

*И.В. Сысоева¹, канд. биол. наук, ст. науч. сотр., В.И. Василенко¹, вед. инж.,
А.А. Сысоев¹, мл. науч. сотр., В.Ф. Жук¹, науч. сотр., Ю.Н. Токарев¹, д-р биол. наук, зав. отд.,
Ю.Б. Белогурова¹, вед. инж.*

ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ МИКРОПЛАНКТОНА ПРИБРЕЖЬЯ КАРАДАГСКОГО ПРИРОДНОГО ЗАПОВЕДНИКА С ПОМОЩЬЮ БИОХИМИЧЕСКИХ И БИОФИЗИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ

На основе анализа интенсивности поля биолюминесценции, концентраций АТФ и хлорофилла «а» микропланктона, полученных в результате дневной и ночной съемок в сентябре 2012 г., описано распределение этих биофизических и биохимических показателей в поверхностных водах побережья Карадагского природного заповедника. По содержанию АТФ микропланктона исследуемые воды в осенний период можно оценить как мезотрофные. Наибольшие величины метаболически активной биомассы и потенциала первичной продукции отмечены в районах, прилегающих к Карадагской биологической станции, наименьшие – в прибрежной зоне, прилегающей к Коктебельской бухте. По данным съемок биолюминесценции в поверхностном слое пелагиали максимумы светоизлучения были приурочены к прибрежной зоне вблизи биологической станции, в то время как распределение метаболически активной биомассы и продукционного потенциала микропланктона было гораздо шире. Сопоставление данных вертикального распределения биолюминесценции и биохимических параметров микропланктона показало, что в формировании поля биолюминесценции доминирующую роль играли гетеротрофные организмы. Представлены наиболее вероятные причины выявленного распределения.

Ключевые слова: Чёрное море, фитопланктон, биолюминесценция, АТФ, хлорофилл «а».

Одной из главных задач в практике гидробиологических исследований является оценка состояния базового трофического звена – микропланктона, определяющего вектор развития биомассы морских сообществ. Состояние микропланктонного сообщества примыкающей к Карадагскому природному заповеднику (КаПриЗ) акватории находится под пристальным вниманием экологических и природоохранных организаций на протяжении многих лет.

Результаты изучения ряда гидробиологических, гидрологических и биохимических показателей данного региона приведены в некоторых предшествующих работах (Ломакин и др., 2011; Смирнова, 2009). Однако подобные исследования носят всё же фрагментарный характер и должны постоянно пополняться комплексом новых материалов, основанных на современных методах оценки экологической ситуации. В нашей работе были использованы биофизические и биохимические методы оценки экологического состояния микропланктонного сообщества данного региона.

Как известно, одной из главных негативных характеристик экологического состояния морской среды в настоящее время признана эвтрофикация вод, в том числе связанная с влиянием хозяйственных и бытовых сбросов. Поскольку, однако, в данном районе техногенные источники токсикантов практически отсутствуют, в наших исследованиях исключен токсикологический подход оценки качества вод и акцент исследований смещен исключительно сторону оценки и районирования трофности вод.

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт морских биологических исследований имени А.О. Ковалевского РАН», г. Севастополь, РФ.

Таким образом, целью данной работы являлась оценка биомассы и продукционной способности микропланктона примыкающей к КаПриЗ акватории на основании материалов биолюминесцентной съёмки, а также определение концентраций АТФ (показателя метаболически активной биомассы) и хлорофилла «а» (показателя потенциала первичной продукции) микропланктона данного региона.

Материалы и методы. Съёмки были проведены в середине сентября 2012 г. в течение одних суток во время дневной и ночной съёмок (рис. 1). Пробы микропланктона отбирали с поверхности и исследуемых горизонтов 6-литровым пластиковым батометром и обрабатывали на содержание АТФ и хлорофилла «а». В береговых условиях методом вакуумной фильтрации пробы осаждали на мембранные фильтры «Сарториус» диаметром 47 мм, с размером пор 0,45 мкм. Для определения АТФ фильтры с осажденными пробами сразу после фильтрации подвергали экстракции в кипящем трис-ацетатном буфере, после чего экстракты замораживали и хранили при -18°C до дальнейшей обработки. Для определения хлорофилла «а» фильтры с осажденными пробами высушивали в холодильнике при температуре $+5^{\circ}\text{C}$, затем хранили при -18°C до дальнейшей обработки. В лабораторных условиях анализ АТФ проводили хемилюминесцентным методом на приборе АТР Luminometer 1250, LKB, Швеция, анализ хлорофилла «а» – спектрофотометрическим методом на приборе Specol – 11 (Карл Цейс, ГДР). Всего собрано и обработано 16 проб микропланктона.

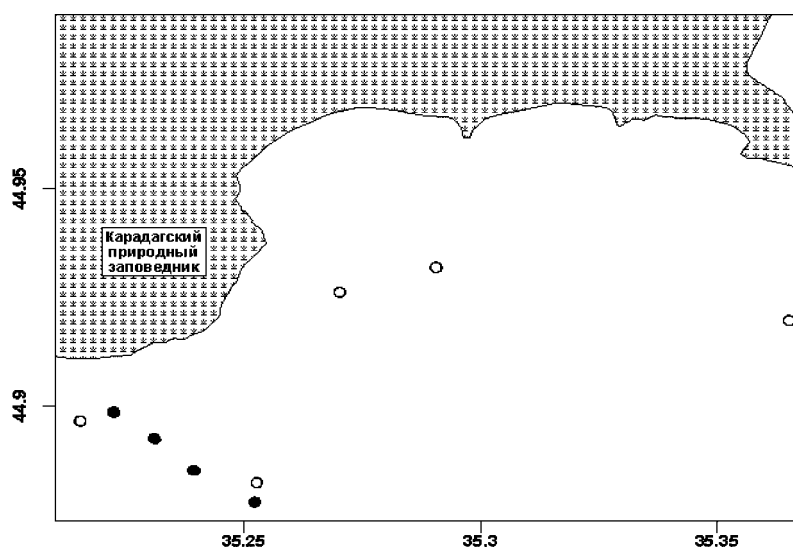


Рис. 1. Схема станций, выполненных в акватории Карадагской бухты в сентябре 2012 г.: белыми кружками обозначены дневные станции, черными – ночные

Интенсивность биолюминесценции регистрировали *in situ* при помощи зондирующего комплекса «Сальпа-М» [Токарев, 2006; Токарев и др., 2009]. В качестве физических параметров водной толщи в любое время суток на горизонте нахождения прибора исследуются солёность и температура, а также биооптические характеристики (биолюминесценция и мутность). В дневное время, кроме того, измеряется фотосинтетически активная радиация (ФАР).

Результаты и обсуждение. По полученным данным дневных съёмок для исследованной акватории концентрации АТФ микропланктона в поверхност-

ных водах в целом колебались от 62 до 100 нг•л⁻¹, что характерно для мезотрофных вод (Karl, 1980). Распределение АТФ микропланктона поверхностных вод во время дневной съемки показало обратную стратификацию метаболически активной биомассы от ординарной, характерной для ранних стадий продукционно-деструкционной сукцессии: отмечено нарастание биомассы от береговой линии к глубинным районам в северной части полигона (рис. 2). Минимальные значения зарегистрированы в районе побережья, граничащего с Коктебельской бухтой. С другой стороны, на юге полигона наблюдались высокие концентрации в прибрежном районе.

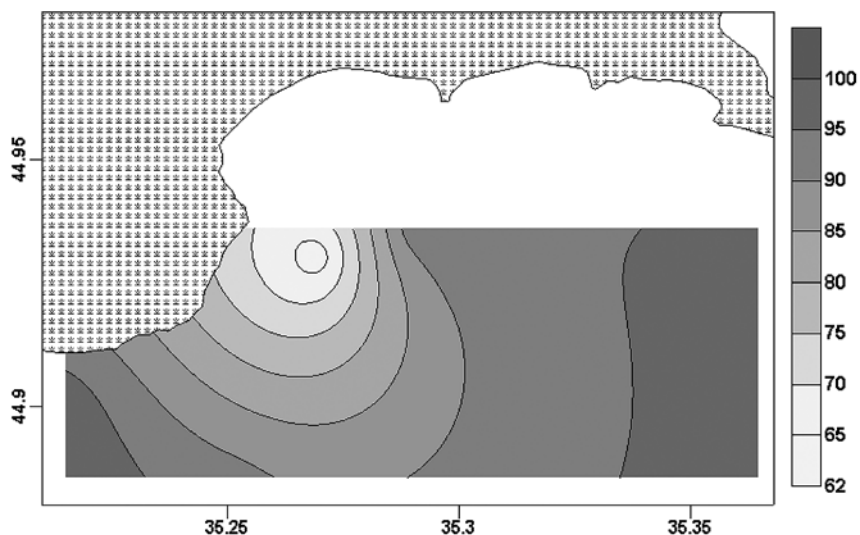


Рис. 2*. Распределение в сентябре 2012 г АТФ (нг•л⁻¹) микропланктона поверхностных вод, прилегающих к КапРиЗ (дневная съемка)

Подобная картина распределения отмечена и для хлорофилла «а» микропланктона поверхностных вод (рис. 3). Диапазон колебаний концентраций зеленого пигмента составлял 0,33 – 0,50 мкг•л⁻¹. Самые низкие концентрации зарегистрированы в районе, прилегающем к Коктебельской бухте. В целом, характер распределения представленных биохимических параметров микропланктона довольно хорошо согласуется с результатами работ по изучению загрязненности вод карадагского побережья (Токарев, 2006). Так, по мнению цитируемых авторов, наиболее сильное негативное влияние на экологическую ситуацию района оказывают бытовые стоки, расположенные в непосредственной близости от биологической станции. Низкие концентрации растворённой органики и общей взвеси в районе прибрежной части акватории, прилегающей к Коктебельской бухте, авторы связывают с подпиткой распресненными субмаринными водами (Токарев, 2006).

По данным биолюминесцентной съемки, в поверхностных водах обозначился слабый пик интенсивности свечения лишь в южной прибрежной части полигона с максимальными значениями до $400 \cdot 10^{-12}$ Вт•см⁻²•л⁻¹. На большей части полигона во время дневных съемок в поверхностных водах интенсивность биолюминесценции была близкой к нулевым значениям (рис. 4), что связано с фотоингибированием свечения микропланктона в это время суток [Токарев, 2006]. Так, превышение ночного уровня интенсивности свечения над дневным у фотосинтезирующих организмов составляет от 10 до 100 раз (Шульман, Токарев, 2006). При этом, на примере динофитовой водоросли *Gonyaulax polyedra* по-

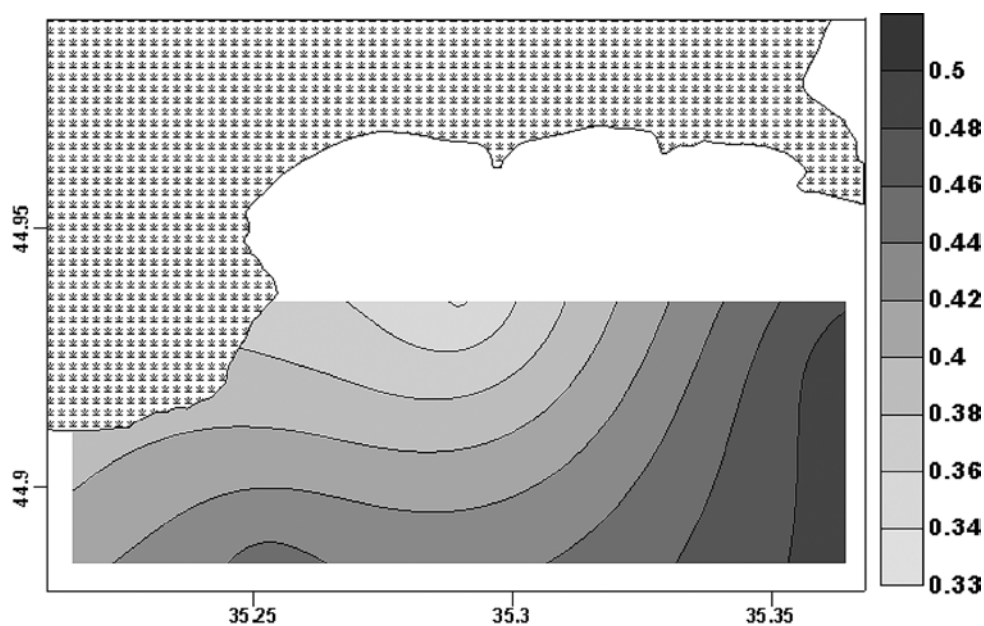


Рис. 3*. Распределение в сентябре 2012 г ($\text{мкг} \cdot \text{л}^{-1}$) хлорофилла «а» микропланктона поверхностных вод, прилегающих к КаПриЗ (дневная съемка)

казано, что циркадный ритм её физиологической активности вызывал не только суточные колебания числа внутриклеточных микроисточников светоизлучения, но и значительное (до 20 раз) изменение количества биохимических компонентов светопродуцирующей реакции (Fritz et al., 1989; Sullivan, Swift, 1994). Иными словами, процессы фотосинтеза и биолюминесценции у планктонных водорослей не могут проходить одновременно.

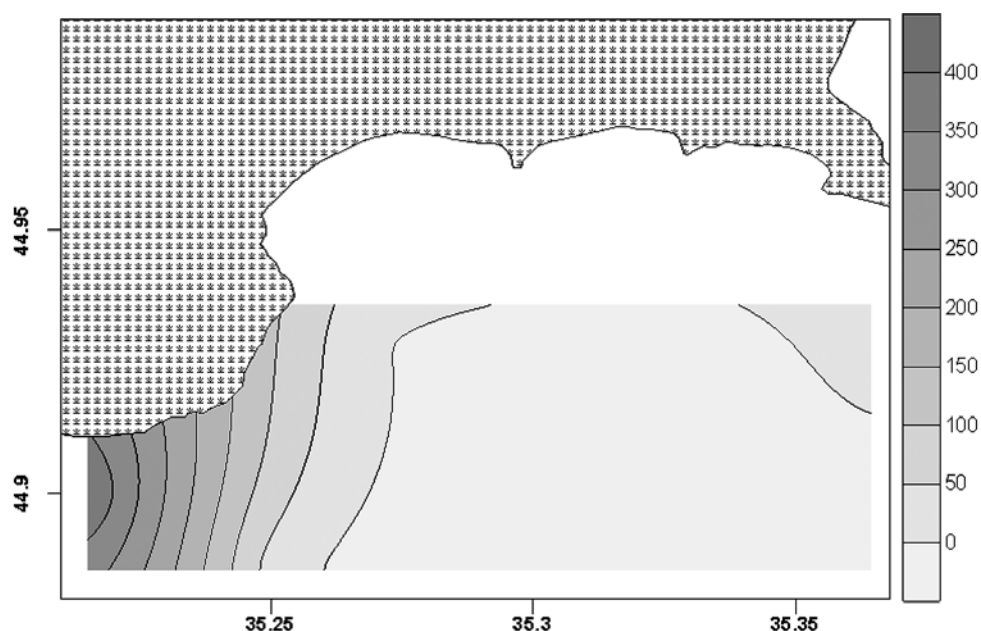


Рис. 4*. Распределение интенсивности биолюминесценции в сентябре 2012 г. в поверхностных водах, прилегающих к КаПриЗ (дневная съемка)

По данным ночной съемки, на небольшом по площади полигоне, расположенном вблизи биологической станции, диапазон концентраций АТФ микропланктона поверхностных вод был шире, чем при дневной съемке: от 80 до 160 нг•л⁻¹. Максимальные значения отмечены в центре исследуемой акватории, минимальные – в её юго-восточной части (рис. 5А).

Аналогичный характер распределения выявлен и для хлорофилла «а» микропланктона поверхностных вод (рис. 5Б). Концентрации фотосинтезируемого пигмента колебались от 0,44 до 0,92 мкг•л⁻¹. По сравнению с дневной съёмкой в поверхностных водах значительно возросла интенсивность биолюминесценции: диапазон значений составил от 1300,0 до 3000,0•10⁻¹²Вт•см⁻²•л⁻¹ (рис. 5В). Максимальные значения биолюминесцентного потенциала приурочены к северо-западной части полигона, прилегающей к побережью, минимальные – к его юго-восточному, более мористому району.

Во время ночной съёмки были проведены работы по сопоставлению данных по концентрации АТФ и хлорофилла «а» микропланктона с материалами по интенсивности биолюминесценции на отдельных горизонтах. Наиболее тесная связь интенсивности биолюминесценции по вертикали обнаружена с концентрациями АТФ, но существенно слабее – с содержанием хлорофилла «а». Такой характер связей может быть обусловлен тем, что большую часть метаболически активной биомассы светящегося микропланктона составляли гетеротрофные организмы, которые массово развиваются в среде, богатой растворённой органикой. Подобная ситуация может быть вызвана двумя причинами: поздней стадией продукционно-деструкционной сукцессии, или локальной подпиткой из бытовых стоков. В пользу второй версии вероятного источника растворённой органики указывает статистический анализ сопоставления данных биохимических характеристик всех проб исследованной акватории с результатами исследования

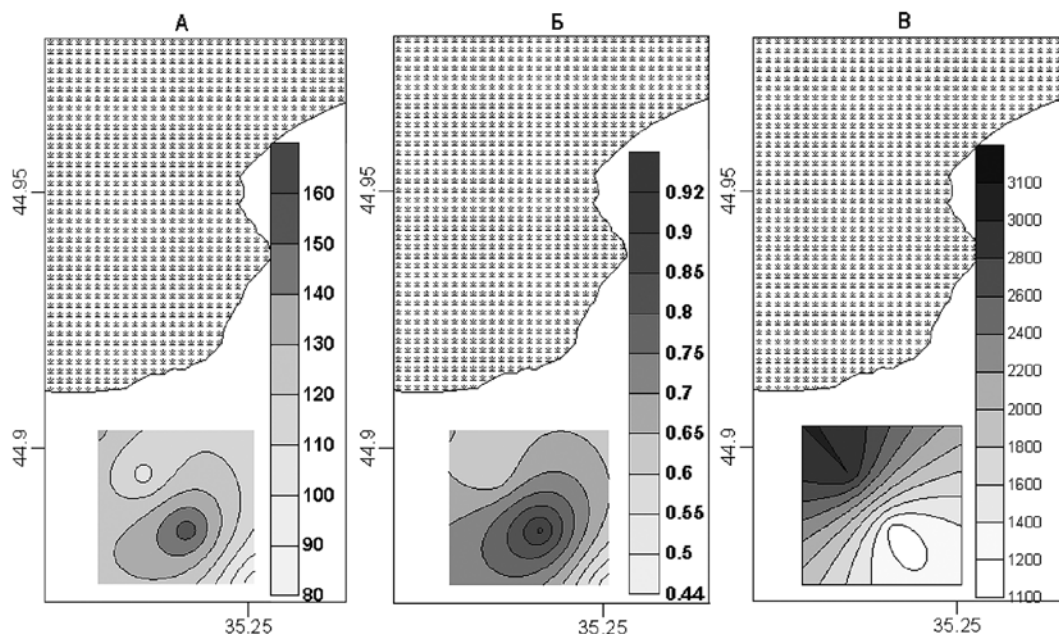


Рис. 5*. Распределение в сентябре 2012 г. АТФ (А, нг•л⁻¹), хлорофилла «а» (Б, мкг•л⁻¹) микропланктона и интенсивности биолюминесценции (В, 10⁻¹²Вт•см⁻²•л⁻¹) в поверхностных водах, прилегающих к КаПриЗ (ночная съемка)

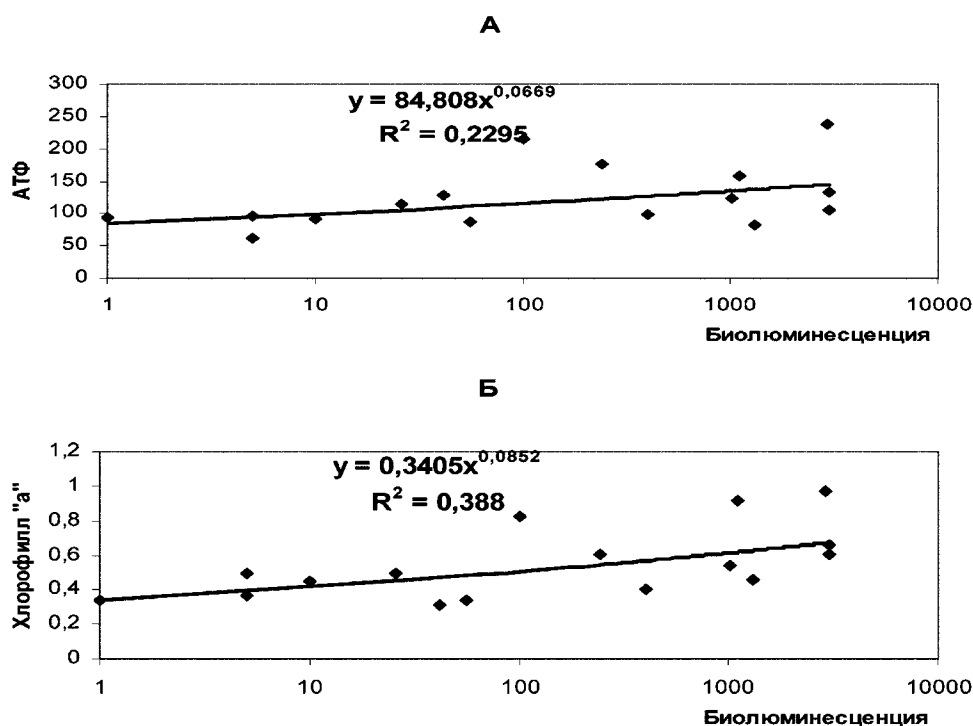


Рис. 6. Соотношения концентраций АТФ (А, $\text{нг} \cdot \text{л}^{-1}$) и хлорофилла «а» (Б, $\text{мкг} \cdot \text{л}^{-1}$) микропланктона с интенсивностью биолюминесценции ($10^{-12} \text{Вт} \cdot \text{см}^{-2} \cdot \text{л}^{-1}$) по результатам всех собранных проб

биолюминесценции: связь интенсивности биолюминесценции с хлорофиллом «а» была несколько более корректной ($R^2 = 0,34$), чем с АТФ ($R^2 = 0,23$) (рис. 6).

Подобный вывод требует, однако, существенного замечания. Сравнительно низкие величины корреляции и детерминации выявленных связей объясняются, на наш взгляд, слабой статистической обеспеченностью собранного материала, что послужило причиной объединения в один массив данных, собранных в дневное и ночное время суток. Между тем на важные ограничения для подобных массивов указывает тот факт, что в условиях Чёрного моря поле биолюминесценции формируется более чем на 90% динофитовыми планктонными водорослями, для которых чрезвычайно важна циркадная ритмика светоизлучения, обуславливающая разные биохимические и биофизические механизмы их жизнедеятельности в светлое и тёмное время суток. Иными словами, приведенные результаты, несмотря на несомненную перспективность использованных методик, носят предварительный характер и требуют продолжения сезонных съёмки по оценке функционального состояния микропланктонного сообщества КаПриЗ.

Выводы. На основе изучения концентрации АТФ и хлорофилла «а» выявлена общая картина распределения микропланктона поверхностных вод побережья Карадагского природного заповедника. **1.** По содержанию АТФ микропланктона исследуемые воды побережья Карадагского природного заповедника в осенний период можно оценить как мезотрофные. **2.** Наибольшие показатели метаболически активной биомассы и потенциала первичной продукции отмечены в районах, прилегающих к биологической станции, наименьшие – в прибрежной зоне, прилегающей к Коктебельской бухте. **3.** По данным съёмки биолюминесценции в поверхностном слое исследованных вод максимумы светоизлучения были приурочены

к прибрежной зоне вблизи биологической станции, в то время как распределение метаболически активной биомассы и продукционного потенциала микропланктона гораздо шире. 4. Сопоставление вертикального распределения биолюминесценции и биохимических параметров микропланктона показало, что в формировании поля биолюминесценции доминирующую роль играли гетеротрофные организмы. 5. Расположенные вблизи биологической станции бытовые стоки являются наиболее вероятным источником зарегистрированных в исследуемой акватории повышенных концентраций биохимических параметров микропланктона.

Благодарности. Авторы считают своим долгом выразить огромную признательность коллегам из отдела биофизической экологии ИнБЮМ, участвовавшим в плодотворных дискуссиях при обсуждении представленного в статье материала.

Литература

Ломакин П.Д., О.А. Трощенко, А.И. Чепыженко, А.А. Чепыженко. Характеристика загрязнения прибрежных вод у Карадагского заповедника по данным оптических измерений // Геология и полезные ископаемые Мирового океана. – 2011. – № 4. – С. 76 – 84.

Смирнова Ю.Д. Результаты многолетних исследований узкой прибрежной зоны акватории Карадагского природного заповедника (гидрохимия, гидробиология) // Карадаг – 2009 / Сб. научных трудов, посвященный 95-летию Карадагской научной станции и 30-летию Карадагского природного заповедника Национальной академии наук Украины. – Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2009. – С. 462 – 473.

Токарев Ю.Н. Основы биофизической экологии гидробионтов. – Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2006. – 342 с.

Токарев Ю.Н., Василенко В.И., Жук В.Ф. Новый гидробиофизический комплекс для экспрессной оценки состояния прибрежных экосистем // Современные методы и средства океанологических исследований / Материалы XI Международной научно-технической конференции (25 – 27 ноября 2009, Москва). – М.: Изд-во РАН, 2009. – С. 23 – 27.

Шульман Г.Е., Токарев Ю.Н. Функциональное разнообразие как важный фактор существования биотических компонентов экосистем // Морський екологічний журнал. – 2006. – 5, №.1. – С. 35 – 56.

Fritz L., Hastings J.W., Morse D. Here tonight, gene tomorrow: the bioluminescent organelles of the dinoflagellate *Gonyaulax polyedra* are formed and degraded on a daily bases // J. Phycol. – 1989. – 25, №.2. – P. 5.

Karl D.M. Cellular nucleotide measurements and applications in microbial ecology // Microbiol. Rev. – 1980. – N. 44. – P. 739 – 796.

Sullivan J. M., Swift E. Photoinhibition of mechanically stimulated bioluminescence in the autotrophic dinoflagellate, *Ceratium fusus* (Pyrrophyta) // J. Phycol. – 1994. – 30. – P. 633 – 637.

Estimation of the Karadag nature reserve coastal microplankton ecological state with help of the biochemical and biophysical indices. I.V. Sisoyeva, V.I. Vasilenko, A.A. Sisoyev, V.F. Juk, Yu.N. Tokarev, Yu.B. Belogurova. On the base of the bioluminescence field intensity, ATF and chlorophyll “a” concentration in microplankton analysis obtained in day and night surveys in September 2012 description of these biophysical and biochemical indices distribution in the surface water on the Karadag Nature Reserve coast has been given. By ATF content in microplankton the studied waters in autumn period can be characterized as mesotrophic. The most values of the metabolically active biomass and primary production potential were registered in the regions, adjacent to the Karadag biological station, while the less values were in the coastal zone, adjacent to Koktebel bay. According to the data of bioluminescent surveys minimum of light emission were timed to the coastal zone near biological station, whereas distribution of the metabolically active biomass and productive potential was pointed to more wide. Comparing of the bioluminescence vertical distribution data and microplankton biochemical parameters has shown, that heterotrophic organisms played dominant role in the bioluminescence field formation. The most probably reasons of revealed distribution have been presented.

Key words: the Black sea, Phytoplankton, Bioluminescence, ATF, Chlorophyll “a”.