

УДК 551.464.797.9:551.467 (268.45)

**О СОДЕРЖАНИИ ХЛОРОФИЛЛА И ФЕОФИТИНА  
В ВОДЕ И ЛЬДАХ БАРЕНЦЕВА МОРЯ****Н. В. Мордасова, М. В. Федосов**

Изучение количественного и качественного состава хлорофилла, содержащегося в морской воде, представляет большой интерес для разрешения многих теоретических и практических вопросов. Так, например, сведения о содержании хлорофилла могут быть использованы для оценки величины первичной продукции и биомассы фитопланктона. При проведении исследований в Баренцевом море мы ставили перед собой задачу сравнить количество хлорофилла, содержащееся во льдах, с количеством его, находящимся в воде вблизи кромки льда и на некотором расстоянии от нее.

Многие исследователи наблюдали массовое развитие фитопланктона среди полярных льдов. Так, во время экспедиции на дизельэлектроходе «Обь» в 1958—1959 гг. было отмечено, что весь припайный лед в заливе Алашеева, от его внешней кромки до берега, был заселен диатомовыми водорослями (Буйницкий, 1965). Гран (Gran, 1900) ввел специальный термин «ледовая флора» для обозначения водорослей, главным образом диатомей, обильно развивающихся как на поверхности тающих льдов, так и в воде между ними.

Большинство авторов склонно объяснить подобное массовое развитие водорослей действием факторов, связанных с таянием льда. Так, например, Н. Н. Зубов (1935) считает характерным для кромки тающих льдов «обилие органической жизни, всегда связанной с процессом таяния». При этом он отмечает: «некоторые приписывают этот факт питательным веществам, скопляющимся внутри льда и на его поверхности». Другие объясняют это явление благотворным влиянием больших ледяных молекул (тригидроловые молекулы), из которых состоит лед.

П. П. Ширшов (1937) придерживается другой точки зрения. Он утверждает, что обильное развитие диатомей в планктоне — это обычное «весеннее цветение», наблюдающееся повсюду в более южных морях умеренного пояса. Под ледовым покровом моря возможности фотосинтеза ограничены из-за отсутствия света, и только с вскрытием мощного ледового покрова в толщу воды начинают интенсивно проникать лучи света и происходит бурное развитие растительности. Зимняя бедность фитопланктона сменяется обильным весенним цветением.

В толще льда водоросли располагаются по-разному. В одних случаях они находятся у нижней его поверхности и в прилегающих к ней

слоях, в других, наоборот, — в самом верхнем слое льда, непосредственно под снежным покровом. Проникая в толщу льда, диатомовые водоросли окрашивают его в ржаво-коричневый цвет, причем интенсивность окраски зависит от количества водорослей. Наблюдались случаи, когда отдельные слои льда, особенно плотно заселенные диатомовыми, имели густую, почти коричнево-черную окраску.

Материалом для настоящего исследования послужили пробы, собранные в юго-восточной части Баренцева моря во время экспедиции на СРТМ «Икар» в апреле—мае 1969 г. Пробы морской воды были взяты с поверхности ведром, а с глубины — батометром. Пробы льда откалывали топором и оттаивали в тазу при комнатной температуре. Для отделения фитопланктона пробы морской воды и растаявшего льда фильтровали через мембранный ультрафильтр № 5 и слой  $MgCO_3$  (в целях предотвращения феофитинизации). Для измерения интенсивности флуоресценции ацетоновых экстрактов фильтровали 100—200 мл морской воды или растаявшего льда. Одновременно для раздельного определения хлорофиллов на спектрофотометре отдельные пробы (от 5 до 10 л) фильтровали. Фильтры с осевшим фитопланктоном в течение месяца хранили в холодильнике при 0°.

Хлорофилл определяли на флуорометре флуоресцентным методом, сущность которого была изложена нами ранее (Мордасова, 1969). Анализ проводился в основном по методике, рекомендуемой Океанографической комиссией ЮНЕСКО (1966), и состоял в следующем. Фильтры с осевшим фитопланктоном и  $MgCO_3$  растирали с добавлением 7—8 мл 90%-ного ацетона в микроразмельчителе в течение 3—5 мин. Затем экстракт переносили в центрифужную пробирку, которую выдерживали в темноте в течение 15—20 мин, до полного экстрагирования пигмента. После этого ацетоновый экстракт центрифугировали 10—15 мин (4000—5000 об/мин) и сливали в мерную пробирку флуорометра. Объем экстракта доводили до 10 мл 90%-ным ацетоном, после чего измеряли интенсивность его флуоресценции при помощи видоизмененного флуорометра ЭФ-3М, сущность работы и устройство которого были описаны ранее (Мордасова, 1968).

Одновременно с анализом проводили «глухой» опыт с чистым мембранным ультрафильтром без фитопланктона с добавкой  $MgCO_3$  и 90%-ного ацетона. Данные, полученные в этом опыте, вычитали из показаний флуоресценции ацетонового экстракта фитопланктона.

Содержание хлорофилла рассчитывали по калибровочным кривым, построенным по хлорофиллу «а», содержащемуся в фитопланктоне Баренцева моря. Калибровочные кривые зависимости условных флуоресцентных единиц от концентрации хлорофилла были построены для различных положений диафрагмы и для различных светофильтров. Принимали во внимание три положения диафрагмы: минимальное раскрытие, раскрытие на  $1/4$  и на  $1/2$ , так как далее интенсивность флуоресценции увеличивается незначительно, а показания имеют больший разброс. Первичным светофильтром был голубой с максимумом пропускания при 450 мкм, с металлической мелкой сеткой для ослабления интенсивности светового потока в случае, когда показания велики и при измерении с первичным светофильтром без сетки будут выходить за пределы шкалы. В случае, когда интенсивность флуоресценции небольшая, используют первичный светофильтр с тем же максимумом пропускания без металлической сетки. Вторичным светофильтром был красный с максимумом пропускания при 650—750 мкм; он пропускал лучи, излучаемые только хлорофиллом «а», имеющим максимум излучения при 670 мкм.

В фитопланктоне Баренцева моря в основном содержатся хлорофиллы «а» и «с», но так как основным фотосинтетическим аппаратом является хлорофилл «а» (Винберг, 1961), то мы измеряли только хлорофилл «а».

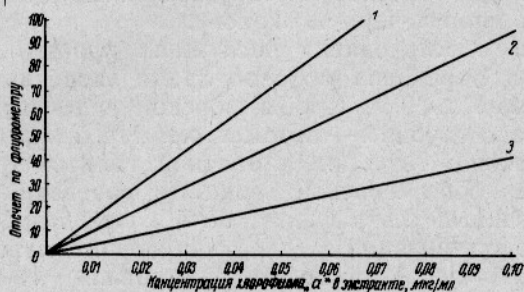


Рис. 1. Калибровочные кривые, построенные по хлорофиллу, содержащемуся в фитопланктоне Баренцева моря. Первичный светофильтр — голубой с сеткой; вторичный — красный: 1 — раскрытие диафрагмы на  $\frac{1}{2}$ ; 2 — раскрытие на  $\frac{1}{4}$ ; 3 — минимальное раскрытие.

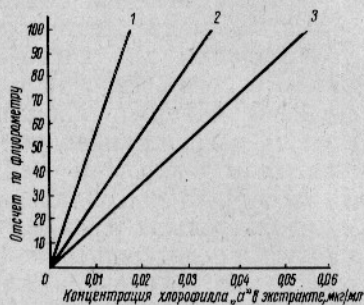


Рис. 2. Калибровочные кривые, построенные по хлорофиллу, содержащемуся в фитопланктоне Баренцева моря. Первичный светофильтр — голубой без сетки; вторичный — красный: 1 — раскрытие диафрагмы на  $\frac{1}{2}$ ; 2 — раскрытие на  $\frac{1}{4}$ ; 3 — минимальное раскрытие.

Оптическую плотность экстракта хлорофилла неизвестной концентрации измеряли на спектрофотометре СФ-4А, затем рассчитывали содержание хлорофилла в нем по формулам, рекомендуемым Океанографической комиссией ЮНЕСКО (1966). Экстракт разводили в 10, 20, 50, 100 и 200 раз 90%-ным ацетоном и измеряли интенсивность флуоресценции при помощи флуорометра, после чего строили калибровочную кривую зависимости условных флуоресцентных единиц от концентрации хлорофилла. Полученные кривые показаны на рис. 1 и 2.

Хлорофилл определяли в 20 пробах воды, взятых с поверхности, в 12 пробах воды, взятых с различных глубин, 11 пробах льда, собранных с верхней части льдины, не погруженной в воду (обозна-

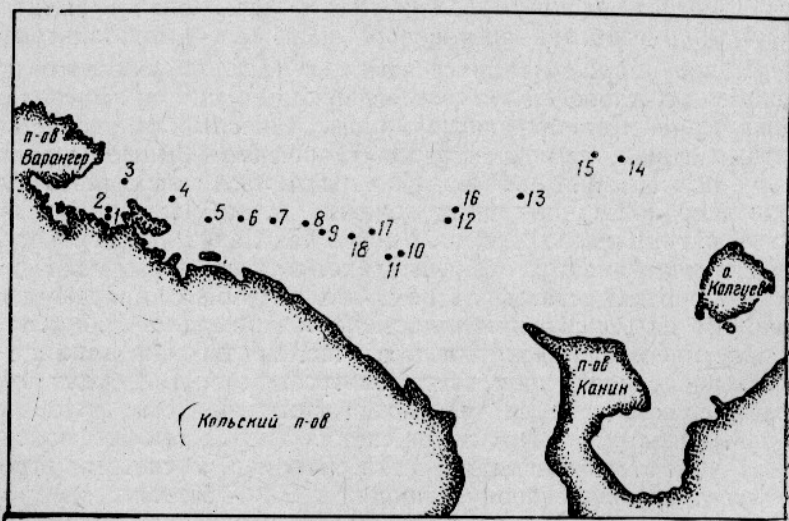


Рис. 3. Сетка станций в Баренцевом море в апреле — мае 1969 г.



чаемой «снег»), и с ее нижней, погруженной в воду части (обозначаемой «лед»). Всего было сделано 18 станций, из которых 1—9 находились вдали от кромки льда, 10—16 — у кромки льда и во льдах, станция 17 — на расстоянии двух миль от кромки льда, а 18 — на расстоянии 20 миль (рис. 3).

Таблица 1

Содержание хлорофилла «а» и феофитина «а» в пробах воды, взятых в Баренцевом море в апреле—мае 1969 г.

№ станции	Глубина, м	Температура, °С	Горизонт	Хлорофилл «а», мкг/л	Фо/Фа	Феофитин «а», %
1	27	+1,2	Поверхность	0,29	1,20	85,7
2	27	—	»	0,33	1,33	75,3
		—	5 м	0,37	1,80	42,6
		—	10 м	0,37	1,83	39,5
		—	20 м	0,21	1,43	71,0
3	—	+0,5	Поверхность	0,20	1,21	85,7
4	120	+2,3	»	0,19	1,40	69,0
		—	5 м	0,18	—	—
		—	10 м	0,16	—	—
		—	25 м	0,17	—	—
		—	40 м	0,14	1,60	57,0
5	45	+1,2	Поверхность	0,20	1,20	85,0
5а	45	+1,1	»	0,93	2,06	24,3
5б	45	+1,5	»	0,79	1,85	38,5
5в	45	+1,7	»	1,14	2,52	0
6	—	—	»	0,57	1,67	52,0
7	—	—	»	0,40	1,56	60,0
8	—	—	»	0,80	2,08	23,2
9	—	—	»	0,63	1,83	39,4
10	—	-0,8	»	3,00	2,27	8,5
11	40	-1,6	»	2,80	2,08	21,7
		—	5 м	2,08	2,72	0
		—	40 м	1,64	1,45	68,5
12	115	-1,2	Поверхность	1,80	2,12	19,7
13	100	-1,4	»	4,40	2,00	27,7
		—	5 м	3,38	2,33	3,5
14	142	-1,4	Поверхность	8,00	2,22	12,9
		—	10 м	6,50	—	—
		—	40 м	6,50	2,07	22,1
16	160	-0,8	Поверхность	2,85	2,00	26,5
17	130	—	»	2,45	2,00	28,0
18	120	-0,5	»	1,30	2,06	24,0

Примечание. Станции 5а, 5б, 5в выполнены на следующий день.

В табл. 1 и 2 приводятся данные о содержании хлорофилла в пробах воды и льда Баренцева моря. Кроме того, в них содержатся данные о величине отношения флуоресценции ацетоновых экстрактов до подкисления (Фо) к интенсивности их флуоресценции после подкисления (Фа) однонормальной соляной кислотой. Это — так называемый кислотный фактор, по которому мы рассчитывали содержание феофитина в пробе (об этом будет сказано ниже).

Содержание хлорофилла, вычисленное в мкг/л, колеблется на поверхности от 0,20 до 8,00 мкг/л, причем наибольшее количество хлорофилла содержится в пробах морской воды, взятых у кромки льда. Так, если в пробах морской воды, взятых на поверхности вдали от кромки, содержалось хлорофилла от 0,19 до 1,14 мкг/л, в среднем 0,54 мкг/л, то у кромки льда содержание его колебалось от 1,80 до 8,00 мкг/л, в среднем 3,81 мкг/л. По мере увеличения глубины содержание хлорофилла, как правило, уменьшалось.

Таблица 2

Содержание хлорофилла «а» и феофитина «а» в пробах льда, взятых в Баренцевом море в апреле — мае 1969 г.

№ станции	Вид льда	Содержание хлорофилла «а», мкг/л	Фо/Фа	Содержание феофитина «а», %
11	Снег	7,43	2,15	17,2
	Лед	11,50	2,09	21,2
12	Снег	0	—	—
	Лед	0	—	—
13	Блинчатый лед	8,23	2,43	0
14	Лед	4,25	2,20	13,4
	Снег	10,06	2,20	13,5
15	Блинчатый лед	9,225	2,34	3,4
	«Сало»*	0,88	2,00	27,8
16	Снег	1,65	2,00	27,8
	Лед	1,30	1,57	57,0

\* Смесь снега с молодым льдом.

На станции 5 была сделана попытка проверить изменение содержания хлорофилла в течение дня. Оказалось, что отклонение от среднего составляло от 2 до 20% (в среднем 13%), т. е. было невелико, что не позволило сделать какие-либо существенные выводы.

Содержание хлорофилла в верхней части льда (в снегу) колебалось от 0 до 10,08 мкг/л, в среднем — 4,79 мкг/л, а в нижней части льда (во льду) — от 0 до 11,50 мкг/л (в среднем 5,75 мкг/л). Большое количество хлорофилла обнаружено в блинчатом плавающем льду — 8,225, 9,225 мкг/л. В «сале» содержалось хлорофилла всего 0,88 мкг/л.

Одновременно с определением хлорофилла «а» флуоресцентным методом мы отдельно определяли на спектрофотометре СФ-4А хлорофиллы «а», «в» и «с» для ряда станций (где было взято и отфильтровано от 5 до 10 л морской воды, так как для определения хлорофилла такой низкой концентрации спектрофотометрическим методом меньшего количества недостаточно). Полученные данные представлены в табл. 3.

Таблица 3

Содержание хлорофиллов «а», «в», «с» в пробах воды и льда Баренцева моря, %

Вид хлорофилла	№ станции								
	1 (вода)	5 (вода)	12 (вода)	13 (вода, лед)*	14 (лед)	15 («сало»)	16 (смесь воды со льдом)	17 (вода)	18 (вода)
«а»	27	52	28	$\frac{64}{56}$	57	53	30	43	44
«в»	15	12	12	$\frac{2}{15}$	8	10	16	12	9
«с»	58	36	60	$\frac{34}{29}$	35	37	54	45	47

\* В числителе — вода, в знаменателе — лед.

Из табл. 3 видно, что содержание хлорофилла «а» составляло в среднем 45,4%, колеблясь в пределах от 27 до 64%, содержание хлорофилла «с» составляло в среднем 43,5%, колеблясь в пределах от 60 до 29%, а хлорофилла «в» — всего 11,1% при колебаниях от 2 до 16%. В отдельных случаях хлорофилла «с» было больше, чем хлорофилла «а».

Полученные данные совпадают с данными З. З. Финенко и Л. А. Ланской (1966) о содержании хлорофиллов в диатомовых водорослях. Хлорофилл «с» в таком большом количестве (до 45%) содержится только в диатомовых водорослях и некоторых видах зеленых. Правда, в этих видах отсутствует, как правило, хлорофилл «в»; присутствие хлорофилла «в» в пробах объясняется, по-видимому, примесью небольшого количества других видов фитопланктона.

Большим преимуществом флуоресцентного метода является возможность определения содержания живого хлорофилла и продукта его распада — феофитина посредством измерения интенсивности флуоресценции до и после подкисления ацетоновых экстрактов 1N HCl.

Содержание феофитина  $\Phi$  (в %) рассчитывали по следующей формуле:

$$\Phi = \frac{(2,39 \Phi_a - \Phi_0) 100}{1,39 \Phi_a}$$

Формула выведена на основании положения о том, что флуоресценция феофитина «а» составляет 42% от флуоресценции хлорофилла «а».

Холм-Хансен и др. (Holm-Hansen, Lorenzen, Holmes, 1965) для смеси хлорофиллов «а» и «с» получили кислотный фактор, равный в среднем 2,16, а для хлорофилла «а» — около 2,4. У нас для проб воды, взятых у кромки льда, был получен средний коэффициент 2,10, колебания составляли 2,00—2,27; для проб льда этот коэффициент был равен в среднем 2,11, колебания — от 1,57 до 2,43. Для проб воды, взятых вдали от кромки льда, кислотный фактор был значительно ниже, чем для проб, взятых у кромки льда и во льдах; он составлял в среднем 1,66, колебания — от 1,20 до 2,08. Соответственно и содержание феофитина «а» (в %) от общего количества хлорофилла «а» составляло в пробах воды, взятых вдали от кромки льда, в среднем 58% (колебания — от 23,2 до 85,7%), а в пробах воды, взятых у кромки льда, — в среднем 20,7% (колебания — от 8,5 до 28%).

В пробах льда содержание феофитина составляло в среднем 20,1%, изменяясь в пределах от 0 до 57%. Из проб воды, взятых вдали от кромки льда, только в одной феофитин не был обнаружен, и соответственно кислотный фактор составил 2,52.

В табл. 1 показано изменение содержания феофитина в зависимости от глубины, но из представленных данных трудно сделать какие-либо существенные выводы. В тех случаях, когда кислотный фактор в пробах превышает 2,4, в них, по всей вероятности, имеются примеси других пигментов.

Лорензен (Lorenzen, 1965) считает, что если отношение  $\Phi_0 : \Phi_a = 1,35$  или меньше, то 50% от общего количества хлорофилла (или несколько больше) представлено феофитином. Если кислотный фактор равен единице, то весь хлорофилл представлен феофитином. Таким образом, уже по одному кислотному фактору можно качественно судить о наличии феофитина в пробе.

Во льдах и в морской воде вблизи кромки льдов С. Г. Орадовский (в настоящем томе), проводивший одновременно с нами исследование



биогенного химического состава льдов, обнаружил повышенное содержание биогенных элементов, причем во «льду» и в «снеге» было очень много аммонийных ионов, что, видимо, и обусловило более высокое содержание хлорофилла в этих зонах.

### Заключение

На основании полученных данных можно считать, что наши пробы были собраны в самом начале гидрологической и гидробиологической весны. Температура морской воды у кромки льда в это время была отрицательной, однако температура воздуха на станциях 11, 12 и 13 была положительной, что и вызвало таяние поверхностного слоя льда. На других станциях температура воздуха была отрицательной, но, видимо, это понижение температуры было временным, и, хотя задержало таяние льда, но не могло остановить начавшееся массовое развитие фитопланктона. Это подтверждается полученными данными.

Во льдах и в воде у кромки льда, из-за таяния льда содержание хлорофилла было гораздо выше, чем на участках, удаленных от кромки. Так, если в пробах морской воды, взятых вдали от кромки, содержалось в среднем только 0,54 мг/л хлорофилла «а», то в пробах льда — 4,96 мг/л, а в воде у кромки — 3,8 мг/л. Следует отметить, что содержание феофитина в фитопланктоне, собранном во льдах и в воде у кромки, было гораздо ниже, чем в собранном на участках, удаленных от кромки. Это свидетельствует о том, что во льдах и приледовых водах в период исследований было гораздо больше живых развивающихся водорослей, чем в водах, удаленных от льдов. Так, в пробах льда содержалось в среднем 20,1% феофитина от общего количества хлорофилла «а», в приледовых водах — 20,7%, в удаленных же от льдов зонах содержание феофитина достигало в среднем 53,2%.

### СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- Буйницкий В. Х. О влиянии диатомовых водорослей на строение и прочность морских льдов. Труды САЭ. Т. 44, 1965.
- Винберг Г. Г., Сивко Т. Н., Ковалевская Р. Э. Методы определения содержания хлорофилла в планктоне и некоторые итоги их применения. Сб. «Первичная продукция морей и внутренних вод». Минск, 1961.
- Зубов Н. Н. О биологических свойствах морского льда. «Северный морской путь». Вып. 2, 1935.
- Мордасова Н. В. Прибор для определения хлорофилла флуоресцентным методом. Сб. «Методы рыбохозяйственных химико-океанографических исследований». Ч. 2. Изд. ВНИРО. М., 1968.
- Мордасова Н. В. Флуоресцентный метод определения хлорофилла «а». Материалы Всесоюзного семинара морских рыбохозяйственных институтов по методам гидрохимического анализа. Тезисы докладов. М., 1969.
- Орадовский С. Г. Изучение биогенного химического состава льдов Баренцева моря (публикуется в настоящем сборнике).
- Финенко З. З., Ланская Л. А. Содержание пигментов в морских планктонных водорослях, выращенных в лабораторных условиях. «Океанология». Т. 8. Вып. 5, 1966.
- Ширшов П. П. Сезонные явления в жизни фитопланктона полярных морей в связи с ледовым режимом. Труды Всесоюзного Арктического института. Т. 82, 1937.
- Gran H. H. Diatomeae of the ice — floes and plankton of the Arctic Ocean. The Norweg. North Polar Exped. 1893—1896. Sci. Results, v. 4, N 11, 1900.
- Holm-Hansen O., Lorenzen C., Holmes R. W., Strickland D. H. Fluorometric determination of chlorophyll. J. Cons. Expl. Mer., v. 30, N 1, 1965.
- Lorenzen C. J. A note on the chlorophyll and pheophytin content of the chlorophyll maximum. Limnol. & Oceanogr., v. 10, N 3, 1965.
- UNESCO. Determination of photosynthetic pigments in sea water. Monographs on Oceanographic Methodology, 1966.

## SUMMARY

The results are presented of investigations on the content of chlorophyll «a» in the water and ice of the Barents Sea. Chlorophyll was estimated by the fluorescent method with 90% acetone extraction. The analysis was made using the techniques adopted by the UNESCO Oceanographic Commission. The plate drift ice was found to contain the greatest amount of chlorophyll «a» (up to about 8.00 mg. per litre), the lower part of ice floes containing 5.75 mg. per litre on an average, and the upper 4.79 mg. per litre. In the water samples taken at the ice edge the chlorophyll content averaged 3.81 mg. per litre, whereas that in the samples taken off the ice edge was 0.54 mg. per litre.

When studying the qualitative chlorophyll composition, it was found that phytoplankton contained mainly chlorophyll «a» (45.4% on an average), and «c» (43.5% on an average), the chlorophyll «b» content being insignificant (11.1%).

The pheophytin content was estimated by measuring the fluorescence of the acetone extracts prior to, and after acidification, with 1N HCl. The phytoplankton of the ice and water, sampled at the ice edge, was found to contain, respectively, 20.1 and 20.7% of pheophytin «a» of the total chlorophyll «a» content, while the mean pheophytin «a» content in the phytoplankton of sea water, taken off the ice edge, amounted to 58.0%.