БИОФИЗИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ В ЭКОЛОГИЧЕСКОМ МОНИТОРИНГЕ

А. Б. РУБИН

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

BIOPHYSICAL METHODS OF ECOLOGICAL MONITORING

A. B. RUBIN

Modern optical biophysical methods for the express diagnostics of the phytoplankton cell state are described. Different examples of their application based on registration of luminescence of chlorophyllin in water basins under natural environmental conditions are discussed.

Рассмотрены современные биофизические методы экспресс-диагностики состояния клеток фитопланктона, основанные на регистрации люминесценции хлорофилла. Приведены примеры использования этих методов в природных условиях в водоемах.

www.issep.rssi.ru

© Рубин А.Б., 2000

Хорошо известно, какое значение в современных условиях сильного антропогенного воздействия на внешнюю среду имеет экологический мониторинг. Его успешное проведение должно позволить прогнозировать изменение характеристик отдельных звеньев экологической системы и на основании этого предсказать дальнейшую эволюцию экосистемы во времени. Принципиальное значение в этом отношении имеет получение экспресс-информации состояния клеток организмов в результате различных внешних воздействий. Имеется в виду информация, которая позволила бы уже на ранних этапах диагностировать изменение клеточного метаболизма под влиянием внешних факторов. Принципиально важно получить эту информацию задолго до того, как результат внешних воздействий на организмы проявится в видимых признаках, таких, как изменение формы и задержка роста клеток, уменьшение численности клеточной популяции и общей биомассы. Конечно, эти признаки также важны для характеристики состояния как отдельных звеньев, так и экосистемы в целом. Однако на основании их изменения можно констатировать лишь конечный эффект оказанного воздействия, результат того, что уже произошло. Такие признаки могут служить источником информации для ранней диагностики нарушения состояния клетки при внешних воздействиях. Отвечающие этим требованиям современные биофизические методы экспресс-диагностики состояния клеток основаны на регистрации начальных нарушений клеточного метаболизма в основном на мембранном уровне организации клетки.

Оптические методы. Наибольшее развитие в последние годы получили различные спектральные и люминесцентные методы, которые используются главным образом для диагностики состояния клеток микроводорослей под влиянием факторов среды в водных экосистемах. В природных водоемах различные антропогенные загрязнения могут оказать существенное угнетающее влияние на фотосинтетический аппарат водорослей, что в итоге уменьшает продуктивность всей водной экологической системы. Регистрация действия внешних

факторов на состояние фотосинтетических мембран клеток микроводорослей позволяет тем самым следить и за состоянием водной среды.

Основная идея такого подхода состоит в том, что хлорофилл, находящийся в фотосинтетических мембранах, служит своего рода природным датчиком состояния клеток водорослей и высших растений. При нарушении состояния фотосинтетических мембран под действием внешнего фактора происходят определенные изменения оптических свойств хлорофилла, которые и служат источником информации для экспресс-диагностики состояния клеток. Этому обстоятельству способствует то, что в фотосинтетическом аппарате фотосистема II, ответственная за разложение воды и выделение кислорода, является чувствительной мишенью для таких внешних факторов, как экстремальные температуры, избыточная освещенность, соли тяжелых металлов, высушивание, повышение содержания солей в питательной среде.

Сейчас во многих лабораториях, занимающихся разработкой новых методов экологического мониторинга, в том числе в водоемах, это направление интенсивно развивается. Несомненно, ему принадлежит большое будущее, поскольку оно обеспечивает раннюю экспресс-диагностику состояния клеток в природных условиях. Мы познакомимся кратко, не вдаваясь детально в механизмы фотосинтеза, с научными основами и применением в природных условиях люминесцентных методов диагностики состояния клеток микроводорослей и высших растений. Отметим вначале, что спектральные методы в экологических исследованиях применяются уже давно. Известно, например, что по изменению оптических свойств растительного покрова путем их регистрации с помощью искусственных спутников Земли можно судить о состоянии растительных массивов. Например, продолжительные воздействия недостатка влаги, засухи, засоленность почв приводят к характерным изменениям спектров поглощения хлорофилла листового покрова и позволяют сделать вывод о неблагополучном состоянии растений. Однако эти эффекты наблюдаются через значительные промежутки времени, когда нарушения состояния растений уже произошли и стали, как правило, необратимыми. В отличие от этого предлагаемые люминесцентные методы отражают такие изменения в фотосинтетическом аппарате, которые происходят на самых начальных этапах внешнего воздействия.

Дело в том, что первичные стадии фотосинтеза водорослей при действии факторов внешней среды не остаются неизменными, а активно регулируются клеткой в соответствии с ее физиологическим состоянием [2, 7, 9, 10]. Цель этой регуляции заключается в оптимальном сопряжении световых и темновых стадий фотосинтеза, необходимом для поддержания определенного уровня метаболизма в измененных внешних условиях.

Флуоресценция хлорофилла. Характер изменения первичных стадий фотосинтеза непосредственно отражается в изменении флуоресценции хлорофилла в фотосинтетических мембранах клеток. Для понимания этой взаимосвязи достаточно напомнить, что поглощение кванта света переводит молекулу хлорофилла в электронное возбужденное состояние, энергия которого в растворе при отсутствии фотосинтеза переходит либо в тепло, либо в флуоресценцию. В фотосинтетической мембране энергия электронного возбуждения хлорофилла используется в реакционных центрах (РЦ) для генерации потока электронов в первичных стадиях фотосинтеза, необходимых для восстановления НАДФ и образования АТФ. Напомним, что первичные процессы фотосинтеза высших растений осуществляются при участии двух фотосистем, функционирующих последовательно. Фотосистема II разлагает воду с выделением свободного кислорода и отдает электрон через цепь переносчиков на фотосистему I, которая уже восстанавливает НАДФ (подробнее см. [4, 7]). В клетке в основном флуоресцирует хлорофилл, принадлежащий фотосистеме II, и именно изменения его флуоресценции говорят о состоянии реакционных центров этой фотосистемы. При активном фотосинтезе, когда все РЦ находятся в открытом рабочем состоянии, в условиях слабого освещения почти вся поглощенная энергия света используется в процессе фотосинтеза. Поэтому интенсивность флуоресценции хлорофилла в клетке намного ниже, чем в растворе (рис. 1).

Однако и здесь небольшая часть энергии электронного возбуждения (не более 3%) переходит в энергию света флуоресценции в виде так называемой фоновой флуоресценции F_0. Как правило, в нормальных условиях величина F_0 мала, что говорит об активном использовании клетками энергии поглощенного света. Но если при каких-либо воздействиях нарушается состояние фотосинтетических мембран, то центры (РЦ) переходят в неактивное (закрытое) состояние, когда происходит прекращение потока электронов в первичных процессах фотосинтеза. В этих условиях поглощенная энергия света уже не может использоваться в фотосинтезе, поэтому и флуоресценция хлорофилла возрастает. Можно полностью вывести из рабочего состояния РЦ, например при действии ингибитора потока электронов диурона [4, 7]. В этом случае флуоресценция сильно возрастает и приближается к своим максимальным значениям F_m. Заметим, что закрыть центры можно создавая также избыточную освещенность клеток, когда происходит световое насыщение фотосинтеза. Фотосинтетическая цепь переноса электрона как бы захлебывается от избытка поглощенной световой энергии, переводя все

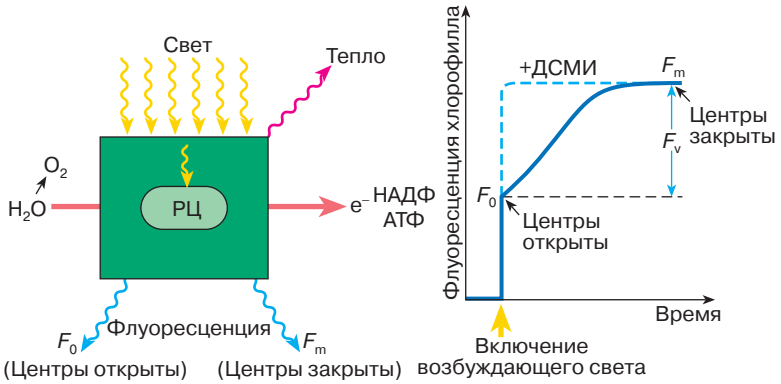

Рис. 1. Схема, иллюстрирующая конверсию энергии света в фотосистеме II с образованием АТФ и восстановлением НАДФ. РЦ – реакционный центр фотосистемы II. Флуоресценция F_0 и F_m при активных и неактивных реакционных центрах фотосистемы II соответственно. Справа – изменение флуоресценции во времени при закрытии центров (переход $F_0 \longrightarrow F_m$). Пунктирная линия отражает изменение флуоресценции в присутствии диурона (ДСМИ)

большую часть поглощенной энергии света в флуоресценцию.

Можно найти разницу между интенсивностями флуоресценции хлорофилла при закрытых и открытых РЦ ($F_v = F_m - F_0$), которую называют переменной флуоресценцией (F_v) хлорофилла в клетках (см. рис. 1). Как видно, величина F_v соответствует той части энергии света, которая используется открытыми реакционными центрами в фотосинтезе, то есть может характеризовать активность начальных стадий фотосинтеза. На практике оценивают отношение F_v/F_m, величина которого тесно связана с первичной продуктивностью фитопланктона в природных водоемах. Она хорошо коррелирует с фотосинтетической продукцией клеток, определенной классическими методами по восстановлению CO_2 с помощью радиоактивных изотопов ^{14}C.

Флуоресценция фитопланктона. Для исследования флуоресценции фитопланктона в природных водоемах на кафедре биофизики биологического факультета МГУ разработан специальный прибор (погружной зонд-флуориметр), позволяющий проводить измерение величин F_0 и F_m в водоемах на разных глубинах (до 200 м). Принцип действия зонда представлен на схеме (рис. 2). При освещении первой слабой вспышкой света порции фитопланктона в зонде измеряется величина фоновой флуоресценции F_0. Затем при действии второй мощной вспышки света в клетках происходит кратковременное насыщение всех РЦ, которые не успевают утилизировать поглощенную энергию света и переходят в результате этого в закрытое состояние. В этих условиях флуоресценция хлорофилла возрастает до максимальных значений F_m. Таким образом можно определить значения переменной флуоресценции $F_v = F_m - F_0$ и отношение F_v/F_m, которые отражают эффективность запасания энергии света на начальных этапах фотосинтеза.

Поскольку величина F_0 зависит от количества хлорофилла в клетках, то это можно использовать для определения его концентрации. По величине F_0 можно также определять и количество биомассы фитопланктона, которое пропорционально содержанию хлорофилла в клетках. Определение величин F_0 и F_v/F_m позволяет выявить ситуации, когда в водоемах имеется много фитопланктона (F_0 велико), однако его активность и продукция невелика из-за неблагоприятных условий. На основании этих данных можно получить сравнительную информацию о распределении как самого фитопланктона (F_0), так и его фотосинтетической активности (F_v/F_m) по глубине и горизонтальным разрезам в водоемах и рассчитать фотосинтетическую продукцию.

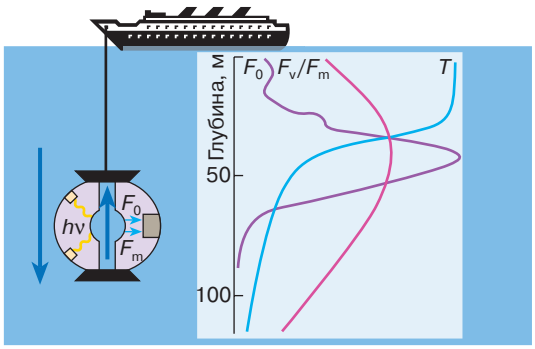

Рис. 2. Схема морского зондирования фитопланктона с использованием погружного двухимпульсного флуориметра. Справа показаны результаты изменения на разной глубине количества (F_0), фотосинтетической активности (F_v/F_m) и температуры (T) водной среды. Видно, что наибольшее количество и активность клеток наблюдаются на глубине 50 м. В поверхностных слоях фотосинтез угнетается из-за слишком больших интенсивностей солнечного света

На рис. 2 приведен профиль распределения фитопланктона и его активности по глубине.

Замедленная флуоресценция. Другим источником информации о характере функционирования фотосинтетического аппарата является процесс замедленной флуоресценции (ЗФ), обнаруженный Арноном и Стреллером в 1951 году. Это явление состоит в том, что после светового возбуждения в фотосинтезирующих клетках наблюдается слабое, длительно затухающее свечение, испускаемое хлорофиллом. Это свечение возникает уже после прекращения флуоресценции (F_0) за счет энергии, выделяемой в ходе темновых реакций первичных фотопродуктов фотосинтеза в РЦ (рис. 3).

Рассмотрим упрощенную схему этого процесса. В РЦ при поглощения кванта света ($h\nu$) возбуждается молекула хлорофилла реакционного центра Р (Р ⟶ Р*). Затем происходит переход электрона от Р* на первичный акцептор электрона A_1 (восстановление первичного акцептора электронов A_1 $P^*A_1 \longrightarrow P + A_1^-$. Это одновременно сопровождается окислением фотоактивного хлорофилла РЦ (Р) (см. рис. 3):

$$PA_1 \xrightarrow{h\nu} P^*A_1 \longrightarrow P^+A_1^-.$$

Затем электрон уходит от акцептора A_1^- дальше в цепь переносчиков и в итоге попадает на окисленную молекулу $НАДФ^+$. Окисленный РЦ ФСII (P^+), в свою очередь, восстанавливается за счет электрона, полученного при разложении воды. Эти этапы ответственны за генерацию первичного прямого потока электронов (см. рис. 1).

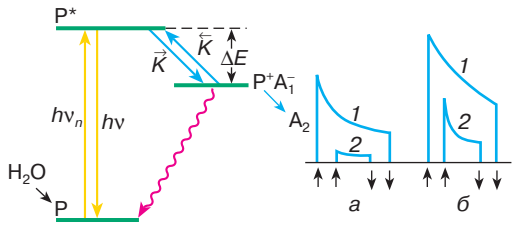

Рис. 3. Схема возникновения замедленной флуоресценции хлорофилла листьев и водорослей при возвращении от A_1^- на Р.

$\vec{K}$ – прямой перенос электрона $P^*A_1 \longrightarrow P^+A_1^-$.

$\overleftarrow{K}$ – обратный перенос электрона $P^+A_1^- \longrightarrow P^*A_1 \longrightarrow$ $\longrightarrow P + h\nu$, сопровождающийся замедленной флуоресценцией.

1 – Сигналы замедленной флуоресценции: *а* – листьев гороха (нормальное растение (*1*) и мутант с нарушениями в реакционном центре фотосистемы II (*2*); *б* – зеленой водоросли хлорелла: контроль (*1*) и при действии загрязнений $CuSO_4$ (*2*). Видно, что воздействия, влияющие на реакционный центр фотосистемы II, ингибируют замедленную флуоресценцию

Однако существует небольшая вероятность обратного переноса электрона в РЦ от A_1^- к P^+, при котором происходит его рекомбинация с P^+ с регенерацией возбужденного состояния Р*. В результате этого клетки испускают замедленное свечение с некоторой задержкой во времени

$$P^* \longrightarrow P + h\nu.$$

Очевидно, интенсивность ЗФ пропорциональна количеству РЦ в состоянии $P^+A_1^-$ с разделенными зарядами. Это состояние зависит от скорости последующих стадий переноса электрона. При действии повреждающих факторов на фотосинтетический аппарат концентрация РЦ в состоянии $P^+A_1^-$ может изменяться. Это позволяет использовать ЗФ для обнаружения загрязнений в водной среде (рис. 3, *а*, *б*, кривые *2*). Кроме того, оказалось, что интенсивность ЗФ увеличивается за счет энергии трансмембранного электрохимического потенциала на мембранах хлоропластов, необходимого для синтеза молекул АТФ [4]. Это также позволило использовать метод ЗФ для оценки степени энергизации мембраны хлоропластов и связанной с ней фотосинтетической продуктивности фитопланктона.

Хемилюминесценция хлорофилла и перекисное окисление липидов. Для получения информации о процессах разрушения клеточных мембран используется также хемилюминесценция молекул хлорофилла. Известно, что действие неблагоприятных факторов может нарушать состояние липидов клеточных мембран и активировать процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) [1, 3, 5]. Ускорение перекисного окисления является универсальной ответной реакцией клеток на действие неблагоприятных факторов внешней среды. В частности, уровень продуктов ПОЛ резко увеличивается в растительных клетках при холодовом и тепловом шоке и интенсивном освещении.

Факторами, способствующими развитию ПОЛ, являются активные формы кислорода. Активные формы кислорода: электронно-возбужденный синглетный кислород O_2 и анион-радикал или супероксид-радикал кислорода O_2 – могут образовываться в фотосинтетических мембранах за счет энергии возбужденного фотоактивного хлорофилла Р* и электронов в цепи фотосинтеза [3, 11].

При повышенной освещенности клеток, а также при повреждении состояния фотосинтетических мембран и нарушении сопряжения световых и темновых стадий фотосинтеза создается избыток неиспользуемой энергии электронного возбуждения хлорофилла и электронов в цепи переносчиков электронов. Это и способствует генерации активных форм кислорода и ПОЛ. В фотосинтетических мембранах в процессах ПОЛ образуются гидроперекиси липидов, концентрация которых

служит показателем нарушения состояния клеточных мембран. Распад гидроперекисей происходит с образованием электронно-возбужденных химических продуктов карбонильной природы. Их способность с высокой эффективностью передавать энергию возбуждения на хлорофилл приводит к медленно затухающей хемилюминесценции хлорофилла. Это обстоятельство и позволило разработать люминесцентный метод регистрации продуктов ПОЛ в клетках фотосинтезирующих организмов.

Термолюминесценция хлорофилла. При повышении температуры активируется распад гидроперекисей, а интенсивность хемилюминесценции хлорофилла возрастает, достигая максимума при 120°С (рис. 4). Величина такой высокотемпературной термолюминесценции (ТЛ) прямо пропорциональна количеству накопленных в темноте продуктов ПОЛ. Регистрируя интенсивность ТЛ хлорофилла, можно исследовать процессы ПОЛ в клетках микроводорослей и фитопланктона в природных условиях.

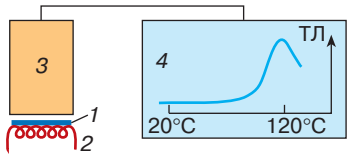

Рис. 4. Схема устройства для регистрации высокотемпературной термолюминесценции хлорофилла листьев и фитопланктона: *1* – объект, *2* – нагреватель, *3* – фотоприемник, *4* – регистрирующее устройство. Термолюминесценцию регистрируют как зависимость свечения от температуры при нагревании объекта от 20 до 150°С (показана типичная кривая термолюминесценции с максимумом при 120°С)

Наши исследования на Черном море, Атлантическом и Тихом океанах действительно показали, что высокий уровень ТЛ при 120°С фитопланктона регистрируется при неблагоприятных для активного роста условиях. В целом метод регистрации ТЛ обладает высокой чувствительностью и благодаря простоте процедуры подготовки образцов и измерения люминесценции очень удобен для экспресс-анализа большого количества препаратов.

Влияние факторов среды. Среди неблагоприятных факторов среды, влияющих на состояние клеток микроводорослей и фотосинтетическую продуктивность фитопланктона, наибольшее значение имеют свет повышенной интенсивности, неблагоприятные температуры, недостаток минерального питания, антропогенные загрязнения.

Конечно, свет как источник энергии совершенно необходим для фотосинтеза. Однако он одновременно может быть и повреждающим фактором. При действии повышенных интенсивностей света в результате процессов фотоингибирования фотосинтеза развиваются длительные и глубокие перестройки фотосинтетического аппарата [3, 11]. Механизм этого явления также связан с тем, что в условиях блокирования переноса электрона из-за образования их избытка в цепи фотосинтеза происходит генерация активных форм кислорода, приводящая к окислительному стрессу и разрушению клеточных мембран в процессе ПОЛ. В качестве защитного механизма в клетке происходит распад белков РЦ, который приводит к прекращению фотосинтеза. Иными словами, клетка скорее предпочитает лишиться РЦ как источника фотодеструкции с тем, однако, чтобы потом его восстановить в более благоприятных условиях. Распад РЦ происходит по механизму протеолитического расщепления белка ($Д_1$) реакционного центра фотосистемы II. Для реактивации РЦ необходимы повторный синтез (ресинтез) $Д_1$-белка и его встраивание в РЦ [9, 10]. На обычном свету устанавливается равновесие между процессом фотоингибирования с распадом $Д_1$-белка и процессом реактивации с его ресинтезом [2]. Однако при длительном интенсивном освещении могут происходить уже необратимые повреждения РЦ, сопровождающиеся глубокой фотодеструкцией мембран вследствие развития ПОЛ.

ПОЛ и активность фотосинтеза. Посмотрим, как связана люминесценция хлорофилла с состоянием фотосинтетических мембран в различных условиях. На рис. 5 показано, что под действием повышенных интенсивностей света в начальный период (1–20 мин) освещения падает фотосинтетическая эффективность (F_v/F_m) как ответная реакция клетки на световое воздействие. Фотоингибирование РЦ в этот период носит все еще обратимый характер, а клетки сохраняют свою жизнеспособность. Однако при дальнейшем освещении (после 20 мин) клетки уже не справляются с фотоингибированием и происходит накопление продуктов ПОЛ, что видно по росту ТЛ. Именно в этот период и происходит гибель клеток.

Таким образом обратимое падение активности РЦ происходит до появления продуктов ПОЛ и не сопровождается гибелью самих клеток. Падение эффективности первичных стадий фотосинтеза носит регуляторный характер и представляет собой защитную адаптивную реакцию клетки на начальных этапах повышенного освещения.

Регуляция световых стадий. Механизм регуляции световых реакций фотосинтеза со стороны темновых процессов в клетке включает дополнительное обращение электронного потока в РЦ на уровне первичного разделения зарядов ($P^+A_1^-$). Механизм здесь внешне аналогичен ЗФ (см. рис. 3). В результате происходит появление быстрой с длительностью ~2 нс дополнительной

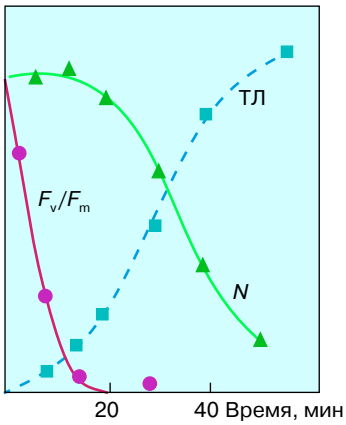

Рис. 5. Влияние интенсивного освещения (1000 Вт · м$^{-2}$) на фотосинтетическую активность F_v/F_m, амплитуду высокотемпературной термолюминесценции ТЛ и выживаемость клеток хлореллы *N*. Видно, что в начальной период освещения (1–20 мин) падение эффективности фотосинтеза (F_v/F_m) не сопровождается гибелью клеток *N* и появлением продуктов ПОЛ (ТЛ)

флуоресценции хлорофилла $P^+A_1^- \longrightarrow P^*A_1^- \longrightarrow h\nu$ в РЦ. Сигналом для возникновения быстрой флуоресценции служат некоторые продукты метаболизма, появляющиеся в клетке в условиях недостатка элементов минерального питания. При дефиците азота, когда скорость роста водорослей, а следовательно, потребность в продуктах фотосинтеза и световой энергии снижены, адаптивные реакции приводят к уменьшению фотосинтетической активности РЦ и соответственно снижению F_v/F_m. Это одна из наиболее ранних регуляторных реакций фотосинтетического аппарата в ответ на дефицит минерального питания. Она направлена на то, чтобы предотвратить использование избыточного количества электронов и электронного возбуждения в цепи переносчиков для генерации активных форм кислорода.

Однако при дальнейшем более продолжительном освещении таких ранних защитных механизмов может оказаться уже недостаточно. Тогда в клетке и развиваются процессы фотодеструкции РЦ с распадом $Д_1$-белка РЦ. Влияние светового фактора на активность фотосинтеза наглядно проявляется в природных условиях в поверхностных водах в дневные часы (рис. 6), когда освещенность высока. Ход кривых на рис. 6 соответствует суточным изменениям первичной продукции с ее полуденной депрессией в водах с разным содержанием минеральных элементов. Это явление хорошо известно в гидробиологии. При хорошей обеспеченности минеральным питанием в водоемах активность РЦ (отношение F_v/F_m) остается на высоком уровне (кривая *а*). В водах со средней концентрацией элементов минерального питания (кривая *б*) наблюдается полуденное уменьшение величины F_v/F_m, которая восстанавливается до исходного уровня в вечернее время при снижении освещенности. Наибольший эффект адаптационного снижения активности РЦ наблюдается в водах, обедненных биогенными элементами (кривая *в*), где влияние повышенной освещенности в дневные часы может быть наиболее опасно.

Активность фотосинтеза в природных условиях. Использование погружной аппаратуры для регистрации параметров люминесценции хлорофилла показало пространственную неоднородность распределения количества клеток и активности фотосинтеза в популяции фитопланктона. Во многих водоемах максимальная эффективность фотосинтетического аппарата не всегда совпадает с максимумом концентрации фитопланктона, однако коррелирует с обеспеченностью минеральным питанием фитопланктона. Например, в низкопродуктивных районах Тихого океана, Средиземного моря и озера Байкал значения F_v/F_m колебались от 0,3 до 0,5–0,6. В более богатых водах Черного моря активность F_v/F_m возрастала до 0,6.

В сильно обогащенных водах северо-западного района Черного моря и залива Котор Адриатического моря активность фитопланктона была характерной для оптимальных условий. С глубиной активность фотосинтеза также меняется, достигая максимума на тех глубинах, где существует приток минеральных солей, а количество проникающего света еще достаточно для фотосинтеза

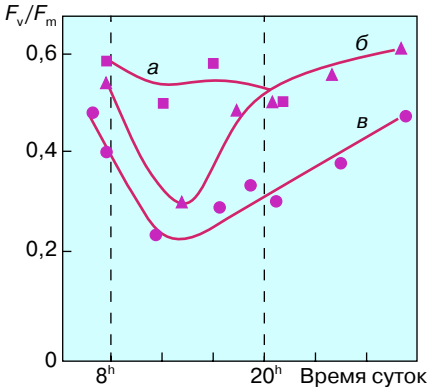

Рис. 6. Типичные суточные изменения выхода переменной флуоресценции хлорофилла фитопланктона (F_v/F_m) поверхностных слоев воды в зависимости от времени суток и количества питательных веществ для клеток водорослей: *а–в* – воды с низкой, средней и высокой концентрацией биогенных элементов. Видно, что в утренние часы эффективность фотосинтеза во всех водоемах высока. В водоемах, бедных элементами минерального питания, при увеличении освещения в полуденные часы она падает, а затем восстанавливается в вечернее время

(см. рис. 2). В тропических водах Тихого океана это наблюдается на глубине 80–120 м.

Интересно, что увеличение активности фотосинтеза и появление клеток с высоким значением F_v/F_m предшествует периоду цветения, который сопровождается резким увеличением концентрации фитопланктона в водоемах. Это было обнаружено на озере Байкал и в северо-западном районе Черного моря.

Рост клеток и флуоресценция хлорофилла. Известно, что форма индукционных кривых флуоресценции, то есть увеличение интенсивности флуоресценции после начала освещения (см. рис. 1), является совокупным результатом фотосинтетических процессов в мембранах фотосинтезирующих организмов. В популяции, как правило, могут присутствовать индивидуальные клетки, находящиеся в различных физиологических состояниях, которые связаны с различным уровнем фотосинтеза. Это проявляется в различном уровне флуоресценции, а также в различных формах индукционных кривых разгорания флуоресценции хлорофилла в этих клетках. С помощью микрофлуоресцентного микроскопа можно получить набор различных типов кривых индукции флуоресценции, снятых от одиночных клеток. Набор таких кривых может быть показателем гетерогенного состояния популяции в целом [6]. Не вдаваясь в детальный анализ, отметим, что с помощью статистических методов обработки таких кривых можно построить диаграммы состояния популяции и проследить динамику его изменения. В природных условиях (Черное море) применение этого метода позволяло выявить, как меняется гетерогенный состав популяций в районах с различным уровнем антропогенных загрязнений. Там, где условия наименее благоприятные, преобладают клетки с такими типами индукционных кривых, где имеется высокий уровень флуоресценции, что указывает на низкую эффективность использования света в фотосинтезе.

Флуоресценция хлорофилла и ресинтез белка РЦ. Мы уже говорили, что в обычных световых условиях в клетке устанавливается динамическое равновесие между процессом фотоингибирования РЦ с распадом $Д_1$-белка и его ресинтезом. Под действием неблагоприятных факторов среды, низких концентраций антропогенных токсикантов (ионы тяжелых металлов, гербициды) замедляются репарационные процессы восстановления и ресинтеза белка РЦ, что приводит к уменьшению активности РЦ и снижению фотосинтетической продуктивности. Динамику этих репарационных процессов ресинтеза белка можно проследить по изменениям величины F_v/F_m при восстановлении активности фотосинтеза после действия повреждения. Это значит, что степень восстановления активности фотосинтеза, по данным флуоресцентных методов, может использоваться в качестве интегрального показателя состояния процессов ресинтеза белка РЦ в клетках водорослей.

Представленный материал говорит о том, что функционирование РЦ фотосинтеза в природных условиях направленно изменяется под действием внешних факторов, и это непосредственно отражается на фотосинтетической продуктивности фитопланктона. Развитие флуоресцентных методов является перспективным для прогнозирования состояния и продуктивности планктонных сообществ в естественных водоемах, а их использование внесет существенный вклад в экологический мониторинг.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Владимиров Ю.А.*, *Потапенко А.Д.* Физико-химические основы фотобиологических процессов. М.: Высш. шк., 1983.

2. *Маторин Д.Н.*, *Венедиктов П.С.* Люминесценция хлорофилла в культурах микроводорослей и природных популяциях фитопланктона // Итоги науки и техники. Биофизика. М.: ВИНИТИ, 1990. Т. 40.

3. *Веселовский В.А.*, *Веселова Т.В.* Люминесценция растений. М.: Наука, 1990.

4. *Тихонов А.Н.* Трансформация энергии в хлоропластах – энергообразующих органеллах растительной клетки // Соросовский Образовательный Журнал. 1996. № 4. С. 24–32.

5. *Скулачев В.П.* Кислород в живой клетке: добро и зло // Там же. № 3. С. 4–10.

6. *Riznichenko G.*, *Lebedeva G.*, *Pogosyan S. et al.* // Photosynth. Res. 1996. Vol. 49. P. 151.

7. *Рубин А.Б.* Первичные процессы фотосинтеза // Соросовский Образовательный Журнал. 1997. № 10. С. 79–84.

8. *Vavilin D.V.*, *Ducruet J.-M.*, *Matorin D.N. et al.* // J. Photochem. Photobiol. B. 1998. Vol. 42/3. P. 233.

9. *Шестаков С.В.* Молекулярная генетика фотосинтеза // Соросовский Образовательный Журнал. 1998. № 9. С. 22–27.

10. *Тихонов А.Н.* Регуляция световых и темновых стадий фотосинтеза // Там же. 1999. № 11. С. 8–15.

11. *Тихонов А.Н.* Защитные механизмы фотосинтеза // Там же. С. 16–21.

Рецензент статьи О.Н. Кулаева

* * *

Андрей Борисович Рубин, доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН, зав. кафедрой биофизики биологического факультета МГУ. Председатель Научного совета РАН по биофизике. Лауреат Государственной премии СССР, премии им. М.В. Ломоносова (МГУ), заслуженный деятель высшей школы РФ. Область научных интересов – биофизика фотобиологических процессов, перенос электрона в биомембранах, кинетика биологических процессов. Автор и соавтор 11 монографий, более 300 научных статей, автор учебника по биофизике.