесенного стресса. Известно, что водоросли фитопланктонного сообщества в ходе эволюции выработали разные первичные жизненные стратегии. Полученные результаты свидетельствуют о том, что некоторые из них способны подавлять рост других видов сообщества путем выделения в среду токсичных метаболитов (*Navicula* sp., *C. fusus*, *D. norvegica*, *Gymnodinium* sp.). Другие виды оказались устойчивыми к конкурентному вытеснению за счет способности к росту при низких концентрациях биогенных элементов и толерантности к токсичным метаболитам партнеров по сообществу (*Ch. constrictus*, *Ch. curvisetus*, *C. concinnus*). Третьи водоросли способны переходить на миксотрофный тип питания, обеспечивая этим высокие скорости роста популяции (*Th. nitzschoides*) [13]. Этим объясняется более высокая устойчивость к ТМ фитопланктонного сообщества по сравнению с отдельными лабораторными культурами водорослей. При этом смешанные культуры нескольких водорослей реагируют на добавки в среду ТМ аналогично природному фитопланктону [4].

Динамика численности водорослей в опытах *in situ* свидетельствует о том, что на фоне конкуренции за биогенные элементы и пространство при антропогенном загрязнении морской среды ТМ в развитии фитопланктонного сообщества возникают периоды или кардинальные точки роста, определяющие дальнейшее функционирование отдельных популяций водорослей и сообщества в целом. При этом путь, по которому пойдет дальнейшее развитие фитопланктонного сообщества в условиях взаимодействия экстремальных экологических и антропогенных факторов, часто оказывается трудно предсказуемым.

тень по водному хозяйству. М: Изд-во СЭВ, 1979. № 2(24). С. 38—42.

4. *Thomas W.H., Hollibaugh Y.T., Seibert D.L., Wallace G.T.* Toxicity of mixture of ten metals to phytoplankton // *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 1980. Vol. 2. N 3. P. 212—220.

5. *Максимов В.Н., Капков В.И., Шидловская Н.А.* Некоторые подходы к изучению влияния антропогенного фактора на примере морских экосистем / *Природа океана*. М: Изд-во Моск. ун-та, 1983. С. 106—110.

6. *Максимов В.Н., Гупта А.* Комбинированное действие некоторых тяжелых металлов на морской фитопланктон // *Вестн. Моск. ун-та. Сер. Биология*. 1992. № 2. С. 51—57.

7. *Федоров В.Д.* Доминирующие формы фитопланктона Белого моря // *Докл. АН СССР*. 1969. Т. 188. № 3. С. 694—696.

8. *Терехин А.Т.* Методы статистического анализа многомерных данных. Математико-статистические методы

анализа и планирования эксперимента // *Вопросы кибернетики*. 1978. Вып. 47. С. 36—51.

9. *Федоров В.Д., Смирнов Н.А., Кольцова Т.И.* Сезонные комплексы фитопланктона Белого моря и анализ индексов сходства // *Изв. АН СССР. Сер. биол.* 1982. № 5. С. 715—721.

10. *Капков В.И.* Водоросли как биомаркеры загрязнения тяжелыми металлами морских прибрежных экосистем: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М., 2003. 48 с.

11. *Капков В.И., Беленикина О.А.* Исследование устойчивости массовых видов морских водорослей к тяжелым металлам // *Вестн. Моск. ун-та. Сер. Биология*. 2007. № 1. С. 35—38.

12. *Reddy G.N., Prasad M.N.V.* Heavy metal binding proteins. Polypeptides: occurrence, structure, synthesis and function // *Environ. Exp. Bot.* 1990. Vol. 3. P. 251—264.

13. *Ильяш Л.В., Житина Л.С., Федоров В.Д.* Фитопланктон Белого моря. М: Янус-К, 2003. 168 с.

Поступила в редакцию
30.10.09

EFFECT OF HEAVY METAL TO PHYTOPLANKTON MARINE

V.I. Kapkov, O.A. Belenikina, V.D. Fedorov

The combined effect of Cd, Co and Cu to phytoplankton marine in situ experiment was investigated using the full factorial design. The samples were taken before of heavy metal and 1, 3, 5 and 7 days after for to count up of cell number. It was found that various species differ significantly in their response the action heavy metal and their mixture. During exposition reduction of species diversity occurred and population density of most abundant algae decreased. The effect of heavy metal on the decrease of species number and structure of phytoplankton community was also estimated.

Key words: *phytoplankton marine, heavy metal, biological monitoring, full factorial design, experience in situ.*

Сведения об авторах

Капков Валентин Иванович — докт. биол. наук, проф. кафедры гидробиологии биологического факультета МГУ. Тел. (495)939-25-73; e-mail: chelena45@mail.ru

Беленикина Ольга Алексеевна — канд. биол. наук, науч. сотр. кафедры гидробиологии биологического факультета МГУ. Тел. (495)939-25-73.

Федоров Вадим Дмитриевич — докт. биол. наук, проф., зав. кафедрой гидробиологии биологического факультета МГУ. Тел. (495)939-11-48.