

## A KLOROFILL-MÉRÉS MÓDSZERTANI ÉS ELVI KÉRDÉSEI BALATONI EREDMÉNYEINKKEL KAPCSOLATBAN

FELFÖLDY LAJOS

Érkezett: 1963. március 15.

### 1. Bevezetés

Az édesvizek anyag- és energiaforgalmának vizsgálata elképzelhetetlen a bennük élő lények mennyiségi viszonyainak ismerete nélkül. Az elsődleges termelést végző autotrofiás növényi szervezetek tömegének, biomasszájának meghatározása, különösen a lebegve élő, helyét állandóan változtató fitoplankton szervezetek esetében, különféle nehézségekbe ütközik. A pontos, megfelelő mintavétel, a mintákban talált egyedek statisztikailag helyes módszerrel történő megszámlálása, tömegük megnyugtató megállapítása és mind ebből fotoszintetikus tevékenységük megközelítése, a fajok ismeretét is feltételező aprólékos és munkaigényes feladat. Különféle kísérletek történtek kevésbé bonyolult mennyiségi módszerek kidolgozására.

A kémiai jól meghatározható tulajdonságok legtöbbje, mint az összszárazanyag, víz- és hammentes szervesanyag (LOHMANN 1908), szerves kötésű szén (BRAND 1935, BOGOROV és BEKLEMISEV 1955), fehérje (KREY 1951, 1956, HEWITT 1958), lipoid (MUKERJEE 1956, MOORE és WALKER 1956), illetve nitrogén (BRAND 1935, YENTSCH és VACCARO 1958) vagy foszfortartalom (COOPER 1934, HARRIS és RILEY 1957, CUSHING *et al.* 1958) nem jellemzők az algákra.

A plankton szénhidrát tartalmát (ZEIN-ELDIN és MAY 1958, HEWITT 1958) fel lehet használni a fitoplankton biomasszájának becslésére (MARSHALL és ORR 1962), mert a plankton állati tagjaiban található szénhidrát mennyiség a növényi szervezetekéhez viszonyítva kevés (RAYMONT és KRISHNASWAMY 1960, RAYMONT és CONOVER 1961), de ezeknek az anyagoknak alapján nem lehet a legfontosabb növényi tevékenységre, a fotoszintézis ütemére következtetni. Arról nem is beszélve, hogy a fent említett vegyületek meghatározása a tisztavízű tengerben sikerülhet, sőt a planktonra vonatkozó jellemző adatokat nyerhetünk segítségükkel, de az édesvizek, különösen hazai sekély tavaink állandóan zavaros vizében lebegő nagy mennyiségű szerves és holt szerves anyag az ilyen természetű meghatározások eredményeit meghamisíthatja.

A növényekre egyedül jellemző vegyületek a növényi pigmentek, elsősorban a klorofillok, melyeknek meghatározásával mai ismereteink szerint nemcsak a fitoplankton mennyisége és fotoszintetikus tevékenysége közelíthető meg elégséges biztonsággal, hanem az algák különféle rendszertani csoportjainak jellegzetes pigmentjeit ismerve, adatainkból a fitoplankton minőségi összetételére is következtethetünk.

Az algák festékeiről KYLIN (1927), SEYBOLD és EGLE (1938), CARTER *et al.* (1939), SEYBOLD (1940, 1941) és HEILBRON (1942) klasszikus tanulmányai óta



igen sokat tudunk. GARDINER (1943) már összefoglaló táblázatot közöl a különféle alga-osztályok jellemző pigmentjeiről. Modern összefoglalását adja a kérdésnek STRAIN (1951). (1. táblázat)

1. táblázat — Table 1

A különböző alga-osztályok főbb pigmentjei (Strain 1951)  
The main pigments of various algal classes

	Cyanophyta	Rhodophyta	Chrysophyta			Phaeophyta	Pyrrophyta	Chlorophyta	Euglenophyta
			Xanthophyceae	Chryso-phyceae	Bacillariophyceae				
a-klorofill	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
b-klorofill	0	0	0	0	0	0	0	++	+
c-klorofill	0	0	0	—	+	+	+	0	0
d-klorofill	0	+	0	—	0	0	0	0	0
e-klorofill	0	0	+	—	0	0	0	0	0
$\alpha$ -karotin	—	+	—	—	0	0	0	+	—
$\beta$ -karotin	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
$\epsilon$ -karotin	—	—	—	—	+	0	—	0	—
Flavicin	+	—	—	—	0	0	—	0	—
Lutein	?	++	0	+	0	0	0	+++	?
Zeaxantin	?	—	0	—	0	0	0	+	—
Violaxantin	—	—	—	—	0	+	0	+	—
Flavoxantin	—	—	—	—	0	+	—	?	—
Neoxantin	—	—	0	—	0	+	0	+	—
Fukoxantin	—	?	0	+	++	++	0	0	0
Neofukoxantin A	—	—	0	—	+	+	0	0	0
Neofukoxantin B	—	—	0	—	+	+	0	0	0
Diatoxantin	—	—	0	—	+	?	0	0	0
Diadinoxantin	—	—	0	—	+	?	+	0	0
Dinoxantin	—	—	0	—	0	?	+	0	0
Neodinoxantin	—	—	0	—	0	0	+	0	0
Peridinin	—	—	0	—	0	0	++	0	0
Nioxantin	++	—	0	—	0	0	0	0	0
Mixoxantofill	++	—	0	—	0	0	0	0	0
Névtelen xantofill	?	?	++	?	—	+	—	—	+
r-fikoeritrin	0	+++	0	?	0	0	0	0	0
r-fikocianin	0	+	0	?	0	0	0	0	0
c-fikoeritrin	+	0	0	?	0	0	0	0	0
c-fikocianin	+++	0	0	?	0	0	0	0	0

+++ a legfontosabb pigmentek

++ az össz-pigment tartalomnak közel felét alkotó festékek

+ az össz-pigment tartalom kis töredékét alkotó festékek

? kis mennyiségű pigment, melynek azonosítása vagy forrása kétes

0 a kérdéses pigment hiányzik

— meglétéről vagy hiányáról nincs biztos tudomásunk

Mint az 1. táblázat-ból látható az a-klorofill és a  $\beta$ -karotin minden eddig vizsgált algában megtalálható. A b-klorofill csak a zöldmoszatokban és az Euglenophyta csoportban van, az édesvízi planktonban és a Balatonban is oly fontos kovaalgákra és páncélos ostorosokra a c-klorofill jellemző. A kova-moszatokat fukoxantin, a páncélos ostorosokat a peridinin segítségével tudjuk minőségileg azonosítani és mennyiségileg jellemezni. A zöldmoszatokra jellemző



karotinoidák a lutein és a zeaxanthin. A kék moszatokat a csoportra jellemző xantofillek (mixoxantin, mixoxantofill) és a c-fikocianin mellett az jellemzi, hogy a kék algákban gazdag plankton pigment-kivonatában az a-klorofill van túlsúlyban. A pigmentmeghatározásnak ez a minőségi célkitűzése még sok kutatnivalót, módszertani kérdést rejt magában, de igen szép eredményekkel kecsegtet.

A hidrobiológiai jellegű pigment-vizsgálatok elég régen kezdődtek, az egysejnyi víztömegben található növényi szervezetek jellegzetes festékanyagainak, elsősorban klorofill-tartalmának meghatározását célozva. KREPS és VERBINSKAJA 1930-ban hálós minták használatával próbálták megközelíteni a fitoplankton biomasszáját klorofill-meghatározás segítségével. HARVEY (1934) szintén hálón szűrt planktonot használt; a pigmentoldat színének intenzitását mesterségesen előállított színes oldathoz hasonlította, hogy a klorofill összehasonlítható oldat használatát elkerülje. Ezt a megoldását TUCKER még 1949-ben is használta. KOZMINSKI (1938) és KREY (1939) vezették be a centrifuga, illetve az ultraszűrő használatát, a hálóval szűrt plankton vizsgálat helyett. Azóta a plankton-klorofill mérése a fitoplankton pillanatnyi tömegének és az elsődleges termelés becslésének jól kidolgozott módszerévé vált az óceánok és tengerek (STEEMANN NIELSEN 1960 és az ott idézett nagyszámú irodalom), tavak (KOZMINSKI 1938, MANNING és JUDAY 1941, JUDAY *et al.* 1943, GESSNER 1944, GODNEY *et al.* 1950, HOGETSU és ICHIMURA 1954, HUMPHREY 1959, RODHE *et al.* 1960), folyóvizek (ODUM 1956, 1957, 1957a, MCCONNELL és SIGLER 1959, WATERS 1961) sőt mesterséges víztárolók (KURASAWA 1959) és algatenyészetek (MYERS 1954) esetében egyaránt. Perifitikus együtteseket illetőleg lásd SLADECKOVÁ 1962, 325.

Magyarországon a tihanyi Biológiai Kutatóintézetben szesszilis kovamoszat populáció (FELFÖLDY 1961) és a *Potamogeton perfoliatus* hínár fotoszintézisének mérésével kapcsolatban (FELFÖLDY 1960) használták.

A klorofill-módszert többen bírálták (GARDINER 1943, EDMONDSON és EDMONDSON 1947, TUCKER 1949, MARGALEF 1954, HARRIS és RILEY 1957, JÄRNEFELT 1958, WINBERG 1961) a benne rejlő hibaforrások miatt. A legtöbb algában kétféle klorofill van. Ezek közül az egyik klorofill-féleséget, mely pedig a barna színű csoportokban, így a kovamoszatokban és pánccélos ostorosokban elterjedt (*I. táblázat*), csak az utolsó évtized folyamán vették figyelembe (RICHARDS 1952). A szervezetek pigment tartalma igen változékony minőségi és mennyiségi szempontból egyaránt, sőt oldhatóságuk foka nemcsak a különböző osztályokba tartozó algákban, hanem egy fajon belül is (GRAHAM 1943) annyira változó, hogy sem az egyszerű klorofill, sem az összes pigment meghatározása nem nyújt egyes szerzők szerint (pl. BERARDI és TONOLLI 1953, TUCKER 1949) tájékozódást a plankton biomasszájára vonatkozóan. Bár a klorofill a szervezetek elhalása után gyorsan bomlik, egyes bomlástermékei jellegzetesen fluoreszkálnak és zöldre festik az általánosan használt oldószereket. A mintákba került halott növényi sejtek és a növényevő állatok ürülete egyaránt okozhatja ezt a hibát (EDMONDSON és EDMONDSON 1947, GILLBRICHT 1952, GRAHAM 1943, KREY 1952, VALLENTYNE és CRASTON 1957, YENTSCH 1962), ami különösen mélyebb tavak hipolimnionjában jelentkezik inaktív vagy holt klorofill formájában (GESSNER 1949, KOZMINSKI 1938, MANNING és JUDAY 1941, VALLENTYNE 1957). Már most megjegyezzük, hogy ez a veszély elsősorban mély tavakban fenyeget, ahol anaerob körülmények közt keletkezik a szapropl, levegő jelenlétében ugyanis a pigmentek gyorsan elbomlanak,



színes közti termékek keletkezése nélkül (LUND és TALLING 1957). Az említett hibaforrásokhoz még a fajon és populáción belüli időszakos változást kell hozzászámítanunk, a fotoszintézis bizonyos élettani rendellenességeivel egyetemben (STEEMANN NIELSEN és JÖRGENSEN 1962), melyekre külön kell kitérnünk a klorofill hatásfokával kapcsolatban.

Az alábbiakban részletesen foglalkozunk a pigmentmeghatározások módszertani kérdéseivel, melyek standardizálását több szerző sürgeti (KREY 1958, STEEMANN NIELSEN és JÖRGENSEN 1962), majd a Balaton planktonikus és szemipelágikus (SEBESTYÉN ap. BÖSZÖRMÉNYI *et al.* 1962, 56) populációinak vizsgálata során nyert tapasztalatainkat és eredményeinket kívánjuk ismertetni.

## 2. A vizsgálatok módszertani problémái

Ahhoz, hogy a hidrobiológiában használt pigment-analízisek valóban a különféle élőhelyeken élő növényi szervezetek mennyiségi jellemzését eredményezzék, sőt tájékoztassanak a víztömegben folyó fotoszintézis üteméről, több módszertani szempontot kell szem előtt tartani, melyek pontos körülírása, standardizálása eddig nem történt meg (STRICKLAND 1960). Ezek az alábbiak:

1. Helyes átlagminta vétele,
2. az összes szervezet gyors elkülönítése a víztől,
3. a pigmentek bomlás nélküli, tökéletes kioldása,
4. a pigmentek mennyiségi meghatározása,

ha pedig vizsgálataink emellett az elsődleges termelés intenzitására is kiterjednek,

5. a fotoszintézisben vezető szerepet játszó a-klorofill hatásfokának megállapítása.

A rendelkezésre álló nagy mennyiségű irodalmi adat feldolgozásának és áttekinthetőségének kedvéért vegyük sorra a fenti szempontokat.

### 2.1. A mintavétel

Tekintve, hogy mintáinknak minden autotróf szervezetet tartalmazniok kell, csak merített próba jöhet számításba (MARGALEF 1958). A merített minta térfogata elsősorban a fitoplankton mennyiségétől és a rendelkezésre álló mérőműszer minőségétől függ. A vizuális fotométerekkel való munkához általában töményebb pigment kivonatra van szükség, a fényelektromos műszerek érzékenysége a hígabb oldat pontos mérését is lehetővé teszi. GESSNER (1944)  $\frac{1}{4}$ –4 liter minta szűrését mondja szükségesnek (Pulfrich fotométerrel dolgozott). Saját megállapításunk szerint Beckman DU spektrofotométer használatkor, ha a Balaton Secchi-átlátszósága 30 cm-nél kisebb egy, ha 30–100 cm kettő, ha 100 cm-nél is nagyobb három liter minta, a tihanyi Belső-tó állandóan plankton-színezett vízből 100 ml szükséges (l. még: HEPHER 1962). Még a tenger tiszta vízből sem kell 10 liternél többet átszűrni (STRICKLAND és PARSONS 1960).

A mintavétellel függ össze a plankton-szervezetek egyenletes vagy egyenetlen eloszlásának problémája is. A legtöbb vízben tanulmányozható többékevésbé szabályszerű függőleges heterogenitás: a víztömeg rétegzettség (STEELE és YENTSCH 1960) a Balaton és általában a magyarországi síksági sekély tavak esetében szeszélyes, esetleges és múltékony. A horizontális elter-



jedés törvényszerűségeinek kutatása a Balatonban a közelmúltban és a jelenben történik (SEBESTYÉN 1962, 173, 180). A külföldi irodalom is foglalkozik ezzel a problémával és ma általában azt tartják, hogy a plankton egyenetlenül, felhőkben vagy laza rajokban él a víztömegben (HARVEY 1934, HARDY 1955, ODUM 1958, MARGALEF 1960, 1961, stb.). Ennek a hibaforrásnak jelentőségét csak a minták számának emelésével tudjuk csökkenteni.

Az eddigi szerzők nagyszámú vizsgálatából tudjuk, hogy az élőlények megjelenése és a fitoplankton összetétele is változik az évszakok szerint. Ezért kell méréseinket az év különböző szakaszaiban rendszeresen végezni.

A merített mintát minél hamarabb fel kell dolgozni. Ha bármilyen ok miatt a mintavétel és a feldolgozás közt hosszabb idő telik el, a vizet bronzzal vagy 300 mikron lyukbőségű nylon szitán, esetleg 6-os planktonhálón kell átszűrni, hogy a nagyobb termetű növényevő állatok (főleg alsóbbrendű rákok) ne legeljék ezalatt az alga-állományt. A növények szaporodását az edények elsötétítése és esetleges hűtése jól megakadályozza. Konzerválószer használata felesleges és a szervezetek elpusztulásával járó pigment bomlás veszélye miatt helytelen is. GESSNER (1944) 3 napig tudta eltartani mintáit sötétben a klorofill-tartalom lényeges változása nélkül.

## 2.2. A szervezetek elkülönítése a víztől

Nagyobb mintákról lévén szó, csak centrifugálás vagy szűrés jöhet számításba. Az üleptéssel és dekantálással járó töményítéstől csak kis minták esetében várhatunk eredményt, mikor a planktont mikroszkóppal tanulmányozzuk.

A centrifugálást (CORI 1895, LOHMANN 1908) erre a célra (KOZMINSKY 1938, MANNING és JUDAY 1941, HARTMAN 1958, BARNES 1959) mind kevesebben használják, mert egyes szerzők szerint a víz fajsúlyával egyező vagy annál könnyebb szervezetek nem választhatók el a víztől (KORRINGA és POSTMA 1957, HARTMAN 1958 és saját tapasztalataink kocsonyás *Dictyosphaerium* és *Kirchneriella* tisztatenyészetekkel, melyek sem 5000 ford./perc gyorsaságú kilendülő poharas, sem 30 000 ford./perc szupercentrifugával nem üleptethetők). GRAN (1932) és WRIGHT (1959) 30%, ALLEN (1919) 90%-nál nagyobb veszteségről számoltak be. Mások (STEEMANN NIELSEN és BRAND 1934) jó eredménnyel használták, különösen, ha a mintához valamilyen ülepedést elősegítő anyagot pl. alumínium hidroxid csapadékot adtak (BRAND 1935, BALLANTINE 1953, WOOD 1962).

A klorofill meghatározásokat ma a legtöbb helyen megfelelő szűrőlapra vitt anyaggal végzik. A fitoplankton kvantitatív visszatartására legcélszerűbbek a különféle membrán szűrők („Cella”-Filter: KREY 1939, GESSNER 1944; Millipore Corporation H. A. filter: GOLDBERG et al. 1952, STRICKLAND 1960; Millipore A. A.: CREITZ and RICHARDS 1955; Membranfilter Ges. Göttingen M5: BÖSZÖRMÉNYI et al. 1962).

A tisztavízű tengerben a membrán szűrőt feltétlenül előnyben kell részesíteni még a legfinomabb szűrőpapírokkal szemben is (RILEY 1941, HARVEY 1951), a nagy mennyiségű szerves anyag csapadékot és szerves törmeléket tartalmazó édesvizek, vagy éppen folyók esetében azonban a finom pórusú membrán szűrők gyorsan eltömődnek és ezért ott a legtöbb szerző különféle jobb minőségű szűrőpapírt ajánl. (Delta 368: GESSNER 1944; Delta 385, 365 és Schleicher—Schüll 1575: KORRINGA és POSTMA 1957; Whatman N° 44: TUCKER



1949, 1956; Whatman N° 50: ARMSTRONG és ATKINS 1951; Toyo N° 5a, 6 és 101: HOGETSU és ICHIMURA 1954, Schleicher—Schüll „Blauband”, Macherey-Nagel N° 640d saját tapasztalataink szerint.) YENTSCH (1962) azt találta, hogy az  $5\ \mu$  pórusú szűrőn minden kloroplasztisz-pigmentet tartalmazó alakos anyag fennakad (FURUKAWA et al. 1956).

A Balaton biogén kalciumkarbonát csapadéktól szőke, vagy erős hullámzástól felkevert, zavaros vize a szűrést nagyon problematikussá teszi. A Membranfilter Ges. Göttingen, M5 jelű membrán szűrőjén 100 ml Balaton-víz átszűrése közel egy órát vesz igénybe, de nem jobb a helyzet akár Delta No. 365, Schleicher és Schüll „Blauband” vagy Macherey-Nagel No. 640d papírral sem. A minimálisan szükséges egy liternyi víz másfél, néha három óra alatt szűrődik át. Ezért mi ATKINS és PARKE (1951) módszeréhez folyamodtunk, akik a víz-mintát híg ecetsav vagy káliclór oldat hozzáadásával pH 8-ra állítják és literenként 5 ml 1% timsó oldatot adnak hozzá. Az in situ keletkező hidroxid csapadék pelyhek a minta alakos anyagait magukba zárják és kiülepítik. STRICKLAND (1960) nátriumhidroxiddal 9,5 fölé állítja a pH-t. A Balaton-vízben a hidrogénion koncentráció megváltoztatása elmarad, a keletkezett csapadék pedig centrifugálással tömöríthető. A centrifugacső tisztáját is átengedjük a minta szűrőlapján (ami pillanatok alatt átfut), végül az egy csőbe gyűjtött csapadékot visszük fel kevés, a szűrőn átszűrt Balaton-vízzel.

A Fox és munkatársai (1952, 1953) által ajánlott „adszorptív” szűrők, melyek tulajdonképpen 5–10 mm-es adszorbens oszlopok, minden fitoplankton szervezetet visszatartanak. A különféle adszorbens-keverékek közül a magnéziumoxid-Hyphlo-supercel látszik a legmegfelelőbbnek. STRICKLAND (1960) véleménye szerint azonban az ezzel a módszerrel gyűjtött anyag inkább bizonyos kémiai elemzésekre, és csak kevésbé alkalmas a növényi planktonra jellemző anyagok vizsgálatára. A formált anyagokat itt különféle oldatban levő szerves vegyület szennyezi. A módszer kipróbálása édesvízben érdekes eredményeket hozhat. STEELE és BAIRD (1962) adszorbens oszlop helyett Whatman üveg papírszűrőre rétegzett magnéziumkarbonátot használtak.

### 2.3. A pigmentek kioldásának kérdése

Az első szerzők alkoholt használtak a pigmentek kioldására: KREPS és VERBINSKAJA (1930) 96% etanolt, KREY (1939) és GESSNER (1944) 96–80% metanolt, az újabbak közül KALLE (1951), STOLLE és WIEDEMANN (1952) etanolt. Az alkohollal történő kioldás után a klorofillokat etiléterbe rázzák át, melyben igen jól eltartható oldatot nyerünk (hidegen négy hétig változás nélkül eláll) és az éteres oldatnak élesebb abszorpciós sávjai vannak, mint az acetonosnak (GILLAM és munkatársai 1939 acetonalkohol keveréket használtak).

Az ekológiai, produkció-biológiai munkánál azonban az acetonos kioldást részesítik előnyben egyszerűsége és gyorsasága miatt. Jóformán valamennyi modern szerző ezt használja.

A tömény aceton használata nem ajánlatos, mert zavaró anyagokat is oldatba visz (KREY 1958, 25, ODUM et al. 1958, 73, STOLL és WIEDEMANN 1952, 549). Ennek elkerülése céljából 80% (HARVEY 1934, GRAHAM 1943, RILEY 1946, ATKINS és JENKINS 1953), 85% (STOLL és WIEDEMANN 1952), újabban 90% (ATKINS és PARKE 1959) vizes acetont alkalmaznak. Az aceton víztartalma befolyásolja az abszorpciós sávok helyzetét és élességét (részletesen l. ABBOTT



ap. ODUM et al. 1958, 74), ahogy a különféle oldószerek általában erősen befolyásolják azokat (HARRIS és ZSCHEILE 1943, JAMES et al. 1955).

Módszertanilag fontos az a megállapítás, hogy a pigment oldatok éterben, metanolban, etanolban vagy acetonban akár két hétig is eltarthatók, ha az oldószer párolgását, levegő bejutását megakadályozzuk és a mintákat sötét, hűvös helyen tartjuk. Ez a tény különösen hosszabb kutatóutak, expedíciók esetében fontos, mikor mérőműszert nem vihetünk magunkkal (GESSNER 1944 és saját tapasztalataink).

Fontos kérdés a kioldás tökéletessége is. RICHARDS és THOMPSON (1952) szerint a kioldás ideje ne legyen kevesebb 9 óránál. Ugyanők 24 óra múlva sem találtak bomlásra utaló jelet sötét hűvös helyen dolgozva. Mi 8 óra alatt tökéletes kioldást tapasztaltunk (a szilárd maradékra öntött friss acetonban nem észleltünk mérhető klorofill mennyiséget), de mintáinkat általában egy éjszakán át (12–16 óra hosszat) hagytuk állni.

GARDINER (1943) mikroszkópos vizsgálatai figyelmeztettek arra, hogy a sértetlen algasejtek pigmentjei nem oldódnak ki egyenletesen (ő egyes páncélos ostorosok esetében figyelte ezt meg szemben a kovamoszatok tökéletes extrakciójával). CREITZ és RICHARDS (1955) és a hidrobiológus források általában nem tartják szükségesnek a mechanikai roncsolást. Egyes alga-fajok (*Prasiola*, *Ulva*, *Cladophora*, *Thalassia*, *Diplenthera*, *Phormidium* és *Enteromorpha*) különösen ellenállnak az aceton oldó hatásának, sőt *Chlorella* tisztanyészetnél is tapasztaltak ilyet (ODUM et al. 1958). A minták szétdőrszölésének fontosságát PRÁT és SESTÁK (1959) is hangsúlyozzák.

Más irányú munkánk során mi is (FELFÖLDY et al. 1962) az alga-tömeg elroncsolását találtuk szükségesnek, amit porcelán mozsárban kvarchomokkal vagy üveggörrel végeztünk. Elősegíti a növényi festékek kioldódását a minta kiszáritása is (SEYBOLD és EGGLE 1938, GESSNER 1944, BARNES 1959), bár az mindig bizonyos veszteséget, bomlást okoz (GARDINER 1943). STRICKLAND és PARSONS (1960) sötét exsikkátorban, szilikagél felett ajánlják a szűrők szárítását. Igen fontos technikai szempontból, hogy az így szárított, félbehajtott szűrőlapok egy hasonló nagyságú félbehajtott szűrőpapírba csomagolva és gem-kapoccsal összefűzve hat hétig tárolhatók sötétben és  $-20^{\circ}\text{C}$ -on, vagy annál is hidegebb helyen.

A teljes kioldódást biztosítja a minták szappanosítása is hig káliumhidroxid oldattal (RILEY 1940), aminek hátrányáról később szólunk.

NELSON (1960) ultrahanggal kezelt mintákból 11–30%-kal több pigmentet vont ki.

Igen fontos feladat a kioldás folyamán a meglehetősen érzékeny pigmentek védelme a kémiai bomlás ellen. Részben ezért kell már a merített mintákat sötétben tartani, a munka alatt az erős fénytől és hőtől óvni az anyagot és ezért hangsúlyozza a legtöbb szerző a gyors munkát. A klorofilláz enzim tevékenységét rövid hőkezeléssel állítjuk meg: 1–2 percre forrásban levő víz gőzében tartjuk a szűrőlapot a fitoplanktonnal együtt (KREY 1939, GESSNER 1944) STEEMANN NIELSEN és JÖRGENSEN forró metanollal végzi a kioldást hasonló céllal. A feofitin képződést kevés  $\text{MgCO}_3$  vagy  $\text{CaCO}_3$  hozzákeverésével csökkenthetjük minimumra (COMAR és HARRIS 1944, RICHARDS és THOMPSON 1952). STRICKLAND és PARSONS (1960) magnéziumkarbonát szuszpenzió felvitelét ajánlja a szűrőlapra, az utolsó mintarészlet alkalmával.

Az oldódás után az extraktumot kristály tisztára szűrjük, mert a legkisebb zavarosság — különösen fényelektromos műszer használatakor — az



eredményeket használhatatlanná teszi. RICHARDS és THOMPSON (1952) centrifugálást írnak elő. Az így elkerülhetetlenül előálló zavarosság okozta hibát CREITZ és RICHARDS (1955) 750  $m\mu$ -on kapott érték segítségével korrigálják. A korrekciót a következőképpen végezzük: Először megállapítjuk a fotométer küvettainak vak értékét: tiszta oldószert töltve beléjük megmérjük mindegyik küvetta extinkció értékét az összehasonlító küvettaival szemben, mindegyik hullámhosszon (= küvetta vak érték). Ezután a zavarosság okozta korrekció kiszámításához a 750  $m\mu$  mellett kapott extinkció értékből levonjuk a megfelelő küvetta vak értékét (=  $E_B$ ).

A végső korrekció = küvetta vak érték +  $(f \cdot E_B)$ , az  $f$  értéke:

Hullámhossz $m\mu$	$f$
665	1
645	1
630	1
510	2
480	3

Itt emlékezzünk meg HOGETSU és ICHIMURA (1954) módszeréről, akik a kioldást gyengén savas közegben végezve az összes jelenlevő klorofillt feofitinné alakítják és ennek koncentrációját mérik. 1,026 faktorial szorozva kapják az „össz-klorofill” mennyiségét. A módszer előnye, hogy a bomlékony klorofill helyett a jóval állandóbb feofitinnel operál, hátránya, hogy a klorofillt nem tudja külön meghatározni és általában a három féle klorofill mennyiségi viszonyairól nem szerezhet tudomást. Hasonló ok miatt nem használatos RILEY (1940) módszere, aki káliumhidroxid oldattal történő szappanosítás után mérte meg az „összklorofill” koncentrációt.

#### 2.4. A pigment koncentráció mérése

Jelenlegi célkitűzésünk szempontjából legfontosabb klorofill-féleségek meghatározására ma a spektrofotometrius módszer használatos. Több szerző dolgozott ki olyan eljárást, melyhez nem szükséges standard klorofill oldat. (MACKINNEY 1941, COMAR és ZSCHELE 1941, 1942, ZSCHELE et al. 1942, JAMES et al. 1955). KALLE (1951) javaslata a klorofill fluoreszcencia mérésére nem vált gyakorlattá (RODHE et al. 1960). A hidrobiológiában RICHARDS módszere terjedt el. Mi is aszerint dolgoztunk (RICHARDS 1952, RICHARDS és THOMPSON 1952, CREITZ és RICHARDS 1955, BARNES 1959, STRICKLAND 1960, STRICKLAND és PARSONS 1960 stb.).

A 90% vizes acetonban oldott pigment keverék 1 cm-es rétegének fényáteresztő képességét ( $T$ ) a következő hullámhosszokon mérjük meg tiszta acetonnal szemben: 665, 645, 630, 510 és 480  $m\mu$ . Az első három hullámhossz méréséhez a vörös fényre érzékeny fotocellát, az 510 és 480  $m\mu$ -hoz a kék-érzékeny fotomultiplikátort használjuk. A zavarosság okozta hiba kikerülésére 750  $m\mu$  hullámhosszon mérünk, ahol a pigment kivonat extinkciója minimális (vö. 2.3.).

A pigment koncentráció kiszámításának alapja az alábbi egyenletrendszer:



$$E_{665} = 0,0667C_a + 0,0065C_b + 0,0011C_c$$

$$E_{645} = 0,0164C_a + 0,0456C_b + 0,0044C_c$$

$$E_{630} = 0,0119C_a + 0,0127C_b + 0,0104C_c$$

ahol  $E_{m\mu}$  = a megfelelő hullámhosszon mért extinkció ( $E = \log 1/T$ ).  $C_a$  és  $C_b$  az a- és b-klorofill koncentrációja mg/liter,  $C_c$  pedig a c-klorofillé mSPU/liter egységben. A RICHARDS által használt SPU = „specified pigment unit” a pigment nemzetközileg elfogadott (STRICKLAND és PARSONS 1960) jellemző, de pontosan meg nem határozott mennyiségét jelenti; 1 SPU  $\approx$  1 g, 1 mSPU  $\approx$  1 mg.

A fenti egyenletből:

$$C_a = 15,6E_{665} - 2,0E_{645} - 0,8E_{630} \quad (2)$$

$$C_b = 25,4E_{645} - 4,4E_{665} - 10,3E_{630} \quad (3)$$

$$C_c = 109E_{630} - 12,5E_{665} - 28,7E_{645} \quad (4)$$

A karotinoid koncentráció kiszámítása előtt korrigálni kell a klorofill-koncentrációval. Az eredmény a „maradék extinkció” ( $E_m$ ):

$$E_{m510} = E_{510} - 0,0026C_a - 0,0035C_b - 0,0021C_c = 0,45C_{nac} + 0,169C_{ac} \quad (5)$$

$$E_{m480} - 0,0019C_a - 0,0136C_b - 0,0054C_c = 0,203C_{nac} + 0,249C_{ac} \quad (6)$$

$C_{nac}$  = a nem asztacin típusú,  $C_{ac}$  = az asztacin típusú karotinoidok koncentrációja mSPU/liter egységben.

Megoldva az egyenleteket:

$$C_{ac} = 2(4,45E_{m510} - E_{m480}) \quad (7)$$

$$C_{nac} = 7,6(E_{m480} - 1,49E_{m510}). \quad (8)$$

Ha az extraktumban nincs c-klorofill és asztacin típusú karotinoid, a képletek az alábbiak szerint módosulnak:

$$C_a = 0,1554E_{665} - 0,0221E_{645} \quad (9)$$

$$C_b = 0,2273E_{645} - 0,0559E_{665} \quad (10)$$

$$C_{nac} = 0,0493E_{480} - (0,0094C_a + 0,0670C_b) \quad (11)$$

(FELFÖLDY et al. 1962).

A számításokkal járó veszélyeséget elkerülhetjük DUXBURY és YENTSCH (1956) nomogrammainak használatával.

Az eredményeket meg kell szorozni az extraktum és az eredeti vízminta térfogatának megfelelő tényezővel. A pigment tartalmat az eredeti víz köbméterére számítva szokás megadni. Produkció-becslésnél a vízfelület egységére számítják át, figyelembe véve a különféle mélységekből származó minták pigmenttartalmát (rétegzettség lásd 2.1.) és a fotoszintézis szempontjából kellően átvilágított réteg (eufotikus zóna) vastagságát.

STRICKLAND és PARSONS (1960, 108) szerint az itt közölt módszer érzékenységenek alsó határa 10 liter eredeti vízminta átszűrése esetén mintegy



0,02 mg a-klorofil pro m<sup>3</sup> és 0,04 mg egyéb pigment köbméterenként. A felső határt a kioldásra használt acetone mennyiségének szabad megválaszthatósága miatt nem lehet és felesleges megállapítani.

Igen figyelemre méltó és hasznos kísérletet végzett ODUM munkatársaival (1958, 71—72). Az eredeti RICHARDS és THOMPSON féle előírás helyett megkísérelték az a-klorofil meghatározását egy hullámhosszon (665 m $\mu$ ) végzett méréssel. 1 cm-es küvettával dolgozva az eredeti meghatározással jól egyező eredményt kaptak a következő képlettel:

$$C_a = 14,3E_{665} \quad (12)$$

Ugyanők vetették fel a költséges és helyhez kötött spektrofotométer helyettesítését egyszerűbb, olcsóbb, de színszűrővel, tehát szélesebb színekávban dolgozó fotométerrel. A Zeiss-féle Pulfrich fotométerrel végzett saját méréseink nem jártak kielégítő pontossággal. A fitoplankton-kivonatokra érvényes szorzószám lényegesen eltért a *Wolffia arrhiza* pigment extraktumával kapott értéktől.

Érdekesség kedvéért megemlítjük COLEBROOK és ROBINSON (1961) módszerét, akik folyamatos plankton-minta gyűjtővel (HARDY 1938) dolgozva a szűrőfelület színéből következtettek az össz-fitoplankton tömegére (igen halvány-zöld, halvány-zöld, zöld és nagyon zöld „skálát” alkalmazva). Az értékek számszerű relatív kiértékelését úgy végezték, hogy a szűrőlapok egyforma felületű darabjairól a pigmenteket kioldották, majd tiszta acetonnal annyira hígították őket, hogy a leghalványabbhoz legyenek hasonlóak. A színezettség fokát a „fogyott” oldószer ml értékével, vagy a leghalványabbhoz viszonyítva relatív számmal jellemezték.

#### 2.5. A fitoplankton mennyiségi becslése pigment analízis alapján

A fitoplankton lények mennyiségét megállapíthatjuk a sejtek megszámlálásával, méreteik felvétele alapján kiszámíthatjuk térfogatukat, feltételezve, hogy fajsúlyuk eggyel egyenlő kifejezhetjük mennyiségüket élősúlyban is.

Ha a számlálástól eltekintünk és a megfelelő módon centrifugálással vagy szűréssel (2.2. fejezet) nyert plankton (sajnos az édesvizekből a legtöbb esetben szesztón) próbában kémiai jellemzőkkel igyekszünk a fitoplankton mennyiségileg meghatározni, amint azt a bevezetésben említettük, a szénhidrátok mellett a kloroplasztisz pigmentekkel próbálkozhatunk. Ebből a célból párhuzamot kell keresnünk az algák pigment (elsősorban klorofil) tartalma és más kémiai tulajdonságai közt. Az irodalmi adatok tanúsága szerint ez nem könnyű, mert a fitoplankton lények klorofil tartalma igen széles határok közt változik. Az egyes algafajokban található növényi festék mennyisége a populáció múltjától, táplálkozási és megvilágítási viszonyaitól függően mintegy ötszöröse lehet a fajon (törzsön) belüli minimális értéknek. A bizonytalanságot a mintában található nem növényi eredetű szerves vegyületek és a klorofil tartalmú detritus is fokozza („holt” klorofil).

A modern hidrobiológiában a fitoplankton pillanatnyi mennyiségét (standing crop) a szerves kötésű szén mg/m<sup>3</sup> értékével szokás jellemezni elsősorban tengerben és tisztavízű mély tavakban. Igen fontos feladat lenne pigment koncentráció méréseket végezni a szerves kötésű szén egyidejű meghatározásával párhuzamosan (STEELE és BAIRD 1962, 1962a) tisztatenyésztésű



planktonalgákban és kevert populációkban, hogy minél több közvetlen adathoz jussunk. BANSE (1956) közöl bizonyos irodalmi adatokat és saját vizsgálatait a kérdés megvitatásával egybekötve.

Közvetett értékeket kaphatunk a szerves kötésű szén meghatározása nélkül is az alábbi tapasztalati egyenletek és szorzótényezők felhasználásával (STRICKLAND 1960):

$$\text{mg P} = (0,75 \pm 0,2) \cdot \text{mg klorofill} \quad (13)$$

$$\text{mg N} = (7 \pm 3) \cdot \text{mg klorofill} \quad (14)$$

$$\text{mg C} = (0,5 \pm 0,05) \cdot \text{mg hamumentes szárazanyag} \quad (15)$$

$$\text{mg hamumentes szárazanyag} = F_{(16)} \cdot \text{mg szárazanyag}, \quad (16)$$

ahol  $F_{(16)}$  értéke

zöld algák esetében  $0,85 \pm 0,05$

Dinoflagellata-k esetében  $0,8 \pm 0,1$

kovamoszatok esetében  $0,5 \pm 0,1$ .

Kevert populációkra STRICKLAND (1960)  $F_{(16)} = 0,6 \pm 0,2$  értéket ajánl, ha a mintában az idegen anyagok mennyisége csekély.

$$\text{mg C} = F_{(17)} \cdot \text{mg klorofill}, \quad (17)$$

ahol C a szerves kötésű szén, „klorofill” pedig a modern munkákban a-klorofill, a régebbiekben az a + b vagy a különféle módszerekkel nyert „össz-klorofill”-t jelenti. A 2. táblázatban különböző szerzők különböző típusú vizekből származó mérései alapján a fenti képletekkel számított  $F_{(17)}$  értékeket közöljük.

Amint ebből a 2. táblázatból kitűnik, a klorofill és a szerves kötésű szén (és ezzel párhuzamosan a fitoplankton képviselte szervesanyag) viszonya nagyon különböző és ezért a tengerek elsődleges termelésével foglalkozó szimpozion 1957-ben nem ajánlotta a növényi plankton „standing crop” értékének becslésére a klorofill tartalmat és adatait a plankton-összetétel átszámítási tényezői között sem közli (CUSHING et al. 1958).

Bonyolítja a helyzetet az is, hogy a növények klorofill tartalma nem állandó. Saját adataink (2. táblázat) a tenyészetek korának módosító hatását illusztrálják, STEELE és BAIRD (1962a) *Nannochloris* sp. és *Skeletonema costatum* esetében az egészséges sejtek  $F_{(17)} = 28$ , ill. 26 értékeivel szemben a nitrogén hiányban szenvedő kultúrákban  $F_{(17)} = 111$ , ill. 500(!)-at találtak. A szerzetek klorofill tartalmának és fotoszintetikus tevékenységének arányával foglalkozva még visszatérünk erre a problémára.

A Balaton planktonjának vagy pontosabban bioszesztonjának ilyen irányú vizsgálata igen nagy módszertani nehézségekbe ütközik a víz zavarossága és a benne nagy mennyiségben található szerves törmelék, detritusz jelenléte, röviden a gazdag tripton-tartalom miatt.



Nem mulaszthatjuk el rámutatni, hogy milyen fontos a plankton populáció pontos faji összetételének és mennyiségi viszonyainak ismerete, hiszen az idegen anyagoktól szennyezett szesztomból a fitoplanktonra jellemző értékek csak a 2. táblázat számaihoz hasonló adatok alapján, indirekt úton számíthatók ki. Az ilyen módon megállapított tényezők felhasználásával aztán a gyorsan és egyszerűen végezhető klorofill-mérésekkel is tudunk operálni. A fajokra jellemző kémiai összetételt legjobbnak látszik tisztatenyészetek vizsgálatával, vagy homogén természetes populációk analízisével megállapítani.

2. táblázat — Table 2

Szerves kötésű  
szén:klorofill arányt kifejező  $F_{(17)}$  érték változása különféle plankton mintákban  
és plankton szervezetekben  
Changes of factor  $F_{(17)}$  in different plankton samples  
and in planktonic algal cultures

	$F_{(17)}$ (átlag) (average)	A mérés módszere (Method of measurement)	Irodalom (Reference)
Tengeri plankton (Plymouth) .....	20	klorofill: P	Harvey 1951.
Mérsékelt övi tenger .....	53	klorofill: sejtterfogat	Riley et al. 1949.
Sargasso tenger .....	140	„ „	„ „
Tengeröböl (Skócia) .....	74	klorofill: C	Steele és Baird 1962.
Tavi plankton	50	klorofill: szárazsúly	Riley 1938.
Tavi plankton	60	„ „	Wright 1959.
Tavi plankton	100	„ „	Wright 1958.
Tavi plankton	120	„ „	Manning és Juday 1941.
„Kovamoszatok” .....	17	klorofill: sejtterfogat	Gillbricht 1952.
„Dinoflagellata” .....	33	„ „	„ „
Coscinodiscus centralis ...	4	„ „	Atkins és Parke 1951.
Coscinodiscus sp. ....	70	klorofill: szárazsúly	Riley et al. 1956.
Nitzschia closterium .....	13	„ „	Pace 1941.
Chaetoceros gracilis .....	1,1!	klorofill: sejtterfogat	Krey 1939.
Gonyaulax sp. ....	115!	klorofill: szárazsúly	Riley et al. 1956.
Chlorella sp. ....	6	klorofill: sejtterfogat	Atkins és Parke 1951.
Chlorella sp. ....	16	klorofill: szárazsúly	Strickland 1960.
Chlorella pyrenoidosa ....	15	„ „	Felföldy et al. 1962.
C. vulgaris .....	16	„ „	„
C. vulgaris (öreg- senescence) .....	56	„ „	„
Chlorococcum botryoides .	14	„ „	„
Coelastrum microporum ..	13	„ „	„
C. microporum (öreg- senescence) .....	27	„ „	„
Scenedesmus acuminatus .	20	„ „	„
S. acutus .....	18	„ „	„
S. obtusiusculus .....	10	„ „	Felföldy 1962.

### 2.6. A klorofill-féleségek hatásfoka

Mivel az a-klorofill a fotoszintézis legfontosabb katalizátora, indokoltak látszik az a feltételezés, hogy a fotoszintézis üteme valamely víztömegben, ismert fényviszonyok között, összefüggésbe hozható a benne talált a-klorofill



mennyiségével. Élettani kísérletek tanúsága szerint ráadásul ez az összefüggés optimális, vagy ennél kisebb erősségű fénynél lineáris is.

Nem meglepő tehát, hogy kutatók hosszú sora kutatta ennek az összefüggésnek törvényszerűségeit. (EMERSON 1929, HILLE 1938, MANNING et al. 1938, RILEY 1941, MANNING és JUDAY 1941, GESSNER 1944, 1949, EDMONDSON 1956, CLENDENNING et al. 1956, RYTHER 1956, 1956a, RYTHER és YENTSCH 1957, ODUM et al. 1958, és sokan mások 1960 után!).

A problémával kapcsolatos első praktikus kérdés, hogy melyik pigmentet határozzuk meg? Az a-klorofill kétségtelenül döntő fontossága mellett a többi kloroplasztisz festék: karotinok, xantofillek vagy éppen az édesvízi mintákban elég nagy mennyiségben levő c-klorofill szerepét sem hagyhatjuk számításán kívül. Ma már elég nagy biztonsággal mondhatjuk, hogy ezek a „kísérő festékek” fényenergiát közvetítenek az a-klorofill felé, olyan hullámhosszú sugarak kihasználását téve lehetővé, melyek a klorofill számára hatástalanok (BLINKS 1954, MYERS és KRATZ 1955, STEEMANN NIELSEN és JÖRGENSEN 1962. Hydrobiológiai szerepüket lásd CURRIE 1957, STRICKLAND 1960).

Az első hidrobiológus kutatók, nagyrészt módszertani lehetőségeik korlátozott volta miatt „össz-klorofill”-t határoztak meg (KREPS és VERBINSKAJA 1930, HARVEY 1934, GESSNER 1944 stb.). Csupán a nagy szelektivitású és érzékeny fényelektromos spektrofotométer használata tette lehetővé az egyes komponensek egymás melletti és gyors megmérését (RICHARDS 1952, ODUM et al. 1958, BARNES 1959, STRICKLAND és PARSONS 1960 stb.). Az újabb irodalom mindinkább az a-klorofill meghatározásáról számol be (MARSHALL 1956, ODUM et al. 1958, SHIMIDA 1958 stb.), mely YENTSCH (1960, 3. ábra) kutatásai szerint jól párhuzamos az összes növényi pigment mennyiségével. Meghatározása ODUM (et al. 1958) egy hullámhosszon mérő módszerével (2.4. pont, 12. képlet) különösen gyors és egyszerű.

Ebbe a problémakörbe tartozik a klorofill-koncentráció és a fotoszintézis intenzitása közti összefüggés kérdése is. GABRIELSEN (1948) és STEEMANN NIELSEN (1961) eredményei szerint kis fényintenzitás mellett a klorofill koncentrációja döntő tényező. Fényteltettségek esetén azonban a fotoszintézis üteme lényegében független a pigment koncentrációtól (WILSTÄTTER és STOLL 1918). STEEMANN NIELSEN és HANSEN (1959) kísérletei természetes planktonnal egyes esetekben azt mutatták, hogy a szénasszimiláció intenzitása azonos klorofill koncentráció mellett is széles, az értékek tízszeresét megközelítő határok közt változhat. Az esetek legtöbbszörében azonban ők is és más szerzők is (STEELE és BAIRD 1961) jó párhuzamot találtak a két tulajdonság között. A jó párhuzam egyik feltétele azonban, hidrobiológiai esetben az, hogy az összehasonlításra kerülő plankton-minták egymáshoz közel fekvő helyekről, ugyanabból az évszaktól, mélységből, sőt a napnak is megfelelő szakából származzanak. Érdekes megemlíteni GESSNER (1949) kísérletsorozatát, melyben a németországi Wessling-See-ből származó planktonnal a klorofill koncentráció és a fotoszintézis viszonya közel állandó volt, ha a mérést 10 Klux fényerősség és 20° C mellett végezte. Ha a kísérlet a mintavételkor a tóban uralkodó aktuális hőfokon folyt, a viszonzszám állandósága megszűnt.

A fitoplankton esetében a kérdést még a fotoszintézis fénytúlteltettségi gátlása is bonyolítja. MAUCHA (1924) tapasztalata óta kutatók egész sora rögzítette ezt a jelenséget, mely szerint meleg, tiszta, derült, napsütéses időben a fotoszintézis optimuma a felszín alatti bizonyos mélységben van (lásd FELFÖLDY és KALKÓ 1958 és az ott idézett irodalom). DOTY és OGURI (1957)



„délutáni depresszió”-nak nevezik ezt a jelenséget. STEEMANN NIELSEN (1962) foglalkozott részletesen a fénytúltelítettség kérdésével és a gátló hatást enzimatikus okokra vezeti vissza. Ezzel a jelenséggel függ össze az a tapasztalat, hogy a fotoszintézis-intenzitás délutáni csökkenése az egységnyi térfogatú vízben található pigment mennyiség csökkenésével párhuzamos. Ezt egyesek a víztömegek kicserélődésével magyarázták, de YENTSCH és RYTHER (1957) kísérletei óta, akik műanyag fólia zsákba zárt vízben is megtalálták, a túlzott fény klorofillroncsoló hatásában kerestek rá magyarázatot (YENTSCH és SCAGEL 1958, SHIMADA 1958, ICHIMURA 1960, RYTHER et al. 1961.) VERDUIN (1957) kritizálta ezt azzal az észrevétellel, hogy DOTY és OGURI (1957) 20 m mélységben is tapasztalták, ahol pedig a fény nem lehet szuperoptimális. Az ilyen természetű „rövid lejáratú” és reverzibilis pigment károsodás nem felel meg az élet-tani kísérletek során nyert tapasztalatoknak sem (pl. SEYBOLD 1941a, THOMAS 1955, WIECKOWSKY 1957, ZURZYCKI 1957, SIRONVAL és KANDLER 1958, STEEMANN NIELSEN és JÖRGENSEN 1962). Ha ugyanis a klorofill elpusztul, az olyan roncsolódással jár a többi sejtalkotókban is, hogy a fotoszintézishez hasonló folyamatok nemcsak leállnak, hanem a sejt rendszerint elveszti regeneráló képességét is. STEEMANN NIELSEN és JÖRGENSEN (1962) a növényevő állatok táplálkozásában látja a délutáni depresszió okát (v. ö. MARSHALL 1955). Kísérleteik szerint ugyanis a nappal közepső hat órájában nincs klorofill képzés (amint a sejtszám gyarapodás és a szárazanyag-képzés is szünetel), tehát a növényevő állatok egyenlő ütemű táplálkozását feltételezve, a klorofill koncentráció esése megérthető.

A klorofill koncentráció és a fotoszintézis intenzitása közti párhuzam kutatása során felmerülő további zavaró tényező a növények hosszabb-rövidebb idő alatti alkalmazkodása a fény intenzitás változásaihoz, ami a „napfény” és „árnyék” levelek, növények, sőt ugyanannál a növénynél a megfelelő típusok kialakulását eredményezi (v. ö. STRICKLAND 1960 fejtegetéseivel és az ott idézett irodalommal. Lásd még BÖSZÖRMÉNYI et al. 1962. p. 45–49, STEEMANN NIELSEN és HANSEN 1961).

Az elmondottak alapján megállapíthatjuk, hogy a klorofill tartalom és az időegység alatt asszimilált szén mennyisége között nem állítható fel általánosan érvényes arány. Az egységnyi vízmennyiségben talált pigment „hatásfokát” tehát esetről esetre meg kell határozni. Ezt fejezi ki a WILSTÄTTER és STOLL (1918) által ajánlott asszimiláció szám (AZ = Assimilationszahl):

$$AZ = \frac{\text{óránként felvett g CO}_2}{\text{g klorofill}} \quad (18)$$

Ezzel a kifejezéssel sokan dolgoztak a hidrobiológiában is (pl. GESSNER 1944, 1949, GRIM 1950), bár különösen a régebbi szerzőknél az oxigénmódszerrel kapott eredmények átszámítása a fotoszintétikus együttható (PQ) változékonysága miatt pontatlanságra vezet (v. ö. BÖSZÖRMÉNYI et al. 1962). GODNEY és munkatársai (1950) jellemzőbbnek tartják, mint a klorofill-mennyiséget. RYTHER (1956a) az a-klorofillra számolt AZ-t tartja különösen jónak. STRICKLAND (1960) az 1 mg a-klorofill által 1 óra alatt beépített szerves szén mg értékének használatát ajánlja. Az alábbi táblázatban néhány adatot közlünk STRICKLAND kifejezőmódjával, mely a fitoplankton mennyiségének legmodernebb egységével (a szerves kötésű szén) és a hidrobiológiában leggyakrabban használt mg nagyságrenddel dolgozik.



3. táblázat — Table 3

Az össz-fotoszintézis és a pigment tartalom összefüggése  
Photosynthetic capacity of 1 mg chlorophyll measured as mg organic carbon/hour

mg C/óra 1 mg klorofill	Irodalom Reference	Jegyzet Remarks
3	Gessner 1949	Wessling-See (átlag érték)
1 — 6,5	Clendenning et al. 1956	Chlorella és Nostoc kultúrák
4 — 6	Gessner 1944	Németországi tavak
2	Manning és Juday 1941	Wisconsin-i tavak
3	Riley 1941	Tengerparti zóna
6	Ryther és Yentsch 1957	Tengerparti zóna (átlag)
5 — 10	" "	kultúrák
3	Ryther 1956	Dunaliella kultúra
4,5	Shimada 1958	Tengeri plankton (szuboptimális fény)
1,2— 2,9	saját	Baltoni plankton

### 3. Balatoni eredmények és problémák

Ebben a fejezetben — az általunk kialakított módszer pontos leírása után — az 1959-től végzett méréseink eredményeit ismertetjük és azokat a tapasztalatainkat vetjük papírra, melyek ezt a Balaton és más magyarországi tavak ilyen irányú kutatásának érdekében megkívánják.

#### 3.1. Módszer

Mintáinkat minden esetben a tihanyi Biológiai Kutatóintézetben használatos, bőszájú porüvegből készült Meyer-palackkal merítettük. A mintavétel és a feldolgozás megkezdése közt soha sem telt el 6 óránál hosszabb idő. A minták ezalatt sötétben álltak. A merített vizet sűrű bronzszítán át szűrtük abba az edénybe, melyben a laboratóriumba szállítottuk őket. Az intézetben használt bronzszita szövet 90—100  $\mu$  lyukbőségű, a planktonrákok és vándorkagyló lárváit és a nagyobb kerekeseérgeket is visszatartja.

Az alaposan felkevert mintákat egy- vagy kétliteres mérőhengerbe töltöttük, ahol literenként 5 ml 1% timsó oldatot pipettáztunk beléjük. A víz összekeverése és a finom csapadék kialakulása után a csapadékot és a szesztont centrifugálással tömörítettük (10 perc 5000 ford/perc). A centrifugacső tisztáját Delta N°365 vagy Macherey-Nagel N°640d papíron engedték át (5 cm  $\varnothing$  papír Seitz 5 cm-es szűrőfoglatban). A szűrést enyhe szivatással gyorsítottuk. Ha a centrifugacső tartalma felkeveredett inkább újra centrifugáltunk, mert az csak 10 perc időt igényel, míg az idejekorán a szűrőre került anyag a pórusok eltömése miatt a munkát másfél-két órára nyújthatja. Miután a tiszta rész átment, az egy csőbe gyűjtött csapadékot visszük szűrőre kevés a szűrőn már átment tó-vízzel. A merítendő és szűrendő minta mennyiségét illetően lásd a 2.1. pontban mondottakat.

Az alaposan leszívott szűrőlapot két percre forrásban levő víz gőzébe helyezük, vastagabb rozsdamentes drótkeretre feszített tiszta gézre fektetve őket olyan közel a víz felszínéhez, hogy a forró víz ne fröccsenjen fel rájuk.

A szűrők szárítását és a minták ilyen formában történő raktározását nem próbáltuk ki, ezzel kapcsolatban lásd 2.3. pont. A hőkezelés után a csapadékot



kisméretű porcelán mozsárba kapargáltuk a papírról, kevés magnéziumoxidot, izzított kvarchomokot vagy üvegport adunk hozzá és pár csepp 90% acetonnal homogén péppé dörzsöljük. 25 ml-es Erlenmeyer lombikba mossuk kvantitatíve. Ha nincs túl sok mintánk, a szűrőpapírt, miután a szűrőfogalatra fogásra szolgáló mintegy 5 mm-es fehér szegélyt levágtuk róla, szintén eldörzsöljük MgO-dal és kvarchomokkal. Nagyszámú minta esetén azonban az idő elhúzódnását elkerülendő, az egyik átmérő mentén négyrét hajtott szűrőpapírt 2–3 mm-es csíkokra vágjuk és így juttatjuk a mintegy 10 ml 90% acetont tartalmazó lombikba, ügyelve arra, hogy az oldószer teljesen ellepje. A bedugaszolt lombikot „egy éjszakán át” (12–16 óra) állni hagyjuk.

Másnap kis méretű porcelán nucasra deszt. vízzel finom azbeszt szűrőréteget készítünk, amit 90% acetonnal mosunk. Ezen szűrjük át a kis lombik tartalmát. Megfelelő utánmosást alkalmazva egy azbeszt szűrőn akárhány minta kristálytiszttára szűrhető. A festék kivonatot 10 ml-re szoktuk feltölteni. Ha a szűrés és mosás révén az acetons mennyisége ennél több és a minta színe a 25 ml-re való feltöltést nem mutatja tanácsosnak, 40°-ot meg nem haladó hőmérsékleten, széndioxid áramban evakuálással párologtatjuk el az oldószer feleslegét.

Az így készített, pontosan ismert térfogatú pigment keverék oldatok fényáteresztő képességét Beckman DU spektrofotométer 1 cm-es küvettaiban mérjük 90% acetonnal szemben, a 2.4. pontban megadott hullámhosszokon. A számításokat az 1–12 számú képletek segítségével végezzük.

### 3.2. Mérési eredmények és a belőlük levonható tanulság

A 4. és 5. táblázatban gyűjtöttük össze azokat az adatainkat, melyeket 1959 óta szereztünk és melyek a fentiekben érintett feltételeknek megfelelően közlésre érettnak mutatkoznak.

A 4. táblázat azért tanulságos, mert 1959-ben minden merített mintában meghatároztuk a szesztön száraz-súlyát is (5 cm Ø szárított és tárazott Delta papíron 0,5–1 liter vizet szűrtünk át). Szoros összefüggés található a víz 1 köbméterében talált a-klorofill, a vízben lebegő szesztön mennyisége és az átlátszóság között. Minél kisebb a Secchi-átlátszóság, azaz minél zavarosabb a víz, annál több a-klorofill található benne. Ez a tény azt a feltevést, hogy a Balatonban a bentikus kovamoszatok döntő fontosságú szerepet játszanak, igen jól bizonyítja. Érdeemes megfigyelni azt is, hogy a szesztön a-klorofill tartalma a zavarossággal és a víz szesztön tartalmával fordított arányban áll: minél átlátszóbb a víz, annál kevesebb benne a fenékről felkevert élettelen anyag, annál nagyobb a szesztön pigment tartalma. Az ülepedés folytán a mélyben tömörült szesztön a-klorofill tartalma mindig kisebb, mint a tiszta vízben mért érték, de a klorofill abszolút mennyisége ( $\text{mg}/\text{m}^3$  értéke) itt mindig ugrásszerűen emelkedik ( $5\text{--}8 \text{ mg}/\text{m}^3$ -ről 20 fölé).

Az augusztus 18-i minta a fenékgig felkevert, hevesen hullámozó Balatonból való. Ez a  $40 \text{ mg}/\text{m}^3$  a-klorofill érték a Balaton-víz „átlagát” jelentheti. 3,5 m mély vízre számítva ez  $140 \text{ mg}/\text{m}^2$  össz-klorofill tartalmat jelent. A nagyobb átlátszóságú, ülepedett vízből nyert értékek összege ennél mindig jóval kevesebb ( $< 50 \text{ mg}/\text{m}^2$ ). A különbség a fenékre már leülepedett, tehát a merített próbába nem jutott algák mennyiségét árulja el! Ez — természetesen további kutatómunkával kell a pontos arányt megállapítani — a víz tömegében élő autotróf lényeknek legalább kétharmada.



4. táblázat — Table 4

A Balaton-víz 1 m<sup>3</sup>-ében talált a és b klorofill mennyiség  
Amounts of chlorophylls a and b found in one cubic metre of Balaton Lake-water  
(Measurements in 1959)

Időpont, hely Time, location	Secchi cm	Vízmélység Depth of water m	a-klorofill mg/m <sup>3</sup>	b-klorofill mg/m <sup>3</sup>	Száranyag g/m <sup>3</sup> Dry seston g/m <sup>3</sup>	a-klorofill % Chlorophyll-a per cent of dry seston
1959. VIII. 9. Tihany	62	0	5,4	0,9	6,2	0,087
VIII. 18. Tihany	18	0	42,0 38,0	9,5 7,8	260,0	0,016 0,014
			párhuzamok			
VIII. 19. Tihany	25	0	15,3 20,0 16,5	3,7 5,9 5,2	23,3	0,066 0,086 0,071
			párhuzamok			
VIII. 24. Tihany	83	0 2 3,5 fenék	8,5 7,6 21,2	3,4 3,0 3,8	7,3 7,0 26,5	0,116 0,109 0,081
VIII. 25. Tihany	90	0 2 3,5 fenék	5,1 8,6 28,2	1,0 2,4 3,9	6,8 7,6 31,0	0,075 0,113 0,091

Az 5. táblázat adatai a Balaton-víz klorofill tartalmának jellegzetes szórást jól érzékeltetik. 1961 őszén szeptember derekától igen sok *Microcystis* volt a planktonban (telepei csendes napokon szabad szemmel látható csomókba álltak össze), ezért van a mintákban abszolút túlsúlyban az a-klorofill. A zavarosság (Secchi) és a pigment tartalom párhuzamossága itt is jól látszik, valamint a mélységgel együtt növekvő klorofill mennyiség-érték (pl. a tihanyi Kútból származó 1961. szept. 22-i minta-sorozat).

Külön figyelmet érdemel az okt. 5-i gyűjtés, amikor az egész tavon uralkodó erős hullámozás a vizet fenekestül felkeverte. A rétegzettség nem olyan határozott, a felszíni mintákban is elég sok pigmentet találtunk, a víztömeg közepe tájáról (1,5 m) vett minták a különböző területekre adnak jellemző számokat. Feltűnő a Keszthelyi-öböl kiugróan nagy és a Zala-folyókra általában jellemző — kis értéke. A déli medencéből (Szemes-Sárgpuszta) származó minta gazdagabb, mint az északi (tihanyi). Ez nemcsak az 5., hanem a 6. és 7. táblázatokon is látszik.

A 6—8. táblázatban a víztömegben található a-klorofill mennyisége mellett annak határfokát is kiszámítottuk. A fotoszintézis mérések során C-14 módszerrel határoztuk meg (BÖSZÖRMÉNYI et al. 1962) 100 ml Balaton-víz szénmegkötő képességét úgy, hogy a kora hajnali órákban gyűjtött mintákat Tihany előtt függesztettük a Balaton vizébe 1 m mélyre, ahol általában optimális fény mennyiség van (v. ö. pl. a 9. táblázattal). Az expozíció ideje 6 óra volt.



Különböző időpontokban,  
különböző helyekről származó Balaton-víz minták klorofill tartalma ( $\text{mg/m}^3$ )  
Chlorophyll values ( $\text{mg/m}^3$ ) for some different samples at various seasons  
and locations of Lake Balaton

Minta Sample	Secchi cm	klorofill			Jegyzet
		a	b	c	
1961. szept. 13. (1 m) Tihany (A) . . . . .	65	6,9	1,2	2,5	
Széplak-Csopak (B <sub>0</sub> ) . . . . .	57	9,2	1,6	1,5	
Balatonszabadi I (D <sub>0</sub> ) . . . . .	73	9,3	1,3	0,9	
Balatonszabadi II (kb. 300 m-re az elő- zótól) . . . . .	74	6,8	0,9	0,9	
B.-szabadi fenék, at the bottom . . . . .	73	18,9	2,3	14,1	
1961. szept. 15. (1 m)					
Keszthely (M <sub>0</sub> ) 1 m . . . . .	c. 80	3,9	0,4	0,5	
2,5 m (fenék) . . . . .	c. 80	5,4	0,0	0,7	
B.-berény—Vonyarcvashegy L <sub>0</sub> -tól					
Ny-ra . . . . .	118	5,3	0,3	2,7	
Szigligeti-öböl (K <sub>0</sub> -tól Ny-ra) . . . . .	—	13,1	0,0	2,0	
Boglár—Révfülöp (I <sub>0</sub> ) . . . . .	65	13,0	0,0	0,0	
Szemes—Ságpuszta (G <sub>0</sub> ) 1 m . . . . .	c. 70	12,1	0,1	0,0	
3,5 m (fenék). . . . .		12,0	0,7	0,8	
Tihany (A <sub>1</sub> ) . . . . .	62	6,0	0,2	0,8	
1961. szept. 22.					
A tihanyi „kút”					
13 . . . . .	82	4,0	1,00	2,6	Gyűjt: Szabó E.
14 . . . . .		4,5	0,87	0,0	
16 . . . . .		5,4	0,74	0,9	
17 . . . . .		6,4	0,53	1,6	
18 . . . . .		8,8	0,46	4,2	
1961. okt. 5.					
Zala folyó 0 m . . . . .	Erős hul- lám. Nem	5,8	1,5	4,3	Gyűjt: Szabó E.
2 m . . . . .	mérhető.	4,1	0,7	2,6	Az erős hullámzás
3 m . . . . .	Strong wave ac- tion. No Secchi measure- ment.	5,4	0,6	2,9	miatt a réteg- zettség elmosó- dott!
Keszthely (M <sub>0</sub> ) 0 m . . . . .		14,8	1,6	0,0	
1,5 m . . . . .		33,1	2,6	0,9	
Szemes—Ságpuszta (G <sub>0</sub> ) 0 m . . . . .		9,6	1,0	0,0	
1,5 m . . . . .		18,6	1,0	1,8	
Tihany (A <sub>1</sub> ) 0 m . . . . .		10,5	1,0	1,7	
1,5 m . . . . .		10,8	0,8	3,1	
Tihany, 1962. I. 16.					
0 m . . . . .	128	3,3	1,3	4,7	12 cm-es jég alól.
1 m . . . . .		3,6	0,5	1,7	Ice cover of 12 cm.
2 m . . . . .		4,4	0,8	2,7	
3,2 m (fenék) . . . . .		7,5	0,5	1,2	
3,2 m (fenék) . . . . .		19,2	0,6	16,1	felkevert fenék



Tihany, 1962. II. 12.					
0 m	130	2,6	0,3	1,6	
1 m		2,4	0,5	0,8	
1,5 m		2,6	0,3	1,2	
3 m		3,0	0,5	2,4	
3,2 m (fenék)		7,8	0,6	4,8	
3,2 m (fenék)		11,9	1,3	2,6	felkevert fenék
Tihany, 1962. III. 29.					
0 m	54	4,8	0,4	1,7	
1,5 m		5,3	0,3	1,6	
3,2 m (f)		6,0	0,1	1,4	
Tihany, 1962. IV. 12.					
0 m	25	11,3	1,4	6,0	
1,5 m		10,8	0,6	5,6	
3,0 m (f)		13,9	0,4	8,2	

Megjegyzés: A különféle gyűjtőhelyeket illetőleg lásd az 1. ábrát. — The locations are given in Figure 1.

6. táblázat — Table 6

A Balaton déli medencéjének öt pontjáról,  
1 m mélyről származó minták klorofill-tartalma és az a-klorofill hatásfoka  
The chlorophyll content of samples collected  
at 1 m depth from five different locations in southern basin of Lake Balaton  
and the effectiveness of chlorophyll a.  
1961. aug. 24.

Minta Sample	Secchi cm	a-klorofill mg/m <sup>3</sup>	Fotoszintézis mg C/m <sup>3</sup> óra	mg C/mg a-klorofill per óra
Keszthelyi-öböl közepe (M <sub>0</sub> )	—	6,0	17,2	2,9
Szigligeti-öböl (K <sub>0</sub> -tól Ny-ra)	32	5,4	12,5	2,3
Boglár—Révfülöp (I <sub>0</sub> )	37	8,8	18,2	2,1
Szemes—Sággpuszta (G <sub>0</sub> )	34	8,4	28,5	3,4
Balatonföldvár előtt (F <sub>0</sub> )	36	9,5	25,7	2,7
Tihany előtt (A <sub>1</sub> )	34	6,4	14,5	2,3

7. táblázat — Table 7

A Balaton északi medencéjéből 1 m mélyről származó négy minta klorofill tartalma  
és az a-klorofill hatásfoka  
The chlorophyll content of four samples collected  
at 1 m depth from the northern basin of Lake Balaton  
and the effectiveness of chlorophyll a  
1961. szept. 13.

Minta Sample	Secchi cm	a-klorofill mg/m <sup>3</sup>	Fotoszintézis mg C/m <sup>3</sup> óra	mg C/mg a-klorofill per óra
Tihany előtt (A <sub>1</sub> )	65	6,9	8,2	1,2
Széplak—Csopak (B <sub>0</sub> )	57	9,2	11,0	1,2
Balatonszabadi I (D <sub>0</sub> )	73	9,3	27,4	2,9
Balatonszabadi II (300 m)	74	6,8	17,7	2,6



A Balaton déli medencéjének öt pontjáról,  
1 m mélységből származó vízminták klorofill tartalma és az a-klorofill hatásfoka  
The chlorophyll content of water samples collected  
at 1 m depth from five locations of southern basin of Lake Balaton  
and the effectiveness of chlorophyll a  
1961. szept. 15.

Minta Sample	Secchi cm	a-klorofill mg/m <sup>3</sup>	Fotoszintézis $\frac{\text{mg C/m}^3}{\text{óra}}$	mg C/mg a-klorofill per óra
Keszthelyi-öböl közepe (M <sub>0</sub> ) . . . . .	c. 80	3,9	8,3	2,1
B.-berény—Vonyarcvashegy (L <sub>0</sub> -tól Ny-ra) . . . . .	118	5,3	9,8	1,9
Szigligeti-öböl (K <sub>0</sub> -tól Ny-ra) . . . . .	hullám	13,1	16,2	1,2
Boglár—Révfülöp (I <sub>0</sub> ) . . . . .	c. 65	13,0	24,0	1,8
Szemes—Ságpusztá (G <sub>0</sub> ) . . . . .	c. 70	12,1	24,0	2,0
Tihany előtt (A <sub>1</sub> ) . . . . .	62	6,0	17,5	2,9

A három táblázat több következtetésre nyújt alkalmat. Az első és legfontosabb az a megfigyelés, hogy az azonos időben gyűjtött minták a-klorofill-jának hatásfoka elég jól megegyezik. A 6. táblázatban Szemes-Ságpusztá 3,4 mg adata valószínűleg kísérleti hiba eredménye. A hatásfok augusztusban jobb (2,1—2,9) mint szeptemberben (1,2—1,9).

Igen érdekes a szept. 15-i 8. táblázat, melyben az első két minta gyűjtésekor csendes, sima nagy átlátszóságú víz volt 3,9—5,3 mg a-klorofill/m<sup>3</sup>. A Szigligeti öbölben hirtelen vihar támadt ránk, mely percek alatt felkeverte a vizet, és mely lehetetlenné tette az átlátszóság mérését is. Az a-klorofill tartalom ugrás-szerűen emelkedik: 12—13 mg/m<sup>3</sup>. (Tihany előtt, a tihanyi hegy árnyékában 6 mg/m<sup>3</sup>).

Inkább módszertani szempontból érdekes a 9. táblázat, melyben egy 1961. május 4-én végzett kísérlet-sorozat látható. Egy köbméterenként 4,7 mg a-klorofillt tartalmazó minta 100 ml-es alikvot részeit asszimiláltattuk a Balaton különböző mélységeiben.

4,7 mg/m<sup>3</sup> a-klorofill-tartalmú balatoni minta fotoszintézise  
a Balaton különböző mélységeiben (1961. május 4.; Secchi 48 cm, víz hőfoka: 15,4° C)  
Photosynthesis of Lake-water samples of 4.7 mg/m<sup>3</sup> a-chlorophyll content  
at different depths of Lake Balaton  
(4<sup>th</sup> May, 1961, Secchi 48 cm, temperature of water: 15.4° C)  
1961. máj. 4.

cm	Fotoszintézis $\frac{\text{mg C/m}^3}{\text{óra}}$	mg C/mg a-klorofill per óra
10	4,8	1,0
50	10,8	2,3
100	10,2	2,2
150	7,8	1,7
300	0,8	0,2



Az eddigi fotoszintézis mérésekhez (FELFÖLDY és KALKÓ 1958, FELFÖLDY 1960, BÖSZÖRMÉNYI et al. 1962) hasonló kép alakult ki itt is: a víz felső rétegében jól kialakult fény-túltelítettségi gátlás, majd az 50–100 cm mélyen elhelyezkedő optimum után a fény-szegényedéssel párhuzamos csökkenés következik.

Az eddigi ilyen irányú eredmények alapján ugyanaz a kép alakult ki, amit a C-14 módszerrel végzett fotoszintézis méréseinkkel kapcsolatban részletesen tárgyaltunk. Ennek lényege az, hogy a nagy felületű, sekély medencében a szél okozta felkeveredés minden más hatásnál erőteljesebben mutatkozik. Ez nemcsak a víztömeg optikai tulajdonságait teszi labilissá és esetlegessé, ami miatt a tengeri produkció-számításokhoz szerkesztett képleteket (STRICKLAND 1960) használni lehetetlenség, hanem a fenéklakó növényi mikroszervezeteknek a víz tömegébe juttatásával a fotoszintézist végző élőlények mennyisége is lényegesen megváltozik. A víztömegben egy-egy vizsgálati sorozat alkalmával talált függőleges rétegzettség, vagy a szervezetek vízszintes elhelyezkedésének, regionális megjelenésének módja is szeszélyesen változó.

Előző munkánkban (BÖSZÖRMÉNYI et al. 1962) már leszögeztük, hogy a Balaton természetes alga-populációinak fotoszintézisét csak a C-14 módszerrel lehet megmérni. Már ott céloztunk arra, hogy a Balaton egészében folyó szerves-anyag produkció ütemének, és a különböző területek közt található különbségének meghatározásához a C-14 módszer és a klorofill módszer kombinációja szükséges.

Eddigi munkánk során a két eljárás módszertani kérdéseit vizsgáltuk meg és azokat a Balaton sajátos viszonyaihoz alakítottuk. A közeljövő legfontosabb feladata most már a Balaton-kutatásban oly fontos lépést jelentő produkció-mérések elvégzése. Dolgozatunk ehhez és más hazai vizeink ilyen irányú kutatásához kíván segítséget nyújtani.

### Összefoglalás

A tihanyi Biológiai Kutatóintézet Növénytani Osztálya 1959 óta foglalkozik rendszeresen az édesvízi elsődleges szervesanyag termelés mérésének problémájával. A kipróbált módszerek közül a világirodalomban klorofill módszernek nevezett eljárást találtuk különösen fontosnak. Ennek lényegét az egységnyi víztömegben élő növényi mikroorganizmusok (különleges esetben hínár növények) testében levő növényi festékek mennyiségi meghatározása képezi.

Ebben a dolgozatban a módszertani kérdések részletes taglalásán kívül hazai sekély és általában zavaros (felkeveredett vagy szőke) vizeinkre alkalmas eljárást közlünk, a Balatonban végzett méréseinkről szóló, előzetes közleménynek szánt néhány adat publikálása mellett.

Fontosabb eredményeink az alábbiak:

1. Vizeink különleges természete miatt a minták szűrése még szűrőpapíron is túl lassú, membrán-szűrőlapon pedig legtöbbször képtelenséggel határos. Ezért a merített mintákban alumínium-hidroxid csapadékot kell létrehozni, az alakos részeket ezután, a szűrés előtt centrifugálással kell tömöríteni.

2. A pigmentek kioldása és az oldatok fényáteresztő képességének mérése a külföldi receptúrák szerint, a dolgozatban részletesen ismertetett módon történhet.



3. A Balatonban végzett mérések eredménye ismételten rámutat azokra a módszertani nehézségekre, melyek a tó sekélysége, nagy felülete, a széljárás és ezeknek a tényezőknek összekapcsolódásából következő gyakori, szeszélyes felkeveredéséből következnek. A Balaton vizének fénytani labilitása mellett a benne élő és a víztömegben aktívan fotoszintetizáló szervezetek mennyisége is ennek a tényezőcsoportnak függvénye.

4. Méréseink újabb bizonyítékot szolgáltatottak a bentikus szervezetek fontos szerepét illetően.

5. A Balaton-vízből izolálható a-klorofill határfoka elég kicsi és a külföldi eredmények között is a kis határfokú csoportban foglal helyet (1,2–2,9 mg szerves szénét köt 1 mg a-klorofill 1 óra alatt, optimális megvilágítás mellett; v. ö. 3. táblázat!).

\*

Végül hálás köszönetünket fejezzük ki azoknak, akik munkánk során segítettek. Először Dr. SEBESTYÉN ÖLGÁT illesse köszönet a kézirat áttanulmányozásáért, SZABÓ ERNŐ kolléga több mintasorozat begyűjtését végezte, F. KALKÓ ZSUZSA és SÓLYMOSSY GIZELLA a laboratóriumi munkában, DOBOS GYULA, a Lóczy Lajos motorhajó vezetője a gyűjtőutakon volt segítségemre.

#### IRODALOM

- ALLEN, E. J. (1919): A contribution to the quantitative study of plankton. — *J. Mar. Biol. Ass. UK.* **3**, 394–402
- ARMSTRONG, O. and W. R. G. ATKINS (1951): The suspended matter of sea water. — *J. Mar. Biol. Ass. UK.* **29**, 139–143
- ATKINS, W. R. G. and P. G. JENKINS (1953): Seasonal changes in the phytoplankton during the year 1951–52 as indicated by spectrophotometric chlorophyll estimations. — *J. Mar. Biol. Ass. UK.* **31**, 495–508
- ATKINS, W. R. G. and M. PARKE (1951): Seasonal changes in the phytoplankton as indicated by chlorophyll estimations. — *J. Mar. Biol. Ass. UK.* **29**, 609–618
- BALLANTINE, D. (1953): Comparison of the different methods of estimating nanoplankton. — *J. Mar. Biol. Ass. UK.* **32**, 129–147
- BANSE, K. (1956): Produktionsbiologische Serien-Bestimmungen im südlichen Teil der Nordsee im März 1955. — *Kiel. Meeresforsch.* **12**, 166–182
- BARNES, H. (1959): Apparatus and methods of oceanography. I. Chemical. — *George Allen and Unwin Ltd., London*, 1–341
- BERARDI, G. e V. TONOLLI (1953): Clorofilla, fitoplancton e vicende meteorologiche (Lago Maggiore). — *Mem. Ist. Ital. Idrobiol. Marchi* **7**, 165–187
- BLINKS, L. R. (1954): The photosynthetic function of pigments other than chlorophyll. — *Ann. Rev. Plant Physiol.* **5**, 93–114
- BOGOROV, V. G. und K. V. BEKLEMISEV (1955): (Über die Phytoplankton-Produktion im nordwestlichen Teil des Stillen Ozeans.) — *Dokl. Akad. Nauk SSSR, N. S.* **104**, 141–143. (*Ber. wiss. Biol.* **104**, 279. 1956.)
- BÖSZÖRMÉNYI Z., CSEH E., FELFÖLDY L. és SZABÓ E. (1962): A Balatonban C<sup>14</sup>-módszerrel végzett fotoszintézis mérés módszertani kérdéseiről. — *Annal. Biol. Tihany* **29**, 39–63
- BRAND, T. (1935): Methods for the determination of nitrogen and carbon in small amounts of plankton. — *Biol. Bull.* **69**, 221–232
- CARTER, P. W., I. W. HEILBRON and B. LYTGHOG (1939): The lipochromes and the sterols of the algal classes. — *Proc. Roy. Soc. London, B.* **128**, 82–109
- CLENDENNING, K. A., T. E. BROWN and H. C. EYSTER (1956): Comparative studies of photosynthesis in *Nostoc muscorum* and *Chlorella pyrenoidosa*. — *Canad. J. Bot.* **34**, 943–954



- COLEBROOK, J. M. and G. A. ROBINSON (1961): The seasonal cycle of the plankton in the north-eastern Atlantic. — *J. Cons. int. Explor. Mer* **26**, 156—165. (*Scottish Mar. Biol. Ass. Coll. Repr.* No. 373. 1961.)
- COMAR, C. L. (1940): Analysis of plant extracts for chlorophylls a and b. — *Ind. eng. Chem.* **14**, 877—879
- COMAR, C. L. and F. P. ZSCHEILE (1941): Spectroscopic analysis of plant extracts for chlorophylls a and b. — *Plant Physiol.* **16**, 651—653
- COMAR, C. L. and F. P. ZSCHEILE (1942): Analysis of plant extracts for chlorophylls a and b by a photoelectric spectro-photometric method. — *Plant Physiol.* **17**, 198—209
- COOPER, L. H. N. (1934): The determination of phosphorus and nitrogen in plankton. — *J. Mar. Biol. Ass. UK.* **19**, 755—759
- CORI, C. (1895): Über die Verwendung der Zentrifuge in der zoologischen Technik. — *Z. wiss. Mikrosk.* **12**
- CREITZ, G. I. and F. A. RICHARDS (1955): The estimation and characterization of plankton populations by pigment analysis. III. A note on the use of „Millipore” membrane filters in the estimation of plankton pigments. — *J. Marine Res.* **14**, 211—216
- CURRIE, R. I. (1957): Some observations on organic production in the north-east Atlantic. — *Paper presented at a Symposium of the Internat. Council for the Explor. of the Sea, Bergen 1957.* Preprint C/No. 18. cit. ap. STRICKLAND 1960
- CUSHING, D. H., G. F. HUMPHREY, K. BANSE and T. LAEVASTU (1958): Report of the Committee on Terms and Equivalents. — *Rapp. Proc. Verb. Cons. int. Explor. Mer* **144**, 15—16
- DOTY, M. S. and M. OGURI (1957): Evidence for a photosynthetic daily periodicity. — *Limnol. Oceanogr.* **2**, 37—40
- DUXBURY, A. C. and C. S. YENTSCH (1956): Plankton pigment nomographs. — *J. Marine Res.* **15**, 92—101
- EDMONDSON, W. T. (1956): Factors affecting productivity of fertilized salt waters. — *Deep Sea Res.* **3**, Bigelow Memorial Volume, pp. 451—464
- EDMONDSON, W. T. and Y. H. EDMONDSON (1947): Measurement of production in fertilized salt water. — *J. Marine Res.* **6**, 228—246
- EMERSON, R. (1929): Photosynthesis as a function of light intensity and of temperature with different concentration of chlorophyll. — *J. gen. Physiol.* **12**, 623—640
- FELFÖLDY, L. J. M. (1960): Apparent photosynthesis of *Potamogeton perfoliatus* L. in different depths of Lake Balaton. — *Annal. Biol. Tihany* **27**, 201—208
- FELFÖLDY, L. J. M. (1961): On the chlorophyll content and biological productivity of periphytic diatom communities on the stony shores of Lake Balaton. — *Annal. Biol. Tihany* **28**, 99—104
- FELFÖLDY, L. J. M. (1962): A simple apparatus for culturing unicellular algae in large amounts for laboratory purposes. — *Annal. Biol. Tihany* **29**, 95—100
- FELFÖLDY L. és F. KALKÓ ZSUZSA (1958): A víz alatti fényviszonyok és a fotoszintézis összefüggése a Balatonban, 1957 nyarán. — *Annal. Biol. Tihany* **25**, 303—329
- FELFÖLDY L., SZABÓ E. és TÓTH L. (1962): Egysejtű algák pigment tartalmáról. — *Annal. Biol. Tihany* **29**, 101—106
- FOX, D. L., J. D. ISAACS and E. F. CORCORAN (1952): Marine lepto pel, its recovery, measurement and distribution. — *J. Marine Res.* **11**, 29—46
- FOX, D. L., C. H. OPPENHEIMER and J. S. KITTEREDGE (1953): Microfiltration in oceanographic research. 2. Retention of colloidal micelles by adsorption filters and by filter-feeding invertebrates; proportions of dispersed organic to dispersed inorganic matter and to organic solutes. — *J. Marine Res.* **12**, 233—243
- FURUKAWA, A., Y. OGASAWARA, M. HISAOKA and K. NOGAMI (1956): Studies on suspended matter in the sea. II. On a method for measuring the organic suspended matter in shallow water. — *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* **22**, 220—224
- GABRIELSEN, E. K. (1948): Effects of different chlorophyll concentrations on photosynthesis in foliage leaves. — *Physiol. Plantarum* **1**, 5—37
- GARDINER, A. C. (1943): Measurement of phytoplankton population by the pigment extraction method. — *J. Mar. Biol. Ass. UK.* **25**, 739—743
- GESSNER, F. (1944): Der Chlorophyllgehalt der Seen als Ausdruck ihrer Produktivität. — *Arch. f. Hydrobiol.* **40**, 687—732
- GESSNER, F. (1949): Der Chlorophyllgehalt im See und seine photosynthetische Valenz als geophysikalisches Problem. — *Schweiz. Z. Hydrolog.* **11**, 378—410



- GILLAM, A. E., M. S. EL RIDI and R. S. WIMPENNY (1939): The seasonal variation in biological composition of certain plankton samples from the North Sea in relation to their content of vitamin A, carotenoids, chlorophyll and total fatty matter. — *J. Expt. Biol.* **16**, 71—88
- GILLBRICHT, M. (1952): Untersuchungen zur Produktionsbiologie des Planktons in der Kieler Bucht I. Die zeitliche und räumliche Verteilung des Planktons und die quantitativen Beziehungen zwischen Plankton-, Chlorophyll- und Sestonbestimmungen. — *Kiel. Meeresforsch.* **8**, 173—192
- GODNEY, T. N., S. V. KALISEVIC und G. F. ZACHARIC (1950): (Über den Chlorophyllgehalt im Süßwasserplankton.) — *Dokl. Akad. Nauk. SSSR* **73**, 1041—1044. (*Ber. wiss. Biol.* **71**, 424—425. 1951.)
- GOLDBERG, E. D., M. BAKER and D. L. FOX (1952): Microfiltration in oceanographic research. I. Marine sampling with the molecular filter. — *J. Marine Res.* **11**, 194—204
- GRAHAM, H. W. (1943): Chlorophyll-content of marine phytoplankton. — *J. Marine Res.* **5**, 153—160
- GRAN, H. H. (1932): Phytoplankton. Methods and problems. — *J. Cons. int. Explor. Mer* **7**, 343—358
- GRIM, J. (1950): Versuche zur Ermittlung der Produktionskoeffizienten einiger Planktophyten in einem flachen See. — *Biol. Zbl.* **69**, 147—174
- HARDY, A. C. (1938): Ecological investigations with the continuous plankton recorder: object, plan and methods. — *Hull Bull. Mar. Ecol.* **1**, 1—57
- HARDY, A. C. (1955): A further example of the patchiness of plankton distribution. — *Deep Sea Res.* **3**, Suppl., 7—11
- HARRIS, E. and G. A. RILEY (1957): Oceanography of Long Island Sound, 1952—1954. VIII. Chemical composition of the plankton. — *Bull. Bingham Oceanogr. Coll.* **15**, 315—323
- HARRIS, D. G. and F. P. ZSCHEILE (1943): Effect of solvent upon absorption spectra of chlorophylls A and B: their ultraviolet absorption spectra in ether solution. — *Bot. Gaz.* **104**, 515—518
- HARTMAN, R. T. (1958): Studies of plankton centrifuge efficiency. — *Ecology* **39**, 374—376
- HARVEY, H. W. (1934): Measurement of phytoplankton population. — *J. Mar. Biol. Ass. UK.* **19**, 761—773
- HARVEY, H. W. (1951): On the production of living matter in the sea off Plymouth. — *J. Mar. Biol. Ass. UK.* **29**, 97—137
- HEILBRON, I. M. (1942): Some aspects of algal chemistry. — *Nature* **149**, 398—400
- HEPHER, B. (1962): Primary production in fishponds and its application to fertilization experiments. — *Limnol. Oceanogr.* **7**, 131—136
- HEWITT, B. R. (1958): Spectrophotometric determination of protein in alkaline solution. — *Nature* **182**, 246
- HILLE, J. C. (1938): The quantitative relation between rate of photosynthesis and chlorophyll content in *Chlorella pyrenoidosa*. — *Rec. Trav. Bot. Néerl.* **35**, 680—757
- HOGETSU, K. and S. ICHIMURA (1954): Studies on the biological production of Lake Suwa. VI. The ecological studies on the production of phytoplankton. — *Jap. J. Bot.* **14**, 280—303
- HUMPHREY, G. F. (1959): The concentration of plankton pigments in Australian waters. — *Australia Commonw. Sci. and Indust. Res. Organ. Div. Fish. Oceanogr. Techn. Paper.* **9**, 3—27
- ICHIMURA, S. (1960): Diurnal fluctuation of chlorophyll content in lake water. — *Bot. Mag. (Tokyo)* **73**, 217—224
- JAMES, H., C. SMITH and A. BENITEZ (1955): Chlorophylls: analysis in plant materials. — In PAECH, K. and M. V. TRACEY: Modern methods of plant analysis. — *Springer, Berlin*, Vol. IV, 142—196
- JÄRNEFELT, H. (1958): On the typology of the northern lakes. — *Verh. int. Ver. Limnol.* **13**, 228—235
- JUDAY, C., J. M. BLAIR and E. F. WILDA (1943): The photosynthetic activities of the aquatic plants of Little John Lake, Vilas County, Wisconsin. — *Amer. Midl. Nat.* **30**, 426—446
- KALLE, K. (1951): Die Mikrobestimmung des Chlorophylls und der Eigenfluoreszenz des Meerwassers. — *Deutsche Hydrogr. Z.* **4**, 92—96
- KORRINGA, P. and H. POSTMA (1957): Investigations into the fertility of the Gulf of



- Naples and adjacent water lakes, with special reference to shellfish cultivation. — *Publ. Staz. Zool. Napoli* **29**, 112—143
- KOZMINSKI, Z. (1938): Amount and distribution of the chlorophyll in lakes of north-eastern Wisconsin. — *Trans. Wisc. Acad. Sci.* **31**, 411—438
- KREPS, E. and N. VERBINSKAYA (1930): Seasonal changes in the phosphate and nitrate content and in hydrogen ion concentrations in the Barents Sea. — *J. Cons. int. Explor. Mer* **5**, 329—346
- KREY, J. (1939): Die Bestimmung des Chlorophylls in Meerwasser-Schöpfproben. — *J. Cons. int. Explor. Mer* **14**, 201—209
- KREY, J. (1951): Quantitative Bestimmung von Eiweiss in Plankton mittels der Biuret Reaktion. — *Kiel. Meeresforsch.* **8**, 16—29
- KREY, J. (1952): Die Biomasse des marinen Planktons. — *Kiel. Meeresforsch.* **9**, 43—50
- KREY, J. (1956): Die Trophie küstennaher Meeresgebiete. — *Kiel. Meeresforsch.* **12**, 46—64
- KREY, J. (1958): Chemical methods of estimating standing crop of phytoplankton. — *Rapp. Proc. Verb. Cons. int. Explor. Mer* **144**, 20—27
- KURASAWA, H. (1959): Studies on the biological production of fire pools in Tokyo. XII. The seasonal changes in the amount of algae attached on the wall of pools. — *Misc. Rep. Res. Inst. Nat. Resources* **51**, 15—21
- KYLIN, H. (1927): Über die karotinoiden Farbstoffe der Algen. — *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.* **166**, 39—77
- LOHMANN, H. (1908): Untersuchungen zur Feststellung des vollständigen Gehaltes des Meeres an Plankton. — *Wiss. Meeresunters., N. F. Abt. Kiel*, **10**, 129—370
- LUND, J. W. G. and J. F. TALLING (1957): Botanical limnological methods with special reference to the algae. — *Bot. Rev.* **23**, 489—583
- MACKINNEY, G. (1941): Absorption of light by chlorophyll solutions. — *J. biol. Chem.* **140**, 315—322
- MANNING, W. M., C. JUDY and M. WOLF (1938): Photosynthesis of aquatic plants at different depths in Trout Lake, Wisc. — *Trans. Wisc. Acad. Sci.* **31**, 377—410
- MANNING, W. M. and R. E. JUDAY (1941): The chlorophyll content and productivity of some lakes in northeastern Wisconsin. — *Trans. Wisc. Acad. Sci.* **33**, 363—393
- MARGALEF, R. (1954): Consideraciones sobre la determinación cuantitativa del fitoplancton por la valoración de pigmentos solubles y los factores que afectan a la relación entre cantidad de pigmento y peso seco. — *Publ. Inst. Biol. Apl. Barcelona* **16**, 71—84
- MARGALEF, R. (1960): Temporal succession and spatial heterogeneity in phytoplankton. — In: *Perspectives in marine biology*. Ed.: A. A. BUZZATI-TRAVERSO, *Univ. Calif. Press, Berkeley*, p. 323—349
- MARGALEF, R. (1961): Communication of structure in planktonic populations. — *Limnol. Oceanogr.* **6**, 124—128
- MARSHALL, N. (1955): Measurement of plankton feeders in relation to gross production. — *Ecology* **36**, 360—362
- MARSHALL, N. (1956): Chlorophyll a in the phytoplankton in coastal waters of the eastern Gulf of Mexico. — *J. Marine Res.* **15**, 14—32
- MARSHALL, S. M. and A. P. ORR (1962): Carbohydrate as a measure of phytoplankton. — *J. Mar. Biol. Ass. UK* **42**, 511—519
- MAUCHA, R. (1924): Upon the influence of intensity of light and temperature on the photosynthetic production of nannoplankton. — *Verh. Intern. Ver. Limnol.* **2**, 381—401
- MCCONNELL, W. J. and W. F. SIGLER (1959): Chlorophyll and productivity in a mountain river. — *Limnol. Oceanogr.* **4**, 335—351
- MOORE, W. A. and W. W. WALKER (1956): Determination of anionic detergents in surface waters and sewage with methyl green. — *Anal. Chem.* **28**, 161
- MUKERJEE, P. (1956): Use of ionic dyes in the analysis of ionic surfactants and other organic compounds. — *Anal. Chem.* **28**, 870—872
- MYERS, J. (1954): Basic remarks on the use of plants as biological gas exchangers in a closed system. — *J. Aviation Med.* **25**, 407—411
- MYERS, J. and W. A. KRATZ (1955): Relations between pigment content and photosynthetic characteristics in a blue-green alga. — *J. gen. Physiol.* **39**, 11—22
- NELSON, D. J. (1960): Improved chlorophyll extraction method. — *Science* **132**, 351
- ODUM, H. T. (1956): Primary production in flowing waters. — *Limnol. Oceanogr.* **1**, 102—117



- ODUM, H. T. (1957): Trophic structure and productivity of Silver Springs, Florida. — *Ecol. Monogr.* **27**, 55—112
- ODUM, H. T. (1957a): Primary production measurements in eleven Florida springs and a marine turtle-grass community. — *Limnol. Oceanogr.* **1**, 85—97
- ODUM, H. T., W. McCONNEL and W. ABBOTT (1958): The chlorophyll „A” of communities. — *Publ. Inst. Mar. Sci. Univ. Texas* **5**, 65—96
- PACE, N. (1941): Pigments of the marine diatom *Nitzschia closterium*. — *J. biol. Chem.* **140**, 483—489
- PATEN, B. (1961): Plankton energetics of Raritan Bay. — *Limnol. Oceanogr.* **6**, 369—387
- PRÁT, S. and Z. SESTÁK (1959): Autotroph-heterotroph relationships in natural waters. — *Biol. Plant. (Praha)* **1**, 81—92
- RAYMONT, J. E. G. and R. J. CONOVER (1961): Further investigations on the carbohydrate content of marine zooplankton. — *Limnol. Oceanogr.* **6**, 154—164
- RAYMONT, J. E. G. and S. KRISHNASWAMY (1960): Carbohydrate of some marine planktonic animals. — *J. Mar. Biol. Ass. UK.* **39**, 239—248
- RICHARDS, F. A. (1952): The estimation and characterization of plankton populations by pigment analyses. I. The absorption spectra of some pigments occurring in diatoms, dinoflagellates and brown algae. — *J. Marine Res.* **11**, 147—155
- RICHARDS, F. A. and T. THOMPSON (1952): The estimation and characterization of plankton populations by pigment analyses. II. A spectrophotometric method for the estimation of plankton pigments. — *J. Marine Res.* **11**, 156—172
- RILEY, G. A. (1938): The measurement of phytoplankton. — *Intern. Rev. ges. Hydrobiol. Hydrogr.* **36**, 371—373
- RILEY, G. A. (1940): Limnological studies in Connecticut. III. The plankton of Lindsley Pond. — *Ecol. Monogr.* **10**, 279—306
- RILEY, G. A. (1941): Plankton studies IV. Georges Bank. — *Bull. Bingham Oceanogr. Coll.* **7**, 1—73
- RILEY, G. A. (1946): Factors controlling phytoplankton populations on Georges Bank. — *J. Marine Res.* **6**, 54—73
- RILEY, G. A., S. A. CONOVER, E. HARRIS and others (1956): Oceanography of Long Island Sound, 1952—1954. III. Chemical oceanography. — *Bull. Bingham Oceanogr. Coll.* **15**, 47—61
- RILEY, G. A., H. STOMMEL and D. F. BUMPUS (1949): Quantitative ecology of the plankton of the western North Atlantic. — *Bull. Bingham Oceanogr. Coll.* **12**, (3) 1—169
- RODHE, W., R. A. VOLLENWEIDER and A. NAUWERCK (1960): The primary production and standing crop of phytoplankton. — In: Perspectives in marine biology. Ed.: A. A. BUZZATI-TRAVERSO, *Univ. Calif. Press, Berkeley*, p. 299—322
- RYTHER, J. H. (1956): Interrelation between photosynthesis and respiration in the marine flagellate, *Dunaliella euchlora*. — *Nature* **178**, 861
- RYTHER, J. H. (1956a): The measurement of primary productivity. — *Limnol. Oceanogr.* **1**, 72—84
- RYTHER, J. H., D. W. MENZEL and R. F. VACCARO (1961): Diurnal variations in some chemical and biological properties of the Sargasso Sea. — *Limnol. Oceanogr.* **6**, 149—153
- RYTHER, J. H. and C. S. YENTSCH (1957): The estimation of phytoplankton production in the ocean from chlorophyll and light data. — *Limnol. Oceanogr.* **2**, 281—286
- SEBESTYÉN O. (1962): Az utóbbi tizenöt év Balaton-kutatásának eredményei 1946—1960. — *Annal. Biol. Tihany* **29**, 165—216
- SEYBOLD, A. (1940): Zur Physiologie des Chlorophylls. — *Sitzber. Heidelberger Akad. Wiss., Math.-nat. Kl.* **1940**, Abh. 8, 1—20
- SEYBOLD, A. (1941): Über die physiologische Bedeutung der Chlorophyllkomponenten a und b. — *Bot. Arch.* **42**, 254—288
- SEYBOLD, A. (1941a): Weist der Chlorophyllgehalt der Blätter Tagesschwankungen auf? — *Bot. Arch.* **43**, 71—77
- SEYBOLD, A. and K. EGLE (1938): Quantitative Untersuchungen über Chlorophyll und Carotinoide der Meeresalgen. — *Jb. wiss. Bot.* **36**, 50—80
- SHIMADA, B. M. (1958): Diurnal fluctuation in photosynthetic rate and chlorophyll „a” content of phytoplankton from eastern Pacific waters. — *Limnol. Oceanogr.* **3**, 336—339
- SIRONVAL, C. and O. KANDLER (1958): Photooxidation processes in normal green *Chlorella* cells. — *Biochim. Biophys. Acta* **29**, 359—368



- SLADECKOVÁ, A. (1962): Limnological investigation methods for the periphyton („Aufwuchs“) community. — *Bot. Rev.* **28**, 286—350
- STEELE, J. H. and I. E. BAIRD (1961): Relation between primary production, chlorophyll and particulate carbon. — *Limnol. Oceanogr.* **6**, 68—78
- STEELE, J. H. and I. E. BAIRD (1962): Further relations between primary production, chlorophyll and particulate carbon. — *Limnol. Oceanogr.* **7**, 42—47
- STEELE, J. H. and I. E. BAIRD (1962a): Carbon-chlorophyll relations in cultures. — *Limnol. Oceanogr.* **7**, 101—102
- STEELE, J. H. and C. S. YENTSCH (1960): The vertical distribution of chlorophyll. — *J. Mar. Biol. Ass. UK.* **39**, 217—226
- STEEMANN NIELSEN, E. (1960): Productivity of the oceans. — *Ann. Rev. Plant Physiol.* **11**, 341—362
- STEEMANN NIELSEN, E. (1961): Chlorophyll concentration and rate of photosynthesis in *Chlorella vulgaris*. — *Physiol. Plantarum* **14**, 868—876
- STEEMANN NIELSEN, E. (1962): Inactivation of the photochemical mechanism in photosynthesis as a means to protect the cells against too high light intensities. — *Physiol. Plantarum* **15**, 161—171
- STEEMANN NIELSEN, E. und T. BRAND (1934): Quantitative Zentrifugen-Methoden zur Planktonbestimmungen. — *Rapp. Cons. Explor. Mer* **89E**, 99—100
- STEEMANN NIELSEN, E. and V. K. HANSEN (1959): Light adaptation in marine phytoplankton populations and its interrelation with temperature. — *Physiol. Plantarum* **12**, 353—370
- STEEMANN NIELSEN, E. and V. K. HANSEN (1961): Influence of surface illumination on plankton photosynthesis in Danish waters (56°N) throughout the year. — *Physiol. Plantarum* **14**, 595—613
- STEEMANN NIELSEN, E. and E. G. JØRGENSEN (1962): The physiological background for using chlorophyll measurements in hydrobiology and a theory explaining daily variations in chlorophyll concentration. — *Arch. Hydrobiol.* **58**, 349—357
- STRAIN, H. (1951): The pigments of algae. — In: *Manual of phycology*. Ed.: G. M. SMITH, *Chronica Botanica, Waltham, Mass.*, p. 243—262
- STRICKLAND, J. D. H. (1960): Measuring the production of marine phytoplankton. — *Fish. Res. Bd. Canada, Bull. No.* **122**, 1—172
- STRICKLAND, J. D. H. and T. R. PARSONS (1960): A manual of sea water analysis. (With special reference to the more common micronutrients and to particulate organic material.) — *Fish. Res. Bd. Canada, Bull. No.* **125**, 1—185
- THOMAS, M. D. (1955): Effect of ecological factors on photosynthesis. — *Ann. Rev. Plant Physiol.* **6**, 135—156
- TUCKER, A. (1949): Pigment extraction as a method of quantitative analysis of phytoplankton. — *Trans. Amer. Microsc. Soc.* **68**, 21—33
- TUCKER, A. (1956): Photo-electric colorimetry as a method of quantitative phytoplankton analysis. — *Trans. Amer. Microsc. Soc.* **75**, 422—427
- VALENTYNE, J. R. (1957): The molecular nature of organic matter in lakes and oceans, with lesser reference to sewage and terrestrial soils. — *J. Fish. Res. Bd. Canada* **14**, 33—82
- VALENTYNE, J. R. and D. F. CRASTON (1957): Sedimentary chlorophyll degradation products in surface muds from Connecticut lakes. — *Canad. J. Bot.* **35**, 35—42
- VERDUIN, J. (1957): Daytime variations in phytoplankton photosynthesis. — *Limnol. Oceanogr.* **2**, 333—334
- WATERS, T. F. (1961): Notes on the chlorophyll method of estimating the photosynthetic capacity of stream periphyton. — *Limnol. Oceanogr.* **6**, 486—488
- WIECKOWSKI, S. (1957): Studies on the diurnal fluctuations of chlorophyll concentration in leaves of plants from montane and lowland habitats. — *Acta Soc. Bot. Polon.* **26**, 657—673
- WILLSTÄTTER, R. und A. STOLL (1918): Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure. — *Sieben Abh. Berlin, Springer*, 1—448
- WINBERG, G. G. (1961): Production primaire du plankton lacustre, étudié à l'aide de trois méthodes: d'oxygène, du carbone radioactif et de la chlorophylle. — *Verh. intern. Ver. Limnol.* **14**, 109—112
- WOOD, E. J. F. (1962): A method for phytoplankton study. — *Limnol. Oceanogr.* **7**, 32—35
- WRIGHT, J. C. (1958): The limnology of Canyon Ferry Reservoir. I. Phytoplankton-zooplankton relationships in the euphotic zone during September and October, 1956. — *Limnol. Oceanogr.* **3**, 150—159



- WRIGHT, J. C. (1959): Limnology of Canyon Ferry Reservoir. II. Phytoplankton standing crop and primary production. — *Limnol. Oceanogr.* **4**, 235—245
- YENTSCH, C. S. (1960): The influence of phytoplankton pigments on the colour of sea water. — *Deep-Sea Res.* **7**, 1—9
- YENTSCH, C. S. (1962): Measurement of visible light absorption by particulate matter in the ocean. — *Limnol. Oceanogr.* **7**, 207—217
- YENTSCH, C. S. and J. H. RYHER (1957): Short-term variations in phytoplankton chlorophyll and their significance. — *Limnol. Oceanogr.* **1**, 140—142
- YENTSCH, C. S. and R. F. SCAGEL (1958): Diurnal study of phytoplankton pigments. An in situ study in East Sound, Washington. — *J. Marine Res.* **17**, 567—583
- YENTSCH, C. S. and R. F. VACCARO (1958): Phytoplankton nitrogen in the oceans. — *Limnol. Oceanogr.* **3**, 443—448
- ZEIN-ELDIN, Z. P. and B. Z. MAY (1958): Improved N-ethylcarbazole determination of carbohydrates with emphasis on sea water samples. — *Anal. Chem.* **30**, 1935—1936
- ZSCHEILE, F. P., C. L. COMAR and G. MACKINNEY (1942): Interlaboratory comparison of absorption spectra by the photoelectric spectrophotometric method. — Determinations on chlorophyll and Weigert's solutions. — *Plant Physiol.* **17**, 666—670
- ZURZYCKI, J. (1957): The destructive effect of intense light on the photosynthetic apparatus. — *Acta Soc. Bot. Polon.* **26**, 157—175

## METHODS AND RESULTS OF CHLOROPHYLL ESTIMATION IN LAKE BALATON

Lajos J. M. Felföldy

### S u m m a r y

In the first part of this paper principles and methodical questions of chlorophyll measurements in hydrobiology are discussed in detail with reference to literary data. The method applied for pigment estimation in the water of Lake Balaton was the following.

1—3 litres of Lake water was sampled with a Meyer bottle. The necessary amount of sample depended on turbidity of water. One, two or three litres were collected at Secchi transparencies of < 30 cm, 30—100 cm or > 100 cm respectively. 5 ml of 1% alum solution was pipetted into each litre of sample. Both the evolved aluminium hydroxide precipitates and the coagulated seston were centrifuged at 5000 r.p.m. for 10 minutes. At first the supernatant and thereafter the centrifuged mass was filtered through a Delta N° 368 or Macherey and Nagel N° 640d filter paper of 5 cm diameter by slight suction produced by a water jet pump.

The filter paper with the adhering filtered sample was exposed in steam above boiling water for two minutes in order to destroy the chlorophyllase enzyme.

After this heat-treatment the sample was transferred into a porcelain mortar of small size quantitatively and was ground either with quartz sand or with glass powder by adding a small amount of magnesium oxide or calcium carbonate and some drops of 90% aqueous acetone. The homogenized material was washed into 25 ml conical flasks. The samples were left to stand overnight (12—16 hours) in a cool, dark place.

The extract was filtered through an asbestos filter (prepared with 90% acetone) and was made up to exactly 10 or 25 ml with 90% acetone. If in the course of homogenizing and filtration too much solvent was used, the excess was removed at a temperature below 40° C *in vacuo* at a carbon dioxide atmosphere.

The transparency of pigment solutions of known volume was measured with Beckman DU spectrophotometer in 1 cm path-length cells against 90% acetone at wavelengths of 665, 645, 630, 510 and 480  $\mu$ . The calculations were made on basis of expressions by RICHARDS (1952), RICHARDS and THOMPSON (1952) and CREITZ and RICHARDS (1953) (symbols [1]—[11] on page—145). The results of measurements were expressed in terms of milligramms of pigments per m<sup>3</sup> of Lake water sample. The results obtained by this method are summarized in *Tables 4—9*.

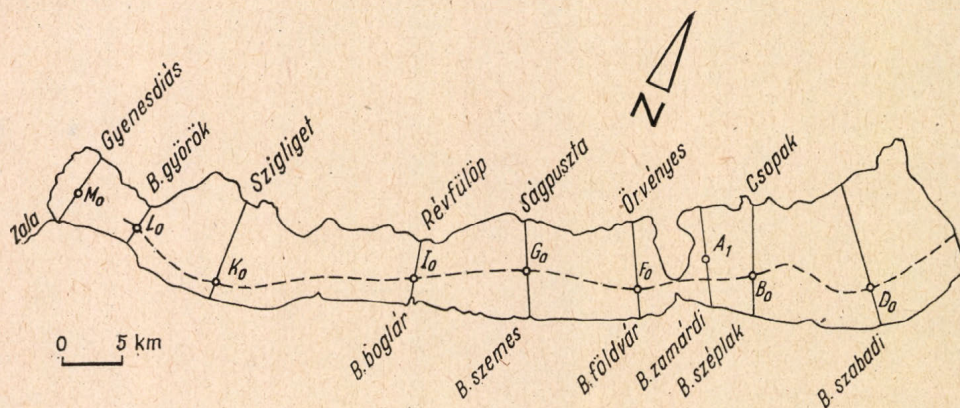


*Table 4* comprises the data obtained in 1959. In this year both the amount of dry seston in Lake water and its chlorophyll content were measured. A close relation was found among chlorophyll *a* content of water, the quantity of suspended seston and Secchi transparency. The less the transparency, i.e. the more turbid the water, the greater is the chlorophyll content. This fact verifies the assumption that the benthic diatoms play a very important role in the primary production of Lake Balaton.

Contrary to this the chlorophyll content of seston is in inverse ratio both to turbidity and the seston content of water; the cleaner the water, the less the stirred up dead material, consequently the greater is the pigment content of seston. The 40 mg chlorophyll/m<sup>3</sup> value in the sample collected in the 18th August in a very stormy weather when the Lake was stirred up to the bottom may be regarded an „average” for the whole Lake. Considering a 3.5 m deep water this would mean a 140 mg/m<sup>2</sup> total chlorophyll content.

The sum of values obtained from water of greater transparency i.e. after settling is always less than this value (< 50 mg/m<sup>2</sup>). One may conclude from this difference on the amount of algae sunk down to the bottom, namely on the amount constitutes at least two thirds of autotrophic organisms (benthic + planktonic) living in the whole mass of water.

The data of *Table 5* show the irregular fluctuation of chlorophyll content of Balaton water at different periods and places. The parallelism between pigment content and turbidity (Secchi) is here also apparent and there is an increase of pigment content with depth.



1. Ábra. = Figure 1.

In *Tables 7, 8 and 9* the chlorophyll *a* content of samples originating from locations illustrated in *Fig. 1* and the quantity of synthesized organic carbon by 1 mg chlorophyll *a*/hour are presented. The photosynthesis was measured by the radioactive carbon technique (BÖSZÖRMÉNYI et al. 1962). The effectiveness of chlorophyll *a* in planktonic populations in water bodies of Lake Balaton is rather low (1.2—2.9 mg organic carbon/one mg chlorophyll *a*/hour; cf. *Table 3*).

The measurement of productivity in Lake Balaton is not a simple task. The water is easily stirred up to bottom by waves due to the large surface and shallowness of the Lake. These facts result not only in optical inhomogeneity and unstable conditions, but also influence the quantity of active organisms present in the water bodies by stirring up benthic organisms.