



УДК 546.17:579:574.583(262.5)

О. В. Кривенко, канд. биол. наук, ст. н. с.

Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского Национальной академии наук Украины,
Севастополь, Украина

СОДЕРЖАНИЕ И ПОТРЕБЛЕНИЕ НЕОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ АЗОТА В ЧЁРНОМ МОРЕ

На основе материалов по потреблению нитратов и аммония в Чёрном море в различные сезоны проанализирована зависимость между концентрацией неорганических соединений азота в среде и скоростями их поглощения фитопланктоном. Показано, что эта зависимость описывается кривой насыщающего типа, а её параметры изменяются в соответствии с сезонной динамикой гидрохимических условий. Константы полунасыщения, рассчитанные для процессов потребления нитратов и аммония, близки к среднемесячным концентрациям соответствующих неорганических соединений азота в поверхностном слое. В среднем скорости потребления достигают половины максимального значения, т.е. содержание неорганических соединений азота в среде лимитирует скорость потребления только в два раза. Летом, по сравнению с зимним периодом, фито-планктон более эффективно поглощает неорганические соединения азота при их низкой концентрации в среде.

Ключевые слова: нитраты, аммоний, скорости потребления нитратов и аммония, константа полунасыщения, Чёрное море.

Продуктивность водных экосистем наряду со светом чаще всего контролируется содержанием в среде неорганических соединений четырёх основных биогенных элементов: азота, фосфора, кремния или железа. Роль каждого из этих элементов может быть различна и зависит от локальных условий того или иного водоёма, а также периода года. Считается, что недостаток минерального фосфора ограничивает преимущественно продуктивность пресноводных водоёмов и прибрежных районов моря, тогда как азот чаще является лимитирующим фактором в стратифицированных водах Мирового океана [19, 27, 36]. Основной причиной относительно низкой продуктивности, например, Южного океана [12, 30] и северо-восточной части Тихого океана [10, 11] считают недостаток железа. Содержание кремния, необходимого для развития только диатомовых водорослей, может оказывать существенное влияние на ход сукцессии фитопланк-

тонного сообщества в эвтрофных условиях [18, 24].

Пространственно-временную изменчивость первичной продукции в Чёрном море чаще всего рассматривают в связи с концентрацией в среде неорганических соединений азота и фосфора. На основе расчётов молярных отношений основных биогенных элементов в воде был сделан вывод о том, что в открытых районах Чёрного моря минеральный азот, по сравнению с фосфором или кремнием, в большей степени может лимитировать продуктивность вод [4, 5, 9, 45, 47]. Результаты экспериментов с подкормками показывают, что биомасса водорослей в прибрежных районах моря в летний период может лимитироваться недостатком неорганических соединений азота и фосфора в среде [2] или только содержанием минерального азота [46].

Однако концентрация неорганических соединений не всегда является показателем

обеспеченности фитоплана биогенными элементами. Их низкое содержание может указывать как на истощение запасов питательных солей, так и на высокую интенсивность их круговорота. Поэтому более точным критерием обеспеченности являются показатели, связанные с измерением скоростей потоков биогенных элементов через микропланктонное сообщество [29, 31].

Для оценки обеспеченности природного фитопланктона минеральными солями важнейшей, в тоже время наиболее сложной, за-

дачей является количественное описание зависимости между концентрацией биогенных элементов в среде и скоростью роста водорослей. В практике морских исследований существует три основных подхода к расчётам такого рода. В наиболее простом случае реакция фитопланктона на изменение концентрации минеральных солей описывается уравнением Моно [40], непосредственно связывающего удельную скорость роста водорослей с концентрацией исследуемого соединения в воде. Общий вид этой зависимости соответствует уравнению Михаэлиса-Ментен, наиболее часто применяемого в практике морских исследований для описания связи скорости поглощения биогенных элементов фитопланктоном с концентрацией субстрата в среде. В условиях постоянства внутриклеточного содержания лимитирующего рост элемента, значения константы полунасыщения, рассчитанные по скорости роста и поглощению минерального соединения (K_s) совпадают, и величина K_s может быть использована для определения степени лимитирования скорости роста фитопланктона концентрацией изучаемого соединения в воде.

Однако изменение внутриклеточного содержания биогенных элементов является важнейшим физиологическим ответом водорослевых клеток на условия минерального питания, так что скорость роста в большей степени определяется содержанием элемента в клетке (или клеточной квотой), чем его кон-

центрацией в среде. Уравнения, соответствующие данной зависимости, также носят гиперболический характер [15, 21].

Объединение этих двух подходов, основанное на современных достижениях в области биохимии водорослей, позволило создать модели, наиболее точно описывающих процессы лимитирования роста фитопланктона в море [28], где кинетика потребления минеральных солей водорослями контролируется внутриклеточным содержанием биогенных элементов в клетке. Значения параметров уравнения Михаэлиса-Ментен для процесса их потребления фитопланктоном являются важнейшей составляющей этих расчетов.

Цель настоящей работы заключается в оценке степени обеспеченности черноморского фитопланктона минеральным азотом на основе изучения зависимости между концентрацией неорганических соединений азота в воде и скоростью их потребления в поверхностном слое Чёрного моря в различные сезоны.

Материал и методы. Основу работы составляют данные о скоростях потребления нитратов и аммония фитопланктоном, полученные в ходе 8 морских экспедиций в прибрежных и открытых районах Чёрного моря в 1990 – 1993 гг. В летний период определения выполнялись на 14 станциях, в зимний – на 4, в весенний – на 5 и в осенний – на 4. Зависимости между скоростью поглощения и концентрацией нитратов и аммония в среде определяли в 6 экспериментах в поверхностном слое глубоководной области Чёрного моря в августе 1992, ноябре 1991 и в апреле 1993 гг.

Анализ сезонной изменчивости содержания неорганических соединений азота в поверхностных водах проводили на основе материалов банков данных отдела экологической физиологии водорослей ИнБЮМ и МГИ НАН Украины, включающих результаты гидрохимических наблюдений на 425 станциях, выполненных в 11 морских научных экспедициях в различные сезоны в период с 1980 по

1995 г. Общее число определений нитратов – 1130, аммония – 492.

Скорости потребления нитратов и аммония определяли методом меченых атомов, с использованием стабильного изотопа азота ^{15}N . Определение обогащения азота взвешенного вещества тяжёлым изотопом выполнены в специализированной научно-исследовательской лаборатории усвоения азота (СНИЛУА) при Горьковском государственном университете (г. Нижний Новгород, Россия). Полевые эксперименты и лабораторные анализы проводились по единой методике, опубликованной ранее [7, 37], которая была выработана с учётом имеющихся в литературе требований к проведению экспериментов с ^{15}N и трофического статуса черноморских вод. Следует отметить, что под определяемыми по стандартным методикам скоростями потребления нитратов и аммония следует понимать его потребление фитопланктоном и частью бактериопланктона. В условиях наших экспериментов прослеживалась четко выраженная суточная динамика поглощения неорганических соединений азота [6], что позволяет утверждать, потребление нитратов и аммония было связано, главным образом, с их ассимиляцией автотрофными организмами.

В соответствии с основной методикой выполнялись эксперименты по определению основных параметров зависимости между концентрацией нитратов и аммония в воде и скоростью их поглощения. При этом на экспозицию ставили несколько сосудов с морской водой, в которые вносили различное количество меченого изотопа так, что был получен ряд возрастающих от 0.03 до 2.5 – 3 мкМ концентраций нитратов или аммония, добавочных к исходной концентрации субстрата. Скорости поглощения нитратов и аммония рассчитывали по общепринятым уравнениям [23].

Математическую обработку данных проводили с использованием компьютерной программы "Sigma-Plot 2001" (Systat Inc.).

Результаты. Содержание нитратов и аммония в поверхностных водах. Для характеристики сезонной изменчивости содержания неорганических соединений азота в поверхностных водах Чёрного моря были использованы данные, относящиеся к верхнему однородному по содержанию биогенных элементов слою. При статистической обработке материала учитывали необходимость соблюдения условия однородности данных в пределах ячейки осреднения. Поэтому были выбраны минимально возможные, исходя из обеспеченности данными наблюдений, масштабы пространственного и временного осреднения. После анализа пространственного распределения данных, в качестве базового масштаба осреднения были использованы $0.5^\circ \times 0.5^\circ$ квадраты простой географической сетки.

При выборе масштаба осреднения по времени исходили из деления года на тёплый и холодный сезоны, характеризующиеся соответственно наличием или отсутствием термоклины, и на переходные периоды его формирования (весной) и разрушения (осенью). С учётом обеспеченности данными наблюдений этих периодов года (рис. 1), данные были сгруппированы следующим образом: летний период (июнь – сентябрь), осенний (октябрь – ноябрь), раннезимний (декабрь) и зимний (январь – февраль), и отдельно – март, апрель и май. Далее в пределах выделенных интервалов времени было проведено осреднение данных по пространству (по $0.5^\circ \times 0.5^\circ$ квадратам).

Для нитратов, исходя из обеспеченности данными наблюдений, изменчивость содержания по всем выбранным временным отрезкам возможно проанализировать для западной, ограниченной координатами 44° – 46° с.ш. и 30.5° – 34.5° в.д., и для центральной (43° – 44° с.ш. и 30.5° – 38° в.д.) областей моря.

Сравнение сезонного хода содержания нитратов в центральной части моря не показало значимых различий этих кривых по отдельным квадратам осреднения. Поэтому для даль-

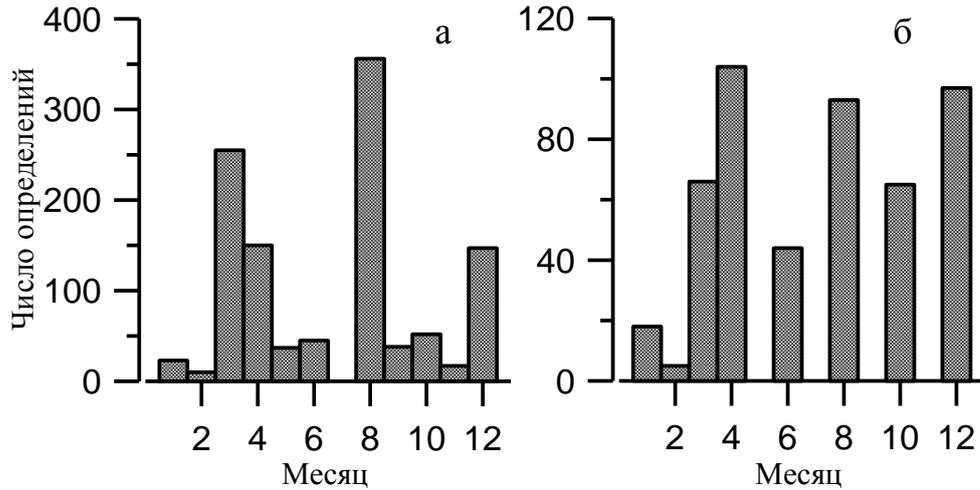


Рис. 1 Распределение данных определений концентраций нитратов (а) и аммония (б) по отдельным месяцам
 Fig. 1 Distributing dates of the determination of nitrate (а) and ammonium (б) concentrations on separate months

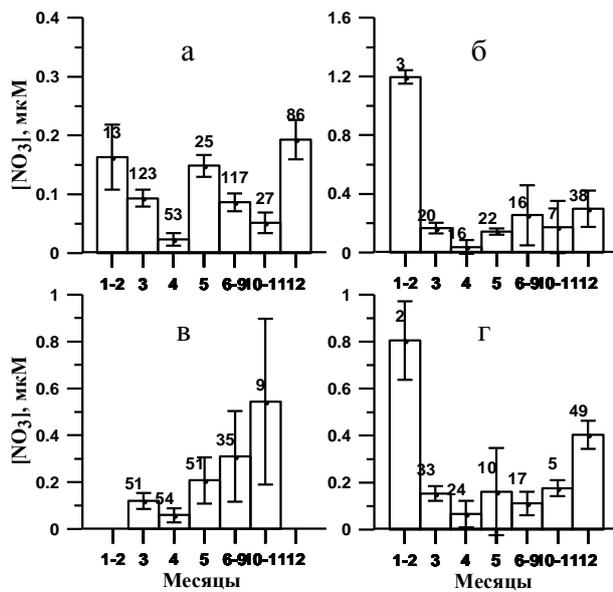


Рис. 1. Сезонная динамика содержания нитратов в поверхностных водах Черного моря. а - глубоководная область; б - область свала глубин; в - центральная часть северо-западного шельфа; г - прибрежные воды Крыма (юго-западная часть). Показаны: доверительный интервал средней и количество определений
 Fig. 2 Seasonal dynamics of nitrate contents in the surface waters of the Black Sea. а - deep-water region; б - shelf-slope region; в - central part of the north-western shelf; г - off-shore water of Crimea (south-western part). Shown: confidence interval of mean and number of determinations

нейшего обсуждения была использована единая кривая сезонного хода, полученная на основе осреднения всех данных, относящихся к данному району моря (рис. 2а).

Видно (рис. 2а), что изменение содержания нитратов в глубоководной области моря в целом соответствует общепринятым представлениям об увеличении их содержания в холодный период года и снижении - в теплый. Однако разница между средними концентрациями, рассчитанными для лета и зимы, невелика. Даже в декабре, когда накопление нитратов в верхнем освещенном слое вод выражено наиболее ярко, их средние концентрации превышают соответствующие летние значения менее чем в три раза. Очевидно также, что при анализе сезонной изменчивости содержания нитратов холодный период года нельзя рассматривать как единый сезон, так как в его продолжение происходит постепенное снижение концентрации данного соединения. В результате к марту содержание нитратов достигает значений, характерных для летнего периода. Минимальное содержание нитратов наблюдается в апреле и в конце октября после завершения весеннего

и осеннего «цветения» фитопланктона.

Аналогичный вид сезонной динамики содержания нитратов (рис. 2б) характерен для области свала глубин в западной части моря (44.5° – 45° с.ш.; 32° - 34° в.д.). Отличие от глубоководной области проявляется в более высоких значениях среднемесячных концентраций и более широком диапазоне их variability, что связано с динамической активностью вод в данном районе моря. В центральной части северо-западного шельфа (рис. 2в) и вблизи западного и южного побережья Крыма (рис. 2г) положение экстремумов сезонного хода содержания нитратов, как и на остальной акватории моря, приходится на зимние месяцы (максимум) и середину весны (минимум).

В отличие от нитратов, поступление которых в поверхностные слои контролируется главным образом физическими процессами,

пополнение эвфотической зоны аммонием связано с интенсивностью биологических процессов – регенерации азота в трофической цепи. Исключение составляют только прибрежные и шельфовые воды, где речной и береговой стоки, а также водообмен с придонными слоями обеспечивают дополнительное поступление аммонийного азота в зону фотосинтеза. Поэтому представляется возможным, учитывая слабую обеспеченность данными наблюдений (рис. 1б), при рассмотрении сезонной изменчивости этого параметра делить акваторию моря на две части: открытые и прибрежные воды. Кривые сезонного хода содержания аммония в глубоководной области (рис. 3а) и прибрежных водах (рис. 3б) Чёрного моря в целом имеют одинаковый вид при более высоком уровне средних значений концентраций в шельфовой зоне моря.

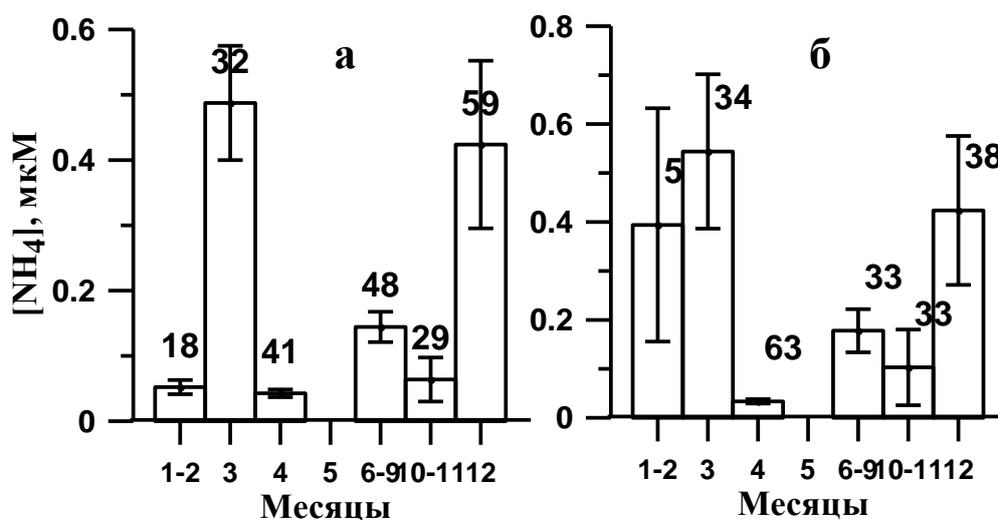


Рис. 3 Сезонная динамика содержания аммония в поверхностных водах глубоководной (а) и прибрежной области Чёрного моря

Fig. 3 Seasonal variability of ammonium contents in the surface waters of the open (a) and coastal (b) regions of the Black Sea

Средние значения концентраций аммония в глубоководной части моря, рассчитанные по нашим данным для этих периодов (март и август – сентябрь), близки к величинам, приводимым В. В. Сапожниковым [8] (в среднем 0.2 мкМ летом и 0.4 мкМ ранней весной) и В. И. Ведерниковым [1] (0.3 и 0.2 мкМ соответ-

венно). Величины порядка 0.2 – 0.4 мкМ принимаются за равновесную концентрацию аммония в поверхностных водах глубоководной части моря [3]. По нашим данным, в отдельные сезоны концентрация аммония в поверхностных водах может снижаться ещё больше – практически до следовых количеств (менее 0.1

мкМ). В глубоководной части моря выделяются три таких периода (рис. 3, а). В апреле и октябре – ноябре пониженное содержание аммония наблюдается на фоне общего истощения запасов минерального азота в поверхностных водах. Содержание аммония при этом составляет около половины от общего количества неорганического азота в зоне фотосинтеза, поэтому такие необычно низкие значения его концентраций представляются достоверными. В январе – феврале в эвфотическом слое содержание аммония в среднем составляет около 20 % от суммарного количества минерального азота. Вторая половина зимы в глубоководной части моря – время интенсивного развития водорослей, которое отмечалось и в период наблюдений в январе – феврале 1992 г. С другой стороны, скорость регенерации питательных солей, в том числе и аммония, в это время может лимитироваться низкой температурой воды. Концентрация нитратов в этот период, хотя и превышала концентрацию аммония, но всё же была не очень высока (в среднем для глубоководной области – 0.16 мкМ). В этих условиях скорости потребления аммония, как наиболее легко усваиваемой водорослями формы минерального азота, могли превышать скорости его регенерации микропланктоном, что и определяло дефицит аммонийного азота в поверхностных водах.

Вышеизложенное подтверждает сделанный ранее вывод о том, что равновесный уровень концентрации аммония в поверхностных водах Чёрного моря определяется скоростями продукционно-деструкционных процессов, протекающих в самом эвфотическом слое, и мало зависит от поступления данного соединения из глубинных слоёв [3].

Потребление нитратов и аммония фитопланктоном. Потребление неорганических соединений азота фитопланктоном в Чёрном море имеет чётко выраженную сезонную динамику. Сопоставление сезонного хода скоростей потребления нитратов и аммония в от-

крытых и прибрежных водах указывает на сходство, как общего вида этих кривых, так и среднемесячных значений скорости потребления [6]. Исключение составляют только районы моря, расположенные непосредственно в зоне влияния береговых и речных стоков. С учётом этого, по всему имеющемуся массиву данных для глубоководной области моря и открытых участков шельфа рассчитаны средние абсолютные (ρ) и удельные на единицу взвешенного органического азота (V) скорости потребления нитратов и аммония в поверхностном слое и в зоне фотосинтеза (табл. 1).

Видно, что наиболее низкое потребление минерального азота характерно для холодного периода. Летом скорости потребления возрастают в 3 – 5 раз, главным образом за счёт увеличения интенсивности поглощения нитратов и аммония. Отметим, что для Чёрного моря отсутствуют данные, характеризующие поглощение неорганического азота в период весеннего «цветения» фитопланктона. Однако, проведенные ранее расчёты [44] позволяют предполагать, что скорости потребления нитратов в этот период близки к значениям, характерным для летнего периода, либо несколько (до 1.5 раз) превышают их. Таким образом, амплитуды сезонной изменчивости содержания неорганических соединений азота и скоростей их потребления в поверхностных водах Чёрного моря в среднем совпадают, а направленность этих изменений в течение года в целом носит противоположный характер.

Зависимость скоростей потребления нитратов и аммония фитопланктоном от концентрации субстрата. Для определения параметров зависимости между удельными скоростями поглощения нитратов и аммония черноморским фитопланктоном и концентрацией неорганических соединений азота в среде использовали два метода.

Во-первых, в глубоководной области в летний, осенний и весенний сезоны были проведены эксперименты, в которых скорости

Табл. 1 Средние скорости потребления нитратов и аммония в поверхностном слое и в зоне фотосинтеза Чёрного моря в отдельные месяцы

Table 1 Average uptake rates of nitrate and ammonium in the surface layer and in the photosynthetic zone of the Black sea in separate months

Месяц	Поверхностный слой				Зона фотосинтеза	
	$\rho \text{ NO}_3$ нМ · ч ⁻¹	$V \text{ NO}_3$ 10 ⁻³ · ч ⁻¹	$\rho \text{ NH}_4$ нМ · ч ⁻¹	$V \text{ NH}_4$ 10 ⁻³ · ч ⁻¹	$\rho \text{ NO}_3$ мкг-ат·м ⁻² ·ч ⁻¹	$\rho \text{ NH}_4$ мкг-ат·м ⁻² ·ч ⁻¹
1-2	1.9 ± 1.0	0.8 ± 0.4	2.8 ± 1.1	1.1 ± 0.2	22 ± 8	67 ± 11
4	1.3 ± 0.7	0.6 ± 0.4	2.9 ± 2.3	1.1 ± 1.2	28 ± 10	73 ± 45
7	5.1 ± 2.7	1.3 ± 0.5	11.5 ± 5.6	2.9 ± 0.7	119 ± 43	277 ± 132
8	4.5 ± 2.1	1.9 ± 1.0	6.9 ± 1.4	2.8 ± 0.8	103 ± 68	118 ± 85
9	5.4 ± 2.7	2.7 ± 1.8	9.0 ± 1.1	3.3 ± 0.5	185 ± 8	295 ± 68
11	2.6 ± 1.2	1.2 ± 0.3	7.8 ± 3.6	3.7 ± 2.3	37 ± 13	118 ± 72
12	0.24	0.18	0.26 ± 0.05	0.3 ± 0.2	11	31

потребления определялись в поверхностном слое при добавках различных концентраций соединений азота. Во-вторых, относящиеся к одному сезону данные о скоростях потребления в поверхностном слое (вне зависимости от района исследований) сопоставлялись с концентрацией соответствующего соединения в среде.

В результате были построены графики, характеризующие зависимость между удельной скоростью потребления и содержанием нитратов и аммония в среде в летний, осенний

и весенний периоды (рис. 4). Оказалось, что вне зависимости от метода сопоставления параметров, все точки в рассматриваемых зависимостях принадлежат одной кривой, которая может быть описана уравнением Михаэлиса-Ментен. Численные значения параметров этого уравнения для каждого сезона и соединения приведены в табл. 2. Все зависимости статистически значимы, стандартная ошибка для коэффициента $V_{\text{макс}}$ в большинстве случаев не превышает 10%, а для константы полунасыщения составляет около 30 %.

Табл. 2 Параметры зависимостей между концентрацией и скоростью потребления неорганических соединений азота черноморским фитопланктоном в различные сезоны

Table 2 Parameters of relations between concentration and uptake rate of inorganic nitrogen by phytoplankton in the Black Sea in the different seasons

Сезон	Соединение	$V_{\text{макс}}, \times 10^{-3} \text{ ч}^{-1}$	$K_s, \text{ мкМ}$	$\alpha, (\text{мкМ} \cdot \text{ч})^{-1}$	R^2
Весна	NO_3	2.9 ± 0.3	0.15 ± 0.05	0.0193	0.87
	NH_4	7.3 ± 0.7	0.25 ± 0.07	0.0292	0.93
Лето	NO_3	4.6 ± 1.0	0.09 ± 0.06	0.0511	0.61
	NH_4	6.5 ± 0.6	0.12 ± 0.03	0.0542	0.79
Осень	NO_3	2.8 ± 0.3	0.15 ± 0.04	0.0185	0.87

Примечание. $V_{\text{макс}}$ - максимальная скорость потребления; K_s - константа полунасыщения; коэффициент α - равный отношению $V_{\text{макс}}/K_s$; R^2 - коэффициент детерминации

Note. $V_{\text{макс}}$ - maximum uptake rate; K_s - half-saturation constant; α - coefficient equal to $V_{\text{макс}}/K_s$ ratio; R^2 - coefficient of determination

Зависимости между концентрацией и скоростями потребления нитратов и аммония в апреле (рис. 4 а, б), дополнены точками, характеризующими потребление азота в конце нояб-

ря 1993 г. и январе – феврале 1992 г. Данные, относящиеся к зимнему и весеннему периодам, в целом хорошо согласуются между собой.

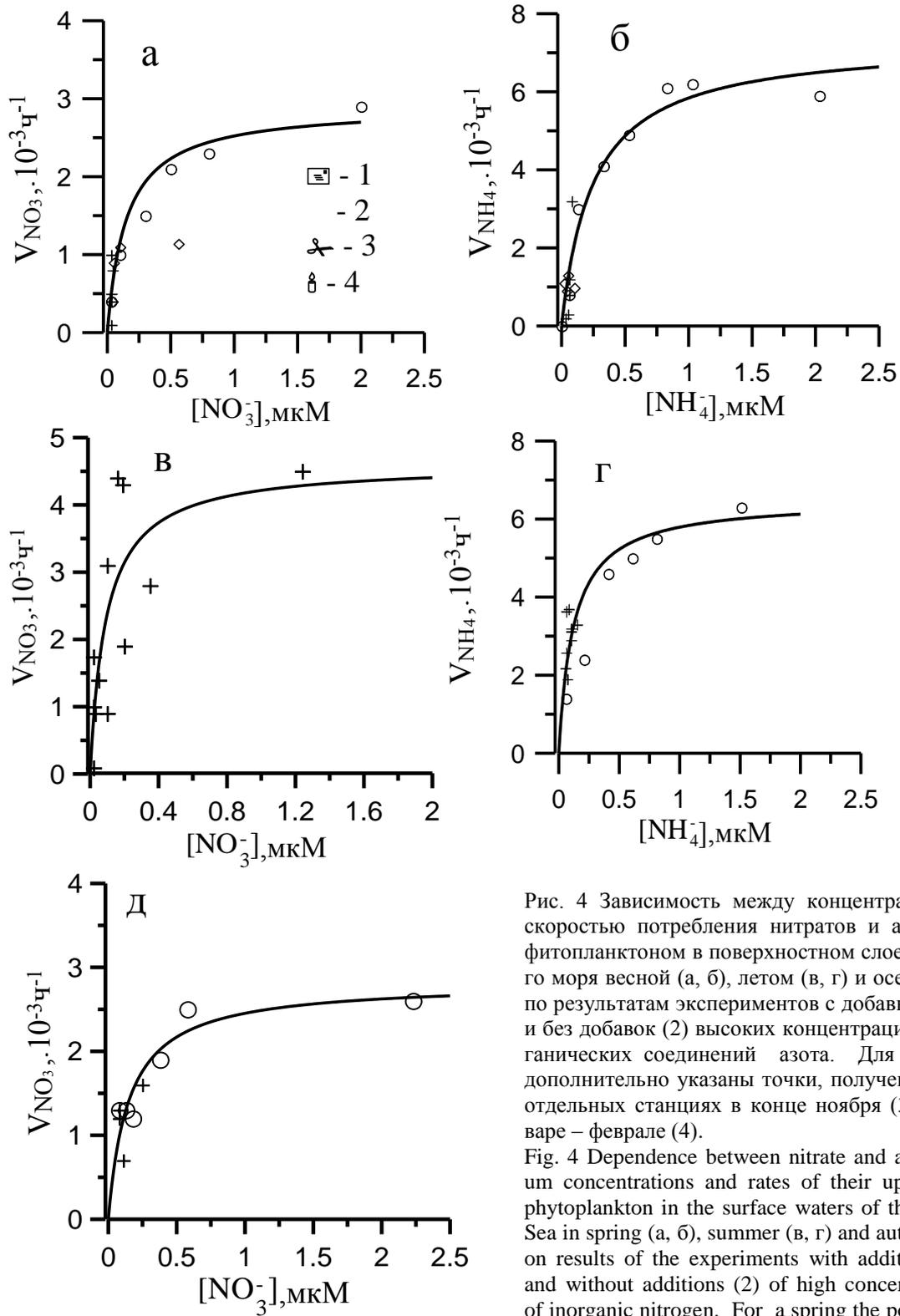


Рис. 4 Зависимость между концентрацией и скоростью потребления нитратов и аммония фитопланктоном в поверхностном слое Чёрного моря весной (а, б), летом (в, г) и осенью (д) по результатам экспериментов с добавками (1) и без добавок (2) высоких концентраций неорганических соединений азота. Для весны дополнительно указаны точки, полученные на отдельных станциях в конце ноября (3) и январе – феврале (4).

Fig. 4 Dependence between nitrate and ammonium concentrations and rates of their uptake by phytoplankton in the surface waters of the Black Sea in spring (а, б), summer (в, г) and autumn (д) on results of the experiments with additions (1) and without additions (2) of high concentrations of inorganic nitrogen. For a spring the points got on the separate stations at the end of November (3) and January – February (4) are additionally indicated.

Только в позднесенний период на фоне накопления нитратов в среде (более 0,5 мкМ) скорость их поглощения значительно ниже расчётной величины (рис. 4 а). Для летнего периода (июль – сентябрь), ввиду отсутствия экспериментальных данных, параметры зависимости между концентрацией и поглощением нитратов рассчитывались только по данным о скоростях потребления данного соединения при минимальных добавках изотопа. В расчёты включены все данные, полученные в разные годы в поверхностном слое вод в открытых и прибрежных районах, за исключением скоростей, измеренных в непосредственной близости у м. Тарханкут (рис. 4, в). Для аммония зависимость рассчитывалась по результатам всех экспериментов, как с добавками высоких концентраций соединения, так и без них (рис. 4, г).

Обсуждение. В конце 60-х годов 20 в. на основании лабораторных [22, 26] и природных [38] наблюдений было показано, что скорость (V) потребления минеральных соединений основных биогенных элементов (в том числе и азота) связана с концентрацией субстрата в среде (S) гиперболической зависимостью, которая может быть описана с помощью двух постоянных - константы полунасыщения (K_s) и максимальной скорости (V_{\max}): $V = V_{\max} \times S / (K_s + S)$. Оба эти показателя могут быть использованы в качестве индикатора конкурентоспособности видов в условиях лимитированного или не лимитированного биогенными элементами роста водорослей [22]. Комбинация низкого значения K_s и высокого V_{\max} свидетельствует о высоком сродстве вида к элементу минерального питания, тогда как слабое сродство будет выражаться в больших значениях K_s и малых V_{\max} . В условиях дефицита биогенных элементов (олиготрофные воды) должны доминировать виды с низкими значениями K_s и V_{\max} , тогда как их избыток должен приводить к преимущественному развитию видов с высокими значениями V_{\max} .

В соответствии с уравнением Михаэлиса-Ментен, скорости потребления питательных солей при очень низких концентрациях ($S \ll K_s$) линейно связаны с их содержанием в среде отношением V_{\max} / K_s , обычно обозначаемом как коэффициент α , который соответствует начальному углу наклона кривой потребление – концентрация субстрата [32, 42]. Величина коэффициента α прямо пропорциональна уровню сродства вида к химическому соединению и является более точной характеристикой последнего по сравнению с константой полунасыщения, интерпретация которой осложняется наличием функциональной связи между K_s и V_{\max} [13, 14, 33, 35, 43]. Значение α возрастает при уменьшении K_s и увеличении V_{\max} , таким образом, более высокие величины этого показателя указывают на большую скорость потребления при низких концентрациях субстрата.

На протяжении последних трёх десятилетий выполнено множество исследований как на культурах, так и на природных популяциях микроводорослей, которые подтвердили, что зависимости скорости потребления неорганических соединений азота от концентрации субстрата достаточно точно описываются насыщающей кривой Михаэлиса-Ментен. Данные этих исследований были обобщены и проанализированы в целом ряде работ [17, 20, 32, 39]. Позднее, на основе использования более чувствительных гидрохимических методов, было показано, что кинетика потребления нитратов и аммония описывается насыщающей кривой не только в традиционном микромолярном диапазоне концентраций, но и на наномолярном уровне [34]. Сравнение и интерпретация этих данных часто затрудняются различиями в методике, условиях проведения экспериментов и физиологическом состоянии водорослей [17, 33]. Но в целом результаты проведённых исследований подтвердили теоретические выводы о механизме адаптации водорослей к условиям минерального питания [22].

Показано, что величины K_s процессов потребления как нитратов, так и аммония ниже у природных популяций в олиготрофных районах океана и изолированных из этих вод клонов водорослей (менее 0.1 мкМ), чем у природных популяций и клонов из эвтрофных районов (около 1 мкМ) [16, 34, 38].

В глубоководной области Чёрного моря и его прибрежной зоне, не подверженной непосредственному влиянию береговых стоков, зависимость между скоростью потребления неорганических соединений азота и концентрацией нитратов и аммония в поверхностном слое во все сезоны достоверно описывается уравнением Михаэлиса-Ментен. Параметры этого уравнения, полученные в опытах с добавками различных концентраций субстрата и при сопоставлении скоростей потребления, измеренных в различных районах моря при концентрациях, близких к природным, совпадают. Это совпадение, с одной стороны, свидетельствует о том, что внесение высоких концентраций не вызывает существенного изменения в физиологии процесса потребления минерального азота фитопланктоном, и оба метода могут равноценно использоваться в дальнейших исследованиях. С другой стороны, на большей части исследованной акватории моря параметры зависимости между скоростью потребления нитратов и аммония и их концентрацией в среде совпадают, что говорит о близких условиях минерального питания для фитопланктона.

Данный вывод хорошо согласуется с гидрохимическими данными, которые говорят о достаточно однородном распределении нитратов и аммония в поверхностных водах на большей части акватории Чёрного моря [6]. Существенно выделяются по концентрациям только районы, находящиеся под непосредственным влиянием берегового или речного стоков, где соответственно наблюдаются более высокие скорости поглощения данных соединений микропланктоном.

Сравнение основных параметров уравнения Михаэлиса-Ментен, рассчитанных для процесса потребления нитратов в зимне-весенний, летний и осенний периоды (см. табл. 2), указывает на увеличение максимальной скорости потребления и показателя α и уменьшение константы полунасыщения в теплый период года. Следовательно, в летний период микропланктон более эффективно потребляет нитраты при низкой концентрации субстрата в среде, чем зимой. Это представляется закономерным, исходя из более высокого уровня обогащения поверхностных вод нитратами в холодный период.

Аналогичным образом изменяются параметры уравнения, описывающего зависимость между потреблением и концентрацией аммония. Летом константа полунасыщения уменьшается, а коэффициент α увеличивается в два раза по сравнению с холодным периодом года. Максимальная скорость потребления аммония летом несколько ниже, чем весной, однако диапазоны варибельности этого параметра перекрываются, так что полученную разницу нельзя считать достоверной.

Степень лимитирования скоростей потребления неорганических соединений азота можно охарактеризовать отношением максимальной скорости их потребления к скорости поглощения нитратов и аммония, измеренной при минимальной добавке субстрата (V_{\max}/V) [31]. Для расчёта величины этого отношения использованы значения V_{\max} для соответствующего сезона (табл. 2) и данные о скоростях потребления нитратов и аммония в глубоководной и прибрежной областях моря. Величины отношения V_{\max}/V для нитратов и аммония, как правило, близки между собой (рис. 5).

Отклонение от этой закономерности наблюдается только при очень высоких значениях отношения, в результате чего недостаточная скорость потребления одного из соединений азота компенсируется поглощением другого.

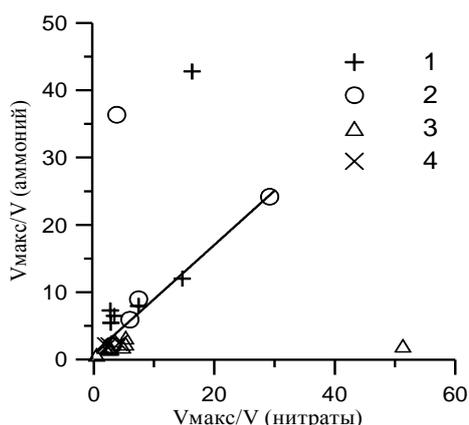


Рис. 5 Зависимость между отношением V_{\max}/V для нитратов и аммония в зимний (1), весенний (2), летний (3) и осенний (4) периоды в поверхностном слое Черного моря

Fig. 5 Dependence between the V_{\max}/V ratio for nitrate and ammonium in the winter (1), spring (2), summer (3) and autumn (4) in the surface

В среднем для всех сезонов корреляция между V_{\max}/V для процессов потребления нитратов и аммония (без учета трех наиболее сильно отклоняющихся точек) описывается линейной зависимостью с коэффициентом детерминации $R^2=0.88$.

Кроме того, видно, что более высокие значения отношения характерны для зимнего и весеннего периодов, тогда как в теплый период года его величины минимальны. Для расчета средних для сезона значений отношений V_{\max}/V были взяты соответствующие средне-месячные величины скоростей потребления нитратов и аммония в глубоководной области Чёрного моря. Получено, что в летне-осенний период удельные скорости потребления нитратов и аммония фитопланктоном в Чёрном море соответственно в 1.8 и 2.2 раза ниже максимальной величины. В зимне-весенний период измеренные скорости потребления нитратов в 4 раза и аммония 6.7 раза меньше максимальных значений.

Для оценки степени обеспеченности черноморского фитопланктона минеральными соединениями азота константы полунасыщения полученные для каждого сезона были со-

поставлены с соответствующими среднемесячными концентрациями нитратов и аммония в поверхностном слое глубоководной области моря. В открытых районах концентрация нитратов в зоне фотосинтеза в декабре составляет в среднем 0.19 ± 0.03 мкМ, в январе и феврале – 0.16 ± 0.06 мкМ, с июня по сентябрь – 0.09 ± 0.02 мкМ. Эти значения очень близки к величинам константы полунасыщения, рассчитанной для процесса потребления нитратов в соответствующие сезоны: 0.15 ± 0.05 мкМ – зимой и 0.09 ± 0.06 мкМ – летом. Аналогично, с декабря по апрель содержание аммония в поверхностном слое вод глубоководной области в среднем равно 0.25 мкМ, в августе – сентябре – 0.14 ± 0.02 мкМ. Эти величины совпадают с рассчитанными значениями констант полунасыщения для потребления аммонийного азота зимне-весенний (0.25 ± 0.07 мкМ) и летний (0.12 ± 0.03 мкМ) сезоны.

Сравнение параметров уравнений, описывающих зависимость между концентрацией и потреблением, часто используется для определения формы соединения, в которой неорганический азот легче потребляется, или, иначе говоря, предпочитается водорослями. Количество предпочтение может выражаться в более высоком значении V_{\max} или более низком K_s для одного из соединений [20]. Согласно [20], в которой проанализированы данные более чем 30 наблюдений, выполненных в различных районах Мирового океана, скорость потребления аммония при насыщающих концентрациях в большинстве случаев превышает или равна значению максимальной скорости потребления нитратов. Только весной или в зонах апвеллинга величины отношения $V_{\max}(\text{NO}_3)/V_{\max}(\text{NH}_4)$ приближаются к единице (показывая равное потребление этих соединений при насыщающих концентрациях) или превышают её. Сравнение констант полунасыщения для процессов потребления нитратов и аммония не дает такой же систематической картины как для V_{\max} . При анализе отношения

$K_s\text{-NO}_3/K_s\text{-NH}_4$ для 28-ми видов водорослей и 46-ти природных популяций фитопланктона было показано, что более чем в пя-тидесяти процентах случаев оно >1 [20]. Тогда как по данным многолетних исследований, выполненных в поверхностных водах Северной Атлантики, константы полунасыщения для процессов потребления обоих соединений были близки даже при наномолярных концентрациях неорганических соединений азота в среде [34]. Более поздние данные [25, 34, 41], характеризующие соотношение между скоростями потребления нитратов и аммония при насыщающих концентрациях, также свидетельствуют о предпочтительном потреблении аммония фитопланктоном.

Сопоставление параметров уравнения Михаэлиса-Ментен, полученных при изучении потребления нитратов и аммония в Чёрном море показывает, что максимальная скорость потребления аммония превышает значение соответствующего параметра для нитратов в 2.5 раза в холодный период года и до 1.5 раз – в теплый. Поэтому можно предполагать, что в Чёрном море, как и в других районах океана, наблюдается тенденция к предпочтительному потреблению аммония фитопланктоном, по сравнению с нитратами. Константа полунасыщения, рассчитанная для процесса потребления аммония выше значения данного показателя для нитратов в 1.7 раз зимой и в 1.3 раза летом. Однако, учитывая ошибку определения данного параметра, говорить о достоверной

разнице между полученными величинами, очевидно, нельзя.

Выводы. **1.** Зависимость скорости потребления нитратов и аммония черноморским фитопланктоном от концентрации субстрата в среде описывается гиперболической зависимостью, параметры которой изменяются в течение года. **2.** Концентрация нитратов, в два раза лимитирующая скорость их потребления, уменьшается от 0.15 мкМ в холодный до 0.09 мкМ в теплый периоды года. Для аммония значение данного параметра в эти периоды составляет соответственно 0.25 и 0.12 мкМ. Константы полунасыщения для процессов потребления нитратов и аммония близки к соответствующим среднемесячным концентрациям неорганических соединений азота в поверхностном слое вод. **3.** Летом, по сравнению с зимним периодом, фитопланктон более эффективно поглощает неорганические соединения азота при их низкой концентрации в среде. **4.** В среднем скорость потребления нитратов и аммония фитопланктоном достигает половины от её максимального значения, т.е. содержание неорганических соединений азота в среде лимитирует скорость их потребления только в два раза. **5.** В зимне-весенний период в отдельных районах моря Чёрного моря может наблюдаться в 2 - 3 раза более высокая степень лимитирования скоростей потребления нитратов и аммония недостаточным содержанием этих соединений в среде.

1. *Ведерников В. И.* Особенности распределения первичной продукции и хлорофилла в Чёрном море в весенний и летний периоды // *Изменчивость экосистемы Чёрного моря: естественные и антропогенные факторы.* – М.: Наука, 1991. – С. 128 – 147.
2. *Ведерников В. И., Сергеева О. М., Коновалов Б. В.* Экспериментальное изучение зависимости скорости роста и фотосинтеза фитопланктона Чёрного моря от условий минерального питания // *Экосистемы пелагиали Чёрного моря.* – М.: Наука, 1980. – С. 140 – 157.
3. *Виноградов В. Е., Сапожников В. В., Шушкина Э. А.* Экосистемы Чёрного моря. – М.: Наука, 1992. – 112с.
4. *Кирикова М. В.* Поглощение неорганического фосфора микропланктоном и распределение биогенных элементов в Чёрном море и Северной Атлантике: дисс... канд. биол. наук: 03.00.18. – Севастополь, 1989. – 156 с.
5. *Кирикова М. В., Кривенко О. В.* Неорганические формы азота и кремния в Чёрном море в весенний период // *Экология моря.* – 2001. – Вып. 56. – С. 18 – 22.

6. *Кривенко О. В.* Динамика потребления неорганических соединений азота микропланктоном в Чёрном море: Автореф. дисс... канд. биол. наук: 03.00.17 / ИнБЮМ НАНУ. – Севастополь, 2005.
7. *Кривенко О. В., Лукьянова А. И.* Потребление минерального азота микропланктоном Чёрного моря в связи с гидрохимическими условиями // *Океанология*. – 1994. – **34**, №2. – С. 232 - 239.
8. *Сапожников В. В.* Новые представления о гидрохимической структуре Чёрного моря // *Изменчивость экосистемы Чёрного моря: естественные и антропогенные факторы*. – М.: Наука, 1991. – С. 34 – 46.
9. *Basturk O., Tugrul S., Konovalov S. et al.* Variations in the vertical structure of water chemistry within the three hydrodynamically different regions of the Black Sea // *Sensitivity to change: Black Sea, Baltic Sea and North Sea. - Series 2: Environment*. – Dordrecht: Kluwer Acad. Publ., 1997. – **27**. – P.183 – 196.
10. *Boyd P. W., Harrison P. J.* Phytoplankton dynamics in the NE subarctic Pacific // *Deep-Sea Res. II*. – 1999. – **46**. – P. 2405 – 2432.
11. *Boyd P. W., Law C. S., Wong C. S. et al.* The decline and fate of an iron-induced subarctic phytoplankton bloom // *Nature*. – 2004. – **428**. – P. 549 – 553.
12. *Boyd P. W., Watson A. J., Law C. S. et al.* A mesoscale phytoplankton bloom in the polar Southern Ocean stimulated by iron fertilization // *Nature*. – 2000. – **407**. – P. 695–702.
13. *Button D. K.* On the theory of control of microbial growth kinetics by limiting nutrient concentration // *Deep-Sea Res.* – 1978. – **25**. – P. 1163 – 1177.
14. *Button D. K.* Affinity of organisms for substrate // *Limnol. Oceanogr.* – 1986. – **31**. – P. 453 – 456.
15. *Caperon J., Meyer J.* Nitrogen-limited growth of marine phytoplankton. II. Uptake kinetics and their role in nutrient limited growth of phytoplankton // *Deep-Sea Res.* – 1972. – **19**, No9. – P. 619 – 632.
16. *Carpenter E. J., Guillard R. R.* Intraspecific differences in nitrate half-saturation constants for three species of marine phytoplankton // *Ecology*. – 1971. – **52**. – P. 183 – 185.
17. *Cochlan W. P., Harrison P. J.* Kinetics of nitrogen (nitrate, ammonium and urea) uptake by the picoflagellate *Micromonas pusilla* (Prasinophyceae) // *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* – 1991. – **153**. – P. 129 – 141.
18. *Conley D. J., Malone T. C.* Annual cycle of dissolved silicate in Chesapeake Bay: implications for the production and fate of phytoplankton biomass // *Mar. Ecol. Prog. Ser.* – 1992. – **81**. – P. 121 – 128.
19. *Dodds W. K., Strauss E. A., Lehmann R.* Nutrient dilution and removal bioassays to estimate phyto-1. plankton response to nutrient control // *Arch. Hydrobiol.* – 1993. – **128**. – P. 467 – 481.
20. *Dortch Q.* The interaction between ammonium and nitrate uptake in phytoplankton // *Mar. Ecol. Prog. Ser.* – 1990. – **61**. – P. 183 – 201.
21. *Droop M. R.* Vitamin B12 and marine ecology IV. Kinetics of uptake, growth and inhibition in *Monochrysis lutheri*. // *J. Mar. Biol. Assoc. UK*. – 1968. – **48**. – P. 689 – 733.
22. *Dugdale R. C.* Nutrient limitation in the sea: dynamics, identification and significance // *Limnol. Oceanogr.* – 1967. – **12**. – P. 685 – 695.
23. *Dugdale R. C., Goering J. J.* Uptake of new and regenerated forms of nitrogen in primary productivity // *Limnol. Oceanogr.* – 1967. – **12**, No1. – P. 196 – 206.
24. *Egge J. K., Aksnes D. L.* Silicate as regulating nutrient in phytoplankton competition // *Mar. Ecol. Prog. Ser.* – 1992. – **83**. – P. 281 – 289.
25. *Elskens M., Baeyens W., Goeyens L.* Contribution of nitrate to the uptake of nitrogen by phytoplankton in an ocean margin environment // *Hydrobiologia*. – 1997. – **353**, No1 – 3. – P. 139 - 152.
26. *Eppley R. W., Coatsworth J. L.* Nitrate and nitrite uptake by *Ditylum brightwellii*. Kinetics and mechanisms // *J. Phycol.* – 1968. – **4**. – P. 151 – 156.
27. *Esler J. J., Marzolf E. R., Goldman C. R.* Phosphorus and nitrogen limitation of phytoplankton growth in freshwaters of North America: A review and critique of experimental enrichments // *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* – 1990. – **47**. – P. 1468 – 1477.
28. *Flynn K. J.* A mechanistic model for describing dynamic multi-nutrient, light, temperature interactions in phytoplankton // *J. Plankton Res.* – 2001. – **23**. – P. 977 – 997.
29. *Flynn K. J.* The determination of nitrogen status in microalgae // *Mar. Ecol. Progr. Ser.* – 1990. – **61**. – P. 297 - 307.
30. *Gervais F., Riebesell U., Gorbunoc M. Y.* Changes in primary productivity and chlorophyll a in response to iron fertilisation in the Southern Polar Frontal Zone // *Limnol. Oceanogr.* – 2002. – **47**. – P. 1324 – 1335.
31. *Glibert P. M., McCarthy J. J.* Uptake and assimilation of ammonium and nitrate by phytoplankton: indices of nutritional status for natural assemblages // *J. Pl. Res.* – 1984. – **6**, No4. – P. 677 - 697.
32. *Goldman J. C., Glibert P. M.* Kinetics of inorganic nitrogen uptake by phytoplankton // *Nitrogen in the marine environment*. - New York: Academic Press, 1983. – P. 233 – 274.
33. *Harrison P. J., Parslow J. S., Conway H. L.* Determination of nutrient uptake kinetic parameters: a comparison of methods // *Mar. Ecol. Prog. Ser.* – 1989. – **52**. – P. 301 – 312.

34. Harrison W. G., Harris L. R., Irwin B. D. Nitrate and ammonium interactions at nanomolar concentrations // *Limnol. Oceanogr.* – 1996. – **41**, No1. – P. 16 – 32.
35. Healey F. P. Slope of the Monod equation as an indicator of advantage in nutrient competition // *Microb. Ecol.* – 1980. – **5**. – P. 281 – 286.
36. Hecky R. E., Kilham P. Nutrient limitation of phytoplankton in freshwater and marine environments: a review of recent evidence on the effects of enrichment // *Limnol. Oceanogr.* – 1988. – **33**. – P. 796 – 822.
37. Krivenko O. V., Burlakova Z. P., Eremeeva L. V. Basic characteristics of biotic nitrogen cycle in the open western part of the Black Sea // *Ecosystem modelling as a management tool for the Black Sea*. – Dordrecht: Kluwer Acad. Publ., 1998. – **1**. – P. 121 – 136.
38. MacIsaac J. J., Dugdale R. C. The kinetics of nitrate and ammonia uptake by natural populations of marine phytoplankton // *Deep-Sea Res.* – 1969. – **16**, No1. – P. 45 – 57.
39. McCarthy J. J. The kinetics of nutrient utilization // *Can. Bull. Fish. Aquat. Sci.* – 1981. – **210**. – P. 211 – 233.
40. Monod J. Recherches sur la croissance des cultures bacteriennes. Actualites scientifiques et industrielles. // *Annu. Rev. Microbiol.* – 1942. – **3**. – P. 3 – 71.
41. Muggli D. L., Smith W. O. Regulation of nitrate and ammonium uptake in the Greenland Sea // *Mar. Biol.* – 1993. – **115**. – P. 199 – 208.
42. Parslow J. S., Harrison P. J., Thomson P. A. Interpreting rapid changes in uptake kinetics in the marine diatom *Thalassiosira pseudonana* (Hustedt) // *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* – 1985. – **89**. – P. 53 – 64.
43. Reay D. S., Nedwell D. B., Priddle J. et al. Temperature dependence of inorganic nitrogen uptake: Reduced affinity for nitrate at suboptimal temperatures in both algae and bacteria // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1999. – **65**, No6. – P. 2577 – 2584.
44. Stelmakh L. V., Krivenko O. V. Seasonal variability of "new" primary production in the western open part of the Black Sea // *Oceanography of eastern Mediterranean and Black Sea: similarities and differences of two interconnected basins*. - Ankara: Tübitak, 2003. - P. 471 – 478.
45. Yayla M. K., Yılmaz A., Morkoc E. The dynamics of nutrient enrichment and primary production related to the recent changes in the ecosystem of the Black Sea // *Aquatic Ecosystem Health and Management*. – 2001. – **4**, No1. – P. 31 – 49.
46. Yılmaz A., Coban-Yıldız Y., Telli-Karakoc F. et al. Surface and mid-water sources of organic carbon by photoautotrophic and chemoautotrophic production in the Black Sea // *Deep-Sea Res.* – 2006. – **53**. – P. 1988 – 2004.
47. Yılmaz, A., Tugrul S., Polat C. et al. On the production, elemental composition (C, N, P) and distribution of photoautotrophic organic matter in the southern Black Sea // *Hydrobiologia*. – 1998. – **363**. – P. 141 – 156.

Поступила 17 июля 2008 г.

Вміст і споживання неорганічних сполук азоту у Чорному морі. О. В. Кривенко. На основі матеріалів по споживанню нітратів і амонію у Чорному морі проаналізована залежність між концентрацією неорганічних сполук азоту в середовищі і швидкостями їх поглинання фітопланктом в різні сезони. Показано, що ця залежність описується кривій насичуючого типу, а її параметри змінюються відповідно до сезонної динаміки гідрохімічних умов. Константи напівнасичення, розраховані для процесів споживання нітратів і амонію, близькі до середньомісячних концентрацій відповідних неорганічних сполук азоту в поверхневому шарі. В середньому швидкість споживання нітратів і амонію досягає половини від її максимального значення, тобто вміст неорганічних сполук азоту в середовищі лімітує швидкість їх споживання тільки в два рази. Влітку, в порівнянні із зимовим періодом, фітопланктон ефективніше поглинає неорганічні з'єднання азоту при їх низькій концентрації в середовищі.

Ключові слова: нітрати, амоній, швидкості споживання, константа напівнасичення, Чорне море

Contents and uptake of inorganic nitrogen in the Black Sea. O.V. Krivenko. Relations between concentrations of inorganic nitrogen (nitrate and ammonium) in the water and their uptake rates by phytoplankton in the Black Sea during the different seasons were analyzed based on data of nitrate and ammonium consumption. It is shown that this relation is described by the curve of saturation type, and its parameters change in accordance with the seasonal dynamics of hydrochemical conditions. Saturation constants calculated for the processes of nitrate and ammonium uptake are near to the monthly average concentrations of inorganic nitrogen in the surface layer. On the average, nitrate and ammonium uptake rates achieves a half from its maximal value. Thus dissolved inorganic nitrogen concentration limits rates of their consumption only in two times. Summer phytoplankton takes up inorganic nitrogen more effectively under their low concentration in the environment as compared to a winter period.

Key words: nitrate, ammonium, uptake rates, half-saturation constant, Black Sea