

**ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ВЕТРОВОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ
НА ОТНОСИТЕЛЬНУЮ ВАРИАБЕЛЬНУЮ ФЛУОРЕСЦЕНЦИЮ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ
ПЛАНКТОННЫХ ЦИАНОБАКТЕРИЙ И ДИАТОМОВЫХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ
В УСЛОВИЯХ МАЛОГО СИБИРСКОГО ВОДОЕМА***

О.В.Анищенко, В.И.Колмаков, Н.А.Гаевский**

Изучены световые кривые вариабельной флуоресценции планктонных цианобактерий и диатомовых микроводорослей из гиперевтрофного пруда Бугач в штилевую и ветреную погоду. Удалось установить, что после относительно длительного (двое суток) воздействия ветра реакция фотосинтетического аппарата у цианобактерий и диатомовых микроводорослей на изменения уровня облученности имеет близкий характер. Сделан вывод о перспективности применения вариабельной флуоресценции для изучения ветрового воздействия на функционирование фотосинтетического аппарата планктонных микроводорослей.

Проблема “цветения” воды искусственных водоемов (водохранилищ, прудов), возникающего в результате массового развития отдельных видов планктонных цианобактерий и эукариотических микроводорослей, остается на протяжении последних десятилетий одной из актуальнейших фундаментальных и прикладных задач современной пресноводной гидробиологии [1-3]. Как известно, цветение воды приводит к резкому снижению ее качества, ухудшению рекреационных свойств водоемов, негативному воздействию на здоровье животных и населения. Несмотря на довольно длительную историю изучения проблемы цветения, до сих пор исследователи не могут найти эффективные дешевые способы борьбы с этим “вредоносным” явлением и ответить на “проклятый” вопрос: почему из нескольких тысяч известных науке видов цианобактерий и эукариотических микроводорослей цветение воды вызывают не более двух десятков? Очевидно, что прогресс в решении проблемы цветения возможен только после того, как будут определены механизмы и факторы, ответственные за возникновение и поддержание массового развития “вредоносных” цианобактерий и эукариотических микроводорослей.

В последнее время доминирует точка зрения о том, что критическим условием для цветения малых искусственных водоемов выступает сочетание гидрофизических факторов, в первую очередь падающей солнечной радиации и ветра. В доступной нам литературе мы не нашли сведений о влиянии ветровых условий на состояние фотосинтетической активности планктонных микроводорослей и цианобактерий в периоды их “цветения” в богатых биогенными элементами малых пресноводных водоемах, что делает актуальным изучение данной темы. В качестве показателя общего физиологического состояния фотосинтетического аппарата и количественной меры эффективности использования поглощенной энергии в реакциях фотосистемы II у эукариотических микроводорослей и цианобактерий могут выступать величины относительного выхода вариабельной флуоресценции ($D_{Fl}/Fl_M = (Fl_M - Fl_0)/Fl_M$, где Fl_0 – сигнал флуоресценции, отражающий излучательные потери поглощенной энергии при ее миграции к открытым реакционным центрам показатель, Fl_M – максимальный сигнал флуоресценции после блокирования электронного транспорта на акцепторной стороне фотосистемы II ингибитором ЭТЦ диуроном (или симазином) [4, 5]. Считается, что если при блокировании фотосинтетической цепи переноса электрона диуроном происходит резкое возрастание флуоресценции хлорофилла, то это свидетельствует о высокой активности фотосистемы II и всей цепи переноса электрона. Показатель вариабельной флуоресценции применяется как для оценки потенциальной первичной продукции фитопланктона, так и для характеристики функционального состояния природных популяций планктонных микроводорослей в условиях меняющихся факторов среды. Так, в англоязычной литературе приводятся сведения о том, что процессы лимитирования фотосинтеза минеральными веществами, фотоингибированием, пониженными температурами хорошо иллюстрировались с помощью изменений показателя $\Delta Fl/Fl_M$ [5, 6]. Впервые в отечественной исследовательской практике возможность использования показателя $\Delta Fl/Fl_M$ для изучения изменений в работе фотосинтетического аппарата природных цианобактерий и эукариотических микроводорослей в ответ на изменения возбуждающего света была показана в работе [7]. Данная публикация послужила началом масштабных исследований, осуществляемых творческой группой под руководством профессора В.М. Гольда и направленных на изучение физиологических и биохимических механизмов, позволяющих отдельным видам микроводорослей доминировать в составе фитопланкто-

* Работа выполнена при поддержке гранта Министерства образования Российской Федерации “Университеты России – фундаментальные исследования” (грант № УР-07-01-011), гранта РФФИ № 03-05-64082, персональным грантом ФЦП “Интеграция” (программа 1.2, грант № 33196), грантом Министерства образования Российской Федерации и Американского фонда гражданских исследований и развития для независимых государств бывшего Советского Союза (CRDF) № REC-002, а так же гранта Министерства образования РФ для поддержки научно-исследовательской работы аспирантов высших учебных заведений Минобразования России № А03- 2.12.- 259.

** © О.В.Анищенко, Н.А.Гаевский, Красноярский государственный университет; В.И.Колмаков, Институт биофизики СО РАН, 2003

на континентальных водоемах. Настоящая работа является составной частью этих исследований и направлена на сравнительное изучение форм световых кривых варибельной флуоресценции диатомовых микроводорослей и цианобактерий из пруда Бугач в ветреную и безветренную погоду.

Методика

Исследования проводили в периоды устойчивой антициклонической погоды в 1998-2001 гг. на гиперевтрофном пруду Бугач (56°03'46.2" с.ш., 92°43'37.5" в.д.), расположенном в окрестностях города Красноярска. Содержание минерального фосфора в воде пруда Бугач летом колеблется от 0.02 мг/л до 0.25 мг/л и в среднем превышает 0.10 мг/л. За безветренный был принят период, когда в день отбора проб и предшествующие сутки максимальная скорость ветра не превышала 1.5 м/с. Ветренным считался период, когда в день измерений и предшествующие сутки среднесуточная скорость ветра превышала 5 м/с, а максимальная скорость ветра превышала 8 м/с.

Пробы воды на флуоресцентный анализ и изучение видового состава фитопланктона отбирали в центре пруда Бугач (глубина 4.5 м) батометром модели Руттнера объемом 0.5 л от поверхности до придонного горизонта через каждый метр. Измерения флуоресценции проводили на индуктофлуориметре "Фл-303" [8]. Возбуждение флуоресценции осуществляли в широкой области спектра (400-620 нм), разные уровни возбуждающего света ($I_{\text{возб.}}$ - 9 Вт/м², 27 Вт/м², 60 Вт/м², 120 Вт/м²) задавали с помощью нейтральных светофильтров. Первоначально на пробу, содержащую фитопланктон, воздействовали слабым светом. Расчет концентрации хлорофилла *a* эукариотических микроводорослей и цианобактерий осуществляли с помощью алгоритмов, детально описанных в работе [9]. Световые кривые варибельной флуоресценции микроводорослей анализировали только в пробах, где концентрация хлорофилла *a* превышала 20 мкг/л и на долю доминирующего вида приходилось более 90% от общей биомассы. Для анализа световых кривых $\Delta\text{Фл}/\text{Фл}_M$ в безветренную погоду использовали пробы воды с горизонтов, на котором находился максимум концентрации хлорофилла *a*, а в ветреную погоду – интегральная проба из столба воды.

Определение видовой принадлежности цианобактерий и эукариотических микроводорослей было проведено Е.А. Ивановой и Е.С. Кравчук, за что авторы статьи выражают им благодарность. Данные по скорости ветра были предоставлены сотрудниками Красноярского отделения Росгидромета, станция наблюдений которого расположена в непосредственной близости от пруда Бугач.

Результаты и обсуждение

В исследованиях на пруду Бугач было обнаружено, что при штилевой безветренной погоде развивающиеся в массе планктонные цианобактерии занимали поверхностные горизонты воды, часто формируя так называемые "пленки" (или "скопления") цветения. При ветреной погоде цианобактерии распределялись относительно равномерно в столбе воды. В разные годы среди цианобактерий доминировали четыре вида: *Aphanizomenon flos-aquae* (L.) Ralfs, *Anabaena flos-aquae* (Lyngb.) Breb., *Microcystis aeruginosa* Kutz. em. Elenk., *Planktothrix agardhii* (Gom.). Световые кривые $\Delta\text{Фл}/\text{Фл}_M$ для перечисленных цианобактерий в ветреную и безветренную погоду представлены на рис. 1. Видно, что независимо от ветровых условий увеличение облученности у всех изученных видов слабо влияло на величину $\Delta\text{Фл}/\text{Фл}_M$. Незначительный рост этого показателя наблюдали у *Anabaena flos-aquae* и *Aphanizomenon flos-aquae*. Его интерпретация возможна только при разделении тушения на фотохимическую и нефотохимическую компоненты [10]. В литературе часто отмечается отрицательное влияние ветра на фотосинтез вызывающих цветение воды цианобактерий [3]. Однако подавление $\Delta\text{Фл}/\text{Фл}_M$ у *Anabaena flos-aquae* и *Microcystis aeruginosa* при ветровом перемешивании может быть следствием настройки фотосинтетического аппарата цианобактерий на "привычную" для них облученность [10]. Наши исследования еще раз подтвердили положение о том, что эффект фотоингибирования для цианобактерий не характерен. Очевидно, сохранение высокой активности фотосинтетического аппарата цианобактерий, образующих поверхностные пленки, при увеличении облученности выступает как адаптационный признак.

Полученные результаты для цианобактерий требуют внести коррективы в методику определения формы кривой $\Delta\text{Фл}/\text{Фл}_M$. Необходимо использовать $I_{\text{возб.}}$ около 250-300 Вт/м², которые соответствуют максимальным величинам солнечной радиации в области ФАР, падающей на поверхность водоема в солнечный день.

На рис.2 представлены световые кривые варибельной флуоресценции альгоценоза, в котором доминировали диатомовые микроводоросли *Stephanodiscus hantzschii* Grun. и *Cyclotella comta* Kutz. При ясной безветренной погоде максимум в вертикальном распределении концентрации хлорофилла перечисленных видов приходился на горизонты 3-4 м, где облученность составляла менее 20 Вт/м². Для обоих видов диатомовых водорослей в безветренную погоду при возрастании облученности от 9 до 120 Вт/м² имела место тенденция к уменьшению величины $\Delta\text{Фл}/\text{Фл}_M$. Известно, что для клеток диатомовых, адаптированных к низким облученностям, часто бывает характерен эффект фотоингибирования [11]. Форма световой кривой $\Delta\text{Фл}/\text{Фл}_M$ в безветренную погоду подтверждает данное мнение. При ветровом перемешивании форма кривой $\Delta\text{Фл}/\text{Фл}_M$ существенно меняется - исчезают

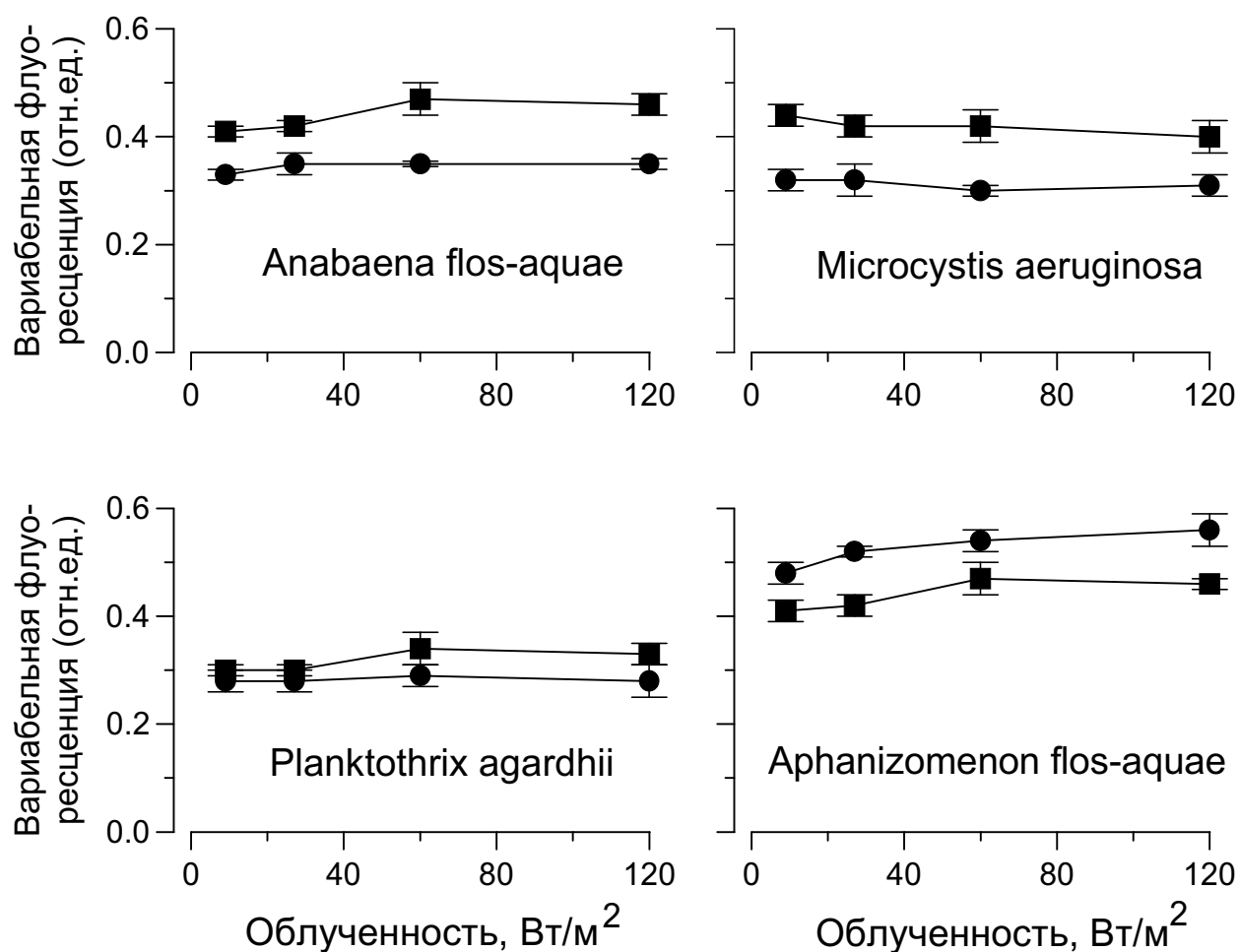


Рис. 1. Зависимость варибельной флуоресценции (отн.ед.) от уровня облученности (Вт/м²) для отдельных видов цианобактерий из пруда Бугач: квадраты – безветренная ясная погода; кружки – ветреная погода

достоверные различия величин $D\Phi/\Phi_M$ при разных уровнях $I_{\text{возб}}$, одновременно уменьшается величина варибельной флуоресценции. Можно предположить, что в условиях ветрового перемешивания исчезает адаптация водорослей к низкой облученности в зоне их глубинного максимума, которая обеспечивала максимальную эффективность захвата энергии возбуждения при низких уровнях облученности. Следовательно, можно сделать предположение о том, что форма световой кривой $\Delta\Phi/\Phi_M$ у природных популяций диатомовых микроводорослей служит своеобразным показателем их адаптированности не только к световым, но и к ветровым условиям.

В целом, полученные результаты подтверждают высказанные в работе [7] утверждения о том, что тип световой кривой $D\Phi/\Phi_M$ является важной физиологической характеристикой планктонных микроводорослей. Форма световой кривой $D\Phi/\Phi_M$ содержит информацию о состоявшихся в недалеком прошлом гидрологических событиях и адаптации клеток микроводорослей к световым и ветровым условиям. Удалось установить, что у цианобактерий и диатомовых микроводорослей после относительно длительного (двое суток) воздействия ветра в условиях относительно высокого содержания биогенных элементов реакция фотосинтетического аппарата на изменения уровня облученности имеет близкий характер. Учитывая, что строение фотосинтетического аппарата цианобактерий и диатомей имеет значительные генетически детерминированные различия, данный результат следует признать неожиданным и поэтому интересным.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гладышев М.И. Биоманипуляция как инструмент управления качеством воды в континентальных водоемах (обзор литературы 1990-1999 гг.) // Биология внутренних вод. - 2001. - № 2. - С.3-15.
2. Гусева К.А. "Цветение" воды, его причины, прогноз и меры борьбы с ним // Тр. Всесоюз. Гидробиол. об-ва. М.: Изд-во Академии наук СССР. 1952. - С.3-93.
3. Сиренко Л.А. Физиологические основы массового размножения синезеленых водорослей в водохранилищах и методы его регулирования: Автореф. дис. ... д-ра. биол. наук. - Киев, 1970. - 43 с.

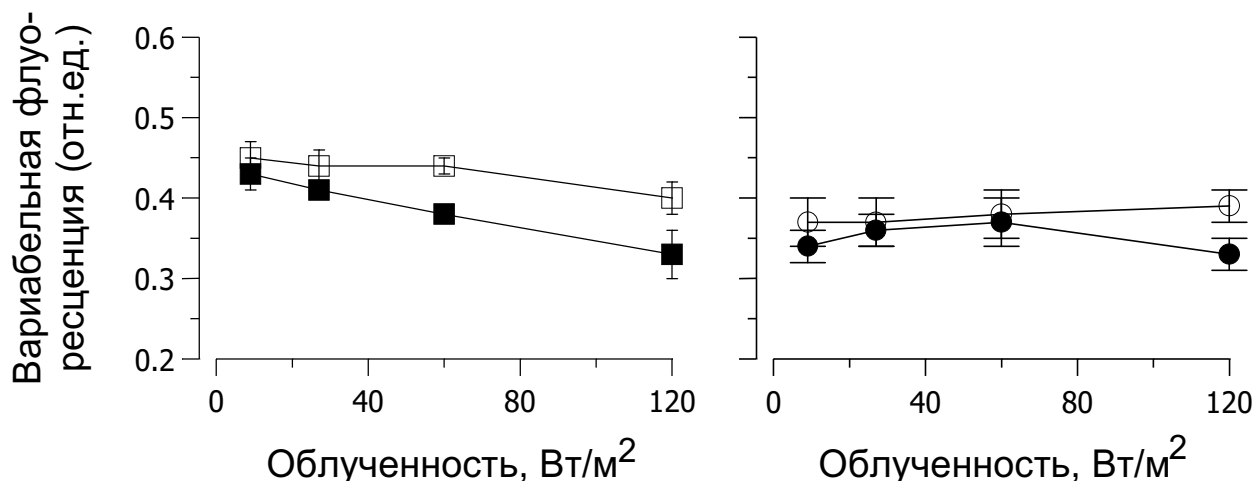


Рис. 2. Зависимость вариабельной флуоресценции (отн.ед.) от уровня облученности (Вт/м²) *Stephanodiscus hantzschii* и *Cyclotella comta* из пруда Бугач: график слева – безветренная ясная погода, график справа – ветренная погода, темные квадраты и кружки – весна 1998 г., светлые квадраты и кружки – весна 1999 г.

4. Карапетян Н.В., Бухов Н.Г. Переменная флуоресценция хлорофилла как показатель физиологического состояния растений // Физиология растений.-1986.- Т.33, № 5.- С.1013-1026.
5. Kolber Z.S., Prasil O., Falkowski P.G. Measurement of variable chlorophyll fluorescence using fast repetition rate techniques: defining methodology and experimental protocols// Bioch. Biophys. Acta.- 1998.- V.1367.- P.88-106.
6. Kolber Z.S., Barber R.T., Coale K.H., Fitzwater S.E., Greene R.M., Johnson K.S., Lindley S., Falkowski P.G. Iron limitation of phytoplankton photosynthesis in the equatorial Pacific Ocean // Nature.- 1994.- V.371, № 6493.- P.145-149.
7. Попельницкий В.А., Шатров И.Ю., Гаевский Н.А., Гольд В.М. Вариабельная флуоресценция хлорофилла а как показатель фотосинтетической активности водорослей //Комплекс. исследования экосистем бассейна р. Енисей.- Красноярск, 1985.- С.142-151.
8. Методические рекомендации по дистанционным методам контроля качества поверхностных вод суши. Вып.3. Экспрессное флуориметрическое определение концентрации хлорофилла "а" и фотосинтетической активности фитопланктона.- Л.: Гидрометеоиздат, 1989.- 48 с.
9. Гольд В.М., Гаевский Н.А., Шатров И.Ю., Попельницкий В.А., Рыбцов С.А. Опыт использования флуоресценции для дифференцированной оценки содержания хлорофилла "а" у планктонных водорослей // Гидробиол. журн.- 1986.- Т.22, № 3.- С.80-88.
10. Campbell D., Hurry V., Clarke A.K., Gustafsson P., Цикуст G. Chlorophyll Fluorescence Analysis of Cyanobacterial Photosynthesis and Acclimation// Microbiol. Mol. Biol. Rev., 1998.- V. 62, № 3.- P. 667- 683.
11. Tuji A. The effect of irradiance on the growth of different forms of freshwater diatoms: implications for succession in attached diatom communities // J. Phycol.- 2000.- V.36.- P.659-661.

A STUDY OF INFLUENCE OF WIND EFFECT ON RELATIVE VARIABLE FLUORESCENCE OF NATURAL POPULATION OF PLANKTON CYANOBACTERIA AND BACILLARIOPHYTA IN A SHALLOW SIBERIAN POND

O.V.Anischenko, V.I.Kolmakov, N.A.Gaevsky

We studied light curves of variable fluorescence of plankton Cyanobacteria and Bacillariophyta from hypereutrophic pond Bygach in calm and strong wind. We determined, that reaction of photosynthetic apparatus of Cyanobacteria and Bacillariophyta on variations with time of irradiation after relative exposure time of wind was analogous. A conclusion is made on a promising application of variable fluorescence for studying photosynthetic apparatus of Cyanobacteria and Bacillariophyta responses to wind conditions.