

ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЙ МЕТОД ОЦЕНКИ ОБИЛИЯ ФИТОПЛАНКТОНА В ПРИРОДНЫХ ВОДОЕМАХ

Разработана «Методика измерений обилия и индикации изменения состояния фитопланктона в природных водах флуоресцентным методом». Методика (ФР.1.39.2011.11246, ПНД Ф 14.2.268-2012) аттестована для целей государственного экологического контроля. Она будет полезна практическим работниками в системах Министерства природных ресурсов и экологии РФ, Федерального агентства водных ресурсов и Федеральной службы по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды.

Введение

Состояние фитопланктонного сообщества является одним из важнейших показателей благополучия водной экосистемы. Количество водорослей обычно оценивают по содержанию в них хлорофилла *a* спектрофотометрическим методом в соответствии с ГОСТ 17.1.04.02-90 (ВОДА. Методика спектрофотометрического определения хлорофилла *a*). Более оперативным и чувствительным для решения этой задачи является измерение интенсивности флуоресценции водорослей в природной воде. Интенсивность флуоресценции при определенных режимах освещения (F_0) коррелирует с содержанием хлорофилла *a* [1-4]. В настоящее время флуоресценция активно используется в различных гидробиологических и океанологических работах для оценки содержания хлорофилла *a* [4, 5].

Результаты их обсуждения

Хлорофилл *a*, находящийся в фотосинтетических мембранах, испускает флуоресценцию и служит природным датчиком состояния клеток водорослей. Сложноорганизованная система фотосинтеза имеет светособирающий пигментный аппарат и электронтранспортную систему, включающую реакционные центры, в которых происходит

Д.Н. Маторин*,
доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник кафедры биофизики Биологического факультета, ФГОУ ВПО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

первичное преобразование солнечной энергии. Возбужденные светом молекулы хлорофилла передают энергию в реакционный центр, который играет роль ловушки энергии. Реакционный центр в возбужденном состоянии отдает электрон акцептору и далее протекают процессы, приводящие к образованию АТФ, восстановлению НАДФ и, в конечном счете, к синтезу органических веществ.

Небольшая часть возбужденных молекул хлорофилла растрчивает свою энергию путем излучения квантов флуоресценции. При малых интенсивностях возбуждающего света интенсивность флуоресценции хлорофилла соответствует величине F_0 , когда реакционные центры успевают перерабатывать свет и остаются активными. При этом потери энергии на флуоресценцию минимальны. По значениям интенсивности флуоресценции (F_0) определяют содержание хлорофилла *a* в пробах воды. Большие интенсивности света насыщают процессы фотосинтеза и приводят к росту флуоресценции до предельных значений F_m . Значение максимальной интенсивности флуоресценции F_m соответствует такому состоянию фотосинтетического аппарата, когда все переносчики электронов полностью восстановлены. При этом потери энергии на флуоресценцию достигают максимальной величины. Разница между F_m и F_0 называется переменной флуоресценцией F_v . Эта величина пропорциональна той части световой энергии, которая используется в фотосинтезе. Отношение интенсивностей переменной и максимальной флуоресценции (F_v/F_m) соответствует эффективности первичных процессов утилизации света в процессе фотосинтеза. Эффективность процессов фотосинтеза представляет собой безразмерную энергетическую характеристику фотосинтеза, аналогичную коэффициенту полезного действия и не зависящую от видовой специфики организма [3]. На этой основе на кафедре биофизики биологического факультета МГУ разработана и сертифицирована «Методика измерений обилия

* Адрес для корреспонденции: matorin@biophys.msu.ru

и индикации изменения состояния фитопланктона в природных водах флуоресцентным методом» (ФР.1.39.2011.11246, ПНД Ф 14.2.268-2012). Методика приведена в [5].

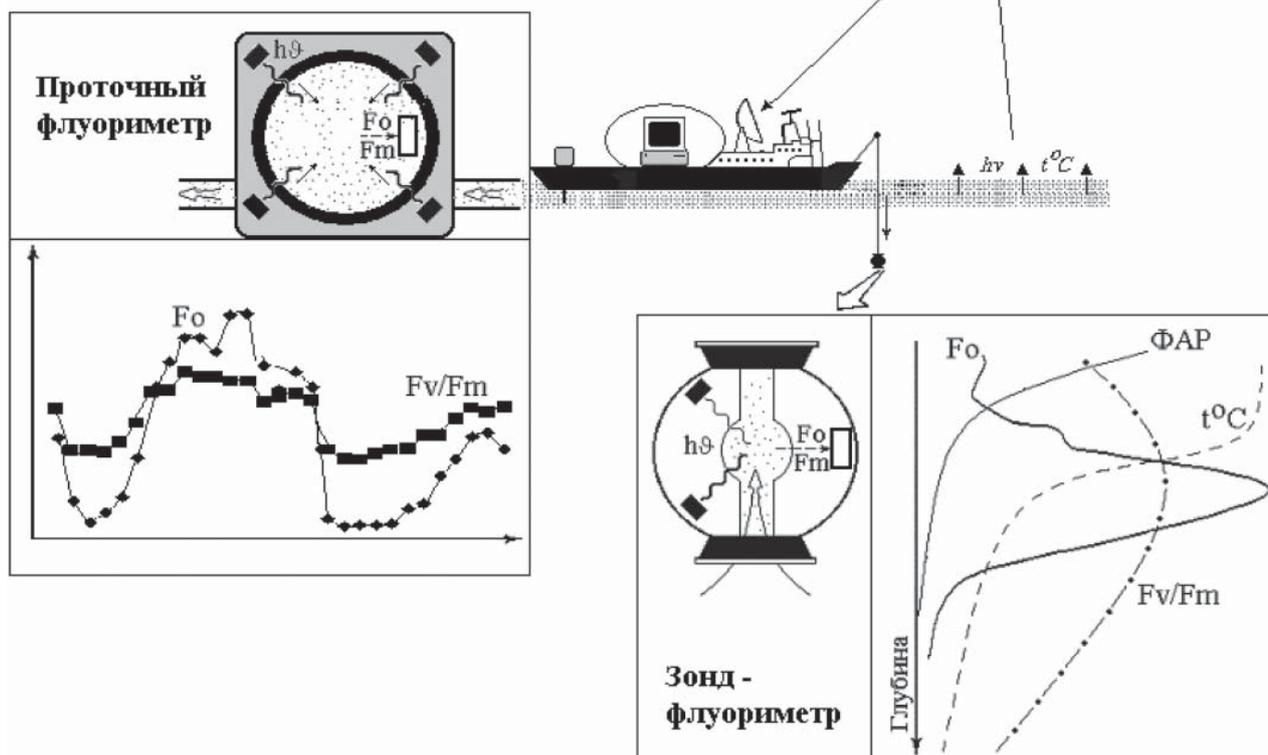
Документ устанавливает методику измерений массовой концентрации хлорофилла *a* и относительного выхода переменной флуоресценции (F_v/F_m) для индикации изменения физиологического состояния фитопланктона во внутренних водоемах, океанических и морских водах. Диапазон измерений массовой концентрации хлорофилла *a* от 0,10 до 50 мкг/л. Диапазон измерений относительного выхода переменной флуоресценции хлорофилла *a* F_v/F_m от 0,1 до 0,8.

Для измерения фотосинтетических параметров фитопланктона по данной методике на кафедре биофизики биологического факультета МГУ разработан комплекс портативных приборов, включающих сертифицированный флуориметр «МЕГА», погружной и проточный флуориметры (www.biophys.msu.ru/Fluorometer PrimProd) [1, 3, 6]. В настоящее время некоторыми фирмами выпускается

аппаратура для измерения флуоресценции фитопланктона в воде (фирмы Turner Designs (www.fluorometer.com), BBE Kiel (Германия) (www.bbe-moldaenke.de), Neil Broun (www.neilbroun.com) и некоторые другие).

Использование проточного или погружного флуориметров позволяет проводить измерения содержания хлорофилла фитопланктона вод по ходу судна или вести непрерывный контроль этого показателя в течение длительного времени с платформы. Получаемая информация может быть передана по любым телекоммуникационным каналам в удобной для пользователя форме (рис. 1). Важно отметить, что в настоящее время активно развивается космический мониторинг морей и океанов, но он получает информацию только с поверхности водоемов. Регистрируется температура или цветность моря. Однако важно определять, что происходит в толще воды под поверхностью. Единственными методами, позволяющими следить за фитопланктоном в режиме реального времени, является флуоресценция фитопланктона. С использованием разработанных флуориметров было проведено зондирование состояния водной среды в Черном, Средиземном, Норвежском и Южно-Китайском морях и озерах Байкал и Иссык-куль [1, 2, 7, 8].

Рис. 1. Схема зондирования природного фитопланктона с использованием проточной (А) и зондовой (Б) флуориметрии. А – схема проточного флуориметра и его регистрируемые параметры: F_0 (обилие фитопланктона, отн. ед.), F_v/F_m (фотосинтетическая активность), с параллельным снятием координат (JPS) и времени суток; Б – схема зондирования погружным флуориметром с регистрацией параметров флуоресценции F_0 , F_v/F_m , температуры (T °C), фотосинтетически активной радиации (ФАР). Внизу график регистрируемых параметров F_0 и F_v/F_m , проточным флуориметром по ходу судна.



Заключение

Предлагаемые в разработанной методике флуориметрические методы для определения содержания и состояния фитопланктона обладают экспрессностью и высокой чувствительностью, позволяют проводить измерения непосредственно в среде его обитания *in situ* в режиме реального времени. Оперативность измерений показателей флуоресценции имеет особое значение при изучении мезо-масштабных процессов в водных экосистемах. Аттестованная методика будет полезна практическим работникам в системах Министерства природных ресурсов и экологии РФ, Федерального агентства водных ресурсов и Федеральной службы по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды.

Автор благодарит коллективы Звенигородской и Беломорской станций МГУ, Российско-Вьетнамский центр РАН, ИО РАН и ИО ПАН (Польша), ИНБЮМ (Севастополь, Украина) за возможность проведения методологических экспедиционных работ, в том числе и в морских условиях.

Литература

1. Antal T.K. Measurement of phytoplankton photosynthesis rate using a pump-and-probe fluorometer / Antal T.K., Venediktov P.S., Matorin D.N., Ostrowska M., Wozniak B., Rubin A.B. // *Oceanologia*. 2001. V. 43. № 3. P. 291-313.
2. Matorin D.N. Chlorophyll fluorometry as a method for studying light absorption by photosynthetic pigments in marine algae / Matorin D.N., Antal T.K., Ostrowska M., Rubin

Ключевые слова:

фитопланктон,
флуоресценция
хлорофилла,
фотосинтез,
экология

- A.B., Ficek D. // *Oceanologia*. 2004. V. 46. № 4. P. 519-531.
3. Маторин Д.Н. Определение состояния растений и водорослей по флуоресценции хлорофилла / Д.Н. Маторин, В.А. Осипов, О.В. Яковлева, С.И. Погосян // Учебно-методическое пособие. М.: МГУ. Макс пресс. 2010. 117 с.
 4. Falkowski P.G. Aquatic photosynthesis / Falkowski P.G., Raven J.A. Malden: Blackwell Science, 1997. 375 p.
 5. Маторин Д.Н. Методика измерений обилия и индикации изменения состояния фитопланктона в природных водах флуоресцентным методом. Теоретические и практические аспекты / Д.Н. Маторин, В.А. Осипов, А.Б. Рубин // Учебно-методическое пособие. М.: Альтрекс. 2012. 131 с.
 6. Патент 2354958 РФ / Погосян С.И., Казимирко Ю.В., Маторин Д.Н., Ризниченко Г.Ю., Рубин А.Б. Способ флуориметрического определения параметров фотосинтеза фототрофных организмов, устройство для его осуществления и измерительная камера. Заявлено 13.09.2006. Опубликовано 10.05.2009. Бюл. №13 Приоритет 13.09.2006.
 7. Маторин Д.Н. Использование зависимостей параметров флуоресценции хлорофилла от освещенности для изучения фотосинтетической активности фитопланктона (на примере водоемов Звенигородской станции МГУ) / Д.Н. Маторин., В.А. Осипов О.В. Яковлева, С.Н. Горячев, А.Б. Рубин // *Вода: химия и экология*, 2011. № 4. С.44-49.
 8. Matorin D.N. Application of chlorophyll fluorescence in studied of phytoplankton in the Mediterranean Sea // Matorin D.N., Vuksanovich N., Rubin A.B., Venediktov P.S. // *Studia Marina*. 2002. V. 23. P. 79-86.

D.N. Matorin

A METHOD FOR FLUORESCENT MEASUREMENT OF THE ABUNDANCE AND INDICATION OF PHYTOPLANKTON STATE IN NATURAL WATER

A method for fluorescent measurement of the abundance and indication of phytoplankton state in natural waters was developed. The method is certified № 01.00225/205-66-11 and put into the Federal Register -FR.1.39.2011.11246. It will be useful to practitioners in the systems of Ministry of Natural Resources and Environment of the Russian Federation, Federal Agency for Water Resources and the Federal Service for Hydrometeorology and Environmental Monitoring.

Key words: phytoplankton, chlorophyll fluorescence, photosynthesis, ecology