

УДК 581.132.1:535.35(269.4)

## КОНЦЕНТРАЦИЯ И ФЛУОРЕСЦЕНЦИЯ ХЛОРОФИЛЛА *a* В АТЛАНТИЧЕСКОМ СЕКТОРЕ АНТАРКТИКИ

© 2023 г. Н. А. Моисеева<sup>1, \*</sup>, Т. Я. Чурилова<sup>1</sup>, Т. В. Ефимова<sup>1</sup>,  
Е. Ю. Скороход<sup>1</sup>, В. А. Артемьев<sup>2</sup>, А. В. Юшманова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, Севастополь, Россия

<sup>2</sup>Институт океанологии им. П.П. Ширшова РАН, Москва, Россия

\*e-mail: moiseeva@ibss-ras.ru

Поступила в редакцию 01.12.2022 г.

После доработки 30.01.2023 г.

Принята к публикации 16.02.2023 г.

Исследования проведены в 79 рейсе НИС “Академик Мстислав Келдыш”. Проведена оценка удельного показателя поглощения света пигментами фитопланктона и коэффициента связи интенсивности флуоресценции с концентрацией хлорофилла *a* на различных оптических глубинах в естественных условиях освещения и после темновой адаптации. Показано, что при отсутствии ярко выраженной стратификации вод не наблюдается вертикальной изменчивости удельного показателя поглощения света пигментами фитопланктона. Установлено, что при измерении интенсивности флуоресценции хлорофилла *a* погружным датчиком, без предварительной темновой адаптации, наблюдается снижение сигнала интенсивности флуоресценции в верхнем слое вод, связанное с влиянием освещенности на квантовый выход флуоресценции.

**Ключевые слова:** хлорофилл *a*, флуоресценция, погружной датчик, поглощение света пигментами фитопланктона, Антарктика

**DOI:** 10.31857/S0030157423040111, **EDN:** YMIBVU

### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время использование флуоресценции широко применяется для оценки продукционных характеристик акваторий. В природных водах профиль флуоресценции измеряется с помощью погружных датчиков, которые устанавливаются на гидрологическом комплексе (СТД), измеряющем глубину, температуру и соленость. Помимо гидрологических комплексов, для длительных наблюдений с высокой периодичностью используются дрейфующие буи, которые позволяют измерять вертикальные профили как гидрофизических/гидрохимических параметров, так и биологических, в частности – флуоресценции хлорофилла *a*.

Известно [3], что в естественных условиях интенсивность флуоресценции хлорофилла *a* ( $F$ , мкЭ м<sup>-3</sup> с<sup>-1</sup>) зависит от световых условий среды: фотосинтетически активная радиация ( $PAR$ , мкЭ м<sup>-2</sup> с<sup>-1</sup>), концентрации хлорофилла *a* ( $Chl-a$ , мг м<sup>-3</sup>) и функциональных характеристик фитопланктона ( $a_{ph}^*(\lambda)$ ,  $\phi_F$ ).

$$F = PARChl - \overline{aa_{ph}^*(\lambda)} Q_a^* \phi_F, \quad (1)$$

где  $\overline{a_{ph}^*(\lambda)}$  – среднее по спектру значение показателя удельного (нормированного на  $Chl-a$ ) поглощения света пигментами фитопланктона ( $a_{ph}^*(\lambda)$ , м<sup>2</sup> мг<sup>-1</sup>);  $\phi_F$  – квантовый выход флуоресценции ((моль испускаемых фотонов)/(моль поглощенных фотонов));  $Q_a^*$  – коэффициент внутриклеточной реабсорбции флуоресценции, безразмерный.

Применительно для погружных зондов эта формула будет иметь следующий вид:

$$F = E_{\lambda_{ex}} Chl - aa_{ph}^*(\lambda_{ex}) Q_a^* \phi_F, \quad (2)$$

где  $E_{\lambda_{ex}}$  – интенсивность возбуждающего флуоресценцию излучения на длине волны  $\lambda_{ex}$ ;  $a_{ph}^*(\lambda_{ex})$  – удельный (нормированный на  $Chl-a$ ) показатель поглощения света пигментами фитопланктона на длине волны  $\lambda_{ex}$ .

### Интенсивность света

Свет – один из факторов среды, который влияет на функциональные характеристики фитопланктона, в том числе на его способность поглощать кванты света ( $a_{ph}^*(\lambda)$ ) [14, 25] и на квантовый

выход флуоресценции [3]. Фотосинтетический аппарат микроводорослей представляет совокупность элементов – фотосинтетических единиц, состоящих из двух фотосистем (ФС 1 и ФС 2) [32, 33]. Каждая фотосистема состоит из реакционного центра (РЦ 1 или РЦ 2, соответственно) и свет собирающего комплекса пигментов. Флуоресценция хлорофилла *a* (*Chl-a*) в основном связана с ФС 2 [3].

#### Квантовый выход флуоресценции

Квантовый выход флуоресценции – это отношение испущенных фотонов к поглощенным. Количество поглощенного фитопланктоном света будет определяться произведением:  $E_{\lambda_{ex}} Chl - a a_{ph}^*(\lambda_{ex})$ , а величина испущенных фотонов будет пропорциональна величине  $F$ . Максимальная квантовая эффективность транспорта электронов через ФС 2 оценивается при условии, что все реакционные центры находятся в “открытом” состоянии [32]. В природных условиях фитопланктон приспосабливается к световым условиям существования. Под действием света часть РЦ находится в закрытом состоянии [13]. Таким образом, значение  $F$ , регистрируемой погружным зондом, под действием солнечного света, уменьшается за счет тушения флуоресценции. В соответствии с [21, 27] тушение квантового выхода флуоресценции, может быть разделено на два различных режима:

1. Фотохимическое тушение ( $qP$ ) – тушение флуоресценции при непрерывном освещении в результате конкуренции первичной фотохимии в ФС 2 с эмиссией флуоресценции [21] отражает окислительно-восстановительное состояние  $Q_A$  (первичный хиноновый акцептор электронов ФС 2). Тушение  $qP$  связано с квантовым выходом фотосинтеза и, поэтому является теоретической основой для расчета первичной продукции по флуоресцентным данным. Время, необходимое для восстановления  $Q_A$ , составляет 1–2 секунды [19].

2. Нефотохимическое тушение ( $qN$ ) – процесс преобразования части энергии, поглощаемой в световой фазе фотосинтеза, в тепло [24]. Включает:

– Энергозависимое тушение ( $qE$ ), связанное с тушением в антеннах ФС 2 за счет закисления просвета тилакоидов в результате транспорта электронов [20], этот вид тушения является основным в “нестрессовых” условиях [4]. Время релаксации – от нескольких секунд до минуты [28];

– Тушение, связанное с переходом между состояниями мембран хлоропластов в результате миграции хлорофилл-белковых комплексов между ФС 1 и ФС 2 [23] ( $qT$ ). Имеет значимые величины при низких уровнях освещенности [4]. Время релаксации – в пределах десятков минут [28];

– Фотоингибирование ( $qI$ ) – значимо при уровнях освещенности, превышающих уровень, необходимый для насыщения фотосинтеза, или когда стрессовые условия сильно ограничивают потребление восстановителей, образующихся при синтетическом переносе электрона [4]. Время релаксации – в пределах нескольких часов [28].

#### Поглощение света пигментами фитопланктона

Изменчивость удельного (нормированного на *Chl-a*) показателя поглощения света пигментами фитопланктона ( $a_{ph}^*(\lambda)$ ) обусловлена степенью упаковки пигментов (так называемый “package effect”), связанной с адаптивными физиологическими изменениями внутриклеточной концентрации пигментов к условиям среды [9] и размерной структуры фитопланктона [25]. В результате изменения степени упаковки пигментов величина  $a_{ph}^*(\lambda)$  может изменяться более, чем на порядок [2, 7].

#### Коэффициент реабсорбции

Известно [3], что красная полоса поглощения *Chl-a* в коротковолновой части спектра (~678 нм) частично перекрывает свою полосу флуоресценции (~685 нм), что может приводить к частичной реабсорбции флуоресцентного излучения. Доля флуоресценции, которая не реабсорбируется на 685 нм, определяется безразмерным фактором  $Q:(685)$  [10], величина которого изменяется от 0.66 до 1 в зависимости от видов фитопланктона [10].

Настоящие исследования были нацелены на анализ изменчивости концентрации хлорофилла *a* и физиологических характеристик фитопланктона (спектральный показатель поглощения света пигментами фитопланктона) в зависимости от факторов окружающей среды (*PAR*) и на оценку связи между  $F$  и поглощением света пигментами фитопланктона на длине волны возбуждения флуоресценции ( $a_{ph}(450)$ ).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились в 79 рейсе НИС “Академик Мстислав Келдыш” в водах Атлантического сектора Антарктики (рис. 1) в течение южного лета 2020 г. (11 января–4 февраля). На всех станциях измеряли профили температуры и солености с помощью комплекса CTD (Sea-Bird SBE-911), а профиль интенсивности флуоресценции – с помощью зондирующего прозрачномера ПУМ-200.

Фотосинтетически активная радиация (*PAR*), падающая на поверхность моря и проникающая

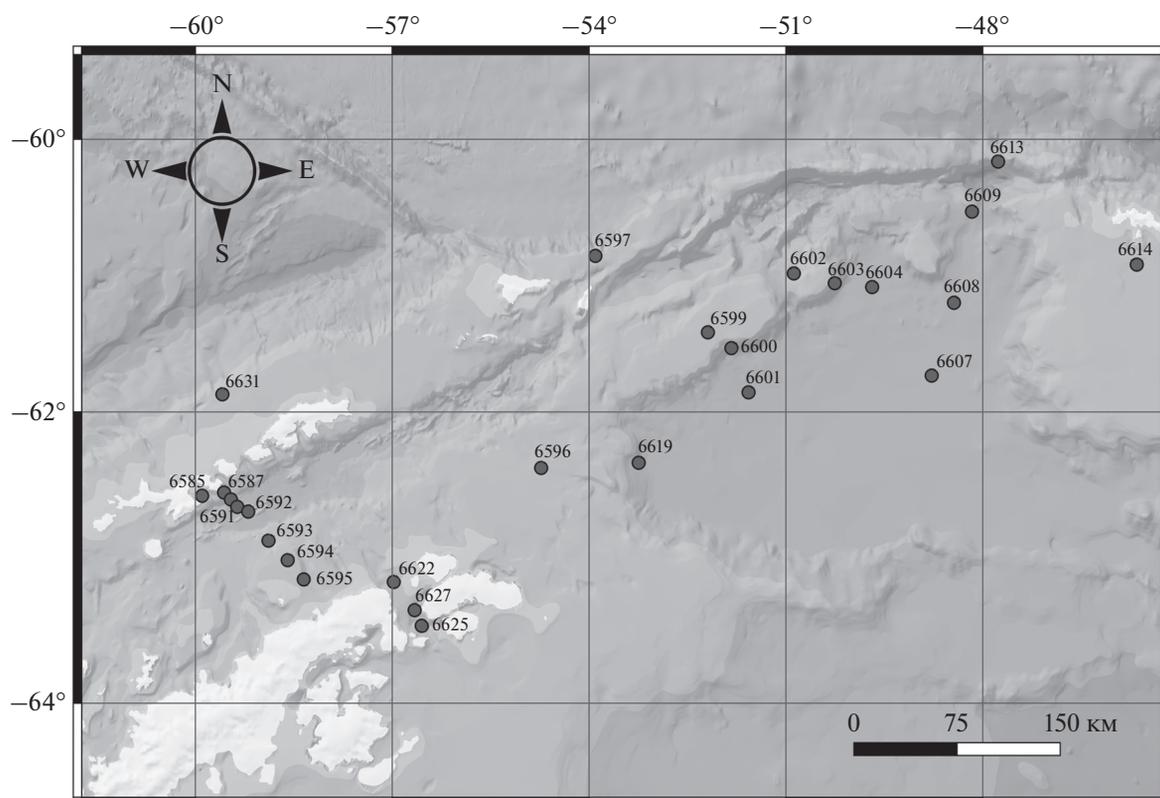


Рис. 1. Карта станций 79 рейса НИС “Академик Мстислав Келдыш” в водах Атлантического сектора Антарктики, 11 января–4 февраля 2020 г.

в море, измерялась на палубе и с помощью погружного прибора Li-COR. На основании данных, полученных с CTD, ПУМ-200 и Li-COR, пробы воды отбирали с разных горизонтов с помощью кассеты батометров, прикрепленных к CTD.

#### *Определение оптических глубин и верхнего квазиоднородного слоя (ВКС)*

Первую оптическую глубину и глубину зоны фотосинтеза ( $Z_{eu}$ ) определяли по данным Li-COR как глубину, на которой PAR уменьшается в 2.71 и 100 раз, соответственно, по отношению к PAR, падающей на поверхность моря [17].

ВКС определяли по критериям изменения значений абсолютной разности потенциальной температуры ( $0.2^\circ\text{C}$ ) и плотности ( $0.03 \text{ кг/м}^3$ ) в соответствии с [12].

#### *Измерение концентрации хлорофилла $a$ и феопигментов*

Величину  $Chl-a$  определяли спектрофотометрически методом в ацетоновом (90%) экстракте пигментов [16] на двухлучевом спектрофотометре Lambda 35 (Perkin Elmer). Пробы воды фильтровали сразу после отбора при низком вакууме ( $<0.2 \text{ атм.}$ ), используя стекловолоконные фильтры Whatman GF/F. Фильтры с пробами хранили

в жидком азоте до проведения измерений в лаборатории. Долю феопигментов не учитывали, поскольку известно [15], что феопигменты, дают одинаковый вклад в  $F_0$  и  $F_m$ , а следовательно, не влияет на максимальную величину переменной флуоресценции ( $F_v$ ).

#### *Измерение показателя поглощения света пигментами фитопланктона ( $a_{ph}(\lambda)$ )*

Поглощение света взвешенным веществом ( $a_p(\lambda)$ ) измеряли в соответствии с текущим протоколом NASA [29]. Для разделения  $a_p(\lambda)$  на  $a_{ph}(\lambda)$  и несвязанную с фитопланктоном взвесь ( $a_{NAP}(\lambda)$ ) проводили экстракцию пигментов горячим метанолом в соответствии с методикой [18]. Оптическую плотность проб измеряли в диапазоне от 350 до 750 нм с шагом в 1 нм на двухлучевом спектрофотометре Lambda 35 (Perkin Elmer), снабженном интегрирующей сферой. Методика более детально описана в работе [8].

#### *Измерение интенсивности флуоресценции хлорофилла- $a$*

Измерение интенсивности флуоресценции хлорофилла  $a$  проводили на лабораторном флуори-

**Таблица 1.** Суточная интенсивность света в водах Атлантического сектора Антарктики, 11 января–4 февраля 2020 г.

Дата	PAR, Э м <sup>-2</sup> сут <sup>-1</sup>	Станция	Время работ*	Дата	PAR, Э м <sup>-2</sup> сут <sup>-1</sup>	Станция	Время работ
21.01.2020	31.1	6587	3:00	26.01.2020	18.3	6604	20:29
		6590	7:27				
		6591	9:12	27.01.2020	27.9	6607	19:55
		6592	11:52	28.01.2020	24.3	6608	8:10
		6593	14:46			6609	16:40
		6594	17:37			29.01.2020	26.1
6595	19:58	6614	20:25				
22.01.2020	31.2	6596	17:49	01.02.2020	25.9	6619	13:34
23.01.2020	27.2	6597	14:38	03.02.2020	27.1	6622	2:32
24.01.2020	20.8	6599	15:44			6625	7:55
25.01.2020	22.4	6600	1:04			04.02.2020	13.8
		6601	9:09	6631	5:12		
		6602	17:48				
		6603	22:45				

\* время работ по местному времени.

метре SMART [1], на котором флуоресценция возбуждается излучением на длине волны 450 нм. После помещения образца в измерительную камеру проводили адаптацию фитопланктона к темноте в течение 30 минут [3] и регистрировали параметр  $F_0$  – флуоресценция в адаптированном к темноте состоянии, когда все неповрежденные реакционные центры открыты [15].

Интенсивность флуоресценции растворенного органического вещества (РОВ) принималась за фон ( $F_{CDOM}$ ) и вычиталась из флуоресценции пробы. Для получения РОВ пробы морской воды фильтровали при вакууме (<0.2 атм.) через нуклеопоровый фильтр (Sartorius Nucleopore, 0.2 мкм), предварительно промытый деионизированной водой [5].

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В связи с тем, что функциональные характеристики фитопланктона (спектральный удельный показатель поглощения света, квантовый выход флуоресценции) зависят от освещенности (уравнение 2), анализ проводили по выделенным слоям:

1. от поверхности до 1 оптической глубины
2. от 1 до 4.6 оптических глубин (до нижней границы зоны фотосинтеза)
3. для всей зоны фотосинтеза.

## Условия существования фитопланктона

### Световые условия

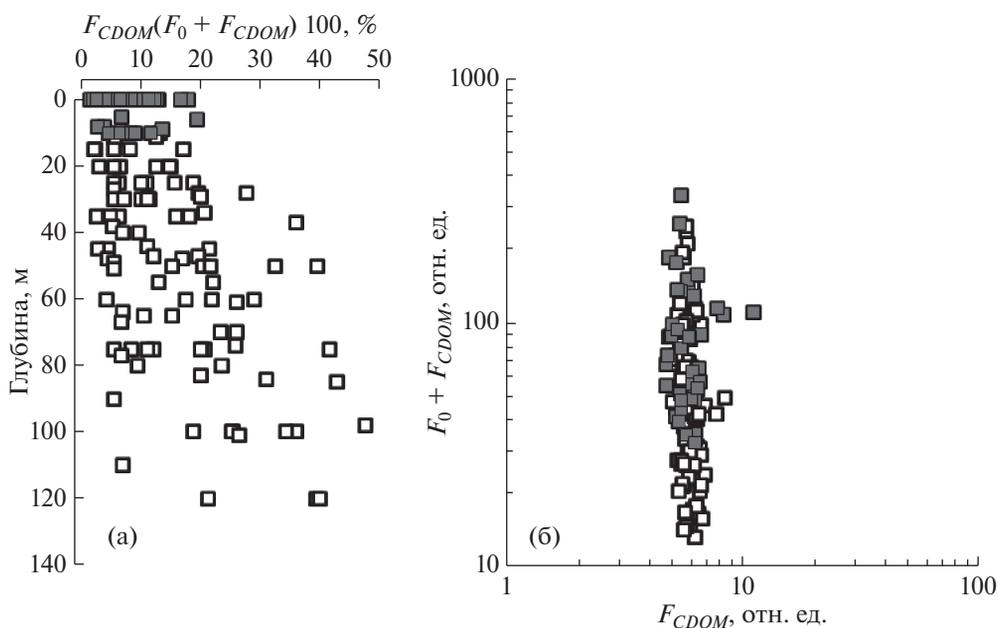
В период работ суточная интенсивность падающего на поверхность света изменялась от 13.8 до 31.2 Э м<sup>-2</sup> сут<sup>-1</sup> (табл. 1) и средняя величина составляла  $25 \pm 5$  Э м<sup>-2</sup> сут<sup>-1</sup>. Глубина зоны фотосинтеза изменялась между станциями от 50 м (ст. 6614) до 83 м (ст. 6619) за исключением двух станций (ст. 6609 и 6613), где отмечена более низкая прозрачность вод ( $Z_{eu} = 28$  и 35 м). В среднем  $Z_{eu}$  составляла  $64 \pm 12$  м.

### Гидрологические условия

В исследуемый период температура воды в поверхностном слое моря изменялась в проливе Брансфилда от  $-0.47$  до  $3.19^\circ\text{C}$ , в среднем составляла  $1.29 \pm 1.4^\circ\text{C}$ , в бассейне Пауэлла – от  $-0.77$  до  $2.01^\circ\text{C}$ , в среднем  $-0.72 \pm 0.89^\circ\text{C}$ , более подробно гидрологические условия описаны в [26]. На большинстве станций была практически одинаковая температура во всем исследованном слое, на отдельных станциях наблюдали сформированный ВКС толщиной от 7 до 47 м [26].

## Фоновая флуоресценция

Величина  $F_{CDOM}$  изменялась от 4.8 до 11.1 отн. ед., в среднем составляя  $5.96 \pm 0.76$  отн. ед. Вклад  $F_{CDOM}$  в общую флуоресценцию ( $F_{CDOM} + F_0$ ) изме-



**Рис. 2.** (а) – Изменение относительного вклада флуоресценции растворенного органического вещества ( $F_{CDOM}$ ) в общую флуоресценцию ( $F_{CDOM} + F_0$ ) по глубине во всей исследуемой акватории; (б) – изменение абсолютных величин  $F_{CDOM} + F_0$  в зависимости от величины  $F_{CDOM}$  в различных оптических слоях (■ – глубины  $\leq 1$  оптической глубины; □ – глубины  $> 1$  оптической глубины) исследуемой акватории в водах Атлантического сектора Антарктики, 11 января–4 февраля 2020 г.

нялся от 2 до 47%, в среднем составляя  $14 \pm 10\%$  (рис. 2).

### Концентрация хлорофилла *a*

В исследуемом районе наблюдалась высокая ( $\sim 10$  раз) варибельность *Chl-a*, как по поверхности исследованной акватории, так и в пределах зоны фотосинтеза. Величина *Chl-a* в слое первой оптической глубины изменялась от 0.22 до 4.4 мг м<sup>-3</sup>. Максимальные значения *Chl-a* отмечены на станциях 6609 (*Chl-a* = 4.4 мг м<sup>-3</sup>) и 6613 (*Chl-a* = 2.2 мг м<sup>-3</sup>) в бассейне Пауэлла. При этом средняя величина этого параметра в поверхностном слое для всех станций, за исключением 6609 и 6613, составляла  $0.69 \pm 0.38$  мг м<sup>-3</sup>. В слое 1–4.6 оптических глубин средняя величина *Chl-a* составляла  $0.55 \pm 0.33$  мг м<sup>-3</sup>. Для всей зоны фотосинтеза (за исключением ст. 6609 и 6613) отмечен диапазон варибельности *Chl-a* 0.1–1.8 мг м<sup>-3</sup>. В среднем для зоны фотосинтеза величина *Chl-a* равнялась  $0.61 \pm 0.35$  мг м<sup>-3</sup>. На большинстве станций наблюдалось уменьшение *Chl-a* с глубиной [8].

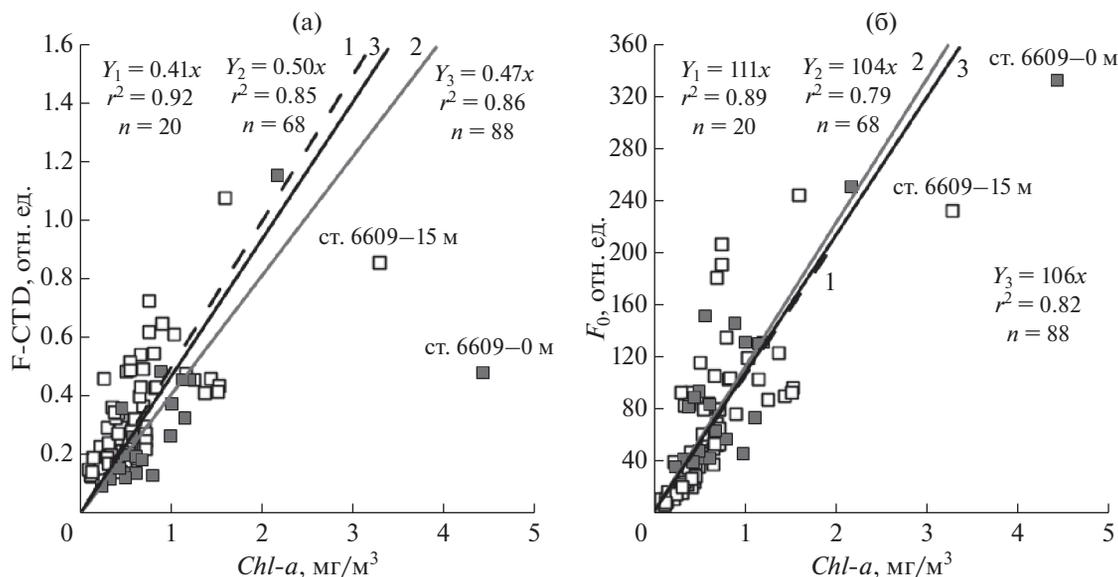
### Связь интенсивности флуоресценции хлорофилла *a* с концентрацией хлорофилла *a*

При пересчете данных интенсивности флуоресценции, полученных с погружных датчиков,

в концентрацию хлорофилла *a*, используют прямо пропорциональную зависимость [30].

На рис. 3 показана связь *F*, измеренной погружным флуориметром (3а) и лабораторным флуориметром после темновой адаптации фитопланктона (3б) (см. Методы), с *Chl-a*.

Корреляционные кривые построены без учета 2 точек (станция 6609 на глубине 0 и 15 м). Эти точки сильно выпадают из общей зависимости (рис. 3а) из-за высокой PAR в момент измерения (1200 мкЭ м<sup>-2</sup> с<sup>-1</sup>, время измерения 16:40). После темновой адаптации фитопланктона (рис. 3б) эти точки так же не вписываются в общую зависимость. Это, вероятнее всего, обусловлено ингибирующим воздействием света на РЦ ФС2, для восстановления которых использованной длительности темновой адаптации было недостаточно. Очевидно (рис. 3), что ингибирующий эффект в диапазоне больших значений *Chl-a* выражен более значительно, чем в диапазоне малых значений *Chl-a*. В области малых концентраций отмечается тенденция к завышению флуоресценции, что, возможно, происходит за счет фонового сигнала флуоресценции РОВ, который смещает все точки вверх вначале координат. Коэффициент детерминации ( $r^2$ ) в обоих случаях достаточно велик. Однако, в зависимости *F-CTD* – *Chl-a* наблюдается большое различие ( $\sim 20\%$ ) между значениями коэффициентов, полученных в зависимостях для выделенных слоев. Отмеченное раз-



**Рис. 3.** Связь интенсивности флуоресценции хлорофилла *a* измеренной погружным датчиком (а) и на лабораторном флуориметре (б) с концентрацией хлорофилла *a*, измеренной спектрофотометрическим методом, в различных оптических слоях исследуемой акватории в водах Атлантического сектора Антарктики, 11 января–4 февраля 2020 г., обозначения см. на рис. 2.

личие в коэффициенте связи *F-CTD* – *Chl-a* между слоями может быть связано как с изменением удельного показателя поглощения света пигментами фитопланктона с глубиной в результате адаптации фитопланктона к условиям среды, так и с влиянием света на квантовый выход флуоресценции (уравнение 2).

В случае построения зависимости *F<sub>0</sub>* – *Chl-a* различий в коэффициентах связи между выделенными слоями практически не наблюдается (~7%).

**Связь интенсивности флуоресценции хлорофилла *a* и показателя поглощения света пигментами фитопланктона**

Известно [6], что связь *Chl-a*–*a<sub>ph</sub>(λ)* описывается степенной зависимостью. Для выделенных трех слоев установлена связь между *Chl-a* и *a<sub>ph</sub>(λ)* на длине волны 450 нм, которая соответствует длине волны возбуждения флуоресценции (см. Методы) (рис. 4а). Связи *F<sub>0</sub>–Chl-a* и *F<sub>0</sub>–a<sub>ph</sub>(450)* описываются линейной зависимостью в соответствии с [3] (рис. 4б, 4в). Коэффициенты полученных связей, для всех исследуемых слоев, представлены в таблице 2.

Величина коэффициента *A* в связи *a<sub>ph</sub>(450)*–*Chl-a* уменьшалась с глубиной на ~13%, величина степенного коэффициента *b* близка к 1 во всех выделенных слоях. Учитывая это, можно говорить о том, что с увеличением концентрации *Chl-a* удельный (нормированный на *Chl-a*) показатель поглощения света пигментами фитопланктона

(*a<sub>ph</sub><sup>\*</sup>(450)*) будет неизменным. Таким образом, коэффициент *A* в связи *a<sub>ph</sub>(450)*–*Chl-a* соответствует *a<sub>ph</sub><sup>\*</sup>(450)*.

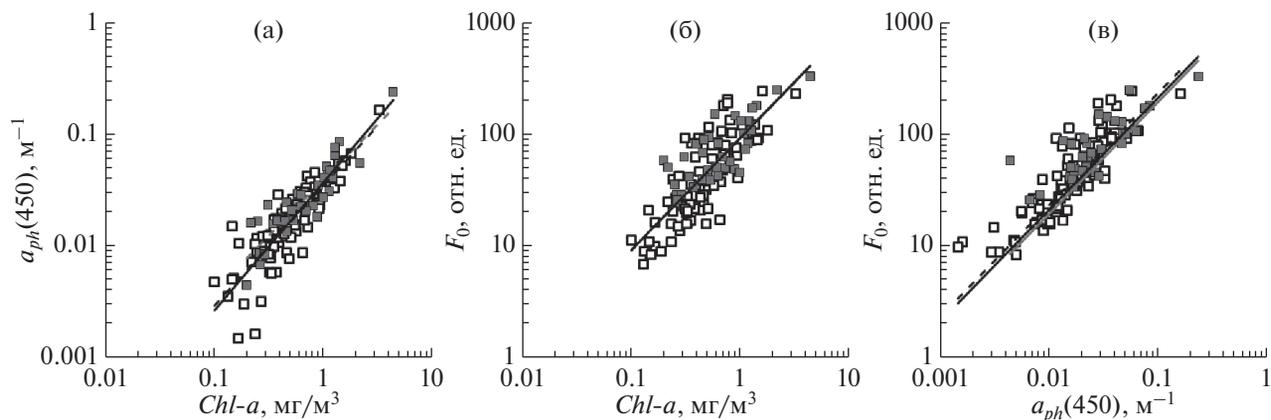
Величина коэффициента *A* в связи *F<sub>0</sub>–Chl-a* уменьшается на ~4%. Фактически коэффициент *A* в связи *F<sub>0</sub>–Chl-a* отражает флуоресцентную активность единицы концентрации хлорофилла *a* (*F<sub>0</sub><sup>\*</sup>*), которая в нашем случае оставалась практически неизменной.

Измерение величины *F<sub>0</sub>* проводили на лабораторном флуориметре с постоянной возбуждающей интенсивностью света, поэтому величину PAR в уравнении 1 мы принимаем постоянной.

Коэффициент реабсорбции *Q<sub>a</sub><sup>\*</sup>* зависит от поглощения света хлорофиллом *a* в красной области (685 нм), в проведенных исследованиях определяли *a<sub>ph</sub><sup>\*</sup>(685)*. В слое до 1-й оптической глубины *a<sub>ph</sub><sup>\*</sup>(685)* изменялось от 0.0108 до 0.0121 м<sup>2</sup> мг<sup>-1</sup>, в среднем составляя 0.0116 ± 0.0003 м<sup>2</sup> мг<sup>-1</sup>, в слое больше 1 оптической глубины изменялось от 0.0109 до 0.0123 м<sup>2</sup> мг<sup>-1</sup>, в среднем 0.0117 ± 0.0003 м<sup>2</sup> мг<sup>-1</sup>.

Учитывая, что *a<sub>ph</sub><sup>\*</sup>(685)* практически не изменялось по глубине, можно говорить о том, что вклад *Q<sub>a</sub><sup>\*</sup>* в величину *F* (уравнение 1) будет постоянным. В этом случае уравнение 1 примет вид:

$$F = Chl - aa_{ph}(450)*\varphi_F \tag{3}$$



**Рис. 4.** (а) – Связь показателя поглощения света пигментами фитопланктона на длине волны 450 нм ( $a_{ph}(450)$ ) с концентрацией хлорофилла а ( $Chl-a$ ) в выбранных слоях; (б) – связь интенсивности флуоресценции, регистрируемой лабораторным флуориметром после темновой адаптации ( $F_0$ ) с  $Chl-a$  в выбранных слоях; (в) – связь  $F_0$  с  $a_{ph}(450)$  в выбранных слоях исследуемой акватории в водах Атлантического сектора Антарктики, 11 января–4 февраля 2020 г., обозначения см. на рис. 2.

или

$$F_0^* = a_{ph}^*(450) \varphi_F. \quad (4)$$

Величина  $\varphi_F$  уменьшилась на  $\sim 15\%$  в слое до 1-й оптической глубины относительно слоя глубже 1-й оптической глубины. В результате получили, что удельное поглощение и квантовый выход изменяются в противоположном направлении, поддерживая постоянный уровень удельной флуоресценции (уравнение 4).

### ОБСУЖДЕНИЕ

При высокой вариабельности  $Chl-a$ , практически не наблюдалось изменения величины  $a_{ph}^*(450)$  по выделенным слоям. Из литературных данных [7, 22, 25] известно, что изменение величины

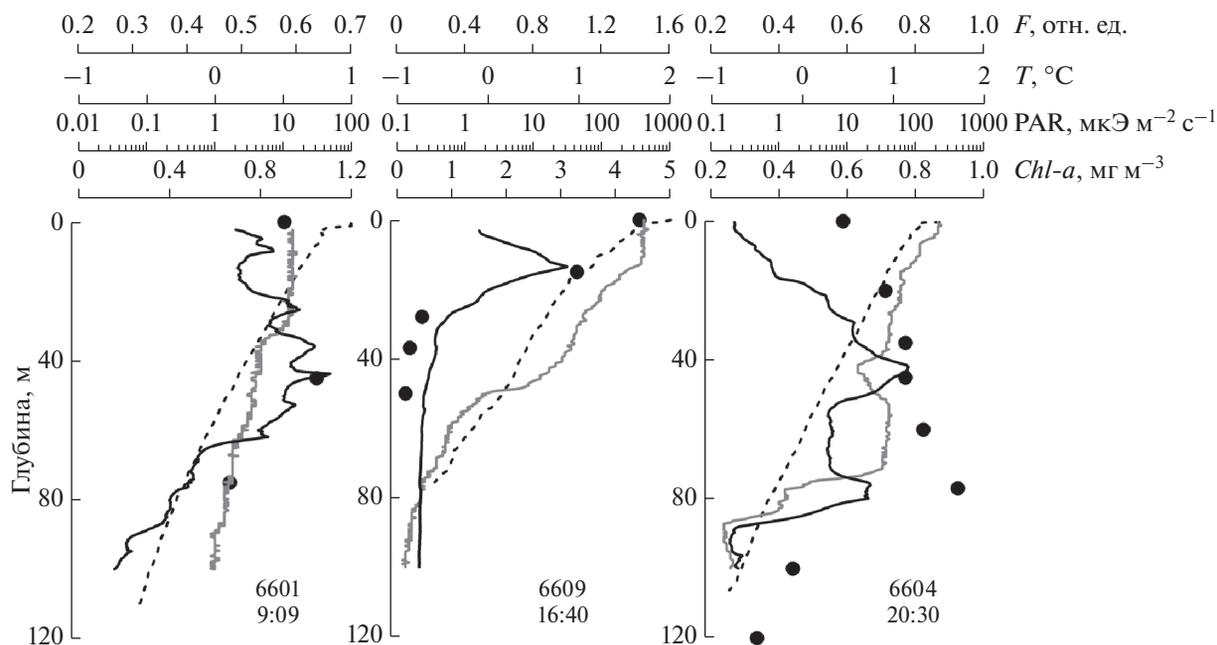
$a_{ph}^*(\lambda)$  происходит в результате акклимации фитопланктонного сообщества к факторам среды (освещенность, температура, обеспеченность биогенными элементами). В исследуемый период на большинстве станций наблюдалось незначительное изменение температуры по выделенным слоям. В освещенном слое не отмечено лимитирования по биогенным элементам [31]. Таким образом, освещенность – фактор среды, который является наиболее вариабельным в пределах зоны фотосинтеза (два порядка). Известно, что изменение величин показателей  $a_{ph}^*(\lambda)$  с глубиной [6] происходит в результате адаптации фитопланктона к свету при условии плотностной стратификации вод и слабого вертикального перемешивания водных масс [11]. Однако гидрологические условия в районе исследований не позволяют сделать вы-

**Таблица 2.** Коэффициенты связи: показателя поглощения света пигментами фитопланктона на длине волны 450 нм ( $a_{ph}(450)$ ) с концентрацией хлорофилла а ( $Chl-a$ ); интенсивности флуоресценции, измеренной на лабораторном флуориметре ( $F_0$ ) с  $Chl-a$ ;  $F_0$  с  $a_{ph}(450)$  для разных слоев

$a_{ph}(450)-Chl-a$				$F_0-Chl-a$			$F_0-a_{ph}(450)$		
$A^*$	$b^*$	$r^2$	$n$	$A^*$	$r^2$	$n$	$A^*$	$r^2$	$n$
Слой от 0 м до 1 оптической глубины включительно									
0.039	0.99	0.82	44	93	0.90	39	1970	0.83	48
Слой от >1 до 4.6 оптических глубин									
0.034	1.07	0.72	82	91	0.79	92	2311	0.77	86
Слой от 0 м до до 4.6 оптических глубин									
0.036	1.08	0.76	126	92	0.84	133	2102	0.81	134

\*  $A$  – коэффициент пропорциональности

$b$  – степенной коэффициент в уравнении вида:  $a_{ph}(450) = A(Chl - a)^b$ .



**Рис. 5.** Профили вертикального распределения: температуры ( $T$ ) – серая линия; интенсивности PAR, измеренной Li-COR – пунктирная линия; интенсивности флуоресценции ( $F$ ) измеренной погружным датчиком ПУМ-200 – черная линия, и концентрации хлорофилла  $a$  ( $Chl-a$ ) – ● на отдельных станциях в слоях в водах Атлантического сектора Антарктики, 11 января–4 февраля 2020 г., обозначения см. рис. 2.

вод об устойчивости водного столба, что и являлось причиной слабой изменчивости  $a_{ph}^*(\lambda)$  между выделенными слоями. На основании выше сказанного можно заключить, что во время нашего исследования не наблюдалось существенных различий между выделенными слоями по структуре и функциональным характеристикам фитопланктона. Коэффициент связи  $F_0$  и  $a_{ph}(450)$ , характеризующий  $\phi_F$ , изменялся незначительно (см. таблицу 2). Это свидетельствует об отсутствии фотоингибирующего влияния света на фотосинтетический аппарат микроводорослей. Следовательно, различия в коэффициентах связи  $F-Chl-a$ , установленные для выделенных слоев, обусловлены не физиологическим различием в фитопланктонном сообществе, а влиянием освещенности на квантовый выход флуоресценции, измеряемой погружным датчиком. Влияние освещенности на  $F$  в естественных условиях представлено на рисунке 5. Очевидно, что при невысоких значениях PAR (рис. 5, ст. 6601) влияние естественной освещенности на  $\phi_F$  незначительно. Однако при высоких значениях PAR и  $Chl-a$  (рис. 5, ст. 6609) наблюдается значительное уменьшение  $F$ , регистрируемой погружным зондом в ВКС.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование показали, что при слабо выраженной плотностной стратификации вод отсут-

ствует значимое изменение величин и формы спектров  $a_{ph}^*(\lambda)$  с глубиной в пределах зоны фотосинтеза. Это объясняет практически одинаковый коэффициент связи  $F-Chl-a$  на разных оптических глубинах. При измерении интенсивности флуоресценции погружным датчиком (без камеры для темновой адаптации фитопланктона) коэффициент связи  $F-Chl-a$  более изменчив между оптическими глубинами, что объясняется влиянием интенсивности проникающего света на квантовый выход флуоресценции.

**Благодарность:** Авторы выражают искреннюю благодарность анонимным рецензентам за внимательное прочтение статьи, их комментарии и полезные предложения. Так же авторы благодарны капитану и экипажу НИС “Академик Мстислав Келдыш” за техническую помощь.

**Источник финансирования.** Анализ связи показателей поглощения света пигментами фитопланктона с концентрацией хлорофилла  $a$  и выполнен при поддержке гранта РФФИ № 22-27-00790. Отбор и первичная обработка проб в ходе 79 рейса НИС “Академик Мстислав Келдыш” проводились в рамках государственного задания ФГБУН ФИЦ ИнБЮМ (121090800137-6). Обработка данных, расчеты и разработка алгоритма коррекции флуоресценции хлорофилла  $a$  проводились в рамках государственного задания ФГБУН ФИЦ ИнБЮМ (121040100327-3). Измерения значений гидрооптических характеристик

приборами ПУМ-200 и Li-COR выполнены в рамках государственного задания по теме № FM-WE-2021-0001, обработка данных – при поддержке гранта РФФ № 21-77-10059.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Antal T., Konyukhov I., Volgusheva A. et al.* Chlorophyll fluorescence induction and relaxation system for the continuous monitoring of photosynthetic capacity in photobioreactors // *Physiologia plantarum*. 2019. V. 165. № 3. P. 476–486.
2. *Babin M., Morel A., Gentili B.* Remote sensing of sea surface sun-induced chlorophyll fluorescence: consequences of natural variations in the optical characteristics of phytoplankton and the quantum yield of chlorophyll *a* fluorescence // *International Journal of Remote Sensing*. 1996. V. 17. № 12. P. 2417–2448.
3. *Babin M.* Phytoplankton fluorescence: theory, current literature and in situ measurement // *Real-time Coastal Observing Systems for Marine Ecosystem Dynamics and Harmful Algal Blooms: Theory, Instrumentation and Modelling*. Paris: UNESCO Publishing, 2008. P. 237–280.
4. *Baker N.R.* Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis *in vivo* // *Annual review of plant biology*. 2008. V. 59. P. 89.
5. *Boss E., Haëntjens N., Ackleson S.G. et al.* IOCCG Ocean optics and biogeochemistry protocols for satellite ocean colour sensor validation inherent optical property measurements and protocols: best practices for the collection and processing of ship-based underway flow-through optical data (v4. 0). 2019.
6. *Bricaud A., Babin M., Morel A., Claustre H.* Variability in the chlorophyll-specific absorption coefficients of natural phytoplankton: Analysis and parameterization // *Journal of Geophysical Research: Oceans*. 1995. V. 100. Iss. C7. P. 13321–13332.
7. *Churilova T., Suslin V., Krivenko O. et al.* Light absorption by phytoplankton in the upper mixed layer of the Black Sea: seasonality and parameterization // *Frontiers in Marine Science*. 2017. V. 4. P. 90.
8. *Churilova T., Moiseeva N., Efimova T. et al.* Spectral bio-optical properties of waters in the Bransfield Strait and Powell Basin // *Antarctic Peninsula Region of the Southern Ocean*. Springer: Cham, 2021. P. 217–228.
9. *Ciotti A.M., Lewis M.R., Cullen J.J.* Assessment of the relationships between dominant cell size in natural phytoplankton communities and the spectral shape of the absorption coefficient // *Limnology and Oceanography*. 2002. V. 47. № 2. P. 404–417.
10. *Collins D.J., Kiefer D.A., Soohoo J.B., McDermid I.S.* The role of reabsorption in the spectral distribution of phytoplankton fluorescence emission // *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers*. 1985. V. 32. № 8. P. 983–1003.
11. *Cullen J.J., Lewis M.R.* The kinetics of algal photoadaptation in the context of vertical mixing // *Journal of Plankton Research*. 1988. V. 10. № 5. P. 1039–1063.
12. *de Boyer M.C., Madec G., Fischer A. S. et al.* Mixed layer depth over the global ocean: An examination of profile data and a profile-based climatology // *Journal of Geophysical Research: Oceans*. 2004. V. 109. C12003. 20 p.
13. *Falkowski P., Kiefer D.A.* Chlorophyll *a* fluorescence in phytoplankton: relationship to photosynthesis and biomass // *Journal of Plankton Research*. 1985. V. 7. № 5. P. 715–731.
14. *Falkowski P.G., Raven J.A.* Aquatic photosynthesis, 2nd. ed. Princeton: Princeton University Press, 2007. 512 p.
15. *Huot Y., Babin M.* Overview of fluorescence protocols: theory, basic concepts, and practice // *Chlorophyll a fluorescence in aquatic sciences: Methods and applications*: Springer, 2010. P. 31–74.
16. *Jeffrey S.W., Humphrey G.F.* New spectrophotometric equations for determining chlorophylls *a*, *b*, *c1* and *c2* in higher plants, algae and natural phytoplankton // *Biochimie und physiologie der pflanzen*. 1975. V. 167. № 2. P. 191–194.
17. *Kirk J.T.O.* Light and photosynthesis in aquatic ecosystems. Third edition. Cambridge: Cambridge University Press, 2011. 649 p.
18. *Kishino M., Takahashi N., Okami N., Ichimura S.* Estimation of the spectral absorption coefficients of phytoplankton in the sea // *Bulletin of Marine Science*. 1985. V. 37. P. 634–642.
19. *Kolber Z., Falkowski P.G.* Use of active fluorescence to estimate phytoplankton photosynthesis in situ // *Limnology and Oceanography*. 1993. V. 38. № 8. P. 1646–1665.
20. *Krause G.H., Veronotte C., Briantais J.M.* Photoinduced quenching of chlorophyll fluorescence in intact chloroplasts and algae. Resolution into two components // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*. 1982. V. 679. № 1. P. 116–124.
21. *Krause G.H., Jahns P.* Non-photochemical energy dissipation determined by chlorophyll fluorescence quenching: characterization and function // *Chlorophyll a fluorescence*: Springer, 2004. P. 463–495.
22. *MacIntyre H.L., Kana T.M., Anning J., Geider R.* Photoacclimation of photosynthesis irradiance response curves and photosynthetic pigments in microalgae and cyanobacteria // *Journal of Phycology*. 2002. V. 38. № 1. P. 17–38.
23. *Masojídek J., Torzillo G., Koblížek M. et al.* Photoadaptation of two members of the Chlorophyta (*Scenedesmus* and *Chlorella*) in laboratory and outdoor cultures: changes in chlorophyll fluorescence quenching and the xanthophyll cycle // *Planta*. 1999. V. 209. № 1. P. 126–135.
24. *Maxwell K., Johnson G.N.* Chlorophyll fluorescence – a practical guide // *Journal of experimental botany*. 2000. V. 51. № 345. P. 659–668.
25. *Morel A., Bricaud A.* Theoretical results concerning light absorption in a discrete medium, and application to specific absorption of phytoplankton // *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers*. 1981. V. 28. № 11. P. 1375–1393.
26. *Morozov E.G., Flint M.V., Spiridonov V.A.* (eds) Antarctic Peninsula Region of the Southern Ocean. Springer, Cham. 2021. 455 p.
27. *Morrison J.R.* In situ determination of the quantum yield of phytoplankton chlorophyll *a* fluorescence:

- A simple algorithm, observations, and a model // *Limnology and Oceanography*. 2003. V. 48. № 2. P. 618–631.
28. Muller P., Li X.P., Niyogi K.K. Non-photochemical quenching. A response to excess light energy // *Plant physiology*. 2001. V. 125. № 4. P. 1558–1566.
  29. Neeley A.R., Mannino A. Ocean optics and biogeochemistry protocols for satellite ocean colour sensor validation (v. 1. 0). *Inherent Optical Property Measurements and Protocols: Absorption Coefficient*. 2018.
  30. Schmechtig C., Poteau A., Claustre H. et al. Processing bio-Argo chlorophyll-A concentration at the DAC level. Version 1.0. 30 September 2015. 2015.
  31. Stepanova S.V., Polukhin A.A., Borisenko G.V. et al. Hydrochemical structure of waters in the Northern Weddell Sea in Austral summer 2020 // *Antarctic Peninsula region of the southern ocean*. Springer, 2021. P. 159–174.
  32. Strasser R.J., Alaka Srivastava, Tsimilli-Michael M. The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples // *Probing photosynthesis: mechanisms, regulation and adaptation*. 2000. P. 445–483.
  33. Suggett D.J., Prášil O., Borowitzka M.A. *Chlorophyll a Fluorescence in aquatic sciences: methods and applications*. Springer, 2010. 323 p.

## Concentration and Fluorescence of Chlorophyll *a* in the Atlantic Sector of Antarctic

N. A. Moiseeva<sup>a, #</sup>, T. Ya. Churilova<sup>a</sup>, T. V. Efimova<sup>a</sup>, E. Yu. Skorokhod<sup>a</sup>,  
V. A. Artemiev<sup>b</sup>, A. V. Iushmanova<sup>b</sup>

<sup>a</sup>*A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS, Sevastopol, Russia*

<sup>b</sup>*Shirshov Institute of Oceanology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

<sup>#</sup>*e-mail: moiseeva@ibss-ras.ru*

The studies were carried out in cruise 79 of the R/V *Akademik Mstislav Keldysh*. The variability of the chlorophyll *a* specific light absorption coefficient of phytoplankton and the coefficient of correlation between the fluorescence intensity and chlorophyll *a* concentration at various optical depths under basic lighting conditions and after dark adaptation was studied. It is shown that in the absence of water stratification, there is no vertical variability in the chlorophyll *a* specific light absorption coefficient of phytoplankton. It was found that when measuring the intensity of chlorophyll *a* fluorescence with a submersible sensor, without preliminary dark adaptation, a decrease in the fluorescence intensity signal in the upper layer of water is observed, which is associated with the effect of illumination on the fluorescence quantum yield.

**Keywords:** chlorophyll *a*, fluorescence, submersible sensor, light absorption by phytoplankton pigments, Antarctica