

УДК 581.132

## ФЛУОРЕСЦЕНЦИЯ ХЛОРОФИЛЛА ФИТОПЛАНКТОНА РЕКИ МОСКВА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ИОНОВ РТУТИ

© 2021 г. Ф.Ф. Протопопов\*, Д.А. Тодоренко\*\*, И.Н. Николаев\*, А.А. Алексеев\*, Л.Б. Братковская\*\*, Д.Н. Маторин\*\*

\*Физико-технический институт Северо-Восточного федерального университета имени М.К. Аммосова, 677013, Якутск, ул. Кулаковского, 48

\*\*Биологический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, 119234, Москва, ул. Ленинские горы, 1/12

E-mail: ff.protopopov@s-vfu.ru

Поступила в редакцию 27.04.2021 г.

После доработки 27.05.2021 г.

Принята к публикации 28.05.2021 г.

Представлены результаты мониторинговых наблюдений трех участков р. Москва, различающихся по уровню загрязнения с применением комплекса параметров флуоресценции хлорофилла. Фотосинтетическая активность фитопланктона по всему руслу была неодинаковой. Наиболее высокие значения активности фотохимических процессов фитопланктона обнаружены на условно чистом участке реки (на входе в город), тогда как на загрязненных участках (середина реки и на выходе из города) активность фитопланктона была снижена. Эффективность световых реакций фотосинтеза в фотосистеме II ( $F_V/F_M$ ,  $PI_{ABS}$ ) у фитопланктона весной была выше, чем в летний период. Эти процессы сопровождались уменьшением диссипации поглощенной энергии в тепло ( $F_{D0}$ ). Инкубация фитопланктона из р. Москва в присутствии солей хлорида ртути выявила различия в чувствительности к токсическому воздействию фитопланктона из разных частей реки, а также более низкую устойчивость фитопланктона к ртути в летний сезон по сравнению с весенним. Наиболее чувствительным параметром к токсическому воздействию ртути был индекс производительности фотосистемы II ( $PI_{ABS}$ ), который можно рекомендовать при проведении биотестирования и биомониторинга активности фотосинтетических реакций фитопланктона в природных условиях.

*Ключевые слова:* река Москва, хлорид ртути, фитопланктон, флуоресценция хлорофилла, фотосинтез, мониторинг загрязнения вод.

DOI: 10.31857/S0006302921050094

Москва-река является крупной водной артерией, протекающей через мегаполис. Состояние водной среды по руслу реки меняется в силу многих факторов, в том числе за счет загрязнения воды [1, 2]. Природный фитопланктон является первичным звеном трофической цепи водных экосистем [3–5]. Известно, что изменения на первичном трофическом уровне приводят к изменениям в остальных звеньях водной экосистемы. В связи с этим регистрация характеристик фитопланктона является одним из способов оценки состояния водной среды в целом.

Флуоресценция хлорофилла в настоящее время активно применяется для изучения фито-

планктона при проведении различных гидробиологических и токсикологических работ [4–15]. Флуоресцентный метод используется для оценки концентрации хлорофилла у интактных водорослей, а также в экстрагированных из них растворах пигментов [4, 7, 16–18]. На основе флуоресценции хлорофилла на кафедре биофизики биологического факультета МГУ разработана «Методика измерений обилия и индикации изменения состояния фитопланктона в природных водах флуоресцентным методом» (ФР.1.39.2011.11246, ПНД Ф 14.2.268-2012). Методика допущена для целей государственного экологического контроля по разделу «Количественный химический анализ вод» [16]. Интенсивность начальной флуоресценции ( $F_0$ ) рекомендуется для оценки биомассы и скорости роста водорослей, а отношение перемещенной флуоресценции к максимальной ( $F_V/F_M$ ) для оценки квантового выхода фотосинтеза, ко-

*Сокращения:* ст. – станция, ФС II – фотосистема II, PC – реакционный центр, QA и QB – первичный и вторичный хинонные акцепторы электрона, КОС – Курьяновские очистные сооружения.

торый является мерой физиологической активности водорослей. Важным преимуществом этих методов является их экспрессность и высокая чувствительность, что позволяет быстро диагностировать состояние объектов непосредственно в среде его обитания *in situ*.

В последнее время для оценки работы фотосинтетического аппарата в культурах водорослей и природного фитопланктона активно начинают использовать методы измерения индукционных кривых флуоресценции с высоким временным разрешением [6, 19, 20]. Характеристики кривых позволяют определить изменения на разных участках фотосинтетической электронтранспортной цепи. Ранее мы использовали флуоресцентные методы для изучения фотосинтетических процессов фитопланктона в р. Москва [3, 5, 7, 21].

Настоящая работа посвящена изучению энергозапасяющих фотосинтетических процессов фитопланктона на трех участках р. Москва, испытывающих различную антропогенную нагрузку, и при воздействии ионов ртути.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования были выполнены в 2017 г. на трех станциях (ст.), расположенных по течению р. Москва — на входе реки в г. Москва в районе Тушино (ст. «Тушино»), на ст. «Воробьевы горы» и на выходе реки из города около г. Дзержинский (ст. «Дзержинский»). Отбор проб воды проводили в утренние часы в прибрежной зоне с глубины 0.5 м с помощью батометра. Воду отбирали в пластиковые емкости объемом 2 л и не более чем через 1.5 ч доставляли в лабораторию в переносной сумке-холодильнике. При проведении лабораторных экспериментов использовали колбы объемом 100 мл, в которых добавляли токсикант — хлорид ртути ( $\text{HgCl}_2$ , Sigma-Aldrich, США) и инкубировали в течение 3 ч при освещении  $100 \text{ мкмоль квантов} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ .

Концентрацию хлорофилла определяли по стандартной методике прямым спектрофотометрическим методом в ацетоновых экстрактах на спектрофотометре на базе портативного спектрометра USB 2000 (Ocean Optics Inc., США).

Индукционные кривые флуоресценции хлорофилла регистрировали с высоким временным разрешением (начиная с 0.02 мс) на импульсном портативном флуориметре AquaPen-C AP-C 100 (Photon System Instruments, Чехия). Индукционные кривые флуоресценции хлорофилла инициировали синим источником света ( $\lambda = 450 \text{ нм}$ ) интенсивностью  $3000 \text{ мкмоль квантов} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ . Полевые исследования флуоресценции хлорофилла и измерения температуры воды проводили непосредственно на месте после отбора проб воды. Перед проведением регистрации флуоресценции

все исследуемые образцы выдерживали в темноте в течение 10–15 мин для окисления переносчиков в фотосинтетической электронтранспортной цепи.

Для количественного анализа характеристик первичных процессов фотосинтеза по индукционным кривым флуоресценции рассчитывали параметры с помощью стандартного JIP-теста [6, 19, 20, 22]. Этот тест использует следующие характеристики кинетической кривой индукции флуоресценции: интенсивность флуоресценции при 50 мкс ( $F_0$ ), 2 мс ( $F_J$ ), 30 мс ( $F_I$ ), а также  $F_M$  (максимальная интенсивность флуоресценции), а также усредненную величину в  $\text{мс}^{-1}$  начального наклона относительной переменной флуоресценции хлорофилла  $a$  ( $M_0$ ). Эти величины затем использовали для расчета следующих параметров, которые подробно описаны в обзорных работах [6, 19, 20]:

–  $F_V/F_M$  ( $= \Phi_{P_0}$ ) — максимальный квантовый выход первичной фотохимической реакции в фотосистеме II (ФС II):  $F_V/F_M = \Phi_{P_0} = (F_M - F_0)/F_M$ ;

–  $V_J$  — относительная амплитуда фазы O–J (после 2 мс освещения). Отражает количество закрытых реакционных центров (РЦ) по отношению к общему числу РЦ ФС II:  $V_J = (F_J - F_0)/(F_M - F_0)$ ;

–  $\psi_0$  — параметр вероятности переноса электрона далее первичного хинонного акцептора ( $Q_A$ ):  $\psi_0 = 1 - V_J$ ;

–  $\Phi_{E_0}$  — квантовый выход электронного транспорта за пределы  $Q_A$  (при  $t = 0$ ):  $\Phi_{E_0} = (1 - V_J)/(F_V/F_M)$ ;

$\Phi_{D_0}$  — квантовая эффективность рассеивания энергии в тепло:  $\Phi_{D_0} = 1 - \Phi_{P_0} = F_0/F_M$ ;

–  $PI_{ABS}$  — индекс производительности — показатель функциональной активности ФС II, отнесенный к поглощаемой энергии:  $PI_{ABS} = [1 - (F_0/F_M)]/(M_0/V_J) [(F_M - F_0)/F_0] [(1 - V_J)/V_J]$ .

Для анализа и обработки полученных данных использовали пакет программ Microsoft Excel 2013 (Microsoft Corp., США) и Statistica v.10 (StatSoft Inc., США). Подсчет концентрации хлорида ртути, вызывающей 50%-е ингибирование параметров флуоресценции хлорофилла ( $IC_{50}$ ), определяли на основе дозависимых кривых с помощью программного обеспечения OriginPro 9.0.0 (OriginLab Corp., США). Проверку статистических гипотез осуществляли с помощью однофакторного дисперсионного анализа (one-way ANOVA, тест Tukey HSD при  $\alpha = 0.05$ ). Объем выборки в полевых и лабораторных исследованиях составлял 10 повторностей.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

**Краткая характеристика экологического состояния районов исследования.** Исторически по течению р. Москва в черте города выделяются три участка с различной степенью загрязнения. Первый участок – район Тушино, который традиционно считается наиболее чистым участком реки. Второй участок реки находится в центральной части города, в нем содержание нефтепродуктов и металлов колеблется как в течение года, так и вдоль течения реки. Третий участок расположен на выходе реки из города, здесь находятся Курьяновские очистные сооружения (КОС), сбросы воды из них приводят к увеличению в реке концентрации биогенных элементов (аммония, нитритов, фосфатов) [2]. Расстояние от стока вод из КОС до ст. «Дзержинский» составило 14 км. По данным Доклада Мосэкомониторинга за 2017 г. качество воды в р. Москва на входе в город соответствовало нормативам, установленным для водных объектов культурно-бытового назначения, и речные воды на этом участке характеризовались как «условно чистые». В центральной части города в 2017 г. наблюдалось увеличение содержания взвешенных веществ, аммония и нефтепродуктов по сравнению с содержанием этих веществ на входе реки в город. На выходе из города под влиянием сброса вод из КОС в реке значительно увеличиваются концентрации биогенных веществ. Как следствие, вода в р. Москва на выходе из города характеризовалась в 2017 г. как «слабо загрязненная» [2].

Ранее нами было показано, что на выходе реки из города (ст. «Дзержинский») температура воды в период гидрологической зимы (с ноября по март) была несколько выше, чем на ст. «Воробьевы горы» и значительно выше, чем на ст. «Тушино» [3]. Весенний подъем температуры поверхностного слоя воды в реке на ст. «Дзержинский» начинался уже в начале марта, в то время как повышение температуры воды на ст. «Тушино» и «Воробьевы горы» начиналось спустя месяц в первых числах апреля. Таким образом, на ст. «Дзержинский» были отмечены как более высокая температура воды в зимний период, так и ее более ранний весенний подъем.

По данным наших исследований температура воды на станциях отбора проб в середине мая составила 10–15°C, в июле повышалась до 20°C.

**Содержание хлорофилла *a*** в зимний период было наиболее низким. На участках реки на ст. «Тушино» и «Воробьевы горы» весеннее увеличение содержания хлорофилла *a* начиналось в апреле, а на ст. «Дзержинский» на несколько недель раньше, в марте, что, вероятно, связано с более высокими температурами поверхностного слоя этого участка реки. Содержание хлорофилла *a* в середине мая составило 19, 16 и 15 мкг · л<sup>-1</sup> и в середине

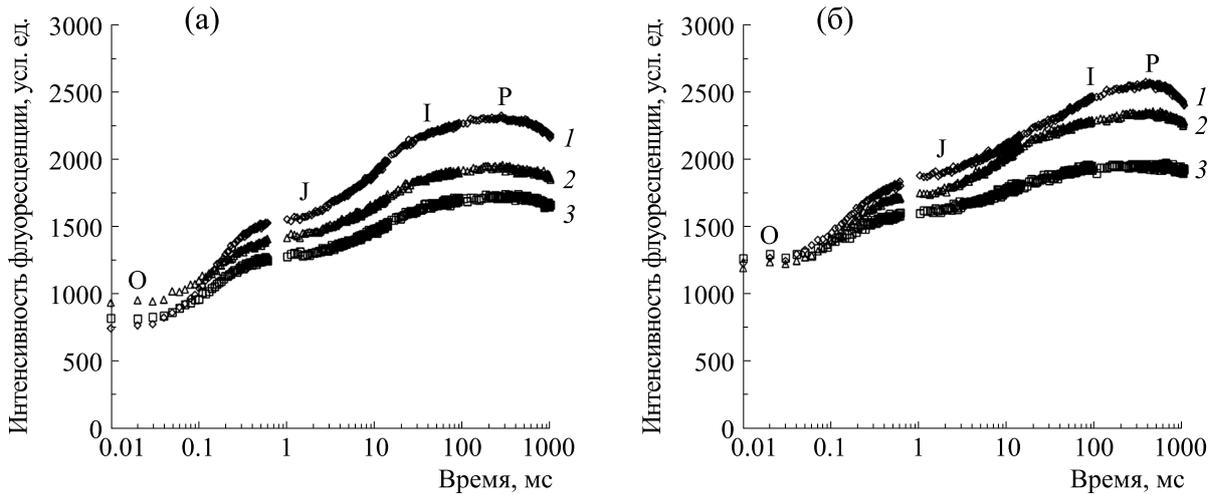
июля – 21, 23 и 19 мкг · л<sup>-1</sup> для станций «Тушино», «Воробьевы горы» и «Дзержинский» соответственно. Ранее было показано, что основные сукцессии фитопланктона в зоне влияния КОС такие же, как и на участках реки выше города [21]. Весной по числу видов и общей численности клеток преобладали диатомовые водоросли в пунктах на входе в город, выше КОС, а также на расстоянии в 14 км от стока вод из КОС. Летом преобладающими являлись зеленые водоросли и немного меньше – диатомовые.

**Оценку активности природного фитопланктона** проводили по параметру флуоресценции  $F_V/F_M$ , отражающим максимальный квантовый выход ФС II, связанной с разложением H<sub>2</sub>O и выделением O<sub>2</sub> [15, 19]. В природных водоемах с высоким содержанием биогенных элементов значения  $F_V/F_M$  могут достигать 0.6–0.7. Под действием стрессовых факторов, в том числе и загрязняющих веществ, этот показатель может уменьшаться.

В динамике фотосинтетической активности фитопланктона, выраженной через величину  $F_V/F_M$ , так же как и в случае содержания хлорофилла *a*, прослеживалось влияние сезонного фактора. В зимний период активность фитопланктона на всех трех станциях была крайне низкой ( $F_V/F_M$  менее 0.01). Крайне низкие значения соотношения  $F_V/F_M$  в этот период были связаны, вероятно, с интенсивным охлаждением поверхностных вод и сменой комплекса фитопланктона на зимний.

В весенний период (с марта по май) наблюдалось резкое увеличение активности фитопланктона, которое связано с сезонным подъемом температуры воды. Уже в марте на ст. «Дзержинский» она составила 3.5°C, и, соответственно, величина соотношения  $F_V/F_M$  для пробы воды с этой станции достигла 0.25, тогда как на станциях «Тушино» и «Воробьевы горы» значения  $F_V/F_M$  в марте составили только 0.04 и 0.02 при температурах воды 0.3 и 0.4°C соответственно. В мае значения  $F_V/F_M$  в пробах воды с обследованных станций колебались уже в пределах 0.52–0.68, причем максимальное значение  $F_V/F_M$  было зарегистрировано на ст. «Тушино».

Важно отметить, что увеличение концентрации фитопланктона по хлорофиллу в 2017 г. несколько запаздывало по сравнению с активностью, определенной по  $F_V/F_M$ . Этот факт показывает, что появление в популяции клеток водорослей с высокой активностью фотосинтетического аппарата и соответственно с высоким значением  $F_V/F_M$  предшествует наступлению периода увеличения концентрации фитопланктона.

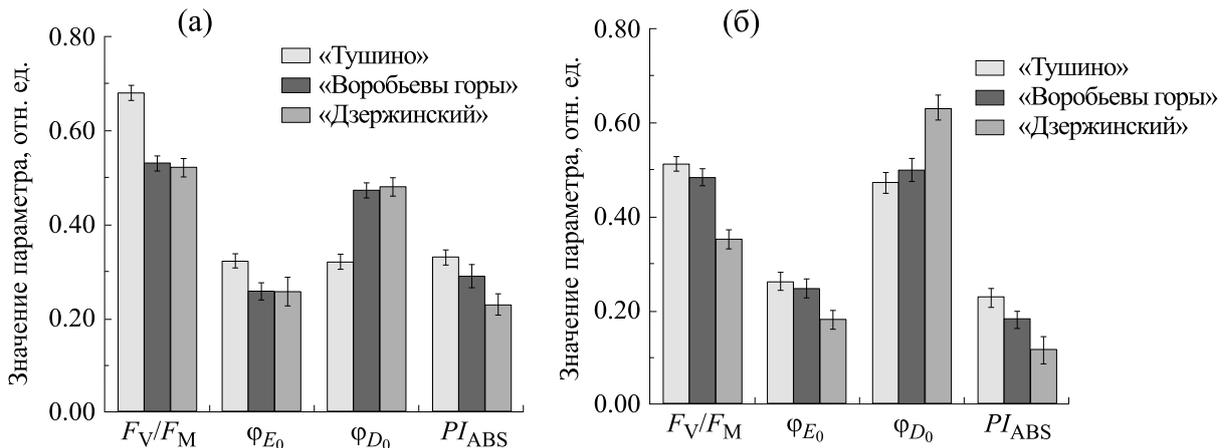


**Рис. 1.** Индукционные кривые быстрой флуоресценции фитопланктона р. Москва в середине мая (а) и в июле (б). Цифрами обозначены станции отбора проб воды: 1 – «Тушино», 2 – «Воробьевы горы», 3 – «Дзержинский».

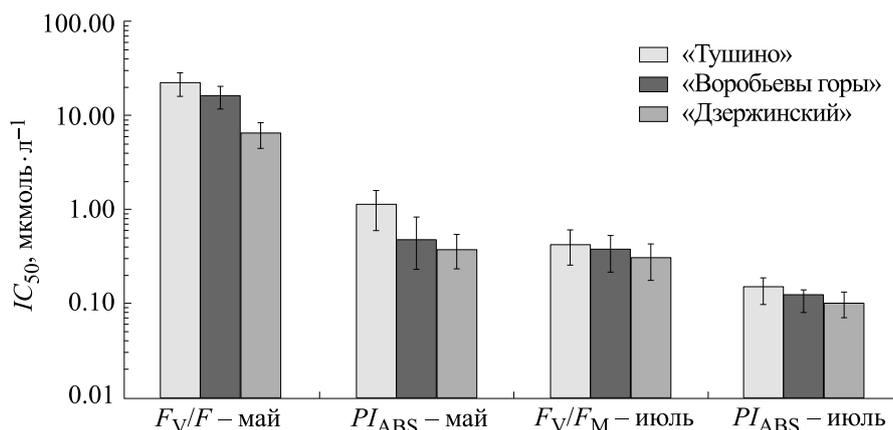
Подобный эффект наблюдался нами на оз. Байкал [19].

Наибольший интерес представляло сравнить параметры индукции флуоресценции хлорофилла во время весеннего и летнего развития фитопланктона (рис. 1). Значения  $F_V/F_M$  и других параметров в мае и июле представлены на рис. 2. В майский период  $F_V/F_M$  достигал на всех станциях наиболее высоких значений, причем на ст. «Тушино»  $F_V/F_M$  был максимальным со значением 0.68, а на ст. «Воробьевы горы» и «Дзержинский» он составил 0.53 и 0.52 соответственно. Относительно высокая для речного фитопланктона фотосинтетическая активность, зарегистрирован-

ная в этот период на всех обследованных станциях, свидетельствует о том, что фитопланктон весной не был лимитирован по основным факторам среды. После весеннего максимума фотосинтетическая активность фитопланктона на всех трех станциях снижалась, причем этот спад был более всего выражен на ст. «Дзержинский» ( $F_V/F_M = 0.39$ ). Это может свидетельствовать о негативном влиянии на активность фитопланктона различных загрязнений, поступающих в реку из мегаполиса и сбросов КОС. В то же время наиболее высокие  $F_V/F_M$ , наблюдавшиеся в летний период на ст. «Тушино» (0.53), вероятно, свидетельствуют о том, что условия для развития фи-



**Рис. 2.** Изменение параметров JIP-теста, рассчитанных из индукционных кривых флуоресценции хлорофилла (см. рис. 1), где  $F_V/F_M$  – максимальный квантовый выход первичной фотохимической реакции в ФС II,  $\phi_{E_0}$  – квантовый выход электронного транспорта за пределы  $Q_A$ ,  $\phi_{D_0}$  – квантовая эффективность рассеивания энергии в тепло,  $PI_{ABS}$  – индекс производительности ФС II. Представлены данные по весеннему (а) и летнему (б) фитопланктону. Столбиками показаны значения параметров последовательно со станций «Тушино», «Воробьевы горы» и «Дзержинский». Планки погрешностей соответствуют доверительному интервалу (при  $\alpha = 0.05$ ,  $n = 10$ ).



**Рис. 3.** Концентрации полуингибирующего воздействия хлорида ртути ( $IC_{50}$ ) на параметры флуоресценции фитопланктона р. Москва, где  $F_V/F_M$  – максимальный квантовый выход первичной фотохимической реакции в ФС II,  $PI_{ABS}$  – индекс производительности ФС II. Фитопланктон весной (май) и летом (июль) инкубировали с хлоридом ртути в течение 3 ч. Планки погрешностей соответствуют доверительному интервалу (при  $\alpha = 0.05$ ,  $n = 10$ )..

топланктонного сообщества здесь были наиболее благоприятными в летний период по сравнению с другими станциями.

Сравнение параметров флуоресценции, связанных с квантовыми потоками электронов, показало, что в весенний период на всех станциях наблюдается в среднем увеличение эффективности переноса электронов в ФС II ( $F_V/F_M$  и  $\phi_{E0}$ ) и снижение доли диссипации энергии в тепло антенными комплексами ( $\phi_{D0}$ ) по сравнению с июлем (рис. 2). Таким образом, в весенний период фотосинтетическая активность ФС II у фитопланктона была несколько выше, чем в летний период.

Нами было отмечено, что параметр вероятности переноса электрона далее первичного хинонного акцептора  $Q_A$  ( $\psi_0$ ) изменялся незначительно на всех трех станциях р. Москва в мае и июле (данные не представлены). Это позволяет заключить, что в исследуемых пробах воды не отмечается существенного влияния факторов среды на сайт связывания  $Q_B$  – вторичного хинонного акцептора электрона. Тем самым, параметр квантового выхода электронного транспорта ( $\phi_{E0}$ ) в ФС II снижается в летнее время, главным образом, за счет снижения параметра  $F_V/F_M$ .

Известно, что изменение максимального квантового выхода ( $F_V/F_M$ ) тесно связано с изменением сопряженности антенного комплекса с реакционным центром ФС II. Снижение количества активных РЦ обычно ведет к возрастанию доли неиспользуемой энергии, т.е. доли тушения энергии возбуждения в антенном комплексе за счет увеличения диссипации в тепло ( $\phi_{D0}$ ). У летнего фитопланктона по сравнению с весенним наблюдалось увеличение квантового выхода дис-

сипации в тепло ( $\phi_{D0}$ ), в особенности на ст. «Дзержинский» (рис. 2).

«Витальность» растений можно охарактеризовать индексом производительности  $PI_{ABS}$  [6, 22, 23]. Этот параметр включает в себя три независимых параметра: плотность «активных» РЦ ФС II; вероятность того, что поглощенный фотон будет захвачен РЦ и эффективность движения электрона по электрон-транспортной цепи. Индекс  $PI_{ABS}$  отражает функциональное состояние ФС II на свету и дает нам комплексную характеристику текущего состояния фотосинтетического аппарата [20]. В мае наблюдали высокие показатели индекса  $PI_{ABS}$  на всех станциях р. Москва. На ст. «Тушино» показатель  $PI_{ABS}$  был несколько выше, чем на ст. «Воробьевы горы» и «Дзержинский», тогда как в летнее время происходило некоторое снижение индекса производительности ФС II на всех станциях.

**Определение чувствительности фитопланктона к воздействию ионов ртути в зависимости от сезона.** Известно, что устойчивость клеток водорослей к загрязнению может существенно изменяться в зависимости от состояния клеток в разных экологических условиях [17, 19]. Чувствительность фитопланктонного сообщества р. Москва к ионам ртути определяли по двум основным вышеописанным параметрам флуоресценции – это  $F_V/F_M$  и  $PI_{ABS}$ . Соли  $HgCl_2$  значительно снижали квантовый выход  $F_V/F_M$  активного весеннего фитопланктона уже при концентрации 1 мкмоль · л<sup>-1</sup>. Были определены дозы полуингибирования ( $IC_{50}$ ) для параметров  $F_V/F_M$  и  $PI_{ABS}$  (рис. 3). Для параметра  $F_V/F_M$  у весеннего фитопланктона на станциях «Тушино» и «Воробьевы горы» 50% снижение происходило при концентрации 23.2 и

16.8 мкмоль · л<sup>-1</sup> HgCl<sub>2</sub> соответственно. Стоит отметить, что фитопланктон со ст. «Дзержинский» обладал меньшей устойчивостью к ионам ртути, чем фитопланктон с других станций, его IC<sub>50</sub> для параметра  $F_V/F_M$  составляла 6.7 мкмоль · л<sup>-1</sup>.

Индекс производительности ФС II  $PI_{ABS}$  является комбинированным параметром флуоресценции хлорофилла, и он часто является более чувствительным параметром к загрязнениям по сравнению с  $F_V/F_M$  [23, 24]. Для весеннего фитопланктона значимое снижение параметра  $PI_{ABS}$  при действии HgCl<sub>2</sub> у фитопланктона, отобранного в мае, наблюдали уже при концентрации 0.1 мкмоль · л<sup>-1</sup>. Значение IC<sub>50</sub>, вызывающее полуснижение индекса производительности ФС II, равнялось 0.37 мкмоль · л<sup>-1</sup> для станции «Дзержинский» и 0.47 и 1.1 мкмоль · л<sup>-1</sup> для станций «Воробьевы горы» и «Тушино» соответственно. Так же как и для параметра  $F_V/F_M$  статистически значимые отличия наблюдались между станциями «Тушино» и «Дзержинский» (рис. 3).

Летний фитопланктон, обладающий более низкой фотосинтетической активностью по сравнению с весенним, показывал и меньшую устойчивость к действию HgCl<sub>2</sub>. Различия в чувствительности летнего фитопланктона между станциями были статистически незначимы (рис. 3). Максимальный квантовый выход фотохимии ФС II ( $F_V/F_M$ ) существенно снижался уже при концентрации 0.1 мкмоль · л<sup>-1</sup> токсиканта. IC<sub>50</sub> для параметра  $F_V/F_M$  наблюдалась при 0.30–0.43 мкмоль · л<sup>-1</sup> на всех станциях.

У летнего фитопланктона  $PI_{ABS}$  также оказался более чувствительным параметром по сравнению с  $F_V/F_M$ . Снижение на половину индекса производительности ФС II наблюдали при концентрации ртути 0.10–0.14 мкмоль · л<sup>-1</sup> для всех станций. Возможно, что повышение чувствительности к ионам ртути у менее фотосинтетически активного летнего фитопланктона р. Москва связано с действием неблагоприятных факторов, таких как повышенная солнечная инсоляция на фоне повышенной температуры в летние дни. Усиление токсического воздействия на культурах водорослей солей тяжелых металлов при интенсивном освещении в условиях светового стресса отмечалось ранее разными авторами [25–27]. Нами также было показано существенное повышение чувствительности водорослей к действию солей ртути при повышенном освещении [17].

## ОБСУЖДЕНИЕ

Первичная продукция фитопланктона определяется функционированием сложноорганизованной системы фотосинтеза, включающей светособирающий пигментный комплекс, реакционные центры и электронтранспортную систему, где происходит первичное преобразование солнечной энергии с разложением воды и выделением O<sub>2</sub>. Ранее в гидробиологии использовали параметр флуоресценции  $F_V/F_M$  – максимальный квантовый выход первичных фотохимических реакций в ФС II [15]. Он определяется как соотношение интенсивности флуоресценции при насыщающем фотосинтезе свете ( $F_M$ ) и в условиях, не вызывающих изменений состояния фотосинтетического аппарата ( $F_0$ ) (низкая интенсивность света). Параметр  $F_V/F_M$  представляет собой безразмерную энергетическую характеристику фотосинтеза, аналогичную коэффициенту полезного действия и не зависящую от видовой специфики организма. В последнее время при работе с культурами водорослей активно развиваются методы быстрого измерения кинетики индукции флуоресценции, характеризующие электронный транспорт в ФС II и между фотосистемой II и фотосистемой I [20]. Применение этого современного биофизического подхода позволило выявить изменения в функционировании световых стадий фотосинтеза у фитопланктона в поверхностном слое на трех участках р. Москва, испытывающих различное влияние антропогенной нагрузки и при воздействии ионов ртути в разные сезоны.

Нами было показано, что в зимний период первичные реакции ФС II имеют крайне низкую активность. Возникновение благоприятных для фитопланктона условий в водоеме в весенний период сопровождается повышением эффективности функционирования ФС II и активизацией электрон-транспортных реакций, что, соответственно, вызывает значительное увеличение количества клеток.

Проведенный комплексный анализ параметров индукционных кривых флуоресценции хлорофилла свидетельствует, что у весеннего активного фитопланктона происходит увеличение основных параметров световых реакций фотосинтеза, таких как максимальный квантовый выход ФС II ( $F_V/F_M$ ), эффективность транспорта электронов ( $\phi_{E0}$ ) и индекса производительности ФС II ( $PI_{ABS}$ ). Вместе с тем эти процессы сопровождаются низким уровнем диссипации поглощенной энергии в тепло ( $\phi_{D0}$ ).

Ранее нами в 2009–2010 гг. было отмечено, что изменения параметров флуоресценции фитопланктона на трех участках р. Москва наблюдались раньше интенсивного роста водорослей [3].

Это закономерность появления активных клеток фитопланктона с высоким уровнем  $F_V/F_M$  в период, предшествующий увеличению биомассы, подтвердилась и в 2017 г. Таким образом, появление благоприятных условий в водоеме после зимнего периода сопровождается активацией реакционных центров ФС II, в которых происходит первичная конверсия света, и запуском электрон-транспортных реакций. Включение активных фотосинтетических процессов приводит к стимуляции роста количества фитопланктона (например, весеннее цветение в пресноводных водоемах) [8]. Это хорошо наблюдается и в модельных экспериментах при пересеве голодной азотдефицитной культуры микроводорослей на среду, обогащенную азотом [19].

Чрезвычайно важным является изменение устойчивости природных популяций водорослей к действию загрязняющих веществ, таких как тяжелые металлы в различные сезоны. Эксперименты по инкубации природного фитопланктона в присутствии хлорида ртути выявили различия в устойчивости к токсическому воздействию у фитопланктона с разных участков, а также большую чувствительность летнего фитопланктона по сравнению с весенним. При этом обнаружено, что наиболее чувствительным параметром индукции флуоресценции хлорофилла в этих токсикологических экспериментах является индекс производительности ФС II ( $PI_{ABS}$ ).

Таким образом, описанный в настоящей работе комплекс параметров индукционных кривых флуоресценции хлорофилла позволяет проводить мониторинг изменений в энергозапасующих фотосинтетических процессах клеток фитопланктона в природных условиях и открывает возможность использования флуоресцентных методов для детекции и прогнозирования цветения водоемов.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование выполнено в рамках Программы развития Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова «Будущее планеты и глобальные изменения окружающей среды» при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант №20-04-00465а) и Российского научного фонда (грант №20-64-46018).

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания каких-либо исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Доклады о состоянии окружающей среды в городе Москве за 2017 год. URL: [https://www.mos.ru/upload/documents/files/2931/Gosdoklad\\_last\(1\).pdf](https://www.mos.ru/upload/documents/files/2931/Gosdoklad_last(1).pdf)
2. Н. М. Попова, *Санитарное состояние р. Москвы по многолетним гидрохимическим данным* (Изд-во литературы по строительству, М., 1972).
3. И. В. Мошарова, В. В. Ильинский, Д. Н. Маторин и др., *Микробиология* **84** (6), 712 (2015).
4. P. G. Falkowski and J. A. Raven, *Aquatic photosynthesis* (Princeton University Press, Princeton, 2013).
5. N. Shchegolkova, K. Shurshin, S. Pogosyan, et al., *Water Science and Technology* **77** (6), 69 (2018).
6. В. Н. Гольцев, М. Х. Каладжи, М. А. Кузманова и др., *Переменная и замедленная флуоресценция хлорофилла а – теоретические основы и практическое приложение в исследовании растений* (Институт компьютерных исследований, М.–Ижевск, 2014).
7. Д. Н. Маторин, Н. П. Тимофеев, М. Л. Синдаловская и др., *Биофизика* **64** (6), 1057 (2019).
8. Д. Н. Маторин, Н. П. Тимофеев, Д. А. Тодоренко и др., *Биофизика* **65** (2), 331 (2020).
9. Ф. Ф. Протопопов, Д. Н. Маторин, Н. Х. Сейфуллина и др., *Микробиология* **84** (6), 725 (2015).
10. Т. К. Antal, P. S. Venediktov, D. N. Matorin, et al., *Oceanologia* **43** (3), 291 (2001).
11. W. Brack and H. Frank, *Ecotoxicology and Environmental Safety* **40** (1–2), 34 (1998).
12. M. K. Joshi and P. Mohanty, in *Chlorophyll a Fluorescence. A Signature of Photosynthesis*, Ed. by G. C. Papageorgiou and Govindjee (Springer, Dordrecht, 2004), pp. 637–661.
13. K. S. Kumar, H. U. Dahms, J. S. Lee, et al., *Ecotoxicology and Environmental Safety* **104**, 51 (2014).
14. S. A. Mosharov, V. M. Sergeeva, A. F. Sazhin, et al., *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **218**, 59 (2019).
15. U. Schreiber, in *Chlorophyll a fluorescence: A Signature of Photosynthesis*, Ed. by G. Papageorgiou and Govindjee (Springer, Dordrecht, 2004), pp. 279–319.
16. Д. Н. Маторин, В. А. Осипов и А. Б. Рубин, *Методика измерений обилия и индикации изменения состояния фитопланктона в природных водах флуоресцентным методом. Теоретические и практические аспекты* (Альтрекс, М., 2012).
17. Д. Н. Маторин, В. А. Осипов, Н. Х. Сейфуллина и др., *Микробиология* **78** (3), 362 (2009).
18. D. N. Matorin, T. K. Antal, M. Ostrowska, et al., *Oceanologia* **46** (4), 519 (2004).
19. Д. Н. Маторин и А. Б. Рубин, *Флуоресценции хлорофилла высших растений и водорослей* (ИКИ-РХД, М. – Ижевск, 2012).

20. R. J. Strasser, M. Tsimilli-Michael, and A. Srivastava, in *Chlorophyll a fluorescence: A Signature of Photosynthesis*, Ed. by G. Papageorgiou and Govindjee (Springer, Dordrecht, 2004), pp. 321–362.
21. Н. М. Шеголькова и Е. В. Венецианов, *Охрана загрязненной реки: интенсификация самоочищения и оптимизации водоотведения* (РАСХН, М., 2011).
22. D. Lazar, *Functional Plant Biol.* **33**, 9 (2006).
23. A. Stirbet, D. Lazar, J. Kromdijk, et al., *Photosynthetic* **56** (1), 86 (2018).
24. Д. Т. Габбасова, Д. Н. Маторин, И. В. Конюхов и др., *Микробиология* **86** (1), 62 (2017).
25. P. Janeau, D. Dewez, S. Matsui, et al., *Chemosphere* **45**, 589 (2001).
26. P. J. Ralph, R. A. Smith, C. M. O. Macinnis-Ng, et al., *Toxicol. Environ. Chem.* **89** (4), 589 (2007).
27. D. V. Vavilin, V. A. Polynov, D. N. Matorin, et al., *J. Plant Physiol.* **146**, 609 (1995).

## Fluorescence of Phytoplankton Chlorophyll from the Moskva River in the Presence of Mercury Ions

**F.F. Protopopov\***, **D.A. Todorenko\*\***, **I.N. Nikolaev\***, **A.A. Alekseev\***,  
**L.B. Bratkovskaya\*\***, and **D.N. Matorin\*\***

*\*Physico-Technical Institute, Ammosov North-Eastern Federal University, ul. Kulakovskogo 48, Yakutsk, 677013 Russia*

*\*\*Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory 1/12, Moscow, 119234 Russia*

This paper presents the results of the observational study carried out for monitoring three Moskva River sites with different pollution levels by using chlorophyll fluorescence parameters. The photosynthetic activity of phytoplankton along the river bed was diverse. The photochemical activity of the phytoplankton was higher in the relatively clean water of the river (the river entrance to the city) and lower in the polluted water (middle reaches of the river and out-of-city). The efficiency of the light reactions of photosynthesis in photosystem II ( $F_V/F_M$ ,  $PI_{ABS}$ ) for the phytoplankton was higher in the spring than in summer months. These processes were accompanied by a decrease in the dissipation of absorbed energy into heat ( $\phi_{D_0}$ ). Incubation of the phytoplankton from the Moskva River in the presence of mercury chloride salts was performed. It was found that addition of mercury chloride salts resulted in different sensitivity to the toxic effects of phytoplankton samples collected from different sites on the river as well as the lower resistance of phytoplankton to mercury in summer season compared to spring. The most sensitive parameter to the toxic effects of mercury was the photosystem II performance index ( $PI_{ABS}$ ), which can be recommended for bioassay and biomonitoring the activity of photosynthetic reactions of phytoplankton in natural conditions.

*Keywords: the Moskva River, mercury chloride, phytoplankton, chlorophyll fluorescence, photosynthesis, monitoring of water pollution*