

## **ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА РЕГИСТРАЦИИ ЗАМЕДЛЕННОЙ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА МИКРОВОДОРОСЛЕЙ ДЛЯ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ПРИРОДНЫХ ВОД**

**В статье авторы предлагают методику биотестирования природных вод на основе регистрации замедленной флуоресценции хлорофилла микроводорослей. Приводятся результаты применения этой методики для различных водоемов. Используются теоретические положения о механизмах замедленной флуоресценции для анализа полученных кривых. Установлены корреляционные зависимости между параметрами замедленной флуоресценции и химическим составом природных вод.**

**Ключевые слова:** микроводоросли, замедленная флуоресценция, фотосинтез, природные воды, биотестирование.

Фундаментальные исследования экологии, физиологии, гидробиологии, биохимии и генетики показали перспективы использования микроводорослей для оценки токсичности различных веществ, природных и сточных вод.

Благодаря своему малому размеру микроводоросли в большей степени, чем многоклеточные организмы страдают от загрязнения, так как высокая удельная поверхность клеток способствует накоплению поллютантов.

Нами предлагается методика биотестирования природных вод на основе регистрации параметров кинетики замедленной флуоресценции (ЗФ) хлорофилла микроводорослей. Выбор в качестве тест-объекта микроводоросли *Scenedesmus* обусловлен тем, что данный вид водоросли, встречается повсеместно – в почве, в составе фитопланктона рек, озер, прудов, в водоемах всех типов, хотя и предпочитает стоячие загрязненные воды.

Этот вид водорослей рекомендован для разработки нормативов качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения, в том числе нормативов предельно допустимых концентраций вредных веществ и для определения методом биотестирования токсичности вод, донных отложений, загрязняющих веществ и буровых растворов [4].

Были отобраны образцы из водоемов, расположенных как в относительно благополучных районах, так и находящиеся рядом с крупными промышленными предприятиями и городскими очистными сооружениями.

Для исследования замедленной флуоресценции микроводорослей, выращенных на природной воде, была использована вода из следующих источников: №1 – озеро Чистое; №2 – р. Донгуз, пос. Экспериментальный; №3 – р. Урал, пос. Черноречье; №4 – р. Каргалка, пос. П.Покровка; №5 – оз. Малашка (р-н Сакмарской ТЭЦ); №6 – р. Урал, очистные сооружения; №7 – озеро Микутка; №8

– карьер Славянский; №9 – озеро Коровье; №10 – р. Урал, п.Нежинка.

Действие образцов воды оценивали по изменению параметров кинетики ЗФ. Измерения проводились сразу после внесения водорослей в пробы воды, а также через 3-5, 10, 24, 36, 48, 60, 72 часа. В качестве контроля принималась культура водорослей, помещенная в стандартную среду Прата. Рост численности микроводорослей оценивали по изменению оптической плотности суспензии.

На основании полученных данных были построены графические зависимости. На рисунке 1 представлено изменение амплитуды быстрой компоненты G во времени. На этих графиках показаны данные для всех водоемов в сравнении с контрольным образцом.

Во всех случаях наблюдается увеличение G в течение первых суток. У образцов 2, 6, 7, 8 максимальное значение достигается очень быстро – за три часа; через 10 часов выходят на максимум образцы 4, 9, 10, а контрольный образец и номера 1, 3, и 5 только через 24 часа. После максимального значения для всех образцов наблюдается снижение быстрой компоненты. К окончанию вторых суток значения G продолжают уменьшаться и через 72 часа становятся практически одинаковыми. Наибольшее значение быстрой компоненты (6995 имп.) отмечается у контрольного образца через 24 часа.

Подъем интенсивности ЗФ обусловлен нарушением электронного транспорта вследствие временной блокировки оттока электронов от ФС 2 в ЭТЦ. Наиболее глубокие нарушения происходят, как следует из результатов экспериментов, в течение первых суток. В этот период клетки микроводорослей испытывают стресс, их фотосинтетический аппарат должен адаптироваться к новым условиям.

По результатам исследований интенсивности замедленной флуоресценции с течением времени можно отметить следующее. На кривых выделяются три зоны различного характера. Первая зона – активное возрастание интенсивности ЗФ. Максимум достигается за период от трех часов до суток. Второй участок на кривой характеризуется спадом свечения, который завершается к окончанию вторых суток эксперимента. Третий участок – выход уровня ЗФ на постоянное значение в течение третьих суток. Достигнутое значение практически не изменяется.

Замедленная флуоресценция дает важную информацию о механизмах переноса электронов в первичных процессах фотосинтеза. Согласно современным представлениям о механизме ЗФ [1], на интенсивность ЗФ влияет энергизация фотосинтетической мембраны и образование протонного градиента. С увеличением разницы потенциалов на противоположных сторонах мембраны растет выход ЗФ. Такой эффект наблюдается при создании диффузионной разности электрических потенциалов на мембране путем добавления солей. Также было замечено, что искусственно созданный трансмембранный градиент протонов (ДрН) индуцирует всплеск флуоресценции. Такой эффект определяется изменением поверхностного электрического потенциала наружной поверхности тилакоидной мембраны при закислении среды.

Возрастание уровня ЗФ на первом этапе исследования подтверждает эти положения. В воде из различных водоемов имеются существенные различия по химическому составу. Образцы №№ 2, 6, 7, 8 имеют повышенное содержание анионов ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ) и ионов металлов. Эти особенности и явились, по нашему мнению, причиной самого быстрого роста интенсивности ЗФ.

Вторая фаза кривой – снижение уровня ЗФ может быть обусловлена уменьшением разности трансмембранного потенциала, вызванным, с одной стороны, уменьшением протонного градиента, с другой стороны, уменьшением концентрации ионов.

Стадия стабильных значений ЗФ свидетельствует о завершении адапционных процессов, ФСА микроводорослей работает в активном режиме.

Переход клетки в устойчивое состояние при резком изменении условий питания, как показывает анализ зависимостей интенсивности ЗФ, является скачкообразным процессом. При определенном пороговом воздействии клетка переходит на новый метаболический уровень, в новое дискретное функциональное состояние [2], [3].

Снижение уровня ЗФ характерно для клеток с активным процессом фотосинтеза. Происходит активация акцепторной части ФС 1 и ферментов углеродного цикла фотосинтеза.

В нашем исследовании самый короткий период адаптации наблюдался для микроводорос-

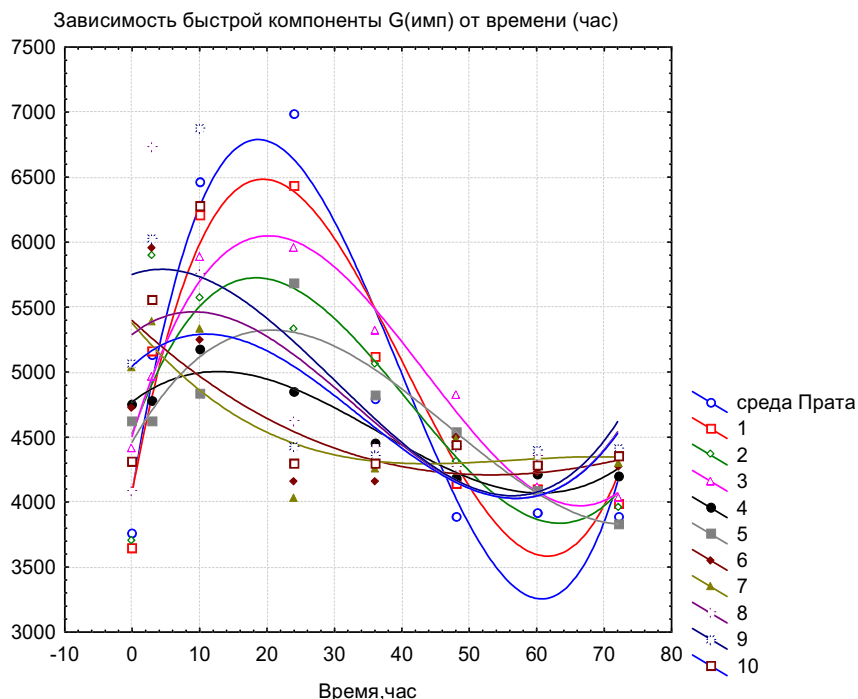


Рисунок 1. Изменение параметра G во времени

лей, растущих на воде из источников №2 (р. Донгуз), №6 (очистные сооружения), №7 (озеро Микутка), №8 (карьер Славянский).

В результате проведенного корреляционно-го анализа выявлена корреляция между  $G_{max}$  и содержанием сульфат-ионов, нитрат-ионов,

жесткостью и концентрацией ионов меди ( $r = 0,15$ ).

Таким образом, проведенное исследование подтверждает возможность применения метода регистрации замедленной флуоресценции для оценки качества природных вод.

11.09.2011

**Список литературы:**

1. Рубин А.Б. Биофизика фотосинтеза и методы экологического мониторинга // Технология живых систем. 2005. Т. 2. С. 47–68.
2. Веселовский В.А., Веселова Т.В. Люминесценция растений. М.: Наука, 1990.
3. Маторин Д.Н., Венедиктов П.С., Рубин А.Б. Использование люминесцентных методов для исследования состояния фотосинтетического аппарата и его реакции на воздействие факторов внешней среды // Проблемы экологического мониторинга и моделирования экосистем, том VIII. -Л.: Гидрометеиздат, 1985.- 280 с.
4. Руководство по определению методом биотестирования токсичности вод, донных отложений, загрязняющих веществ и буровых растворов. Министерство природных ресурсов РФ РЭФИА. НИА. М.: Природа, 2002. 117с.

Сведения об авторах:

**Кушнарева Ольга Павловна**, ст. преподаватель кафедры химии  
Оренбургского государственного университета  
**Ефремов Игорь Владимирович**, зав. кафедрой БЖД  
Оренбургского государственного университета, д.б.н.  
**Перекрестова Елена Николаевна**, преподаватель кафедры химии  
Оренбургского государственного университета  
460018, г. Оренбург, пр-т Победы, 13

**UDC 556.51:582.26/27**

**Kushnareva O.P., Ephremov I.V., Perekrestova E.N.**

Orenburg state university, e-mail: olga8-11@yandex.ru

**APPLICATION OF THE METHOD OF REGISTRATION DELAYED CHLOROPHYLL FLUORESCENCE OF ALGAE TO ASSESS THE QUALITY OF NATURAL WATERS**

In article authors offer a technique of biotesting of natural waters on the basis of registration of the slowed down fluorescence of a chlorophyll of microseaweed. Results of application of this technique for various reservoirs are resulted. Theoretical positions about mechanisms of the slowed down fluorescence for the analysis of the received curves are used. Correlation dependences between parameters of the slowed down fluorescence and a chemical compound of natural waters are established.

Key words: the microseaweed, the slowed down fluorescence, photosynthesis, natural waters, biotesting.

**Bibliography:**

1. Rubin A.B. Biophysics's of photosynthesis and ecological monitoring methods//Technology of live systems. 2005. T. 2. With. 47–68.
2. Veselovsky V. A., Veselova T.V. Luminescence of plants. M: the Science, 1990.
3. Matorin V.N., Venediktov P. S, Rubin A.B. Usage of luminescent methods for research of a condition of the photosynthetic device and its reaction to influence of factors of environment//Problems of ecological monitoring and modeling of ecosystems, VIII. – L.: Hidrometeoizdat, 1985.280 with.
4. A management by definition by a method of biotesting of toxicity of waters, the ground adjournment, polluting substances and chisel solutions. The ministry of natural resources of Russian Federation . M: the Nature, 2002. 117p.