

УДК 574.583(285.2):581

Н.М. МИНЕЕВА

Ин-т биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина,
152742 п. Борок, Ярославская обл., Россия
e-mail: mineeva@ibiw.yaroslavl.ru

РАСТИТЕЛЬНЫЕ ПИГМЕНТЫ КАК ПОКАЗАТЕЛИ БИОМАССЫ ФИТОПЛАНКТОНА

Анализ литературных данных показывает, что биохимические методы, получившие широкое распространение в гидробиологических исследованиях морских и пресных вод, являются альтернативой трудоемкому микроскопическому учету биомассы фитопланктона. В качестве показателя биомассы чаще всего используют фотосинтетические пигменты, которые определяют спектрофотометрическим, флуоресцентным или хроматографическим методами. Учитывая разнообразие пигментного состава различных систематических отделов водорослей, для определения их суммарной биомассы и относительного обилия крупных таксономических единиц в качестве наиболее перспективного метода рассматривается хемо-таксономический метод, основанный на применении высокоэффективной жидкостной хроматографии.

К л ю ч е в ы е с л о в а : фитопланктон, биомасса, пигменты, методы определения.

Введение

Водоросли планктона, продуцируя основную массу первичного органического вещества в пресноводных экосистемах, играют средообразующую и индикаторную роль, а также занимают ключевые позиции в формировании биоразнообразия. В гидроэкологических исследованиях для характеристики степени обилия фитопланктона традиционно используют его биомассу, которую определяют счетно-объемным методом (Методика ..., 1975).

Микроскопический учет биомассы, дающий достаточно полную информацию о разнообразии сообществ, их таксономическом и размерном составе, — наиболее трудоемкий метод количественной оценки развития водорослей. Точность определения зависит от квалификации исследователя и свойств используемого фиксатора (Montagnes et al., 1994). Возможности световой микроскопии не позволяют учитывать мелкоклеточные организмы. Прогресс в их изучении достигнут благодаря развитию эпифлуоресцентной (Daley, Hobbie, 1975) и электронной микроскопии (Johnson, Sieburth, 1982), проточной цитометрии (Olson et al., 1985), иммунофлуоресцентной технике (Shapiro et al., 1989). Идут постоянные поиски более оперативных (и по возможности точных) косвенных показателей биомассы, например содержание АТФ (Vollenweider et al., 1974; Hunter, Laws, 1981), клеточного углерода (Томсонс и др., 1987; Riemann et

© Н.М. Минеева, 2011

al., 1989; Llewellyn, Mantoura, 1996) или фотосинтетических пигментов (Винберг, 1960; Phytoplankton Manual, 1978; Елизарова, 1993).

В качестве показателя биомассы чаще всего используют важнейший компонент растительной клетки, основной пигмент фотосинтетического аппарата – хлорофилл *a* (хл. *a*). В настоящее время многие авторы ставят знак равенства между хлорофиллом и биомассой, выражая последнюю в концентрации пигмента (French et al., 2007; Honti et al., 2007; Cano et al., 2008; Carstensen et al., 2009). Содержание хлорофилла тесно коррелирует с содержанием клеточного углерода, особенно при доминировании *Bacillariophyta* (Llewellyn et al., 2005). Соотношение между хлорофиллом и углеродом хотя и изменчиво, но укладывается в сопоставимые пределы и в культурах (1,2–6,1 %), и в природном фитопланктоне (1,5–3,7 %) (Riemann et al., 1989).

К наиболее распространенным в полевых исследованиях методам определения хлорофилла относится достаточно простой, доступный и оперативный спектрофотометрический метод (SCOR-UNESCO, 1966), предложенный более полувека назад (Richards, Thompson, 1952). С помощью данного метода, критический анализ которого приводится в литературе (Сигарева, 1993), возможно определение дополнительных хлорофиллов *b* и *c*, а также суммарного содержания продуктов их распада и растительных каротиноидов. На его основе калибруются непрямые методы определения хлорофилла, в т.ч. дистанционные (Кондратьев, Поздняков, 1988; Batten et al., 2003).

Еще большей экспрессностью обладает флуоресцентный метод (Falkowski, Kiefer, 1985), открывающий дополнительные возможности исследования продуктивности альгоценозов, в частности определение малых количеств хлорофилла в воде без концентрирования проб, экстрагирования пигментов и нарушения целостности клеток, а также учет мелкофракционных фракций. Феномен флуоресценции, открытый в 1931 г. Каутским (Kautsky, Hirsch, 1934; Govindjee, 1995), оказал большое влияние на исследования фотосинтетических процессов. В начале 1960-х гг. выдвинута и подтверждена концепция существования двух светособирающих комплексов – ФС1 и ФС2 (Lichtenthaler, 1992). Измерение флуоресценции широко распространено в лимнологии и океанологии при исследовании фотосинтеза – от лабораторных экспериментов с тилакоидами при строго контролируемых условиях до полевых наблюдений, к которым относится определение биомассы, скорости роста и биогенного статуса фитопланктона (Raven, Beardall, 2006), а также микрофитобентоса (Honeywill et al., 2002; Jesus et al., 2006). В настоящее время при исследованиях альгоценозов успешно используются разнообразные модификации стационарных и погружных флуориметров (Гольд и др., 1984; Лапшин, Трохан, 1984; Ведерников и др., 1990; Апонасенко и др., 1995; Маторин и др., 1996; Сидько и др., 1996; Phinney et al., 1988; Gregor, Marsalek, 2004).

В модификации метода, разработанной в Красноярском ун-те (Гольд и др., 1986; Гаевский и др., 1993), флуоресценцию в красной области спектра ($\lambda = 680$ нм) измеряют при возбуждении клеток светом с длиной

волны 400, 515 и 540 нм. Это позволяет оценивать суммарную концентрацию хл. *a* и его содержание у основных систематических групп пресноводного фитопланктона – диатомовых, синезеленых и зеленых водорослей.

С помощью флуоресцентного анализа возможно определение не только хл. *a*, но и дополнительных пигментов (хл. *b*, хл. *c*) и феофитинов (Tsuneobu, 1986; Neveux, Ramouse, 1987). В последнее время возрос интерес специалистов, занимающихся экологией фитопланктона, к дополнительным пигментам и их взаимодействию с физическими, химическими и биологическими факторами среды. Особенности пигментного состава водорослей позволили выделить группы крупных таксономических единиц – отделов с учетом типов светособирающего хлорофилл-белкового комплекса и участия в функции светосбора фикобилинов или бурого пигмента фукоксантина. Шесть таких групп выделяет Н.А. Гаевский (2003): зеленые, эвгленовые, харовые, содержащие хл. *a* и хл. *b*; ксантофитовые и рафидофитовые (хл. *a* и хл. *c*); диатомовые, динофитовые, золотистые, бурые (хл. *a*, хл. *c*, фукоксантин); криптофитовые (хл. *a*, хл. *c*, фикобилины); красные (хл. *a*, хл. *d*, фикобилины); синезеленые (хл. *a*, фикобилины). Три группы выделяет Д.Г. Дундорф с соавт. (Dundorf et al., 1999): зеленые, эвгленовые (хл. *a*, хл. *b*); диатомовые, динофитовые, золотистые, бурые (хл. *a*, хл. *c*, фукоксантин); криптофитовые, синезеленые, красные (фикобилинпротеины). Статистически достоверные различия спектров возбуждения флуоресценции хлорофилла и фикобилинов у водорослей разных отделов позволяют количественно оценивать их вклад в сигнал флуоресценции.

При разнообразии пигментного состава водорослей многие исследователи рассматривают в качестве показателя биомассы содержание желтых пигментов каротиноидов (Елизарова, 1974; Ляшенко, 2004; Yentsch, Vaccaro, 1958; Shimura, Fujita, 1975; Lehmann, 1981; Foy, 1987; Gieskes et al., 1988; Lami et al., 1992; Yacobi et al., 1996), которые вместе с хлорофиллом являются наиболее важными компонентами растительных клеток, поглощающими свет в водной среде (Clayton, 1980). Концентрация каротиноидов и хлорофилла в клетке изменяется сходным образом (Gericke, Montoya, 1998). Экологическая роль желтых пигментов у природных пресноводных водорослей изучена недостаточно полно (Lami et al., 1992). Каротиноиды подразделяются на каротины, относящиеся к углеводородам, и продукты их окисления ксантофиллы, содержащие молекулы кислорода. Все они в основном поглощают свет в синей области спектра, при этом максимумы поглощения разных пигментов не совпадают (табл. 1). Растительные каротиноиды выполняют светособирающую, стабилизирующую и светозащитную функции, предохраняя хлорофилл от фотоокисления (Либберт, 1976; Chemistry ..., 1976). Этими свойствами обладают α - и β -каротины, диатоксантин, диадиноксантин, антераксантин, зеаксантин (Demmig-Adams, Adams, 1992). Содержание желтых пигментов в клетке увеличивается при снижении количества пигментов-светосборщиков в периоды светового или биогенного насыщения (Schlüter et al., 2000). За

счет этого при ярком свете создается «защитный экран» или эффективный химический «гаситель» в фотоокислительных реакциях (Chemistry ..., 1976; Clayton, 1980).

Состав каротиноидов в природных сообществах изучен в основном у морских водорослей (Shimura, Fujita, 1975; Jeffrey, 1981; Lehmann, 1981). Данных для озер гораздо меньше (Hallegraeff, 1977; Eloranta, 1986). При проведении полевых исследований спектрофотометрическим методом определяют суммарное содержание каротиноидов, тогда как наиболее полезную информацию о физиологическом статусе, структуре и сезонной динамике сообществ дают специфические пигменты-маркеры (Margalef, 1966; Hallegraeff, 1977; Gieskes, Kraay, 1984; Eloranta, 1986; Foy, 1987). На идентификации последних основаны новые методы оценки суммарной биомассы, а также биомассы отдельных таксономических групп.

Таблица 1

Основные желтые пигменты водорослей различных отделов (по Chemistry ..., 1976; Hallegraeff, 1977)

Отдел	Пигмент
<i>Cyanophyta</i>	ε-каротин (450, 476), эхинеон, миксоксантофилл (475, 508), кетокаротиноиды (455), осциллаксантин
<i>Cryptophyta</i>	α-каротин, зеаксантин, диатоксантин
<i>Dinophyta</i>	β-каротин, диадиноксантин, дианоксантин, перидинин (465)
<i>Bacillariophyta</i>	β- и ε-каротины, диадиноксантин (447, 476), диатоксантин (450, 480), фукоксантин (449, 480)
<i>Chrysophyta</i>	β-каротин, диадиноксантин, диатоксантин, фукоксантин
<i>Euglenophyta</i>	β-каротин, лютеин, виолаксантин, неоксантин, эхинеон, зеаксантин, антераксантин, атаксантин
<i>Chlorophyta</i>	α-, β-, γ- каротины, лютеин (448, 477), виолаксантин, неоксантин, криптоксантин, зеаксантин, сифоноксантин, атаксантин

Примечание. В скобках — длина волны (нм), соответствующая максимумам поглощения некоторых пигментов.

Среди новых методов определения биомассы водорослей и относительного обилия крупных таксономических единиц в качестве наиболее перспективного рассматривают хемо-таксономический метод, основанный на высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ или HPLC). Он позволяет разделять, идентифицировать и количественно оценивать маркерные пигменты, включая специфичные каротиноиды (Phytoplankton ..., 1997), которые могут быть довольно точными показателями биомассы определенных таксономических групп (Stoń et al., 2002).

Чтобы оценить вклад каждой группы водорослей в сообщество, используют отношение между содержанием пигмента-маркера и хл. *a* (Vuchasa et al., 2005). Перечень некоторых диагностических пигментов приведен в табл. 2, хл. *a* выбран как индикатор суммарной биомассы. Чем однороднее видовой и размерный состав фитопланктона, тем теснее

связь между биомассой и пигментом-маркером (Breton et al., 2000). В опытах с культурами пресноводных водорослей показано, что соотношение диагностических пигментов с хл. *a* (табл. 3) в большинстве случаев довольно стабильно и мало меняется у видов каждого отдела (Schlüter et al., 2006).

Таблица 2

Диагностические пигменты пресноводных водорослей (по Breton et al., 2000; Stoň et al., 2002; Schlüter et al., 2006)

Отдел	Пигмент
<i>Cyanophyta</i>	Зеаксантин, эхиненон, миксоксантофилл, афанизофилл, осциллаксантин
<i>Cryptophyta</i>	Аллоксантин
<i>Dinophyta</i>	Перидинин
<i>Bacillariophyta</i>	Фукоксантин
<i>Chrysophyta</i>	Фукоксантин, хл. c_3
<i>Euglenophyta</i>	хл. <i>b</i>
<i>Chlorophyta</i>	Неоксантин, виолаксантин, лютеин, хл. <i>b</i>

Таблица 3

Соотношение содержания пигмента-маркера и хл. *a* в культурах пресноводных водорослей (по Schlüter et al., 2006)

Отдел	Пигмент-маркер	Пигмент-маркер/хл. <i>a</i>	
		Предел	Среднее*
<i>Cyanophyta</i>	Зеаксантин	-	0,280 ± 0,247
<i>Cryptophyta</i>	Аллоксантин	-	0,405 ± 0,182
<i>Dinophyta</i>	Перидинин	-	0,508 ± 0,120
<i>Bacillariophyta</i>	Фукоксантин	0,4–0,6	0,515 ± 0,097
<i>Chrysophyta</i>	Фукоксантин	0,2–0,3	-
	хл. c_3	0,04	-
<i>Chlorophyta</i>	хл. <i>b</i>	0,3–0,4	0,362 ± 0,050
	Лютеин	0,1–0,2	-

* Среднее ± стандартное отклонение.

Выделение пигментов с помощью ВЭЖХ получает все более широкое распространение при определении биомассы и состава фитопланктона, тем более что этот метод дает величины, близкие к определенным традиционным микроскопированием альгологических проб (Schlüter et al., 2006). Данный метод успешно используется при исследованиях морских (Gieskes, Kraay, 1986; Andersen et al., 1996; Schlüter et al., 2000; Gibb et al., 2001; Havskum et al., 2004), реже – пресных водоемов разной трофии (Wilhelm et al., 1991; Fietz, Nicklisch, 2004; Descy et al., 2005; Schlüter et al., 2006). Метод характеризуется большей оперативностью по сравне-

нию с микроскопическим учетом водорослей (Wilhelm et al., 1991; Schlüter et al., 2000) и при отлаженной методике позволяет относительно быстро обработать большее количество проб, что важно при исследовании временной и пространственной динамики фитопланктона крупных акваторий (Millie et al., 1993; Fietz, Nicklisch, 2004). Преимущество метода состоит также в том, что все группы фитопланктона можно идентифицировать одновременно, включая мелкоклеточные водоросли пикопланктона. Ограничено хемотаксономическое определение пигментов в природных водах тем, что водоросли разных систематических групп содержат одни и те же дополнительные пигменты, которые, к тому же, в ходе сезонной смены сообществ могут присутствовать в следовых плохо определяемых количествах (Laza-Martinez et al., 2007).

Для оценки относительного обилия определенной группы водорослей по содержанию пигментов-маркеров разработаны компьютерные программы серии СНЕМТАХ. Необходимое условие использования таких программ – относительное постоянство пигментного отношения для анализируемого ряда данных (Mackey et al., 1996). Реализация СНЕМТАХ в пресноводных исследованиях считается перспективной, но требует более детального сопоставления биомассы, оцененной по хл. *a* и с помощью микроскопирования, а также получения дополнительных данных по соотношению содержания различных пигментов пресноводных водорослей и хл. *a* (Descy et al., 2000; Fietz, Nicklisch, 2004).

В перспективе хемотаксономические типы фитопланктона, выделенные на основе пигментного анализа, должны соответствовать филогенетическим группам, установленным молекулярными методами (Van Lenning et al., 2003; Latasa et al., 2004; Zapata et al., 2004). Использование пигментного отношения при анализе пигментов позволяет определить обилие отдельных таксономических групп фитопланктона, которые служат индикаторами экологического состояния пресных вод (Schlüter et al., 2006).

Выводы

На основе анализа современной литературы можно констатировать, что биохимические методы получают все большее распространение в альгологических исследованиях морских и пресных вод. Для оперативной оценки биомассы и таксономического состава альгоценозов чаще всего используют фотосинтетические пигменты, определение которых проводят спектрофотометрическим, флуоресцентным или хроматографическим методами. При разнообразии пигментного состава водорослей для определения их суммарной биомассы и относительного обилия крупных таксономических единиц наиболее перспективным считают хемо-таксономический метод, основанный на применении высокоэффективной жидкостной хроматографии. Интерес к фотосинтетическим пигментам не ослабевает, а разработка новых методических подходов расширяет возможности использования этих показателей в гидроэкологических исследованиях.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант 08-04-00384.

- Анонасенко А.Д., Сидько Ф.Я., Балакчина Л.А. Флуоресцентный метод и аппаратура для изучения пространственного распределения фитопланктона // Биол. внутр. вод: Информ. бюл. – 1995. – № 98. – С. 53–57.
- Ведерников В.И., Вишцев В.С., Демидов А.А. и др. Применение флуориметрических и фотометрических методов для исследования хлорофилла *a* в Черном море весной 1988 г. // Океанология. – 1990. – 30, № 5. – С. 848–854.
- Винберг Г.Г. Первичная продукция водоемов. – Минск: Изд-во АН БССР, 1960. – 330 с.
- Гаевский Н.А. Критерии и методология оценки структурно-функционального состояния альгоценоза на основе флуоресцентного анализа: Дис. ... д-ра биол. наук. – Красноярск: КрГУ, 2003. – 286 с.
- Гаевский Н.А., Гольд В.М., Шатров И.Ю. Флуоресцентный анализ пигментов фитопланктона // Методические вопросы изучения первичной продукции планктона внутренних водоемов. – СПб.: Гидрометеиздат, 1993. – С. 101–109.
- Гольд В.М., Гаевский Н.А., Шатров И.Ю. и др. Опыт использования флуоресценции для дифференциальной оценки содержания хлорофилла *a* у планктонных водорослей // Гидробиол. журн. – 1986. – 22, № 3. – С. 80–85.
- Гольд В.М., Гаевский Н.А., Григорьев Ю.С. и др. Теоретические основы и методы изучения флуоресценции хлорофилла. – Красноярск: КрГУ, 1984. – 84 с.
- Елизарова В.А. Содержание фотосинтетических пигментов в единице биомассы фитопланктона Рыбинского водохранилища // Флора, фауна и микроорганизмы Волги. – Рыбинск: ИБВВ АН СССР, 1974. – С. 46–66.
- Елизарова В.А. Хлорофилл как показатель биомассы фитопланктона // Методические вопросы изучения первичной продукции планктона внутренних водоемов. – СПб.: Гидрометеиздат, 1993. – С. 126–131.
- Кондратьев К.Я., Поздняков Д.В. Оптические свойства природных вод и дистанционное зондирование фитопланктона. – Л.: Наука, 1988. – 181 с.
- Лапшин А.И., Трохан А.М. Погружной проточный флуориметр // Океанология. – 1984. – 24, № 2. – С. 352–357.
- Либберт Э. Физиология растений – М.: Мир, 1976. – 580 с.
- Ляшенко О.А. Растительные пигменты как показатели биомассы фитопланктона в мелководном эвтрофном озере // Проблемы региональной экологии. – 2004. – № 5. – С. 6–14.
- Маторин Д.Н., Венедиктов П.С., Конев, Ю.Н. и др. Использование двухвспышечного импульсного погружного флуориметра для определения фотосинтетической активности природного фитопланктона // Докл. РАН. – 1996. – 350, № 2. – С. 256–258.
- Методика изучения биогеоценозов внутренних водоемов / Под ред. Ф.Д. Мордухай-Болтовского. – М.: Наука, 1975. – 240 с.
- Сигарева Л.Е. Спектрофотометрический метод определения пигментов фитопланктона в смешанном экстракте // Методические вопросы изучения первичной продукции планктона внутренних водоемов. – СПб.: Гидрометеиздат, 1993. – С. 75–85.
- Сидько Ф.Я., Филимонов В.С., Анонасенко А.Д. и др. Особенности пространственного распределения оптических и гидробиологических характеристик вод Красноярского водохранилища // Вод. рес. – 1996. – 23, № 4. – С. 457–462.

- Томсон С.В., Коновалов Б.В., Крылов В.В. Содержание углерода и хлорофилла в фитопланктоне Балтийского моря (май-июнь 1984 г.) // Экосистема Балтики в мае – июне 1984 г. (по мат. 39-го рейса НИС «Академик Курчатов»). – М.: Ин-т океанологии АН СССР, 1987. – С. 139–140.
- Andersen R.A., Bidigare R.R., Keller M.D., Latasa M. A comparison of HPLC pigment signatures and electron microscopic observations for oligotrophic waters of the North Atlantic and Pacific Oceans // Deep-Sea Res. – 1996. – **43**, N 2. – P. 517–537.
- Batten S.D., Walne A.W., Edwards M., Groom S.B. Phytoplankton biomass from continuous plankton recorder data: an assessment of the phytoplankton colour index // J. Plankt. Res. – 2003. – **25**, N 7. – P. 697–702.
- Breton E., Brunet C., Sautour B., Brylinski J.-M. Annual variations of phytoplankton biomass in the Eastern English Channel: comparison by pigment signatures and microscopic counts // J. Plankt. Res. – 2000. – **22**, N 8. – P. 1423–1440.
- Buchaca T., Felip M., Catalan J. A comparison of HPLC pigment analyses and biovolume estimates of phytoplankton groups in an oligotrophic lake // Ibid. – 2005. – **27**, N 1. – P. 91–101.
- Cano M.G., Casco M.A., Solari L.C. et al. Implications of rapid changes in chlorophyll-a of plankton, epipelton, and epiphyton in a Pampean shallow lake: an interpretation in terms of a conceptual model // Hydrobiologia. – 2008. – **614**, N 1. – P. 33–45.
- Carstensen J., Henriksen P. Phytoplankton biomass response to nitrogen inputs: a method for WFD boundary setting applied to Danish coastal waters // Ibid. – 2009. – **633**, N 1. – P. 137–149.
- Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments* / Ed. Goodwin T.W. – London; N.Y.: Acad. Press, 1976. – 870 p.
- Clayton R.K. Photosynthesis: physical mechanism and chemical patterns. – Cambridge: Univ. Press, 1980. – 281 p.
- Daley R.J., Hobbie J.E. Direct counts of aquatic bacteria by a modified epifluorescence technique // Limnol. Oceanogr. – 1975. – **20**, N 5. – P. 875–882.
- Demmig-Adams B., Adams W.W. Photoprotection and other responses of plants to high light stress // Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. – 1992. – **43**. – P. 599–626.
- Descy J.-P., Hardy M.-A., Stenuite S. et al. Phytoplankton pigments and community composition in Lake Tanganyika // Freshwat. Biol. – 2005. – **50**, N 4. – P. 668–684.
- Descy J.-P., Higgins H.W., Mackey D.J. et al. Pigment ratios and phytoplankton assessment in Northern Wisconsin lakes // J. Phycol. – 2000. – **36**, N 2. – P. 274–286.
- Durnforf D.G., Deane J.A., Tan S. et al. Phylogenetic assessment of the eucariotic light-harvesting antenna proteins with implications for plastid evolution // J. Mol. Evol. – 1999. – **48**, N 1. – P. 59–68.
- Eloranta R. Paper chromatography as a method of phytoplankton community analysis // Ann. Bot. Fenn. – 1986. – **23**, N 2. – P. 153–159.
- Falkowski P., Kiefer D.A. Chlorophyll *a* fluorescence in phytoplankton: relationship to photosynthesis and biomass // J. Plankton Res. – 1985. – **7**, N 5. – P. 715–731.
- Fietz S., Nicklisch A. An HPLC analysis of the summer phytoplankton assemblage in Lake Baikal // Freshwat. Biol. – 2004. – **49**, N 3. – P. 332–345.
- Foy R.H. A comparison of chlorophyll *a* and carotenoid concentrations as indicators of algal volume // Ibid. – 1987. – **17**, N 2. – P. 237–250.
- French T.D., Petticrew E.L. Chlorophyll *a* seasonality in four shallow eutrophic lakes (northern British Columbia, Canada) and the critical roles of internal phosphorus loading and temperature // Hydrobiologia. – 2007. – **575**, N 1. – P. 285–299.

- Gibb S.W., Cummings D.G., Irigoien X. et al. Phytoplankton pigment chemotaxonomy of the north-eastern Atlantic // Deep Sea Res. — 2001. — **48**, N 4/5. — P. 795–823.
- Gieskes W.W.C., Kraay G.W. Phytoplankton, its pigments, and primary production at a Central North Sea station in May, July and September 1981 // Neth. J. Sea Res. — 1984. — **18**. — P. 51–70.
- Gieskes W.W.C., Kraay G.W. Analysis of phytoplankton pigments by HPLC before, during and after mass occurrence of the microflagellate *Corymbellus aureus* during the spring bloom in the open northern North Sea in 1983 // Mar. Biol. — 1986. — **92**, N 1. — P. 45–52.
- Gieskes W.W.C., Kraay G.W., Nontij A. et al. Monsoonal alteration of a mixed and layered structure in the phytoplankton of the euphotic zone of the Banda Sea (Indonesia): a mathematical analysis of algal pigments fingerprints // Neth. J. Sea Res. — 1988. — **22**. — P. 123–137.
- Goericke R., Montoya J.P. Estimating the contribution of microalgal taxa to chlorophyll *a* in the field—variations of pigments ratios under nutrient and light limited growth // Mar. Ecol. Progr. Ser. — 1998. — **169**. — P. 97–112.
- Govindjee V.M. Sixty-three years since Kautsky: chlorophyll *a* fluorescence // Austr. J. Plant Physiol. — 1995. — **22**. — P. 131–160.
- Gregor J., Marsalek B. Freshwater phytoplankton quantification by chlorophyll *a*: a comparative study of in vitro, in vivo and in situ methods // Water Res. — 2004. — **38**, N 3. — P. 517–522.
- Hallegraeff G.M. Pigment diversity in freshwater phytoplankton. 2. Summer succession in three Dutch lakes with different trophic characteristics // Intern. Rev. Ges. Hydrobiol. — 1977. — **62**, N 1. — P. 19–39.
- Havskum H., Schlüter L., Scharek R. et al. Routine quantification of phytoplankton groups — microscopy or pigment analyses // Mar. Ecol. Progr. Ser. — 2004. — **273**. — P. 31–42.
- Honeywill C., Paterson D.M., Hagerthey S.E. Instant determination of microphytobenthic biomass using fluorescence // Eur. J. Phycol. — 2002. — **37**, N 4. — P. 485–492.
- Honti M., Istvanovics V., Osztoics A. Stability and change of phytoplankton communities in a highly dynamic environment—the case of large, shallow Lake Balaton (Hungary) // Hydrobiologia. — 2007. — **581**, N 1. — P. 225–240.
- Hunter B.L., Laws E.A. ATP and chlorophyll *a* as estimators of phytoplankton carbon biomass // Linnol. Oceanogr. — 1981. — **26**, N 4. — P. 944–956.
- Jeffrey S.W. An improved thin-layer chromatography technique for marine phytoplankton pigments // Ibid. — N 1. — P. 191–197.
- Jesus B., Perkins R.G., Mendes C.R. et al. Chlorophyll fluorescence as a proxy for microphytobenthic biomass: alternatives to the current methodology // Mar. Biol. — 2006. — **150**, N 1. — P. 17–28.
- Johnson P.W., Sieburth J. In situ morphology and occurrence of eukaryotic phototrophs of bacterial size in the picoplankton of estuarine and oceanic waters // J. Phycol. — 1982. — **18**, N 3. — P. 318–327.
- Kautsky H., Hirsch A. Das Fluoreszenzverhalten grüner Pflanzen // Biochem. Zeit. — 1934. — 274. — S. 422–434.
- Lami A., Guilizzoni P., Ruggiu D. et al. Role of pigments on algal communities and photosynthesis // Aquat. Sci. — 1992. — **54**, N 3/4. — P. 321–330.
- Latasa M., Scharek R., Le Gall F. et al. Pigment suites and taxonomic groups in *Prasinophyceae* // J. Phycol. — 2004. — **40**, N 6. — P. 1149–1155.
- Laza-Martinez A., Seoane S., Zapata M., Orive E. Phytoplankton pigment patterns in a temperate estuary: from unialgal cultures to natural assemblages // J. Plankt. Res. — 2007. — **29**, N 11. — P. 913–929.

- Lehmann P.W.* Composition of chlorophyll *a* and carotenoid pigments as predictors of phytoplankton biomass // *Mar. Biol.* – 1981. – **65**, N 3. – P. 237–244.
- Lichtenthaler H.K.* The Kautsky effect: 60 years of chlorophyll fluorescence induction kinetics // *Photosynthetica.* – 1992. – **27**, N 1/2. – P. 45–55.
- Llewellyn C.A., Fishwick J.R., Blackford J.C.* Phytoplankton community assemblage in the English Channel: a comparison using chlorophyll *a* derived from HPLC-CHEMTAX and carbon derived from microscopy cell counts // *J. Plankton Res.* – 2005. – **27**, N 1. – P. 103–119.
- Llewellyn C.A., Mantoura R.F.C.* Pigment biomarkers and particulate carbon in the upper water column compared to the ocean interior of the northeast Atlantic // *Deep-Sea Res.* – 1996. – **43**, N 8. – P. 1165–1184.
- Mackey M.D., Mackey D.J., Higgins H.W. et al.* CHEMTAX-a program for estimating class abundances from chemical markers: application to HPLC measurements of phytoplankton // *Mar. Ecol. Progr. Ser.* – 1996. – **144**. – P. 265–283.
- Margalef R.* Ecological correlations and the relationship between primary productivity and community structure // *Primary productivity in aquatic environments.* – Berkeley: Univ. California Press, 1966. – P. 355–364.
- Millie D.F., Paerl H.W., Hurley J.P.* Microalgal pigment assessment using high-performance liquid chromatography: a synopsis of organismal and ecological applications // *Canad. J. Fish. Aquat. Sci.* – 1993. – **50**, N 11. – P. 2513–2527.
- Montagnes D.J.S., Berges J.A., Harrison P.J. et al.* Estimating carbon, nitrogen, protein and chlorophyll *a* from volume in marine phytoplankton // *Limnol. Oceanogr.* – 1994. – **39**, N 5. – P. 1044–1060.
- Neveux J., Panouse M.* Spectrofluorometric determination of chlorophyll and pheophytins // *Arch. Hydrobiol.* – 1987. – **109**, N 4. – P. 567–581.
- Olson R.J., Vulot D., Chisholm S.W.* Marine phytoplankton distributions measured using shipboard flow cytometry // *Deep-Sea Res.* – 1985. – **32**, N 10. – P. 1273–1280.
- Phinney D.A., Yentsch C.S., Rohrer J.* Three color laser fluorimeter for studies of phytoplankton fluorescence // *Proc. Soc. Photooptical Instrument Engineer.* – 1988. – **925**. – P. 171–175.
- Phytoplankton Manual* / Ed. A. Sourina – Paris: UNESCO, 1978. – 337 p.
- Phytoplankton Pigments in Oceanography* / Eds. S.W. Jeffrey, R.F.C. Mantoura, S.W. Wright. – Paris: UNESCO, 1997. – 640 p.
- Richards E.A., Thompson T.G.* The estimation and characterization of plankton population by pigment analyses. II. A spectrophotometric method for the estimation of plankton pigments // *J. Mar. Res.* – 1952. – **11**, N 2. – P. 156–172.
- Riemann B., Simonsen P., Stensgaard L.* The carbon and chlorophyll content of phytoplankton from various nutrient regimes // *J. Plankt. Res.* – 1989. – **11**, N 5. – P. 1037–1045.
- Schlüter L., Lauridsen T.L., Krogh G., Jurgensen T.* Identification and quantification of phytoplankton groups in lakes using new pigment ratios - a comparison between pigment analysis by HPLC and microscopy // *Freshwat. Biol.* – 2006. – **51**, N 8. – P. 1474–1485.
- Schlüter L., Möhlenberg F., Havskum H., Larsen S.* The use of phytoplankton pigments for identifying and quantifying phytoplankton groups in coastal areas: testing the influence of light and nutrients on pigment/chlorophyll *a* ratios // *Mar. Ecol. Progr. Ser.* – 2000. – **192**. – P. 49–63.
- Shapiro, L.P., Haugen, E.M., Keller, D.M. et al.* Taxonomic affinities of marine coccoid ultra-plankton: a comparison of immunochemical surface antigen cross-reactions and HPLC chloroplast pigment signatures // *J. Phycol.* – 1989. – **25**, N 4. – P. 794–797.

- Shimura S., Fujita Y.* Changes in the activity of fucoxanthin excited photosynthesis in the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum* grown under different culture conditions // *Mar. Biol.* – 1975. – **33**, N 3. – P. 185–194.
- Stoń J., Kosakowska A., Łotocka M., Łysiak-Pastuszek E.* Pigment composition in relation to phytoplankton community structure and nutrient content in the Baltic Sea // *Oceanologia.* – 2002. – **44**, N 4. – P. 419–437.
- Tsunobobu S.* Флуориметрический анализ хлорофиллов в природных водах // *Water Purificat. and Liquid Wastes Treat.* – 1986. – **27**, N 3. – P. 169–174 (яп., цит. по: РЖБ, 1987, 1У19).
- Van Lenning K., Latasa M., Estrada M. et al.* Pigments signatures phylogenetic relationships of the *Pavlophyceae* (*Haptophyta*) // *J. Phycol.* – 2003. – **39**, N 2. – P. 379–389.
- Vollenweider R.A., Munawar M., Stadelmann P.* A comparative review of phytoplankton and primary production in the Laurentian Great Lakes // *J. Fish. Res. Board Can.* – 1974. – **31**, N 5. – P. 739–762.
- Wilhelm C., Rudolph I., Renner W.* A quantitative method based on HPLC-aided pigment analysis to monitor structure and dynamics of the phytoplankton assemblage – a study from Lake Meerfelder (Eifel, Germany) // *Arch. Hydrobiol.* – 1991. – **123**, N 1. – P. 21–35.
- Yacobi Y.Z., Pollinger U., Gonen Y., et al.* HPLC analysis of phytoplankton pigments from Lake Kinneret with special reference to the bloom-forming dinoflagellate *Peridinium gatunense* (*Dinophyceae*) and chlorophyll degradation products // *J. Plankton Res.* – 1996. – **18**, N 10. – P. 1781–1796.
- Yentsch C., Vaccaro R.* Phytoplankton nitrogen in the ocean // *Limnol. Oceanogr.* – 1958. – **3**, N 4. – P. 443–448.
- Zapata M., Jeffrey S.W., Wright, S.W. et al.* Photosynthetic pigments in 37 species (65 strains) of *Haptophyta*: implications for oceanography and chemotaxonomy // *Mar. Ecol. Progr. Ser.* – 2004. – **270**. – P. 83–102.

Получена 31.03.10

Рекомендовала к печати А.В. Лищук-Курейшевич

N.M. Mineeva

I.D. Papanin Institute for Biology of Inland Waters RAS,
152742 Yaroslavl, Nekouz, Borok, Russia
e-mail: mineeva@ibiw.yaroslavl.ru

PLANT PIGMENTS AS INDICATORS OF PHYTOPLANKTON BIOMASS. REVIEW

Review of publications shows that biochemical methods become widespread in hydrobiological investigations of sea and freshwaters serving as alternative to labor- and time-consuming microscopic accounting of phytoplankton biomass. Photosynthetic pigments analyzed by means of spectrophotometric, fluorescent, or chromatographic methods are the most often used markers of biomass. Under high pigment diversity in algae, the HPLC looks like the most perspective for determination of total biomass of algalenoses as well as relative abundance of large taxonomic groups.

K e y w o r d s : phytoplankton, biomass, pigments, method of analyses.