

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПЕРВИЧНОЙ ПРОДУКЦИИ ФИТОПЕРИФИТОНА  
ОЗЕРА ШИРА (ХАКАСИЯ) НА ОСНОВЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО МЕТОДА<sup>1</sup>

Т.Б. Горбанева, Н.А. Гаевский,  
Т.Н. Ануфриева, Л.Т. Хакимьянова\*

*Количественная оценка валовой первичной продукции (ВПП) у трех таксономических групп фитоперифитона была осуществлена в различных точках береговой линии озера Шира (Хакасия) в период с мая по август 2004 г. по двум алгоритмам на основе данных флуоресцентного анализа. Обычные величины ВПП лежали в интервале от 25 до 50 мг O<sub>2</sub>/м<sup>2</sup> ч и основной вклад в ВПП вносили зеленые и диатомовые водоросли. Величины ВПП (мг O<sub>2</sub>/м<sup>2</sup> ч) фитоперифитона и фитопланктона в озере Шира различались незначительно.*

Одной из важнейших динамических характеристик микрофитоперифитона речных и озерных экосистем служит фотосинтетическая первичная продукция, которая является материально-энергетической основой общей биологической продуктивности. На сегодняшний день нет прямых оперативных методов оценки общей и дифференцированной по таксономическим группам первичной продукции фитоперифитона *in situ*. Определенные надежды следует возлагать на расчетные методы, в которых необходимые исходные параметры можно оценить экспрессными биофизическими методами.

Экосистема озера Шира характеризуется сравнительно низким биоразнообразием. В частности, в озере отсутствуют представители ихтиофауны и моллюсков. Комплексные исследования экосистемы озера Шира, проведенные в последние годы, существенно расширили знания о физико-химических и гидрологических показателях, вертикальном распределении зоопланктона и фитопланктона, формировании глубинного максимума фитопланктона. Результаты этих исследований посвящен тематический выпуск журнала *Aquatic ecology* [1]. При этом в сферу исследований не попал фитоперифитон, вклад которого в первичную продукцию в озерах в зависимости от их трофического статуса может составлять от 0,2 % до 62,2 % водоема [2].

В континентальных водоемах основными продуцентами в составе фитоперифитона являются синезеленые, диатомовые и зеленые водоросли. Мы предположили, что для оценки первичной продукции микрофитоперифитона может быть применен флуоресцентный метод, который дал положительные результаты при определении общей и дифференцированной по таксономическим группам водорослей первичной продукции фитопланктона [3-6]. Теоретически проблему дифференциальной и общей первичной продукции фитоперифитона можно решить двумя методами: на основе дифференцированных по основным отделам водорослей величин концентрации хлорофилла "а" и значений вариабельной флуоресценции всего алгоценоза, либо на основе дифференцированных величин концентрации хлорофилла "а" и коэффициентов энергетической эффективности хлорофилла "а" каждого из трех отделов.

Цель работы заключалась в определении общей и дифференцированной по трем экологически значимым отделам водорослей (зеленые, диатомовые, синезеленые) валовой первичной продукции микрофитоперифитона на основе двух модификаций флуоресцентного метода. Сравнение продукционных показателей фитопланктона и фитоперифитона.

**Объект и методы исследования**

Отбор проб фитоперифитона проводили стандартным гидробиологическим методом [7] по береговой линии озера Шира в точках, указанных на рис. 1. Флуоресценцию регистрировали с помощью планктофлуориметра ФЛ-3003, разработанного совместно кафедрой физиологии и микробиологии КрасГУ и НИП "Тест" (г. Красноярск).

Для возбуждения флуоресценции использовали широкий (400-650 нм) и три узких спектральных участка света: синий ( $\lambda_{\max} = 400$  нм), "сине-зеленый" ( $\lambda_{\max} = 510$  нм, "зеленый" ( $\lambda_{\max} = 540$  нм). Область регистрации флуоресценции  $\geq 685$  нм (светофильтры КС-18, ПС-8). Флуоресценцию регистрировали в условиях протекания и ингибирования фотосинтеза диуроном ( $10^{-5}$  М). Фоном служил фильтрат исследуемой пробы. Сигналы флуоресценции нормировали по флуоресценции источника опорного сигнала (красный светофильтр КС-15).

При спектрофотометрическом определении концентрации хлорофилла "а" пигменты экстрагировали с мембранного фильтра горячим этиловым спиртом.

<sup>1</sup> Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования Российской Федерации и Американского фонда гражданских исследований, грант REC-002/ KY-002-X1, программа "Фундаментальные исследования и высшее образование" и Красноярского краевого фонда науки, а также ФЦП "Государственная поддержка интеграции высшего образования и фундаментальной науки №ЭЗ-137, договор №2.

\* © Т.Б. Горбанева, Н.А. Гаевский, Т.Н. Ануфриева, Л.Т. Хакимьянова Красноярский государственный университет, 2006, tamarag@lan.krasu.ru

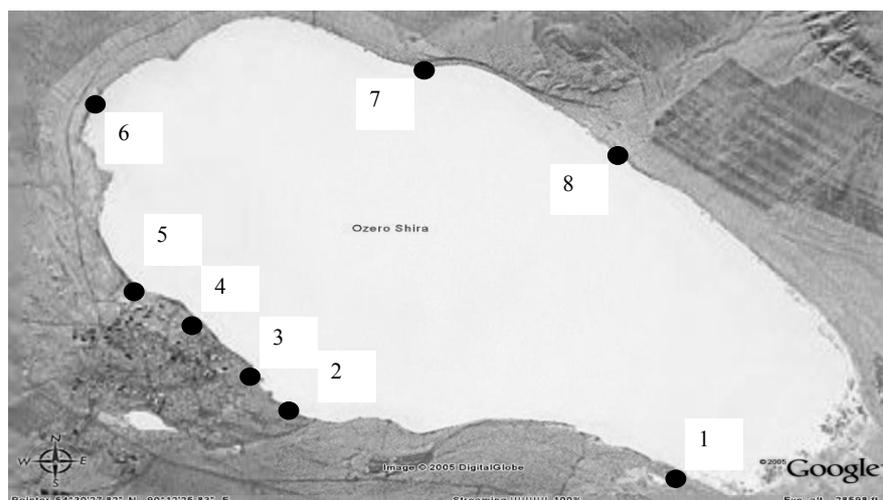


Рис. 1. Карта-схема станций отбора проб перифитона озера Шира

Значения концентрации хлорофилла “а”, относящиеся к отделам *Cyanophyta* (*Cyanobacteria*), *Bacillariophyta*, *Chlorophyta* получали на основе решения системы алгебраических линейных уравнений и определенных методом линейной регрессии коэффициентов ( $K_i = C_{chl} / \Phi_{510}$ ) для каждого из трех отделов [8]. Необходимые для системы линейных уравнений коэффициенты составили: для *Chlorophyta* –  $\Phi_{410} / \Phi_{510} = 2,27$ ,  $\Phi_{540} / \Phi_{510} = 0,80$ , для *Bacillariophyta* –  $\Phi_{410} / \Phi_{510} = 1,41$ ,  $\Phi_{540} / \Phi_{510} = 0,36$ , для *Cyanophyta* –  $\Phi_{410} / \Phi_{510} = 1,03$ ,  $\Phi_{540} / \Phi_{510} = 3,50$ . При определении концентрации хлорофилла “а” использовали следующие коэффициенты  $K_{chl} = 285.4 \text{ мг/м}^3$ ,  $K_{Cyan} = 225.4 \text{ мг/м}^3$ ,  $K_{Bac} = 83 \text{ мг/м}^3$ . Коэффициент линейной регрессии, когда независимой переменной была концентрация хлорофилла “а”, полученная флуоресцентным методом, а зависимой – концентрация хлорофилла “а”, полученная спектрофотометрическим методом, составил 1,09 ( $R^2 = 0.33$ ).

Для расчета валовой первичной продукции фитоперифитона использовали уравнение, полученное ранее [4] для фитопланктона:

$$A = 6.227 \cdot 10^{-3} \cdot (\Delta\Phi / \Phi_D) \cdot C_{chl,a} \cdot \sqrt{I} \quad (1)$$

где  $A$  – скорость фотосинтеза в  $\text{гO}_2 / (\text{м}^3 \times \text{час})$ ;  $\Phi_D$  – уровень флуоресценции, регистрируемый в присутствии диурона ( $10^{-5} \text{ M}$ );  $\Delta\Phi$  – переменная флуоресценция, определяемая как величина изменения сигнала между  $\Phi_D$  и стационарным уровнем ( $\Phi_{ст}$ );  $C_{chl,a}$  – концентрация хлорофилла “а” микроводорослей ( $\text{мг/м}^3$ ),  $I$  – средняя за экспозицию облученность в области ФАР ( $\text{Вт/м}^2$ ).

Также для расчета валовой первичной продукции было использовано уравнение, в котором фигурируют величины валовой первичной продукции таксономических групп фитоперифитона:

$$A_2 = (Aч^{c3} \cdot I_{ФАР}) \cdot C_{ХЛ,a}^{c3} \cdot I_{ФАР}' + (Aч^d \cdot I_{ФАР}) \cdot C_{ХЛ,a}^d \cdot I_{ФАР}' + (Aч^3 \cdot I_{ФАР}) \cdot C_{ХЛ,a}^3 \cdot I_{ФАР}' \quad (2)$$

где  $A$  – общая первичная продукция в  $\text{гO}_2 / \text{м}^2 \cdot \text{час}$ ;  $C_{ХЛ,a}^{c3}$ ,  $C_{ХЛ,a}^d$ ,  $C_{ХЛ,a}^3$  – концентрация хлорофилла “а” соответственно синезеленых, диатомовых и зеленых водорослей ( $\text{мг/м}^2$ );  $Aч^{c3} \cdot I_{ФАР}$ ,  $Aч^d \cdot I_{ФАР}$ ,  $Aч^3 \cdot I_{ФАР}$  – энергетическая эффективность хлорофилла “а” ( $\text{гO}_2 \cdot \text{м}^2 / (\text{мг хлорофилла} \cdot \text{МДж} \cdot \text{час})$ ) соответственно синезеленых, диатомовых и зеленых водорослей;  $I_{ФАР}'$  – количество падающей энергии в области ФАР на поверхность ( $\text{МДж/м}^2$ ). Значения энергетической эффективности хлорофилла у водорослей различных отделов взяты из работы [4] тип вертикального распределения 1 для фитоперифитона и тип 3 для фитопланктона.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета “STATISTICA 5.0 for Windows”.

### Результаты и их обсуждение

Параметры, определяющие первичную продукцию фитоперифитона, представлены в табл.1.

Показатель фотосинтетической активности – переменная флуоресценция, определяемая по реакции флуоресценции на добавление ингибитора транспорта электронов, в большинстве случаев имел нулевое значение. Наиболее вероятной причиной отсутствия реакции на диурон является инактивирование клеток водорослей в ходе их отделения от субстрата, процедуру отличает длительное механическое воздействие на клетки. В десяти из двенадцати случаев, в которых переменная флуоресценция больше нуля, значения валовой первичной продукции, полученные на основе уравнения 1 и 2, можно связать в рамках модели линейной регрессии  $A_2 = 0,87 A_1$  ( $R^2 = 0.68$ ). Это подтверждает сопоставимость результатов расчета валовой первичной продукции двух использованных уравнений.

Результаты определения продукционных показателей фитоперифитона на восьми станциях оз. Ши́ра

	Станция 1						Станция 2					
	$C_{ХЛ\text{а}}^3$	$C_{ХЛ\text{а}}^{с3}$	$C_{ХЛ\text{а}}^д$	Фвар	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	$C_{ХЛ\text{а}}^3$	$C_{ХЛ\text{а}}^{с3}$	$C_{ХЛ\text{а}}^д$	Фвар	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>
Май	1,6	0,1	1,0	0,00	Н/р	19,9	2,1	0,0	1,8	0	Н/р	29,3
Июнь	2,9	0,2	1,1	0,17	44,2	31,0	8,9	0,3	0,2	0,00	Н/р	68,2
Июль	Н/д	Н/д	Н/д	Н/д	Н/д	Н/д	2,1	1,7	2,2	0,01	3,7	46,1
Август	0,0	0,8	0,6	0,10	8,8	11,2	0,1	0,4	0,9	0,13	11,1	10,8
	Станция 3						Станция 4					
Май	0,3	0,1	2,0	0,69	101,7	18,5	1,6	0,2	2,9	0,00	Н/р	36,6
Июнь	4,0	0,0	0,8	0,00	Н/р	35,6	2,3	0,1	0,3	0,00	Н/р	19,9
Июль	0,0	1,0	4,3	0,00	Н/р	42,1	2,9	1,2	2,3	0,08	31,5	48,0
Август	2,1	0,0	1,3	0,00	Н/р	25,2	0,4	0,2	0,4	0,00	Н/р	7,0
	Станция 5						Станция 6					
Май	4,9	0,0	7,2	0,00	Н/р	92,5	0,4	0,0	0,6	0,00	Н/р	7,1
Июнь	2,5	0,0	0,5	0,00	Н/р	22,6	2,2	0,2	0,6	0,14	26,5	22,5
Июль	0,8	0,7	0,8	0,00	Н/р	17,5	Н/д	Н/д	Н/д	Н/д	Н/д	Н/д
Август	0,0	1,1	1,1	0,22	30,7	17,8	0,4	0,1	0,4	0,17	8,4	6,0
	Станция 7						Станция 8					
Май	0,0	0,0	0,1	0,00	Н/р	0,9	0,5	0,0	0,3	0,00	Н/р	6,5
Июнь	0,4	0,0	0,2	0,20	7,5	4,5	0,7	0,1	0,4	0,17	11,5	8,1
Июль		Н/д	Н/д	Н/д	Н/д	Н/д	Н/д	Н/д	Н/д	Н/д	Н/д	Н/д
Август	0,2	0,1	0,1	0,30	6,6	2,7	0,1	0,1	0,2	0,10	2,2	2,8

Концентрация хлорофилла “а” ( $C_{ХЛ\text{а}}$ ) водорослей различных отделов ( $C_{ХЛ\text{а}}^3$ ,  $C_{ХЛ\text{а}}^{с3}$ ,  $C_{ХЛ\text{а}}^д$ ) дана в  $\text{мг/м}^2$ , валовая первичная продукция (А) в  $\text{мгО}_2/\text{м}^2$  час. А<sub>1</sub> – на основе уравнения 1, А<sub>2</sub> – на основе уравнения 2. Н/д – нет данных. Н/р – показатель не рассчитывали.

Дальнейший анализ продукции фитоперифитона оз. Ши́ра сделан на основе величин А<sub>2</sub>. Представленные в табл.1 значения получены для энергетической световой облученности на глубине 0,5 м, равной  $100 \text{ Вт/м}^2$ . Облученность поверхности воды при этом составляла  $120 \text{ Вт/м}^2$ . Для оз. Ши́ра это средняя за световой день (15,5 ч) облученность поверхности в ясный безоблачный день при уровне полуденной ФАР  $380 \text{ Вт/м}^2$ .

По абсолютным значениям валовой первичной продукции за вегетационный сезон 2004 г. лидировал фитоперифитон южного берега в рекреационной зоне озера (станции 2 – 5). Пик валовой первичной продукции наблюдали в различное время: в мае - на станции 1, в июне – на станциях 1, 2, 6-8, в июле – на станции 4.

Фитоперифитон оз. Ши́ра в мае – июне по распределению хлорофилла “а” представлен диатомово-зеленым комплексом, в июле – августе диатомово-зеленым-синезеленым. Продукция диатомовых водорослей в мае преобладает над продукцией зеленых, в июне картина меняется на противоположную, а в июле – августе с понижением продукции зеленых возрастает продукция синезеленых водорослей. Максимальный уровень валовой первичной продукции ( $92,5 \text{ мгО}_2/\text{м}^2$  ч) получен в мае на станции 5. Для сравнения, валовая первичная продукция фитопланктона под  $1 \text{ м}^2$  на одной из станций с глубиной 10 м и придонным (8 – 10 м) максимумом хлорофилла “а” в июле составляла  $82,5 \text{ мгО}_2/\text{м}^2$  ч, вклад зеленых – 65 %, синезеленых – 22 %, диатомовых – 13 %.

Проведенное исследование показало, что фотосинтетическая продукция фитоперифитона и фитопланктона сопоставима при их оценке на  $1 \text{ м}^2$  поверхности озера. Вклад фитоперифитона в первичную продукцию экосистемы озера, исходя из площадей литорали и пелагиали, существенно уступает вкладу фитопланктона. Однако фитоперифитон как источник пищи более доступен ракообразным, чем фитопланктон в зоне глубинного максимума на границе сероводородной зоны.

Применение флуоресцентного метода для оценки дифференцированной по отделам водорослей валовой первичной продукции требует дальнейших методических исследований, направленных на определение показателей энергетической эффективности хлорофилла “а” ( $AЧ/I_{\text{пов}}$ ) в связи с высоким уровнем облученности фитоперифитона и особенностями его структурной организации на каменистом или растительном субстратах.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Gaevsky N.A. et. al. Vertical structure and photosynthetic activity of Lake Shira / N.A.Gaevsky, T.A.Zotina, T.B.Gorbaneva, N.P. Belonog // Aquatic Ecology. - 2002.- V.36. - N.2. - P.165-168.
2. Макаревич Т.А. Первичная продукция перифитона как элемент биотического круговорота в озерных экосистемах / Т.А. Макаревич // Перифитон континентальных вод: современное состояние изученности и перспективы дальнейших исследований, Тюмень. - 2003. - С.92-93.
3. Гаевский Н.А. и др., Оценка влияния светового фактора при флуоресцентном определении интенсивности фотосинтеза у планктонных микроводорослей / Н.А. Гаевский, В.И. Колмаков, В.А. Попельницкий, В.М. Гольд, О.П. Дубовская // Физиология растений. – 2000. - Т.47. - № 6. - С.930-935.

4. Колмаков В.И. и др., Оценка первичной продукции отдельных таксономических групп фитопланктона на основе флуоресцентного анализа / В.И. Колмаков, Н.А. Гаевский, В.М. Гольд, В.А. Попельницкий // Биология внутренних вод. - 2005. - № 4. - С.13- 18.
5. Гаевский Н.А. и др., Расчетный метод определения первичной продукции фитопланктона на основе измерения флуоресценции и интенсивности света/ Н.А. Гаевский, В.И. Колмаков, В.А. Попельницкий, В.М. Гольд, О.П. Дубовская. // Гидробиологический журнал. – 2003. –Т.39. - №3. - С. 105 – 114.
6. Гольд В.М. и др., Ассимиляционная активность хлорофилла (теоретические и методические аспекты) // В.М. Гольд, И.Ю. Шатров, В.А. Попельницкий и др. // Биология внутренних вод. – 1996. - N.1. - С. 24-32.
7. Водоросли. Справочник / С.П. Вассер, Н.В. Кондратьева, Н.В. Масюк и др. // Киев : Наукова думка. - 1989. - С.170-219.
8. Гаевский Н.А. и др. Визуализация алгоритма флуоресцентной оценки таксономической структуры альгоценоза // Н.А.Гаевский, Т.Б. Горбанева, В.И. Колмаков // Вестник Красноярского государственного университета. - 2003. - №5. – С. 127 – 134.

### DETERMINATION OF PRIMARY PRODUCTION OF LAKE SHIRA (KHAKASIA) PHYTOPERIPHITON BY FLUORESCENT METHOD

**T.B. Gorbaneva, N.A. Gaevsky,  
T.N. Anufrieva, L.T. Chakimjanova\***

*The quantitative assesment of gross primary production (GPP) of the tree taxonomic groups of phytoperiphyton was made in various sites of a coastal line of lake Shira (Khakasia) during the period from May till August, 2004 using two algorithms based on the data of fluorescent analyses. Usually values of GPP were from 25 to 50 mg O<sub>2</sub>/m<sup>2</sup> h and more part of GPP was provided green and diatom. The values of GPP (mg O<sub>2</sub>/m<sup>2</sup> h) of phytoperiphyton and of phytoplankton in lake Shira were not different.*