

УДК 551.464.797.9:535.37-022.1

Моисеева Н.А., Чурилова Т.Я., Скороход Е.Ю., Салюк П.А., Ефимова Т.В., Давыдова Д.Г.,
Саушева А.А., Самойлов М.А.

СВЯЗЬ КОНЦЕНТРАЦИИ ХЛОРОФИЛЛА А С ИНТЕНСИВНОСТЬЮ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ, РЕГИСТРИРУЕМОЙ ПОГРУЖНЫМ ЗОНДОМ В ПРИБРЕЖНОЙ АКВАТОРИИ КАМЧАТКИ

Аннотация. Исследования проведены в прибрежной акватории Камчатки в августе-сентябре 2023 года. В пределах освещенного слоя наблюдалась стратификация вод, вследствие чего было выделено 3 слоя, различающихся по условиям существования фитопланктона (свет, температура): верхний квазиоднородный слой, термоклин, слой между термоклином и нижней границей зоны фотосинтеза. Показано изменение функциональных характеристик фитопланктона (удельного показателя поглощения света пигментами фитопланктона и квантового выхода флуоресценции) по исследованным слоям, что приводит к изменению коэффициента связи концентрации хлорофилла *a* с интенсивностью флуоресценции, регистрируемой погружным зондом. Использование единого коэффициента для всего слоя фотосинтеза ведет к неточной оценке концентрации хлорофилла *a* по данным интенсивности флуоресценции.

Ключевые слова: хлорофилл *a*, флуоресценция, WetStar W535-1246, поглощение света пигментами фитопланктона, прибрежные воды Камчатки

Moiseeva N.A., Churilova T.Ya., Skorokhod E.Yu., Salyuk P.A., Efimova T.V., Davydova D.G.,
Sausheva A. A., Samoilov M. A.

RELATIONSHIP CHLOROPHYLL A CONCENTRATION VS. CHLOROPHYLL A FLUORESCENCE MEASURED WITH A SUBMERSIBLE SENSOR IN THE COASTAL WATERS NEAR KAMCHATKA

Abstract. The research was carried out in the coastal waters near Kamchatka in August-September 2023. within the euphotic zone, 3 water layers were observed: the upper mixed layer, the thermocline and the layer between the thermocline and the bottom of the euphotic zone. These 3 water layers differed in the environmental conditions: light and temperature. The phytoplankton photosynthetic parameters (chlorophyll *a* specific light absorption coefficient and fluorescence quantum yield) changed in different water layers, which led to a change in the coefficient of correlation between chlorophyll *a* concentration and chlorophyll *a* fluorescence measured with a submersible sensor. The use of a unified correlation coefficient for samples from the entire water column within the euphotic zone leads to an inaccurate assessment of chlorophyll *a* concentration based on fluorescence measurements.

Keywords: chlorophyll *a*, fluorescence, WetStar W535-1246, coefficient of light absorption by phytoplankton, coastal waters near Kamchatka

Введение. Данные о концентрации фотосинтетически активного пигмента хлорофилла *a* (Chl-*a*) являются основой для оценки биомассы фитопланктона и первичной продукции акватории. Наиболее точными методами определения Chl-*a* являются спектрофотометрический метод [1, 2], основанный на характерных полосах поглощения света молекулой хлорофилла в экстракте пигментов, и метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) [3]. Однако эти методы требуют длительного времени (пробоподготовка, экстракция пигментов), дорогостоящего оборудования и квалифицированных специалистов для выполнения измерений. В связи с этим в отдельных исследованиях используют наиболее простой контактный метод определения Chl-*a* по интенсивности флуоресценции хлорофилла *a*, измеряемой с помощью погружных флуориметров или самостоятельно дрейфующих буев. Метод количественной оценки Chl-*a*

по флуоресценции основан на поглощении света молекулой хлорофилла *a* [2] и его флуоресценции [4].

Независимо от производителя, все приборы для измерения флуоресценции *in vivo* созданы на основе общих принципов [5]. Проба воды освещается светом высокой интенсивности (около 5000 мкЭ·м⁻²·с⁻¹ в сине-зеленой области спектра), который поглощается вспомогательными пигментами и хлорофиллом *a*. Поглощенная энергия света используется на конкурирующие процессы: фотосинтез, преобразование части энергии в тепло и флуоресценцию [6]. Молекула хлорофилла *a* флуоресцирует в красной области спектра (~685 нм) [7]. Интенсивность флуоресценции (F) регистрируется датчиком в необработанной аналоговой или цифровой форме в относительных единицах и в дальнейшем калибруется по стандарту для преобразования выходного сигнала F в единицы концентрации хлорофилла *a* (мг·м⁻³) или F остается в относительных единицах.

Величина F зависит от количества квантов света, поглощенных фитопланктоном, и от способности фитопланктона использовать энергию поглощенных квантов в процессе фотосинтеза (фотохимическое тушение), выделять в виде тепла (нефотохимическое тушение) или флуоресценции [7]:

$$F = E_{\lambda_{ex}} \cdot Chl - a \cdot a_{ph}^*(\lambda_{ex}) \cdot Q_a^* \cdot \varphi_F, \quad (1)$$

где λ_{ex} – длина волны (около 450 нм) излучения, возбуждающего флуоресценцию;

$E_{\lambda_{ex}}$ – интенсивность излучения на длине волны λ_{ex} , возбуждающего флуоресценцию, мкЭ·м⁻²·с⁻¹;

$a_{ph}^*(\lambda_{ex})$ – удельный (нормированный на Chl-*a*) показатель поглощения света пигментами фитопланктона на длине волны λ_{ex} , м²·мг⁻¹;

φ_F – квантовый выход флуоресценции, (моль испускаемых фотонов (моль поглощенных фотонов)⁻¹);

Q_a^* – коэффициент внутриклеточной реабсорбции флуоресценции.

При измерении F на флуориметре величина энергии возбуждения является постоянной [8]. Заводская калибровка погружных датчиков подразумевает прямо пропорциональную связь интенсивности флуоресценции хлорофилла *a* с его концентрацией (F – Chl-*a*) [9], и выполняется путем измерения флуоресценции *in vivo* и концентрации хлорофилла *a* в ацетоновых экстрактах для серии разведений [10]. В этом случае величины $a_{ph}^*(\lambda_{ex})$, Q_a^* и φ (уравнение 1) принимаются постоянными и используются как калибровочный коэффициент связи F – Chl-*a*, и уравнение 1 принимает вид:

$$F = A \cdot Chla - b \quad (2)$$

где *b* – фоновая величина, связанная с флуоресценцией окрашенного растворенного органического вещества (F_{CDOM}); *A* – коэффициент, который отражает способность фитопланктона поглощать свет на длине волны, соответствующей возбуждающему излучению, и преобразовывать поглощенные кванты света в энергию флуоресценции: $A = a_{ph}^*(450) \cdot Q_a^* \cdot \varphi_F$. Калибровка датчиков флуоресценции предполагает постоянство связи F – Chl-*a*, а следовательно, постоянство коэффициентов в уравнении 2. Однако, параметры, определяющие значения коэффициента *A*, не являются постоянными величинами. Коэффициент реабсорбции Q_a^* изменяется почти в два раза (от 0,66 до 1) в зависимости от видовой структуры фитопланктона [11]. Изменчивость величины $a_{ph}^*(\lambda)$ обусловлена степенью упаковки пигментов в клетках, которая зависит от пигментного состава и концентрации пигментов в клетках, а также размерной структуры фитопланктонного сообщества [12], которые изменяются в результате адаптации фитопланктона к условиям среды [13]. Величина φ_F изменяется в зависимости от факторов

среды (световой истории, биогенной обеспеченности и температуры) и видового состава фитопланктона [14–17].

Цель исследования состояла в оценке влияния удельного показателя поглощения света пигментами фитопланктона и квантового выхода флуоресценции на связь концентрации хлорофилла *a* с интенсивностью флуоресценции, регистрируемую погружным флуориметром в прибережной акватории полуострова Камчатка.

Материалы и методы исследования. Исследования проводились в прибрежной акватории полуострова Камчатка (рис. 1) в ходе научной экспедиции на ПС «Профессор Мультиановский» 23/4 (15 августа – 20 сентября 2023 г.). Пробы отбирали с помощью кассеты батометров с нескольких горизонтов в пределах зоны фотосинтеза, которые выбирали исходя из вертикального распределения температуры и солености, регистрируемых STD зондом (SeaBird). Профиль интенсивности флуоресценции хлорофилла *a* измеряли с помощью погружного зонда WetStar W535-1246. Нижнюю границу верхнего квазиоднородного слоя (ВКС) оценивали по критериям связанным с изменениями значений абсолютной разности потенциальной температуры (0,2 °C) и плотности воды (0,03 кг/м³) в соответствии с [18]. Глубину зоны фотосинтеза (*Z_{eu}*) определяли по ослаблению в 100 раз фотосинтетически активной радиации (ФАР) [19]. Измерение ФАР проводили погружным спектрометрическим прибором RAMSES (TrioS, Germany).

Chl-*a* определяли спектрофотометрическим методом [1]. Сразу после отбора пробы воды (1,5 л) фильтровали через стекловолокнистые фильтры (GF/F, Whatman) при вакууме <0,2 атм. Пигменты фитопланктона экстрагировали в растворе ацетона (90 %) используя двукратный ступенчатый подход. Оптическую плотность (OD) экстракта пигментов измеряли в диапазоне длин волн 350–750 нм (с шагом в 1 нм) на двухлучевом спектрофотометре Lambda 35 (Perkin Elmer).

Спектральные показатели поглощения света пигментами фитопланктона измеряли по методике «Wet Filters Technics» [20] в соответствии с современным протоколом [21]. OD взвешенного вещества на фильтре измеряли с шагом в 1 нм в диапазоне длин волн от 350 до 750 нм с помощью двухлучевых спектрофотометров, оснащенных интегрирующей сферой: Lambda 35 (Perkin Elmer) (пробы из Тихого океана) и UV-2600 UV-VIS Spectrophotometer (Shimadzu) (пробы из Охотского моря). Разделение общей взвеси на пигменты фитопланктона и неживую взвесь проводили путем экстракции пигментов горячим метанолом, в соответствии с методикой [22].

Интенсивность флуоресценции хлорофилла *a* измеряли используя лабораторный флуориметр Smart [23]. Для насыщения флуоресценции используется вспышка излучения на длине волны 450 нм с плотностью потока квантов 5000 мкЭ·м⁻²·с⁻¹. Предварительная темновая адаптация проб проводилась в течение 30 минут [7], после которой измеряли параметры *F* при открытых (*F₀*) и закрытых (*F_m*) РЦ ФС 2 [24].

Значения *F_{CDOM}* вычитали из флуоресценции пробы, чтобы получить *F* хлорофилла *a*. Для определения *F_{CDOM}* пробы морской воды фильтровали при вакууме <0,2 атм через нуклеопоровый фильтр с диаметром пор 0,2 мкм (Nuclepore, Sartorius), предварительно промытый деионизированной водой [25].

Нормальность распределения вариантов в выборке оценивали по критериям Шапиро-Уилка и Колмогорова-Смирнова. Для сравнения групп данных и выявления статистически значимых различий между ними применялся ранговый критерий Краскела-Уоллеса для уровня значимости $\alpha = 0,05$. Статистический анализ проводился с использованием программного обеспечения Statistica 12. Рисунки были построены с помощью программного обеспечения QGIS Desktop 3.8.0 и Grapher v.11.

Результаты исследования и их обсуждение. Нами были исследованы гидрологические условия существования фитопланктона. Все работы проводились в светлое время суток с 8:30 до 17:00. Глубина зоны фотосинтеза изменялась от 10 м в Авачинской бухте до 35 м в Охотском море. Температура воды в поверхностном слое изменялась от 7,5 °C до 16 °C. Более теплые воды наблюдались в прибрежных водах Тихого океана: температура воды в

поверхностном слое изменялась от 10 °С до 16 °С, и в среднем составляла $13,8 \pm 1,5$ °С. В прибрежных водах Охотского моря температура воды в поверхностном слое была ниже, чем в водах Тихого океана, и изменялась от 7,5 до 12,9 °С, составляя в среднем $10,4 \pm 1,7$ °С. Соленость в поверхностных водах Охотского моря изменялась незначительно (30,5–32,5 ‰, в среднем $32,2 \pm 0,4$ ‰), а в прибрежных водах Тихого океана наблюдалось более сильное распреснение, что связано с активным береговым стоком. Так, наименьшие значения солености на поверхности моря были зафиксированы в Авачинской губе (23 ‰), а наивысшие – в прибрежных водах Тихого океана, омывающих Камчатку в юго-восточной части (31,9 ‰), составляя в среднем $30,2 \pm 1,4$ ‰. Прогрев поверхностных вод в условиях слабого ветрового перемешивания сопровождался формированием на большинстве станций верхнего квазиоднородного слоя (ВКС), отделенного термоклином (ТК) от нижней зоны фотосинтеза. ВКС изменялся от 2 до 25 м, в среднем составляя 9 ± 6 м. На 11 станциях в Тихом океане и на одной станции в Охотском море не наблюдался сформированный ВКС.

Таким образом, анализ полученных данных проводили по выделенным слоям, различающимся по условиям существования фитопланктона (температура, свет):

1. ВКС.
2. ТК.
3. Слой воды между ТК и нижней границы зоны фотосинтеза (слой «ТК – 1 % ФАР»).

Световые условия существования фитопланктона различались между станциями. Значения Z_{eu} изменялись практически на порядок (4–32 м), в среднем составляя 20 ± 5 м. Наименьшие значения зафиксированы на станциях в Авачинской губе, бухтах Жировая и Русская, в районе Халактырского пляжа на восточном побережье полуострова Камчатка, и в районе поселка Озерновский на западном побережье полуострова Камчатка (рис. 1, слева). Соотношение ВКС к Z_{eu} изменялось между станциями от 0,1 до 2,1 (рис. 1, справа). Таким образом, световые условия существования фитопланктона в слое ВКС были различны. Фитопланктонное сообщество адаптировалось к средней величине ФАР в слое ВКС. В узком (относительно зоны фотосинтеза) слое ВКС фитопланктонное сообщество адаптировалось к более высоким средним величинам ФАР, чем в случае, когда ВКС был соизмерим с Z_{eu} .

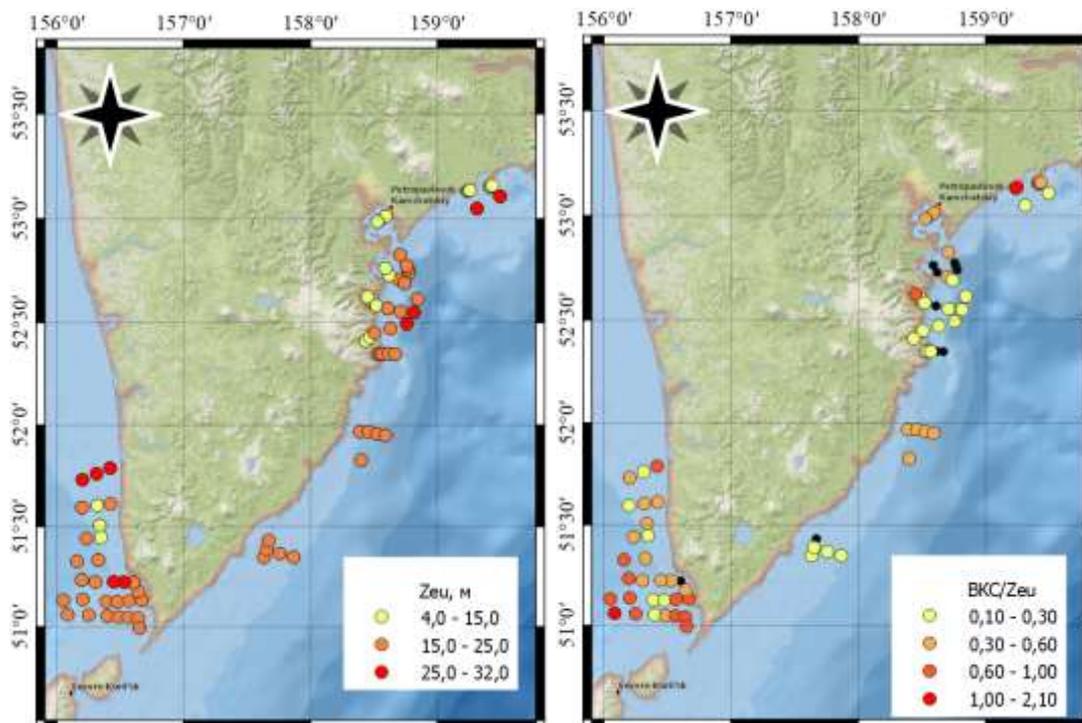


Рисунок 1 – (слева) – Глубина зоны фотосинтеза (Z_{eu}); (справа) – Изменение соотношения глубины верхнего квазиоднородного слоя (ВКС) к Z_{eu} в прибрежных водах Камчатского полуострова, 15 августа – 20 сентября 2023 г. ● – станции без сформированного ВКС

Связь F , регистрируемых погружным зондом ($F_{\text{CTD-initial}}$) с $\text{Chl-}a$, измеренной спектрофотометрическим методом, по всем выделенным слоям представлена на рисунке 2:

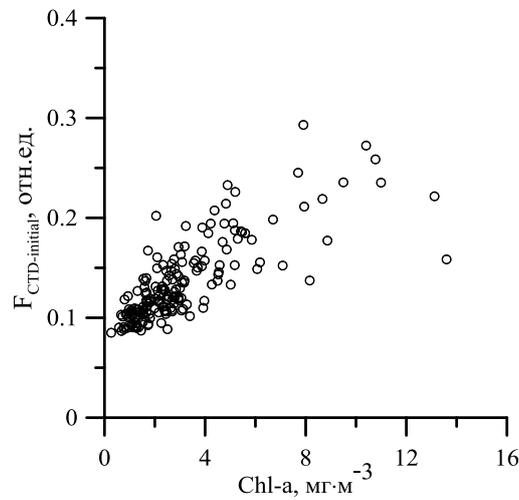


Рисунок 2 – Зависимость интенсивности флуоресценции хлорофилла a , измеренной погружным зондом ($F_{\text{CTD-initial}}$), от концентрации хлорофилла a , измеренной спектрофотометрическим методом ($\text{Chl-}a$), для выделенных слоев водных масс в прибрежных водах полуострова Камчатка, 15 августа – 20 сентября 2023 г.

На рисунке 2 показано, что при концентрациях хлорофилла a , стремящихся к нулю, сигнал флуоресценции достаточно высокий. Такая ситуация, когда значения $\text{Chl-}a$ были около 0, а значения $F_{\text{CTD-initial}}$ составляли $\sim 0,08$ отн. ед., наблюдалась ниже Z_{eu} и практически до дна (рис. 3). С целью дополнительной коррекции данных $F_{\text{CTD-initial}}$ на F , не связанную с хлорофиллом a , из $F_{\text{CTD-initial}}$ вычитали значения F , измеренные глубже Z_{eu} . Значения, полученные в результате этой коррекции, обозначены как F_{CTD} .

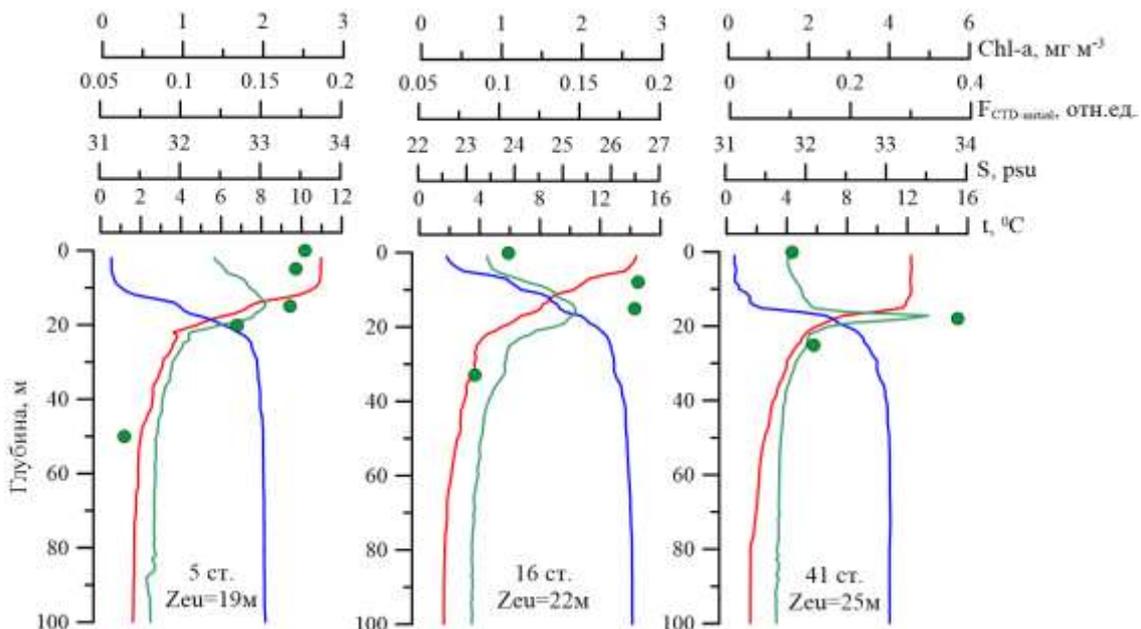


Рисунок 3 – Вертикальное распределение температуры (T , красная линия), солёности (S , синяя линия), интенсивности флуоресценции, регистрируемой погружным зондом ($F_{\text{CTD-initial}}$, зеленая линия), и концентрации хлорофилла a , измеренной спектрофотометрическим методом ($\text{Chl-}a$, зеленый круг) на отдельных станциях в прибрежных водах полуострова Камчатка, 15 августа – 20 сентября 2023 г.

На рисунке 4 представлены зависимости $F_{\text{СТД}}$ (А) и флуоресценции, измеренной лабораторным флуориметром (F_0) (Б) от Chl-а по выделенным слоям. Связь $F_{\text{СТД}}$ и F_0 от Chl-а описывается уравнением прямой пропорциональности, коэффициенты связи – $A_{F-\text{СТД}}$ и A_{F-0} , соответственно. Так, статистически значимые различия величин отношения $F_{\text{СТД}}$ к Chl-а были отмечены для ВКС по отношению к слою ТК и слою ТК – 1 % ФАР (рис. 3А). При этом для слоёв ТК и ТК – 1 % ФАР статистически значимой разницы величины коэффициентов А не отмечено ($p = 0,62$).

Изменчивость в связи $F - \text{Chl-а}$ определяется вариабельностью $a_{ph}^*(450)$ и φ_F (уравнение 1) в зависимости от условий существования фитопланктона.

Связь показателей $a_{ph}(450)$ с Chl-а описывается степенной зависимостью [26]:

$$a_{ph}(450) = A_{aph} \cdot (\text{Chl-а})^b \quad (3)$$

Изменчивость связи между $a_{ph}(450)$ и Chl-а отражает изменение величины $a_{ph}^*(450)$ по выделенным слоям (рис. 5А). Статистически значимые различия между коэффициентами в уравнениях зависимостей $a_{ph}(450)$ от Chl-а были установлены для фитопланктона, существующего в трех выделенных слоях в пределах зоны фотосинтеза. Эти различия обусловлены адаптацией фитопланктонного сообщества к разным световым условиям существования.

Коэффициент связи F_0 с $a_{ph}(450)$ (A_{F-aph}) характеризует квантовый выход флуоресценции (уравнение 1) в выделенных слоях (рис. 5 Б). Коэффициенты полученных связей для всех исследуемых слоев представлены в таблице 1. Статистически значимые различия коэффициентов А в уравнении отмечены только между слоями ТК и ТК – 1 % ФАР ($p = 0,032$).

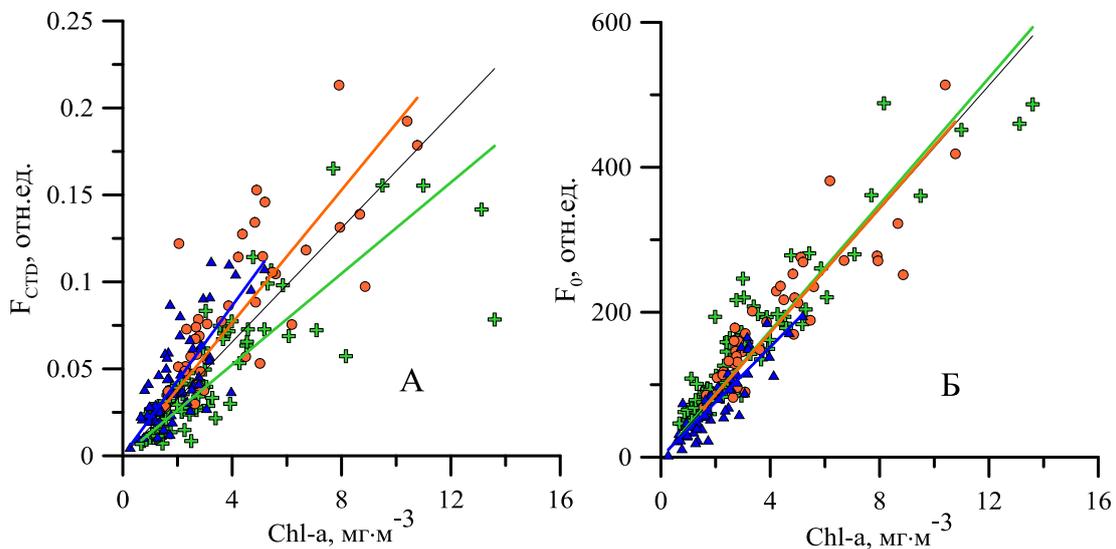


Рисунок 4 – Связь интенсивности флуоресценции хлорофилла a , измеренной погружным зондом, после коррекции на фоновую флуоресценцию ($F_{\text{СТД}}$) (А) и интенсивности флуоресценции хлорофилла a , измеренной лабораторным флуориметром (F_0) (Б), с концентрацией хлорофилла a , измеренной спектрофотометрическим методом (Chl-а), по выделенным слоям (+ – ВКС, ● – ТК, ▲ ТК – 1 % ФАР) в прибрежных водах Камчатки, 15 августа – 20 сентября 2023 г.: цветными линиями представлены уравнения регрессии по соответствующим слоям, черная линия – усреднение по всем слоям,

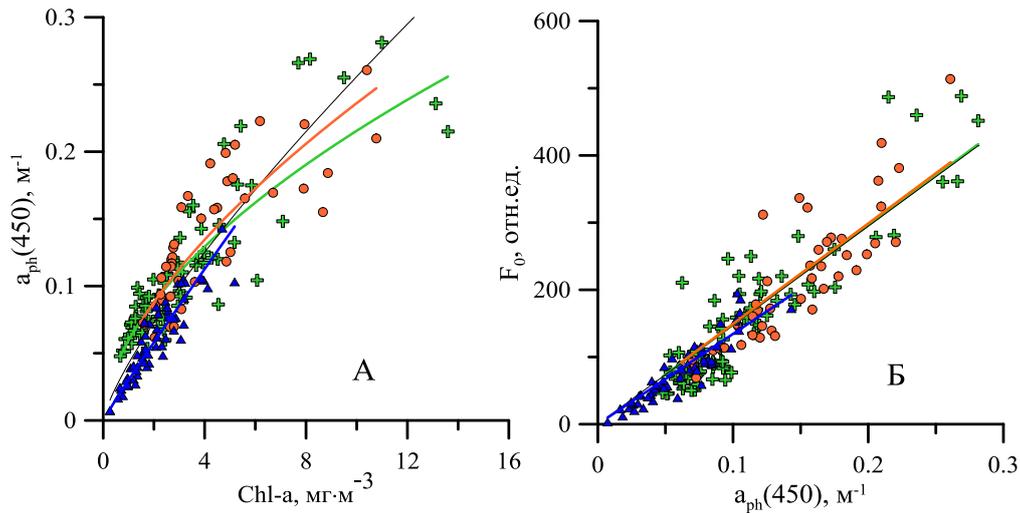


Рисунок 5 – А – Зависимость показателя поглощения света пигментами фитопланктона на длине волны 450 нм ($a_{ph}(450)$) от концентрации хлорофилла a (Chl- a); Б – связь интенсивности флуоресценции, регистрируемой лабораторным флуориметром, (F_0) с $a_{ph}(450)$ в выделенных слоях в прибрежных водах Камчатки, 15 августа – 20 сентября 2023 г. Обозначение символов и линий регрессии – аналогично рисунку 4

Таблица 1 – Уравнения зависимостей: интенсивности флуоресценции, измеренной погружным датчиком (F_{CTD}), от концентрации хлорофилла a (Chl- a) ($F_{CTD} = A_{F-CTD} \times Chl-a$); интенсивности флуоресценции, измеренной на лабораторном флуориметре (F_0), от Chl- a ($F_0 = A_{F-0} \times Chl-a$); показателя поглощения света пигментами фитопланктона на длине волны 450 нм ($a_{ph}(450)$) от Chl- a ($a_{ph}(450) = A_{aph} \times (Chl-a)^b$); F_0 от $a_{ph}(450)$; ($F_0 = A_{F-aph} \times a_{ph}(450)$) для выделенных слоев

Слой	$F_{CTD} - Chl-a$	$F_0 - Chl-a$	$a_{ph}(450) - Chl-a$	$F_0 - a_{ph}(450)$
ВКС	$F_{CTD} = 0,013 \times Chl-a$ $r^2 = 0,86$ $n = 80$	$F_0 = 44 \times Chl-a$ $r^2 = 0,95$ $n = 80$	$a_{ph}(450) =$ $0,060 \times Chl-a^{0,56}$ $r^2 = 0,8$ $n = 77$	$F_0 = 1480 \times a_{ph}(450)$ $r^2 = 0,94$ $n = 80$
ТК	$F_{CTD} = 0,019 \times Chl-a$ $r^2 = 0,91$ $n = 42$	$F_0 = 43 \times Chl-a$ $r^2 = 0,95$ $n = 43$	$a_{ph}(450) =$ $0,057 \times Chl-a^{0,61}$ $r^2 = 0,74$ $n = 41$	$F_0 = 1495 \times a_{ph}(450)$ $r^2 = 0,95$ $n = 43$
ТК – 1 % ФАР	$F_{CTD} = 0,022 \times Chl-a$ $r^2 = 0,87$ $n = 57$	$F_0 = 38 \times Chl-a$ $r^2 = 0,95$ $n = 56$	$a_{ph}(450) =$ $0,030 \times Chl-a^{0,96}$ $r^2 = 0,91$ $n = 56$	$F_0 = 1343 \times a_{ph}(450)$ $r^2 = 0,96$ $n = 38$

Зависимости установлены в широком диапазоне изменчивости Chl- a (~40 раз) от 0,31 до 13,6 мг·м⁻³, в среднем 3,1±2,3 мг·м⁻³. Минимальные значения Chl- a наблюдались в слое «ТК – 1 % ФАР», а максимальные – в слоях ВКС и ТК. При этом значения $a_{ph}(450)$, аналогично Chl- a , изменялись в широком диапазоне (0,0071–0,281 м⁻¹, в среднем 0,100±0,055 м⁻¹).

Коэффициент A_{F-CTD} в слое ВКС имеет наименьшее, в сравнении с другими слоями, значение (таблица 1). Несмотря на высокий коэффициент детерминации ($r^2 = 0,86$), очевидно (рис. 4А), что ряд точек при больших значениях Chl- a не описываются общей для слоя ВКС зависимостью, а находятся ниже. Изменчивость A_{F-CTD} между слоями достигает 60 % (между ВКС и слоем «ТК – 1 % ФАР»), при этом изменчивость коэффициента A_{F-0} значительно

меньше и составляет около 20 % (таблица 1). Зависимость между F и $Chl-a$ обусловлена (уравнение 1) эффективностью поглощения света, то есть $a_{ph}(450)$ – $Chl-a$ зависимостью, и квантовым выходом флуоресценции, то есть зависимостью между F и $a_{ph}(450)$ (табл. 1).

Отмеченное снижение коэффициента A_{aph} в слое «ТК – 1 % ФАР», в сравнении с ВКС и ТК (Таблица 1) означает уменьшение удельных показателей поглощения света пигментами фитопланктона $a_{ph}^*(450)$ около нижней границы зоны фотосинтеза, где фитопланктон существует при более слабой освещенности, чем в слоях ВКС и ТК. Уменьшение $a_{ph}^*(450)$ с глубиной связано с «эффектом упаковки» пигментов в клетке фитопланктона, который обусловлен адаптивным (в ответ на уменьшение количества света) увеличением концентрации пигментов в клетке [13] и уменьшением размерной структуры фитопланктонного сообщества [12].

Отмеченное снижение от слоя ВКС/ТК к слою 1 % ФАР величины A_{F-aph} (квантового выхода флуоресценции) с глубиной (табл. 1) вероятно связано с уменьшением $a_{ph}^*(450)$. В связи с тем, что F_0 измеряли после темновой адаптации в течение 30 минут, все виды тушения (фотохимическое [27] и нефотохимическое [28]), кроме фотоингибирования были нивелированы. Фотоингибирующий эффект, который проявляется при высоких уровнях освещенности [29], то есть в поверхностном слое моря, будет приводить к увеличению квантового выхода с глубиной. Однако, в настоящих исследованиях, отмечен противоположный характер изменения квантового выхода флуоресценции (табл. 1), что указывает на отсутствие ингибирующего влияния света.

Изменения коэффициента A_{F-CTD} между слоем ВКС и «ТК – 1 % ФАР» (на ~60 %) превышали изменение, отмеченное для A_{F-0} (на ~15 %) (табл. 1). В связи с тем, что изменением величины $a_{ph}^*(450)$ с глубиной (коэффициент A_{aph} , табл. 1) одинаково влияет на A_{F-CTD} и A_{F-0} , то различие между степенью вариабельности с глубиной A_{F-CTD} и A_{F-0} связано с квантовым выходом флуоресценции. Величины F_{CTD} измеряются погружным зондом без темновой адаптации пробы воды и, как следствие, в поверхностном высоко освещенном слое моря происходит снижение квантового выхода флуоресценции из-за фотохимического [27] и нефотохимического тушения [28]. Это приводит к уменьшению A_{F-CTD} в слое ВКС под действием естественной освещенности.

На основании вышеперечисленных причин изменений в связи F_{CTD} – $Chl-a$ можно сделать следующие рекомендации:

1. Исключать из регистрируемых погружным зондом значений интенсивности флуоресценции значения, которые обусловлены фоновой флуоресценцией.
2. Для максимально точного расчёта $Chl-a$ по данным F_{CTD} необходимо использование корреляционных коэффициентов для слоёв, различающихся по функциональным характеристикам фитопланктона ($a_{ph}^*(450)$).
3. Следует учитывать влияние интенсивности света на квантовый выход флуоресценции в слое ВКС, которое проявляется в снижении интенсивности флуоресценции, регистрируемой погружным датчиком, вблизи поверхности.

Выводы. Установлено изменение величины удельного поглощения света пигментами фитопланктона на с глубиной в пределах зоны фотосинтеза, что обусловлено адаптацией фитопланктона к различным световым условиям в квазиизолированных слоях существования фитопланктона в период стратификации вод. Показано светоиндуцированное снижение квантового выхода флуоресценции в верхнем перемешанном слое, которое сопровождается снижением отношения между интенсивностью флуоресценции (регистрируемой погружным флуориметром) и концентрацией хлорофилла a . Таким образом, использование единого (по всей зоне фотосинтеза) коэффициента связи приводит к некорректным оценкам концентрации хлорофилла a на основе данных интенсивности флуоресценции.

Для получения более точных оценок концентрации хлорофилла a рекомендуется: (а) исключать из регистрируемых погружным зондом значений интенсивности флуоресценции значения, которые обусловлены фоновой флуоресценцией (из слоя глубже зоны

фотосинтеза); (б) необходимо использование корреляционных коэффициентов для слоёв, различающихся по светопоглощающим характеристикам фитопланктона ($a_{ph}^*(450)$); (в) следует учитывать влияние интенсивности света на квантовый выход флуоресценции в слое ВКС, которое проявляется в снижении интенсивности флуоресценции регистрируемой погружным датчиком и ведет к снижению флуоресценция/хлорофилл отношению вблизи поверхности моря.

Отбор проб проведен в ходе научной экспедиции в рамках научно-образовательной программы «Плавучий университет» (соглашение №075-01593-23-06). Расчеты, обработка и анализ изменения величины концентрации хлорофилла а и удельного поглощения света пигментами фитопланктона, проводились в рамках государственного задания ФГБУН ФИЦ ИнБЮМ №124030100106-2 «Исследование региональных особенностей биооптических показателей водоемов как основы дешифрования данных дистанционного зондирования для оценки мультимасштабной изменчивости первично продукционных характеристик пелагических экосистем». Измерение интенсивности флуоресценции погружным флуориметром и измерения на спектрофотометре Shimadzu UV-2600 UV-VIS Spectrophotometer выполнены в рамках государственного задания ФГБУН ТОИ ДВО РАН №124022100080-0 «Комплексное использование методов дистанционного зондирования Земли, а также наземных и подводных измерительных систем в исследованиях морских погодных образований, гидродинамические и биогеохимические процессов в верхнем слое океана и морей». Первичная обработка проб и анализ изменения величины интенсивности флуоресценции выполнены в рамках проекта № FZNS-2024-0037 «Комплексный экологический мониторинг прибрежных морских и наземных экосистем Камчатки».

Список использованной литературы:

1. Jeffrey S.W., Humphrey G.F. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c1 and c2 in higher plants, algae and natural phytoplankton // Biochemie und Physiologie der Pflanzen. Elsevier BV, 1975. Vol. 167. № 2. P. 191–194.
2. Lorenzen C.J. Determination of chlorophyll and pheo-pigments: spectrophotometric equations // Limnology Oceanography. 1967. Vol. 12. P. 343–346.
3. Mantoura R.F.C., Llewellyn C.A. The rapid determination of algal chlorophyll and carotenoid pigments and their breakdown products in natural waters by reverse-phase high-performance liquid chromatography // Analytica Chimica Acta. 1983. Vol. 151. P. 297–314.
4. Holm-Hansen O. et al. Fluorometric Determination of Chlorophyll // ICES Journal of Marine Science. 1965. Vol. 30, № 1. P. 3–15.
5. Huot Y., Babin M. Overview of Fluorescence Protocols: Theory, Basic Concepts, and Practice // Chlorophyll a Fluorescence in Aquatic Sciences: Methods and Applications. Dordrecht: Springer Netherlands, 2010. P. 31–74.
6. Maxwell K., Johnson G.N. Chlorophyll fluorescence-a practical guide // Journal of Experimental Botany. 2000. Vol. 51. № 345. P. 659–668.
7. 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. Paris: UNESCO Publishing, 2008. P. 237–280.
8. Neale P.J., Cullen J.J., Yentsch C.M. Bio-optical inferences from chlorophyll a fluorescence: What kind of fluorescence is measured in flow cytometry? // Limnology and Oceanography. 1989. Vol. 34. № 8. P. 1739–1748.
9. Xing X. et al. Combined processing and mutual interpretation of radiometry and fluorimetry from autonomous profiling Bio-Argo floats: Chlorophyll a retrieval // Journal of Geophysical Research. 2011. Vol. 116. № C6. P. C06020.
10. Sea-Bird Electronics, Wetstar Fluorometer User's Guide. URL: <https://www.bodc.ac.uk/data/documents/nodb/pdf/wetlabs> (дата обращения: 23.05.2024).

11. *Collins D.J. et al.* The role of reabsorption in the spectral distribution of phytoplankton fluorescence emission // *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers.* 1985. Vol. 32. № 8. P. 983–1003.
12. *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. № 11. P. 1375–1393.
13. *Ciotti A.M., Lewis M.R., Cullen J.J.* Assessment of the relationships between dominant cell size in natural phytoplankton communities and the spectral shape of the absorption coefficient // *Limnology and Oceanography.* 2002. Vol. 47. № 2. P. 404–417.
14. *Falkowski P., Kiefer D.A.* Chlorophyll a fluorescence in phytoplankton: relationship to photosynthesis and biomass // *Journal of Plankton Research.* 1985. Vol. 7. № 5. P. 715–731.
15. *Babin M., Morel A., Gentili B.* Remote sensing of sea surface Sun-induced chlorophyll fluorescence: consequences of natural variations in the optical characteristics of phytoplankton and the quantum yield of chlorophyll a fluorescence // *International Journal of Remote Sensing.* 1996. Vol. 17. № 12. P. 2417–2448.
16. *Sosik H.M., Mitchell B.G.* Absorption, fluorescence, and quantum yield for growth in nitrogen-limited *Dunaliella tertiolecta* // *Limnology and Oceanography.* 1991. Vol. 36. № 5. P. 910–921.
17. *Falkowski P., Kolber Z.* Variations in Chlorophyll Fluorescence Yields in Phytoplankton in the World Oceans // *Functional Plant Biology.* 1995. Vol. 22. № 2. P. 341–355.
18. *de Boyer Montégut C. et al.* Mixed layer depth over the global ocean: An examination of profile data and a profile-based climatology // *Journal of Geophysical Research: Oceans.* 2004. Vol. 109. № C12.
19. *Kirk J.T.O.* *Light and Photosynthesis in Aquatic Ecosystems.* 3rd ed. Cambridge: University Press, 2011. 665 p.
20. *Mitchell B.G. et al.* Determination of spectral absorption coefficient of particles, dissolved material and phytoplankton for discrete water samples // *Ocean Optics Protocols for Satellite Ocean Colour Sensor Validation.* Mueller: NASA Goddard Space Flight Centre, 2003. P. 39–64.
21. *Neeley A.R. et al.* *Inherent Optical Property Measurements and Protocols: Absorption Coefficient (v1.0)* // *Ocean Optics & Biogeochemistry Protocols for Satellite Ocean Colour Sensor Validation.* Dartmouth, Canada: IOCCG, 2018. Vol. 1.
22. *Kishino M. et al.* Estimation of the Spectral Absorption Coefficients of Phytoplankton in the Sea // *Bulletin of Marine Science.* 1985. Vol. 37. № 2. P. 634–642.
23. *Antal T. et al.* Chlorophyll fluorescence induction and relaxation system for the continuous monitoring of photosynthetic capacity in photobioreactors // *Physiologia plantarum.* 2019. Vol. 165. № 3. P. 476–486.
24. *Schreiber U., Bilger W., Neubauer C.* Chlorophyll fluorescence as a noninvasive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis. *Ecophysiology of photosynthesis.* Berlin: Springer, 1994. P. 9–70.
25. *Boss E. et al.* *Inherent Optical Property Measurements and Protocols: Best Practices for the Collection and Processing of Ship-Based Underway Flow-Through Optical Data* // *IOCCG Protocol Series.* 2019. Vol. 4. № 0.
26. *Bricaud A. et al.* Variability in the chlorophyll-specific absorption coefficients of natural phytoplankton: Analysis and parameterization // *Journal of Geophysical Research.* 1995. Vol. 100. № C7. P. 13321–13332.
27. *Kolber Z., Falkowski P.G.* Use of active fluorescence to estimate phytoplankton photosynthesis in situ // *Limnology and Oceanography.* 1993. Vol. 38. № 8. P. 1646–1665.
28. *Muller P., Li X.P., Niyogi K.K.* Non-photochemical quenching. A response to excess light energy // *Plant physiology.* 2001. Vol. 125. № 4. P. 1558–1566.
29. *Baker N.R.* Chlorophyll Fluorescence: A Probe of Photosynthesis In Vivo // *Annual Review of Plant Biology.* 2008. Vol. 59. № 1. P. 89–113.

References:

1. Jeffrey S.W., Humphrey G.F. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c1 and c2 in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochimie und Physiologie der Pflanzen*. Elsevier BV, 1975, vol. 167, no. 2, pp. 191–194. (In English).
2. Lorenzen C.J. Determination of chlorophyll and pheo-pigments: spectrophotometric equations. *Limnology Oceanography*, 1967, vol. 12, pp. 343–346. (In English).
3. Mantoura R.F.C., Llewellyn C.A. The rapid determination of algal chlorophyll and carotenoid pigments and their breakdown products in natural waters by reverse-phase high-performance liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta*, 1983, vol. 151, pp. 297–314. (In English).
4. Holm-Hansen O. et al. Fluorometric Determination of Chlorophyll. *ICES Journal of Marine Science*, 1965, vol. 30, no. 1, pp. 3–15. (In English).
5. Huot Y., Babin M. Overview of Fluorescence Protocols: Theory, Basic Concepts, and Practice. *Chlorophyll a Fluorescence in Aquatic Sciences: Methods and Applications*. Dordrecht, Springer Netherlands, 2010, pp. 31–74. (In English).
6. Maxwell K., Johnson G.N. Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 2000, vol. 51, no. 345, pp. 659–668. (In English).
7. 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*. Paris, UNESCO Publishing, 2008, pp. 237–280. (In English).
8. Neale P.J., Cullen J.J., Yentsch C.M. Bio-optical inferences from chlorophyll a fluorescence: What kind of fluorescence is measured in flow cytometry? *Limnology and Oceanography*, 1989, vol. 34, no. 8, pp. 1739–1748. (In English).
9. Xing X. et al. Combined processing and mutual interpretation of radiometry and fluorimetry from autonomous profiling Bio-Argo floats: Chlorophyll a retrieval. *Journal of Geophysical Research*, 2011, vol. 116, no. C6, C06020 p. (In English).
10. *Sea-Bird Electronics, Wetstar Fluorometer User's Guide* (In English). Available at: <https://www.bodc.ac.uk/data/documents/nodb/pdf/wetlabs> (accessed 23.05.2024).
11. Collins D.J. et al. The role of reabsorption in the spectral distribution of phytoplankton fluorescence emission. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers*, 1985, vol. 32, no. 8, pp. 983–1003. (In English).
12. 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, no. 11, pp. 1375–1393. (In English).
13. Ciotti Á.M., Lewis M.R., Cullen J.J. Assessment of the relationships between dominant cell size in natural phytoplankton communities and the spectral shape of the absorption coefficient. *Limnology and Oceanography*, 2002, vol. 47, no. 2, pp. 404–417. (In English).
14. Falkowski P., Kiefer D.A. Chlorophyll a fluorescence in phytoplankton: relationship to photosynthesis and biomass. *Journal of Plankton Research*, 1985, vol. 7, no. 5, pp. 715–731. (In English).
15. Babin M., Morel A., Gentili B. Remote sensing of sea surface Sun-induced chlorophyll fluorescence: consequences of natural variations in the optical characteristics of phytoplankton and the quantum yield of chlorophyll a fluorescence. *International Journal of Remote Sensing*, 1996, vol. 17, no. 12, pp. 2417–2448. (In English).
16. Sosik H.M., Mitchell B.G. Absorption, fluorescence, and quantum yield for growth in nitrogen-limited *Dunaliella tertiolecta*. *Limnology and Oceanography*, 1991, vol. 36, no. 5, pp. 910–921. (In English).
17. Falkowski P., Kolber Z. Variations in Chlorophyll Fluorescence Yields in Phytoplankton in the World Oceans. *Functional Plant Biology*, 1995, vol. 22, no. 2, pp. 341–355. (In English).
18. de Boyer Montégut C. et al. Mixed layer depth over the global ocean: An examination of profile data and a profile-based climatology. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 2004, vol. 109, no. C12. (In English).

19. Kirk J.T.O. *Light and Photosynthesis in Aquatic Ecosystems*. 3rd ed. Cambridge, University Press, 2011, 665 p. (In English).
20. Mitchell B.G. et al. Determination of spectral absorption coefficient of particles, dissolved material and phytoplankton for discrete water samples. *Ocean Optics Protocols for Satellite Ocean Colour Sensor Validation*. Mueller, NASA Goddard Space Flight Centre, 2003, pp. 39–64. (In English).
21. Neeley A.R. et al. Inherent Optical Property Measurements and Protocols: Absorption Coefficient (vl.O). *Ocean Optics & Biogeochemistry Protocols for Satellite Ocean Colour Sensor Validation*. Dartmouth, Canada, IOCCG, 2018, vol. 1. (In English).
22. Kishino M. et al. Estimation of the Spectral Absorption Coefficients of Phytoplankton in the Sea. *Bulletin of Marine Science*, 1985, vol. 37, no. 2, pp. 634–642. (In English).
23. Antal T. et al. Chlorophyll fluorescence induction and relaxation system for the continuous monitoring of photosynthetic capacity in photobioreactors. *Physiologia plantarum*, 2019, vol. 165, no. 3, pp. 476–486. (In English).
24. Schreiber U., Bilger W., Neubauer C. Chlorophyll fluorescence as a noninvasive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis. *Ecophysiology of photosynthesis*. Berlin, Springer, 1994, pp. 9–70. (In English).
25. Boss E. et al. Inherent Optical Property Measurements and Protocols: Best Practices for the Collection and Processing of Ship-Based Underway Flow-Through Optical Data. *IOCCG Protocol Series*, 2019, vol. 4. (In English).
26. Bricaud A. et al. Variability in the chlorophyll-specific absorption coefficients of natural phytoplankton: Analysis and parameterization. *Journal of Geophysical Research*, 1995, vol. 100, no. C7, pp. 13321–13332. (In English).
27. Kolber Z., Falkowski P.G. Use of active fluorescence to estimate phytoplankton photosynthesis in situ. *Limnology and Oceanography*, 1993, vol. 38, no. 8, pp. 1646–1665. (In English).
28. Muller P., Li X.P., Niyogi K.K. Non-photochemical quenching. A response to excess light energy. *Plant physiology*, 2001, vol. 125, no. 4, pp. 1558–1566. (In English).
29. Baker N.R. Chlorophyll Fluorescence: A Probe of Photosynthesis In Vivo. *Annual Review of Plant Biology*, 2008, vol. 59, no. 1, pp. 89–113. (In English).

Сведения об авторах / Information about authors

Моисеева Наталья Андреевна	научный сотрудник Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН 299011, Россия, г. Севастополь, пр. Нахимова, 2 nataliya-moiseeva@yandex.ru
Moiseeva Nataliia Aleksandrovna	Researcher A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS 299011, Russian Federation, Sevastopol, Nakhimova ave., 2 nataliya-moiseeva@yandex.ru
Чурилова Татьяна Яковлевна	канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник, руководитель НИЦ геоматики Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН 299011, Россия, г. Севастополь, пр. Нахимова, 2 tanya.churilova@ibss-ras.ru
Churilova Tanya Yakovlevna	Ph.D. (Biol.), Leading researcher, Head of the geomatics research center A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS 299011, Russian Federation, Sevastopol, Nakhimova ave., 2 tanya.churilova@ibss-ras.ru
Скорород Елена Юрьевна	научный сотрудник Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН 299011, Россия, г. Севастополь, пр. Нахимова, 2

Skorokhod Elena Yur'evna	elenaskorokhod@ibss-ras.ru Researcher A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS 299011, Russian Federation, Sevastopol, Nakhimova ave., 2 elenaskorokhod@ibss-ras.ru
Салюк Павел Анатольевич	канд. физ.-мат. наук, доцент, заведующий лабораторией Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН 690041, г. Владивосток, ул. Балтийская, 43 psalyuk@poi.dvo.ru
Salyuk Pavel Anatolievich	Ph.D. (Phys.-Math.), Head of the Lab V.I. Ilichev Pacific Oceanological Institute FEB RAS 690041, Vladivostok, Baltiyskaya str., 43 psalyuk@poi.dvo.ru
Ефимова Татьяна Владимировна	канд. биол. наук, старший научный сотрудник Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН 299011, Россия, г. Севастополь, пр. Нахимова, 2 tatyana-iefimova@yandex.ru
Efimova Tatiana Vladimirovna	Ph.D. (Biol.), Senior Researcher A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS 299011, Russian Federation, Sevastopol, Nakhimova ave., 2 tatyana-iefimova@yandex.ru
Давыдова Дарья Геннадиевна	студент Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова 119991, Россия, Москва, ул. Колмогорова, 1 moonrainbovv@yandex.ru
Davydova Dar'ya Gennadievna	student Lomonosov Moscow State University 119991, Russia, Moscow, Kolmogorova str., 1 moonrainbovv@yandex.ru
Саушева Алёна Андреевна	студент Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва 430005, Россия, Республика Мордовия, Саранск, ул. Большевикская, 68 alena.sausheva@gmail.com
Sausheva Alena Andreevna	student Mordovia State University 430005, Russia, Republic of Mordovia, Saransk, Bolshevistskaya str., 68 alena.sausheva@gmail.com
Самойлов Михаил Андреевич	студент Московский физико-технический институт 141701, Россия, Московская область, Долгопрудный, пер. Институтский, 9 samoilov.ma@phystech.edu
Samoilov Mikhail Andreevich	student Moscow Institute of Physics and Technology 141701, Russia, Moscow region, Dolgoprudny, Institutsky lane, 9 samoilov.ma@phystech.edu