

УДК 579:574.582:577.1(269)

БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ОЦЕНКИ СТАДИИ ПРОДУКЦИОННО-ДЕСТРУКЦИОННОЙ СУКЦЕССИИ МИКРОПЛАНКТОНА ВОД ПРОЛИВА БРАНСФИЛД (ЗАПАДНАЯ АНТАРКТИКА) В РАННЕ-ОСЕННИЙ СЕЗОН 2002 Г.

А.А. Сысоев, И.В. Сысоева

Институт биологии южных морей НАН Украины, Севастополь, проспект Нахимова, 2

Реферат. В оценке продуктивности исследуемого района одним из наиболее важных элементов информации о системе является представление о стадии продукционно-деструкционной сукцессии микропланктона. Исходя из того, что главными признаками развивающейся системы являются автотрофная доминанта и высокий физиологический статус, авторы предлагают для оценки стадии сукцессии использовать показатели аденилатного энергетического заряда и индекс на основе соотношения АТФ и хлорофилла α . Результаты анализа микропланктона пролива Брансфилд показали резкое размежевание вод полигона по стадиям развития продукционной сукцессии. В то время как в северо-западной части полигона продукционная сукцессии прошла стадию пика развития и налицо тенденции к снижению продуктивности, в южной части полигона отмечены признаки ранней стадии сукцессии с высоким продукционным потенциалом. Причиной такого пространственно-временного размежевания в развитии системы, по мнению авторов, может служить длительный ледостав в южной части полигона. Предложенные методы биохимической оценки продукционно-деструкционной стадии сукцессии особенно удобны в применении к водам высоких широт, где продукционная сукцессия имеет единственный годовой пик развития.

Біохімічні основи оцінки стадії продуктивно-деструктивної сукцесії мікропланктону вод протоки Брансфілда (Західна Антарктика) на початку осіннього сезону 2002 р. О.О. Сисоев, І.В. Сисоева

Реферат. Для оцінки продуктивності району, що вивчається, одним із найважливіших елементів інформації про систему є уявлення про стадію продуктивно-деструктивної сукцесії мікропланктону. Виходячи з того, що головною ознакою системи, що розвивається, є автотрофна домінанта і високий фізіологічний статус, автори пропонують для оцінки стадії сукцесії використовувати показники аденилатного енергетичного заряду та індекс на основі співвідношення АТФ і хлорофіла α . За результатами аналізу мікропланктону протоки Брансфілда виявлено різке розмежування вод полігону за стадіями розвитку продуктивної сукцесії. У той час, як в північно-західній частині полігону продуктивна сукцесія пройшла стадію піку розвитку і очевидна тенденція до зниження продуктивності, у південній частині полігону відмічені ознаки ранньої стадії сукцесії з високим продуктивним потенціалом. Причиною такого просторово-часового розмежування у розвитку системи, на думку авторів, може бути тривалий льодостав у південній частині полігону. Запропоновані методи біохімічної оцінки продуктивно-деструктивної стадії сукцесії особливо зручні для застосування для вод на високих широтах, де продуктивна сукцесія має єдиний річний пік розвитку.

Biochemical Base for Estimation of productive-

Abstract. The production potential of pelagic society is determined, mainly, by autotrophic microplankton functional capacity for biomass replenishment owing to photosynthesis. The biomass increase, on the one part, is strong dependent on a ratio of autotrophic and heterotrophic components of microplankton society. Thus, it may be essential and quite enough to define the microbiota physiological state and autotrophic component quota for *vector definition* of microplankton society development. One of the most *objective* methods of microorganisms' physiological *state estimation* is the adenilate energy charge (AEC) determination. AEC is calculated from adenine nucleotide (ATP, ADP and AMP) content ratio. It may theoretically lie in the range from 0 (with fully discharged system) up to 1 (with fully charged system). But substantively AEC varies in close limits during homeostasis: from 0.75 up to 0.99. The decrease of these values is evidence of organisms' physiological depression degree. The heterotrophic-photoautotrophic (HP) index gives information about microplankton heterotrophic and autotrophic components ratio. PH index is calculated from ATP and chlorophyll " α " content ratio multiplied by 100 (for safe using). In case of HP is from 10 up to 20 it indicates the heterotrophic and autotrophic biomass parity. HP increase is evidence of heterotrophic predominance and HP decrease – about autotrophic predominance. Works were carried out in the 7-th Ukrainian Antarctic Expedition in March 2002 at 20 field stations between 62°50' - 64°20'S latitude and 60° - 62°30'W longitude. The adenilates assays were carried out by sensitive chemiluminescent method. The chlorophyll " α " assays were carried out by the spectrophotometric method. The HP index analyses showed the autotrophic predominance in the vast area of the polygon, the considerable part of the region was reckoned in heterotrophic and autotrophic biomass equal area and insignificant part was with heterotrophic predominance. So one may conclude that AEC mainly reflected the physiological state of the autotrophic part of microplankton. Generally AEC changed from 0,39 up to 0,95 at average value 0,73. Despite of significant patchiness of AEC distributions, some prominent features of systems charge state are traced. The most oppressed physiological condition expressed in system discharging state up to threshold values of survival rates, was dated in the western and northern areas of the polygon, where the resource of biogenes is strongly exhausted owing to high biomass and acute

pycnoclines, first of all, for phosphates. In spite of autotrophic predominance, the production potential is strongly reduced by the low level of AEC there. It should be expected the destruction processes predominance over production ones. *On the contrary, on the greater part of polygon was under rather high degree of adenilate systems charged state. With considerable part of autotrophic content it testifies to high production potential uncharacteristic for late stages of succession is marked.* Unfortunately, similar works in these latitudes were not carried out earlier. Therefore authors have no opportunity of comparison. But so high degree of adenilate systems charged state of microplankton society at the end of the vegetative season allows to assume, that the abnormal cold summer of 2002 with long-drawn freezing-over has not allowed to gain a microplankton biomass on patterns of last years. This circumstance has to some extent saved a resource of biogenes for primary production during annual insolation peak and lag terms of microplankton development for the later period. This biochemical estimation method is especially convenient for high latitudes waters such as Antarctic due to the existence there a single-peak annual production succession.

Key Words: Bransfield Strait, microplankton, adenilate energy charge, heterotrophic-photoautotrophic index.

Введение

В практике гидробиологических исследований перспективных для промысла районов мирового океана наиболее важной целью является оценка продуктивности исследуемых вод. В приложении к экосистеме пелагиали Антарктики, имеющей малое число трофических звеньев и в силу этого обладающей слабой устойчивостью (MacArthur, 1955), главной задачей является оценка состояния первого трофического звена – микропланктона. Оценка трофности вод и разработка паттерн потоков вещества и энергии по распределению АТФ, как индикатора биологически активной биомассы микропланктона, издавна широко применимы в практике исследований. К сожалению, большинство из предназначенных для этого экспедиций бывают кратковременными и в силу временной ограниченности не дают возможности проследить динамику продукционно-деструкционных процессов и, соответственно, оценить стадию сезонной сукцессии главного трофического звена экосистемы – микропланктона. Отсутствие этих сведений ограничивает возможности для корректной оценки потенциала валовой продукции региона. Существенную помощь в корректировке этой оценки может оказать определение стадии сезонной сукцессии, позволяющее определить продукционно-деструкционный баланс системы. Опираясь на закон максимальной энергии в биосистемах, сукцессия связана с фундаментальным сдвигом потока энергии в сторону увеличения количества энергии, направленной на поддержание системы, по мере того, как накапливается биомасса и органическое вещество. Исходя из этого, характерным признаком ранних стадий продукционной сукцессии и, соответственно, высокого потенциала продуктивности, являются значительная доля автотрофов в общей биомассе микропланктона и высокая метаболическая активность микропланктонных организмов, обусловленная их физиологическим статусом.

Одним из наиболее объективных методов оценки физиологического статуса микроорганизмов служит определение аденилатного энергетического заряда (АЭЗ). АЭЗ вычисляется из соотношений содержания адениновых нуклеотидов АТФ, АДФ и АМФ (Atkinson, 1968) и теоретически может принимать значения от 0 (полностью разряженная система) до 1 (полностью заряжена). В действительности, при гомеостазе АЭЗ колеблется в малых пределах от 0,75 до 0,99 (Charman et al., 1971). Снижение этих показателей свидетельствует о степени физиологической депрессии организмов. Для одноклеточных организмов разработаны критерии оценки физиологического статуса по АЭЗ:

- Заряд от 0.75 и выше свидетельствует о полном физиологическом гомеостазе, при котором все жизненные функции и способность к размножению ничем не ограничены.

- АЭЗ в пределах 0.5 - 0.75 характерен при умеренной степени депрессии. В этом случае временно нарушены некоторые жизненные функции, связанные с ростом и размножением, но при восстановлении АЭЗ до 0.75 и выше, все жизненные функции восстанавливаются.

- Значения АЭЗ ниже 0.5 указывают на сублетальную степень физиологического угнетения, при которой, как правило, организмы обречены на вымирание. Эта категория значений характерна при заморных явлениях, а также на поздних стадиях сукцессии. Метод широко применяем в оценке качества водной среды (Amblard et al., 1988), но требует некоторой дополнительной информации. В частности, в процессе сезонных сукцессий

происходят природные флуктуации АЭЗ, связанные со сменой популяций г- и К-стратегов (Одум, 1986). В работе по сезонному мониторингу микропланктона Севастопольской бухты авторами были отмечены снижения АЭЗ как в зависимости от степени загрязненности среды, так и в зависимости от стадии сукцессии (Sysoeva et al., 2002). Определить стадию сезонной сукцессии в процессе сезонного мониторинга несложно, исходя из динамики биомассы микропланктона. При одноразовой экспедиционной съемке появляется необходимость в дополнительном анализе. Исходя из основного признака развивающейся системы – высокой продукции – авторами предлагается оценка продукционного потенциала сообщества по физиологическому статусу микропланктона, а также по соотношению биомасс гетеротрофных и автотрофных организмов. Вполне объективную оценку последнего можно получить, используя гетеротрофно-фотоавтотрофный (НР-англ.) индекс, предложенный Чиадуани и Пагноттой (Chiaduanì, Pagnotta, 1978). НР индекс вычисляется из соотношения концентраций АТФ и хлорофилла α . Для удобства использования целых чисел НР индекса это соотношение умножено на 100. Значение индекса в диапазоне от 10 до 20 указывает на относительный паритет биомасс гетеротрофных и автотрофных организмов. Повышение индекса свыше 20 свидетельствует о гетеротрофной доминанте, а снижение ниже 10 – об автотрофной доминанте.

Материал и методы

Батометрические пробы, непосредственно после отбора, методом вакуумной фильтрации, осаждали на фильтры “Сарториус” (Sartorius, Germany) с размерами пор 0,3 мкм (объем фильтрата 0,25 л) - для аденилатного анализа и с размерами пор 0,45 мкм (объем фильтрата 1 л) - для анализа хлорофилла α . Непосредственно после фильтрации, проводили экстракцию аденилатов по методу Холм-Хансена (Holm-Hansen, Booth, 1966). Затем экстракты хранили в морозильной камере при температуре -18°C до дальнейших анализов. Измерения концентраций АТФ проводили хемилюминесцентным методом на приборе АТР Luminometer 1250 (ЛКВ, Швеция). Анализ АДФ и АМФ проводили тем же хемилюминесцентным методом, предварительно восстанавливая их до АТФ при помощи энзиматических реакций, согласно прилагаемой инструкции к АТР-ADP-AMP Assay Kit (Sigma, США). Определение хлорофилла α проводили спектрофотометрическим методом на приборе Specol-11 (Karl Zeiss, ГДР). Концентрации вычисляли при использовании формулы Джеффри и Хамфри (Jeffrey, Humphrey, 1974).

Основные результаты

Работы проводили в 7-й Украинской Антарктической Экспедиции в марте 2002 г. на 20 станциях полигона в рамках координат: $62^{\circ}50'$ - $64^{\circ}20'$ ю.ш. и 60° - $62^{\circ}30'$ з.д. После анализа полученных данных обозначились следующие особенности пространственно-продукционной ситуации на полигоне.

Наибольшие величины биологически активной биомассы микропланктона отмечены в северо-западной части полигона, где концентрация АТФ достигала значения 201 нг/л (рис. 1). Согласно общепринятым критериям, эта часть полигона содержала концентрации АТФ соответствующие эвтрофным водам. Здесь, согласно гидрологическим данным*, имеет место влияние вод пролива Дрейка и моря Беллингаузена. Столь высокая трофность характерна для этих мест, но резкое размежевание величин концентраций северной и южной частей полигона подчеркивает значительную разницу в условиях развития сообщества. Характерным является и контур основного градиента, некоторым образом повторяющий изгиб береговой линии материка.

* Здесь и далее: ссылки на гидрофизические и гидрохимические данные по материалам отряда Гидрологии 7-й Украинской Антарктической Экспедиции.

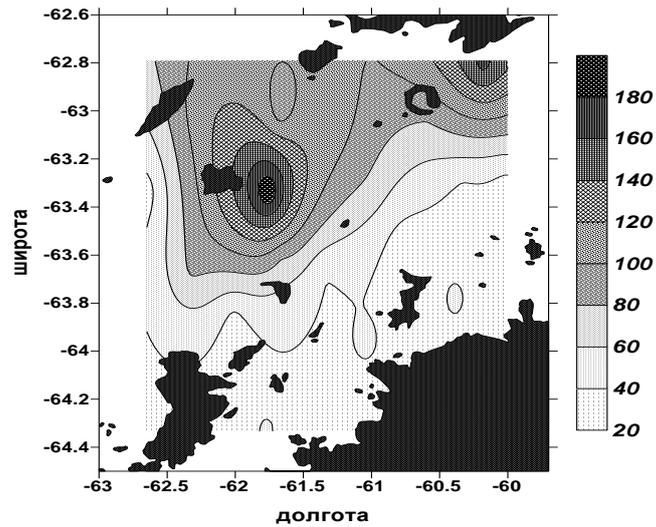


Рисунок 1. Распределение АТФ (нг/л) микропланктона в поверхностных водах пролива Брансфилд в марте 2002 г

В противоположность северной зоне, в южной части полигона, несмотря на поднятие глубинных вод, концентрации АТФ были значительно ниже, кое-где на величину порядка. Здесь, по всей видимости, имеет место влияние холодных вод поступающих из моря Уэдделла. Однако пониженная температура в этих широтах не должна служить сильным сдерживающим фактором в развитии микропланктонного сообщества, поскольку многие наблюдения свидетельствуют о значительном увеличении максимума фитоцена в южных широтах, особенно в приледовых зонах (Козлова, 1964).

Анализ НР индекса показал обширное доминирование автотрофов по полигону, в меньшей степени паритет автотрофной и гетеротрофной биомасс и незначительный участок с гетеротрофным доминированием (рис. 2). Из этого следует, что оценка физиологического статуса сообщества, проведенная через анализ аденилатного энергетического заряда практически полностью относится к автотрофной его части.

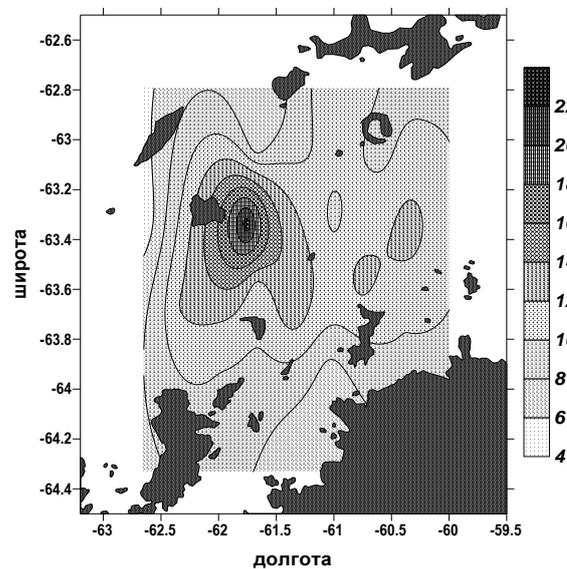


Рисунок 2. Распределение гетеротрофно-фотоавтотрофного (НР) индекса микропланктона в поверхностных водах пролива Брансфилд в марте 2002 г.

В поверхностных водах величины АЭЗ в целом по полигону колебались от 0,39 до 0,95 при среднем значении 0,73. Несмотря на некоторую мозаичность распределения АЭЗ по полигону, прослеживаются некоторые характерные особенности заряженности систем. Распределение АЭЗ находится в противофазе к биомассе (по значениям АТФ). Наиболее угнетенное физиологическое состояние, выраженное в разряженности аденилатной системы до пороговых значений выживаемости, приурочено к местам на западе и севере полигона (рис.3). При этом максимумы угнетения пространственно не всегда совпадают с максимальными значениями метаболически активной биомассы (по значениям АТФ, рис.1). Умеренная степень

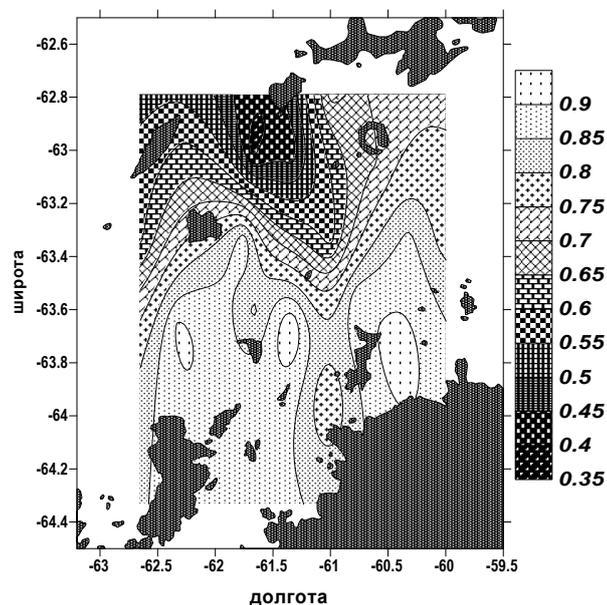


Рисунок 3. Распределение АЭЗ микропланктона в поверхностных водах пролива Брансфилд в марте 2002 г.

физиологической депрессии проявлялась в северо-восточной части полигона. На большей же части полигона отмечена довольно высокая степень заряженности аденилатной системы, что свидетельствует о гомеостазе продукционно-деструкционных процессов, нехарактерных для поздних стадий сукцессии. Максимумы заряженности системы зарегистрированы в южной части полигона, где наблюдаются довольно малые величины биомассы.

Обсуждение

Водные и, прежде всего, пелагические системы имеют большую степень открытости. Крупные изменения биотопа в них происходит преимущественно под влиянием абиотических факторов и в большой мере зависит от поступления биогенных элементов извне. Судя по содержанию фосфатов, в северной части полигона ресурс биогенов сильно подорван в результате продукционных процессов, пик которых предшествовал нашей съемке (рис. 4).

Одним из главных факторов распределения биомассы на полигоне является гидрологический режим. Оценки исследуемых биохимических параметров, выполненных в экспедиции, в общем, укладываются в ожидаемом для этих мест и сезона диапазоне величин. Исследования величин биомассы по биохимическим параметрам в этом районе в сравнительном аспекте в различные сезоны, проведенные ранее (Karl et al., 1991) показали, что в ранний осенний сезон, на который приходились наши съемки, наблюдался спад продуктивности и снижение биомассы микропланктона, по сравнению с предыдущими сезонами. Однако некоторые отличия отражают особенности сезонного развития микропланктонного сообщества в 2002 г. В то время как нами зарегистрирована разница

величин АТФ северной и южной частей полигона в диапазоне порядка. В выше указанной съемке, проведенной десятилетием ранее в этот же сезон, между севером и югом полигона разница концентраций АТФ микропланктона практически не прослеживалась. Такое сравнение дает повод утверждать, что в 2002 г. произошло смещение сроков развития микропланктона.

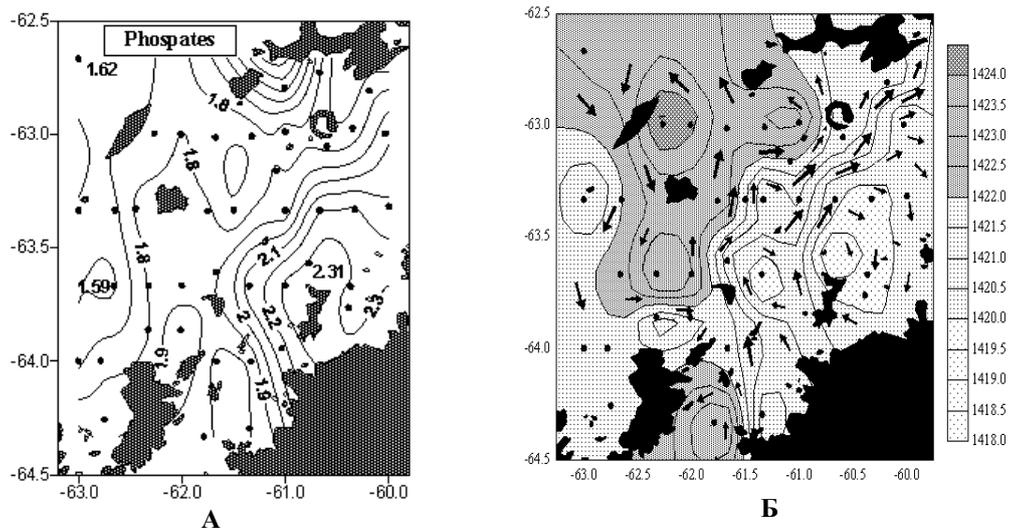


Рисунок 4. Распределение фосфатов (А, μM) и динамических высот (Б, $5/200$ м, дин. см) в водах пролива Брансфилд в марте 2002 г. (по данным отряда Гидрологии 7 УАЭ).

Необходимо отметить, что нашей сезонной съемке предшествовали аномально холодная зима и прохладное лето. Затянувшийся ледостав не мог не повлиять на общее развитие микропланктонного сообщества. Можно предположить, что в то время как в северной части полигона в силу влияния более теплых вод и их высокой динамической активности (рис. 4 Б), развитие микропланктона началось в ранние сроки, затяжной ледостав в южной части в пик вегетационного сезона не позволил фитопланктону развиваться в должной мере. Это некоторым образом сэкономило ресурс биогенов для первичной продукции во время годового пика инсоляции и сместило сроки развития микропланктона на более поздний период. Из этого следует, что развитие микропланктона в обычном объеме могло либо произойти в очень сжатые сроки, либо, скорее всего, валовая годовая продукция была значительно снижена по сравнению с предыдущими годами. К сожалению, подобных работ в этих широтах не проводилось, поэтому авторы не имеют возможности для сравнения. Но столь высокая заряженность аденилатной системы микропланктона с безусловным доминированием автотрофной компоненты в южной части полигона в конце вегетационного сезона отражает высокий потенциал продукции в этом районе.

Выводы

По данным распределения АТФ отмечено резкое размежевание величин метаболически активной биомассы микропланктона между северной и южной частями полигона.

Анализ гетеротрофно-фотоавтотрофного (НР) индекса показал значительное доминирование автотрофной биомассы над гетеротрофной на большей части акватории полигона.

Анализ аденилатного энергетического заряда (АЭЗ) свидетельствует о высоком физиологическом статусе микропланктона на юге полигона и о низком - на севере.

Сравнительный анализ показателей АЭЗ и НР индекса позволяет заключить, что в северной части полигона продукционная сукцессия находится в поздней стадии, в то время как на юге высокий продукционный потенциал свидетельствует о ранней стадии.

Представленные методы оценки стадии продукционно-деструкционной сукцессии особенно удобны в применении в высоких широтах, где продукционная сукцессия имеет единственный годовой пик развития.

Благодарность

Авторы выражают глубокую признательность директору Украинского Антарктического Центра Литвинову В.А. за предоставление дополнительного финансирования для определения аденилатного комплекса микропланктона, а также начальнику отряда Гидрологии Артамонову Ю.В. за предоставленные материалы по гидрологии исследуемого района, полученные в 7-й Украинской Антарктической Экспедиции.

Литература

Amblard C., Adiwilaga E.M., Devaux J. – Adenine nucleotides and phytoplanktonic primary production in two lakes in France. – Int. Rev. Gesamt. Hydrobiol., V.73, 1988, No 2, pp. 191-211.

Atkinson D.E. - The energy charge of the adenylate pools as a regulatory parameter. Interaction with feedback modifiers - Biochemistry, V.7, 1968, No 11, pp. 4030-4034.

Berdalet E., Vaque D., Arin L. et al. Hydrography and biochemical indicators of microplankton biomass in the Bransfield Strait (Antarctica) during January 1994 // POLAR-BIOL. 1997, **17**, N. 1, P. 31- 38.

Chapman A.G., Fall L., Atkinson D.E. - Adenylate energy charge in *Escherichia coli* during growth and starvation - J. Bacteriol., V. 108, 1971, pp. 1072-1086.

Chiaduan G., Pagnotta R. Ratio ATP/chlorophyll as index of river's water quality // Verh. Internat. Verein. Limnol., 1978, N. 20, P. 1897 - 1901.

Holm-Hansen O., Booth C.R. The measurement of adenosine triphosphate in the Ocean and its ecological significance // Limnol. Oceanogr. 1966. **11**, N.4 – P. 510-519.

Jeffrey S.W., Humphrey G.F. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c and c₂ in algae, phytoplankton and higher plants// Annual Report 1973-1974, p.p. 6-8.

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

Karl D.M., Holm-Hansen O., Taylor G.T. et al. Microbial biomass and productivity in the western Bransfield Strait, Antarctica during the 1986-87 austral summer // Deep Sea Res., 1991, **38**, N.8/9, P. 1029 - 1055.

I.V. Sysoeva, A.A. Sysoev, A.F. Popova, R.B. Kemp The adenilate energy charge in marine microplankton under different level pollution by oil products and the stage of seasonal succession. // International Journal on Algae - 2002, V. 4, No 3, P. 117-124.

Козлова О.Г. Диатомовые водоросли Индийского и Тихоокеанского секторов Антарктики. "Наука", М., 1964

Одум Ю. Экология. "Мир", М., 1986, т. 2, с. 167.