

Структурные и функциональные характеристики фитопланктона в прибрежных водах Черного моря

Е. С. СОЛОМОНОВА

Институт морских биологических исследований им. А. О. Ковалевского РАН
299011, Севастополь, ул. Нахимова, 2
E-mail: solomonov83@mail.ru

Статья поступила 06.12.2018

После доработки 26.02.2019

Принята к печати 06.03.2019

АННОТАЦИЯ

Приведены результаты исследования структурных и функциональных характеристик фитопланктона прибрежного района Черного моря с помощью проточной цитометрии. Получены сведения о сезонной изменчивости биомассы трех групп водорослей (*Synechococcus*, пикоэукариотический фитопланктон, нанофитопланктон), содержания хлорофилла *a*, процента живых клеток и величины флуоресценции FDA (диацетат флуоресцеина), характеризующей функциональное состояние водорослей. Выявлена достоверно положительная связь между величинами (биомасса, автофлуоресценция хлорофилла), определяемыми на проточном цитометре, и содержанием хлорофилла *a*, рассчитанным по стандартным методикам. Показано влияние температуры, освещенности и содержания биогенных элементов в среде на биомассу и величину флуоресценции FDA выделенных групп водорослей. Содержание нитратов и температура не оказывали существенного влияния на обилие пико- и нанофитопланктона, получена достоверно выраженная взаимосвязь между биомассой нанофитопланктона и концентрациями растворенных форм минерального фосфора. Установлена обратная статистически значимая корреляция между интенсивностью света и биомассой пикоэукариотического фитопланктона. Отмечено, что рассматриваемые в работе абиотические факторы среды не оказывали существенного влияния на величину флуоресценции FDA, за исключением температуры: в теплый период года в черноморском биоценозе наиболее активен пикофитопланктон, в то время как холодный период года благоприятен для развития нанофитопланктона.

Ключевые слова: проточная цитометрия, *Synechococcus*, пикоэукариотический фитопланктон, нанофитопланктон, биомасса, факторы среды, диацетат флуоресцеина, хлорофилл *a*, Черное море.

Являясь базовым компонентом водных экосистем, фитопланктон определяет их функциональное состояние и продуктивность, вносит решающий вклад в синтез органического вещества в водоемах. В состав основных показателей, представляющих функциональное состояние морских микроводорослей, традиционно включают ростовые и фотосинтетические показатели, а также концентрации и соотно-

шения основных внутриклеточных компонентов (С/Хл, С/Н). Определение этих характеристик, как правило, требует длительных и трудоемких измерительных процедур, и поэтому они не могут служить экспресс-индикаторами в случае рутинных полевых исследований. Кроме того, с помощью этих методов затруднительно отслеживать влияние быстротекущих воздействий факторов среды.

По мере появления современных методов исследований, в частности метода проточной цитометрии в комбинации с различными витальными красителями [Berglund, Eversman, 1988; Davey, Kell, 1996; Jochem, 1999], стало возможным применение флуоресцентных характеристик водорослей для оценки функционального состояния фитопланктона. В качестве такого интегрального показателя предлагается использовать величину флуоресценции при окрашивании клеток витальным красителем диацетат флуоресцеином (FDA), которая характеризует общую метаболическую активность суспензии клеток, так как в состав FDA входит субстрат, специфичный к ферментам группы эстераз, и позволяет распознавать живые и мертвые клетки микроводорослей на основе проницаемости их мембран [Dorsey et al., 1989]. Если соотношение живых и мертвых клеток водорослей активно используется в лабораторном и промышленном культивировании [Bentley-Mowat, 1982; Gilbert et al., 1992; Davey, Kell, 1996; Jochem, 1999], то применение удельной флуоресценции FDA как показателя метаболической активности сообществ микроводорослей практически не отражено в исследованиях морских фитоценозов. Такой подход является относительно новым в практике гидробиологических исследований, но в то же время обусловлен быстротой, легкостью измерений и возможностью автоматизации.

Другой интерес в исследовании функционирования фитопланктона Черного моря заключается в анализе пространственно-временной изменчивости пико- и нанофитопланктона, который практически не изучен из-за их раз-

мерных характеристик. В литературе встречаются фрагментарные данные о распределении этих групп микроорганизмов в водах Черного моря [Заика и др., 1989; Заика и др., 1991; Шалапенко, Шалапенко, 1997; Uysal, 2000, 2001], которые, безусловно, недостаточны для понимания их роли в экосистеме.

В связи с этим целью настоящей работы явилось исследование сезонной динамики биомассы и флуоресцентных параметров клеток пико- и нанофитопланктона в прибрежных водах Черного моря с помощью проточной цитометрии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Работа выполнялась на базе отдела экологической физиологии водорослей и отдела планктона Института морских биологических исследований. Пробы отбирали в поверхностном слое (0,1 м) Черного моря ежемесячно с января по декабрь 2014 г. на модельной станции глубиной 5 м, расположенной в Севастопольской бухте с внутренней стороны южного заградительного мола, примерно в 300 м от входа в бухту (рис. 1). Наличие мола обуславливает затрудненный водообмен и защиту от волнового воздействия Севастопольской бухты. Не менее чем в 60 м от станции ближе к входу в бухту находится мидийная плантация [Финенко и др., 2017]. Всего собрано и обработано более 120 проб. В работе также использованы данные по содержанию биогенных элементов в Черном море, полученные сотрудником отдела аквакультуры и морской фармакологии в указанный период. Гидрохимические параметры определяли согласно

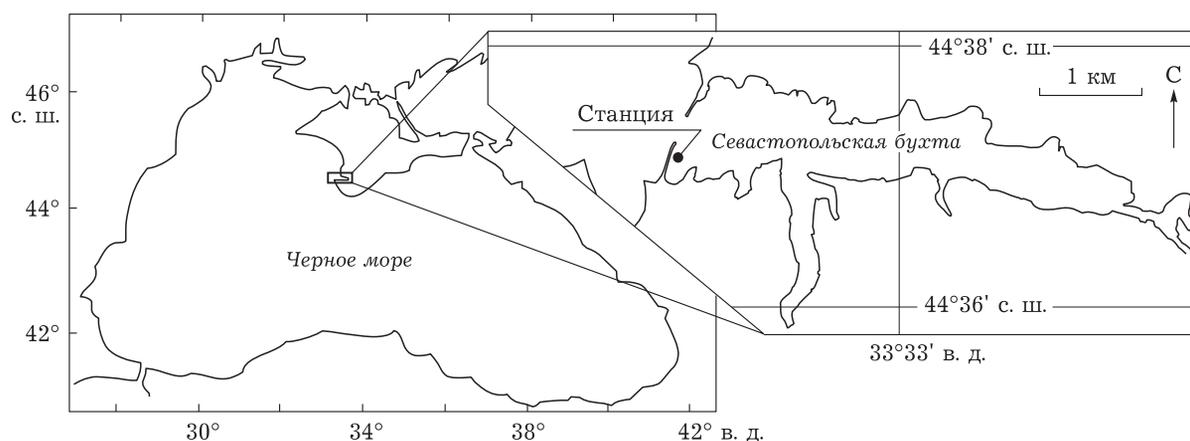


Рис. 1. Расположение станции в прибрежных водах Черного моря в районе Севастополя

[Орадовский, 1993]: минеральный фосфор – по Морфи и Райли, аммоний – по Гроссгофу – Юхансену, нитраты – восстановлением до нитритов омедненным кадмием с последующим их определением единым «цветным» реактивом, кремнекислоту – по голубому кремнемолибденовому комплексу.

Содержание хлорофилла определяли стандартным спектрофотометрическим методом [Jeffrey, Humphrey, 1975], температуру воды – непосредственно в момент отбора пробы. Освещенность измерялась в течение всего светового дня каждый час с помощью люксметра Ю-116. Переходный коэффициент от освещенности в люксах к интенсивности солнечной радиации (ФАР) принимали равным $1000 \text{ Лк} = 20 \text{ мкЭ}/(\text{м}^2 \cdot \text{с})$ [Парсонс и др., 1982].

Цитометрический анализ. Для исследования динамики численности пико- (размер клеток 0,2–2 мкм) и нанофитопланктона (размер клеток 2–20 мкм) применяли проточный цитометр Cytomics™ FC 500 (Beckman Coulter, США), оборудованный 488 нм однофазным аргоновым лазером и программным обеспечением СХР. Исследовались только указанные размерные группы водорослей из-за невозможности проточного цитометра пропускать клетки размером свыше 35 мкм. Общую численность исследуемых групп микроводорослей определяли в неокрашенных пробах с помощью гейтинга популяций клеток на двухпараметрических цитограммах прямого светорассеивания (FS) и автофлуоресценции в красной (FL4, 675 нм) и оранжевой (FL2, 575 нм) спектральных областях на безразмерных логарифмических шкалах [Муханов и др., 2016].

Оранжевая флуоресценция фикоэритрина (FL2, 575 нм) была использована для идентификации кластеров пикоцианобактерий *Synechococcus* [Marie et al., 2005; Муханов и др., 2016]. Эти группы образуют кластеры на цитограммах, которые характеризуются высоким содержанием фикоэритрина и его отсутствием у пикоэукариотического фитопланктона.

Численность живых клеток микроводорослей определяли в пробах, окрашенных флуорохромом FDA (Molecular Probes, США), с помощью гейтинга популяции клеток на двухпараметрических цитограммах прямого светорассеивания (FS) и флуоресценции FDA (максимумы возбуждения и эмиссии соответственно 494 и 518 нм) в зеленой

области спектра (канал FL1, 525 нм) на безразмерных логарифмических шкалах. Диацетат флуоресцеина (FDA), в состав которого входит субстрат, специфичен к ферментам группы эстераз, является маркером метаболической активности в живых клетках, а интенсивность его флуоресценции пропорциональна физиологической активности каждой из исследуемых клеток [Dorsey et al., 1989; Gilbert et al., 1992].

Для цитометрического анализа отбирали аликвоты объемом 3 мл в трех повторностях. Окраску пико- и нанофитопланктона флуорохромом FDA проводили в соответствии с протоколами, описанными ранее [Соломонова, Муханов, 2011; Соломонова, 2016], непосредственно после отбора проб. Рассчитывали среднее значения аккумуляированной флуоресценции FDA на клетку, обозначив ее как величину флуоресценции FDA.

Биомассу исследуемых размерных групп в единицах углерода рассчитывали с использованием коэффициентов, определенных в работах [Heldal et al., 2003] для *Synechococcus*, [Worden et al., 2004] для пикоэукариотов и [Verity et al., 1992] для нанофитопланктона.

Цитометрические данные обрабатывали с использованием программы *flowing software 2* (www.floowingsoftware.com).

Статистический анализ. Статистическую обработку данных выполняли с помощью стандартных программных пакетов Microsoft Excel 7.0, Statistica-5, Grapher-9, Sigma Plot для персонального компьютера. Рассчитывали средние арифметические и стандартные отклонения (*SD*) численности и доли живых клеток исследуемых размерных групп (минимум 3000 клеток для каждой пробы) в трех повторностях. Достоверность различий выборочных средних оценивали с помощью парного *t*-критерия (α) и коэффициентов корреляции (*R*). Для получения уравнений регрессии использовали линейный регрессионный анализ ($p = 95\%$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Минимальные значения концентрации хлорофилла *a* и суммарной биомассы пико- и нанофитопланктона наблюдались в зимний и ранневесенний периоды – 0,5–0,7 мг/м³ и 100–200 мг С/м³ соответственно. Синхрон-

ное повышение этих параметров происходило в течение весеннего периода до июня при температурах 9–18 °С (примерно в 2,5 раза). По мере прогрева воды и увеличения инсоляции в июле содержание хлорофилла *a* водорослей снижалось в среднем в 1,4 раза и сохранялось в пределах 0,9–1,5 мг/м³. При понижении температуры в октябре и ноябре и разрушении стратификации содержание хлорофилла *a* повышалось до 1,5–1,7 мг/м³, при этом рост биомассы водорослей был незначительным, в среднем 220 мг С/м³. Максимальные величины биомассы фитопланктона наблюдались в июне (450 мг С/м³) и превосходили зимнее значение в 2,5 раза (рис. 2, а). Следует отметить, что биомасса водорослей определялась на проточном цитометре, а концентрация хлорофилла *a* – стандартным спектрофотометрическим методом [Jeffrey, Humphrey, 1975], где учитывались клетки размером свыше 35 мкм. Возможно, этим и объясняются полученные более высокие значения хлорофилла *a* по сравнению с биомассой в осенний период, в фитопланктоне которой, по данным [Финенко и др., 2017], доминировали крупные размерные фракции и нитчатые колонии диатомовых водорослей.

Между величинами суммарной автофлуоресценции клеток водорослей (канал FL4, 675 нм), определяемыми на проточном цитофлуориметре, и содержанием хлорофилла *a* наблюдалась линейная корреляция ($R^2 = 0,81$). Между биомассой исследуемых групп водорослей и содержанием хлорофилла *a* также по-

лучена линейная корреляция с коэффициентом детерминации $R^2 = 0,8$ (рис. 3).

Рассматривая отдельно вклад биомассы пикофитопланктона (*Synechococcus* и эукариотический пикофитопланктон), следует отметить, что она практически не изменялась в течение годового цикла и составила в среднем 18 мг С/м³ (см. рис. 2, б). На протяжении всего периода исследования данная группа водорослей вносила минимальный вклад в суммарную биомассу фитопланктона: от 8 % в теплый период года (температура воды >15 °С) до 26 % в холодный период года (температуры воды <15 °С). Основной вклад в биомассу вносил нанофитопланктон, обилие которого имело тенденцию к повышению от зимы к лету (см. рис. 2, б). Второй пик биомассы нанофитопланктона отмечен в осенний период.

В таблице представлены коэффициенты корреляции, формально рассчитанные между абиотическими факторами среды и биомассой исследуемых групп водорослей. Интерпретация полученных коэффициентов должна проводиться с учетом возможных причинно-следственных связей между сравниваемыми величинами. Так, низкая корреляция обилия пико- и нанофитопланктона с температурой воды и содержанием нитратов в водной толще может быть следствием слабовыраженной сезонности этих параметров или значительными различиями в их сезонной динамике. Значимая обратная корреляция между биомассой пикоэукариотических водорослей и облучен-

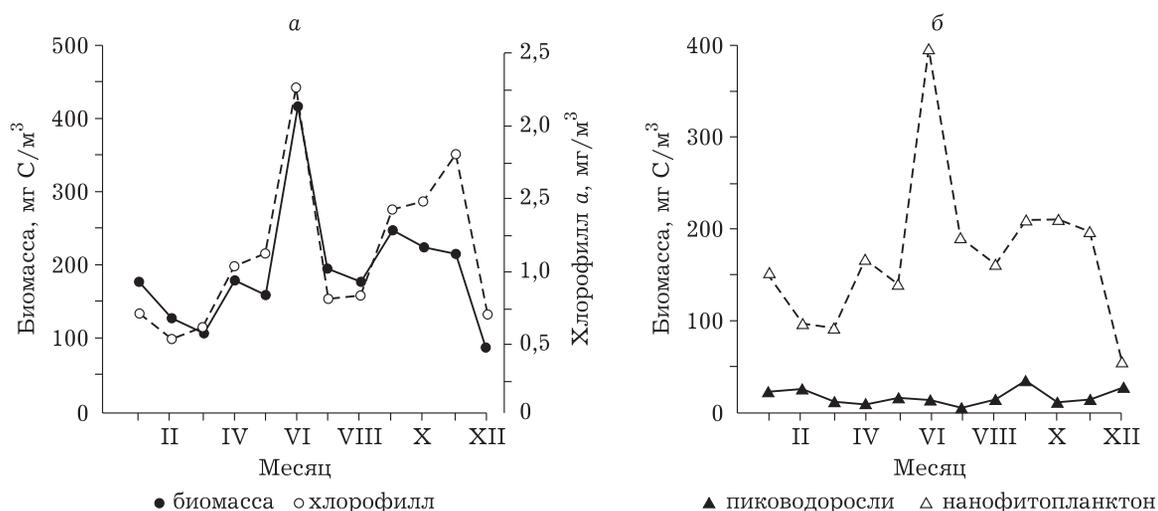


Рис. 2. Сезонные изменения концентрации хлорофилла *a* и биомассы водорослей (а), биомассы выделенных групп водорослей (б)

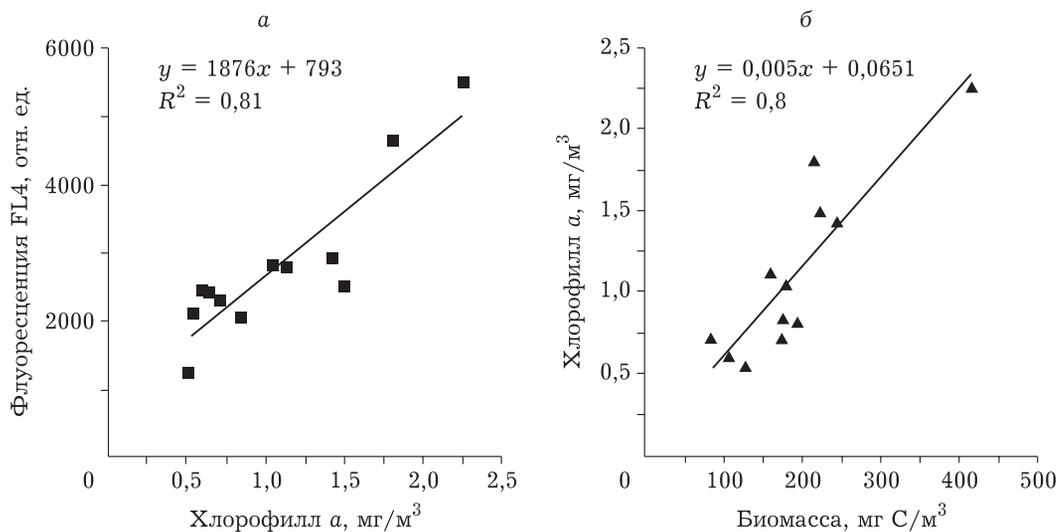


Рис. 3. Взаимосвязь хлорофилла *a* и автофлуоресценции клеток водорослей (*a*), хлорофилла *a* и биомассы (*б*)

ностью отражает закономерность того, что в теплый период года избыточная инсоляция приводит к снижению биомассы пикоэукариотических водорослей.

Получены значимые положительные величины *r* между биомассой нанофитопланктона и содержанием фосфора в морской среде. Однако более достоверная интерпретация согласованности этих величин может быть выполнена с учетом совместного действия абиотических факторов путем расчета частных коэффициентов корреляций или применения одного из методов многомерного статистического анализа (например, канонический корреляционный анализ).

Процент живых клеток не проявлял сезонной вариабельности и составлял в течение всего периода исследований от 70 до 100 % (рис. 4). Следует отметить, что FDA окрашивает не только живые активные клетки, но и малоактивные, находящиеся в стадии покоя, с неразрушенной цитоплазматической

мембраной. Флуоресценция таких клеток значительно слабее по сравнению с живыми активными клетками.

Поэтому для исследуемых групп водорослей мы вводим параметр величины средней флуоресценции FDA на клетку. Такой параметр уже приводился нами ранее для описания функционального состояния культур водорослей при воздействии на них различного рода абиотических факторов среды [Соломонова, Акимов, 2012]. Исходя из данных, представленных на рис. 5, в зимне-весенний период величина флуоресценции FDA для пикофитопланктона (*Synechococcus* и пикоэукариотических водорослей) имела низкие значения, для нанофитопланктона данный параметр сохранял высокие значения при низкой температуре. По мере прогрева воды в середине мая значение показателя флуоресценции FDA увеличивалось для пикофитопланктона в среднем в 2–3 раза и практически не изменялось вплоть до октября.

Коэффициенты парной корреляции между исследуемыми переменными*

Биомасса, мг C/м ³	<i>I</i> , Э/(м ² ·день)	<i>T</i> , °C	NO ₃	NH ₄	PO ₄	Si	Численность, 10 ³ кл./мл
<i>Synechococcus</i>	-0,16	0,37	-0,25	0,06	0,25	<u>0,67</u>	<u>0,97</u>
Пикоэукариотические водоросли	-0,75	-0,53	0,18	0,03	-0,47	0,35	<u>0,98</u>
Нанофитопланктон	0,46	0,53	-0,28	-0,4	<u>0,63</u>	0,11	<u>0,87</u>

* Подчеркнуты статистически значимые (*p* < 0,05) показатели.

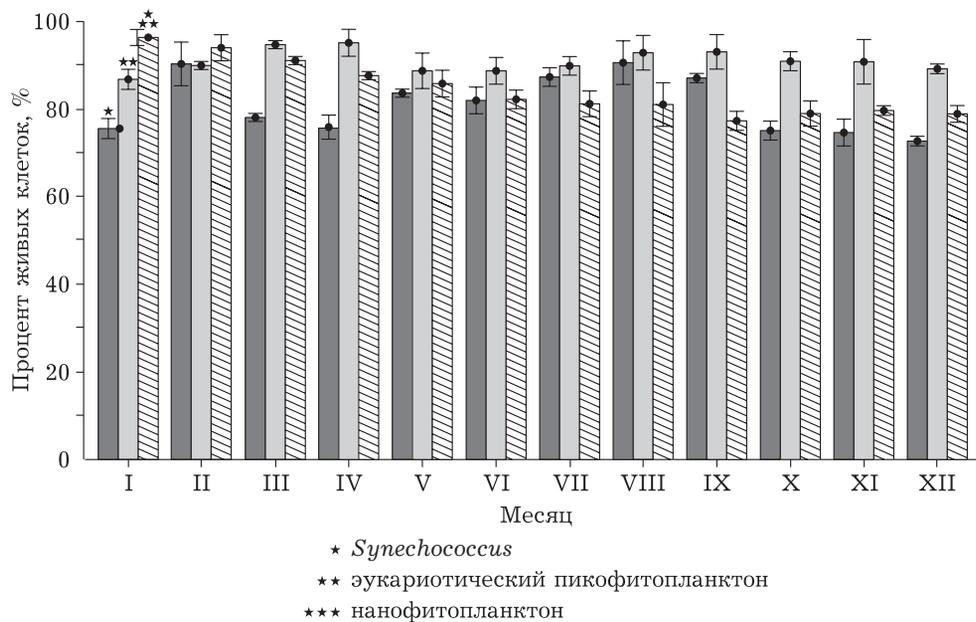


Рис. 4. Сезонная динамика доли живых клеток исследуемых групп водорослей

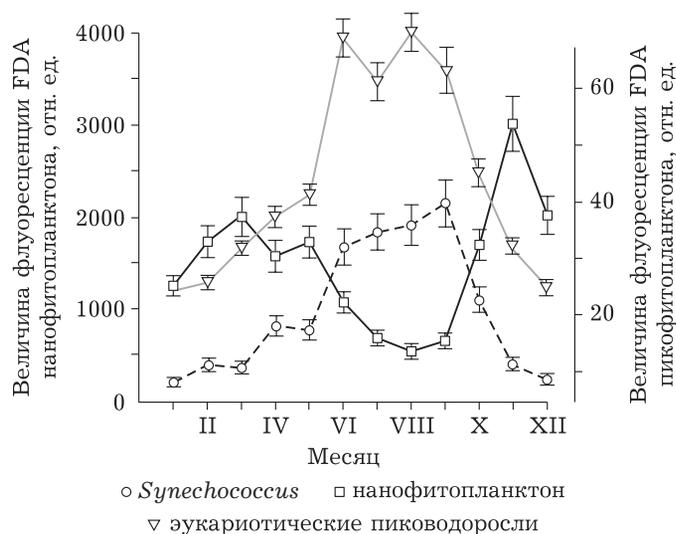


Рис. 5. Сезонный ход величины флуоресценции FDA выделенных групп фитопланктона

При понижении температуры в осенне-зимний период величина флуоресценции FDA значительно снижалась. Для нанопитопланктона получена обратная зависимость флуоресценции FDA от температуры (рис. 6). Однако полученные высокие проценты живых клеток для всех групп водорослей в исследуемый период говорят о сохранении жизнеспособности водорослей, несмотря на снижение активности внутриклеточной эстеразы в клетках.

Другие абиотические факторы среды не оказывали существенного влияния на величину флуоресценции FDA.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные в работе результаты подтвердили гипотезу, выдвинутую в более ранних исследованиях, об отсутствии существенного вклада крупных клеток водорослей в суммарный хлорофилл прибрежной зоны Черного

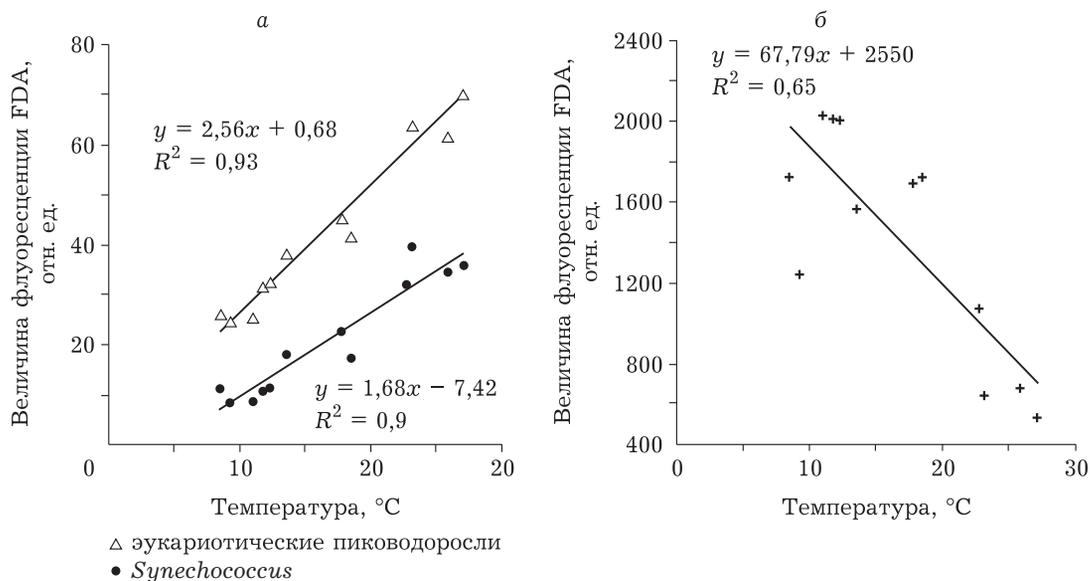


Рис. 6. Связь между величиной флуоресценции FDA и температурой воды для пико- (а) и нанофитопланктона (б)

моря. Так, был сделан анализ сезонных размерных спектров фитопланктона по измерениям хлорофилла *a* в Черном море и показано доминирование мелкоразмерного фитопланктона (клетки от 0,2 до 10 мкм) на большей части периода исследования [Осадчая, 2007]. Автором отмечена общая тенденция повышения роли мелких клеток в структуре фитопланктона бухты, которая была особенно наглядна при рассмотрении величин совокупных относительных вкладов пико- и нанофитопланктона, составлявших от 64 до 75 % в суммарных концентрациях хлорофилла *a* в зависимости от района и до 70 % для бухты в целом. Это, возможно, и объясняет достоверно положительную корреляцию между величинами, измеренными на проточном цитометре, и концентрацией хлорофилла *a*, определенной спектрофотометрическим методом.

Диапазоны изменения количественных показателей пикофитопланктона, полученные нами для прибрежных черноморских вод, в целом соответствовали ранее опубликованным данным для Черного моря [Стельмах, 1988; Осадчая, 2007; Муханов и др., 2016]. Так, Л. В. Стельмах [1988] показано, что на долю пикофитопланктона в Севастопольской бухте приходилось от 18 до 44 % первичной продукции и от 20 до 40 % хлорофилла *a* в течение года. Сезонные изменения биомассы нанофитопланктона, основу кото-

рой, вероятно, составляли кокколитофорида *Emiliania huxleyi* и мелкие диатомовые виды (*Skeletonema costatum*, водоросли рода *Chaetoceros*), также соответствовали ранее полученным результатам [Стельмах и др., 2009; Финенко и др., 2011].

В литературе не раз отмечалось, что низкая температура и интенсивность света зимой обеспечивают преимущество в развитии пикоэукариотических водорослей, тогда как более высокие значения этих параметров благоприятны для цианобактерий [Partensky et al., 1999]. В работе [Shapiro, 1990] автором выдвинуты основные гипотезы, которые указывают на особенности цианобактерий, позволяющие им конкурировать с пикоэукариотическими водорослями и вносить свой вклад в развитие фитоценоза: а) цианобактерии способны развиваться при высокой температуре воды, б) цианобактерии выживают в широком световом диапазоне, в) наблюдаются вспышки развития цианобактерий в водах с низким содержанием биогенных элементов. Возможность *Synechococcus* расти в широком диапазоне интенсивностей света и при лимитировании водорослей биогенными элементами в воде, что формирует его развитие в летний и раннеосенний периоды, обеспечивается благодаря содержащемуся в них пигменту – фикозеритрину, который они используют как внутренний источник азота [Wyman, 1992]

и при адаптации к различным световым условиям [Glover et al., 1987; Takahashi et al., 1989].

Нами отмечено, что температура и содержание нитратов в водной толще не оказывали значительного влияния на обилие пикопланктона, что подтверждено в работе [Worden et al., 2004], в том числе и для исследуемого района [Муханов и др., 2016]. Однако большинство авторов придерживаются теории, что температура является одним из основных факторов, который регулирует численность пиководорослей [Pick, Caron, 1987; Simon et al., 1999; Agawin et al., 2000]. Что касается нано- и микрофитопланктона, то в литературе не раз говорилось, что температура не является главным фактором, определяющим величину первичной продукции в Мировом океане [Burke et al., 1997]. Карты распределения продуктивности вод Мирового океана показывают, что величина первичной продукции связана в основном с гидрологическими процессами различного масштаба, вызывающими обогащение поверхностных вод питательными элементами [Коблец-Мишке, 1985].

На сезонную вариабельность биомассы нанофитопланктона в толще воды оказывает влияние большой комплекс факторов. Из физических факторов следует отметить интенсивность света, температуру и роль физических процессов в формировании химической структуры вод в исследуемом регионе. Основной вклад в биомассу нанофитопланктона Черного моря вносят мелкие виды диатомовых водорослей, флагелляты и кокколитофорида *E. huxleyi*. По данным работы [Финенко и др., 2017] в период с апреля по август и в осенний период 2014 г. в фитопланктонном сообществе массово развивалась кокколитофорида *E. huxleyi* (клетки диаметром 6–11 мкм). Именно в этот период года нами наблюдались максимумы биомассы нанофитопланктона на проточном цитометре. «Цветение воды» в результате всплеск развития *E. huxleyi* в основном связано с вертикальной циркуляцией вод и поступлением в эвфоническую зону большого количества минерального фосфора. А. С. Микаэлян с соавт. в своих исследованиях показали, что наиболее значимым фактором роста *E. huxleyi* в Черном море является концентрация фосфатов в среде [Микаэлян и др., 2011], что подтверждается полученной нами статистически значимой

корреляцией между биомассой нанофитопланктона, основу которой, как мы предполагаем, составляет *E. huxleyi*, и концентрацией данных биогенных элементов.

Дифференцирующим критерием для распознавания живых и мертвых клеток могут служить любые признаки живого, такие как способность клеток к делению и образованию колоний, подвижность, проявления метаболической активности, ферментативные реакции, состояние барьера проницаемости, накопление АТФ, морфологические признаки и т. д. В исследованиях культур микроводорослей и природного фитопланктона для маркирования живых клеток широко применяется диацетат флуоресцеина (FDA) [Dorsey et al., 1989; Gilbert et al., 1992]. В исследуемой акватории процент живых клеток пико- и нанофитопланктона не проявлял сезонной вариабельности и в течение года в среднем составил 80 %. Однако следует учитывать, что FDA окрашивает не только живые активные клетки, но и живые – малоактивные, находящиеся в покоящейся стадии. Авторы работы [Sicko-Goad et al., 1989] показали, что наряду с живыми активными клетками в течение года в фитопланктонном сообществе присутствуют «бездействующие» неактивные клетки – «физиологически покоящиеся клетки», которые не имеют морфологических модификаций и остаются жизнеспособными, дав таким клеткам характеристику. В исследовании [Latour et al., 2004] также отмечено, что зимой, несмотря на низкие значения температуры воды, у бентосных цианобактерий наблюдался низкий уровень эстеразной активности, которая, по их мнению, была эквивалентна состоянию покоя водорослей. Такое состояние покоя присуще многим видам водорослей из разных таксономических групп [McQUOID et al., 2002; Wang et al., 2013]. В связи с этим в исследовании функционального состояния природных сообществ микроводорослей целесообразно использование средней флуоресценции FDA на клетку. В проводимом нами исследовании показано, что величина флуоресценции FDA на клетку имела достоверную положительную корреляцию с температурой воды в Черном море для пикофитопланктона и отрицательную взаимосвязь для нанофитопланктона. Другие факторы среды не оказывали существенного влияния на сезонную

динамику величины флуоресценции FDA. Максимальные значения флуоресценции FDA пикофитопланктона в летний период могут быть связаны с предположением авторов работы [Agawin et al., 1998], что в летние месяцы скорость деления клеток данной размерной группы значительно выше, чем в остальной период года, результатом чего может быть полученная максимальная биомасса (35 мг С/м^3) в сентябре. В холодный период года при повышенных значениях биогенных элементов в прибрежных водах Черного моря более активен нанофитопланктон, основными представителями которого выступают мелкие диатомовые водоросли, в частности *S. costatum*, и водоросли рода *Chaetoceros*, а также кокколитофориды *E. huxleyi* [Стельмах и др., 2009], что подтверждают и наши результаты, показывающие высокие значения эстеразной активности в клетках нанофитопланктона.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведено исследование сезонной вариативности биомассы, содержания хлорофилла *a*, аккумулятивной флуоресценции FDA (активность внутриклеточных эстераз), процента живых клеток трех групп микроводорослей (*Synechococcus*, пикозукариотические водоросли, нанофитопланктон) в акватории Черного моря на модельной станции.

Сезонная динамика биомассы пико- и нанофитопланктона и хлорофилла *a* характеризовалась высокими осенними показателями и июньским максимумом. Вклад пикофитопланктона (*Synechococcus* и эукариотические пиководоросли) в суммарную биомассу в среднем составил 20 %.

Получена статистически значимая корреляция между содержанием хлорофилла *a*, определяемым стандартным спектрофотометрическим методом, и суммарной автофлуоресценцией хлорофилла и биомассой, определяемыми на проточном цитометре.

Показано, что процент живых клеток не проявлял сезонной вариативности и в течение года в среднем составил 80 %. Величина флуоресценции FDA на клетку имела достоверную положительную корреляцию с температурой воды в Черном море для *Synechococcus* и пикозукариотических водорослей и отрицательную взаимосвязь для на-

нофитопланктона, что еще раз подтверждает тот факт, что холодный период года характеризуется активностью и развитием нано- и микрофитопланктона, тогда как в теплый период года пиководоросли способны конкурировать и давать вспышки развития в фитопленке.

Автор выражает глубокую признательность сотруднику отдела экологической физиологии водорослей И. М. Мансуровой за предоставленные данные по содержанию хлорофилла *a* и сотрудникам отдела аквакультуры и морской фармакологии за определение содержания биогенных элементов.

Работа выполнена в рамках темы госзадания ФГБУН ИМБИ по теме «Функциональные, метаболические и токсикологические аспекты существования гидробионтов и их популяций в биотопах с различным физико-химическим режимом» (номер гос. регистрации 0828-0003).

ЛИТЕРАТУРА

- Заика В. Е., Шалапенко Л. С., Покотилов С. Л. Изменение частоты делящихся цианобактерий по глубине и времени суток // АН УССР, ИнБЮМ. Севастополь, 1991. 9 с. (Деп. в ВИНТИ 21.02.91, № 870-В91).
- Заика В. Е., Шевченко В. А., Булатов К. В. Экология морского фототрофного пикопланктона. М.: НЦБИ, 1989. 171 с.
- Кобленц-Мишке О. И. Фотосинтетическая первичная продукция // Биологические ресурсы океана. М., 1985. С. 48–62.
- Микаэлян А. С., Силкин В. А., Паутова Л. А. Развитие кокколитофорид в Черном море: межгодовые и многолетние изменения // Океанология. 2011. Т. 51, № 1. С. 45–53.
- Муханов В. С., Рылькова О. А., Чурилова Т. Я., Сахонь Е. Г., Пименов Н. В. Структура и сезонная трофодинамика пикофитопланктона в Севастопольской бухте и сопредельных водах Черного моря // Микробиология. 2016. Т. 85, № 5. С. 512–521.
- Орадовский С. Г. Руководство по химическому анализу морских вод (РД52. 10.243–293). СПб.: Гидрометеоздат, 1993. 264 с.
- Осадчая Т. С. Характеристика размерной структуры фитопланктона по измерениям хлорофилла «*a*» // Экология моря. 2007. Т. 73. С. 70–74.
- Парсонс Т. Р., Такахаши М., Харгрейв Б. Биологическая океанография. М.: Легкая пром-сть, 1982. 432 с.
- Соломонова Е. С. Динамика физиологически активных клеток пико- и нанофитопланктона в прибрежных водах Черного моря // Вестн. СПбУ. Биология. 2016. Т. 1. С. 62–72.
- Соломонова Е. С., Акимов А. И. Оценка функционального состояния культуры *Chlorella vulgaris Suboblonga* методами проточной цитометрии и переменной флуоресценции // Мор. экол. журн. 2012. Т. 4. С. 78–84.
- Соломонова Е. С., Муханов В. С. Оценка доли физиологически активных клеток в накопительных культу-

- рах *Phaeodactylum tricornutum* и *Nitzschia* sp. с помощью проточной цитометрии // Мор. экол. журн. 2011. Т. 10. С. 67–72.
- Стельмах Л. В. Вклад пикопланктона в первичную продукцию и содержание хлорофилла «а» в эвтрофных водах на примере Севастопольской бухты // Океанология. 1988. Т. 28, № 1. С. 127–131.
- Стельмах Л. В., Сеничева М. И., Бабич И. И. Эколого-физиологические основы «цветения» воды, вызываемого *Emiliania huxleyi*, в Севастопольской бухте // Экология моря. 2009. Т. 77. С. 28–32.
- Финенко З. З., Стельмах Л. В., Мансурова И. М., Георгиева Е. Ю., Цилинский В. С. Сезонная динамика структурных и функциональных показателей фитопланктонного сообщества в Севастопольской бухте // Системы контроля окружающей среды. 2017. Т. 9, № 29. С. 73–83.
- Финенко З. З., Чурилова Т. Я., Суслин В. В. Оценка биомассы фитопланктона и первичной продукции в Черном море по спутниковым данным // Промысловые биоресурсы Черного и Азовского морей / под ред. В. Н. Еремеев, А. В. Гаевская, Г. Е. Шульман, Ю. А. Загородняя. 2011. С. 220–236.
- Шалапёнок Л. С., Шалапёнок А. А. Гетерогенность пигментного состава пикоэритринсодержащих пикоцианобактерий *Synechococcus* sp. в Черном море // Микробиология. 1997. Т. 66, № 1. С. 95–100.
- Agawin N. S. R., Duarte C. M., Agustí S. Growth and abundance of *Synechococcus* sp. in a Mediterranean Bay: seasonality and relationship with temperature // Mar. Ecol. Prog. Series. 1998. Vol. 170. P. 45–53.
- Agawin N. S. R., Duarte C. M., Agustí S. Nutrient and temperature control of the contribution of picoplankton to phytoplankton biomass and production // Limnol. Oceanogr. 2000. Vol. 45, N 3. P. 591–600.
- Bentley-Mowat J. A. Application of fluorescence microscopy to pollution studies on marine phytoplankton // Bot. Mar. 1982. Vol. 28. P. 203–204.
- Berglund D. L., Eversman S. Flow cytometric measurement of pollutant stresses on algal cells // Cytometry: The J. of the International Society for Analytical Cytology. 1988. Vol. 9, N 2. P. 150–155.
- Burke I. C., Lauenroth W. K., Parton W. J. Regional and temporal variation in net primary production and nitrogen mineralization in grasslands // Ecology. 1997. Vol. 78, N 5. P. 1330–1340.
- Davey H. M., Kell D. B. Flow cytometry and cell sorting of heterogeneous microbial populations: the importance of single-cell analyses // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 1996. Vol. 60, N 4. P. 641–696.
- Dorsey J., Yentsch C. M., Mayo S., McKenna C. Rapid analytical technique for the assessment of cell metabolic activity in marine microalgae // Cytometry. Part A. 1989. Vol. 10, N 5. P. 622–628.
- Gilbert F., Galgani F., Cadiou Y. Rapid assessment of metabolic activity in marine microalgae: application in ecotoxicological tests and evaluation of water quality // Mar. Biol. 1992. Vol. 112, N 2. P. 199–205.
- Glover H. E., Keller M. D., Spinrad R. W. The effects of light quality and intensity on photosynthesis and growth of marine eukaryotic and prokaryotic phytoplankton clones // J. Exp. Mar. Biol. and Ecol. 1987. Vol. 105, N 2-3. P. 137–159.
- Heldal M., Scanlan D. J., Norland S., Thingstad F., Mann N. H. Elemental composition of single cells of various strains of marine *Prochlorococcus* and *Synechococcus* using X-ray microanalysis // Limnol. Oceanogr. 2003. Vol. 48, N 5. P. 1732–1743.
- Jeffrey S. W., Humphrey G. F. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c1 and c2 in higher plants, algae and natural phytoplankton // Biochem. Physiol. Pflanzen. 1975. Vol. 167. P. 191–194.
- Jochem F. J. Morphology and DNA content of bacterioplankton in the northern Gulf of Mexico: analysis by epifluorescence microscopy and flow cytometry // Aquatic Microbial. Ecol. 1999. Vol. 25, N 2. P. 179–194.
- Latour D., Giraudet H., Berthon J. L. Frequency of dividing cells and viability of *Microcystis aeruginosa* in sediment of a eutrophic reservoir // Aquatic Microb. Ecol. 2004. Vol. 36, N 2. P. 117–122.
- Marie D., Simon N., Vault D. Phytoplankton cell counting by flow cytometry // Algal Cult. Techn. 2005. Vol. 1. P. 253–267.
- McQUOID M. R., Godhe A., Nordberg K. Viability of phytoplankton resting stages in the sediments of a coastal Swedish fjord // Eur. J. Phycology. 2002. Vol. 37, N 2. P. 191–201.
- Partensky F., Blanchot J., Vault D. Differential distribution and ecology of *Prochlorococcus* and *Synechococcus* in oceanic waters: a review // Bulletin-Institut Oceanographique Monaco-Numero Special. 1999. P. 457–476.
- Pick F. R., Caron D. A. Picoplankton and nanoplankton biomass in Lake Ontario: relative contribution of phototrophic and heterotrophic communities // Can. J. Fisheries and Aquatic Sci. 1987. Vol. 44, N 12. P. 2164–2172.
- Shapiro J. Current beliefs regarding dominance by bluegreens: the case for the importance of CO₂ and pH // Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie: Verhandlungen. 1990. T 24, Bd. 1. S. 38–54.
- Sicko-Goad L., Stoermer E. F., Kocielek J. P. Diatom resting cell rejuvenation and formation: time course, species records and distribution // J. Plankton Res. 1989. Vol. 11, N 2. P. 375–389.
- Simon M., Glöckner F. O., Amann R. Different community structure and temperature optima of heterotrophic picoplankton in various regions of the Southern Ocean // Aquatic Microbial. Ecol. 1999. Vol. 18, N 3. P. 275–284.
- Takahashi M., Ichimura S., Kishino M., Okami N. Shade and chromatic adaptation of phytoplankton photosynthesis in a thermally stratified sea // Mar. Biol. 1989. Vol. 100, N 3. P. 401–409.
- Uysal Z. Chroococcoid cyanobacteria *Synechococcus* spp. In the Black Sea: pigments, size, distribution, growth and diurnal variability // J. Plankton Res. 2001. Vol. 23. P. 175–190.
- Uysal Z. Pigments, size and distribution of *Synechococcus* spp. in the Black Sea // J. Mar. Syst. 2000. Vol. 24, N 3. P. 313–326.
- Verity P. G., Robertson C. Y., Tronzo C. R., Andrews M. G., Nelson J. R., Sieracki M. E. Relationships between cell volume and the carbon and nitrogen content of marine photosynthetic nanoplankton // Limnol. Oceanogr. 1992. Vol. 37, N 7. P. 1434–1446.
- Wang Z. H., Fu Y. H., Kang W., Liang J. F., Gu Y. G., Jiang X. L. Germination of phytoplankton resting cells from surface sediments in two areas of the S out-thern Chinese coastal waters // Mar. Ecol. 2013. Vol. 34, N 2. P. 218–232.

Worden A. Z., Nolan J. K., Palenik B. Assessing the dynamics and ecology of marine picophytoplankton: the importance of the eukaryotic component // *Limnol. Oceanogr.* 2004. Vol. 49, N 1. P. 168–179.

Wyman M. An *in vivo* method for the estimation of phycoerythrin concentrations in marine cyanobacteria (*Synechococcus* spp.) // *Limnol. Oceanogr.* 1992. Vol. 37, N 6. P. 1300–1306.

Structural and functional characteristics of the phytoplankton community in the coastal waters of the Black Sea

E. S. SOLOMONOVA

*A. O. Kovalevskiy Institute of Marine Biological Research of RAS
299011, Sevastopol, Nakhimov str., 2
E-mail: solomonov83@mail.ru*

The results of studying the structural and functional characteristics of phytoplankton in the coastal region of the Black Sea with the help of flow cytometry are presented. Data of the seasonal variability of the biomass of three algal groups (*Synechococcus*, pico-eukaryotic phytoplankton, nano-phytoplankton), chlorophyll *a* content, percentage of living cells, and fluorescence FDA (diacetate fluorescein), which characterizes the functional state of algae were obtained. A significantly positive relationship between the values (biomass, autofluorescence of chlorophyll), determined on the flow cytometer and the total content of chlorophyll *a*, calculated using standard methods, was revealed. Influence of environmental factors such as temperature, illumination and content of nutrients in the medium on biomass and fluorescence of the FDA of three isolated groups of algae is shown. It was noted that the nitrate content and temperature had no significant effect on the abundance of pico and nano-phytoplankton, while a reliable relationship was established between the biomass of nano-phytoplankton and the concentrations of dissolved forms of mineral phosphorus. An inverse statistically significant correlation was established between the intensity of light and the biomass of pico-eukaryotic phytoplankton. It was noted that the abiotic environmental factors considered in the study did not significantly affect the FDA fluorescence value, except for temperature: in the warm period of the year in the Black Sea the picophytoplankton are most active, while the cold period of the year is favorable for the development of nanophytoplankton.

Key words: flow cytometry, *Synechococcus*, pico-eukaryotic phytoplankton, nanophytoplankton, biomass, environmental factors, fluorescein diacetate, chlorophyll *a*, live, Black Sea.