

СЕЗОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА ВОДОЕМОВ ЗВЕНИГОРОДСКОЙ СТАНЦИИ МОСКОВСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА ИМЕНИ М.В. ЛОМОНОСОВА

© 2020 г. Д.Н. Маторин, Н.П. Тимофеев, Д.А. Тодоренко, Л.Б. Братковская, С.Н. Горячев

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

E-mail: matorin@biophys.msu.ru

Поступила в редакцию 19.11.2019 г.

После доработки 19.11.2019 г.

Принята к публикации 28.11.2019 г.

С использованием флуоресценции хлорофилла изучены сезонные изменения фотосинтетических процессов фитопланктона трех водоемов Звенигородской биологической станции МГУ (МГУ ЗБС). Показано, что в Ольгином и Пожарном прудах, где обнаружено высокое обилие фитопланктона, высокая фотосинтетическая активность наблюдалась в летние месяцы. Высокая фотосинтетическая активность водорослей проявлялась в высоких показателях таких параметров, как эффективность электронного транспорта (Φ_{E0}) и индекс производительности фотосистемы II (PI_{ABS}). При высокой фотосинтетической активности фитопланктона в этих водоемах наблюдались низкие показатели нефотохимического тушения (NPQ). В Стерляжем пруду в летний период у фитопланктона эффективность электронного транспорта (Φ_{E0}) была снижена. Показана зависимость функционирования световых реакций от сезонного изменения гидрохимического состава воды и изменения видового состава фитопланктона в исследуемых водоемах. Предлагается использовать параметры индукции флуоресценции (PI_{ABS} и Φ_{E0}) в качестве индикаторов состояния водорослей в водной среде.

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

DOI: 10.31857/S0006302920010167

Фитопланктон является первичным звеном трофической цепи и определяет состояние и продуктивность водных экосистем [1]. При воздействии различных экологических факторов, в том числе антропогенных загрязнений, в первую очередь изменяются такие характеристики, как обилие и фотосинтетическая активность водорослей [1, 2]. Изменения на первичном трофическом уровне приводят к изменениям в остальных звеньях водной экосистемы. Поэтому регистрация характеристик фитопланктона является одним из способов оценки состояния водной среды в целом.

Фотосинтетическая активность фитопланктона зависит от световых условий, температуры, а также от обеспеченности биогенными элементами, такими как азот и фосфор. Освещенность и концентрация биогенных элементов в природных водах подвержены значительным сезонным

колебаниям и варьируют в широких пределах. Содержание биогенных элементов зависит от соотношения интенсивности процессов фотосинтеза и биохимического окисления органических веществ. За периодами высокого содержания в среде биогенных элементов следует снижение их концентрации в результате их потребления фитопланктоном, тогда как после фазы обеспеченного минеральными веществами активного роста водорослей наблюдается снижение их роста и фотосинтетической активности [1].

Флуоресценция хлорофилла в настоящее время активно применяется при проведении различных гидробиологических и океанологических работ [1–8]. Флуоресцентный метод используется для оценки концентрации хлорофилла у интактных водорослей, а также в экстрагированных из них растворах пигментов [3, 4, 6, 7]. На основе флуоресценции хлорофилла на кафедре биофизики биологического факультета МГУ разработана «Методика измерений обилия и индикации изменения состояния фитопланктона в природных водах флуоресцентным методом»

Сокращения: ФС II – фотосистема II, ЗБС МГУ – Звенигородская биологическая станция имени С.Н. Скадовского МГУ имени М.В. Ломоносова, Q_A – первичный хинонный акцептор электрона.

(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 начальной флуоресценции (F_0) рекомендуется для оценки биомассы и скорости роста водорослей, а отношение переменной флуоресценции к максимальной (F_V/F_M) для оценки квантового выхода фотосинтеза, который является мерой физиологической активности водорослей.

В последнее время для оценки работы фотосинтетического аппарата высших растений и культур водорослей стали использовать регистрацию световых кривых фотохимического и нефотохимического тушения флуоресценции, которые проводят на флуориметрах с импульсно-амплитудной модуляцией (РАМ – Pulse-Amplitude Modulation) [9–11]. Измерения световых зависимостей проводятся при последовательном увеличении интенсивности света. Помимо РАМ-флуориметрии также активно развиваются методы измерения индукционных кривых флуоресценции с высоким временным разрешением (от 20 мкс) при возбуждении интенсивным светом на приборах типа РЕА (Plant Efficiency Analyzer) [12–14].

Пруды Звенигородской биологической станции имени С.Н. Скадовского МГУ имени М.В. Ломоносова (ЗБС МГУ) входят в охраняемую зону и являются объектами многолетних исследований и местом проведения учебных практик студентов МГУ. Ранее мы исследовали многолетние изменения функционирования фотосинтетических процессов клеток летнего фитопланктона в этих прудах [15]. Настоящая работа посвящена изучению сезонных изменений световых и индукционных зависимостей параметров флуоресценции фитопланктона в водоемах ЗБС МГУ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на трех водоемах ЗБС МГУ с мая по ноябрь 2017 г. Пробы фитопланктона отбирали из прибрежных поверхностных вод из Стерляжьего (находится между «верхними» и «нижними» дачами) и Пожарного прудов, расположенного рядом со студенческими общежитиями, а также в Костином пруду, расположенном на месте старой каменоломни.

Пробы помещали в темные пластмассовые емкости объемом 2 л. В них измеряли температуру, гидрохимические параметры воды, видовой состав фитопланктона, концентрацию пигментов, а также параметры флуоресценции хлорофилла. Гидрохимический анализ воды проводили по стандартным общепринятым методикам [16].

Концентрацию хлорофилла определяли прямым спектрофотометрическим методом в ацетоновых экстрактах на спектрофотометре на базе пор-

тативного спектрометра USB 2000 (Ocean Optics, Inc., США).

Перед проведением регистрации флуоресцентных характеристик все исследуемые образцы выдерживали в темноте в течение 20 мин для окисления переносчиков в фотосинтетической электрон-транспортной цепи, в том числе для перехода первичного хинонного акцептора электрона (Q_A^-) в окисленное состояние.

Регистрацию световых кривых фотохимического и нефотохимического тушения флуоресценции выполняли на флуориметре Water-PAM (Walz, Effelrich, Германия). Световые зависимости измеряли при последовательном увеличении интенсивности от 0 до 1600 мкмоль квантов \cdot м⁻² с⁻¹. Для регистрации начальной флуоресценции (F_0) использовали слабый измерительный свет, не вызывающий фотохимических процессов. В конце каждого сеанса освещения с использованием насыщающей вспышки света (0,8 с, 3000 мкмоль квантов \cdot м⁻² с⁻¹) регистрировали параметры максимальной флуоресценции (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 ФС II на свету; $NPQ = (F_M - F_M')/F_M'$ – нефотохимическое тушение флуоресценции. Относительную скорость нециклического транспорта электронов рассчитывали по формуле [8]: $rETR = Yield \times E_i \times 0,5$, где E_i – освещенность (мкмоль квантов \cdot м⁻² с⁻¹).

Из световой кривой ($rETR$) рассчитывали: максимальную относительную скорость электронов по электрон-транспортной цепи (ETR_{max}) [8–11]. Обозначения и определения фотосинтетических параметров представлены в соответствии с общепринятой номенклатурой [9].

Индукционные кривые флуоресценции хлорофилла с высоким временным разрешением (начиная с 0.05 мс) регистрировали на импульсном портативном флуориметре Aquapen-C 100 (Photon System Instruments, Чехия). Индукционные кривые флуоресценции хлорофилла a инициировали синим светом ($\lambda = 450$ нм) интенсивностью 3000 мкмоль квантов \cdot м⁻² с⁻¹.

Для количественного анализа характеристик первичных процессов фотосинтеза из индукционных кривых рассчитывали параметры флуоресценции с помощью стандартного JIP-теста [17]. Этот тест использует следующие характеристики кинетической кривой индукции флуоресценции: интенсивности флуоресценции при 50 мкс (F_0), 2 мс (F_J), 30 мс (F_I), 6 с (F_{6s}), а также F_M (макси-

Содержание аммония, нитратов, нитритов и фосфатов в пробах воды из водоемов ЗБС МГУ с мая по октябрь в 2017 году

NH ₄ ⁺ , мг/л				
Водоем	Июнь	Июль	Сентябрь	Октябрь
Стерляжий	3	1.6	1	1.4
Пожарный	80	72	100	56
Костин	3.6	2.4	4	1.6
NO ₃ ⁻ , мг/л				
Стерляжий	1	2	10	0
Пожарный	2.5	2.3	25	23
Костин	2	2.5	17	15
NO ₂ ⁻ , мг/л				
Стерляжий	0.05	0.05	0	0.01
Пожарный	0.15	0.05	0	0.07
Костин	0.10	0.40	0	0.20
PO ₄ ⁺ , мг/л				
Стерляжий	0.125	0.05	0.05	0.05
Пожарный	5.00	0.18	0.20	5.00
Костин	0.075	0.03	0.30	0.45

мальная интенсивность флуоресценции), а также усредненную величину в мс⁻¹ начального наклона относительной переменной флуоресценции хлорофилла *a* (M_0). Эти величины затем использовали для расчета следующих параметров:

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

– 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 $V_J = (F_J - F_O)/(F_M - F_O)$;

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

– ABS/RC – поток энергии, поглощаемый одним активным реакционным центром, характеризует относительный размер антенны:

$$ABS/RC = (TR_0/RC)/(TR_0/ABS) = M_0/V_J(1/\Phi_{P_0}) = (M_0/V_J)/[(F_M - F_O)/F_M];$$

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

Для анализа и обработки полученных данных использовали пакет программ Microsoft Excel 2013 (Microsoft Corporation, США) и Statistica v.6 (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 контрольных и опытных образцов составлял не менее десяти повторностей.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Гидрохимические показатели воды. Содержание биогенных элементов в исследуемых прудах было подвержено заметным сезонным колебани-

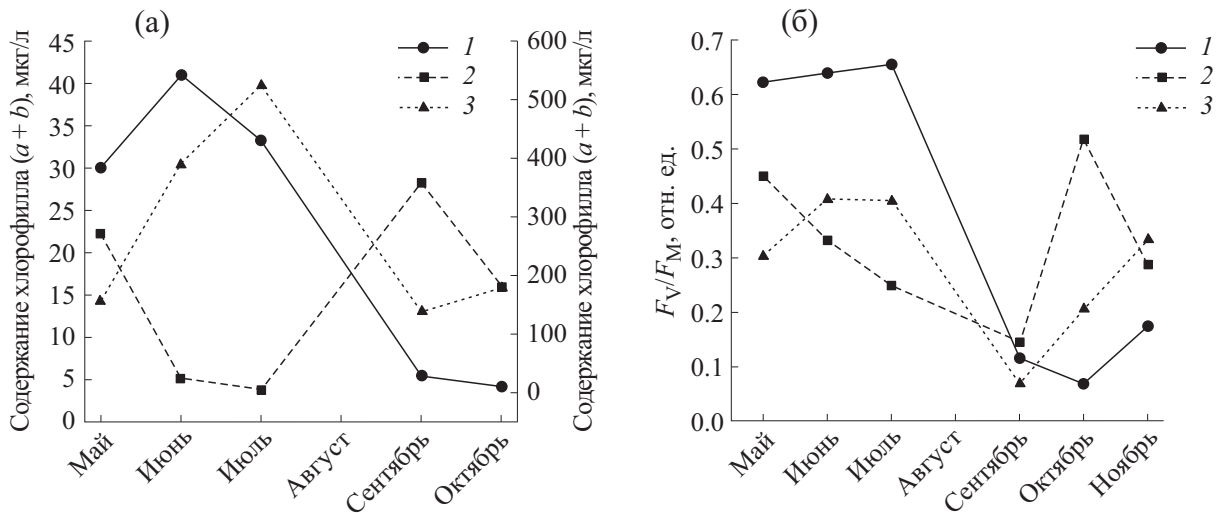


Рис. 1. Изменение содержания хлорофилла *a* (а) и значения максимального квантового выхода ФС II (F_V/F_M) (б) фитопланктона в водоемах ЗБС МГУ с мая по октябрь 2017 г.: 1, 2, 3 – пробы из Пожарного, Стерляжьего и Костиного прудов соответственно. На рисунке (а) слева приведена ось содержания хлорофилла в Стерляжьем и Костином прудах, справа – в Пожарном пруду.

ям и значительно различалось между водоемами (таблица). Как видно из таблицы, наибольшее содержание биогенных элементов наблюдались в Пожарном пруду в течение всего периода исследований с июня по октябрь.

Содержание аммонийного азота было наибольшим в начале лета во всех водоемах. Максимальные концентрации аммонийного азота отмечены в Пожарном пруду с июня по октябрь с максимумом в сентябре – 100 мг/л. Такие высокие показатели аммонийного азота в Пожарном пруду свидетельствуют о процессах сильной эвтрофикации поверхностных вод водоема вследствие загрязнения водоема сточными водами. Низкое содержание аммонийного азота наблюдалось в Стерляжьем пруду.

Наименьшая концентрация нитратного азота отмечалась в летний сезон, что было связано с ассимиляцией нитрата фитопланктоном. Так, концентрация нитратов в летние месяцы во всех прудах не превышала 2.5 мг/л. В осенний период содержание нитратов в воде увеличивалось в пятьдесят раз по сравнению с летним периодом.

Содержание нитритов в воде обусловлено процессами нитрификации, в результате чего происходит превращение связанных форм азота в нитраты. Минимальное содержание нитритов в исследуемых водоемах отмечалось в сентябре. Высокое содержание нитритов отмечалось в летний период во всех исследуемых водоемах.

Содержание фосфатов было минимальным в июле, что связано с повышением температуры воды и развитием продукционных процессов. К

осени наблюдалось увеличение минеральных форм фосфатов в результате деструкции органического вещества. Так, в Пожарном и Костином прудах осенью наблюдалось повышение концентрации фосфатов больше, чем в десять раз по сравнению с летним периодом от 0.18 и 0.03 мг/л в июле до 5.0 и 0.45 мг/л в октябре соответственно.

Сезонная динамика фитопланктонного сообщества и его фотосинтетической активности. В каждом исследованном водоеме ЗБС МГУ наблюдали разную смену доминирующих групп водорослей и разную динамику их фотосинтетической активности.

В Пожарном пруду в условиях повышенной концентрации биогенных элементов наблюдалось «гиперцветение» водоросли *Chlorella vulgaris*, составляющей практически 100% от общей численности (максимальная численность отмечена в мае – $4.9 \cdot 10^{10}$ кл/л). Концентрация хлорофилла в июне достигла достаточно высоких значений (рис. 1а). Высокая численность фитопланктона сопровождалась высокими значениями квантового выхода флуоресценции F_V/F_M в период с мая по июль – до 0.7 (рис. 1б). К сентябрю сообщество с доминированием хлореллы сменилось на сообщество с доминированием цианобактерий. Их фотосинтетическая активность была очень низкой – до 0.2 по параметру F_V/F_M .

В Костином пруду в период с мая по сентябрь доминировали цианобактерии рода *Microcystis* (от 86 до 97% от общей численности). В октябре их

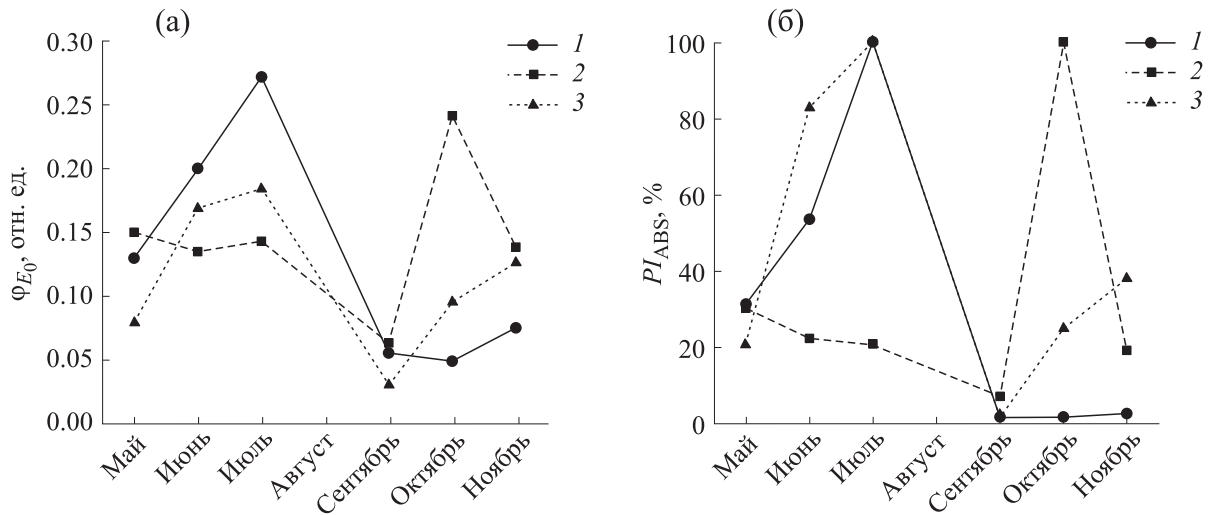


Рис. 2. Изменение параметров JIP-теста (ϕ_{E_0} – квантовый выход переноса электронов далее Q_A^- ; PI_{ABS} – совокупный индекс производительности ФС II) фитопланктона в водоемах ЗБС МГУ с мая по октябрь 2017 г.: 1, 2, 3 – из Пожарного, Стерляжьего и Костиного прудов соответственно.

сменяли охрофитовые (преимущественно золотистая водоросль *Kephyrion amphorula*) и зеленые водоросли в соотношении 47 и 50% соответственно. Максимальный квантовый выход флуоресценции выявлен в июне–июле со значением $F_V/F_M = 0.4$. В сентябре наблюдался сильный спад фотосинтетической активности, после которого активность вновь повышалась до 0.33 к осеннему периоду.

В Стерляжем пруду, в отличие от Пожарного и Костиного прудов, пики фотосинтетической активности приходились на май и октябрь со значениями $F_V/F_M = 0.45$ и 0.52 соответственно.

В летний период в Стерляжем пруду наблюдалось уменьшение фотосинтетической активности (рис. 16). Наибольшие концентрации хлорофилла наблюдались в мае (33.5 мкг/л) и сентябре (39.6 мкг/л) (рис. 1а). В условиях пониженной концентрации минеральных веществ к середине лета происходила смена сообществ фитопланктона с охрофитовых и зеленых водорослей на сообщество, состоящее в основном из миксотрофных представителей отдела эвгленовых. Осенний пик активности сопровождался доминированием динофитовых водорослей.

Параметры индукционных и световых кривых флуоресценции фитопланктона. Для более подробного анализа функционального состояния фотосинтетического аппарата были проанализированы параметры индукции флуоресценции, характеризующие состояние переносчиков между двумя фотосистемами [17]. Среди параметров флуоресценции, полученных из индукционных кривых с помощью JIP-теста, нами были выбра-

ны следующие параметры: ϕ_{E_0} , характеризующий перенос электронов за пределы Q_A^- ; ABS/RC , характеризующий количество световой энергии, поглощенной одним реакционным центром (RC); а также PI_{ABS} – совокупный индекс производительности ФС II, зависящий от параметров F_V/F_M , ϕ_{E_0} и ABS/RC .

Одним из наиболее чувствительных параметров по отношению к стрессу является индекс производительности ФС II (PI_{ABS}) [18]. Было выявлено, что по параметру PI_{ABS} в Стерляжем пруду пик фотосинтетической активности приходился на октябрь, а в Пожарном и Костином – в июле (рис. 26). Поскольку при расчете параметра PI_{ABS} используется ряд других параметров (F_V/F_M , ϕ_{E_0} и ABS/RC), то можно проследить, какие именно из этих трех параметров вносят наибольший вклад в изменение PI_{ABS} . Так, июльский максимум в Пожарном и Костином прудах обусловлен повышением эффективности переноса электронов дальше ФС II (ϕ_{E_0}) (рис. 2а). Так, ϕ_{E_0} увеличивался с мая по июль от 0.13 до 0.27 и от 0.08 до 0.18 в Пожарном и Костином прудах соответственно, в то время как значения F_V/F_M достигали максимального значения, особенно в Пожарном пруду. Эти результаты согласуются с увеличением скорости нециклического электронного транспорта ($rETR_{max}$) в период с мая по июль в этих двух прудах (рис. 3а). Полученные данные мы связываем с увеличением активности темновых реакций фотосинтеза [19, 20].

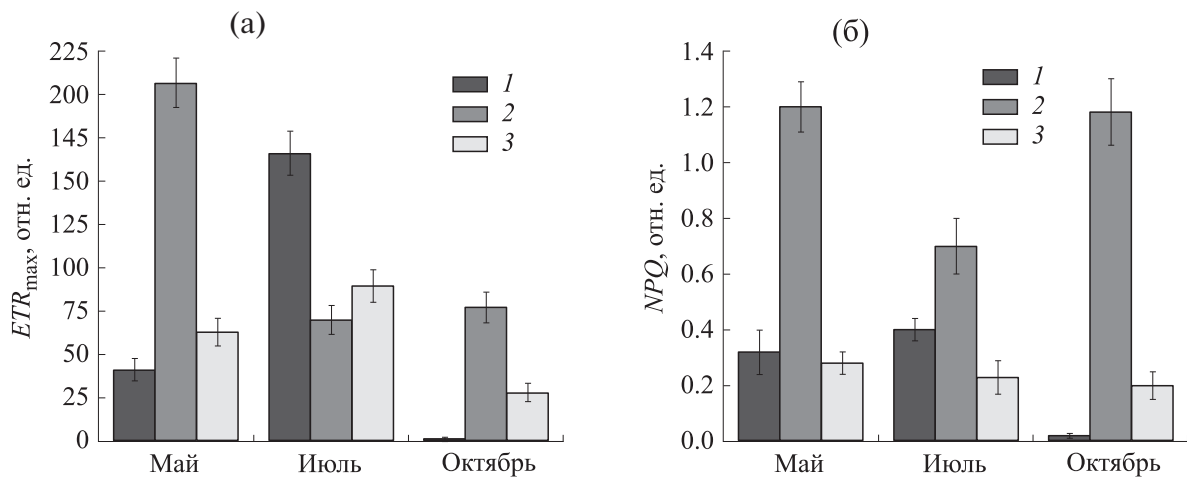


Рис. 3. Изменение максимальной относительной скорости транспорта электронов (ETR_{max}) (а) и уровня нефотохимического тушения (NPQ) при освещенности $1600 \text{ мкмоль квантов} \times \text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$ (б) фитопланктона в водоемах ЗБС МГУ с мая по октябрь 2017 г.: 1, 2, 3 – из Пожарного, Стерляжьего и Костиного прудов соответственно.

В Костином пруду рост PI_{ABS} наблюдался осенью, который был обусловлен значительным изменением всех трех параметров, входящих в состав PI_{ABS} . Так, увеличивался квантовый выход разделения зарядов и переноса электронов далее ФС II, а также существенно уменьшалось значение ABS/RC . Параметр ABS/RC снижался от 35.4 (в сентябре) до 8.9 (в ноябре), что связано с уменьшением среднего размера антенны, а также с увеличением количества активных реакционных центров.

В Стерляжьем пруду летом наблюдалось уменьшение количества активных реакционных центров ФС II. Об этом свидетельствует возрастание параметра ABS/RC от 7.3 до 13.4 и уменьшение максимального квантового выхода (F_V/F_M). В то же время квантовый выход переноса электронов (Φ_{E_0}) остался постоянным в период с мая по июль со значением около 0.15.

Световые кривые флуоресценции были получены при исследовании реакции фитопланктона на возрастающую световую нагрузку. Из световых кривых флуоресценции рассчитывались максимальная скорость нециклического электронного транспорта ($rETR_{max}$) и параметр нефотохимического тушения (NPQ) (рис. 3).

В Пожарном и Костином прудах максимальные значения $rETR_{max}$ приходились на июль, тогда как в Стерляжьем пруду – на май. Минимальные значения $rETR_{max}$ наблюдались в Пожарном и Костином прудах в октябре, а в Стерляжьем пруду – в июле (рис. 3а).

Наибольшие значения NPQ во все сезоны наблюдались в Стерляжьем пруду. В Пожарном пруду обнаружено небольшое увеличение NPQ в июле, а в октябре уровень NPQ , как и $rETR_{max}$, снижался практически до нуля. Фитопланктон из Костиного пруда отличался самыми низкими значениями NPQ (рис. 3б).

В целом полученные значения нециклического электронного транспорта соответствовали наблюдаемому пику квантового выхода разделения зарядов в ФС II (F_V/F_M), а также зависели от видового состава фитопланктона. Так, в Стерляжьем пруду повышалась фотосинтетическая активность в октябре по сравнению с июлем, но видовой состав оставался примерно таким же. Кроме того, существенного повышения ETR_{max} не наблюдалось. С другой стороны, в Пожарном пруду в мае и июле доминировала хлорелла, а скорость электронного транспорта возрастала в четыре раза. Это, возможно, связано с активацией темновых реакций цикла Кальвина–Бенсона в более теплый летний период [19, 20].

Измерение параметра нефотохимического тушения (NPQ) позволяет объяснить наблюдаемые пики фотосинтетической активности в прудах. Как видно из рис. 3б, у фитопланктона в Стерляжьем пруду наблюдали самые высокие значения NPQ во все исследуемые сезоны. Известно, что недостаток минеральных веществ приводит к увеличению чувствительности к световым нагрузкам. Из-за недостатка биогенных элементов водоросли снижают эффективность репарации белка второй фотосистемы D1, который разрушается под действием высокой интенсивности света, что приводит к увеличению квантового выхо-

да нефотохимического тушения (NPQ). Возможно, это является причиной того, что в Стерляжьем пруду, в период наибольшей световой нагрузки, к середине лета начинают развиваться эвгленовые водоросли, способные переходить на гетеротрофный тип питания. В Костином и Пожарном прудах, где содержание биогенных элементов было относительно высоким в летний период, значения NPQ были ниже 0.4.

Изучение процессов фотоингибирования фотосинтеза фитопланктона. Ранее в работе [15] было показано, что в 2017 г. пики фотосинтетической активности в двух прудах (Костином и Пожарном) приходились на июль. В связи с этим нами было проведено исследование восстановления фотосинтетического аппарата фитопланктона по параметру F_V/F_M после фотоингибирования в течение часа светом с интенсивностью $3000 \text{ мкмоль квантов} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$.

Известно, что высокие интенсивности света приводят к ингибированию фотосинтетических процессов у природного фитопланктона [1]. Данное явление в природных условиях называется полуденной депрессией или фотоингибированием фотосинтеза. Скорость восстановления фотосинтетической активности после фотоингибирования зависит от скорости репарации белка D1 комплекса ФС II [21].

У фитопланктона в Стерляжьем пруду значения F_V/F_M не восстанавливались после длительного фотоингибирования. Сразу после выключения освещения показатель F_V/F_M составил 41% от исходного значения, через час после выключения – 48%. У фитопланктона в Пожарном пруду F_V/F_M восстанавливался с 49.1% до 81.8% от исходного значения. В Костином пруду фитопланктон практически не подвергался фотоингибированию. После выключения освещения квантовый выход фитопланктона из данного пруда уже составлял 82%; в течение часа он восстанавливался до 88%.

Полученные различия в восстановлении квантового выхода фотохимии ФС II после фотоингибирования были обусловлены тем, что в Пожарном и Костином прудах фитопланктон в июле находится на пике своей фотосинтетической активности – в отличие от фитопланктона из Стерляжьего пруда, который находится в состоянии летней депрессии (рис. 2б). Кроме того, фитопланктон из Стерляжьего пруда отличался высокими значениями NPQ (рис. 3б), что свидетельствует о его высокой чувствительности к световой нагрузке.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение современных биофизических подходов (световых и индукционных кривых

флуоресценции хлорофилла) позволили выявить изменения особенностей функционирования световых стадий, протекающих в фотосинтетическом аппарате фитопланктона в водоемах ЗБС МГУ в разные сезоны. Результаты работы показали, что по параметрам флуоресценции хлорофилла можно определить сезонные пики активности природного фитопланктона. Было показано, что сезонные изменения активности фотосинтетического аппарата фитопланктона зависят от обеспеченности биогенными элементами и видового состава.

В Стерляжьем пруду основными доминирующими группами были представители отделов охрофитовых и динофитовых водорослей, у которых дополнительным пигментом вместо хлорофилла b является хлорофилл c . Ранее показано, что фотосинтезирующие организмы, у которых отсутствует хлорофилл b , более чувствительны к высоким интенсивностям света [22]. В связи с этим пики фотосинтетической активности у фитопланктона этого пруда наблюдались весной и осенью, когда освещенность была не такой высокой как летом. Тем не менее параметр нефотохимического тушения (NPQ) оставался высоким во все сезоны. В середине лета в период наибольшей освещенности возрастает потребность в минеральном питании и повышается чувствительность ФС II к фотоингибированию. Это проявилось в эксперименте по искусственному фотоингибированию фотосинтетической активности фитопланктона. Фитопланктон из Стерляжьего пруда не восстановился после интенсивного освещения в течение часа, что связано с замедлением скорости синтеза белка D1 комплекса ФС II вследствие недостатка биогенных веществ.

Зависимость обилия фитопланктона от концентрации биогенных веществ наиболее ярко прослеживалась на примере Пожарного пруда. В условиях высокой эвтрофикации в весенне-летний период 2017 г. в этом пруду нами обнаружено цветение монокультуры *Chlorella vulgaris* с очень высокой активностью ФС II, определенной по параметрам F_V/F_M , PI_{ABS} и Φ_{E_0} . Следует отметить, что ранее Пожарный пруд характеризовался низкой концентрацией фитопланктона и низким квантовым выходом фотохимии ФС II (F_V/F_M) [15]. Активность фитопланктона в Пожарном пруду в 2017 г. достигла максимума в июле с последующим уменьшением в осенний период.

В Костином пруду с мая по сентябрь доминировали представители отдела цианобактерий *Microcystis spp.*, которые характеризовались низкими значениями NPQ во все сезоны.

Результаты анализа параметров флуоресценции JIP-теста позволили выявить особенности функционирования фотосинтетического аппарата фитопланктона исследуемых водоемов. Во-первых, с помощью совокупного индекса производительности ФС II (PI_{ABS}) были выявлены пики активности ФС II, которые наблюдались в Пожарном и Костином прудах в июле, а в Стерляжьем пруду в октябре. Во-вторых, было выявлено, что наблюдаемый пик активности в июле обусловлен увеличением квантового выхода переноса электронов далее Q_A^- (ϕ_{E_0}). Кроме того, в этих прудах мы также наблюдали увеличение максимальной скорости нециклического электронного транспорта (ETR_{max}) в июле.

Понижение производительности ФС II (PI_{ABS}) в Стерляжьем пруду было обусловлено понижением квантового выхода разделения зарядов (F_V/F_M) и увеличением доли поглощенной энергии на один реакционный центр (ABS/RC), тогда как значения ϕ_{E_0} с мая по июль оставались неизменными. Во всех прудах отмечали обратную зависимость между долей энергии, диссипированной в тепло (NPQ), и фотосинтетической активностью.

Анализ данных по сезонной динамике природного фитопланктона показал, что состояние фитопланктона подвержено значительным сезонным колебаниям, а флуоресцентные методы могут быть использованы для получения оперативной информации о состоянии природного фитопланктона.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность директору ЗБС МГУ В.М. Гаврилову за помощь в организации исследований и Н.А. Шидловской за измерение гидрохимического состава воды.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов 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 and 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. S. A. Mosharov, V. M. Sergeeva, A. F. Sazhin, et al., *Estuar. Coast. Shelf. S.* **218**, 59 (2019).
9. U. Schreiber, in *Chlorophyll a fluorescence: A signature of Photosynthesis*, Ed. by G. Papageorgiou and Govindjee (Springer, Dordrecht, The Netherlands, 2004), pp. 279–319.
10. P. J. Ralph and R. Gademann, *Aquat. Bot.* **82**, 222 (2005).
11. J. Serodio, S. Vieira, S. Cruz, and F. Barroso, *Mar. Biol.* **146**, 903 (2005).
12. В. Н. Гольцев и др., *Переменная и замедленная флуоресценция хлорофилла а – теоретические основы и практическое приложение в исследовании растений* (ИКИ-РХД, Ижевск, 2014).
13. R. J. Strasser, M. Tsimilli-Michael, S. Qiang, and V. Goltsev, *Biochim. Biophys. Acta* **1797** (6–7), 1313 (2010).
14. D. Lazar and G. Schansker, in *Photosynthesis in Silico*, Ed. by A. Laisk, L. Nedbal and Govindjee (Springer, Dordrecht, 2009), pp. 85–123.
15. Д. Н. Маторин, Н. П. Тимофеев, М. Л. Синдаловская и др., *Биофизика* **64** (6), 1057 (2019).
16. Н. С. Строганов и Н. С. Бузинова, *Практическое руководство по гидрохимии* (МГУ, М., 1980).
17. R. J. Strasser, M. Tsimilli-Michael, and A. Srivastava, in *Chlorophyll a fluorescence: A signature of Photosynthesis*, Ed. by G. Papageorgiou and Govindjee (Springer, Dordrecht, The Netherlands, 2004), pp. 321–362.
18. M. Zivcak, M. Brestic, K. Olsovska, et al., *Plant Soil. Environ.* **54** (4), 133 (2008).
19. J. A. Raven and R. J. Geider, *Wiley Online Library* **110** (4) (1988).
20. I. R. Davison, *Wiley Online Library* **27** (1) (1991).
21. E. Tuystjärvi, *Coordination Chem. Rev.* **252** (3–4), 361 (2008).
22. Z.-F. Lin, G.-Z. Lin, and C.-L. Peng, *Photosynthetica* **47** (1), 46 (2009).

Seasonal Changes of Chlorophyll Fluorescence in Reservoirs of the Zvenigorod Station of Lomonosov Moscow State University

Matorin D.N., Timofeev N.P., Todorenko D.A., Bratkovskaya L.B., Goryachev S.N.

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

The seasonal changes of the photosynthetic processes of phytoplankton in three reservoirs of the Zvenigorod Biological Station at Moscow State University (ZBS MSU) were studied by using chlorophyll fluorescence. It was shown that high photosynthetic activity was observed in Olgin and Pozharny reservoirs (where a high abundance of phytoplankton was found) in the summer months. The high photosynthetic activity of algae was manifested in high efficiency of electron transport (φ_{E_0}) and performance index of PSII (PI_{ABS}). At high photosynthetic activity of phytoplankton in these reservoirs, low rates of non-photochemical quenching (NPQ) were observed. Whereas, the efficiency of electron transport (φ_{E_0}) of phytoplankton in Sterlyazhy reservoir was reduced in summer. The dependence between light reactions of phytoplankton and seasonal changes of hydrochemical composition of water and species composition of phytoplankton in the studied reservoirs was shown. It is proposed to use the fluorescence parameters (PI_{ABS} and φ_{E_0}) as indicators of the state of phytoplankton in aquatic environments.

Keywords: phytoplankton, chlorophyll fluorescence, photosynthesis, ecology