

УДК 574.5:583

ИССЛЕДОВАНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ФИТОПЛАНКТОНА В ОЗЕРЕ ИССЫК КУЛЬ

А.К. Тыныбеков*Институт биотехнологии НАН КР, Бишкек*

Приведены данные по сезонной динамике и пространственному распределению хлорофилла “а” и первичной продукции, по содержанию хлорофилла и интенсивности продуцирования органического вещества фитопланктоном озера Иссык-Куль. Полученные данные предложено использовать как для оценки, так и для прогноза экологического состояния озера в условиях интенсивной антропогенной нагрузки.

Ключевые слова: хлорофилл, эвтрофикация, флуориметр, фотосинтетическая активность фитопланктона, эвтрофикация.

Фитопланктон – это фотосинтезирующие микроскопические биотические организмы, населяющие верхний залитый солнцем слой почти всех океанов, морей и озер на Земле. Они являются агентами для первичного производства, создания органических соединений из углекислого газа, растворенного в воде, процесса, который поддерживает водную пищевую сеть. Фитопланктон составляет основу морской пищевой сети и играет важную роль в углеродном цикле Земли.

Исследование фотосинтетической активности и содержания пигментов планктонных водорослей имеет важное значение в связи с проблемой антропогенной эвтрофикации водоемов. Это обусловлено тем, что основным фактором эвтрофикации является увеличение биогенной нагрузки, которая стимулирует рост автотрофной продукции. Среди хлорофиллсодержащих организмов, участвующих в процессе новообразования органического вещества в водоемах базисная роль принадлежит фитопланктону. Первичная продукция фитопланктона представляет собой массу органического вещества, синтезированного из минеральных компонентов окружающей среды в единицу времени. Скорость этого процесса, а также концентрация хлорофилла “а” в планктоне служат важнейшими показателями трофического статуса водоемов [1, 2]. Задачей наших исследований являлось определение концентраций хлорофилла “а” и фотосинтетической активности фитопланктона в озере.

Существует определенные методы, которые устанавливают методику измерений массовой концентрации хлорофилла а и относительного выхода переменной флуоресценции хлорофилла “а” (F_v/F_m) для индикации изменения физиологического состояния фитопланктона во внутренних водоемах, океанических и морских водах.

Диапазон измерений массовой концентрации хлорофилла а – от 0,10 до 50 мкг/дм³. Диапазон измерений относительного выхода переменной флуоресценции хлорофилла а (F_v/F_J – от 0,1 до 0,8).



Рис.1. Озеро Иссык-Куль

Регистрация погружным флуориметром количества фитопланктона по J_{P0} , фотосинтетической активности по F_v/F_m и интенсивности освещения позволяет оценить фотосинтетическую продукцию в толще воды. Для этого она должна быть откалибрована для каждого водоема согласно классическому гидробиологическому методу с использованием радиоактивного углерода ¹⁴C. Поскольку световые зависимости продукции могут быть нелинейными, для улучшения корреляции можно вводить дополнительные уточняющие коэффициенты (Antal et al., 2001). Для этого на основании предварительного зондирования с помощью погружаемого флуориметра выбирают станцию с равномерным распределением фитопланктона по глубине и определяют первичную продукцию гидробиологическими методами для разных горизонтов, что позволяет построить световую зависимость первичной продукции. Затем по этим данным и по результатам зондирования величин F_q , F_v/F_m , освещенности на данной станции с помощью нелинейной регрессии определяют значения ряда параметров, которые в дальнейшем используют для определения продукции (Антал, 2000; Antal et al., 2001).

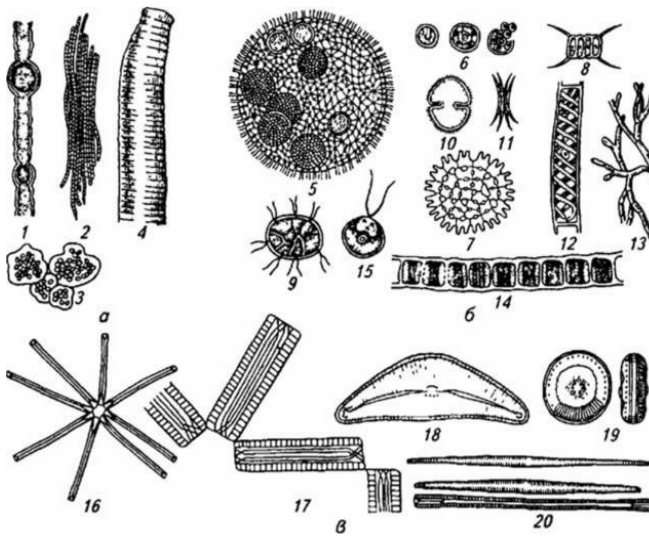


Рис.2. Водоросли:

а — синезеленые: 1 — анабена; 2 — анфанизоменон; 3 — микроцистис; 4 — осцилатория; б — зеленые: 5 — вольвокс; 6 — хлорелла; 7 — педиаструм; 8 — сценедесмус; 9 — пандорина; 10 — космариум; 11 — анкistroдесмус; 12 — спирогира; 13 — кладофора; 14 — улогрикс; 15 — хламодомонас; в — диатомовые: 16 — астерионелла; 17 — диатома; 18 — сибелла; 19 — циклотелла; 20 — синедра

Использование подобной калибровки данных флуоресценции хлорофилла, полученных на одной из станций, позволяет существенно увеличить коэффициент корреляции между продукцией, определяемой по данным флуоресцентного зондирования и результатами прямого определения по фиксации углерода. В частности, коэффициент корреляции для 25 станций и 15 глубин по всей акватории Черного моря по результатам рейса НИС Д.Менделеев составил 0,85 (рис. 5.11).

Важную информацию о состоянии фотосинтетического аппарата водорослей дает отношение F_v/F_m , которое соответствует максимальной величине эффективности первичных стадий утилизации света в ФС2. Проведенные с помощью погружной аппаратуры эксперименты обнаружили существенную пространственно-временную неоднородность распределения активности ФС2 у природного фитопланктона. Во многих водоемах максимальная квантовая эффективность ФС2 не всегда совпадает с максимумом концентрации фитопланктона. При этом часто максимальная эффективность фотосинтетического аппарата коррелирует с обеспеченностью минеральным питанием фитопланктона. Например, в олиготрофных районах Средиземного моря и оз. Байкал с низким содержанием биогенных элементов в фотическом слое значения F_v/F_m колебались от 0,3 до 0,55.

Зависимость активности ФС2 от концентрации биогенных элементов в воде наблюдалась также при измерении глубинных профилей. В олиготрофных водах активность ФС2 была минимальна в поверхностных горизонтах и увеличивалась с глубиной.

Максимум активности ФС2 в открытых районах Черного и Средиземного морей в летний период располагался на глубине 40-60 м, где существует некоторая подпитка минеральными солями, а количество проникающего света еще достаточно для фотосинтеза.

Подобные зависимости были получены и на озере Иссык-Куль, которое представляет собой водоем площадью 6200 км². Вертикальное распределение флуоресценции в глубоководных районах озера зависело от структуры вод, изменение которой определяли по температурным показателям. В верхнем перемешиваемом слое глубиной до 10-15 м, который характеризовался однородным распределением температуры, регистрировали преимущественно низкие значения F_0 и F/F_m (как в облачные, так и в солнечные дни), однако в последнем случае уменьшение флуоресценции в верхних водах было более значительным. Снижение обоих параметров флуоресценции в верхнем слое было обусловлено главным образом низким содержанием основных биогенных элементов (концентрация солей азота в этом слое составляла в среднем 0,2 мг/л, а солей фосфора — 0,18 мг/л).

Наибольшую интенсивность F_0 в пелагиали озера Иссык-Куль регистрировали на глубине 40-50 м непосредственно под термоклином, где существовала подпитка минеральными солями с глубоководных горизонтов, а освещенность была достаточной для развития водорослей. Так, концентрация нитратов в этом слое составила 0,6 мг/л, а количество проникающего света — 0,3-0,5% от величины на поверхности.

При исследовании распределения флуоресценции по акватории озера Иссык-Куль наглядно проследилась связь между параметрами флуоресценции фитопланктона и концентрацией биогенов. Построенные карты горизонтального распределения значений F_v/F_m и концентрации неорганического азота в восточной части озера Иссык-Куль показали, что распределение показателей флуоресценции в целом коррелировало с содержанием в воде неорганического азота, который является важным компонентом минерального питания. Наибольшая концентрация этого элемента приходилась на прибрежные районы вдоль линии Каракол — Тамга, что связано с менее гористой местностью в этом районе и соответственно большим поступлением в водоем почвенных частиц. Вдоль этой линии побережья обнаружена связь между содержанием минеральных веществ и интенсивностью флуоресценции фитопланктона. Наибольшие значения обоих параметров флуоресценции приходились на залив Каракол, где наблюдалась повышенная концентрация минеральных веществ.

В опытах по изучению влияния токсикантов на водоросли показано, что снижение F_v/F_m хлореллы сопровождается замедлением скорости ее роста, при этом рост хлореллы полностью прекращался при значениях F/F_m от 0,3 и ниже. Тем не менее фотосинтетическое выделение кислорода прекращалось только при полном ингибировании F_v/F_m . Возможно, при низкой квантовой эффективности фотосинтеза энергия поглощенного света тратилась на поддержание целостности клеточных структур водорослей или другие

процессы, не связанные с ростом. Связь между F/F_m в диапазоне от 0,3 до 0,8 и удельной скоростью роста для данных условий выращивания описывалась уравнением степенного типа. Увеличение активности фотосинтеза и появление клеток с высоким значением F_v/F_m предшествует периоду цветения, который сопровождается резким увеличением количества фитопланктона в водоемах. Подобная закономерность была обнаружена на озере Байкал (рис.). То есть высокие значения активности при низких концентрациях клеток могут свидетельствовать о том, что популяция фитопланктона находится на ранних этапах развития, предшествующих цветению. Это предположение было подтверждено результатами, полученными в юго-восточной части Норвежского моря. Высокая активность ФС2 при низкой концентрации водорослей может наблюдаться не только перед цветением фитопланктона, но и в районах апвеллинга, в областях локальных циркулярных течений, образованных фронтальным взаимодействием водных масс, где создаются условия для интенсивного развития фитопланктона.

В последнее время большое распространение получили методы измерения флуоресценции хлорофилла, обладающие высокой чувствительностью и позволяющие быстро оценивать ряд характеристик фитопланктона без воздействия на его физиологическое состояние. Известно, что выход флуоресценции при низкой освещенности (F_0) коррелирует с концентрацией хлорофилла и биомассой микроводорослей в водоемах. Этот параметр зависит, прежде всего, от концентрации всех светособирающих пигментов в клетках водорослей и может служить показателем обилия фитопланктона [1-3].

Для оценки фотосинтетической активности водорослей возможно использовать методы измерения переменной флуоресценции (F_v). Фотосинтетическая активность фитопланктона в значительной степени зависит от протекания первичных реакций преобразования световой энергии в энергию химических связей в реакционных центрах экосистемы II (РЦ ФС II), разлагающей воду. Величина F_v определяется как разность между максимальным выходом флуоресценции F_m при закрытых (фотохимически неактивных) реакционных центрах, когда вся световая энергия, поглощенная пигментами фотосинтетического аппарата, высвечивается в виде флуоресценции и диссипирует в тепло, и выходом флуоресценции P_0 при открытых РЦ ФС II, когда большая часть поглощенной энергии используется в реакциях фотосинтеза, а ее диссипация минимальна. Таким образом, переменная флуоресценция ($F_v = F_m - F_0$) служит мерой той доли энергии, которая используется при фотохимическом преобразовании энергии в ФС II и расходуется на разложение H_2O и выделение O_2 .

Показано, что отношение F_v/F_m отражает эффективность фотохимического преобразования световой энергии в ФС II [в дальнейшем именуется фотохимической активностью водорослей и коррелирует со

значениями фотосинтеза, определенными по скорости выделения O_2 или по фиксации CO_2].

Для определения продукционных характеристик фитопланктона *in situ* в режиме реального времени на кафедре биофизики биологического факультета МГУ был разработан компактный погружной двух лучевой импульсный зонд-флуориметр [3]. Прибор измеряет вертикальное распределение таких продукционных характеристик фитопланктона, как обилие (по F_0) и фотохимическая активность (по отношению F_v/F_m), а также подводную освещенность и температуру воды.

Нами впервые проведено исследование *in situ* экологического состояния природного фитопланктона озера Иссык-Куль и его заливов, по обилию и фотохимической активности клеток с использованием погружного флуориметра [4].

Объектом исследований послужили природные популяции фитопланктона юго-восточной части озера Иссык-Куль.

Для измерений использовали погружной импульсный флуориметр, регистрация флуоресценции на котором производилась методом *pump-and-probe* (рис.3). Флуориметр состоял из погружного зонда, бортового блока питания, соединенного с зондом и с компьютером, управлявшим процессом измерений по программе, заданной пользователем.

На станциях юго-восточной части озера при помощи погружного зонда были измерены *in situ* вертикальные профили температуры, подводной освещенности, обилия (по F_0) и фотохимическая активность РЦ ФС II (по F_v/F_m), по которым строили пространственные разрезы указанных характеристик. Параллельно с зондированием фитопланктона с поверхности проводился отбор проб для определения химических параметров воды.

Обилие фитопланктона выражали в единицах концентрации хлорофилла ($Хл^*$), предварительно откалибровывая в лабораторных условиях выход сигнала F_0 по концентрации хлорофилла "А", а также проведены анализы горизонтального распределения параметров флуоресценции фитопланктона в верхнем смешанном слое оз. Иссык-Куль и в заливе Бокомбаево (Кольцовка) (рис.4).

В январе-феврале температура воды в верхнем 100-метровом слое наименьшая в году (рис.9). Фитопланктон характеризуется самой низкой в году численностью и состоит из небольшого количества *Gloeocapsa minor*, *G. minima*, *Lyngbya contorta*, *Dictyosphaerium pulchellum*, *Cyclotella caspia* и видов *Oocystis*. Несколько повышенные концентрации водорослей планктона отмечаются на глубине 5 м. С глубиной количество фитопланктона уменьшается. На глубинах свыше 100 м водоросли чаще всего встречаются единичными экземплярами. Лучшего развития фитопланктон достигает в мелководных, особенно опресненных заливах (Тюпском, Каракольском, Покровском, Рыбачинском) [4,5].

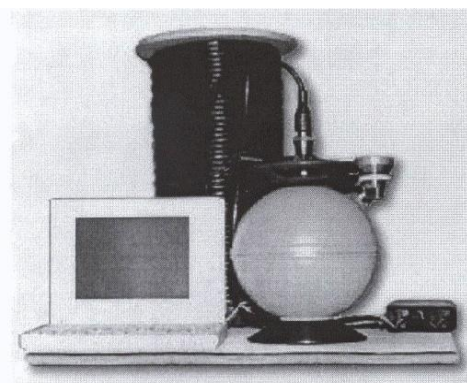


Рис. 3. Погружной импульсный флуориметр используемый для измерений

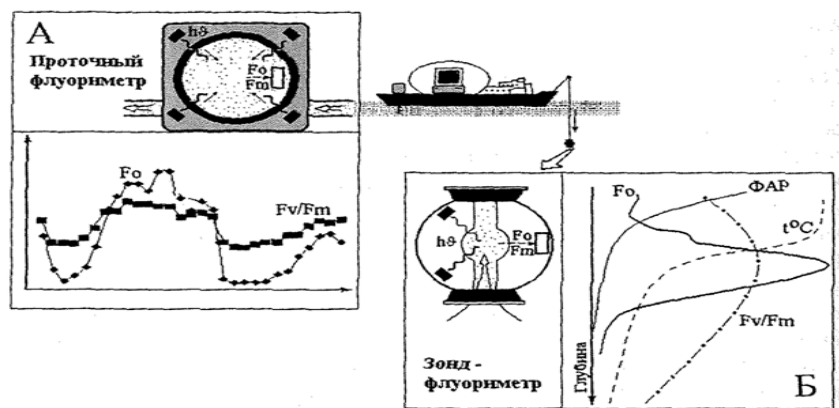


Рис.5. Схема зондирования природного фитопланктона с использованием проточной (А) и зондовой (Б) флуориметрии. А -схема проточного флуориметра и его регистрируемые параметры: F_0 (обилие фитопланктона, отн.ед.), F_v/F_m (фотосинтетическая активность), с параллельным снятием координат (JPS) и времени суток; Б - схема зондирования погружным флуориметром с регистрацией параметров флуоресценции F_0 , F_v/F_m , температуры ($T^{\circ}C$), фотосинтетически активной радиации (ФАР).

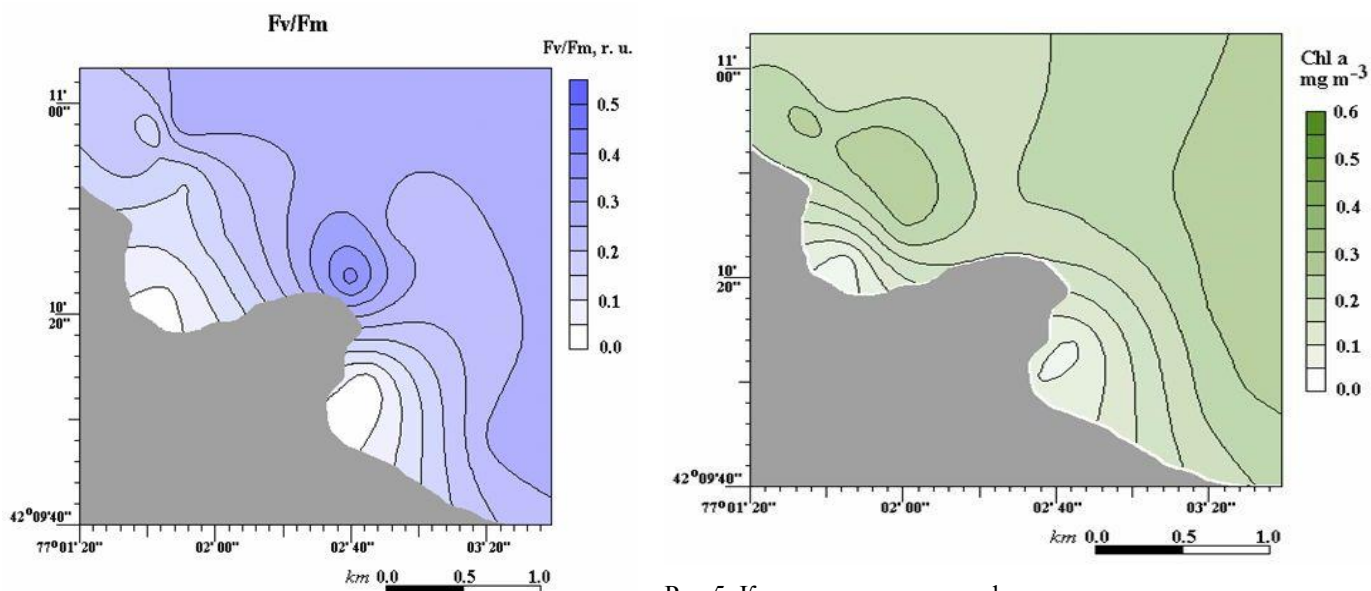


Рис.4 Карта фотосинтетической активности (F_v/F_m) фитопланктона на поверхности (в глубину до 10 м) в смешанном слое Бокомбаевского залива; средние значения (отн. единицы).

Рис.5. Карта распределения фитопланктона на поверхности (в глубину до 10м) в смешанном слое залива Бокомбаево; средняя концентрация хлорофилла (мг/л)

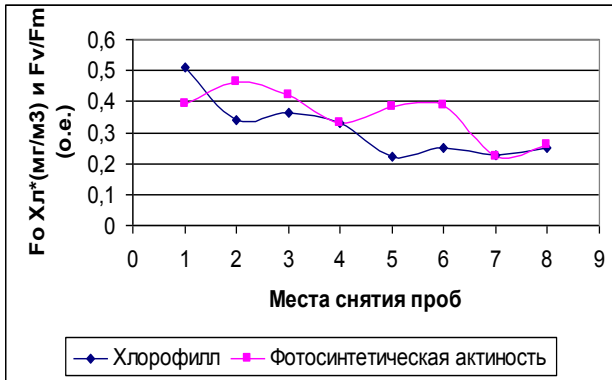


Рис. 6. Показания хлорофилла и фотосинтетической активности на разрезе Тамга–Григорьевка

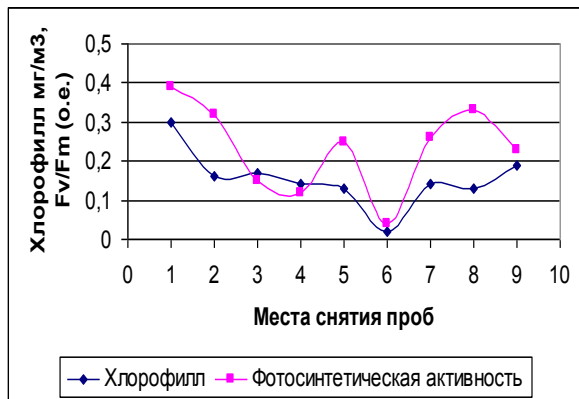


Рис. 7. Показания хлорофилла и фотосинтетической активности на разрезе Каракол–Тамга

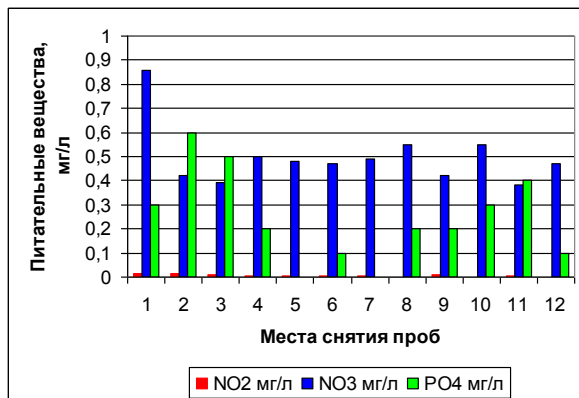


Рис. 8. Диаграмма биогенных веществ на разрезе Каракол – Тамга

В марте наблюдается почти полная гомотермия. Б. Орлова (1967) отмечает, что минимум тепла в Иссык-Куле приходится на февраль-март. Значительно увеличивается количество фитопланктона во всем столбе воды. В верхнем 50-метровом слое численность водорослей из 275 до 572 тыс. кл./л, биомасса – от 51 до 107 мг/м³. Заметные концентрации растительного планктона наблюдаются и на больших глубинах.

В летние месяцы отмечается хорошо выраженный температурный скачок [4]. Наибольшие величины численности и биомассы регистрируются не на поверхности, а значительно глубже, на глубине 25 и

50 м. Максимум растворенного в воде кислорода по-прежнему регистрируется в местах наибольшей концентрации водорослей. В июне-июле значительные концентрации водорослей отмечаются до глубины 100-150 м. В августе слой, насыщенный фитопланктоном, значительно сокращается. В нижележащей толще воды численность водорослей относительно невелика и не превышает 65 тыс. кл./л, в придонном слое – 16 тыс. кл./л.

В сентябре верхняя граница слоя скачка несколько опускается (рис. 9). Фитопланктона по сравнению с предыдущими месяцами становится меньше, видимо, это связано с более интенсивным поеданием его зоопланктоном. Имеются неопубликованные данные Л. А. Фолиан, что максимум развития зоопланктона в Иссык-Куле приходится на сентябрь. Вертикальное распределение в верхних слоях не испытывает больших колебаний (466-630 тыс. кл./л) [4].

На глубине 100 м происходит резкое уменьшение количества водорослей, и на горизонте 150 м численность их не превышает 24 тыс. кл./л. В придонных слоях наибольшее значение по-прежнему принадлежит *Lyngbya contorta* (табл. 2).

Методы мониторинга, основанные на регистрации люминесценции хлорофилла в растительной клетке, на кафедре биофизики МГУ аппаратно реализованы в виде ряда лабораторного прибора, автоматизированного погружного зонда-флуориметра позволяющего снимать информацию с отдельных водорослевых клеток. Важным преимуществом этого метода является его экспрессность и высокая чувствительность, что позволяет быстро диагностировать состояние объектов непосредственно в среде его обитания.

При исследовании распределения флуоресценции по акватории озера Иссык-Куль наглядно прослеживалась связь между параметрами флуоресценции фитопланктона и концентрацией биогенов. Построенные карты горизонтального распределения значений $F_o(Xл^*)$, F_v/F_m и концентрации неорганического азота в восточной части озера Иссык-Куль показали, что распределение показателей флуоресценции, в целом, коррелировало с содержанием неорганического азота в воде, который является одним из наиболее важных компонентов минерального питания. Наибольшая концентрация этого элемента приходилась на прибрежные районы вдоль линии Каракол–Тамга, что связано с менее гористой местностью в этом районе и соответственно, большим обогащением притоков почвенными частицами. Вдоль этой линии побережья мы также обнаружили связь между содержанием минеральных веществ и интенсивностью флуоресценции фитопланктона. Наибольшие значения обоих параметров флуоресценции приходились на залив Каракол, где наблюдалась повышенная концентрация минеральных веществ [1-7].

Исследование заливов оз. Иссык-Куль позволило изучить изменения флуоресценции фитопланктона непосредственно вблизи устьев рек на малой площади, где существовал выраженный горизонтальный градиент концентрации минеральных веществ. Средние значения флуоресценции в заливе Бокомбаево в

период измерений составили $Xл^*=0.18 \text{ мг м}^{-3}$ и $Fv/Fm=0.19$, что превышало средние значения по верхнему перемешиваемому слою исследованной части озера, которые равнялись 0.12 соответственно. Горизонтальные изменения величин $Fo(Xл^*)$ и Fv/Fm в заливе Бокомбаево (рис.4.). Так, наибольшие значения параметров флуоресценции наблюдались вблизи устья реки, с небольшими колебаниями значений изменялась по мере удаления от них, как видно из диаграммы логарифмической шкалы.

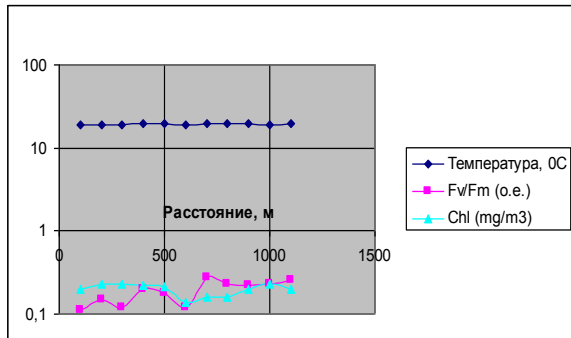


Рис.9. Горизонтальные изменения величин $Fo(Xл^*)$ и Fv/Fm в заливе Бокомбаево (логарифмическая шкала)

Необходимо отметить, что в речной воде содержались очень низкие концентрации микроводорослей, которые не могли значительно влиять на характер распределения фитопланктона в заливах. Из представленных данных следует, что наибольшие величины обилия и фотохимической активности центров фитопланктона наблюдались в районах, более богатых терригенными элементами, принесенными, как правило, притоками.

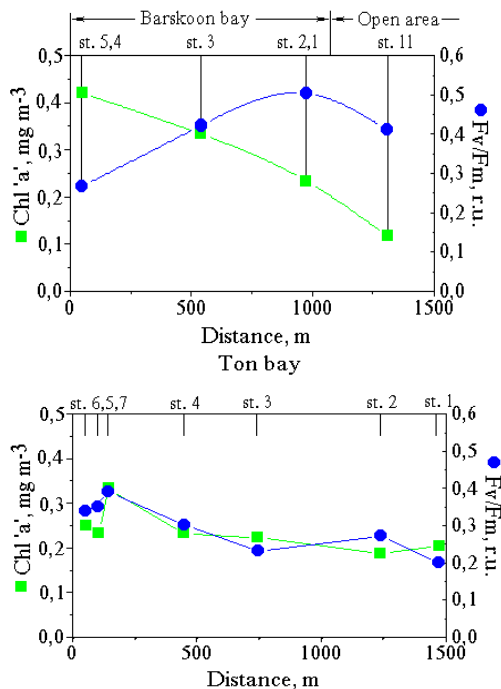


Рис.10. Средние концентрации фитопланктона (концентрации хлорофилла- $Chl \text{ г \ л}$), фотосинтетической активности (Fv / Fm) в поверхностном (до 10 м), перемешанного слоя Барскоон бухте (юго-восточном

регионе озера Иссык-Куль как функция расстояния от устья реки

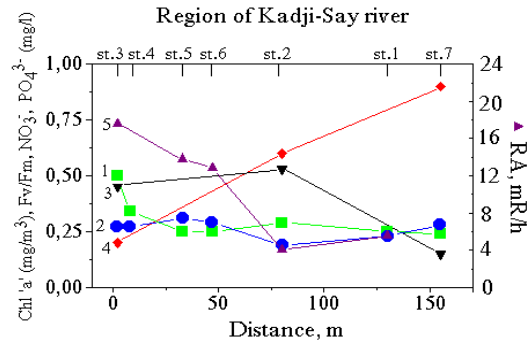


Рис.11. Средние концентрации фитопланктона (концентрации хлорофилла- $Chl \text{ г \ л}$) (1), фотосинтетической активности (Fv / Fm) (2), NO_3^- (г \ л) (3) и PO_4 (г \ л) (4) концентрациях, радиоактивность ($R / ч$) (5) в поверхностном (до 0,5 м) смешанного слоя области Каджи-Сай (на юго-восточном регионе озера Иссык-Куль в зависимости от расстояния от устья реки [4].

Одновременное снижение как обилия, так и эффективности первичных процессов фотосинтеза в районах озера, обедненных основными биогенными элементами, скорее всего, было обусловлено снижением фонда свободных аминокислот в клетках водорослей, вследствие чего уменьшалась интегральная скорость синтеза клеточных белков, в том числе ДИ белка, входящего в состав РЦ ФС II и наиболее подверженного фотоокислительной деструкции.

Из этого следует, что уменьшение обилия фитопланктона в районах с пониженным содержанием минерального питания могло происходить в результате снижения скорости развития популяции, а уменьшение фотохимической активности реакционных центров ФС II из-за низкой скорости их репарации. Можно полагать, что продуктивность фитопланктона в верхнем перемешиваемом слое оз. Иссык-Куль характеризуется высокой чувствительностью к концентрации основных биогенных элементов, что следует из наличия положительной корреляции между интенсивностью Fo и Fv/Fm и содержанием минеральных веществ [4].

Таким образом, измерение фитопланктона *in situ* с использованием погружного флуориметра позволило нам изучить характер распределения на станциях Иссык-Куля продукционных параметров водорослей их обилие и фотохимическую активность, на которые влияют факторы среды, в том числе и загрязнения [7].

Высокое количество и активность реакционных центров фотосинтеза была найдена в районах, где происходит принос с речной водой терригенных частиц. Таким образом, фитопланктон может служить индикатором чистоты воды в озере Иссык-Куль, которое имеет важное значения для индустрии туризма и рекреация.

Проведенные исследования свидетельствуют о том, что использование погружного флуориметра перспективно для изучения продукционных характеристик природного фитопланктона. Использование

ГИС технологий для исследования различных биологических параметров озера является самым перспективным в последнее время [6].

Таким образом, погружной флуоресцентный зонд наиболее эффективен при проведении работ на большой акватории или съемке с большим количеством станций. Результаты могут стать основой для дальнейшего использования трудоемких гидробиологических методов. Детальное исследование состояния фотосинтетического аппарата фитопланктона позволяет лучше понять механизмы пространственно-временной изменчивости фитоценоза. Такой комплексный способ получения информации о первичных процессах фотосинтеза с использованием погружного импульсного флуориметра в режиме реального времени, а затем уже гидробиологическими методами позволяет охарактеризовать продуктивность и физиологическое состояние фотосинтетического аппарата природных популяций фитопланктона и спрогнозировать их развитие в водоеме.

Использование погружных флуориметров эффективно для осуществления мониторинга влияния загрязнений на фитопланктон, для определения границ воздействия в районе сброса сточных вод предприятий. Результаты зондирования фитопланктона озера Байкал вблизи сброса вод Байкальского ЦБК наглядно продемонстрировали аномалии в распределении фитопланктона и его фотосинтетической активности. Именно в этом месте наблюдается увеличение гибели зоопланктона *Epishura baicalensis*.

Флуоресцентные методики и аппаратура при их комплексном использовании могут служить составной частью системы экологического мониторинга состояния морских и пресноводных акваторий.

В заключение необходимо отметить следующее. Исследования процессов образования органического вещества дают возможность оценить трофический

статус озер и перейти к изучению биогеохимического цикла углерода и биогенных элементов в экосистеме озера Иссык-Куль. При этом результаты исследований крайне необходимы для разработки и верификации моделей водных экосистем, а, следовательно, для оценки и прогноза экологического состояния озер в условиях интенсивной антропогенной нагрузки.

Литература

1. Tynybekov, A.K., Lelevkin, V.M. 2008. Environmental issues of the Kyrgyz Republic and Central Asia, in: Liotta, P.H., Mouat, D.A., Kepner, W.G., Lancaster, J.M. (Eds.), Environmental Change and Human Security: Recognizing and Acting on Hazard Impacts. Springer, Dordrecht, PP. 407-432.
2. Tynybekov A.K. Environmental Issues and Safety of Kyrgyz Republic, Institute Biotechnology NAN KR, 2020. – P.247.
3. Тыныбеков А.К. Состояние фитопланктона озера Иссык-Куль, КРСУ, 2009. – 230с.
4. Тыныбеков А.К., Маторин Д.Н. Исследование природного фитопланктона на озере Иссык-Куль с использованием погружного флуориметра // Вестник Московского Государственного Университета, изд. №16, Биология, 2002. – №1. – С.22-23.
5. Тыныбеков А.К. Экспериментальное измерение фитопланктона оз. Иссык-Куль // Известия КГТУ, 2006, №9. – С. 89-93.
6. Тыныбеков А.К. Сезонная динамика численности и биомассы в пелагиали озера Иссык-Куль // Известия ВУЗов. 2007. – №3-4. – С. 72-79.
7. Тыныбеков А.К. Использование погружного зонда-флуориметра при определении фитопланктона озера Иссык-Куль // Вестник КРСУ, 2007, Т. 7, №6. С. 127-132.