



ЭКОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

УДК 574.64:58.1

ЗАВИСИМОСТЬ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ ПАРАМЕТРОВ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ КАСПИЯ ОТ АНТРОПОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

© 2008. Алиева М.Ю., Маммаев А.Т., Магомедова М.Х.-М.
Прикаспийский институт биологических ресурсов ДНЦ РАН

Антропогенное загрязнение становится существенным фактором, снижающим фотосинтетическую продуктивность микроводорослей Каспийского моря. Методы регистрации флуоресценции хлорофилла могут быть использованы для обнаружения токсического действия тяжелых металлов на микроводоросли.

Anthropogenic pollution becomes the essential factor, reducing photosynthetic efficiency of microalgae of Caspian sea. Methods of registration of chlorophyll fluorescence can be used for detection of toxic action of heavy metals on microalgae.

Фитопланктон является базовым звеном водных экосистем, определяет их состояние и продуктивность. При действии различных экологических факторов и антропогенных загрязнений в первую очередь изменяются фотосинтетическая активность и численность клеток водорослей. Изменения фотосинтеза фитопланктона приводят к изменениям в остальных звеньях водной экосистемы. В настоящее время нет водоемов не подверженных антропогенному загрязнению. Каспийское море не является исключением. Источниками загрязнения являются речные стоки и сброс сточных вод от предприятий и населенных пунктов, расположенных на побережье. Все более существенным экологическим фактором, снижающим фотосинтетическую продуктивность микроводорослей природных водоемов, в современных условиях, становится антропогенное загрязнение [2, 4]. Одним из наиболее фототоксичных агентов, ингибирующих фотосинтез, среди тяжелых металлов, поступающих в окружающую среду с промышленными и сельскохозяйственными стоками, является медь [3]. Этот фактор антропогенного воздействия на экосистему бассейна реки Самур и Дагестанской части Каспия приобретает особую актуальность в связи с предполагаемым началом разработки медно колчеданного месторождения в южном Дагестане.

Чувствительность ФС 2 культур микроводорослей и природного фитопланктона к солям тяжелых металлов (сульфат меди, хлорид ртути, метилртуть) резко усиливается в условиях светового стресса, что связано с необратимым ингибированием ресинтеза D1-белка. Медь в хлоропластах блокирует транспорт электронов на разных участках электронтранспортной цепи [6]. Инактивация реакционных центров (РЦ) ФС II происходит в результате повреждений вызванных медью. Медь также может ингибировать реакции фиксации CO_2 и другие биохимические процессы, происходящие в клетке [7]. Ингибирование выхода фотосинтетической продукции у большинства водорослей вызывают концентрации меди в пределах 1-30 мкг/л [2, 3]. Изучение механизма действия низких концентраций меди на фотосинтез микроводорослей представляет особый экологический интерес.

Для экологии водных экосистем чрезвычайно важным является выяснение условий, способствующих развитию токсикологического эффекта. Показано, что свет может усиливать действие неблагоприятных факторов различной природы (в том числе и действие токсикантов), вызывая фотоингибиро-



вание приводящее к инактивации РЦ ФС II и оказывающее существенное влияние на интенсивность процессов первичного продуцирования в водоемах [4]. 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. В данной работе исследован механизм влияния светового фактора на процессы ингибирования фотосинтеза у водорослей при действии низких концентраций меди.

В работе исследовали микроводоросли прибрежной полосы Каспия. Пробы отбирались в районе Махачкалинского порта. Для проведения токсикологических экспериментов водоросли, осажженные центрифугированием, ресуспендировали в 10% среде Тамия, не содержащей фосфатов и ЭДТА, которые могут связывать соли тяжелых металлов, и затем, после добавления CuSO_4 , инкубировали при различной освещенности и температуре 30°C [6]. Расчет концентрации токсиканта производили по катионам. Флуоресценцию регистрировали при помощи импульсного флуориметра собственной конструкции. Интенсивность постоянной флуоресценции (F_0) измеряли при освещении образцов слабыми импульсами света. Интенсивность максимальной флуоресценции (F_m) измеряли аналогичным образом, но при дополнительном освещении образцов действующим светом в присутствии 10^{-5} М диурона [6]. Относительный выход переменной флуоресценции F_v рассчитывали как F_v/F_m , где $F_v = F_m - F_0$. Определение константы скорости фотоингибирования ФС II (K_i) и константы скорости реактивации ФС II (K_r) производили по [4]. Опыты выполняли в 4-х биологических повторностях.

В оптимальных условиях (освещенность 30 Вт/м², температура 30°C) величина F_v/F_m была равна 0,82 – 0,81. Добавление меди в концентрации 50 мкг/л и выше приводило к полной инактивации ФС II уже через 3 - 4 ч ($F_v/F_m \sim 0$, рис. 1). При этом наблюдали быстрое снижение максимального выхода флуоресценции F_m до уровня постоянной флуоресценции F_0 и постепенное уменьшение F_0 , обусловленное гибелью водорослей и фотодеструкцией хлорофилла [6].

Добавление меньших концентраций меди (5-25 мкг/л) вызывало быстрое снижение F_v/F_m до некоторого нового стационарного уровня, отличного от нуля. Снижение отношения F_v/F_m происходило, главным образом, за счет уменьшения F_m и некоторого роста выхода F_0 (не более 15% от исходного уровня). В дальнейшем величина F_v/F_m оставалась некоторое время на постоянном уровне и затем начинала постепенно восстанавливаться до исходного значения. Длительность стационарной фазы и степень снижения F_v/F_m , а также продолжительность стадии восстановления увеличивались с повышением концентрации меди.

Степень снижения F_v/F_m в стационарной фазе зависела не только от концентрации меди, но и от интенсивности освещения водорослей в ходе эксперимента. В темноте и на слабом свете (1 Вт/м²) пороговые концентрации меди (5-25 мкг/л) существенно не изменяли F_v/F_m на протяжении 4 ч инкубирования (рис. 2). Уменьшение выхода F_v в темновых условиях наблюдали лишь при концентрации меди 50 мкг/л и выше. С увеличением освещенности до 30 Вт/м² степень снижения F_v/F_m в присутствии меди возрастала пропорционально интенсивности освещения.

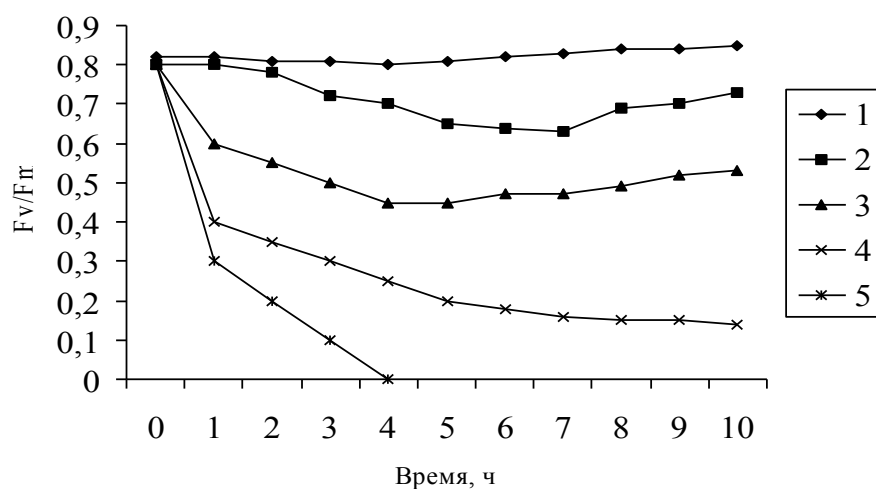


Рис. 1. Влияние Cu^{2+} в концентрации К(1), 10(2), 20(3), 40(4), 60(5) мкг/л на изменения переменной флуоресценции F_v/F_m микроводорослей Каспия при освещении 30 Вт/м².

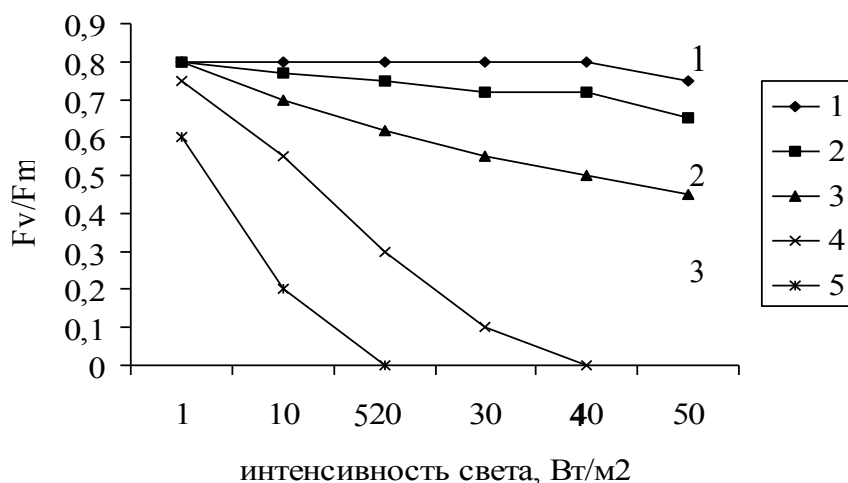


Рис. 2. Влияние интенсивности освещения на выход переменной флуоресценции (F_v/F_m) микроводорослей Каспия при добавлении 0(1), 10(2), 20(3), 40(4), 60(5) мкг/л Cu^{2+}

Таким образом, действие меди на ФС II в диапазоне концентраций (5-50 мкг/л) отчетливо проявлялось только при наличии света. Возможно, что инактивация ФС II при действии низких концентраций меди связана с фотоингибированием ослабленных токсикантом микроводорослей. Феномен усиления токсического действия солей тяжелых металлов в присутствии освещения был также подтвержден и в опытах с *T.weissflogii* при действии сульфата меди [2]. 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. Очевидно, что действие меди вызывает сдвиг баланса скоростей в сторону фотодеструкционных процессов, что приводит к снижению величины F_v/F_m .

Рассмотренные на примере меди особенности действия пороговых концентраций тяжелых металлов на первичные стадии фотосинтеза могут лежать в основе процессов, приводящих к снижению интенсивности первичного продуцирования в водных экосистемах, подверженных антропогенному загрязнению. Основной причиной, приводящей к увеличению на свету доли неактивных РЦ ФС II, является замедление репарационных процессов, связанных, по-видимому, с ресинтезом D₁-белка. Это предположение подтверждается фактом увеличения чувствительности водорослей к токсикантам при действии пониженных температур, при которых происходит дополнительное замедление скорости белкового синтеза [5]. Так как синтез белка в клетке зависит от протекания большого количества биохимических реакций, то очевидно, что самые разные нарушения нормального метаболизма водорослей могут в конечном итоге вызывать уменьшение фотосинтетической активности вследствие фотоингибирования ФС II. Полученные результаты продемонстрировали, что методы регистрации флуоресценции хлорофилла могут быть использованы для обнаружения действия солей тяжелых металлов на водорослевые сообщества и, что 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 резкое усиление токсикологического эффекта на свету может служить предупреждением: в случае загрязнения поверхностных вод тяжёлыми металлами на уровне ПДК даже обычный дневной свет может стать активным повреждающим фактором, снижающим активность фотосинтеза фитопланктона. Как следствие снизится первичная продукция экосистемы водоемов, что неизбежно отразится на следующих этапах трофической цепочки.

Библиографический список

1. Никаноров А.М., Жулидов А.В. Биомониторинг металлов в пресноводных экосистемах. – Л.: Гидрометеопиздат, 1991. – 312 с.
2. Осипов В.А. Зависимость флуоресцентных параметров микроводорослей от фактора среды, включая антропогенные загрязнения. Автореф. канд. дисс. – М., 2006. – 21 с.
3. Патин С.А. Влияние загрязнения на биологические ресурсы и продуктивность Мирового океана. – М.: Пищевая промышленность, 1979. – 303 с.
4. Польшов В.А., Венедиктов П.С. Исследование качества воды реки Москва в черте города с использованием флуоресцентных методов // Биол. науки. 1992. № 6. – С. 52.
5. Польшов В.А., Венедиктов П.С., Маторин Д.Н. Использование светового и температурного стрессов для повышения чувствительности биотестов, основанных на флуоресценции микроводорослей // Водные ресурсы. 1992. № 6. – С. 74.
6. Польшов В.А., Маторин Д.Н., Вавилин Д. В. Венедиктов П.С. Действие низких концентраций меди на фотоингибирование фотосистемы II у *Chlorella vulgaris* (Beijer) // Физиология растений. 1993. том 40. № 5. – С. 754-759.
7. Samson G., Morissette J.-C., Popovic R. Copper Quenching of the Variable Fluorescence in *Dunaliella tertiolecta*. New Evidence for a Copper Inhibition Effect on PS II Photochemistry // Photochem. Photobiol. 1988. V. 48. – P. 329.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (06-04-96634).

УДК 546.791:631.4

СОДЕРЖАНИЕ УРАНА И ТОРИЯ В ДОМИНИРУЮЩИХ ВИДАХ РАСТЕНИЙ ЦЕНТРАЛЬНОГО КАВКАЗА

© 2008. **Асварова Т.А.**

Прикаспийский институт биологических ресурсов ДНЦ РАН

Результаты исследований показали, что различие в содержании урана и тория в растениях Большого Кавказа зависит от вида растений, от типа пород, от типа почв, их физико-хими-