

ФЛУОРЕСЦЕНЦИЯ ХЛОРОФИЛЛА ЛЕТНЕГО ФИТОПЛАНКТОНА ВОДОЕМОВ ЗВЕНИГОРОДСКОЙ СТАНЦИИ МОСКОВСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА ИМЕНИ М.В. ЛОМОНОСОВА

© 2019 г. Д.Н. Маторин, Н.П. Тимофеев, М.Л. Синдаловская,
Н.А. Шидловская, Д.А. Годоренко, А.А. Алексеев*

Биологический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова,
119234, Москва, Ленинские горы, 1/12

*Физико-технический институт Северо-Восточного федерального университета имени М.К. Аммосова,
677010, Якутск, ул. Кулаковского, 48.

E-mail: matorin@biophys.msu.ru

Поступила в редакцию 10.07.2019 г.

После доработки 10.07.2019 г.

Принята к публикации 22.08.2019 г.

Представлены результаты многолетних мониторинговых наблюдений трех водоемов Звенигородской биологической станции МГУ имени М.В. Ломоносова с применением современных флуоресцентных методов. В Пожарном пруду, расположенном вблизи студенческих общежитий, в 2017 г. обнаружено резкое повышение концентрации хлорофилла (до 431 мкг/л) и активности фотосинтеза (F_V/F_M до 0,7), связанное с развитием монокультуры *Chlorella vulgaris*. Высокая активность световых реакций этого фитопланктона проявлялась в увеличении таких параметров, как максимальный квантовый выход фотохимии фотосистемы II (F_V/F_M), максимальная относительная скорость транспорта электронов (ETR_{max}), коэффициент максимальной утилизации световой энергии (α), эффективность транспорта электронов (ϕ_{E_0}) и индекса производительности фотосистемы II (PI_{ABS}). Это сопровождалось уменьшением доли Q_B -невосстанавливающих центров (V_J) и диссипации поглощенной энергии в тепло, рассчитанной на один реакционный центр (DI_0/RC). Для мониторинга фитопланктона пресноводных водоемов предложены наиболее чувствительные параметры индукции флуоресценции (PI_{ABS} и ϕ_{E_0}) и коэффициент максимальной утилизации световой энергии (α).

Ключевые слова: фитопланктон, флуоресценция хлорофилла, фотосинтез, экология.

DOI: 10.1134/S0006302919060036

Состояние фитопланктонного сообщества является одним из важнейших показателей благополучия водной экосистемы. Количество водорослей обычно оценивают микроскопически в счетной камере или по содержанию в них хлорофилла, определенного спектрофотометрическим методом [1].

Хлорофилл *a*, находящийся в фотосинтетических мембранах фитопланктона, испускает флуоресценцию в красной области спектра, которая служит природным датчиком состояния клеток водорослей. Интенсивность флуоресценции при определенных режимах освещения (F_0) коррелирует с содержанием хлорофилла *a* [2–4], отражающим обилие фитопланктона. Флуоресцентные

методы позволяют быстро, надежно и с высокой чувствительностью проводить регистрацию характеристик фитопланктона непосредственно в среде его обитания *in situ* в режиме реального времени [1,5–7].

Первичная продукция фитопланктона определяется функционированием сложноорганизованной системы фотосинтеза, включающей светособирающий пигментный комплекс, реакционные центры и электрон-транспортную систему, где происходит первичное преобразование солнечной энергии с разложением воды и выделением O_2 [5]. Ранее в гидробиологии использовали параметр флуоресценции F_V/F_M – максимальный квантовый выход первичных фотохимических реакций в фотосистеме II (ФС II) [1]. Он определяется как соотношение интенсивности флуоресценции при насыщающем фотосинтезе свете (F_M) и в условиях, не вызывающих изменений состояния фотосинтетического аппарата (F_0)

Сокращения: ФС II – фотосистема II, ЗБС МГУ – Звенигородская биологическая станция имени С.Н. Скадовского МГУ имени М.В. Ломоносова, Q_A , Q_B – первичный и вторичный хинонные акцепторы электрона в фотосистеме II.

(низкая интенсивность света). Параметр $F_V/F_M = (F_M - F_0)/F_M$ представляет собой безразмерную энергетическую характеристику фотосинтеза, аналогичную коэффициенту полезного действия и не зависящую от видовой специфики организма [8,9]. В последнее время при работе с культурами водорослей активно развиваются методы быстрого измерения световых зависимостей и кинетики индукции флуоресценции, характеризующие электронный транспорт в ФС II и между фотосистемами (ФС II и ФС I) [9–14].

Пруды Звенигородской биологической станции имени С.Н. Скадовского (ЗБС МГУ) входят в охраняемую зону и являются объектами многолетних исследований и местом проведения учебных практик студентов МГУ. В то же время работ по многолетней динамике фитопланктона этих водоемов крайне мало.

В настоящей работе были изучены изменения параметров световых зависимостей и индукционных кривых флуоресценции фитопланктона в водоемах ЗБС МГУ в течение длительного времени. Показано, что использование этих зависимостей позволяет проводить мониторинг изменения в энергозапасующих фотосинтетических процессах клеток фитопланктона непосредственно в природных условиях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на трех водоемах ЗБС МГУ в июле с 2006 по 2018 гг. Пробы фитопланктона отбирались с поверхностных вод из прудов Стерляжьего (между верхними и нижними дачами) и Пожарного, расположенного рядом с общежитиями, а также на близлежащем участке реки Москва. Пробы помещали в темные пластмассовые бутылки объемом 2 л, затем в них измеряли температуру и гидрохимические параметры воды, определяли видовой состав фитопланктона, концентрацию фотосинтетических пигментов, а также регистрировали параметры флуоресценции хлорофилла. Гидрохимический анализ воды проводили по стандартным методикам [15].

Концентрацию хлорофилла определяли прямым спектрофотометрическим методом в ацетоновых экстрактах на спектрофотометре, действующем на базе портативного спектрометра USB 2000 (Ocean Optics, Inc., США).

Регистрацию световых кривых фотохимического и нефотохимического тушения флуоресценции проводили на флуориметре Water-PAM (Walz, Effelrich, Германия). Световые зависимости измеряли при последовательном увеличении интенсивности от 0 до 1600 мкмоль квантов/м²с. В конце каждого сеанса освещения с использова-

нием насыщающей вспышки (0,8 с, 3000 мкмоль квантов/м²с) регистрировали параметры F_M и выход флуоресценции на свету $F_{(t)}$. На основании измеренных уровней флуоресценции рассчитывали следующие параметры: $F_V/F_M = (F_M - F_0)/F_M$ – максимальный квантовый выход фотохимии ФС II; $Yield = (F_M' - F_{(t)})/F_M'$ – эффективный квантовый выход в ФС II на свету; $NPQ = (F_M - F_M')/F_M'$ – нефотохимическое тушение флуоресценции. Относительную скорость нециклического транспорта электронов рассчитывали по формуле [8]: $ETR = Yield \times E_i \times 0,5$, где E_i – освещенность (мкмоль квантов/м²с).

Параметры индукционных кривых флуоресценции хлорофилла регистрировали на импульсном портативном флуориметре Aquapen-C 100 (Photon System Instruments, Чехия). Перед измерением образцы выдерживали в темноте в течение 20 мин. Регистрировали индукцию флуоресценции с высоким временным разрешением (начиная с 0,05 мс). Индукционные кривые флуоресценции хлорофилла *a* инициировали синим светом ($\lambda = 450$ нм) интенсивностью 3000 мкмоль квантов/м²с.

Для количественного анализа характеристик первичных процессов фотосинтеза на основе параметров индукционной кривой был использован так называемый JIP-тест [9–11]. Этот тест использует следующие параметры кинетической кривой индукции флуоресценции: интенсивности при длительности освещения 50 мкс (F_0), 2 мс (F_J), 30 мс (F_I), 6 с (F_{6s}), а также F_M (максимальная интенсивность флуоресценции) и M_0 (усредненная величина в мс⁻¹ начального наклона относительной переменной флуоресценции хлорофилла *a*). Эти величины затем использовали для расчета следующих параметров:

– F_V/F_M – максимальный квантовый выход первичной фотохимической реакции в ФС II как $F_V/F_M = (F_M - F_0)/F_M$;

– V_J – относительная амплитуда фазы O-J (после 2 мс освещения). Отражает количество закрытых реакционных центров по отношению к общему числу реакционных центров, которые могут быть закрыты как $V_J = (F_J - F_0)/(F_M - F_0)$;

– Φ_{E_0} – квантовый выход электронного транспорта за пределы Q_A (при $t = 0$) как $\Phi_{E_0} = (1 - V_J)/(F_V/F_M)$;

– DI_0/RC – общее количество энергии, рассеиваемой одним реакционным центром (RC) в виде тепла как $DI_0/RC = (ABS/RC) - M_0(1/V_J)$, где ABS – показатель поглощенной энергии;

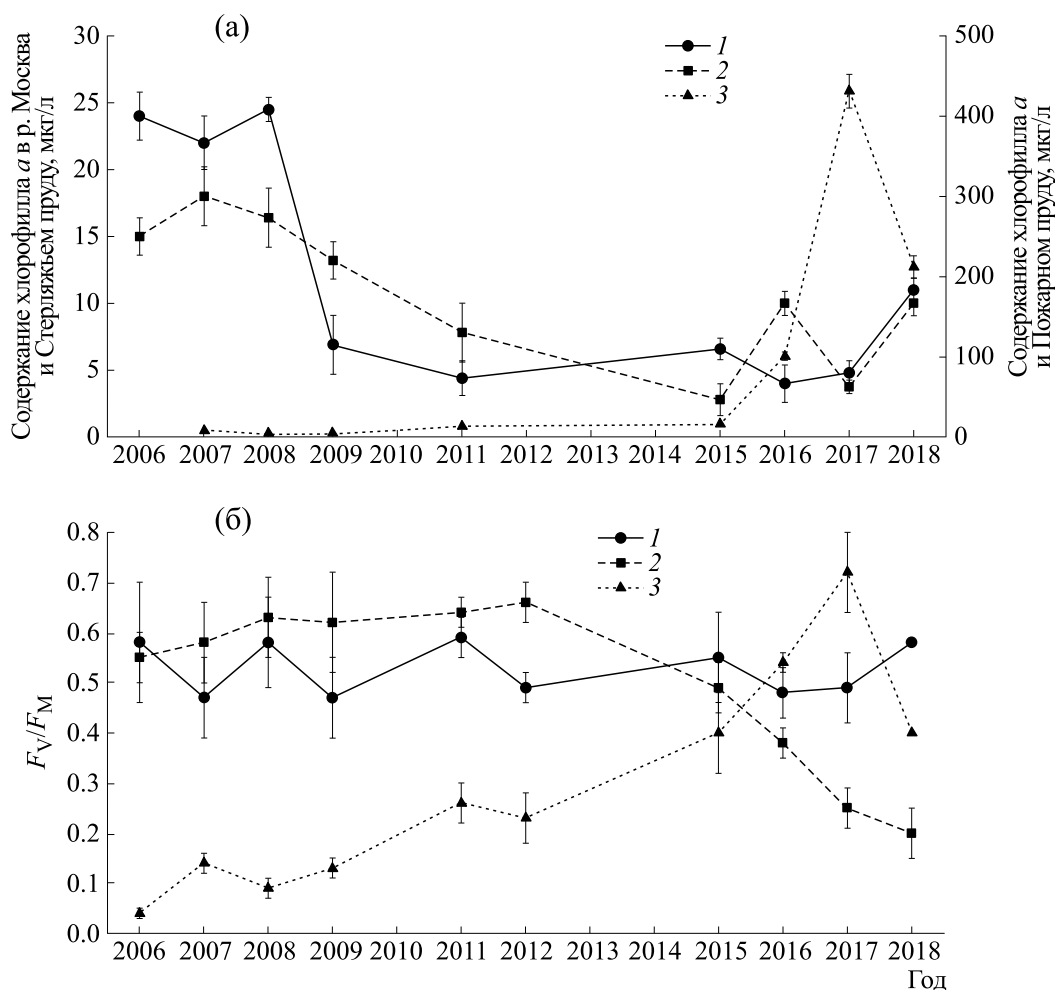


Рис. 1. Изменения содержания хлорофилла *a* (а) и значения максимального квантового выхода ФС II (F_v/F_m) (б) фитопланктона в водоемах Звенигородской биологической станции МГУ имени М.В. Ломоносова в июле с 2006 по 2018 гг.; 1, 2, 3 – пробы соответственно из реки Москва, Стерляжьего пруда и Пожарного пруда. На панели (а) слева по оси ординат – содержание хлорофилла в реке Москва и в Стерляжьем пруду, справа – в Пожарном пруду.

– PI_{ABS} – индекс производительности – показатель функциональной активности ФС II, отнесенный к поглощаемой энергии как $PI_{ABS} = [1 - (F_0/F_M)] / (M_0/V_j) [(F_M - F_0)/F_0] [(1 - V_j)/V_j]$.

Более подробное описание параметров JIP-теста приведено в работах [5,9,10].

Для анализа и обработки полученных данных использовали пакет программ Microsoft Excel 2013 (Microsoft Corporation, США) и Statistica 6.0 (StatSoft, Inc., США). Проверку статистических гипотез осуществляли с помощью двухвыборочного *t*-критерия Стьюдента для независимых выборок, уровень значимости принимали равным 0,05. Объем выборки для всех исследованных образцов составлял не менее десяти повторностей.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Содержание хлорофилла *a* в водоемах. Концентрация хлорофилла *a* фитопланктона на проточном участке р. Москва в период с 2006 по 2008 гг. находилась на относительно высоком уровне (22–24 мкг/л) (рис. 1). В 2009 г. наблюдался спад, после которого содержание хлорофилла *a* оставалось на низком уровне (до 4,8 мкг/л) вплоть до июля 2018 г. В 2018 г. содержание хлорофилла *a* несколько увеличилось по сравнению с предыдущим годом.

Содержание хлорофилла *a* в Стерляжьем пруду находилось на достаточно высоком уровне (15–20 мкг/л) до 2009 г. После 2009 г. содержание хлорофилла начинает падать. С 2015 по 2018 гг. содержание хлорофилла в данном пруду колебалось в пределах 5–10 мкг/л.

Таблица 1. Содержание растворенного кислорода, нитратов, фосфатов и аммония в пробах воды из водоемов ЗБС МГУ в июле 2015, 2017 и 2018 гг.

Водоем	Год		
	2015	2017	2018
О ₂ , мг/л			
Стерляжий пруд	2,2	7,97	7,73
Пожарный пруд	3,5	1,95	2,55
Река Москва	8,6	10,45	7,12
Фосфаты (P ₂ O ₅), мг/л			
Стерляжий пруд	0,5	0,05	0,1
Пожарный пруд	10	0,18	1,1
Река Москва	0,3	0,18	0,05
Нитраты (NO ₃), мг/л			
Стерляжий пруд	1,5	2	2,5
Пожарный пруд	1	2,3	2
Река Москва	2	2,5	1,5
Аммоний (NH ₄), мг/л			
Стерляжий пруд	0,6	1,6	0,5
Пожарный пруд	67	72	18
Река Москва	0,2	1	0,5

Пожарный пруд до 2015 г. являлся преимущественно мезотрофным прудом с относительно низкой концентрацией хлорофилла *a* для замкнутого, стоячего водоема (7 мкг/л). Однако в 2016 г. концентрация хлорофилла *a* в водоеме увеличилась до 101 мкг/л, а в 2017 — до 431 мкг/л, что соответствует ситуации интенсивного «цветения» фитопланктона. В 2018 г. концентрация хлорофилла *a* летнего фитопланктона в этом пруду снизилась до 212 мкг/л.

Анализ видового состава и гидрохимический состав воды. По видовому составу в июле в р. Москва основным доминирующим по численности отделом водорослей на протяжении всего периода наблюдения были зеленые водоросли (*Monoraphidium sp.*, *Scenedesmus sp.*). В меньшем количестве встречались представители отдела диатомовых водорослей (*Navicula lanceolata*, *Cocconeis sp.*, *Synedra tabulata*, *Synedra acus*, *Cystotella sp.*,

Asterionella formosa) и еще реже — синезеленых (*Oscillatoria sp.*, *Anabaena sp.*).

В Стерляжем пруду до июля 2012 г. преобладали в основном зеленые водоросли (*Volvox sp.*, *Oocystis sp.*), но после 2012 г. видовой состав стал смещаться в пользу диатомовых и эвгленовых водорослей (*Trachomonas sp.*, *Euglena sp.*).

Пожарный пруд долгое время характеризовался крайне низким содержанием водорослей. Основным доминирующим видом была зеленая водоросль рода *Chlamydomonas sp.*, также встречались пальмеллевидные формы жгутиковых эвглен. Однако в 2016 г. концентрация водорослей начала резко увеличиваться, и в 2017 г. мы наблюдали интенсивное летнее «цветение» *Chlorella vulgaris*. На следующий год после «цветения» общая численность водорослей снизилась, а преобладающими таксонами стали представители отдела эвгленовых (которые образовали на поверхности сплошную пленку) и синезеленых водорослей (в том числе *Microcystis aeruginosa*).

Гидрохимический состав проб воды исследуемых водоемов представлен в табл. 1. Все пробы не были лимитированы по содержанию соединений фосфора и азота. Отмечается разное содержание растворенного О₂ в воде в исследуемых пробах. Наличие в пробах воды Пожарного пруда в 2017 г. большого количества аммонийного азота говорит о значительном поступлении органики биогенного происхождения. Так, за три года (с 2014 по 2017 гг.) количество аммонийного азота в июле месяце увеличилось в два раза, с 40 до 72 мг/л, что повлияло на видовой состав фитопланктона. Смена доминирующих видов — прямой результат этого увеличения, а массовое развитие зеленой водоросли *Chlorella vulgaris*, являющейся полиальфомезосапробионтом ($S = 3,6$), также указывает на органическое загрязнение водоема. В дальнейшем из-за буйного роста этой водоросли концентрация аммонийного азота в октябре 2017 г. снизилась до 56 мг/л, а в июле 2018 г. — до 18 мг/л. В этот период отмечалось наличие в воде большого количества нитритного азота, это указывает на то, что в водоеме идет интенсивный процесс окисления аммонийного азота.

Многолетняя динамика активности фотосистемы II фитопланктона по параметру F_V/F_M . Для общей характеристики световых реакций фотосинтеза часто используют флуоресцентный параметр F_V/F_M [5]. В природных водоемах и в культурах микроводорослей с высоким содержанием биогенных веществ значение F_V/F_M может достигать 0,6–0,7. При неблагоприятных условиях, особенно при недостатке минерального питания, значение этого параметра, как правило, уменьшается [1,2].

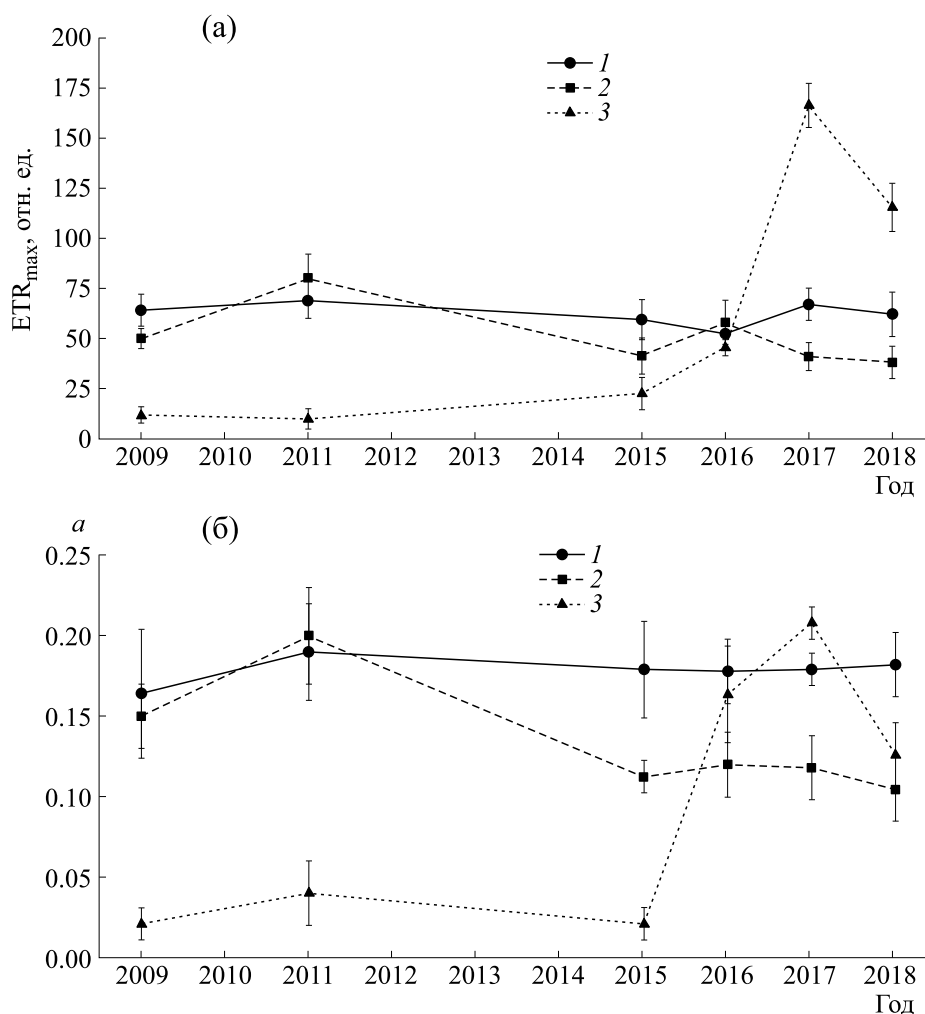


Рис. 2. Изменения максимальной относительной скорости транспорта электронов ETR_{max} (а) и коэффициента максимальной утилизации световой энергии α (б) фитопланктона в водоемах Звенигородской биологической станции МГУ имени М.В. Ломоносова в июле в период с 2006 по 2018 гг.; 1, 2, 3 – пробы соответственно из реки Москва, Стерляжьего пруда и Пожарного пруда.

Фотосинтетическая активность реки Москва в летний период по параметру F_V/F_M на протяжении всего периода наблюдения (с 2006 по 2018 гг.) колебалась примерно на одном уровне ($F_V/F_M = 0,5-0,6$) (рис. 1). Фитопланктон Стерляжьего пруда до 2012 г. демонстрировал достаточно высокие значения фотосинтетической активности ($F_V/F_M = 0,61$). Начиная с 2012 г. наблюдалось уменьшение активности. В 2017 г. параметр F_V/F_M опустился ниже порогового значения (0,3), необходимого для поддержания биомассы фитопланктона на постоянном уровне [2].

Пожарный пруд до 2015 г. характеризовался крайне низким значением F_V/F_M (ниже 0,3), что коррелировало с низкой концентрацией хлорофилла a в нем. Однако начиная с 2016 г. значение максимального квантового выхода фотохимии ФС II начало увеличиваться и достигло 0,7 в

2017 г., что сопоставимо с фотосинтетической активностью водорослей, культивируемых в оптимальных условиях [5]. Следует отметить, что рост максимального квантового выхода реакционного центра ФС II (F_V/F_M) наблюдался раньше увеличения концентрации хлорофилла и происходил на фоне роста концентрации растворенного аммония и уменьшения концентрации кислорода, что говорит о постепенной эвтрофикации водоема вследствие накопления большого количества разлагающейся органической биомассы. В 2017 г., когда значения F_V/F_M и концентрация аммонийного азота достигли максимума, в пруду наблюдалось «цветение» водоросли *Chlorella vulgaris*. В то же время суммарная фотосинтетическая активность фитопланктона после «цветения» *Chlorella vulgaris* в 2018 г. существенно снизилась ($F_V/F_M = 0,4$).

Таблица 2. Значения параметров JIP-теста индукционных кривых флуоресценции фитопланктона водоемов ЗБС МГУ в июле с 2015 по 2018 гг.

Параметры JIP-теста	Год			
	2015	2016	2017	2018
V_J				
Стерляжий пруд	0,43 ± 0,03	0,48 ± 0,04	0,50 ± 0,03	0,48 ± 0,04
Пожарный пруд	0,58 ± 0,05	0,51 ± 0,04	0,40 ± 0,02	0,90 ± 0,03
Река Москва	0,50 ± 0,04	0,46 ± 0,02	0,48 ± 0,04	0,50 ± 0,03
Φ_{E_0}				
Стерляжий пруд	0,28 ± 0,05	0,2 ± 0,03	0,13 ± 0,04	0,11 ± 0,04
Пожарный пруд	0,14 ± 0,02	0,26 ± 0,02	0,39 ± 0,03	0,04 ± 0,02
Река Москва	0,29 ± 0,04	0,23 ± 0,05	0,25 ± 0,05	0,3 ± 0,04
PI_{ABS}				
Стерляжий пруд	0,10 ± 0,08	0,09 ± 0,02	0,04 ± 0,02	0,03 ± 0,01
Пожарный пруд	0,11 ± 0,04	0,28 ± 0,01	0,34 ± 0,10	0,02 ± 0,01
Река Москва	0,23 ± 0,03	0,21 ± 0,06	0,22 ± 0,09	0,28 ± 0,10
DI_0/RC				
Стерляжий пруд	3,42 ± 0,9	4,40 ± 1,2	10,14 ± 2,2	9,33 ± 1,6
Пожарный пруд	2,98 ± 0,5	1,84 ± 0,6	1,35 ± 0,8	2,49 ± 0,9
Река Москва	1,50 ± 0,7	3,40 ± 0,9	2,08 ± 0,9	2,82 ± 1,2

Регистрация световых кривых параметров фотосинтетического электронного транспорта. Для исследования реакции фитопланктона на световую нагрузку регистрировали световые кривые параметров флуоресценции (рис. 2). По световым кривым флуоресценции рассчитывали относительную максимальную скорость нециклического электронного транспорта (ETR_{max}) и коэффициент максимальной утилизации световой энергии (α). Существуют работы, в которых была показана высокая корреляционная зависимость между продуктивностью фитопланктона, оцененной через выделение кислорода и фиксацию углерода ^{14}C , и скоростью электронного транспорта, а также с коэффициентом максимальной скорости утилизации световой энергии [16,17].

В реке Москва значение ETR_{max} летнего фитопланктона было на достаточно высоком уровне в течение всего периода наблюдения (рис. 2). Ди-

намика изменения ETR_{max} фитопланктона в Стерляжем пруду характеризовалась постепенным уменьшением после 2011 года. Фитопланктон Пожарного пруда до 2015 г. имел низкие значения ETR_{max} . Увеличение максимальной относительной скорости потока электронов началось с 2015 г. Значение ETR_{max} достигло наибольшего значения летом 2017 г. в период «цветения» водоросли *Chlorella vulgaris*. На следующий год после «цветения» значение ETR_{max} несколько снизилось, но все еще оставалось на довольно высоком уровне.

Коэффициент максимальной утилизации световой энергии (α) продемонстрировал ту же динамику по годам (рис. 2), что и параметр максимального квантового выхода фотохимии ФС II (F_V/F_M). В р. Москва значение α оставалось относительно постоянным на протяжении всего периода наблюдения, а в Стерляжем пруду наблюдалось моно-

тонное снижение этого показателя после 2011 г. Фитопланктон Пожарного пруда характеризовался низкими значениями α . Рост значения данного параметра начался в 2015 году, когда концентрация хлорофилла все еще оставалась на относительно невысоком уровне. Максимальное значение параметра α зарегистрировано в 2017 г. В 2018 г. после «цветения» *Chlorella vulgaris* значение коэффициента α снизилось вместе со снижением концентрации хлорофилла.

Исследование индукционных кривых флуоресценции фитопланктона. Для более подробного изучения отдельных световых процессов фотосинтеза нами были проанализированы кривые индукции флуоресценции фитопланктона водоемов с использованием JIP-теста (табл. 2). Параметр PI_{ABS} является показателем функциональной активности ФС II, отнесенный к поглощаемой энергии. PI_{ABS} зависит от нескольких процессов, включая концентрацию реакционных центров, эффективность первичной фотохимической реакции в ФС II (переноса электрона до первичного хинонного акцептора Q_A) и возможность транспорта электронов после Q_A^- . Таким образом, PI_{ABS} — это интегративный параметр, отражающий функциональные возможности ФС I и ФС II. В литературе отмечалось, что данный параметр является наиболее чувствительным параметром в различных культурах в условиях воздействия экологических факторов [9,10].

В Стерляжьем пруду в период с 2015 по 2018 гг. наблюдались наиболее низкие значения эффективности переноса электронов за пределы ФС II (ϕ_{E_0}) и общего индекса производительности ФС II (PI_{ABS}). Это согласуется с данными по квантовому выходу (F_V/F_M), максимальной относительной скорости электронного транспорта (ETR_{max}) и коэффициента максимальной скорости утилизации световой энергии (α). В 2017 и 2018 гг., когда значение F_V/F_M фитопланктона данного водоема опустилось ниже порогового значения 0,4, мы наблюдали резкое увеличение параметра DI_0/RC , характеризующего тепловую диссипацию поглощенной световой энергии.

В р. Москва параметры ϕ_{E_0} и PI_{ABS} находились на стабильно высоком уровне в течение всего периода наблюдения, что свидетельствует о том, что фитопланктон данного водоема существует в оптимальных условиях.

Наиболее значимые изменения параметров JIP-теста наблюдались в Пожарном пруду, когда летом 2017 г. происходило «цветение» зеленой водоросли *Chlorella vulgaris*. В 2015 г., когда концентрация хлорофилла все еще находилась на относительно низком уровне, мы наблюдали низкие

значения индекса производительности ФС II ($PI_{ABS} = 0,11$) и эффективности электронного транспорта ($\phi_{E_0} = 0,14$). Во время цветения водоема летом 2017 года значения этих параметров существенно увеличились ($PI_{ABS} = 0,34$; $\phi_{E_0} = 0,39$). В то же время на следующий год после цветения было зафиксировано резкое увеличение доли невосстанавливаемых центров вторичных хинонных акцепторов Q_B ($V_J = 0,9$), что привело к значительному снижению эффективности электронного транспорта ($\phi_{E_0} = 0,11$, общего индекса производительности ФС II ($PI_{ABS} = 0,02$) и увеличению доли диссипированной в тепло энергии, приходящейся на один реакционный центр ($DI_0/RC = 2,49$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Флуоресценция хлорофилла в настоящее время активно применяется в различных гидробиологических и океанологических работах. Флуоресцентный метод оценки концентрации хлорофилла используется на интактных водорослях и также с экстрагированными из них растворами пигментов [1,2,7,18–22]. На основе метода флуоресценции на кафедре биофизики биологического факультета МГУ разработана «Методика измерений обилия и индикации изменения состояния фитопланктона в природных водах флуоресцентным методом» (ФР.1.39.2011.11246, ПНД Ф 14.2.268-2012). Методика допущена для целей государственного экологического контроля по разделу «Количественный химический анализ вод» [2]. Интенсивность флуоресценции F_O рекомендуется для оценки биомассы и скорости роста водорослей, а отношение F_V/F_M — для оценки квантового выхода фотосинтеза, который является мерой физиологической активности водорослей. Значение параметра $F_V/F_M < 0,5$ свидетельствует о неудовлетворительном состоянии водорослей, а значение параметра $F_V/F_M > 0,5$ указывает на нормальную активность водорослей [2].

Для работ с фитопланктоном в природных условиях описан ряд устройств для зондирования флуоресценции, информация о которых обобщена в работах [5,7,18]. Флуориметры могут быть использованы в автоматическом режиме, а получаемая информация — передана по любым телекоммуникационным каналам в удобной для пользователя форме.

Проведенные нами исследования показали, что физиологическое состояние летнего фитопланктона пресноводных водоемов ЗБС МГУ может существенно изменяться в разные годы, что отражается в изменении световых и индукционных кривых флуоресценции хлорофилла.

Река Москва, будучи крупным проточным водоемом с низким уровнем загрязнения в районе биостанции, характеризовалась достаточно высоким уровнем фотосинтетической активности фитопланктона ($F_V/F_M > 0,5$) в течение всего периода наблюдения.

Фитопланктон полупроточного Стерляжьего пруда в период с 2002 по 2012 гг. демонстрировал также достаточно высокое значение F_V/F_M . Однако после 2012 г. наблюдалось монотонное ухудшение фотосинтетических процессов, что отражалось в изменении основных параметров флуоресценции хлорофилла. Возможно, это может быть связано с ухудшением экологической обстановки водоема для фитопланктона, поскольку водоем является объектом многочисленных учебных практик и подвергается антропогенной нагрузке.

Обратная картина наблюдалась в Пожарном пруду, который является закрытым искусственным водоемом. В период с 2002 по 2012 гг. этот пруд характеризовался низким обилием и низкой активностью фитопланктона. Однако постепенные процессы эвтрофикации в нем, происходящие вследствие накопления органических веществ, привели к изменению основных показателей эффективности фотосинтетического аппарата фитопланктона. Так, в 2017 г. наблюдалось «цветение» водоросли *Chlorella vulgaris*, концентрация которой достигла 431 мкг/л по хлорофиллу *a*.

Проведенный нами комплексный анализ параметров световых и индукционных кривых флуоресценции хлорофилла показал, что при возникновении благоприятных для фитопланктона условий происходит увеличение таких параметров, как максимальный квантовый выход ФС II (F_V/F_M), максимальная относительная скорость транспорта электронов (ETR_{max}), коэффициент максимальной утилизации световой энергии (α), эффективность транспорта электронов (Φ_{EO}) и индекса производительности (PI_{ABS}). Вместе с тем эти процессы сопровождаются уменьшением доли Q_B -невосстанавливаемых центров (V_J) и диссипации поглощенной энергии в тепло (DI_0/RC).

Стоит отметить, что изменения параметров флуоресценции фитопланктона в Пожарном пруду наблюдалось за год до интенсивного роста водорослей. Это закономерность появления активных клеток фитопланктона с высоким уровнем F_V/F_M в период, предшествующий цветению, которая ранее нами была продемонстрирована на фитопланктоне оз. Байкал [5] и р. Москва [22]. То есть появление благоприятных условий в водоеме сопровождается повышением эффективности функционирования ФС II, что естественно стимулирует рост количества фитопланктона. Это также наблюдалось в модельных экспериментах

при пересеве азот-дефицитной культуры микроводорослей на среду, обогащенную азотом [23]. После того как необходимый азотный ресурс становится доступен водорослям, происходит активация реакционных центров ФС II и возрастание эффективности фотосинтетических реакций [23]. При этом восстановление квантового выхода ФС II является «приоритетным» и происходит до увеличения ростовых процессов. Связь между F_V/F_M в диапазоне от 0,3 до 0,8 и удельной скоростью роста для многих водорослей описывалась уравнением степенного типа [2,5].

Таким образом, описанный в настоящей работе комплекс параметров световых и индукционных кривых флуоресценции позволяет проводить мониторинг изменений в энергозапасующих фотосинтетических процессах клеток фитопланктона в природных условиях и открывает возможность использования флуоресцентных методов для детекции и прогнозирования цветения водоемов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания каких-либо исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. P. G. Falkowski, J. A. Raven, *Aquatic photosynthesis* (Princeton University Press, Princeton, 2013).
2. Д. Н. Маторин, В. А. Осипов и А. Б. Рубин, *Методика измерений обилия и индикации изменения состояния фитопланктона в природных водах флуоресцентным методом. Теоретические и практические аспекты* (Альтрекс, М., 2012).
3. D. N. Matorin, T. K. Antal, M. Ostrowska, et al., *Oceanologia* **46** (4), 519 (2004).
4. M. Ostrowska, R. Majchrowski, D. N. Matorin, et al., *Oceanologia* **42** (2), 203 (2000).
5. Д. Н. Маторин и А. Б. Рубин, *Флуоресценции хлорофилла высших растений и водорослей* (ИКИ-РХД, Ижевск, 2012).
6. T. K. Antal, P. S. Venediktov, D. N. Matorin, et al., *Oceanologia* **43** (3), 291 (2001).
7. V. V. Fadeev, E. M. Filippova, D. V. Maslov, et al., *P. Soc. Photo-opt. Ins.* **3821**, 248 (1999).
8. U. Schreiber, in *Chlorophyll a fluorescence: A signature of Photosynthesis*, Ed. by G. Papageorgiou and Govindjee (Springer, Dordrecht, The Netherlands, 2004), pp. 279–319.
9. В. Н. Гольцев, Х. М. Каладжи, М. А. Кузманова и С. И. Аллахвердиев, *Переменная и замедленная флуоресценция хлорофилла a – теоретические основы и*

- практическое приложение в исследовании растений* (ИКИ-РХД, Ижевск, 2014).
10. R. J. Strasser, M. Tsimilli-Michael, S. Qiang, and V. Goltsev, *Biochim. Biophys. Acta* **1797** (6–7), 1313 (2010).
 11. D. Lazar and G. Schansker, in *Photosynthesis in Silico*, Ed. by A. Laisk, L. Nedbal and Govindjee (Springer, Dordrecht, 2009), pp. 85–123.
 12. O. Herlory, P. Richard, and G. F. Blanchard, *Mar. Biol.* **153**, 91 (2007).
 13. P. J. Ralph and R. Gademann, *Aquat. Bot.* **82**, 222 (2005).
 14. J. Serodio, S. Vieira, S. Cruz, and F. Barroso, *Mar. Biol.* **146**, 903 (2005).
 15. Н. С. Строганов и Н. С. Бузинова, *Практическое руководство по гидрохимии* (МГУ, М., 1980).
 16. N. Goto, H. Miyazaki, N. Nakamura, et al., *Fund. Appl. Limnol.* **172** (2), 121 (2008).
 17. C. Kaiblinger and M. T. Dokulil, *Photosynth. Res.* **88** (1), 19 (2006).
 18. Г. С. Карабашев, *Флуоресценция в океане* (Гидрометеиздат, Ленинград, 1987).
 19. Z. S. Kolber and P. G. Falkowski, *Limnol. Oceanogr.* **38**, 1646 (1993).
 20. M. Ostrowska, *Diss. and monogr. Inst. Oceanol. PAS* **26** (3), 194 (2001).
 21. S. A. Mosharov, V. M. Sergeeva., A. F. Sazhin, et al., *Estuar. Coast. Shelf. S* **218**, 59 (2019).
 22. И. В. Мошарова, В. В. Ильинский, Д. Н. Маторин и др., *Микробиология* **84** (6), 712 (2015).
 23. Е. Н. Воронова, Л. В. Ильяш, С. И. Погосян и др., *Микробиология* **78** (4), 469 (2009).

Chlorophyll Fluorescence of Summer Phytoplankton in Reservoirs of Zvenigorod Biological Station of Lomonosov Moscow State University

D.N. Matorin*, N.P. Timofeev*, M.L. Sindalovskaya*, N.A. Shidlovskaya*,
D.A. Todorenko*, and A.A. Alekseev**

*Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory 1/12, Moscow, 119234 Russia

**Institute of Physics and Technologies, Ammosov North-Eastern Federal University,
ul. Kulakovskogo 48, Yakutsk, Republic of Sakha (Yakutia), 677010 Russia

The results of long-term observations and monitoring of three reservoirs of Zvenigorod Biological Station of Lomonosov Moscow State University using modern chlorophyll fluorescence methods are presented. A sharp increase in chlorophyll content (up to 431 $\mu\text{g/l}$) and photosynthesis activity (F_v/F_M up to 0.7), associated with the growth of a monoculture, *Chlorella vulgaris*, was found in 2017 in a fire protection pond constructed near University dormitory facilities. The high activity of light reactions of this phytoplankton was evident as changes in the following parameters: the maximum quantum yield of primary photochemistry in photosystem II (F_v/F_M), the maximum relative electron transport rate (ETR_{max}), the coefficient of the maximum light use efficiency (α), the efficiency of electron transport (ϕ_{E_0}) and the performance index of photosystem II (PI_{abs}) increased. This was accompanied by a decrease in the density of Q_B -non-reducing centers (V_j) and dissipated energy flux per reaction center (DI_0/RC). The most sensitive parameters of fluorescence induction curve (PI_{ABS} and ϕ_{E_0}) and the coefficient of the maximum light use efficiency (α) are proposed to monitor the state of phytoplankton in reservoirs.

Keywords: phytoplankton, chlorophyll fluorescence, photosynthesis, ecology