

A BALATONVÍZ TULAJDONSÁGAINAK VIZSGÁLATA ALGAÉLETTANI KÍSÉRLETEKKEL*

FELFÖLDY LAJOS

Érkezett : 1958. november 24.

Természetes vizek „termelőképesége” többek között nagymértékben függ a víz kémiai tulajdonságától. Az egyszerű vegyi elemzés azonban nem mindig elégséges a víz ilyen értelmű elbírálásához. SCHREIBER (1927) óta sokan foglalkoztak olyan biológiai módszer kidolgozásával, mellyel a vízben oldott anyagok használhatósága, hozzáférhető, vagy felvehető mivolta megállapítható. Az ilyen értelmű vizsgálatok legegyszerűbb módja az, hogy a természetes vízből vett, megfelelően szűrt (esetleg sterilizált) vízmintát különféle planktonalgák tisztatenyészetével oltják be és ezek szaporodását mérik különféle anyagok hozzáadásával és enélkül (STROM 1933, POTASH 1956). Véleményünk szerint az egyszerű tenyésztési kísérlet nem ad pontos feleletet a természetes víz potenciális termelőképességére, mert a hosszabb tenyésztési idő alatt egyes anyagok, főleg N- és P-vegyületek, elfogyhatnak. A természetben viszont ezek a lebontási ciklusban állandóan pótlódnak (STROM 1933). Sokkal pontosabb eredmény várható a különféle algafajok kémiai összetételének vizsgálatával. Ennek a módszernek lényege az, hogy a tápoldatban (vagy tó-vízben) változtatja a kutatott anyag, pl. nitrát koncentrációját, megállapítja az algatömeg össz-N-tartalmát az optimális nitrát töménység mellett, majd a szabadban gyűjtött mintában talált N-tartalomból következtet annak elégséges vagy hiányos voltára. A módszer természetesen csak olyan fajok esetében használható, melyek nagy tömegben képesek elszaporodni, alga-színeződést vagy vízvirágzást okozva (GERLOFF és SKOOG 1954, 1957, 1957a). HARVEY (1957) rövid ideig tartó kísérletben vizsgálja a természetes (tenger-) vízhez adott változó töménységű anyagféleségek hatását és statisztikai módszerrel számítja ki, hogy van-e hiány belőlük az eredeti vízben? BASLAVSKAJA és munkatársai (1954, 1955) a produktivitásban fő szerepet játszó, hiányzó anyagokat egysejtű algák fotoszintézisének mérésével kutadják, megállapítva, hogy a tóba, vagy *in vitro* tó-vízbe juttatott N és P adagolás nemcsak az algák szaporodását gyorsítja, hanem növeli fotoszintetikus tevékenységüket is. Ezzel a módszerrel a nitrogén vagy foszfor szükséglet mennyiségileg meghatározható.

Ebben a dolgozatunkban a fenti munkák törekvéseinek szellemében, két egymással összefüggő, de különböző természetű problémát vizsgálunk meg.

1. Felhasználható-e a megfelelően szűrt balatonvíz egysejtű algák *in vitro*, esetleg tömeges tenyésztésére és
2. a természetes balatonvíz milyen tápoldatot jelent a benne élő planktonalgák számára?

* Előadás 1958. szeptember 5-én a tihanyi Hydrobiológus Napokon.

Anyag és módszer

Kísérleteinkhez saját élő algagyűjteményünkől származó 7K *Chlorella vulgaris* BEYER. törzset használtuk, melyet a Balatonból izoláltunk. Baktériummentes törzseinket PRINGSHEIM (1946, 35) által módosított KNOP-oldattal készült, 0,5% szőlőcukrot, 0,2% peptont és 0,2% élesztőkivonatot tartalmazó ferde ágáron tartjuk. A kísérletekhez használt algatömeget 2 literes lombikban 1 liter 1 : 1 hígítású KNOP—PRINGSHEIM (KP) tápoldatban állítottuk elő. A folyadék kultúrákat 3% széndioxidot tartalmazó mosott levegővel buborékoltattuk át.

A tápoldatban levő algamennyiséget vagy sejtszámlálással, BÜRKER-kamra segítségével állapítottuk meg, vagy az algaszuszpenzió extinkcióját mértük a PULFRICH fotométer S 61 szűrőjével, mely esetben az eredményt 1 cm rétegvastagságra számítottuk át (E_{1cm}).

Az algaszuszpenzió szárazanyagtartalmát porcelánszűrőn szűrve, 105°-on súlyállandóságig szárítva, össz-N-tartalmát mikro-KJELDAHL módszerrel (vö. LEES és QUASTEL 1946, 807), P-tartalmát URBACH általunk módosított módszerével (OROSZLÁN, SZOLNOKI és FELFÖLDY 1952, 216) kolorimetriásan határoztuk meg. A nitrogén és foszfor meghatározások előtt az algatömeget centrifugálással választottuk el a tápoldattól és háromszor mostuk kétszerdesztillált vízzel.

A pH-t kolorimetriásan mértük PULFRICH fotométerrel, illetve MAUCHA (1945) fél-mikro módszerével.

Az asszimiláció kísérletekhez a Delta 368 sz. papíron szűrt balatonvizet vákuumban tartottuk addig, míg O_2 -tartalma 4—5 mg/literre csökkent (FELFÖLDY és KALKÓ 1958, 316—317). Ebben az evakuált balatonvízben készítettük el a *Chlorella* szuszpenziót (500 vagy 1000 sejt/ μ l). A végső sejtszámot BÜRKER-kamrában végzett számlálással ellenőriztük. A szuszpenzió megfelelő részleteibe szilárd só formájában adtuk a kérdéses vegyületeket olyan mennyiségben, amennyi a KNOP—PRINGSHEIM-féle (KP) tápoldatban van. Így az eltérő sejtszám okozta hibát egy-egy sorozaton belül kiküszöböltük. A különféle foszfátok adagolását úgy számítottuk ki, hogy a KP tápoldat P-koncentrációja maradjon állandó (200 mg K_2HPO_4 per liternek megfelelő P).

A különféle kezeléssű szuszpenziók MAUCHA-féle kémcsövekben, buborékmentesen bedugaszolva forgó állványra kerültek és vízköpennyel hűtött 300 W fémszálas izzólámpa fényében (5000 lux) exponáltuk őket 3 óra hosszat $25,0 \pm 0,5$ C°-on termosztátban. Az asszimiláció intenzitását a keletkezett oxigén mennyiségével jellemezzük, amit WINKLER MAUCHA által (1945) módosított módszerével határoztunk meg (mikrobürettából titráltunk!). A fotoszintézis mértékegysége $P_k = mg O_2/10^9$ sejt/1 óra. A „rel. P_k ” ugyanaz, a tiszta balatonvíz P_k értékére, mint 100-ra vonatkoztatva egy-egy sorozaton belül.

Tenyésztési kísérletek balatonvízben

Ha 368 sz. „Delta” szűrőpapíron szűrt balatonvizet autoklávban 1,5 Atm. nyomással 10 percig sterilizálunk, akkor benne sűrű fehér csapadék keletkezik, amit 3% széndioxidot tartalmazó szűrt levegő átbuborékoltásával ismét oldatba vihetünk. Ha ebbe a tápoldatba *Chlorella vulgaris* baktériummentes tenyészetét oltjuk, az pár napig jól szaporodik, majd a sejtszám növekedése

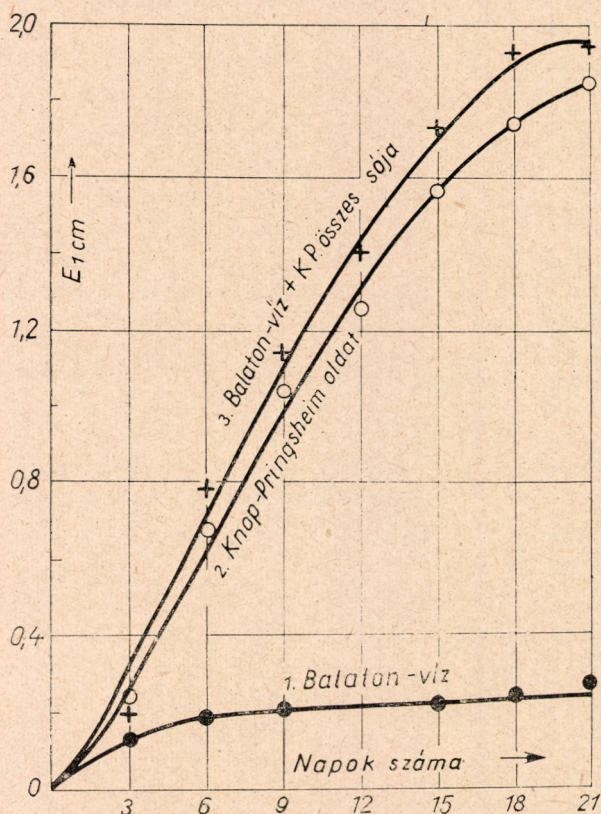
megáll (1. ábra), a sejtek meghíznak, bennük nagymennyiségű karotinoida halmozódik fel, annyira, hogy a lombikban levő folyadék-kultúra egészen narancssárga lesz. Az 1. táblázatban ilyen természetű kísérleteink alapján néhány élettani és kémiai tulajdonságot mutatunk be.

1. táblázat

Különbéle tápoldatokban nevelt *Chlorella* tenyészet tulajdonságai

	4. Sejt- szám/ μ l	5. Szár- anyag mg/10m	6. N/10 ml	7. N Sza %	8. P/10 ml	9. P Sza %	10. Pk	11. Szín
1. Balatonvíz	730	0,55	4,5	0,89	0,16	0,03	0,45	sárga
2. B.-víz + 1g KNO_3 /l	1 237	0,77	37,0	4,58	0,26	0,03	0,84	sárga
3. Knop-Pringsheim	13 440	4,41	274,0	6,49	4,90	1,43	1,99	zöld

Megjegyzés: 500 ml tápoldatban 21 sejt/ μ l-es kiindulási szuszpenzió; a kísérlet 1957 május 6—21-ig (15 nap) tartott 25 C -on, 5000 lux megvilágítással, 3% CO_2 tartalmú levegővel szellőztetve.



1. ábra. *Chlorella vulgaris* tenyészet sejtsűrűségének változása az idő függvényében, különböző tápoldatokban. — Figure 1. Changes in the cell quantity of *Chlorella vulgaris* cultures in different nutrient media, measured by the optical density of 1 cm layer of suspension ($E_{1\text{ cm}}$), determined by PULFRICH step photometer (S 61 filter). Abscissa: days. The curves are: 1. Lake water, 2. KNOP-PRINGSHEIM solution, 3. Lake water in which all salts of KNOP-PRINGSHEIM solution were diluted.

Az 1. ábra grafikonjáról a különféle kezelésű kultúrák növekedési üteme látható. A növekedés mértékéül a kultúrák 1 cm-es rétegének extinkció értéke ($E_{1\text{ cm}}$) szolgál. A kísérlet 21 napig tartott (1958. május 13—jún. 3) 120 sejt/ μl kiindulási szuszpenzió, 1 liter tápoldat 2 literes ERLÉNMEYER-lombikban, 25 C°-on, 7000 lux megvilágítással, 3% széndioxidot tartalmazó levegő átbuborékolatásával.

Az 1. ábrán látható a tiszta balatonvíz kedvezőtlen volta és az a tény, hogy az összes KNOP—PRINGSHEIM só-tartalmazó balatonvíz a tiszta szintetikus tápoldattal egyenlő értékű.

Ugyanebbe a kísérleti sorozatba tartozó különféle kezelésű kultúráinkat a végső sejtszámmal is jellemezhetjük (2. táblázat, a kísérlet adatai megegyeznek az első ábrán látható kísérletek adataival).

2. táblázat

Különféle kezelésű Chlorella kultúrák végső sejtszám értékei

	Sejtszám $10^3/\mu\text{l}$	5. Szín
1. Balatonvíz	0,9	sárga
+0,2 g K_2HPO_4 /liter	1,0	sárga
+1,0 g KNO_3 /liter	0,9	sárga
+1,0 g KNO_3 +0,2 g K_2HPO_4 /liter ..	9,6	barnászöld
Knop-Pringsheim tápoldat (KP) ...	11,0	zöld
2. Balatonvíz + KP összes sója	11,3	zöld
3. Balatonvíz + nyomelemek	0,8	sárga
4. KP + 0,25 g MgSO_4 /liter	10,6	zöld

A 2. táblázatból megállapítható, hogy a KNOP—PRINGSHEIM tápoldat sóival a balatonvíz teljes értékűvé lesz, hogy sem a N, sem a P egyedül nem javítja a helyzetet és, hogy a balatonvíz nagy magnéziumtartalma (kb. 50 mg/liter) nem lehet gátló tényező.

Hasonló eredményre vezetett az a törekvésünk, hogy a sárga, hiánybeteg algatömeget „meggyógyítsuk”. Nagy mennyiségű komplett tápoldatban tenyésztett algasejtet szuszpendáltunk ebből a célból tiszta balatonvízben, ahol azok kb. egy hónap múlva megsárgultak. A sárga színű kultúrát az alábbi anyagokkal kezeltük (3. táblázat).

3. táblázat

Balatonvízben tenyésztett, hiánybetegségben szenvedő kultúrák megváltozása különféle kezelésekre hatására

	2. Színe 1 hónap múlva	3. Sejtszám $10^3/\mu\text{l}$
1. Sárga színű kultúra	sárga	0,5
+1 g KNO_3 /liter	sárga	0,6
+0,2 g K_2HPO_4 /liter	sárga	0,9
+1 g KNO_3 + 0,2 g K_2HPO_4 /liter ..	zöld	8,2
+1 g KHCO_3 /liter	sárga	0,5
Knop-Pringsheim tápoldat*	zöld	10,2

* Összecentrifugált algatömeg felvétele KP-ben.

Ezek szerint a kísérletek szerint a balatonvíz tömegkultúrák tápoldatának felhasználható, ha nitráttal és foszfáttal javítjuk. Igen jó tápoldatot kapunk, ha a KNO₃—PRINGSHEIM-f. recept sóit balatonvízben oldjuk, de jó eredményt csak akkor várhatunk, ha a kultúrákat 3—5% széndioxidot tartalmazó levegővel buborékoltatjuk át. Kísérleteink tiszta levegővel igen rossz eredménnyel záródtak.

Fotoszintézis kísérletek különféle kezelésű balatonvízben

Az első kísérletsorozatban a friss balatonvízben és friss KP-tápoldatban kapott asszimiláció mértékét hasonlítottuk össze olyan „kihasznált” tápoldatokban mérttel, melyekben 1 hónapig *Chlorella* kultúra élt (4. táblázat). Ebből a táblázatból nemcsak a „kihasznált” balatonvíz kedvezőtlen volta kétségtelen, hanem az is, hogy a friss balatonvíz is elmarad mind a két KP-tápoldat mögött. A balatonvizet megpróbáltuk nitrát és foszfát adagolással javítani (5. táblázat).

4. táblázat

Chlorella vulgaris asszimilációja friss és kihasznált tápoldatokban

1. Kísérlet száma	2. Kezelés	3. P _k	4. rel. P _k	5. pH
1.	Friss balatonvíz	3,59	100,0	7,9
2.	„Kihaszánlt” balatonvíz	2,26	63,0	8,0
3.	„Kihaszánlt” Knop-Pringsheim	5,73	159,6	7,9
4.	Friss Knop-Pringsheim	7,30	203,9	6,8

5. táblázat

Balatonvízben oldott nitrát és foszfát hatása a *Chlorella vulgaris* fotoszintézisére

1. Kísérlet száma	2. Kezelés	3. P _k	4. rel. P _k	5. pH
5.	Balatonvíz	4,53	100,0	7,8
6.	+ KNO ₃	4,65	102,6	7,8
7.	+ KH ₂ PO ₄	7,91	174,8	6,8
8.	+ KH ₂ PO ₄ + KNO ₃	7,42	163,7	6,8
9.	+ K ₂ HPO ₄	3,68	81,2	8,0

Az 5—9. sz. kísérletek szerint a KNO₃ (6. sz. kísérlet) és az azonos pH-jú foszfát (9. sz. kísérlet) adagolás nem befolyásolja a fotoszintézist, viszont a savanyú foszfát stimuláló hatása kétségtelen (7—8. sz. kísérlet).

A további kísérletek (6. táblázat) a pH és a balatonvízben mérhető fotoszintézis-intenzitás összefüggését vizsgálták és az eredményekből a nagy H-ion koncentráció fontosabbnak látszik a hozzáadott foszfor mennyiség hatásánál. Ez az eredmény nagyon feltűnő és annak részletes tisztázását

kívánja, hogy valóban nincs-e foszfor- vagy nitrogénhiány a Balatonban? Az eddigi kísérletekben egészséges *Chlorella* sejtekkel dolgoztunk, melyeket teljes értékű tápoldatból vittünk át balatonvízbe. ÖSTERLIND (1947) vizsgálataiból tudjuk, hogy a *Scenedesmus quadricauda* hasonló körülmények között húsz órára is elégséges P-tartalékkal rendelkezhet, fotoszintézise tehát P-szegény közegben is normális lehet. Ennek kiküszöbölésére éheztetett *Chlorella* szuszpenzióval is megismételtük az asszimiláció kísérleteket.

6. táblázat

Különböző pH-ra állított balatonvízben mért fotoszintézis intenzitás értékek

1. Kísérlet száma	2. Kezelés	3. P_k	4. rel. P_k	5. pH
10.	Balatonvíz	3,84	100,0	8,0
11.	+ KH_2PO_4	6,70	174,5	6,8
12.	+ HCl(n/20 5 ml/liter)	6,47	168,5	6,9
13.	+ K_2HPO_4	5,08	132,2	8,0
14.	+ KH_2PO_4 + K_2HPO_4	6,58	171,1	7,4
15.	Balatonvíz	3,22	100,0	8,1
16.	+ KH_2PO_4	5,82	180,8	6,8
17.	+ KH_2PO_4 : K_2HPO_4 2 : 1	5,62	174,5	7,0
18.	+ KH_2PO_4 : K_2HPO_4 1 : 1	5,34	165,8	7,2
19.	+ KH_2PO_4 : K_2HPO_4 1 : 2	5,32	165,0	7,6
20.	+ K_2HPO_4	3,44	106,9	8,1

7. táblázat

Fotoszintézis kísérletek éheztetett *Chlorella* sejtekkel

1. Kísérlet száma	2. Kezelés	3. P_k	4. rel. P_k	5. pH
21.	Balatonvíz	2,81	100,	8,1
22.	+ KNO_3	2,60	92,5	8,1
23.	+ KNO_3 + K_2HPO_4	2,86	101,8	8,2
24.	+ KH_2PO_4	3,87	137,9	6,8
25.	„Kihasztnált” balatonvíz	1,06	100,0	8,0
26.	+ KNO_3	2,11	199,0	8,0
27.	+ KNO_3 + K_2HPO_4	2,64	249,0	8,1

A 3. táblázatban szereplő hiánybeteg tenyészetből készítettünk kb. 1000 sejt/ μ l-es szuszpenziót és ezzel végeztük a 7. táblázatban bemutatott kísérleteket. Ezek alapján nyugodtan mondhatjuk, hogy a friss balatonvízben sem P, sem N-hiányról nem beszélhetünk, az oldat elsavanyítása viszont itt is emeli az asszimilációt. A „kihasznált” balatonvízben a P és N együttes adagolására a P_k majdnem eléri a friss balatonvíz értékét, a „kihasználtéhoz” képest pedig két és félszeresére nő.

Az eredmények megvitatása

A balatonvízben végzett fotoszintézis kísérletek adataiból (4—7. táblázat: 1—27. sz. kísérlet) megállapítható, hogy nitrát (6. sz. kísérlet), azonos pH-jú foszfát (9, 13, 20 sz. kísérlet) és a kettő együttesen (23. sz. kísérlet) nem, vagy alig növelik az asszimilációs tevékenységet. Határozottan serkentőleg hat a KH_2PO_4 hozzáadása, mely azonban a pH-t 6,8-ra nyomja le. A hidrogén-ion koncentráció növelésével párhuzamosan határozottan nő a fotoszintézis intenzitása (pl. 16—20. sz. kísérlet), hiszen még az asszimilációra egyébként hatástalan HCl is 68%-os emelkedést okozott (12. sz. kísérlet). Balatonvízről lévén szó, a hidrogén-ion koncentráció változása elválaszthatatlan a benne levő karbonát-hidrokarbonát-szabad széndioxid-rendszer arányainak megváltozásától (vö. ÖSTERLIND 1949).

„Amint az már régóta ismeretes, a Balaton nyíltvizének összetétele olyan, hogy lehetőség van akár szabad CO_2 , akár pedig CO_3^{--} megjelenésére, viszont közülük egyik sem fordul elő nagy mennyiségben” — állapítja meg ENTZ B. (1953, 34). MÜLLER (1929, 147) számításai szerint a balatonvízben nincs és 8,3 pH felett nem is lehet szabad széndioxid. Ezt a véleményt veszi át MALDURA (1931) is. KLUT és OLSZEWSKI (1945, 59) formulája szerint a kritikus pH, mely felett szabad CO_2 nincs az oldatban 8,47. EMERSON és GREEN (1938, 160) diagramja értelmében mind a három C-forma 7,6—8,5 pH közt várható. BUCH (1930) grafikonján ez az érték 8,1—8,5 közé esik tengervízben. A szabad CO_2 kémiai meghatározása 8 pH körül és afelett nehézségekbe ütközik és vagy a pH és hidrokarbonát keménység értékéből kell közvetve kiszámítani (pl. KLUT és OLSZEWSKI l. c.) vagy a CO_2 gáz tenzióját kell közvetlenül megmérni (HUTCHINSON 1957, 666).

A Balaton nyíltvizének pH értéke 1950—52 nyarán 8,42—8,44 közt ingadozott ENTZ B. (1953, 33) igen széleskörű és nagy körültekintéssel végzett mérései szerint, vagyis éppen a kritikus zónába esett.

Munkánk eredeti célkitűzésének szellemében három módszerrel vizsgáltuk meg a frissen merített balatonvíz szabad CO_2 -tartalmát.

A KLUT—OLSZEWSKI könyvében található formula segítségével, ENTZ már idézett dolgozatának adatai és saját eredményeink alapján végzett számítással, egyetlen extrém eset (Szántód, nyári kánikula, pH = 8,78 ENTZ l. c. I. tábl.) kivételével 0,2—0,4 mg CO_2 /liter értékeket kaptunk. Ha 8,33 pH-jú friss balatonvizet (0,97 mg CO_2 /liter) fél óra hosszat evakuálunk, pH-ja 8,43-ra emelkedik, számított CO_2 -tartalma pedig 0,18 mg/l értékre csökken.

A másik módszer szerint szűrt balatonvizet 24 óra hosszat tartottunk szilárd NaOH pasztillák felett jól záró exsikkátorban. A pH-mérések eredménye a következő:

Kiindulási balatonvíz	pH 8,24
24 óra hosszat szilárd NaOH felett	pH 9,36
24 óra múlva, kezeletlen	pH 8,33

A pH emelkedése a szabad CO_2 eltávozására utal.

Ilyen módon előállított CO_2 -szegény balatonvízben fotoszintézis kísérletet is végeztünk (8. táblázat). A szabad széndioxid döntő szerepe a számokból nyilvánvaló.

8. táblázat

Chlorella vulgaris fotoszintézise széndioxid-szegényített és dúsított balatonvízben

Kísérlet száma	Kezelés	P_k	rel. P_k	pH
28.	Balatonvíz	5,43	100,0	8,33
29.	—CO ₂	3,02	55,7	9,36
30.	+CO ₂	9,77	180,0	6,20

Megjegyzés: —CO₂ = 24 óra hosszat szilárd KOH felett tartott vízminta; +CO₂ = 10 másodpercig mosott CO₂-vel átbuborékolatott balatonvíz.

Harmadik módszerként *Calliargon cuspidatum* (L.) LINDB. lombosmohát asszimiláltattunk különböző pH-jú balatonvízben. Tiszta balatonvízben 2,89, KH₂PO₄ jelenlétében 3,56, míg K₂HPO₄ adagolásakor 0,71 mg O₂/1 g szárazanyag/1 óra fotoszintézis intenzitást mértünk. Tudva, hogy a lombosmohok csak szabad széndioxidot képesek asszimilálni (JAMES 1928, STEEMANN NIELSEN 1946, 1952, RUTTNER 1947, 1948) ez a tájékoztató jellegű kísérlet is szabad CO₂ jelenlétére utal.

Az elmondottak alapján megállapíthatjuk, hogy a Balaton vízében állandóan van szabad széndioxid, míg pH-ja nem emelkedik 8,47 fölé. Ez a széndioxid bármilyen kis mennyiségű is, igen fontos szerepet játszik a növényi szervezetek fotoszintézise szempontjából.

Igen figyelemre méltó, hogy az egyszerű, szűrt balatonvízben a hosszú ideig tartó tenyésztésnél minimumfaktorként jelentkező N és P pillanatnyilag mindig elégséges mennyiségben található, legalábbis adagolásukkal a fotoszintézis nem fokozható lényegesen, még éhezettett sejtek esetében sem. Az asszimiláció gyorsasága azonban tetemesen növelhető a hidrogén-ion koncentráció növelésével. Ez, kísérleteink szerint, valószínűleg a szabadabbá váló CO₂ mennyiségével függ össze és arra figyelmeztet, hogy a Balatonban és a hozzá hasonló magas pH-jú, mérsdús vizekben (NEEL 1951) a produkció szempontjából a szervesetlen szénforrásnak van jelentős szerepe. MAUCHA (1924, 1927, 1953, 1958) figyelemre méltó elméletének megjelenése óta, ha szórványosan is, mindig több szerző hangsúlyozza annak lehetőségét, hogy bizonyos esetekben a rendelkezésre álló (hozzáférhető) széndioxid szerepel az édesvízi termelés alapvető minimumfaktorként (RUTTNER 1931, STEEMANN NIELSEN 1955, CARPELAN 1957). A probléma további, elsősorban növényéletani vizsgálata folyamatban van.

Összefoglalás

Chlorella vulgaris BEYER. tenyész-kísérletekkel megállapítottuk, hogy a balatonvíz alkalmas tápoldat alga tömegtenyésztéshez, ha a benne kis mennyiségben levő foszfátot és nitrátot pótoljuk, de még jobb eredményt kapunk, ha az algák számára legjobbnak talált szintetikus tápoldatunk sóit teljes egészükben feloldjuk benne. Tömegtenyészet esetén 3—5% széndioxidot tartalmazó levegő átbuborékolatása a siker elengedhetetlen feltétele.

A tenyész-kísérletekkel szemben megállapíthatjuk, hogy az ott minimumfaktorként jelentkező N és P adagolásával a *Chlorella* fotoszintézise nem fokoz-

ható még éhezettett sejtek esetében sem. Ez arra utal, hogy a Balatonban a N és P pillanatnyilag mindig elegendő mennyiségben áll a fitoplankton rendelkezésére.

Ha a balatonvíz hidrogén-ion koncentrációját növeljük, valószínűleg a hozzáférhető széndioxid arányának növekedése következtében a *Chlorella* szuszpenzió fotoszintézis-intenzitása lényegesen nő.

Mérésekkel, számítással és biológiai teszttel (csak szabad széndioxidot hasznosító lombosmoha asszimilátásával) egyaránt arra az eredményre jutottunk, hogy a Balaton vizében legalább 0,2—0,4 mg/l CO₂ van. Eredményeink szerint az a közismert tény, hogy a Balatonban élő fitoplankton biomasszája aránylag kevés, részben a benne jelenlevő hozzáférhető CO₂ kis mennyiségével magyarázható, ami a szénforgalom fontosságára utal a Balaton és a hozzá hasonló lúgos kémhatású, mézben dús tavak esetében.

IRODALOM

- BASLAVSKAJA, S. S. und T. E. KISLJAKOVA (1954): Die Wirkung von Stickstoff und Phosphor auf die Photosynthese der Alge *Scenedesmus quadricauda*. — *Dokl. Akad. Nauk. SSSR. N. S.* **98**, 669—672. (*Ber. wiss. Biol.* **95**, 318, 1955.)
- BASLAVSKAJA, S. S., O. I. KOBLENOMISKE és L. A. UDALOVA (1955): Ásványi tápelemek hatása a moszatok fotoszintézisére. — *Tr. Inst. Fiziol. Raszt. K. A. Timirjazeva* **1955**, 197—209. (*Orv. Tud. Dokum. Kp.* 2608/197. 1857—1860 o.)
- BUCH, K. (1930): Die Kohlensäurefaktoren des Meerwassers. I. — *Rapp. Cons. Explor. Mer.* **67**, 5—88 (cit. ap. HUTCHINSON 1957, 657).
- CARPELAN, L. H. (1957): Hydrobiology of the Alviso salt ponds. — *Ecol.* **38**, 375—390.
- EMERSON, R. and L. GREEN (1938): Effect of hydrogen-ion concentration on *Chlorella* photosynthesis. — *Plant Physiol.* **13**, 157—168.
- ENTZ, B. (1950): Some physical and chemical conditions of the water of Lake Balaton, investigated from September 1948 to April 1949. (Temperature, transparency, dissolved oxygen, pH and organic substances.) — *Annal. Biol. Tihany* **19**, 69—81.
- ENTZ B. (1953): Horizontális kémiai vizsgálatok 1950 és 1952 nyarán a Balaton különböző biotópjaiban és néhány beömlő patak torkolatánál. — *Annal. Biol. Tihany* **21**, 29—48.
- FELFÖLDY L. és F. KALKÓ Zs. (1958): A vizalatti fényviszonyok és a fotoszintézis összefüggése a Balatonban, 1957 nyarán. — *Annal. Biol. Tihany* **25**, 303—329.
- GERLOFF, G. C. and F. SKOOG (1954): Cell contents of nitrogen and phosphorus as a measure of their availability for growth of *Microcystis aeruginosa*. — *Ecol.* **35**, 348—353.
- GERLOFF, G. C. and F. SKOOG (1957): Availability of iron and manganese in southern Wisconsin lakes for the growth of *Microcystis aeruginosa*. — *Ecol.* **38**, 551—556.
- GERLOFF, G. C. and F. SKOOG (1957a): Nitrogen as a limiting factor for the growth of *Microcystis aeruginosa* in southern Wisconsin lakes. — *Ecol.* **38**, 556—561.
- HARVEY, H. W. (1957): Bio-assay of nitrogen available to two species of phytoplankton in an off-shore water. — *J. Mar. Biol. Ass. U. K.* **36**, 157—160.
- HUTCHINSON, E. (1957): A treatise of limnology. Vol. 1. Geography, physics and chemistry. — *New York, J. Wiley and Sons Inc.* 1957, 1—1015.
- JAMES, W. O. (1928): Experimental researches on vegetable assimilation and respiration. XIX. The effect of variations of carbon dioxide supply upon the rate of assimilation of submerged water plants. — *Proc. Roy. Soc. London* **103**, (B 721), 1—42. (*Bot. Obl.* **14**, 398—399, 1929.)
- KLUT—OLSZEWSKI (1945): Untersuchungen des Wassers an Ort und Stelle. 9. Aufl. — *Berlin, Springer*, 1—281.
- LEES, H. and J. H. QUASTEL (1946): Biochemistry of nitrification in soil. 1. Kinetics of, and the effects of poisons on, soil nitrification, as studied by a soil perfusion technique. — *Biochem. J.* **40**, 803—815.
- MALDURA, C. M. (1931): Megfigyelések a balatonvíz oxigéntartalmának és hidrogénion-koncentrációjának napi ingadozásáról. — *Magy. Biol. Kut. Munk.* **4**, 621—625.

- MAUCHA, R. (1924): Upon the influence of temperature and intensity of light on the photosynthetic production of nanoplankton. — *Verh. Int. Ver. Limnol.* **2**, 381—401.
- MAUCHA, R. (1927): Zur Theorie des Assimilations- und Dissimilationsvorganges des Phytoplanktons. — *Internat. Rev. ges. Hydrobiol. Hydrogr.* **17**, 239—248.
- MAUCHA, R. (1945): Hydrochemische Halbmikro-Feldmethoden. — *Arch. f. Hydrobiol.* **41**, 352—391.
- MAUCHA, R. (1953): A vizek produktiós-biológiája és a halászat. — *MTA Biol. Oszt. Közl.* **2**, 393—432.
- MAUCHA, R. (1958): Zur Frage der Produktionsbiologie der Seen. — *Verh. Int. Ver. Limnol.* **13**, 212—216.
- MÜLLER S. (1929): A Balaton vizének vegyelemzése. — *Magy. Biol. Kut. Munk.* **2**, 145—156.
- NEEL, J. K. (1951): Interrelation of certain physical and chemical features in a head-water limestone stream. — *Ecol.* **32**, 368—391.
- OROSZLÁN I., SZOLNOKI J. és FELFÖLDY L. (1952): Élőfüveink kémiai vizsgálata. I. Tarlómaradványok és földalatti részek. — *MTA Biol. Oszt. Közl.* **1**, 213—222.
- ÖSTERLIND, S. (1947): Growth of a planktonic green alga at various carbonic acid and hydrogen-ion concentrations. — *Nature* **159**, 199—200.
- ÖSTERLIND, S. (1949): Growth conditions of the alga *Scenedesmus quadricauda* with special reference to the inorganic carbon sources. — *Symb. Bot. Upsal.* **10** (3), 1—141.
- POTASH, M. (1956): A biological test for determining the potential productivity of water. — *Ecol.* **37**, 631—639.
- PRINGSHEIM, E. G. (1946): Pure cultures of algae their preparation and maintenance. — *Univ. Press, Cambridge*, 1—119.
- RUTTNER, F. (1931): Hydrographische und hydrochemische Beobachtungen auf Java, Sumatra und Bali. — *Arch. f. Hydrobiol. Suppl.* **8**, 197—454.
- RUTTNER, F. (1947): Zur Frage der Karbonatassimilation der Wasserpflanzen. I. Die beiden Haupttypen der Kohlenstoffaufnahme. — *Österr. Bot. Z.* **94**, 265—294.
- RUTTNER, F. (1948): Zur Frage der Karbonatassimilation der Wasserpflanzen. II. Das Verhalten von *Elodea canadensis* und *Fontinalis antipyretica* in Lösungen von Natrium- bzw. Kaliumbikarbonat. — *Österr. Bot. Z.* **95**, 208—238.
- SCHREIBER, W. (1927): Die Reinkultur von marinen Phytoplankton und deren Bedeutung für die Erforschung der Produktionsfähigkeit des Meerwassers. — *Wissenschaft. Meeresunters.* N. F. **16**, 1—34.
- STEEMANN NIELSEN, E. (1946): Carbon sources in the photosynthesis of aquatic plants. — *Nature* **158**, 594—596.
- STEEMANN NIELSEN, E. (1952): Experimental carbon dioxide curves in photosynthesis. — *Physiol. Plant.* **5**, 145—159.
- STEEMANN NIELSEN, E. (1955): The production of organic matter by the phytoplankton in a Danish lake receiving extraordinarily great amounts of nutrient salts. — *Hydrobiol. (Den Haag)* **7**, 68—74.
- STROM, K. M. (1933): Nutrition of algae. Experiments upon: the feasibility of the Schreiber method in fresh waters; the relative importance of iron and manganese in the nutritive medium; the nutritive substances given off by lake bottom mud. — *Arch. f. Hydrobiol.* **25**, 38—47.

EXPERIMENTS WITH ALGAL CULTURES FOR DETERMINING SOME PROPERTIES OF BALATON LAKE WATER

Lajos J. M. Felföldy

Summary

In this paper two problems are discussed. 1. Could the filtered water of Lake Balaton be used as nutrient medium for mass cultures of unicellular algae? 2. Which properties of natural lake water are the limiting factors for phytoplankton productivity?

The experiments were made with the 7K *Chlorella vulgaris* BEYER. strain originating from the algal culture collection of the Hungarian Biological Research Institute, Tihany.

In the first part of this paper culturing experiments, performed in 2 l Erlenmeyer flasks containing 1 l nutrient solution, aerated with air containing 3% CO₂, are discussed. In the filtered Balaton water ("Delta" No. 368 filter-paper) there develops a thick white precipitate if it is autoclaved for ten minutes at 1,5 Atm. This precipitate could be dissolved by bubbling 3% CO₂ in air through the solution. If a bacteria free *Chlorella vulgaris* culture is inoculated into this solution, it grows well for some days, but later the increase in cell number stops, the single cells begin to increase in size, they accumulate large quantities of carotenes, to such an extent that the colour of the culture turns yellow. The results of experiments of this nature are shown in table 1 and 2 and in figure 1.

Table 1.: Chemical and physical properties of *Chlorella vulgaris* cultures grown in different nutrient media. The columns are: **1.** Filtered lake water; **2.** Lake water + 1 g KNO₃/litre; **3.** Knop-Pringsheim solution (see PRINGSHEIM 1946, 35); **4.** Cell number/ μ l, counted in a Bürker hemocytometer; **5.** dry weight in mgs per 10 ml algal suspension; **6.** Total nitrogen (γ) in 10 ml suspension determined by micro-Kjeldahl method; **7.** N per cent of dry algal material; **8.** phosphorus in γ in 10 ml suspension, determined colorimetrically after URBACH modified by us (OROSZLÁN, SZOLNOKI and FELFÖLDY 1952, 216); **9.** P per cent of dry matter; **10.** $P_k = \text{mg O}_2/10^9 \text{ cells/1 hour}$: the unity of photosynthetic rate; **11.** colour of the algal suspension: "sárga" = yellow, "zöld" = green. Note: The initial cell content was 21 cells/ μ l; duration of the experiment was 15 days (6–21 May, 1957) illumination with a 300 W incandescent lamp (5000 lux); temperature 25–30° C; aerated with washed air containing 3% CO₂.

Table 2.: Cell numbers ($10^3/\mu$ l) of *Chlorella vulgaris* cultures grown in different media, at the end of a 21 days long experiment. **1.** Filtered lake water; **2.** Lake water enriched with all chemical compounds of Knop-Pringsheim solution; **3.** Lake water + 1 ml Hoagland's A-Z solution per litre; **4.** Knop-Pringsheim solution + 0,25 g MgSO₄ · 7 H₂O/l; **5.** Colour (see Table 1, 11!).

These tables and figure 1 show that pure Balaton water is not a suitable medium for culturing algae in vitro. On the other hand, lake water enriched with both nitrate and phosphate gives a similar result to that, which is obtained using the complete Knop-Pringsheim solution. Neither nitrate nor phosphate improve separately the lake water sample.

Table 3.: shows the changes taking place in starving cultures, kept for growth in pure lake water for one month, if different nutrient salts were added. The columns of table 3 are: **1.** Starved culture of yellow colour; **2.** Colour of the cultures (see table 1, 11!); **3.** Cell number ($10^3 \text{ cells}/\mu$ l).

According to these experiments, lake water supplied with adequate amounts of nitrate and phosphate, otherwise present in natural lake water only in very small quantities, is a suitable medium for algal mass cultures. Much better result could be obtained dissolving the salts of the appropriate nutrient solution (in our case Knop-Pringsheim solution) in filtered lake water. In case of mass culturing it is essential to bubble 3–5% carbon dioxide in air through the nutrient solution. Our attempts with pure air gave bad results.

The second part of this paper deals with photosynthetic experiments made with *Chlorella vulgaris* cells suspended in variously treated water of Lake Balaton (500 or 1000 cells/ μ l; 5000 lux, 25° C; the measure of photosynthesis is the oxygen produced during assimilation, determined by WINKLER's method modified by MAUCHA (1945). Data of tables 4–6 are as follows: The columns: **1.** Number of experiments; **2.** Treatment; **3.** $P_k = \text{mg O}_2/10^9 \text{ cells/1 hour}$; **4.** "rel. P_k ": relative values of photosynthetic activities expressed as per cent of P_k value measured in pure lake water within each series; **5.** pH, determined colorimetrically either with Pulfrich step photometer or with the half-micro method according to MAUCHA (1945). — Composition of media according to the number of experiments:

1. Freshly collected lake water sample.
2. "Exploited" Balaton water, in which *Chlorella* was cultured for one month.
3. "Exploited" Knop-Pringsheim solution, in which *Chlorella* was growing for one month.
4. Freshly prepared Knop-Pringsheim solution.
5. Pure lake water.
6. " " " + 1,0 g KNO₃/litre.
7. " " " + 0,313 g KH₂PO₄/litre.
8. " " " + 0,313 g KH₂PO₄ + 1,0 g KNO₃/litre.
9. " " " + 0,200 g K₂HPO₄/litre.

10. Pure lake water.

- | | | | | |
|-----|---|---|---|---|
| 11. | „ | „ | „ | + 0,313 g KH_2PO_4 /litre. |
| 12. | „ | „ | „ | + 5 ml 0,05-N HCl /litre. |
| 13. | „ | „ | „ | + 0,200 g K_2HPO_4 /litre. |
| 14. | „ | „ | „ | + 0,100 g K_2HPO_4 + 0,156 g KH_2PO_4 /litre. |

Table 7. Photosynthetic experiments with starved *Chlorella vulgaris* cells, kept for 1 month in lake water. Columns are the same as in tables 4–6. Treatments according to the numbers of experiments: 21. Pure lake water; 25. “exploited” lake water in which *Chlorella* was growing for one month.

These experiments show, that the rate of assimilation in lake water is not or only a little increased by the addition either of nitrate (expt. No. 6) or by phosphate of equal pH (expts. No. 9, 13, 20). Similarly it does not increase if both nitrate and phosphate of equal pH are added together. A dosage of KH_2PO_4 has a definite stimulating effect, which however might be attributed to the decrease of pH to 6,8. Photosynthetic activity of *Chlorella vulgaris* in lake water increases parallel with the rising hydrogen-ion concentration (expts. No. 16–20). A 68% increase was observed after addition of HCl which has otherwise no effect on photosynthesis (expt. No. 12). In the case of Balaton water the changes in hydrogen-ion concentration cannot be separated from changes occurring in the carbonate-bicarbonate-free carbon dioxide ratios. The chemical composition of Balaton water does not exclude the presence of both free CO_2 and CO_3 . Its pH fluctuates between (7,8)–8,42–8,44–(8,78). For small quantities of CO_2 present in water of Lake Balaton at these higher pH values only computation from the pH and bicarbonate alkalinity gives significant results. According to our computations on the basis of symbols of KLUT–OLSZEWSKI (1945, 59) and analytical data of B. ENTZ (1953, 33) the free carbon dioxide content of off shore lake water was 0,2–0,4 mg/l.

If freshly collected Balaton water (pH = 8,24) is kept in a tight fitting exsiccator above NaOH pellets for 24 hours, its pH increases to 9,36, which points to a release of free carbon dioxide. Photosynthetic experiments made with *Chlorella vulgaris* in such Balaton-water are shown in table 8. The experiment No. 28 was made with freshly collected lake water, the No. 29. with lake water of reduced CO_2 content and the No. 30. with lake water aerated with washed CO_2 gas for ten minutes. The positive effect of free CO_2 on photosynthesis is undoubtfull.

Finally the assimilation of the moss *Calliergon cuspidatum* (L.) LINDB. was determined in Balaton water (2,89 mg O_2 /1 g dry matter/1 hour), in the presence of KH_2PO_4 (3,56 mg O_2) and after the addition of K_2HPO_4 (0,71 mg O_2). It is generally known that mosses can utilize only free carbon dioxide, we may assume therefore that there is some quantity of free CO_2 dissolved in freshly collected Balaton water.

Our experimental results show that the quantities of N and P present in water of Lake Balaton are sufficient for photosynthetic activity of phytoplankton and they emphasize the importance of inorganic carbon cycle in the productivity of Lake Balaton and of other lakes similarly alkaline and rich in calcium (MAUCHA 1924, 1927, 1953, 1958, RUTTNER 1931, STEEMANN NIELSEN 1955, CARPELAN 1957 etc.).