Co się dzieje w kropli wody morskiej?

Kropla wody morskiej
bywa niekiedy rezerwuarem obfitującym w różne formy życia. Możemy znaleźć w niej wirusy, bakterie, grzyby, glony, drobne zwierzęta. Szczególne znaczenie w morskim ekosystemie odgrywają organizmy fitoplanktonowe: cyjanobakterie i glony. Stanowią podstawowe ogniwo piramidy troficznej, są głównym źródłem materii organicznej w środowisku wodnym, asymilują dwutlenek węgla i produkują tlen w ilości przewyższającej emisję tlenu wytwarzanego przez rośliny lądowe. Obok parametrów fizycznych i chemicznych glony mogą być również wskaźnikami warunków środowiskowych. Zanieczyszczenia w różny sposób działają na glony, w zależności od wrażliwości organizmu oraz warunków środowiskowych, które mogą potęgować lub osłabiać efekt działania toksycznych związków. Skutki obecności toksyn w morzu są nadal słabo poznane, głównie z uwagi na to, że rozmaite organizmy reagują na nie w różnym stopniu.

Należy podkreślić, że niektóre szkodliwe związki, które przedostają się do wody morskiej i występują w niej w stężeniach nie zagrażających naszemu zdrowiu, mogą podlegać kumulacji w organizmach określonych zwierząt morskich. W ten sposób zachowują się m.in. związki rtęci. W ostatnich dekadach dużym problemem staje się zakwaszanie środowiska wodnego, przede wszystkim mórz i oceanów. Zjawisko to jest wywołane głównie spalaniem paliw kopalnych, jak ropa naftowa i węgiel.

Dysponujemy różnymi technikami sprawdzania obecności w wodzie różnorodnych związków zarówno szkodliwych jak i pożytecznych, naturalnych i sztucznie do niej wprowadzonych. Ocena wpływu wybranych czynników abiotycznych na wzrost glonów morskich jest przedmiotem badań prowadzonych od szeregu lat i aktualnie realizowanych w Pracowni Biochemii Morza Zakładu Chemii i Biochemii Morza Instytutu Oceanologii PAN w Sopocie.

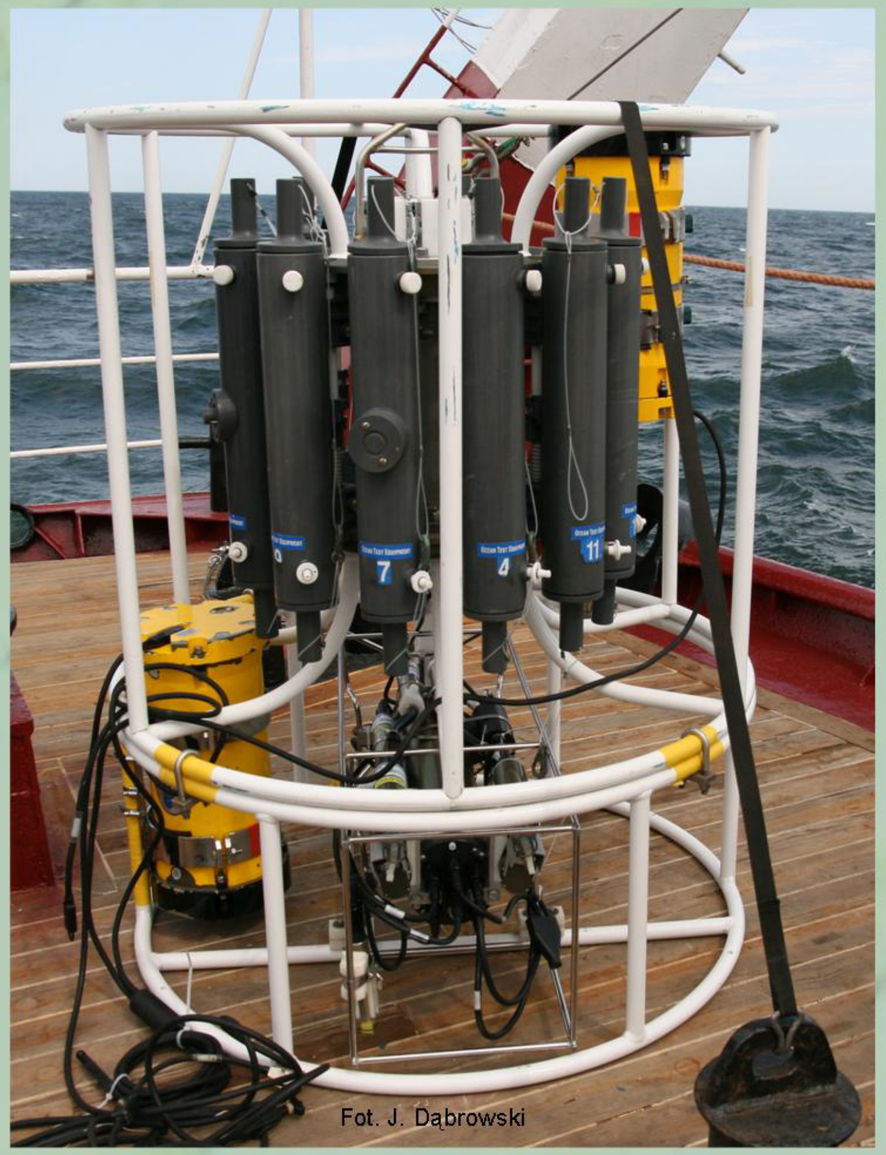
Projekt finansowany przez **Komitet Badań Morza PAN**
oraz **Instytut Oceanologii PAN w Sopocie**
Autorzy: dr Maria Łotocka, prof. dr hab. Alicja Kosakowska
Fotografie: dr Maria Łotocka

Określanie podstawowych parametrów fizycznych i chemicznych wody morskiej

Nawet najbardziej zaawansowane badania prowadzone w ekosystemie morskim wymagają poznania podstawowych parametrów środowiskowych, do których należą: temperatura, zasolenie, wartość pH, przezroczystość wody, oświetlenie, stężenie tlenu i soli odżywczych.

Temperatura

Temperatura jest bardzo ważnym czynnikiem wpływającym na przebieg wielu procesów fizycznych i chemicznych zachodzących w środowisku wodnym. Zmiany temperatury powodują zmiany gęstości wody, tym samym wywołują cyrkulacje wód oceanicznych i powstawanie prądów morskich. W wielu akwenach występuje pionowa stratyfikacja termiczna z charakterystyczną warstwą skoku termicznego. Temperatura wpływa także na rozpuszczalność związków chemicznych, gazów, co bezpośrednio oddziałuje na życie organizmów w wodnych ekosystemach. Należy także do podstawowych parametrów regulujących tempo przebiegu procesów fizjologicznych. Zmiany temperatury warunkują obecność określonych gatunków roślin i zwierząt, stymulują zmienność sezonową, występowanie zakwitów.
Temperaturę wody mierzy się przy pomocy przystosowanych do tego celu termometrów, częściej jednak stosowane są sondy wyposażone w czujniki pozwalające na ciągły pomiar temperatury *in situ* w całym słupie wody.









Zestaw batometrów służący do pobierania próbek wody morskiej wyposażony w czujniki pozwalające na pomiary *in situ* podstawowych parametrów hydrologicznych. Obok sonda STD, która dokonuje ciągłych pomiarów temperatury, zasolenia i gęstości wody.
Po prawej stronie zakwit bruzdnicy *Heterocapsa triquetra* w Zatoce Gdańskiej. Gatunek ten rozwija się masowo późną wiosną, po ustaleniu pionowej stratyfikacji wód i ukształtowaniu termokliny. Wzrost temperatury jest jednym z głównych czynników decydujących o ustąpieniu wiosennego zakwitu zimnolubnych okrzemek, a tym samym warunkuje sezonową sukcesję gatunkową w ekosystemie Morza Bałtyckiego.

Określanie podstawowych parametrów fizycznych i chemicznych wody morskiej

Zasolenie

Bałtyk ze względu na utrudnioną wymianę wody z Atlantykiem oraz dopływ wód rzecznych jest morzem wysłodzonym zaliczanym do akwenów słonawowodnych. Średnie zasolenie Morza Bałtyckiego wynosi 7 PSU. Cechą charakterystyczną tego zbiornika jest pionowe uwarstwienie wód z wyraźnie zaznaczoną haloklinią. Słonawe środowisko wód bałtyckich decyduje bardziej niż jakiekolwiek inne środowisko morskie o mieszanym charakterze zespołów składających się z gatunków morskich, słodkowodnych oraz słonawowodnych i o ich rozmieszczeniu pionowym i poziomym.



Pionowa stratyfikacja zasolenia w wodach Morza Bałtyckiego

Odczyn pH

Woda morska wykazuje odczyn alkaliczny, zwykle w zakresie pH od 8,0 do 8,35. Rozpuszczony w wodzie CO_2 w stanie gazowym, jeśli dostaje się do środowiska w wyższych stężeniach, które mogłyby powodować zakwaszenie wody, jest stosunkowo łatwo wiązany w formie węglanów i dwuwęglanów. Odczyn pH w wodach oceanicznych ulega niewielkim zmianom w odróżnieniu od zbiorników śródlądowych oraz morskich obszarów przybrzeżnych i przyujściowych. Ponadto w morzach, w miejscach porastania łąk podwodnych, w okresach zakwitów, kiedy fotosynteza góruje nad procesami metabolicznymi związanymi z wydalaniem dwutlenku węgla, wartość pH może zmieniać się na korzyść wyższej alkaliczności. Wahania tego parametru są krótkotrwałe i mają lokalny charakter z uwagi na cyrkulację i prądy morskie, które niwelują tego typu anomalie. Organizmy morskie są wrażliwe na zmiany pH, mają określony zakres tolerancji w stosunku do odczynu wody. Nawet niewielka zmiana pH w środowisku wpływa na transport jonów przez błony komórkowe organizmów wodnych. Ponadto zmiany tego parametru wpływają na rozpuszczalność, formę występowania, a tym samym dostępność, mikro- i makroelementów.



ph-metr terenowy

Morza i oceany absorbują blisko jedną trzecią gazów cieplarnianych, głównie dwutlenku węgla, przez co stają się coraz bardziej zakwaszone. Od czasów rewolucji przemysłowej pH oceanów zmniejszyło się o 0,1, co może mieć poważny wpływ na ekosystemy morskie.

pH – to ujemny, dziesiętny logarytm stężenia jonów wodorowych w roztworze. Dla roztworów wodnych wartość pH mieści się w przedziale 0-14.
roztwory kwaśne: pH < 7, roztwory zasadowe: pH > 7, obojętne: pH = 7

Określanie podstawowych parametrów fizycznych i chemicznych wody morskiej

Oświetlenie

Światło jest czynnikiem niezbędnym do życia organizmów fotosyntetyzujących, jak również dla zwierząt, szczególnie tych posługujących się wzrokiem. W środowisku wodnym promienie świetlne ulegają odbiciu od powierzchni wody, pochłanianiu i rozpraszaniu przez cząsteczki sestonu i substancje rozpuszczone w wodzie. Dlatego występowanie organizmów samożywnych ograniczone jest do prześwietlonej, powierzchniowej warstwy, której miąższość wyznacza tzw. poziom kompensacyjny. Jest to głębokość, na której proces oddychania równoważy fotosyntezę. Umownie przyjmuje się, że jest to głębokość, do której dociera 1% światła fofosyntetycznie aktywnego padającego na powierzchnię. W tropikalnych morzach poziom kompensacyjny sięga blisko 100 m, zaś w wyższych szerokościach utrzymuje się latem na głębokości od 10 do 60 m.



Intensywność oświetlenia modyfikuje stosunki ilościowe pomiędzy barwnikami fotosyntetycznymi i ochronnymi, co manifestuje się zmianą barwy hodowli cyjanobakterii *Synechococcus* sp.

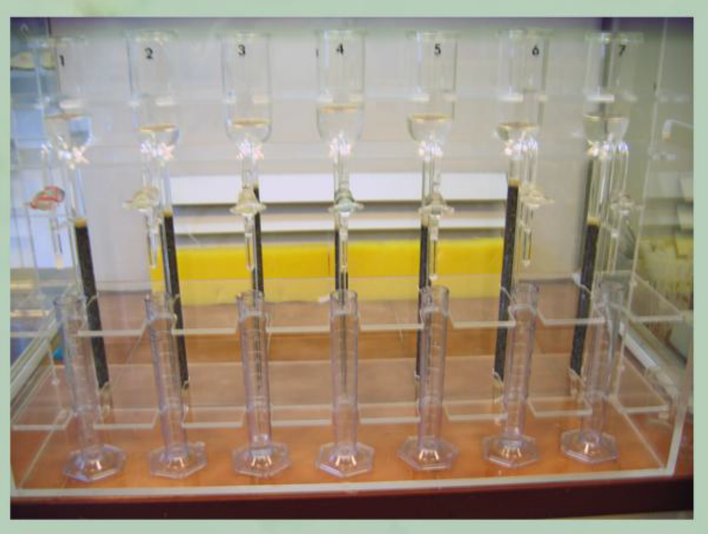
Przezroczystość wody

Przezroczystość wody to jeden z podstawowych parametrów fizycznych determinujący przenikanie promieni słonecznych w głąb wody, tym samym warunkujący zasięg organizmów fotosyntetyzujących. O stopniu przezroczystości decyduje ilość występującej w środowisku zawiesiny organicznej i nieorganicznej, cząstek koloidalnych. Wartość tego parametru określamy za pomocą krążka Secchiego lub znacznie dokładniejszych mierników przezroczystości. Zmiana zasięgu widzialności krążka Secchiego jest prostym wskaźnikiem eutrofizacji w strefie otwartego morza, natomiast w strefie przybrzeżnej spływ zawiesiny z lądu oraz unoszenie osadów dennych zakłóca prawidłowy pomiar.



Biogeny

Biogeny to pierwiastki i związki chemiczne, które potrzebne są do rozwoju żywych organizmów. Należą do nich zarówno makro- jak i mikroelementy. W środowisku wodnym mówiąc o biogenach ma się na myśli głównie związki azotu i fosforu, które zazwyczaj limitują produkcję pierwotną, w konsekwencji również produkcję wtórną. W warstwie powierzchniowej sole biogeniczne występują często w niedostatecznych ilościach z uwagi na obecność producentów, czyli organizmów autotroficznych. Dlatego tak ważne są prądy wstępujące, które wynoszą ku powierzchni morza zasobne w związki odżywcze wody głębinowe. Bogate w biogeny wody rzeczne spływające do morza są przyczyną eutrofizacji środowiska.



Zestaw kolumn przygotowany do oznaczeń biogenów (azotanów)

Metody badania wybranych czynników biologicznych wody morskiej

Skład jakościowy i biomasa fitoplanktonu

Fitoplankton to zespół mikroskopijnych organizmów, w zdecydowanej większości fotosyntetyzujących, który wraz z zooplanktonem oraz tryptonem tworzy seston, czyli zawiesinę unoszącą się w toni każdego zbiornika wodnego. Fitoplankton, podobnie jak rośliny lądowe, odpowiedzialny jest za asymilację dwutlenku węgla i produkcję tlenu. Jak wynika z najnowszych badań fitoplankton morski i oceaniczny wytwarza blisko połowę całkowitej produkcji pierwotnej, szacowanej na 45-50 miliardów ton rocznie, konkurując pod tym względem z roślinami lądowymi.

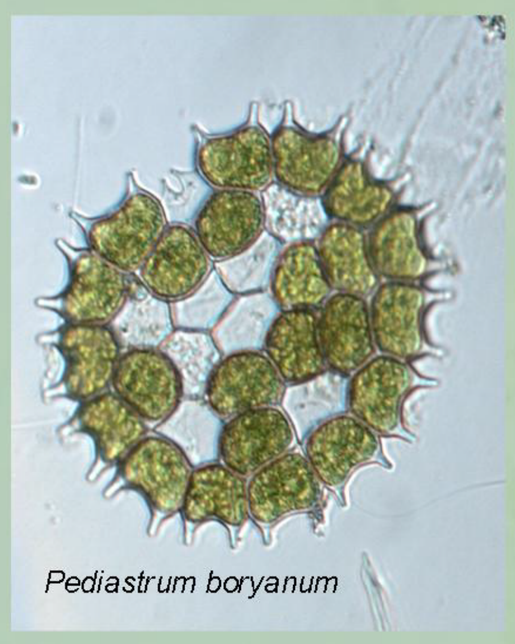
Fitoplankton stanowi grupę organizmów szczególnie podatnych na zmiany środowiskowe w porównaniu z innymi składnikami biocenotycznymi. Szczegółowe badania tego zespołu pozwalają określić stan ekologiczny ekosystemu.

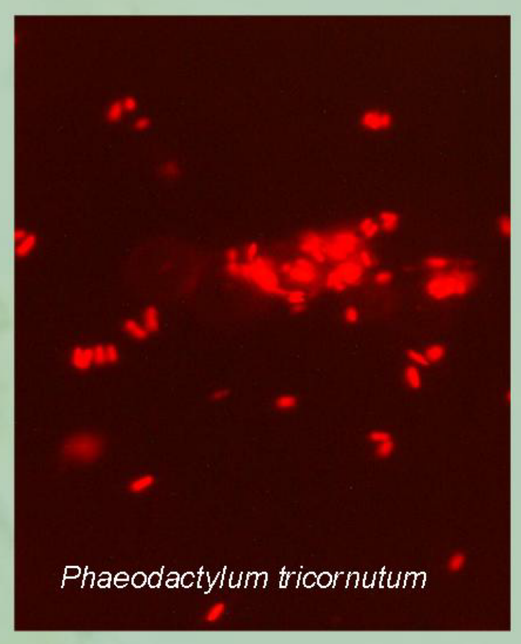
W podstawowych badaniach fitoplanktonu uwzględnia się takie parametry jak: skład gatunkowy, liczebność, biomasę, gatunki dominujące, wskaźnikowe oraz stosunki pomiędzy występującymi grupami glonów. Najdokładniejsze wyniki uzyskuje się przy zastosowaniu mikroskopu odwróconego oraz specjalnych komór sedymentacyjnych, na dnie których obserwuje się organizmy pochodzące z określonej objętości wody. W przypadku pikoplanktonu (najmniejsza pod względem wielkości frakcja organizmów fitoplanktonowych od 0,2 do 2 μm) stosowany jest mikroskop optyczny z przystawką epifluorescencyjną.













Mikroskop odwrócony z przystawką epifluorescencyjną, komory sedymentacyjne oraz przykłady zdjęć uzyskane w wyniku obserwacji glonów z Zatoki Gdańskiej z zastosowaniem różnych technik mikroskopowych

Metody badania wybranych czynników biologicznych wody morskiej

Hodowle bakterii, cyjanobakterii i glonów

Z uwagi na znacznie mikroorganizmów w funkcjonowaniu wielu ekosystemów naszej planety oraz ich wszechstronne wykorzystanie w różnych dziedzinach życia pierwszym etapem badań jest zwykle izolacja i hodowla określonego organizmu. Do tego celu służą różnorodne podłoża. Ze względu na charakter składników chemicznych wyróżnia się pożywki naturalne, półsyntetyczne i syntetyczne. Pierwsze wykonane są z produktów naturalnych, jak: mleko, bulion, wyciągi roślinne czy glebowe. Podłoża syntetyczne mają ściśle określony skład chemiczny. Ze względu na specyficzne wymagania poszczególnych gatunków stosowane są określone podłoża, wzbogacone o wybrane mikro- lub makroelementy, aminokwasy czy witaminy. W zależności od celu, jakiemu mają służyć, pożywki dzieli się na uniwersalne, uwzględniające wymagania wielu organizmów lub selektywne oparte na zasadzie wybiórczego wykluczania organizmów niepożądanych. Natomiast pod względem konsystencji wyróżnia się podłoża płynne, półpłynne i stałe.





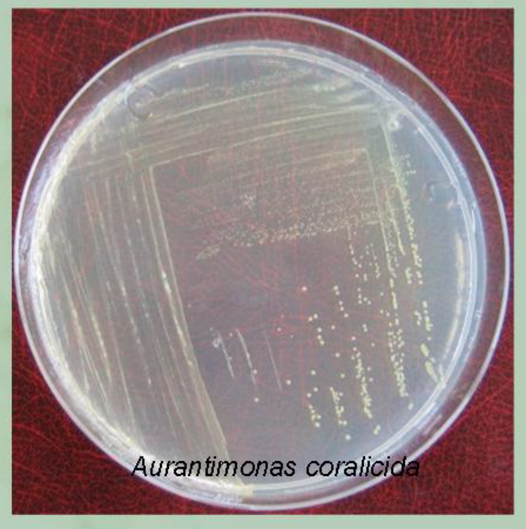


Hodowle glonów prowadzone są w warunkach sterylnych, w stałej, optymalnej dla danego gatunku temperaturze i określonym natężeniu oświetlenia. Podłoża stanowią płynne pożywki (dwa pierwsze zdjęcia) lub pożywki zestalone agarem (zdjęcie po prawej stronie)









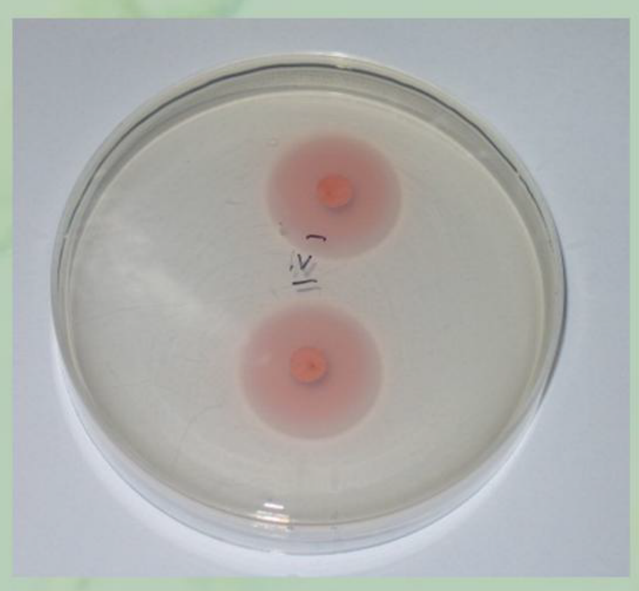
Posiewy bakterii izolowanych z wody Zatoki Gdańskiej prowadzone na stałych podłożach

Metody badania wybranych czynników biologicznych wody morskiej

Testy biologiczne

W badaniach dotyczących różnych dziedzin życia powszechnie stosowane są wszelkiego rodzaju testy. W naukach przyrodniczych testy przeprowadza się zwykle celem wstępnej, szybkiej oceny szkodliwości działania określonych czynników, bądź stwierdzenia obecności, pierwiastka, związku chemicznego lub grupy związków o podobnym charakterze.





Przykłady testów biologicznych. Płynne hodowle zielenicy *Chlorella vulgaris* prowadzone w różnych stężeniach żelaza (po lewej) oraz specyficzny test z wykorzystaniem bakterii pozwalający na stwierdzenie obecności związków kompleksujących żelazo w badanej próbce wody (po prawej)

Immobilizacja komórek glonów

Immobilizacja komórek glonów polega na ich unieruchomieniu, z możliwością zapewnienia im dostępu do składników odżywczych i odprowadzenia produktów przemiany materii. Jednym ze sposobów immobilizacji glonów jest ich „uwięzienie" w specjalnych materiałach porowatych lub włóknistych. Najpowszechniej stosowanym nośnikiem jest alginian, stosuje się również chitozan, pektyny, żywice epoksydowe. Najczęściej wykorzystywana jest technika zawieszania komórek w alginianie sodu i wkraplania tej mieszaniny do roztworu chlorku wapnia. W ten sposób otrzymuje się kuleczki z zamkniętymi wewnątrz organizmami. Zastosowanie komórek immobilizowanych stwarza dodatkowe korzyści w porównaniu z tradycyjnymi hodowlami m.in. możliwość prowadzenia procesów ciągłych, ograniczenie zakażeń bakteriologicznych, a przede wszystkim umożliwia prowadzenie badań z udziałem glonów bezpośrednio w środowisku wodnym (*in situ).*





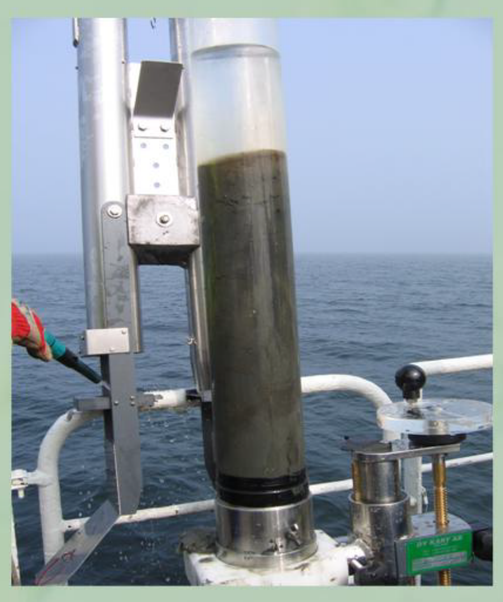
Immobilizowane komórki glonów w kulkach alginianu (zdjęcie poniżej) i hodowane w kolbach z wodą morską

Metody badania wybranych czynników biologicznych wody morskiej

Analiza barwników w fitoplanktonie i osadach dennych

Spośród naturalnych barwników występujących w fitoplanktonie szczególnie znaczenie odgrywają chlorofile i karotenoidy. Pierwsze z wymienionych biorą bezpośredni udział w procesie fotosyntezy, odpowiadają za wychwytywanie kwantów światła i przekazywanie ich do centrów reakcji fotosyntetycznej. Chlorofil *a* występuje we wszystkich cyjanobakteriach, glonach i roślinach wyższych, pozostałe chlorofile: *b*, *c* i *d* są charakterystyczne dla określonych taksonów. Karotenoidy stanowią najliczniejszą grupę naturalnych barwników występujących w przyrodzie. Obecnie zdefiniowano strukturę blisko 700 związków należących do tej grupy. Ocenia się, że glony mórz i oceanów produkują rocznie blisko $4 \cdot 10^{10}$t suchej masy, z czego 0,25% tj. 100 mln t stanowią karotenoidy. Należą do grupy naturalnych antyutleniaczy, u autotrofów ich rola polega na wspomaganiu fotosyntezy oraz ochronie przeciwko fotodynamicznemu uszkodzeniu struktur wewnątrzkomórkowych.

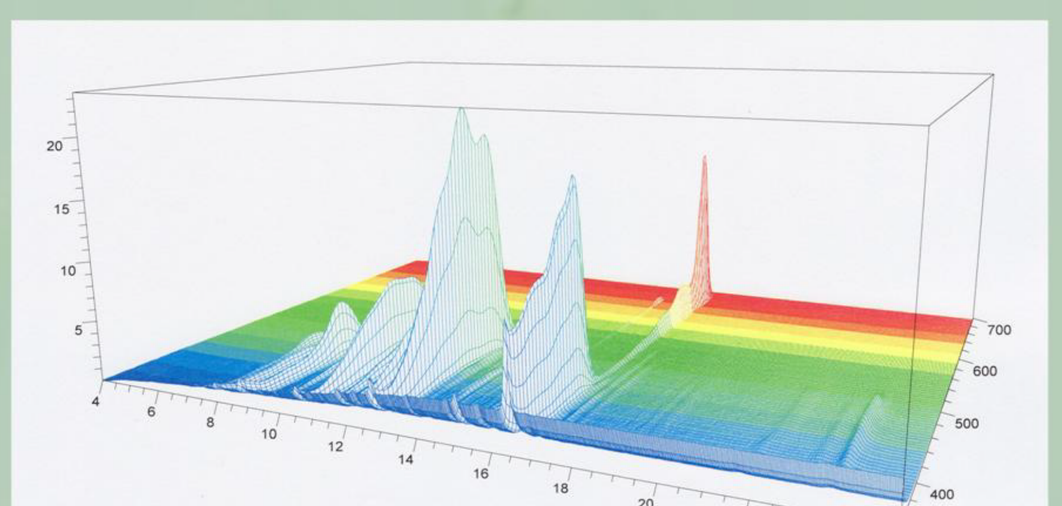




Pobieranie próbek wody batometrem oraz osadów dennych sondą rdzeniową podczas rejsu badawczego po Bałtyku.
Materiał przeznaczony do analizy barwników musi być natychmiast po pobraniu zamrożony, gdyż barwniki ulegają degradacji pod wpływem światła, temperatury i tlenu. Zwykle woda jest filtrowana, sączki wraz z zawiesiną są przechowane w temperaturze minimum -80°C, zaś rdzenie są cięte na cieńsze plastry, również zamrażane.

Informacje dotyczące składu barwników w różnych komponentach środowiska morskiego dają możliwość wzbogacenie wiedzy z zakresu geochemii związków organicznych, sedymentologii, ekologii populacji, ekosystemu i ekologii behawioralnej, Stało się to możliwe dzięki rozwojowi nowoczesnych technik analitycznych umożliwiających stosowanie barwników jako chemotaksonomicznych markerów, wskaźników aktywności biologicznej organizmów, a także stopnia i tempa przemian materii organicznej w morzu.





Dwa chromatografy cieczowe oraz przykład rozdzielenia chromatograficznego HPLC barwników izolowanych z fitoplanktonu Zatoki Gdańskiej