

Концентрация и флуоресценция хлорофилла *a* в период сезонной стратификации вод в Черном море

Н. А. Моисеева^{1,*}, Т. Я. Чурилова¹, Т. В. Ефимова¹,
О. В. Кривенко¹, Д. Н. Маторин²

¹Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН,
Севастополь, Россия

²Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия
*E-mail: nataliya-moiseeva@yandex.ru

Поступила в редакцию 30.04.2019 г., после доработки – 30.05.2019 г.

Цель. В настоящее время широко распространен экспрессный метод оценки концентрации хлорофилла *a* по его флуоресценции. Применяемый при расчетах коэффициент связи между этими двумя величинами предполагается постоянный (в пространстве и во времени), что не соответствует действительности. Поэтому основной целью работы было исследовать зависимость флуоресценции от концентрации хлорофилла *a* в глубоководной части Черного моря в теплый период года, когда наблюдается сезонная стратификация вод.

Методы и результаты. Была исследована связь между коэффициентом поглощения света пигментами фитопланктона, концентрацией и флуоресценцией хлорофилла *a*. Показано, что соотношение между флуоресценцией и концентрацией хлорофилла *a* различалось между квазиизолированными слоями в период сезонной стратификации вод. Установлена вертикальная неоднородность флуоресценции, нормированной на концентрацию хлорофилла *a* в эвфотическом слое, обусловленная изменением способности фитопланктона поглощать кванты света на длине волны ~ 455 нм (возбуждение флуоресценции) в расчете на единицу содержания хлорофилла *a*. Сравнение удельных величин флуоресценции и показателя поглощения света на длине волны ~ 455 нм показало сильную корреляционную зависимость между ними, что свидетельствует о незначительном изменении величин квантового выхода флуоресценции в пределах зоны фотосинтеза.

Выводы. Полученные зависимости между концентрацией хлорофилла *a* и его флуоресценцией могут быть применены для уточнения используемых в настоящее время алгоритмов восстановления профилей концентрации хлорофилла *a* на основе данных погружных датчиков флуоресценции или самостоятельно дрейфующих буев международного проекта *Biogeochemical-Argo*.

Ключевые слова: хлорофилл *a*, флуоресценция, поглощение света, квантовый выход, фитопланктон, Черное море.

Благодарности: работа выполнена по теме государственного задания (гос. рег. № АААА-А18-118020790229-7), теме «Изучение пространственно-временной организации водных и сухопутных экосистем с целью развития системы оперативного мониторинга на основе данных дистанционного зондирования и ГИС-технологий» (гос. рег. № АААА-А19-119061190081-9) и теме «Комплексные исследования современного состояния экосистемы Атлантического сектора Антарктики», а также частично при поддержке РФФИ, грант № 17-05-00113 и 18-45-920070. Авторы выражают глубокую признательность начальнику экспедиции А. С. Михаэляну и отряду гидрологических исследований в лице С. А. Шутова и Р. О. Шаповалова за организацию и проведение работ в экспедиции.

Для цитирования: Концентрация и флуоресценция хлорофилла *a* в период сезонной стратификации вод в Черном море / Н. А. Моисеева [и др.] // Морской гидрофизический журнал. 2019. Т. 35, № 5. С. 481–495. doi:10.22449/0233-7584-2019-5-481-495

Fluorescence of Chlorophyll *a* During Seasonal Water Stratification in the Black Sea

N. A. Moiseeva^{1,*}, T. Ya. Churilova¹, T. V. Efimova¹, O. V. Krivenko¹,
D. N. Matorin²

¹A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas, Russian Academy of Sciences,
Sevastopol, Russia

²Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

*e-mail: nataliya-moiseeva@yandex.ru

Purpose. At present the express method of estimating the chlorophyll *a* concentration by its fluorescence is widely spread. The applied in calculations coupling coefficient between these two values is assumed to be constant (in time and space); but it does not correspond to reality. Therefore, the basic purpose of the paper consists in studying dependence of fluorescence on the chlorophyll *a* concentration in the deep part of the Black Sea in a warm period when seasonal water stratification is observed.

Methods and Results. Relation between the light absorption by the phytoplankton pigments, and the chlorophyll *a* concentration and fluorescence is investigated. It is shown that the ratio between the chlorophyll *a* concentration and fluorescence was different in the quasi-isolated layers during the seasonal water stratification. Revealed is the vertical heterogeneity of fluorescence normalized for the chlorophyll *a* concentration in the euphotic layer. It is conditioned by change of the phytoplankton ability to absorb light quanta of the wavelength ~ 455 nm (fluorescence excitation) calculated for a unit of the chlorophyll *a* content. Comparison of the specific values of fluorescence and light absorption index on the wavelength ~ 455 nm showed their strong mutual correlation that testifies to insignificant variation of the values of the fluorescence quantum yield within the photosynthesis zone.

Conclusions. The obtained dependences between the chlorophyll *a* concentration and fluorescence can be used to specify the algorithms applied at present for reconstructing the chlorophyll *a* concentration profiles based on the data of either the fluorescence submerged probes or the drifting floats of the international project Biogeochemical Argo.

Keywords: chlorophyll *a*, fluorescence, light absorption, quantum yield, phytoplankton, Black Sea.

Acknowledgments: the investigation is carried out according to state task No. AAAA-A18-118020790229-7, theme “Study of spatial-temporal organization of aquatic and land ecosystems aimed at development of operational monitoring system based on the remote sensing data and GIS technologies” No. AAAA-A19-119061190081-9 and theme “Comprehensive studies of the current state of the ecosystem of the Atlantic sector of the Antarctic” as well as at partial RFBR support, grants No. 17-05-00113 and 18-45-920070. The authors are very thankful to the expedition head A. S. Mikaelyan and to the group of hydrological research, S. A. Shutov and P. O. Shapovalov, for their arrangement of investigations.

For citation: Moiseeva, N.A., Churilova, T.Ya., Efimova, T.V., Krivenko, O.V. and Matorin, D.N., 2019. Fluorescence of Chlorophyll *a* During Seasonal Water Stratification in the Black Sea. *Physical Oceanography*, [e-journal] 26(5), pp. 425-437. doi:10.22449/1573-160X-2019-5-425-437

Введение

Использование измерений флуоресценции хлорофилла *a* (*F*) в гидробиологических исследованиях имеет почти вековую историю [1, 2]. Программа гидробиологических исследований с использованием дрейфующих буев *Biogeochemical-Argo* (*BGC-Argo*) начала работать в Черном море с 2008 г. (<http://biogeochemical-argo.org/>). В настоящее время буи *BGC-Argo* измеряют один биологический параметр – флуоресценцию хлорофилла *a*. Пересчет значений флуоресценции *F*, регистрируемых с помощью буев *BGC-Argo* в Черном море, в значения концентрации основного фотосинтетически активного пигмента – хлорофилла *a* (*C_a*) – выполняется с помощью алгоритма

[3], который создан для вод первого типа по оптической классификации вод. Однако Черное море относится ко второму типу [4]. Предложенный в работе [5, с. 8] алгоритм предполагает постоянный коэффициент пропорциональности в прямой зависимости C_a от F .

Известно, что интенсивность флуоресценции хлорофилла a F ($\text{мкЭ} \cdot \text{м}^{-3} \cdot \text{с}^{-1}$) в естественных условиях существования фитопланктона зависит от нескольких параметров [6, с. 242]:

$$F = PAR \cdot C_a \cdot \bar{a}_{ph}^* \cdot Q_a^* \cdot \Phi_F, \quad (1)$$

где PAR – фотосинтетически активная радиация (ФАР) в диапазоне от 400 до 700 нм, $\text{мкЭ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$; C_a – концентрация хлорофилла a , $\text{мг} \cdot \text{м}^{-3}$; \bar{a}_{ph}^* – среднее по спектру значение удельного (нормированного на C_a) показателя поглощения света пигментами фитопланктона ($a_{ph}^*(\lambda)$), $\text{м}^2 \cdot \text{мг}^{-1}$; Q_a^* – флуоресцентный внутриклеточный реабсорбционный фактор; Φ_F – квантовый выход флуоресценции *in vivo*.

Значение показателя $a_{ph}^*(\lambda)$, следовательно, и \bar{a}_{ph}^* может изменяться почти на порядок, как показали теоретические [7] и полевые [8] исследования в Мировом океане. Квантовый выход флуоресценции Φ_F зависит от световых условий в среде обитания фитопланктона, биогенной обеспеченности и видового состава фитопланктонного сообщества [9, 10]. Как видно из уравнения (1), связь между параметрами F и C_a далеко не однозначна и обусловлена влиянием условий среды обитания фитопланктона на показатели $a_{ph}^*(\lambda)$ и Φ_F [9]. Как показали многолетние исследования в Черном море [11], значения $a_{ph}^*(440)$ изменяются в 2–3 раза между сезонами (зима – лето). Влияние факторов среды на значения $a_{ph}^*(\lambda)$ и Φ_F определяет изменчивость связи между флуоресценцией F и концентрацией хлорофилла a C_a в течение года в пределах одной акватории, когда сезонная стратификация делит ее на квазиизолированные слои.

В связи с этим цель настоящей работы состоит в исследовании вариабельности зависимости флуоресценции F от концентрации хлорофилла a C_a в Черном море в теплый период года, когда наблюдается сезонная стратификация вод.

Методы

Исследования проводились в глубоководной части Черного моря (рис. 1) в 97-м рейсе НИС «Профессор Водяницкий» с 24 по 28 октября 2017 г. Пробы воды отбирали с разных глубин эвфотического слоя с помощью кассеты батометров, прикрепленных к зонду *SBE-911plus* (*Sea-Bird Electronics*). Горизонты определяли, исходя из профиля температуры, флуоресценции хлорофилла a (F) и прозрачности вод, которую рассчитывали по глубине видимости белого диска Секки (Z_s). Были выбраны следующие горизонты:

- 1) в верхнем квазиоднородном слое (ВКС),
- 2) в термоклине (ТК),
- 3) между термоклином и глубиной проникновения 1 % от падающей на поверхность моря ФАР (1 % ФАР),
- 4) на глубине проникновения 0,1 % от падающей на поверхность моря ФАР (0,1 % ФАР).

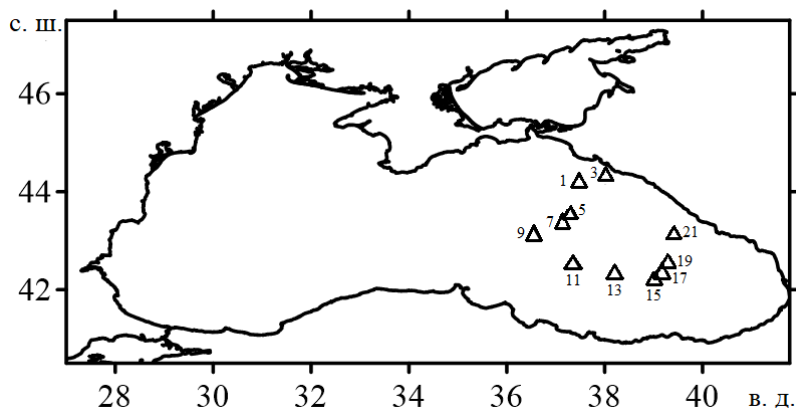


Рис. 1. Карта станций (Δ) в 97-м рейсе НИС «Профессор Водяницкий» 24–28 октября 2017 г.
Fig. 1. Chart of the stations (Δ) in the 97th cruise of R/V “Professor Vodyanitsky”, October 24–28, 2017

Глубину зоны фотосинтеза Z_{eu} , куда проникает 1 % от падающей на поверхность моря ФАР, определяли, используя зависимость показателя диффузионного ослабления света от Z_s [12].

Определение концентрации хлорофилла a и феопигментов

Пробы морской воды объемом 1,5 л фильтровали через стекловолоконистые фильтры (GF/F , *Whatman*) при слабом вакууме ($< 0,2$ атм) с целью предотвращения разрыва клеточных мембран. Затем фильтры складывали дважды (собранный взвесью внутрь), заворачивали в фольгу и хранили в жидком азоте в сосуде Дьюара ($t = -196$ °C) до дальнейшего измерения в лаборатории. Оптические измерения проводили на двулучевом спектрофотометре *Lambda 35* (*PerkinElmer*).

Концентрацию хлорофилла a (C_a) и феопигментов (C_{phac}) определяли спектрофотометрическим методом, используя зависимость [13]:

$$C_a = [2,7(D_o(665) - D_a(665))V_E] / V_F l, \quad (2)$$

$$C_{phac} = [2,7(1,7D_o(665) - D_a(665))V_E] / V_F l, \quad (3)$$

где $D_o(665)$, $D_a(665)$ – оптические плотности экстракта на длине волны 665 нм до и после подкисления соответственно; V_E – объем экстракта, см³; V_F – объем пробы, дм³; l – длина оптического пути кюветы, см. В нашем исследовании $V_E = 5$ см³; $V_F = 1,5$ дм³; $l = 1$ см.

Определение показателей поглощения света пигментами фитопланктона

Поглощение света взвешенным веществом определяли в соответствии с протоколом NASA [14], используя методику количественного определения на увлажненных фильтрах [15]. Измерение спектра поглощения взвеси проводили на двулучевом спектрофотометре *Lambda 35 (PerkinElmer)* с интегрирующей сферой в диапазоне длин волн от 350 до 750 нм. Коэффициент поглощения света взвешенным веществом $a_p(\lambda)$ рассчитывали по формуле

$$a_p(\lambda) = [2,3 \cdot OD_p(\lambda) \cdot S] \cdot \beta(\lambda) / V, \quad (4)$$

где 2,3 – коэффициент перевода lg в ln; S – рабочая площадь фильтра, м²; V – объем фильтруемой морской воды, м³; β – коррекция изменения оптического пути при осаждении взвеси на фильтре; $OD_p(\lambda)$ – оптическая плотность измеряемого образца (взвесь, собранная на фильтре) [16].

Для разделения показателя $a_p(\lambda)$ на составляющие – поглощение света пигментами фитопланктона ($a_{ph}(\lambda)$) и неживой взвесью ($a_{NAP}(\lambda)$) – пробу обесцвечивали раствором гипохлорита натрия (NaClO) [17], значение $a_{ph}(\lambda)$ рассчитывали по формуле

$$a_{ph}(\lambda) = a_p(\lambda) - a_{NAP}(\lambda). \quad (5)$$

На всех станциях дополнительно к профилю флуоресценции (данные зонда *SBE-911plus*) измеряли интенсивность флуоресценции с помощью лабораторного флуориметра *MEGA-25* с возбуждающим излучением на длине волны ~455 нм¹. Перед измерением пробы морской воды адаптировали к темноте 10–30 мин [18] в зависимости от естественных световых условий существования фитопланктона. Регистрируемые параметры: F_0 – интенсивность флуоресценции хлорофилла a , измеренная при открытых реакционных центрах (РЦ) фотосистемы 2, и F_m – интенсивность флуоресценции хлорофилла a при закрытых РЦ, соответствующие постоянной и максимальной флуоресценции¹. Для определения фоновой флуоресценции окрашенного растворенного органического вещества (англ. *Colored Dissolved Organic Matters*, сокращенно *CDOM*), относительно которой рассчитывали флуоресценцию F хлорофилла a , пробы морской воды фильтровали через нуклеопоровый фильтр (*Sartorius*) с размерами пор 0,2 мкм под вакуумом < 0,2 атм. Использование лабораторного флуориметра для определения концентрации хлорофилла a C_a по показателям интенсивности флуоресценции F предполагает¹ линейную зависимость между этими величинами:

$$F = A \cdot C_a + b, \quad (6)$$

¹ Маторин Д. Н., Осипов В. А., Рубин А. Б. Методика измерений обилия и индикации изменения состояния фитопланктона в природных водах флуоресцентным методом. Теоретические и практические аспекты. М. : Альтекс, 2012. 138 с.

где F – постоянная (F_0) либо максимальная (F_m) интенсивность флуоресценции; A – коэффициент пропорциональности между интенсивностью флуоресценции F и концентрации хлорофилла $a C_a$. Коэффициент b соответствует фоновой флуоресценции, в основном связанной с флуоресценцией $CDOM$. Такой вид зависимости в уравнении (6) соответствует случаю постоянной концентрации $CDOM$. На основе данных по поглощению света $CDOM$ можно сделать вывод, что содержание этой оптически активной компоненты в Черном море существенно изменяется в течение года. При этом для отдельного сезона характерна вариабельность этого параметра с изменением как глубины, так и удаленности от берега [19–21]. Поэтому в наших исследованиях во всех пробах измерялось значение флуоресценции $F CDOM$, которое вычитали из исходного измерения, чтобы получить флуоресценцию, связанную только с фитопланктоном. В результате зависимость флуоресценции F от концентрации хлорофилла $a C_a$ (6) принимает вид

$$F = A \cdot C_a, \quad (7)$$

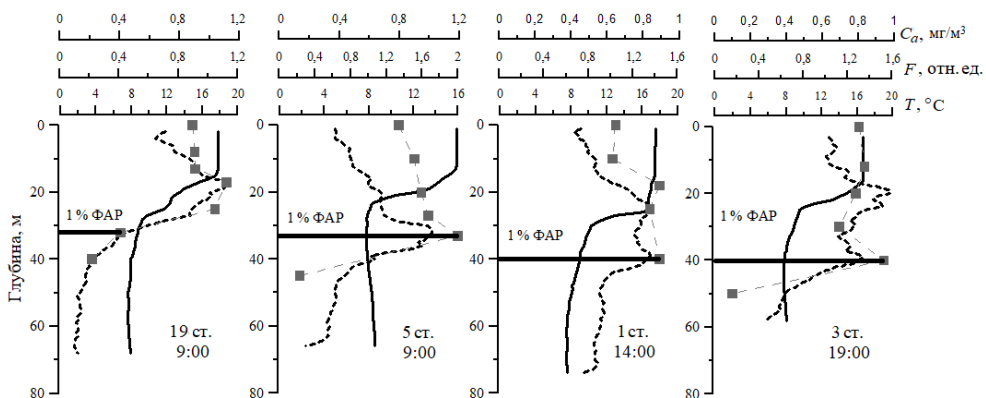
где A – коэффициент, равный удельной (нормированной на C_a) флуоресценции F^* .

Результаты

Концентрация хлорофилла a

В районе исследований (рис. 1) в конце октября 2017 г. температура воды на поверхности была 16–18 °С (рис. 2). ВКС варьировал между станциями от 12 до 20 м. ТК отмечен в слое 12–25 м почти на всех станциях, за исключением двух последних в экспедиции (ст. 21 и 19), на которых работали после шторма. Глубина зоны фотосинтеза Z_{eu} (1 % ФАР) изменялась между станциями в пределах 30–38 м. Уровень облученности в 0,1 % ФАР был отмечен на глубинах 50–57 м. Почти на всех исследуемых станциях в профиле флуоресценции F наблюдался максимум вблизи нижней границы зоны фотосинтеза (1 % ФАР).

Относительное содержание феопигментов (от значения ($C_{phae} + C_a$)) составляло 0–18 %, причем только на нижних горизонтах отмечалась доля более 10 %. В связи с небольшим содержанием феопигментов в работе использовали концентрацию хлорофилла $a C_a$. Типичные профили вертикального распределения концентрации хлорофилла $a C_a$ представлены на рис. 2. ВКС был практически однородным по C_a (рис. 2). Однако между станциями значение C_a в ВКС увеличивалось почти вдвое – от 0,56 до 0,96 мг·м⁻³, составляя в среднем для района исследований $0,78 \pm 0,11$ мг·м⁻³. На многих станциях в слое ТК отмечалось увеличение концентрации хлорофилла $a C_a$ от 0,7 до 1,01 мг·м⁻³ (в среднем $0,88 \pm 0,1$ мг·м⁻³). На глубине проникновения 1 % ФАР в профиле C_a наблюдали максимум со значениями в пределах 0,89–1,2 мг·м⁻³, что в среднем составляло $1,0 \pm 0,12$ мг·м⁻³.



Р и с. 2. Профиль вертикального распределения температуры (T) (сплошная линия), интенсивности флуоресценции (F) (пунктирная линия) и концентрации хлорофилла a (C_a) (серые квадраты) на отдельных станциях в разное время светового дня, октябрь 2017 г.

Fig. 2. Profile of temperature vertical distribution (T) (solid line), fluorescence intensity (F) (dotted line) and chlorophyll a concentration (C_a) (grey squares) at some stations in various periods of a light day, October, 2017

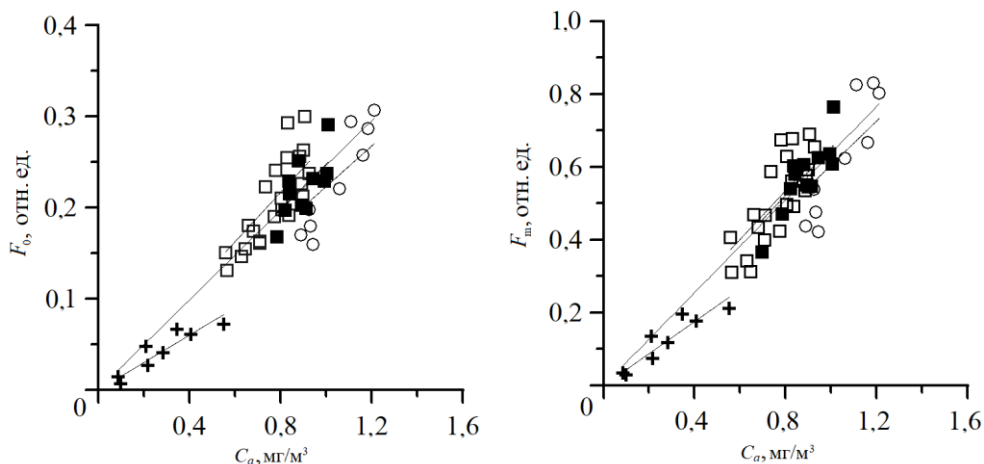
На основе данных измерения концентрации хлорофилла a C_a , профилей температуры и флуоресценции F , регистрируемых измерительным комплексом CTD -зонда, было выделено четыре слоя существования фитопланктона: первый – ВКС, второй – ТК, третий – между ТК и глубиной проникновения 1 % ФАР и четвертый – между глубиной проникновения 1 и 0,1 % ФАР. Зависимость флуоресценции F от концентрации хлорофилла a C_a была исследована как в целом для всего массива данных, так и для выделенных слоев (рис. 3). Получено, что в целом для всего исследованного слоя эта зависимость описывается уравнениями

$$F_0 = 0,24 C_a, \quad r^2 = 0,97, \quad (8)$$

$$F_m = 0,64 C_a, \quad r^2 = 0,98. \quad (9)$$

Из приведенных на рис. 3 графиков видно, что установленные зависимости F от C_a (8)–(9) будут завышать значения C_a в 3-м и 4-м слоях, расположенных глубже ТК, и занижать – в 1-м слое (ВКС). Поэтому для каждого из выделенных слоев были рассчитаны значения коэффициента A из уравнения (7), которые приведены в табл. 1.

Коэффициент A уменьшается с глубиной в пределах всей исследованной водной толщи (табл. 1). При этом значение коэффициента A снижается на 10–20 % в верхних трех слоях и наиболее резко уменьшается в 4-м слое. Фактически изменение коэффициента A отражает снижение с глубиной флуоресцентной активности единицы концентрации хлорофилла a (F^*). Следует отметить полученную высокую корреляцию (r^2) между F и C_a (табл. 1). Значение r^2 было наибольшим для зависимости F_m , что объясняется более высокими значениями F_m и, как следствие, меньшей вносимой погрешностью.



Р и с. 3. Сравнение измеренных значений концентрации хлорофилла a (C_a) с интенсивностью флуоресценции хлорофилла a (F_0 и F_m) для выделенных слоев в октябре 2017 г.: в верхнем квазиоднородном слое (\square), в слое температурной стратификации (\blacksquare), слое между слоем температурной стратификации и глубиной проникновения 1 % ФАР (\circ) и между глубиной проникновения 1 и 0,1 % ФАР (+)

F i g. 3. Comparison of the measured values of the chlorophyll a concentration (C_a) measured values with intensity of chlorophyll a fluorescence (F_0 and F_m) for the layers distinguished in October, 2017: the upper mixed layer (\square), the temperature stratification layer (\blacksquare), the layers between the temperature stratification layer and the depth of 1% ФАР (\circ) penetration, and between the depth of 1 and 0.1 % ФАР (+)

Т а б л и ц а 1
T a b l e 1

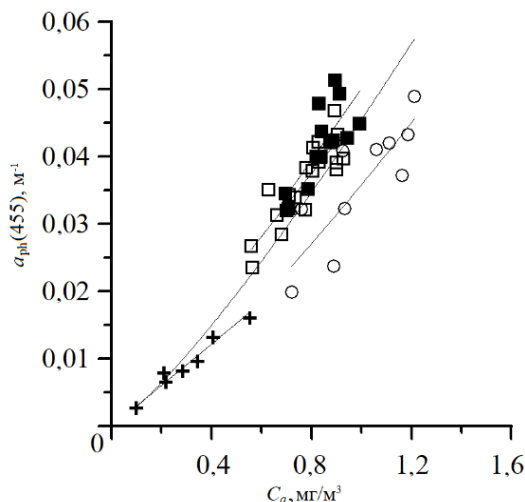
Коэффициент зависимости A постоянной (F_0) и максимальной (F_m) интенсивности флуоресценции от концентрации хлорофилла a и коэффициент корреляции (r^2) в выделенных слоях
Coefficients of dependence A of the constant (F_0) and maximum (F_m) fluorescence intensity on the chlorophyll a concentration and the correlation coefficient r^2 in the distinguished layers

Слой / Layer	Коэффициент A / Coefficients A		r^2		Число пар данных, n / Number of data pairs, n
	F_m	F_0	F_m	F_0	
1. ВКС / Upper mixed layer	0,67	0,27	0,98	0,98	21
2. ТК / Thermocline	0,66	0,25	0,99	0,99	11
3. Слой между ТК и глубиной проникновения 1 % ФАР / Layer between the thermocline and the 1%-PAR penetration	0,61	0,22	0,98	0,98	9
4. Слой между глубиной проникновения 1 и 0,1 % ФАР / Layer between the depths of the 1 and 0.1%-PAR penetration	0,45	0,16	0,95	0,91	8

Поглощение света пигментами фитопланктона

Значение показателя $a_{ph}(\lambda)$ на длине волны 455 нм ($a_{ph}(455)$), соответствующей длине волны возбуждения флуоресценции во флуориметре MEGA-25 [22], изменяется в зависимости от концентрации хлорофилла a C_a (рис. 4). Зависимость между этими параметрами описывается степенным уравнением вида [8]

$$a_{ph}(455) = A(455) \cdot C_a^{B(455)}. \quad (10)$$



Р и с. 4. Зависимость показателя поглощения света пигментами фитопланктона на длине волны ~ 455 нм ($a_{ph}(455)$) от концентрации хлорофилла a (C_a) для выделенных слоев в октябре 2017 г. (обозначение аналогично рис. 3)

F i g. 4. Dependence of the index of light absorption by phytoplankton pigments on the wavelength ~ 455 nm ($a_{ph}(455)$) upon the chlorophyll a concentration (C_a) for the layers distinguished in October, 2017 (indication is the same as in Fig. 3)

Для всего исследованного слоя (и в целом для четырех выделенных слоев) уравнение (10) имеет вид

$$a_{ph}(455) = 0,045 C_a^{1,2}. \quad (11)$$

Коэффициент $A(455)$ получили равным $0,045 \text{ м}^2 \cdot \text{мг}^{-1}$. Фактически этот коэффициент соответствует удельному (нормированному на C_a) показателю поглощения света пигментами фитопланктона на длине волны 455 нм ($a_{ph}^*(455)$) в случае, когда C_a равен $1 \text{ мг} \cdot \text{м}^{-3}$. При других значениях C_a показатель $a_{ph}^*(455)$ будет с ростом C_a увеличиваться, если степенной показатель $B(455)$ в уравнении (10) больше 1, или уменьшаться, если $B(455)$ меньше 1.

Для каждого слоя было проведено исследование зависимости между показателями $a_{ph}(455)$ и C_a . Коэффициенты $A(455)$ и $B(455)$ зависимости, описываемой уравнением (10), полученные для каждого слоя, представлены в табл. 2.

Т а б л и ц а 2
T a b l e 2

Коэффициенты $A(455)$, $B(455)$ в уравнении зависимости (10) и коэффициент корреляции (r^2) в выделенных слоях
Coefficients $A(455)$ and $B(455)$ in the dependence equation (10) and the correlation coefficient (r^2) in the distinguished layers

Слой / Layer	$A(455)$	$B(455)$	r^2	Число пар данных, n / Number of data pairs, n
1. ВКС / Upper mixed layer	0,047	0,99	0,78	21
2. ТК / Thermocline	0,048	0,93	0,61	11
3. Слой между ТК и глубиной проникновения 1 % ФАР / Layer between the thermocline and the 1%-PAR penetration	0,036	1,25	0,66	9
4. Слой между глубиной проникновения 1 и 0,1 % ФАР / Layer between the depths of the 1 and 0.1%-PAR penetration	0,031	1,01	0,97	8

Значение коэффициента $A(455)$ уменьшается с глубиной от первого до четвертого слоя на $\sim 35\%$ (табл. 2). Значение степенного коэффициента $B(455)$ близко к 1 почти во всех слоях, за исключением 3-го слоя. С учетом типа связи (10) получили, что для отмеченного в каждом слое диапазона варируемости концентрации хлорофилла a C_a значение $a_{ph}^*(455)$ оставалось практически неизменным и равным коэффициенту $A(455)$. Между слоями значения $a_{ph}^*(455)$ различались существенно ($\sim 35\%$), о чем свидетельствует уменьшение коэффициента $A(455)$ от первого до четвертого слоя (табл. 2).

Связь интенсивности флуоресценции с показателем поглощения света пигментами фитопланктона

Сравнение вертикального профиля нормированного на концентрацию хлорофилла a показателя поглощения света пигментами фитопланктона $a_{ph}^*(455)$ и флуоресценции F_m^* и F_0^* показало сопряженный характер изменения этих параметров (табл. 3). Значения показателя $a_{ph}^*(455)$ и флуоресценции F_m^* , F_0^* уменьшались с глубиной от 0,047 до 0,031 $\text{м}^2 \cdot \text{мг}^{-1}$ и от 0,67 до 0,45 мг^{-1} , от 0,27 до 0,16 мг^{-1} соответственно.

Значения коэффициента $A(455)$ в уравнении (10), соответствующие удельному показателю поглощения света пигментами фитопланктона на длине волны 455 нм ($a_{ph}^*(455)$), и значения коэффициента A , соответствующие удельной флуоресценции (F_m^* и F_0^*) в выделенных слоях
Values of coefficient $A(455)$ in equation (10) corresponding to the specific index of light absorption by the phytoplankton pigments on the wavelength 455 nm ($a_{ph}^*(455)$), and values of coefficient A corresponding to the specific fluorescence (F_m^* and F_0^*) in the distinguished layers

Слой / Layer	$A(455)$	A	
	a_{ph}^*	F_m^*	F_0^*
1. ВКС / Upper mixed layer	0,047	0,67	0,27
2. ТК / Thermocline	0,048	0,66	0,25
3. Слой между ТК и глубиной проникновения 1 % ФАР / Layer between the thermocline and the 1%-PAR penetration	0,036	0,61	0,22
4. Слой между глубиной проникновения 1 и 0,1 % ФАР / Layer between the depths of the 1 and 0.1%-PAR penetration	0,031	0,45	0,16

Измерение показателей флуоресценции F_m и F_0 проводили на лабораторном флуориметре с постоянной возбуждающей интенсивностью света. Поэтому величину PAR в уравнении (1) принимаем постоянной. Учитывая, что после темновой адаптации фитопланктона, проводимой перед измерением флуоресценции F_0 , закрытых РЦ не остается, можно пренебречь коэффициентом реабсорбции Q_a^* . Следовательно, для F_0 уравнение (1) будет иметь следующий вид:

$$F_0 = C_a \cdot a_{ph}^*(455) \cdot \varphi_F \quad (12)$$

Уравнение (12) преобразуем делением на C_a в вид

$$F_0^* = a_{ph}^*(455) \cdot \varphi_F \quad (13)$$

С использованием значений $a_{ph}^*(455)$ и F_0^* (табл. 3), определенных в среднем для каждого слоя, были рассчитаны значения φ_F . В первом слое φ_F равнялась 5,7; во втором – 5,1; в третьем – 6,1 и в четвертом – 5,1.

Обсуждение

Полученные корреляционные связи между концентрацией хлорофилла a C_a и показателем поглощения света пигментами фитопланктона $a_{ph}(\lambda)$ согласуются с отмеченными ранее характером и степенью изменения $a_{ph}^*(\lambda)$ с глубиной, установленными на основе результатов многолетних наблюдений в Черном море [11, 23]. Вместе с этим интенсивность флуоресценции F находится в прямой зависимости от $a_{ph}^*(\lambda)$ (уравнение (1)). Следовательно, изменение коэффициента пропорциональности A между F и C_a с глубиной в освещенном слое моря является достоверным.

В период сезонной стратификации вод при условии расположения термоклина в пределах зоны фотосинтеза соотношение между флуоресценцией и концентрацией хлорофилла a изменяется с глубиной. В результате акклимации фитопланктонного сообщества к основным факторам среды (температуре, биогенной обеспеченности, освещенности) происходит изменение внутриклеточной концентрации пигментов и соотношения между ними, что приводит к изменению значения параметра $a_{ph}^*(\lambda)$ [7, 24, 25]. Вместе с тем с адаптацией фитопланктонного сообщества к смене условий происходит смена видового состава фитопланктона и, как следствие, меняется пигментный комплекс, а также размерная структура сообщества. Это проявляется в изменении формы спектра и значений показателей $a_{ph}^*(\lambda)$ [8, 23].

Полученные результаты показали, что использование постоянного коэффициента связи C_a и F (для всего продуктивного слоя) в Черном море приведет, как минимум, к 40%-ной ошибке при оценке концентрации хлорофилла a C_a по данным флуоресценции F . Это в основном (на ~ 88 %) обусловлено изменчивостью способности фитопланктона поглощать кванты света в расчете на единицу содержания хлорофилла a ($a_{ph}^*(\lambda)$). Следует отметить, что в период исследований (в октябре) значения падающей на поверхность моря ФАР были меньше ее летних значений [26, 11], а ВКС был глубже, чем в летний период. Толщина ВКС и световые условия в этом слое меняются от момента формирования сезонной стратификации вод (конец весны) к периоду заглубления ВКС (конец осени), что связано с годовым циклом солнечной инсоляции моря [26] и соотношением между толщиной ВКС и Z_{eu} . Такие изменения приводят к тому, что в фитопланктоне, существующем в ВКС, внутриклеточная концентрация увеличивается, доля вспомогательных пигментов уменьшается при снижении средней освещенности в пределах ВКС [24]. Отмеченные изменения в содержании пигментов в клетках микроводорослей сопровождаются уменьшением значений $a_{ph}^*(\lambda)$ [7, 25]. Ранее в работе [11] было проведено сравнение этих параметров в ВКС глубоководной части Черного моря в зимний и летний периоды, что показало почти 3-кратное различие значений $a_{ph}^*(\lambda)$ в синей части спектра (~ 440 нм).

С учетом влияния толщины ВКС и солнечной инсоляции поверхности моря на величину $a_{ph}^*(\lambda)$ в ВКС, степень изменчивости $a_{ph}^*(\lambda)$ с глубиной в зоне фотосинтеза в период сезонной стратификации вод будет меняться.

Можно предположить, что вертикальная изменчивость $a_{ph}^*(\lambda)$ будет максимальной в начале лета, когда совпадают во времени максимальная солнечная активность и минимальная толщина ВКС, а средняя освещенность по ВКС достигает $1000 \text{ мкЭ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ [27]. В результате как коэффициент A в уравнении (7), описывающем связь F с C_a в слое ВКС, так и его изменение с глубиной в зоне фотосинтеза будут максимальными в начале летнего периода.

Выводы

Показана вертикальная изменчивость связи концентрации хлорофилла a с его флуоресценцией в период сезонной стратификации вод, выделено четыре качественно различных слоя и продемонстрировано, что использование постоянного коэффициента связи между C_a и F (для всего продуктивного слоя) в Черном море приведет, как минимум, к 40%-ной ошибке при оценке C_a по данным F .

В связи с отмеченным непостоянством связи между концентрацией хлорофилла a и его флуоресценцией, а также существенным влиянием условий среды на связь между концентрацией хлорофилла a и способностью фитопланктона поглощать солнечную энергию планируется провести в дальнейшем исследования оценки концентрации хлорофилла a по данным флуоресценции, измеряемой с помощью *BioArgo* буев.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lorenzen C. J. A method for the continuous measurement of *in vivo* chlorophyll concentration // Deep Sea Research and Oceanographic Abstracts. 1966. Vol. 13, iss. 2. P. 223–227. [https://doi.org/10.1016/0011-7471\(66\)91102-8](https://doi.org/10.1016/0011-7471(66)91102-8)
2. Kiefer D. A. Fluorescence properties of natural phytoplankton populations // Marine Biology. 1973. Vol. 22, iss. 3. P. 263–269. <https://doi.org/10.1007/BF00389180>
3. Combined processing and mutual interpretation of radiometry and fluorimetry from autonomous profiling Bio-Argo floats: Chlorophyll a retrieval / X. Xing [et al.] // Journal of Geophysical Research: Oceans. 2011. Vol. 116, iss. C6. C06020. <https://doi.org/10.1029/2010JC006899>
4. Application of SeaWiFS data for studying variability of bio-optical characteristics in the Barents, Black and Caspian Seas / O. V. Kopelevich [et al.] // Deep-Sea Research Part II: Tropical Studies in Oceanography. 2004. Vol. 51, iss. 10–11. P. 1063–1091. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2003.10.009>
5. Processing bio-Argo chlorophyll-A concentration at the DAC level. Argo data management / C. Schmechtig [et al.]. <https://doi.org/10.13155/39468>
6. Babin M. Phytoplankton fluorescence: theory, current literature and *in situ* measurement // Real-time Coastal Observing Systems for Marine Ecosystem Dynamics and Harmful Algal Blooms: Theory, Instrumentation and Modelling / Ed. M. Babin, C. S. Roesler, J. J. Cullen. Paris : UNESCO Publishing, 2008. P. 237–280. URL: <https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000160000> (date of access: 04.07.2019).
7. Morel A., Bricaud A. Theoretical results concerning light absorption in a discrete medium, and application to specific absorption of phytoplankton // Deep-Sea Research Part A: Oceanographic Research Papers. 1981. Vol. 28, iss. 11. P. 1375–1393. [https://doi.org/10.1016/0198-0149\(81\)90039-X](https://doi.org/10.1016/0198-0149(81)90039-X)
8. Variability in the chlorophyll-specific absorption coefficients of natural phytoplankton: Analysis and parameterization / A. Bricaud [et al.] // Journal of Geophysical Research: Oceans. 1995. Vol. 100, iss. C7. P. 13321–13332. <https://doi.org/10.1029/95JC00463>

9. *Falkowski P., Kiefer D. A.* Chlorophyll *a* fluorescence in phytoplankton: relationship to photosynthesis and biomass // *Journal of Plankton Research*. 1985. Vol. 7, iss. 5. P. 715–731. <https://doi.org/10.1093/plankt/7.5.715>
10. Nitrogen- and irradiance-dependent variations of the maximum quantum yield of carbon fixation in eutrophic, mesotrophic and oligotrophic marine systems / M. Babin [et al.] // *Deep-Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*. 1996. Vol. 43, iss. 8. P. 1241–1272. [https://doi.org/10.1016/0967-0637\(96\)00058-1](https://doi.org/10.1016/0967-0637(96)00058-1)
11. Light Absorption by Phytoplankton in the Upper Mixed Layer of the Black Sea: Seasonality and Parameterization / T. Churilova [et al.] // *Frontiers in Marine Science*. 2017. Vol. 4. Article 90. 14 p. <https://doi.org/10.3389/fmars.2017.00090>
12. *Ведерников В. И.* Первичная продукция и хлорофилл в Черном море в летне-осенний период // Структура и продукционные характеристики планктонных сообществ Черного моря / Отв. ред. М. Е. Виноградов, М. В. Флинт. М. : Наука, 1989. С. 65–83. URL: <http://www.geokniga.org/bookfiles/geokniga-1989blacksea.pdf> (дата обращения: 02.08.2019).
13. *Lorenzen C. J.* Determination of chlorophyll and phaeo-pigments: spectrophotometric equations // *Limnology and Oceanography*. 1967. Vol. 12, iss. 2. P. 343–346. <https://doi.org/10.4319/lo.1967.12.2.0343>
14. Determination of spectral absorption coefficients of particles, dissolved material and phytoplankton for discrete water samples / B. G. Mitchell [et al.] // *Ocean optics protocols for satellite ocean color sensor validation, Revision 3, Volume 2* / Eds. J. L. Mueller, G. S. Fargion. Greenbelt, Maryland : Goddard Space Flight Center, 2002. Chapter 15. P. 231–257. URL: https://www.researchgate.net/publication/255606432_Determination_of_spectral_absorption_coefficients_of_particles_dissolved_material_and_phytoplankton_for_discrete_water_samples (date of access: 02.08.2019).
15. *Yentsch C. S.* Measurement of visible light absorption by particulate matter in the ocean // *Limnology and Oceanography*. 1962. Vol. 7, iss. 2. P. 207–217. <https://doi.org/10.4319/lo.1962.7.2.0207>
16. *Mitchell B. G.* Algorithms for determining the absorption coefficient for aquatic particulates using the quantitative filter technique // *Proceedings SPIE. SPIE*, 1990. Vol. 1302: Ocean optics X. P. 137–148. <https://doi.org/10.1117/12.21440>
17. *Tassan S., Ferrari G. M.* An alternative approach to absorption measurements of aquatic particles retained on filters // *Limnology and Oceanography*. 1995. Vol. 40, iss. 8. P. 1358–1368. <https://doi.org/10.4319/lo.1995.40.8.1358>
18. *Гаевский Н. А., Моргунов В. Н.* Использование переменной и замедленной флуоресценции хлорофилла для изучения фотосинтеза растений // *Физиология растений*. 1993. Т. 40, № 1. С. 119–127.
19. *Berthon J.-F., Mélin F., Zibordi G.* Ocean colour remote sensing of the optically complex European seas // *Remote Sensing of the European Seas* / Eds. V. Barale, M. Gade. Dordrecht : Springer, 2008. P. 35–52. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6772-3_3
20. Определение концентрации хлорофилла *a* в Черном море на основе показателей флуоресценции / Н. А. Моисеева [и др.] // *Водные ресурсы: изучение и управление (лимонологическая школа-практика). Материалы V Международной конференции молодых ученых (5–8 сентября 2016 г.)* / Отв. ред. Д. А. Субетто [и др.]. Т. 1. Петрозаводск : Карельский научный центр РАН, 2016. С. 305–313. URL: http://elibrary.krc.karelia.ru/501/1/водные%20ресурсы_1том.pdf (дата обращения: 07.07.2019).
21. Annual variability in light absorption by particles and colored dissolved organic matter in the Crimean coastal waters (the Black Sea) / T. Churilova [et al.] // *Proceedings SPIE. SPIE*, 2017. Vol. 10466: 23rd International Symposium on Atmospheric and Ocean Optics: Atmospheric Physics. 104664B. <https://doi.org/10.1117/12.2288339>
22. Применение флуориметра «МЕГА-25» для определения количества фитопланктона и оценки состояния его фотосинтетического аппарата / С. И. Погосян [и др.] // *Вода: Химия и экология*. 2009. № 6(12). С. 34–40.

23. Phytoplankton light absorption in the deep chlorophyll maximum layer of the Black Sea / T. Churilova [et al.] // *European Journal of Remote Sensing*. 2019. Vol. 52, iss. sup. 1: 37th EARSeL Symposium: Smart Future with Remote Sensing. P. 123–136. <https://doi.org/10.1080/22797254.2018.1533389>
24. Photoacclimation of photosynthesis irradiance response curves and photosynthetic pigments in microalgae and cyanobacteria / H. L. MacIntyre [et al.] // *Journal of Phycology*. 2002. Vol. 38, iss. 1. P. 17–38. <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2002.00094.x>
25. Fujiki T., Taguchi S. Variability in chlorophyll a specific absorption coefficient in marine phytoplankton as a function of cell size and irradiance // *Journal of Plankton Research*. 2002. Vol. 24, no. 9. P. 859–874. doi:10.1093/plankt/24.9.859
26. Photosynthetically available radiation on surface of the Black Sea based on ocean color data / V. V. Suslin [et al.] // *SPIE Proceedings*. SPIE, 2015. Vol. 9680: 21st International Symposium Atmospheric and Ocean Optics: Atmospheric Physics. 6 p. doi:10.1117/12.2203660
27. Чурилова Т. Я., Суслин В. В. О причинах доминирования *Emiliania huxleyi* в фитопланктоне глубоководной части Черного моря в начале лета // *Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа*. Севастополь : ЭКОСИ-Гидрофизика, 2012. Вып. 26, т. 2. С. 195–203.

Об авторах:

Моисеева Наталья Александровна, младший научный сотрудник, научно-исследовательский центр Геоматики, ФГБУН ФИЦ ИнБЮМ имени А. О. Ковалевского (299011, Россия, г. Севастополь, пр. Нахимова, 2), **ORCID ID: 0000-0003-1356-7981**, **Scopus Author ID: 57194431032**, **AuthorID: 959717** SPIN-код: **8946-3315**, nataliya-moiseeva@yandex.ru

Чурилова Татьяна Яковлевна, ведущий научный сотрудник, руководитель научно-исследовательского центра Геоматики, ФГБУН ФИЦ ИнБЮМ имени А. О. Ковалевского (299011, Россия, г. Севастополь, пр. Нахимова, 2), кандидат биологических наук, **ORCID ID: 0000-0002-0045-7284**, **Scopus Author ID: 6603622802**, **ResearcherID: O-8437-2016**, **AuthorID: 888565** SPIN-код: **2238-9533**, tanya.churilova@gmail.com

Ефимова Татьяна Владимировна, младший научный сотрудник, научно-исследовательский центр Геоматики, ФГБУН ФИЦ ИнБЮМ имени А. О. Ковалевского (299011, Россия, г. Севастополь, пр. Нахимова, 2), **ORCID ID: 0000-0003-3908-4160**, **Scopus Author ID: 57194423783**, **AuthorID: 766926** SPIN-код: **1668-0742**, tatyana-iefimova@yandex.ru

Кривенко Ольга Валерьевна, старший научный сотрудник, отдел биофизической экологии, ФГБУН ФИЦ ИнБЮМ имени А. О. Ковалевского (299011, Россия, г. Севастополь, пр. Нахимова, 2), кандидат биологических наук, **ORCID ID: 0000-0001-6292-5293**, **Scopus Author ID: 6602415951**, **ResearcherID: O-8541-2016**, **AuthorID: 933995** SPIN-код: **1828-7516**, olkkrivenko@gmail.com

Маторин Дмитрий Николаевич, ведущий научный сотрудник, кафедра биофизики, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова (119192, Россия, Москва ул. Ленинские Горы, 1), доктор биологических наук, профессор, **ResearcherID: S-5443-2016**, **Scopus Author ID: 6701647993**, matorin@biophys.msu.ru