

ПАРАМЕТРЫ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ И ДИНАМИКА РОСТА КУЛЬТУРЫ *CHLORELLA SOROKINIANA* ПРИ РАЗЛИЧНОМ СОДЕРЖАНИИ БИОГЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

Беспалова С.В., Романчук С.М., Чуфицкий С.В.

Донецкий национальный университет

ул. Университетская, 24, г. Донецк, 283001, ДНР; e-mail: ChufitskiySergey@yandex.ru

Поступила в редакцию: 11.07.2020

Аннотация. В работе рассматривается воздействие различных концентраций биогенных веществ на динамику роста культуры микроводорослей *Chlorella sorokiniana*, а также на содержание хлорофилла и флуоресценцию клеток культуры. С помощью метода флуориметрии произведена оценка фотосинтетической активности клеток культуры. Показано, что низкое содержание нитратов и фосфатов приводит к снижению скорости роста культуры, уменьшению концентрации хлорофилла в пробах воды, а также к снижению скорости электронного транспорта на уровне фотосистемы II, квантового выхода и базовых показателей флуоресценции. Произведена оценка фотосинтетического индекса эффективности (PI) функционирования фотосистемы II. Показано, что показатель PI возрастает при интенсивном нарастании биомассы *Chlorella sorokiniana*, и снижается при снижении скорости роста культуры.

Ключевые слова: флуоресценция, фитопланктон, нитраты, фосфаты, хлорофилл.

Фитопланктон является одним из основных звеньев любой водной экосистемы [1]. В водных экосистемах фитопланктон является главным продуцентом органического вещества, которое образуется в результате фотосинтеза. Состояние фитопланктона может служить одним из показателей экологического благополучия водоема. При действии различных экологических факторов и антропогенных загрязнений в первую очередь изменяются фотосинтетическая активность и концентрация клеток водорослей [2-4]. Из всего многообразия происходящих процессов своим влиянием на динамику биомассы планктона выделяются потребление минеральных питательных веществ и изменение их состава во внешней среде.

При оценке состояния водных объектов, прежде всего, оценивают содержание биогенных веществ и наибольшее внимание уделяют содержанию азота и фосфора. Кроме того, информативным показателем состояния водоема является отношение концентраций данных элементов – N : P [5-7]. Также уделяется внимание содержанию гуминовых кислот и растворенного органического вещества [8].

Авторы [9] указывают на высокую связь между содержанием ионов азота и фосфора и биомассой фитопланктона на участках рек, подверженных антропогенному воздействию. Согласно данным [11] для речных систем не всегда наблюдается корреляция между содержанием биогенных веществ и биомассой фитопланктона, тогда как для озер такая зависимость прослеживается более четко. При этом известно около 400 таксонов водорослей, которые способны отражать изменения содержания органического вещества в водной среде.

Авторы [12], отмечают значимость отношения содержания азота и фосфора, как самостоятельного абиотического фактора, ограничивающего рост водорослей и способного изменить структуру фитопланктонного сообщества.

Динамика фитопланктона в пресноводных экосистемах обуславливается его сложными связями с зоопланктоном и другими участниками пищевой цепочки, а также с многочисленными физическими и химическими факторами [1, 12, 13]. Интенсивность нарастания численности и биомассы фитопланктона зависит от интенсивности света и наличия питательных веществ, что, в свою очередь, зависит от притока питательных веществ извне [14] и внутренних процессов водоема [15]. Временные (межгодовые и сезонные) изменения факторов окружающей среды, прежде всего, колебания концентрации биогенных веществ в водной среде, усложняют понимание и интерпретацию этих взаимодействий, а также их воздействие на рост фитопланктона. Весной биогенных веществ достаточно и лимитирования, как правило, не наблюдают. В летний период, во время активного размножения фитопланктона, наступает период недостатка биогенных веществ [16].

Таким образом, целью исследования являлось изучение степени воздействия различных концентраций фосфат- и нитрат-ионов в питательной среде на динамику роста, а также флуоресценцию культуры микроводорослей *Chlorella sorokiniana*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовали культуру микроводорослей *Chlorella sorokiniana*. Водоросли выращивали на стерильной культуральной среде Тамия, при пересеве в колбы Эрленмейера объемом 250 или 500 мл. Колбы освещали светодиодными лампами полного спектра А60 фирмы Uniell в течение 12 часов в сутки, периодически перемешивая. В ходе проведения исследований использовали импульсный флуориметр PhytoRAM фирмы Walz для определения концентрации хлорофилла в исследуемых пробах, а также для регистрации минимального и максимального уровня флуоресценции, и квантового выхода. Для регистрации кривых ИФХ использовали флуориметр ФС-2, разработанный на базе СКТБ «Турбулентность» и кафедры биофизики ДонНУ. На основании полученных кривых и параметров ОЛР-теста [3] проводили анализ состояния микроводорослей.

В ходе исследования проводили измерение общего содержания хлорофилла по сигналу флуоресценции на 470, 520, 645 и 685 нм, а также следующих показателей флуоресценции:

F_0 – минимальный уровень флуоресценции, соответствующий состоянию, когда все реакционные центры (РЦ) фотосистемы II (ФС II) открыты;

F_m – максимальный уровень флуоресценции, соответствующий состоянию, когда все РЦ ФС II закрыты;

$F_v = F_m - F_0$ – переменная или вариабельная флуоресценция, отражает соотношение между константами скоростей реакций фотохимического и не фотохимического использования энергии возбуждения реакционного центра;

$\Phi_0 = \frac{F_m - F_0}{F_m}$ – квантовый выход флуоресценции, показатель эффективности протекания первичной

фотохимической реакции в ФСII [3, 17, 18].

Подсчет числа клеток в пробах воды производили с помощью камеры Горяева под световым микроскопом.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Ограничение пищевых ресурсов, прежде всего, сказывается на численности популяции. В случае клеток фитопланктона, недостаток питательных веществ может приводить к изменению содержания фотопигментов, а также снижению фотосинтетической активности клеток.

Результаты измерений представлены в таблице 1.

Согласно полученным результатам между культурами, выращенными при содержании нитратов 0, 0,75 и 1,5 г/л, достоверных отличий не наблюдалось, тогда как для культуры с полным составом питательных веществ была характерна более высокая скорость роста численности. Разницу наблюдали через 7 дней культивирования. При этом выход на стадию плато для всех тест-культур наблюдали примерно в одинаковые промежутки времени – от 40 суток культивирования. Число клеток в пробах воды с наибольшим содержанием фосфатов на завершающем этапе эксперимента в 3 раза превышало значение для культуры, произрастающей в полном отсутствии фосфат-ионов (6 и 2 млн. клеток соответственно). При содержании фосфатов 1,25 г/л культура микроводорослей выходила на плато после 10 суток с начала эксперимента, тогда как другим культурам требовалось больше времени. Наблюдается четкая зависимость между содержанием биогена и численностью клеток – при снижении содержания фосфат-ионов скорость роста численности клеток снижается. Однако, на начальном этапе исследования в течение первых 7 дней рост численности был одинаков для всех культур.

Полное отсутствие фосфат-ионов в питательной среде приводит к снижению содержания хлорофилла в клетках микроводорослей после 20 дней культивирования. В случае полного состава питательной среды – 1,25 г/л $[PO_4]$ наблюдали рост содержания фотопигмента в пробах воды. Кроме того, при снижении содержания фосфатов (0,7 и 0,15 г/л) также наблюдали нарастание концентрации хлорофилла, но уже с меньшей скоростью, в сравнении с концентрацией 1,25 г/л. Для культур, выращенных при содержании нитратов 0, 0,75 и 1,5 г/л, достоверных отличий не наблюдалось. Культура, выращенная на среде Тамия с полным составом, характеризовалась наибольшей скоростью роста в сравнении с другими тест-культурами. Однако, стадии плато для изменения численности клеток такой же фазы роста для содержания хлорофилла не наблюдали. Возможно, рост концентрации хлорофилла связан с увеличением количества фотопигмента внутри уже функционирующих клеток, а не при появлении дочерних.

Не смотря на рост как числа клеток, так и содержания хлорофилла, наблюдали постепенное снижение квантового выхода флуоресценции. Стоит отметить, что интенсивному росту численности культур соответствовали высокие значения квантового выхода флуоресценции. Так, в первые 7 суток эксперимента квантовый выход составлял около 0,6-0,65 единиц. Со снижением скорости роста происходило и снижение квантового выхода до 0,5 ед. Через 20 суток культивации без добавления фосфатов квантовый выход клеток снижался и достигал своего минимума на 40-й день. Для культур, растущих в присутствии различных концентраций биогенных веществ, также было характерно снижение данного показателя, но до величины около 0,4 ед. При этом, для сред с содержанием 0,15 и 0,7 г/л фосфатов такое снижение можно объяснить истощением пищевого ресурса, то в случае с полным составом питательной среды такой эффект может быть вызван повышением плотности раствора, что, в свою очередь, приводило к «самозатенению» клеток фитопланктона. В результате такого эффекта большая часть клеток не получает достаточного количества световой энергии, что приводит к снижению эффективности функционирования фотосинтетического аппарата.

На следующем этапе исследования выполняли регистрацию световых кривых флуоресценции (RLC) клеток микроводорослей. Данный метод основан на постепенном повышении действующего света от самых низких интенсивностей до значений соизмеримых с актиничным светом с последующей регистрацией скорости электронного транспорта, квантового выхода, а также показателей минимальной и максимальной флуоресценции. Такие кривые позволяют оценить уровень адаптационных возможностей организмов к изменяющимся условиям освещенности, а также определить интенсивность протекания процессов нефотохимического тушения флуоресценции (тепловой диссипации и т.д.).

Таблица 1. Некоторые параметры культур клеток *Chlorella sorokiniana* при различном содержании нитрат- и фосфат-ионов в питательной среде

		NO ₃ , г/л				PO ₄ , г/л			
		0	0,75	1,5	2,5	0	0,15	0,7	1,25
7 сут.	N, млн. кл.	1,0±0,1	1,8±0,3	1,3±0,4	2,3±0,3	1,5±0,3	1,1±0,2	1,6±0,2	1,9±0,2
	Chl, мкг/л	57±5	54±1	70±2	119±4	86±2	47±2	71±5	106±2
	F ₀ , отн. ед.	967±70	1262±17	936±10	1122±12	726±18	706±8	776±7	768±15
	F _m , отн. ед.	3329±53	3536±23	3180±28	3718±24	2887±40	2389±5	2795±15	2876±62
	$\frac{F_v}{F_m}$, отн. ед.	0,554 ±0,010	0,538 0,007±	0,550 ±0,006	0,510 ±0,001	0,472 ±0,007	0,474 ±0,010	0,516 ±0,021	0,498 ±0,004
	ETR*, отн. ед.	51±6	49±7	59±4	66±4	68±3	64±4	58±7	70±3
	PI, отн. ед.	0,55 ±0,03	0,54 ±0,04	0,56 ±0,02	0,40 ±0,02	0,49 ±0,03	0,44 ±0,01	0,39 ±0,03	0,89 ±0,03
14 сут.	N, млн. кл.	2,1±0,3	2,1±0,4	1,9±0,4	3,2±0,4	2,3±0,4	1,4±0,5	2,0±0,2	3,0±0,3
	Chl, мкг/л	73±2	64±2	79±2	139±6	93±3	54±2	84±6	118±4
	F ₀ , отн. ед.	1257±37	1489±34	1843±44	2454±51	1138±61	1796 ±133	2031 ±153	2045 ±156
	F _m , отн. ед.	4162±85	5114±64	5634±31	7992±84	3453 ±100	5364 ±341	6218 ±516	7114 ±448
	$\frac{F_v}{F_m}$, отн. ед.	0,516 ±0,011	0,528 ±0,004	0,494 ±0,006	0,436 ±0,005	0,472 ±0,004	0,482 ±0,004	0,508 ±0,002	0,502 ±0,004
	ETR*, отн. ед.	66±3	73±5	78±3	84±4	85±2	71±3	70±4	89±3
	PI, отн. ед.	0,22 ±0,02	0,31 ±0,07	0,24 ±0,01	0,24 ±0,03	0,13 ±0,01	0,28 ±0,02	0,09 ±0,01	0,20 ±0,02
24 сут.	N, млн. кл.	2,4±0,2	2,6±0,2	2,0±0,3	4,2±0,4	1,8±0,1	1,6±0,2	2,0±0,2	4,1±0,3
	Chl, мкг/л	110±6	95±3	98±2	204±2	96±1	103±3	134±3	172±2
	F ₀ , отн. ед.	1777±46	1594±46	1749±36	2950±52	1877±21	2771±41	2784±49	3534 ±115
	F _m , отн. ед.	5164 ±117	4728 ±148	4992 ±129	8611 ±119	4162±31	7477 ±113	7667 ±129	8713 ±412
	$\frac{F_v}{F_m}$, отн. ед.	0,510 ±0,001	0,508 ±0,004	0,480 ±0,005	0,460 ±0,004	0,472 ±0,004	0,478 ±0,007	0,482 ±0,010	0,494 ±0,005
	ETR*, отн. ед.	51±7	50±8	54±5	61±4	56±6	60±3	59±5	57±3
	PI, отн. ед.	0,16 ±0,01	0,18 ±0,01	0,18 ±0,01	0,15 ±0,01	0,02 ±0,01	0,08 ±0,02	0,09 ±0,02	0,15 ±0,02
46 сут.	N, млн. кл.	3,4±0,2	3,7±0,3	3,8±0,2	5,8±0,4	2,1±0,2	3,3±0,3	4,2±0,4	5,7±0,4
	Chl, мкг/л	185±	194±5	204±7	367±3	19±2	220±8	249±3	291±4
	F ₀ , отн. ед.	2474±22	2591 ±103	2614±53	2683±45	3163±95	3010 ±205	3213±41	3991 ±146
	F _m , отн. ед.	5878±30	6025 ±148	5765 ±118	5837 ±110	7644 ±110	7430 ±323	7242 ±144	8626 ±142
	$\frac{F_v}{F_m}$, отн. ед.	0,442 ±0,004	0,428 ±0,004	0,438 ±0,004	0,388 ±0,007	0,352 ±0,010	0,392 ±0,004	0,396 ±0,005	0,420 ±0,006
	ETR*, отн. ед.	47±3	46±4	48±3	52±3	39±1	42±2	43±4	46±3
	PI, отн. ед.	0,08 ±0,01	0,06 ±0,01	0,05 ±0,01	0,04 ±0,01	0,02 ±0,01	0,05 ±0,01	0,04 ±0,01	0,05 ±0,02

Примечание. * – значения ETR представлены при максимальном PAR – 764 мкмоль фотон м⁻² с⁻¹

Каких-либо изменений общего вида кривых, свидетельствующих о нарушениях функционального состояния фотосинтетического аппарата не наблюдали. Кривые имели стандартный вид, но при этом отличались между собой в различные промежутки времени эксперимента.

На 14-сутки эксперимента наблюдали более высокие значения квантового выхода для клеток культуры с наибольшим содержанием биогенов в питательной среде. При этом значения квантового выхода для культуры, которая росла без добавления фосфатов были несколько выше, чем у культур с содержанием фосфат-ионов 0,7 и 0,15 г/л. Стоит отметить, что для всех исследуемых культур на данном этапе были характерны значения квантового выхода, полностью соответствующие норме. На 30-е сутки эксперимента общий вид кривой не изменился, но при этом происходило снижение значений квантового выхода. В условиях наименьшей освещенности (16 мкмоль фотон $\text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$) значения квантового выхода не превышали 0,45 ед., что можно считать значением ниже нормы. Для культуры без фосфат-ионов наблюдали наименьшее значение данного показателя – 0,37 ед. при 16 мкмоль фотон $\text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$.

Показатели скорости электронного транспорта на 14-е сутки мало отличались для всех исследуемых культур. Различия проявлялись только при очень интенсивном свете, близком к насыщающему – от 564 до 764 мкмоль квант $\cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$. Наибольшая скорость электронного транспорта была характерна для культуры с минимальным содержанием биогенов в питательной среде. При этом в культуре с содержанием 0,75 г/л нитрат-ионов также наблюдали значения ETR выше, чем для культур, выращенных на питательных средах с содержанием 1,5 и 2,5 г/л. Форма световой кривой для ETR не изменялась. При этом с течением времени происходило снижение скорости электронного транспорта. Это наблюдалось для всех исследуемых культур.

Показатели скорости электронного транспорта при культивировании культур в присутствии различных концентрациях фосфат-ионов на 14-е сутки мало отличались для всех исследуемых культур. Различия проявлялись только при очень интенсивном свете, близком к насыщающему – от 564 до 764 мкмоль квант $\cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$. Наибольшая скорость электронного транспорта была характерна для культуры с содержанием фосфат-ионов в питательной среде 1,25 г/л. При этом в культуре с наиболее низким содержанием биогенов также наблюдали значения ETR выше, чем для культур, выращенных на питательных средах с содержанием 0,15 и 0,7 г/л. Однако, на последних этапах культивирования для культуры без фосфатов был характерен наиболее низкий показатель ETR. Наибольшие значения параметра сохранялись для культуры с наибольшим содержанием биогенов.

Согласно результатам ОЖР-теста большая часть исследуемых тест-функций не имела достоверных различий между отдельными экспериментальными культурами. Динамика изменения данных параметров в большей степени зависела от длительности культивации культуры. Для большинства параметров, отражающих скорость работы фотосинтетического аппарата и эффективность протекания фотосинтетических процессов в нем, было характерно постепенное снижение с течением времени. На начальных этапах эксперимента наблюдали резкое возрастание данных показателей – в период интенсивного нарастания тестовых культур.

В течение первых 7 суток культивации культуру наблюдали резкое возрастание показателя функциональной активности фотосистемы II (PI), что согласуется с данными по нарастанию содержания хлорофилла и числа клеток в пробах воды. При этом для клеток с наименьшим содержанием биогенных веществ в питательной среде наблюдали наибольшие значения данного показателя. В течение последующих 10 дней наблюдали постепенное снижение параметра PI. Однако, при этом скорость снижения данного показателя была наименьшей для культуры с наибольшим содержанием биогенов в питательной среде. Поскольку данный показатель является интегральным и не зависит от числа клеток в исследуемом растворе, это указывает на более долгое сохранение фазы активного роста в культуре с содержанием фосфат-ионов 1,25 г/л. Прежде всего показатель PI – это показатель функциональной активности ФС II, отнесенный к поглощаемой энергии. Следовательно, как только численность культуры микроводорослей возрастала до высоких концентраций, происходило снижение общего количества световой энергии, поглощаемого клетками фитопланктона. Это вызвано высокой плотностью исследуемых растворов. На заключительном этапе исследования наблюдали наиболее низкие значения параметра PI, которые не изменялись с течением времени.

Таким образом, при недостатке нитрат- и фосфат-ионов в питательной среде происходят изменения в функционировании фотосинтетического аппарата микроводорослей: возрастание скорости закрывания реакционных центров ФС II, а также резкого возрастания и последующего снижения фотосинтетического индекса эффективности функционирования ФС II.

Согласно литературным данным, при неблагоприятном воздействии на клетки фитопланктона в начальные моменты времени наблюдают возрастание показателей флуоресценции, в частности квантового выхода и энергетических параметров [17–20]. Низкие показатели PI на последующих этапах измерений свидетельствуют о низкой фотосинтетической активности клеток, что соотносится с динамикой изменения численности клеток фитопланктона, а также содержанием фотосинтетических пигментов в пробах воды.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Низкое содержание биогенов способствует снижению скорости роста численности культуры *Chlorella sorokiniana*, снижению скорости нарастания содержания хлорофилла в исследуемых пробах.

Недостаток биогенных веществ приводит к нарушению адаптационных свойств фотосинтетического аппарата микроводорослей при действии света невысокой интенсивности (около 264 мкмоль квант $\text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$), а также уменьшению скорости электронного транспорта при культивировании клеток более 14 дней.

При недостатке фосфат- и нитрат-ионов в питательной среде происходит снижение эффективности переработки поглощенной световой энергии клетками фитопланктона и фотосинтетического индекса эффективности функционирования ФС II.

Список литературы / References:

1. Филенко О.Ф., Михеева И.В. *Основы водной токсикологии*. М.: Колос, 2007, 144 с. [Filenko O.F., Mikheeva I.V. *Basics of water toxicology*. M.: Kolos, 2007, 144 p. (In Russ.)]
2. Genty B., Briaud J.-M., Baker N.R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta*, 1989, vol. 990, pp. 87-92. DOI: 10.1016/S0304-4165(89)80016-9.
3. Strasser R.J., Srivastava A., Tsimilli-Michael M. The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. In *Probing Photosynthesis: Mechanism, Regulation & Adaptation*. Ed. Mohanty, Yunus and Parthre. London: Taylor & Francis, 1998, pp.1-59.
4. Абакумов А.И., Пак С.Я., Симонов А.Я. *Модель минерального питания фитопланктона*. Владивосток, 2011, 126 с. [Abakumov A.I., Pak S.Ya., Simonov A.Ya. *Phytoplankton mineral nutrition model*. Vladivostok, 2011, 126 p. (In Russ.)]
5. Степанова И.Э., Бикбулатова Е.М. Значимость соотношений форм биогенных элементов для оценки современного состояния Рыбинского водохранилища. *Поволжский экологический журнал*, 2015, № 3, с. 330-337. [Stepanova I.E., Bikbulatova E.M. The significance of the ratios of the forms of nutrients for assessing the current state of the Rybinsk reservoir. *Povolzhskiy ekologicheskiy zhurnal*, 2015, no. 3, pp. 330-337 (In Russ.)]
6. Smith V.H. The nitrogen and phosphorus dependence of algal biomass in lakes: an empirical and theoretical analysis. *Limnol. Oceanogr.*, 1982, vol. 23, pp. 1248-1255. DOI: 10.4319/lo.1982.27.6.1101.
7. Шаров А.Н. *Фитопланктон водоемов Кольского полуострова*. Петрозаводск, 2004, 99 с. [Sharov A.N. *Phytoplankton of the Kola Peninsula*. Petrozavodsk, 2004, 99 p. (In Russ.)]
8. Клоченко П.Д., Медведь В.А., Васильчук Т.А., Василенко О.В. Особенности влияния гуминовых кислот на развитие планктонных водорослей. *Гидробиологический журнал*, 2010, т. 46, № 5, с. 102-110 [Klochenko P.D., Medved V.A., Vasilchuk T.A., Vasilenko O.V. Features of the influence of humic acids on the development of planktonic algae. *Gidrobiologicheskiy jurnal*, 2010, vol. 46, no. 5, pp. 102-110. (In Russ.)]
9. Суходольская И.Л., Мантурова О.В., Грюк И.Б. Фитопланктон малых рек Ровенской области (Украина) и связь его количественных показателей с содержанием биогенных элементов. *Гидробиологический журнал*, 2015, т. 51, № 3, с. 56-68. [Sukhodolskaya I.L., Manturova O.V., Gryuk I.B. Phytoplankton of small rivers in the Rivne region (Ukraine) and the relationship of its quantitative indicators with the content of nutrients. *Gidrobiologicheskiy jurnal*, 2015, vol. 51, no. 3, pp. 56-68. (In Russ.)]
10. Трифонова И.С., Расплетина Г.Ф., Павлова О.А. Органическое вещество, биогенные элементы и фитопланктон в оценке состояния рек бассейна Ладожского озера. *Органическое вещество и биогенные элементы во внутренних водоемах и морских водах*. Материалы V Всероссийского симпозиума с международным участием. 10-14 сентября 2012 г., г. Петрозаводск, Республика Карелия, Россия. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2012, с. 66-70. [Trifonova I.S., Raspletina G.F., Pavlova O.A. Organic matter, nutrients and phytoplankton in assessing the condition of the rivers of Lake Ladoga basin. *Organicheskoe veschestvo i biogennyye elementy vo vnutrennih vodoemah i morskikh vodah*. Materialy V Vserossiyskogo simpoziuma s mezhdunarodnyim uchastiem. 10-14 sentyabrya 2012, Petrozavodsk, Respublika Kareliya, Rossiya. Petrozavodsk: Karelskiy nauchnyiy tsentr RAN, 2012, pp. 66-70. (In Russ.)]
11. Булгаков Н.Г., Левич А.П. Биогенные элементы в среде и фитопланктон: соотношение азота и фосфора как самостоятельный фактор регуляции структуры альгоценоза. *Успехи современной биологии*, 1995, т. 115, вып. 1, с. 13-23. [Bulgakov N.G., Levich A.P. Biogenic elements in the environment and phytoplankton: the ratio of nitrogen and phosphorus as an independent factor in the regulation of the structure of algocenosis. *Uspehi sovremenoy biologii*, 1995, vol. 115, iss. 1, pp. 13-23. (In Russ.)]
12. Филенко О.Ф. *Методы биотестирования качества водной среды*. М.: Изд. МГУ, 1989, 178 с. [Filenko O.F. *Methods of biotesting the quality of the aquatic environment*. M.: Izd. MGU, 1989, 178 p. (In Russ.)]
13. Istvanovics V. Continuous monitoring of phytoplankton dynamics in Lake Balaton (Hungary) using on-line delayed fluorescence excitation spectroscopy // *Freshwater Biology*, 2005, no. 50, pp. 1950-1970. DOI: 10.1111/j.1365-2427.2005.01442.x.
14. Goldman C.R., Jassby A., Powell T. Interannual fluctuations in primary production: Meteorological forcing at two subalpine lakes. *Limnol. Oceanogr.*, 1989, no. 34, pp. 310-323. DOI: 10.4319/lo.1989.34.2.0310.
15. Sterner R.W. Herbivores direct and indirect effects on algal populations. *Science*, 1986, no. 231, pp. 605-607. DOI: 10.1126/science.231.4738.605.
16. Гончаров А.В., Абдуллаева К.М. Особенности фитопланктона Москворецких водохранилищ в связи с их глубоководностью и изменением уровня воды. *Ученые записки Росийского государственного гидрометеорологического университета*, 2014, № 34, с. 128-134. [Goncharov A.V., Abdullaeva K.M. Features of phytoplankton of Moskvoretsky reservoirs in connection with their deep water and changes in water level. *Uchenye zapiski Rosiyskogo gosudarstvennogo gidrometeorologicheskogo universiteta*, 2014, no. 34, pp. 128-134. (In Russ.)]
17. Гольцев В.Н., Каладжи М.Х., Кузманова М.А., Аллахвердиев С.И. *Переменная и замедленная флуоресценция хлорофилла а — теоретические основы и практическое приложение в исследовании растений*.

М. Ижевск: Институт компьютерных исследований, 2014, 220 с. [Goltsev V.N., Kalaji M.Kh., Kuzmanova M.A., Allahverdiyev S.I. *Variable and delayed fluorescence of chlorophyll a - theoretical foundations and practical application in plant research*. М. Izhevsk: Institut kompyuternykh issledovaniy, 2014, 220 p. (In Russ.)]

18. Корнеев Д.Ю. *Информационные возможности метода индукции флуоресценции хлорофилла*. К.: Альтерпрес, 2002, 188 с. [Korneev D.Yu. *Information possibilities of chlorophyll fluorescence induction method*. К.: Alterpres, 2002, 188 p. (In Russ.)]

19. Лысенко В.С., Вардуни Т.В., Соьер В.Г., Краснов В.П. Флуоресценция хлорофилла растений как показатель экологического стресса: теоретические основы применения метода. *Фундаментальные исследования*, 2013, № 4-1, с. 112-120. [Lysenko V.S., Varduni T.V., Sawyer V.G., Krasnov V.P. Plant chlorophyll fluorescence as an indicator of environmental stress: theoretical basis for the application of the method. *Fundamentalnye issledovaniya*, 2013, no. 4-1, pp. 112-120. (In Russ.)]

20. Butler W.L. *Chlorophyll fluorescence: a probe for electron transfer and energy transfer*. In: Encyclopedia of Plant Physiology, ed. by Trebst A., Avron M. Springer. Berlin, 1977, vol. 5, pp. 149-167. DOI: 10.1146/annurev.pp.42.060191.001525.

FLUORESCENCE PARAMETERS AND *CHLORELLA SOROKINIANA* CULTURE GROWTH DYNAMICS AT DIFFERENT CONTENT OF BIOGENIC SUBSTANCES

Bespalova S.V., Romanchuk S.M., Chufitskiy S.V.

Donetsk State University

Universitetskaya str., 24, Donetsk, 283001, DPR; e-mail: ChufitskiySergey@yandex.ru

Abstract. The effect of various concentrations of nutrients on the growth dynamics of the microalgae *Chlorella sorokiniana*, as well as on the content of chlorophyll and the fluorescence of the cells of the culture is considered. Using the method of fluorimetry, the photosynthetic activity of culture cells was evaluated. It was shown that a low content of nitrates and phosphates leads to a decrease in the growth rate of the culture, a decrease in the concentration of chlorophyll in water samples, and also to a decrease in the speed of electron transport at the level of photosystem II, quantum yield, and basic fluorescence indices. The photosynthetic efficiency index (PI) of the functioning of photosystem II was evaluated. It was shown that the PI index increases with an intensive increase in the biomass of *Chlorella sorokiniana*, and decreases with a decrease in the growth rate of the culture.

Key words: *fluorescence, phytoplankton, nitrates, phosphates, chlorophyll.*