



6. Bratkov V.V., Salpagarov D.S. Landscapes of the Northwest and the Northeast Caucasus. M: Ilekxa, 2001. 256 p.
7. Idrisova R.A. Landscapes of the Chechen Republic: spatial structure and features anthropogenic modification. The author's abstract of the dissertation ... candidate of geographical sciences. Nalchik, 2009. 24 p.
8. Kolomyts E.G. Ecotone as object of natural-geographical researches // Bulletin of AS of the USSR. Series. Geogr. 1988. № 5. Pp. 24-36.
9. Maksyutov F.A. Landscapes of foothills. Ufa: Publishing house of Bashkirsk. Un-ty, 1980. 76 p.
10. Nikolaev V.A. Landscape ecotones // Bulletin of the Moscow University. Series 5. Geography. 2003. № 6. Pp. 3-9.
11. Pajzullaeva G.P., Ataev Z.V. Natural potential of lowland-foothill landscapes of Dagestan // Bulletin of the Dagestan State Pedagogical University. Natural and exact sciences. 2011. № 3. Pp. 96-98.

Работа выполнена при финансировании по Тематическому плану Министерства образования и науки Российской Федерации (Госконтракт № 5.4818.2011).

УДК 551.467.7

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА «а» ДЛЯ БИОТЕСТИРОВАНИЯ ВОДНОЙ СРЕДЫ

© 2012 В.А.Осипов¹, Г.М.Абдурахманов,² А.А. Гаджиев², Л.Б. Братковская¹, Б.К.Заядан³

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,

²Дагестанский Государственный Университет

³КАЗНУ имени АЛЬ-ФАРАБИ, г. Алматы, Казахстан

Изучено влияние на морские водоросли *Thalassiosira weissflogii*, *Pseudo-nitzschia delicatissima* сульфата меди, хлорида ртути, метилртути. Обнаружено резкое усиление чувствительности ФС 2 культур микроводорослей и природного фитопланктона к солям тяжелых металлов в условиях светового стресса, что связано с ингибированием белок синтетических реакций. Сделаны выводы о перспективе использования флуоресценции хлорофилла для биотестирования.

The impact on marine algae *Thalassiosira weissflogii*, *Pseudo-nitzschia delicatissima* of copper sulfate, chloride of mercury, methylmercury were studied. Found a sharp increase sensitivity FS 2 of microalgae cultures and natural phytoplankton to salts of heavy metals in the conditions of the light of the stress that is associated with inhibition of protein synthetic reactions. Conclusions are made about the prospects of the use of fluorescence of chlorophyll "a" for biotesting.

Ключевые слова: *thalassiosira weissflogii*, *pseudo-nitzschia delicatissima*, фитопланктон, флуоресценция хлорофилла, фотосинтез, биотестирование, экология

Keywords: phytoplankton, chlorophyll fluorescence, photosynthesis, biotesting, ecology

Аббревиатура:

ФС 2 – фотосистема 2; E (ФАР) – фотосинтетически активная радиация, освещенность ($\text{мкЕ}/(\text{м}^2 \text{ с})$); F_0 , F_m – фоновая и максимальная флуоресценция адаптированных к темноте клеток; F_v/F_m – максимальный квантовый выход ФС 2, где $F_v = F_m - F_0$; NPQ – нефотохимическое тушение флуоресценции; F_m' – максимальная флуоресценция клеток на свету; ФИ – фотоингибирование;

На долю водорослей приходится почти половина фотосинтетической биологической продукции Земли. В водных экосистемах фитопланктон (планктонные микроводоросли) является одним из главным источником органического вещества. Поэтому для характеристики состояния водной среды необходимо определять обилие и состояние природного фитопланктона. Количество водорослей обычно оценивают по содержанию в них хлорофилла *a* спектрофотометрическим методом. Более оперативным и чувствительным для решения этой задачи являются измерения интенсивности флуоресценции водорослей в природной воде. Флуоресцентный метод оценки концентрации хлорофилла и, соответственно, обилия водорослей нашел широкое применение в экологии и гидробиологии как при работе с интактными водорослями, так и с экстрагированными из них растворами пигментов.

Эти методы обладают высокой чувствительностью, производительностью, точностью и позволяют проводить измерения *in situ* в режиме реального времени, что очень важно для решения экологических проблем, а также в биотехнологических работах для оценки работы фотосинтетического аппарата водорослей при культивировании в разных условиях. Основа флуоресцентных методов состоит в том, что хлорофилл, находящийся в фотосинтетических мембранах, служит природным инди-



катором состояния клеток растений. При нарушении состояния клеток под воздействием неблагоприятных условий происходят изменения флуоресценции хлорофилла, которые и служат источником информации [21].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследований служили культуры морских водорослей *Thalassiosira weissflogii*, *Pseudo-nitzschia delicatissima*. Культивирование морских микроводорослей осуществляли в накопительном режиме на среде *f/2 medium*, приготовленной на искусственной морской воде [6,7] в колбах объемом 300 мл при постоянной температуре 20°C и периодическом освещении 30 мкЕ/(м²с) в области ФАР люминесцентными лампами дневного света. Продолжительность светового периода составляла 14 ч, темнового - 10 ч.

Измерение параметров флуоресценции хлорофилла в культурах водорослей проводили на бортовом импульсном флуориметре, созданном на кафедре биофизики Биологического ф-та МГУ, аналогичном по принципу действия флуориметрам PAM («Walz», Германия), но способном к измерению сильно разбавленных суспензий микроводорослей. Длительность импульсов тестирующего света возбуждения флуоресценции равнялась 4 мкс. При измерении величины F_0 интервал следования тестирующих импульсов был выбран равным 80 мс, а при измерении F_m – 5 мс на фоне секундного мощного освещения. Средняя плотность мощности возбуждающего света при измерении F_0 и F_m равнялась 0,4 и 3000 Вт/м², соответственно, (где F_0 – интенсивность флуоресценции хлорофилла, измеренная при открытых реакционных центрах ФС 2, F_m – интенсивность флуоресценции хлорофилла при закрытых реакционных центрах). Для определения коэффициента нефотохимического тушения у водорослей, предварительно адаптированных к разным условиям освещения, проводились измерения быстрых изменений показателя флуоресценции хлорофилла водорослей под действием постоянного света плотностью 100 мкЕ/(м²с). в течение 10 мин, измеряя показатели флуоресценции хлорофилла в процессе и в течение 10 мин после окончания облучения. Коэффициент нефотохимического тушения вычисляли по формуле $NPQ = F_m/F_m - 1$ (где F_m – интенсивность флуоресценции хлорофилла во время насыщающей вспышки, созданной на фоне постоянно действующего света) [12,13].

Микроводоросли являются главными продуцентами в водоемах и своеобразными экологическими мишенями для различных антропогенных загрязнений, часто поступающих в водные экосистемы [3]. Кроме того водоросли рекомендованы как один из основных объектов биотестирования [4]. При биотестировании необходим выбор наиболее чувствительных процессов в организмах по реагированию на токсическое воздействие [25]. Для водорослей – это прежде всего фотосинтез. Преимуществом использования фотосинтеза в качестве тест-функции обусловлено высокой его чувствительностью к действию многих загрязнений и возможностью применения в биомониторинге методов измерения флуоресценции хлорофилла [5,14,22,23,24,25,26,27]. Основой флуоресцентных методов является то, что хлорофилл, находящийся в фотосинтетических мембранах, служит своего рода природным датчиком состояния клеток водорослей [8]. Измерение соотношения интенсивности флуоресценции хлорофилла при насыщающем фотосинтез возбуждающем свете (F_m) и условиях, не вызывающих изменений состояния фотосинтетического аппарата (F_0), позволяет определить эффективность первичных процессов фотосинтеза, которая равна $(F_m - F_0)/F_m = F_v/F_m$. В последнее время при работе с листьями и культурами водорослей активно развиваются методы быстрого измерения световых зависимостей (световых кривых) различных параметров флуоресценции, отражающих развитие фотохимического и нефотохимического тушения на свету, что позволяет регистрировать изменения в работе фотосинтетического аппарата на свету при действии факторов среды [1,10].

Важным преимуществом флуоресцентных методов является их экспрессность и высокая чувствительность, что позволяет быстро диагностировать состояние клеток микроводорослей под действием токсикантов не только в культурах, но и на природном фитопланктоне непосредственно в среде их обитания *in situ* в режиме реального времени (Herlory *et.al.*, 2007). Оперативность измерений показателей флуоресценции имеет особое значение для раннего обнаружения появления поллютантов в среде [5].

Численность клеток используемых культур водорослей определяли методом прямого счета в камере Горяева при трехкратном заполнении. Для фотоингибирования фотосинтеза клетки водорослей освещали светом от галогеновой лампы КГМ 150/24. Облучение проводили в кварцевой кювете объемом 5 мл толщиной 6 мм, термостатированной в водяном термостате при 20°C. Плотность потока квантов в области ФАР проводили с помощью квантометра фирмы Walz (Германия).



Токсикологические эксперименты проводили на двухканальном анализаторе квантового выхода флуоресценции хлорофилла ToxY-PAM предназначенном для биотестирования водной среды с высокой точностью в пробе [13]. В этих экспериментах использовали соли меди ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) и соли ртути (HgCl_2 и MeHg). Препарат метилртуть хлорида применяли в виде конъюгата с L-цистеином по методике, описанной в работе Hirayama (1985) [9], для обеспечения его активного транспорта внутрь клеток. использовали в виде раствора в 0,1 М.

Статистическая обработка, корреляционный анализ полученных результатов проводили с помощью пакета программ *Origin*.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Свет определяет интенсивность фотосинтеза, рост и развитие водорослей. В тоже время повышенная интенсивность света может приводить к фотоингибированию (ФИ), вызывать фотоокислительную деструкцию фотосинтетических пигментов и даже гибель организма [19].

При переносе микроводорослей из темноты на свет наблюдается сложный переходный процесс изменения характеристик фотосинтетического аппарата, изученный в ряде работ [17,18]. Это проявляется в сложных индукционных кривых флуоресценции. Индукционная кривая флуоресценции водорослей после включения света в интервале от мсек до минут имеет несколько фаз, последовательно отражающих включение электронного транспорта, заполнения пула переносчиков между фотосистемами, наработку электрохимического градиента и включение ферментов цикла Кальвина, увеличение потребления продуктов световой стадии в темновых реакциях и установление стационарного состояния процессов.

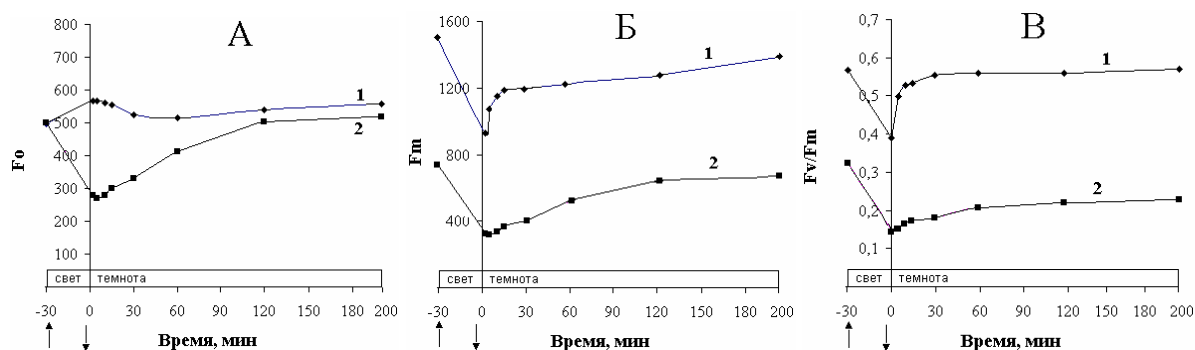


Рис. 1. Изменение параметров флуоресценции F_0 (А), F_m (Б) и F_v/F_m (В) при 30 минутном фотоингибировании светом $1100 \text{ мкЕ}/(\text{м}^2\text{с})$ и последующем восстановлении в темноте. Культура *T.weissflogii*, выросшая в нормальных условиях (1) и при дефиците азота (2). Стрелками вверх и вниз отмечены моменты включения и выключения света, соответственно.

Процессы, рассмотренные выше, происходят в интервале нескольких минут. Однако, при действии повышенных интенсивностей света могут развиваться более длительные и глубокие перестройки фотосинтетического аппарата, которые отражают развитие процесса ФИ фотосинтеза и включение защитных процессов безизлучательной диссипации избыточной световой энергии [1]. На культуре диатомовых водорослей *Thalassiosira weissflogii* было исследовано влияние света высокой интенсивности ($1100 \text{ мкЕ}/(\text{м}^2\text{с})$) на параметры быстрой флуоресценции и процессы восстановления их после выключения света (Рис. 1). Действие света, по интенсивности близкому к солнечному, приводило к ингибированию F_v/F_m , свидетельствующему об уменьшении активности реакционных центров (РЦ) [2]. У культуры, выросшей в нормальных условиях наблюдалось уменьшение F_v/F_m до 0,4. У культур, выросших в условиях дефицита азота исходная активность была понижена и составляла 0,3. После экспозиции на свету это значение снижалось еще ниже. Анализ изменения параметров быстрой флуоресценции, таких как F_0 и F_m при ФИ показал, что у нормальных культур 30 минутное облучение вызывало небольшое увеличение F_0 и значительное снижение F_m , что и приводило к снижению значения F_v/F_m . У культур в условиях дефицита азота наблюдается снижение не только F_m , но и F_0 . Таким образом ответная реакция водорослей на избыточное освещение в оптимальных и неблагоприятных условиях культивирования (дефицит азота) по разному проявляется в изменении параметра быстрой флуоресценции F_0 .



После выключения света развиваются процессы восстановления фотосинтетической активности, что отражается на параметрах флуоресценции. На кривой восстановления после ФИ выделяют быстрые и более медленные компоненты восстановления параметров быстрой флуоресценции (Рис. 1). Восстановление F_v/F_m после ФИ у культур, выросших в оптимальных условиях, происходило через 40 минут темновой адаптации. При нехватке биогенных элементов происходит более медленное и неполное восстановление активности F_v/F_m . Это указывает на наличие процессов необратимого повреждения РЦ ФС2 и неспособности клеток восстановиться после ФИ интенсивным светом. В кинетике темнового восстановления F_v/F_m отсутствовала быстрая фаза репарации.

Увеличение времени освещения от 30 до 60 мин приводило к более сильному ФИ и изменению параметров флуоресценции. После 60 минутного освещения активность фотосинтеза по F_v/F_m клеток с дефицитом азота сильно ингибировалась с 0,34 до 0,02, что характерно для клеток с глубокими повреждениями пигмент-белковых комплексов ФС 2. После темновой адаптации эти клетки не восстанавливались до исходного значения по всем показателям флуоресценции.

В исследованиях адаптации фотосинтеза водорослей, связанной с развитием нефотохимического тушения при действии света нами было предложено определять коэффициент тушения на импульсном флуориметре при дополнительном освещении постоянным светом 100 мкЕ/(м²с). Такой свет неспособен вызвать необратимых повреждений ФСА, но превышает по своей интенсивности свет при выращивании культур. На этом свету хорошо проявляются быстрые адаптационные возможности водорослей, связанные с тушением избыточной световой энергии. Коэффициент нефотохимического тушения вычисляли по формуле $NPQ = F_m/F_m' - 1$.

С использованием ингибиторного анализа исследован вклад разных компонентов нефотохимического тушения возбужденных состояний хлорофилла на параметры флуоресценции *T. weissflogii* при фотоингибировании. Показано, что при действии ингибитора дезоксидазы каротиноидов диадинксантинового цикла ДТТ, разобщителя FCCP, происходит снятие нефотохимического тушения, усиление процесса ФИ и появление необратимых фаз повреждения клеток при повышенных освещенностях. На природном фитопланктоне Черного моря нами было показано, что ингибитор синтеза белка – хлорамфеникол замедляет процессы репарации, по-видимому, действуя на белоксинтетические процессы у фотоингибированного природного фитопланктона (данные не приведены).

В лабораторных условиях нами были рассмотрены влияние загрязнений солями ртути и меди на параметры флуоресценции водорослей.

Одним из распространенных загрязнений водной среды являются соли тяжелых металлов, которые попадая в водоемы оказывают токсическое действие на фитопланктон. Нами были проведены токсикологические исследования на культурах морских водорослей, с тремя представителями наиболее часто встречающимися и опасными солями тяжелых металлов: сульфата меди ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$), хлорида ртути ($HgCl_2$) и метилртути ($MeHg$).

Действие солей ртути на клетки *T. weissflogii* проявлялось в снижении переменной флуоресценции хлорофилла F_v/F_m . Наблюдаемое снижение величины F_v/F_m было связано в основном с уменьшением величины F_m , что характерно для процесса фотоингибирования ФС 2. Экспоненциальному снижению F_v/F_m до нулевого уровня предшествовала короткая лаг-фаза, обусловленная накоплением действующей концентрации токсиканта внутри клеток. Аналогичный эффект наблюдали при добавлении такой же концентрации $HgCl_2$, а также при действии соединений ртути в темноте.

Были определены концентрации $MeHg$ и $HgCl_2$ вызывающие снижение активности ФС 2 в клетках водорослей. Необходимо отметить, что метилртуть в концентрациях 10^{-6} М и 10^{-7} М не приводила к полной инактивации ФС 2. Так, при действии 10^{-6} М $MeHg$ величина F_v/F_m снизилась в течение нескольких суток от 0.62 до 0.08 и стабилизировалась на этом уровне. Проведенный в этих условиях предварительный микрофлуориметрический анализ показал, что небольшая часть клеток сохранила высокую активность ФС 2, в то время как у остальных клеток центры ФС 2 были либо полностью инактивированы, либо обладали остаточной активностью. Присутствие в культуре фотосинтетически активных клеток может свидетельствовать об их резистентности в целом к действию токсиканта и их возможном участии в дальнейшем развитии популяции. Действительно, при действии 10^{-7} М $MeHg$ отношение F_v/F_m сначала медленно уменьшилось с 0.62 до 0.15, после чего постепенно в течение нескольких суток возросло до 0.40, что может быть результатом частичной адаптации водорослей к неблагоприятному воздействию [16]. Полученный микрофлуориметрическим методом результат согласуется с предположением, согласно которому гидробионты могут приспосабливаться к дей-

ствию тяжелых металлов путем сохранения уже имеющихся резистентных особей и элиминации слабоустойчивой части популяции (Флеров, 1971).

Фотоингибирование фотосинтеза, связанное с развитием фотоокислительного стресса в клетках, подвергнутых интенсивному освещению, может усиливаться при действии неблагоприятных факторов различной природы, в том числе при токсическом воздействии [11,19]. Глубокое фотоингибирование фотосинтеза связано в основном с фотоокислением D1-белка РЦ ФС2. Восстановление активности ФС 2 сопровождается ресинтезом этого белка в хлоропласте [2]. Очевидно, что концентрация активных центров ФС 2 в клетках зависит от соотношения скоростей ее фотоокислительной деградации и репарации, которые могут быть определены по снижению величины F_v/F_m на интенсивном свете и ее последующей релаксации в темноте, соответственно.

Как упоминалось выше, в темноте хлорид ртути в концентрации 10^{-6} М не влиял на активность ФС 2 в клетках *T. weissflogii*, а метилртуть начинала подавлять активность центров ФС 2 только через несколько суток. Однако при инкубации клеток в условиях повышенной освещенности действие солей ртути на активность ФС 2 проявлялось уже через несколько часов. На рис. 2 показаны изменения величины F_v/F_m в культуре при повышенной освещенности ($220 \text{ мкЕ}/(\text{м}^2 \cdot \text{с})$) и последующей темновой экспозиции клеток. Как видно из рисунка, в обработанных ртутью образцах значительно замедлялась скорость темнового восстановления величины F_v/F_m по сравнению с образцом, подвергнутым интенсивному освещению в отсутствие токсикантов. Этот результат свидетельствует о возможном подавлении ртутью процесса репарации фотоповрежденных центров ФС 2 в клетках водорослей.

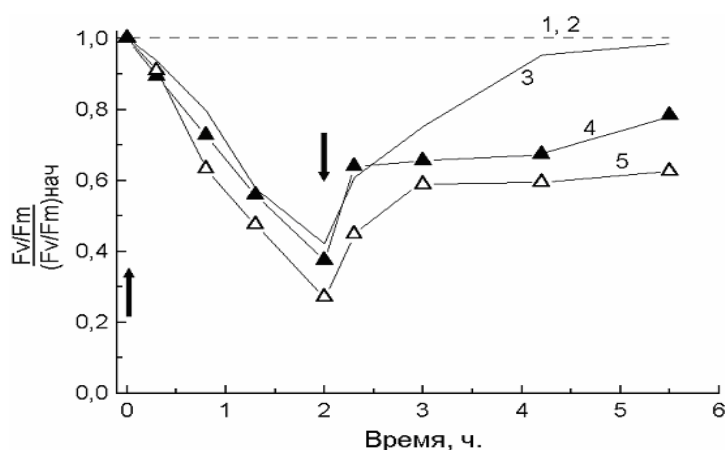


Рис. 2. Изменения величины F_v/F_m в обработанных хлоридом ртути и метилртутью клетках *T. weissflogii* при экспонировании их на свету и в последующий темновой период. 1, 2 – клетки инкубировали в присутствии 10^{-6} М HgCl_2 и MeHg , соответственно, в темноте; 3, 4, 5 – клетки инкубировали при интенсивности $220 \text{ мкЕ}/\text{м}^2 \cdot \text{с}$. Стрелками показаны моменты включения и выключения света. 3 – образец, не содержащий солей ртути, 4 – в присутствии 10^{-6} М HgCl_2 , и 5 – в присутствии 10^{-6} М MeHg .

Интенсивный свет включали через 20 мин после добавления солей ртути. Концентрация клеток в суспензии составляла $600 \text{ тыс. кл мл}^{-1}$.

Как известно, величину нефотохимического тушения флуоресценции q_N , связанного с фотосинтетической энергизацией мембран при действии света, можно оценить методом РАМ [12]. Было показано также с использованием метода РАМ, что хлорид ртути 10^{-6} М и метилртуть 10^{-6} М увеличивали нефотохимическое тушение флуоресценции на свету за счет увеличения вклада энергизационного компонента внутритилакоидного рН вследствие нарушения процессов фосфорилирования в присутствии ртути.

Результаты проведенных исследований доказывают высокую чувствительность ФС 2 диатомовой водоросли *T. weissflogii* к действию хлорида ртути и метилртути, причем последняя обнаруживала большую токсичность при низких концентрациях. Оба вещества показали способность снижать активность ФС 2, в том числе в результате ингибирования процесса репарации фотосистемы. Последнее может играть существенную роль в снижении фотосинтетической активности клеток при действии низких концентраций ртути в условиях фотоокислительного стресса.



Феномен усиления токсического действия солей тяжелых металлов в присутствии освещения был нами также подтвержден и в опытах с сульфатом меди. Анализ кривых восстановления F_v/F_m после ФИ клеток обработанных солями меди в сублетальных концентрациях 10^{-6} - 10^{-5} М, показал, что восстановление полностью ингибировано. Это подтверждает, что при этих концентрациях меди водоросль *T.weissflogii* теряла способность восстанавливать повреждённый фотосинтетический аппарат. Добавление в этих концентрациях солей меди в темноте существенно не изменяли F_v/F_m . На свету процессы фотодеструкции и репарации протекают одновременно, и степень ингибирования фотосинтетического аппарата зависит от соотношения их скоростей [15]. Очевидно, что действие меди вызывает сдвиг баланса скоростей в сторону фотодеструкционных процессов, что приводит к снижению величины F_v/F_m .

Полученные результаты продемонстрировали, что методы регистрации флуоресценции хлорофилла могут быть использованы для обнаружения действия солей ртути и меди на водорослевые сообщества. Фотосинтетическая активность водорослей, оцениваемая по F_v/F_m , является более экспрессным параметром, чем относительная численность клеток, так как позволяет достоверно обнаруживать присутствие токсических агентов на более ранних стадиях интоксикации. Поскольку снижение F_v/F_m приводит к замедлению скорости роста водорослей, это обуславливает все большее отставание водорослей по численности в опытах по сравнению с контролем в ходе инкубирования. Обнаруженное нами резкое усиление токсикологического эффекта на свету может служить предупреждением: в случае загрязнения поверхностных вод тяжёлыми металлами даже на уровне узаконенных ПДК даже обычный дневной свет может стать активным повреждающим фактором, снижающим активность фотосинтеза фитопланктона. Как следствие снизится первичная продукция экосистемы водоемов; это неизбежно «ударит» по следующим уровням пищевой пирамиды.

Таким образом, флуоресцентные методики, и аппаратура при их комплексном использовании может служить составной частью системы экологического мониторинга состояния морских и пресноводных акваторий, в том числе для обнаружения влияния солей тяжелых металлов на природный фитопланктон в результате применения буровых растворов.

Библиографический список

1. Antal T. K., Osipov V.A., Matorin D.N. Rubin A.B. Membrane potential is involved in regulation of photosynthetic electron transport in the marine diatom *Thalassiosira weissflogii* // Journal of Photochemistry and Photobiology: Biology. 2011. Vol. 102. P. 169-173.
2. Aro E-M, Virgin I & Andersson B. Photoinhibition of Photosystem II – inactivation, protein damage and turnover // Biophysica et Biochimica Acta. 1993. V. 1143(2). P. 113-134.
3. Brack W., Frank H. // Chlorophyll a fluorescence: a tool for the investigation of toxic effects in the photosynthetic apparatus // Ecotoxicology and Environmental Safety. 1998. V. 140. N1-2. P. 34-41.
4. Dunphy Guzman K.A, Taylor M.R, Banfield J.F. // Environmental risks of nanotechnology: national nanotechnology initiative funding, 2000–2004. Environ. Sci. Technol. 2006. V. 40. P. 1401-1407.
5. Genty, B., Briantais, J.M. and Baker, N.R. // The relationship between quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. Biochim. Biophys. Acta. 1989. V. 990. P. 87-92.
6. Guillard, R.R.L. and Ryther, J.H.. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* // Cleve. Can. J. Microbiol. 1962. V. 8. P. 229-239.
7. Guillard, R.R.L. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In Smith W.L. and Chanley M.H (Eds.) Culture of Marine Invertebrate Animals. Plenum Press, New York, USA. 1975. P 26-60.
8. Herlory O., Richard P., Blanchard G. F. // Methodology of light response curves: application of chlorophyll fluorescence to microphytobenthic biofilms. Mar. Biol. 2007. V. 153. P. 91-101.
9. Hirayama, K. Effects of combined administration of thiol compounds and methylmercury chloride on mercury distribution in rats // Biochem. Pharmacol. 1985. V. 37. P. 2030-2032.
10. Jassby A.D., Platt T. // Mathematical formulation of the relationship between photosynthesis and light for phytoplankton // Limnol. Oceanogr. 1976. V. 21. P. 540-547.
11. Rhiel, E., Krupinska, K., and Wehrmeyer, W. Effects of nitrogen starvation on the function and organization of the photo-synthetic membranes in *Cryptomonas maculate* (Cryptophyceae) // Planta I. 1986. V. 69. P. 361-369.
12. Schreiber U., Bilger W., Neubauer C. Chlorophyll fluorescence as a noninvasive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis // In. Ecophysiology of Photosynthesis. E.-D. Schulze, M.M. Caldwell (eds). Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. 1995. P. 49-70.
13. Schreiber, U., Muller J.F., Haugg A., Gademann R. New type of dual-channel PAM chlorophyll fluorometer for highly sensitive water toxicity biotests // Photosynth. Res. 2002. Vol. 74. P. 317-330.
14. Shchegolkova N.M., Shashkina P.S., Matorin D.N., Osipov V.A., Rubin A.B. Application of fluorescence methods for monitoring of biotechnological processes and quality assessment of water in the Moscow river within the limits of the city // J. Water Chemis. 2012. № 1. P. 49-55.
15. Young, H.A. Frank. Energy transfer reactions involving carotenoids: quenching of chlorophyll fluorescence // Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 1996. V. 36. P. 3-15.



16. Гапочка Л.Д. Об адаптации водорослей / – М.: Изд. МГУ, 1981, 78 с.
17. Карапетян Н.В., Н.Г.Бухов. Переменная флуоресценция хлорофилла как показатель физиологического состояния растений. Физиология растений // 1986. Т. 33. Вып. 5. С. 1013-1026.
18. Кукушкин А.К., Тихонов А.Н. Лекции по биофизике фотосинтеза растений / – М.: Изд. МГУ. 1988. – 320 с.
19. Маторин Д.Н. Использование флуоресцентных методов измерения активности фотосистемы II при биомониторинге фитопланктона // Биофизика. 2000. Т. 45/3. С. 491-494.
20. МАТОРИН Д.Н., ОСИПОВ В.А., ЯКОВЛЕВА О.В., ПОГОСЯН С.И. ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОСТОЯНИЯ РАСТЕНИЙ И ВОДОРΟΣЛЕЙ ПО ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА / УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ ПОСОБИЕ. – М.: – МГУ. МАКС ПРЕСС. – 2010. – 116 С.
21. Маторин Д.Н., Осипов В.А., Яковлева О.В., Горячев С.Н., Рубин А.Б. Об использовании зависимостей параметров флуоресценции хлорофилла от освещенности для изучения фотосинтетической активности фитопланктона // Вода: химия и экология. 2011. № 4. С. 44-49.
22. Маторин Д.Н., Осипов В.А., Рубин А.Б. Методика измерений обилия и индикации изменения состояния фитопланктона в природных водах флуоресцентным методом. Теоретические и практические аспекты // Учебно-методическое пособие. – М.: «Альт-рекс». 2012. – 138 с.
23. Методика измерений обилия и индикации изменения состояния фитопланктона в природных водах флуоресцентным методом (ФР.1.39.2011.11246, ПНД Ф 14.2.268-2012) аттестована для целей государственного экологического контроля.
24. Методика измерений обилия и индикации изменения состояния фитопланктона в природных водах флуоресцентным методом. ФР.1.39.2011.11246, ПНД Ф 14.2.268, . / Маторин Д.Н и др., – М., 2012
25. Методика определения токсичности вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению уровня флуоресценции хлорофилла и численности клеток водорослей. ФР.1.39.2007.03223. / Н.С.Жмур, Т.Л. Орлова // М.: «Акварос». – 2007. – 48 с.
26. Филенко О.Ф. Методы биотестирования качества водной среды. – М.: Изд. МГУ, 1989.
27. Флеров Б.А., Лапкина Л.Н., Жмур Н.С., Яковлева И.И. Метод биотестирования сточных вод, содержащих ионы металлов по смене статического состояния на динамическое у медицинской пиявки // Методы биотестирования вод. Черноголовка. 1988. С. 114-117.

Bibliography

1. Antal T. K., Osipov V.A., Matorin D.N. Rubin A.B. Membrane potential is involved in regulation of photosynthetic electron transport in the marine diatom *Thalassiosira weissflogii* // Journal of Photochemistry and Photobiology: Biology. 2011. Vol. 102. P. 169-173.
2. Aro E-M, Virgin I & Andersson B. Photoinhibition of Photosystem II – inactivation, protein damage and turnover // Biophysica et Biochimica Acta. 1993. V. 1143(2). P. 113-134.
3. Brack W., Frank H. // Chlorophyll a fluorescence: a tool for the investigation of toxic effects in the photosynthetic apparatus // Ecotoxicology and Environmental Safety. 1998. V. 140. N1-2. P. 34-41.
4. Dunphy Guzman K.A, Taylor M.R, Banfield J.F. // Environmental risks of nanotechnology: national nanotechnology initiative funding, 2000–2004. Environ. Sci. Technol. 2006. V. 40. P. 1401-1407.
5. Genty, B., Briantais, J.M. and Baker, N.R. // The relationship between quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. Biochim. Biophys. Acta. 1989. V. 990. P. 87-92.
6. Guillard, R.R.L. and Ryther, J.H.. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* // Cleve. Can. J. Microbiol. 1962. V. 8. P. 229-239.
7. Guillard, R.R.L. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In Smith W.L. and Chanley M.H (Eds.) Culture of Marine Invertebrate Animals. Plenum Press, New York, USA. 1975. P 26-60.
8. Herlory O., Richard P., Blanchard G. F. // Methodology of light response curves: application of chlorophyll fluorescence to microphyto-benthic biofilms. Mar. Biol. 2007. V. 153. P. 91-101.
9. Hirayama, K. Effects of combined administration of thiol compounds and methylmercury chloride on mercury distribution in rats // Biochem. Pharmacol. 1985. V. 37. P. 2030-2032.
10. Jassby A.D., Platt T. // Mathematical formulation of the relationship between photosynthesis and light for phytoplankton // Limnol. Oceanogr. 1976. V. 21. P. 540-547.
11. Rhiel, E., Krupinska, K., and Wehrmeyer, W. Effects of nitrogen starvation on the function and organization of the photo-synthetic membranes in *Cryptomonas maculata* (Cryptophyceae) // Planta I. 1986. V. 69. P. 361-369.
12. Schreiber U., Bilger W., Neubauer C. Chlorophyll fluorescence as a noninvasive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis // In. Ecophysiology of Photosynthesis. E.-D. Schulze, M.M. Caldwell (eds). Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. 1995. P. 49-70.
13. Schreiber, U., Muller J.F., Haug A., Gademann R. New type of dual-channel PAM chlorophyll fluorometer for highly sensitive water toxicity biotests // Photosynth. Res. 2002. Vol. 74. P. 317-330.
14. Shchegolkova N.M., Shashkina P.S., Matorin D.N., Osipov V.A., Rubin A.B. Application of fluorescence methods for monitoring of biotechnological processes and quality assessment of water in the Moscow river within the limits of the city // J. Water Chemis. 2012. № 1. P. 49-55.
15. Gapochka L.D. On adaptation of the algae / - Moscow: Publishing house of Moscow state University, 1981, p.-78
16. Karapetyan N.V., N.G.Bukhov. Variable fluorescence of chlorophyll as an indicator of the physiological condition of plants. The physiology of plants // 1986. V. 33. Issue 5, p. -1013-1026.
17. Kukushkin A.K., Tikhonov A.N. Lectures on Biophysics of photosynthesis of plants // Moscow: Publishing house of Moscow state University, 1988, p.-320
18. Matorin D.N. Use of fluorescent methods of measuring the activity of photosystem II in biomonitoring of phytoplankton / / Biophysics. 2000. V. 45/3. p.-491-494.
19. МАТОРИН Д.Н., ОСИПОВ В.А., ЯКОВЛЕВА О.В., ПОГОСЯН С.И. DETERMINATION OF THE STATUS OF PLANTS AND ALGAE ON CHLOROPHYLL FLUORESCENCE / / EDUCATIONAL-METHODICAL MANUAL. - М.: - MOSCOW STATE UNIVERSITY. MAKS



PRESS. - 2010. P.-116.

20. Matorin D.N., Osipov V.A., Yakovleva O.V., Goryachev S.N., Rubin A.B. About the use of the dependences of the parameters of the chlorophyll fluorescence from the lighting for the study of photosynthetic activity of phytoplankton // Water: chemistry and ecology. 2011. № 4. p.- 44-49.
21. Matorin D.N., Osipov V.A., Rubin A.B. Methods of measuring the abundance and indicating changes of phytoplankton's condition in natural waters by fluorescence method. Theoretical and practical aspects // Training Manual. - M.: "Altreds." In 2012. p.-138
22. Methods of measuring the abundance and indicating changes of phytoplankton's condition in natural waters by fluorescence method (FR.1.39.2011.11246, PND F 14.2.268-2012) was certified for the purposes of state environmental control.
23. Methods of measuring the abundance and indicating changes of phytoplankton's condition in natural waters by fluorescence method (FR.1.39.2011.11246, PND F 14.2.268-2012) was certified for the purposes of state environmental control.// Matorin N.A etc., - M., 2012
24. Methods of determining the toxicity of water, aqueous extracts from soils, sewage sludge and waste by changing the level of chlorophyll fluorescence and the number of algal cells. FR.1.39.2007.03223. / N.S.Zhmur, T.L. Orlova // M.: "Akvaros." - 2007. p.- 48.
25. Filenko O.F. Methods of biotesting of the quality of the aquatic environment. - M.: Moscow state University, 1989.
26. Flerov B.A., Lapkina L.N., Zhmur N.S., Yakovleva I.I. Method of biotesting of waste water containing metal ions on the change of the static state of medical leech // Methods of biotesting water. Chernogolovka. 1988., p.-114-117.

УДК 551.464.7(470.67)

СОДЕРЖАНИЕ ХЛОРОФИЛЛА-А В ОЗЕРАХ ПРИМОРСКОЙ НИЗМЕННОСТИ ДАГЕСТАНА И ИХ ТРОФИЧЕСКИЙ СТАТУС

© 2012 **М.М. Расулова, А.А.Гаджиев, А.А.Рабданова**
Дагестанский государственный университет

Эвтрофирование водоемов, особенно малых, стало повсеместной проблемой. В связи с этим усилия специалистов все больше направлены на поиск методов контроля, прогноза и борьбы с этим нежелательным и опасным процессом. Один из методов оценки уровня трофии основан на определении содержания хлорофилла-а, который был использован при комплексных исследованиях экологического состояния и трофического статуса водоемов Приморской низменности Дагестана.

Eutrophication of water bodies, especially small, has become a ubiquitous problem. In this connection the efforts of the experts is increasingly aimed at the search for the methods of monitoring, prediction and control of this undesirable and dangerous process. One of the methods to assess the level trophic status is based on the determination of the content of chlorophyll-a, which was used in integrated studies of the ecological status, and trophic status of the water bodies of the Coastal plain of Dagestan.

Ключевые слова: озера, эвтрофирование, хлорофилл-а, трофический статус

Keywords: lakes, eutrophication, chlorophyll-a, trophic status

Эвтрофирование водоемов, особенно малых, стало повсеместной проблемой. Трофический статус водоема отражает его экологическое состояние. Поступление избыточного количества биогенных веществ в результате антропогенного загрязнения приводит к существенным изменениям в экосистемах малых водоемов и ускорению сукцессионных процессов.

К озерам Приморской низменности относятся: Ак-Гель, Большое и Малое Турали, Аджи. Все они имеют огромное значение для жизни республики вследствие высокой рекреационной и рыбохозяйственной ценности. Еще в недавнем прошлом большинство из них использовались для разведения промысловых видов рыб.

В результате понижения уровня Каспийского моря воды перестали поступать в озеро Ак-Гель, и оно стало высыхать. Впоследствии озеро было восстановлено путем дноуглубительных работ и вследствие повышения уровня грунтовых вод в результате современной трансгрессии моря. С рыбохозяйственной точки зрения на сегодняшний день озеро является водоемом общего пользования, в котором осуществляется любительский лов рыбы. Здесь обитают в основном мелкие, малоценные виды рыб – укляя, карась, красноперка.

Озеро Большое Турали некоторое время использовалось в качестве нагульного водоема для выращивания сазана, карпа, толстолобика. Здесь создается нагульное рыбное хозяйство для выращивания карпа и толстолобика (Сайпулаев, Эльдаров, 1996).

Озеро Аджи является одним из наиболее ценных на западном побережье Каспийского моря мест гнездования, остановок на пролете и зимовки как водно-болотных, так и пустынно-степных ви-