

## ФЛУОРИМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ШЛАМОВЫХ ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ НА ФИТОПЛАНКТОН

© 2020 г. С.В. Беспалова, С.М. Романчук, С.В. Чуфицкий, В.В. Перебейнос, Б.А. Готин

Донецкий национальный университет, 283050, Донецк, ул. Щорса, 46

E-mail: ChufitskyiSergey@yandex.ru

Поступила в редакцию 29.11.2019 г.

После доработки 29.04.2020 г.

Принята к публикации 07.05.2020 г.

Представлены результаты биомониторинга реки Ольховая (Донецкая область). Показано воздействие шахтных шламовых отходов на состояние поверхностных вод. Оценка физико-химических показателей дает возможность охарактеризовать воду в р. Ольховая как грязную, загрязненную большим количеством взвешенных угольных частиц, содержание которых значительно превышало предельно допустимые нормы. Флуориметрическим методом установлено снижение содержания хлорофилла в пробах воды, отобранных после попадания шламовых стоков в русло реки. Представлены результаты анализа кривых индукции флуоресценции хлорофилла. Установлено, что загрязнение шламовыми стоками приводит к нарушению протекания первичных фотосинтетических реакций в клетках фитопланктона.

**Ключевые слова:** флуориметрия, фитопланктон, шламонакопители, биоиндикация.

**DOI:** 10.31857/S0006302920050178

Большое количество предприятий горнодобывающей промышленности Донецкого региона, а также высокая интенсивность их работы приводит к значительному ухудшению состояния окружающей среды [1, 2]. Попадание шахтных сточных вод, а также воды из шламонакопителей в природные водоемы делает их непригодными даже для хозяйственного использования [3–5]. Суммарное содержание растворенных солей в шахтных стоках изменяется в широких пределах и может достигать 10 г/л [6, 7]. Значительная степень минерализации, насыщенность взвешенными угольными частицами различного размера, а также высокая мутность воды приводят к гибели биоты, прежде всего клеток фитопланктона, а также к необратимым изменениям в водном биоценозе [5]. Следовательно, при проведении биомониторинга поверхностных вод в регионах с высокой антропогенной нагрузкой, обусловленной деятельностью предприятий горнодобывающей промышленности, необходим контроль степени воздействия данных предприятий на состояние природных вод.

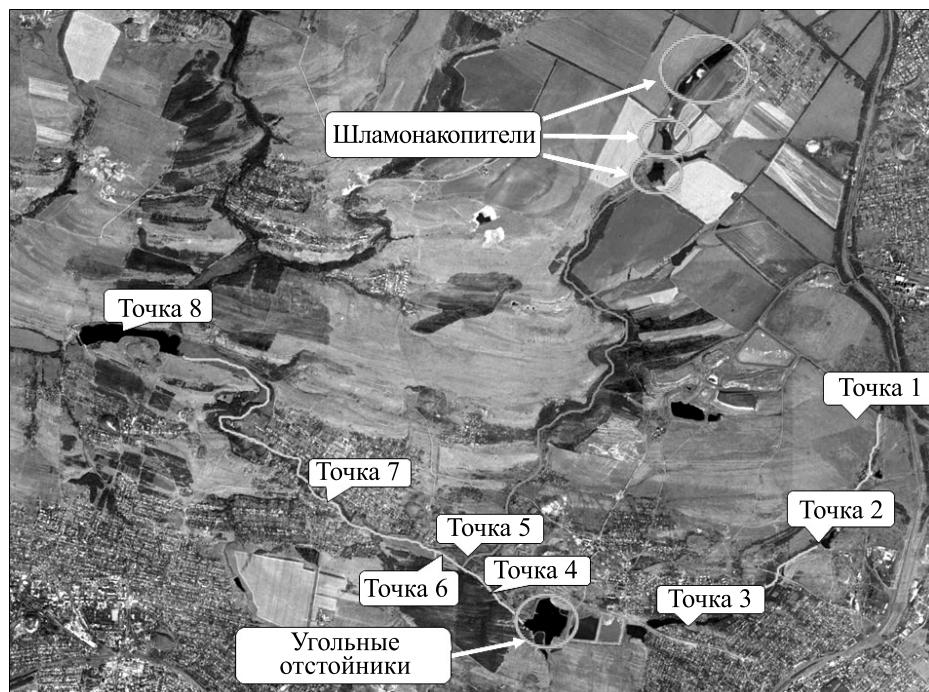
В качестве биоиндикатора, который позволяет оценить степень негативного антропогенного воздействия на окружающую среду, выделяют

Сокращения: УКИЗВ – удельный комбинаторный индекс загрязненности воды, ПДК – предельно допустимая концентрация, ФС – фотосистема.

фитопланктон [8, 9]. Высокая чувствительность к изменениям окружающей среды делает фитопланктон универсальным индикатором, способным реагировать на внесение малых концентраций загрязнителей. Одним из наиболее информативных экспресс-методов по оценке состояния фитопланктона является метод флуориметрии, позволяющий не только определять биомассу в исследуемом образце, но и анализировать функциональную активность фотосинтетического аппарата биообъекта [10–13].

Интенсивному загрязнению сточными водами угольных шахт подвергается изучаемая нами река Ольховая [14], которая является левым притоком р. Крынка (притока р. Миус, впадающей в Азовское море). Вода из р. Ольховая попадает в Ольховское водохранилище, которое является резервным. Следовательно, загрязнение реки шахтными водами, кроме гибели водного биоценоза, может сделать непригодными для использования водные ресурсы водохранилища.

При рассмотрении воздействия угольного шлама на фитопланктон данный загрязнитель представляют как колloid, состоящий из частиц различного диаметра. При достаточной плотности такой взвеси частиц образуется слой, препятствующий прохождению солнечного света в водные горизонты под ним, что и оказывает наибольшее воздействие на клетки фитопланктона.



**Рис. 1.** Карта расположения мониторинговых точек на участке русла р. Ольховая, загрязненного притока и шламонакопителей.

Затемнение водного горизонта взвешенными частицами угольного шлама может снижать скорость фотосинтетических процессов, подавлять таким образом развитие фитопланктона и, как следствие, зоопланктона. Кроме того, попадание угольных частиц в донные отложения может приводить к более длительному действию данного загрязнителя на биоту [15]. В исследованиях, описанных в работе [16], было показано, что представители родов *Ulotrix*, *Pinnularia* и *Frustulia* могут выступать в качестве биоиндикатора, отражая степень загрязнения поверхностных вод шламовыми отходами. Однако, согласно данным биотестирования на клетках *Chlorella vulgaris*, содержащиеся в шламовых отходах гуминовые кислоты могут оказывать и стимулирующее действие на рост числа клеток, что возможно при относительно низком содержании загрязнителя [17]. Также следует отметить, что данных по воздействию данного загрязнителя на функционирование фотосинтетического аппарата, а также на флуоресценцию клеток микроводорослей в литературе недостаточно.

Целью исследования являлось изучение воздействия угольных шламовых стоков на состояние фитопланктона р. Ольховая с применением метода флуориметрии.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Принимая во внимание все источники загрязнения шламовыми отходами, а также шахтными стоками, по ходу русла реки, был выбран ряд мониторинговых точек. Начальная точка № 1 располагалась у предполагаемого истока реки, точки № 2 и 3 – в местах накопления биомассы фитопланктона до попадания в поверхностные воды каких-либо источников загрязнения, № 4 – после попадания стоков из шламонакопителей, № 5 – проба из внешнего притока со шламовыми отходами, № 6 – после попадания шламовых отходов из внешнего притока, № 7 – проба, отобранная на территории поселка Ольхович, в непосредственной близости к приусадебным участкам местного населения, № 8 – переход в широкое заиленное русло, место скопления угольных отходов, попавших в русло реки. Мониторинговые точки нанесены на карту и представлены на рис. 1.

Для оценки качества воды р. Ольховая проводили измерение температуры, мутности, показателя pH, а также содержания растворенного кислорода. Концентрацию растворенного кислорода, а также температуру проб воды определяли с помощью прибора oxi:lyser E-501 (Scan Messtechnik GmbH, Австрия). Мутность проб определяли с помощью мутномера ИМП-2А (НПП «Аквастандарт-юг», Севастополь). Показатель pH в

пробах воды измеряли с помощью прибора pH-3500 производства фирмы «ЭкоЮнит» (Москва).

Химический анализ проб воды проводили на базе кафедры аналитической химии химического факультета ДонНУ. Определяли содержание  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{PO}_4^{3+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Fe}_{\text{общ}}$ ,  $\text{Mo}_{\text{общ}}$ ,  $\text{Hg}_{\text{общ}}$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ . Полученные значения сравнивали с предельно допустимыми концентрациями согласно нормативным документам [18, 19].

Для оценки качества воды определяли класс загрязненности воды на основании определения удельного комбинаторного индекса загрязненности воды (УКИЗВ), а также количество критических показателей загрязненности [18]. Для этого рассчитывали:

– баллы кратности превышения предельно допустимой концентрации (ПДК):  $K_i = C_i / \text{ПДК}_i$ ,

– баллы повторяемости случаев превышения ПДК:  $H_i = N_{\text{ПДК}_i} / N_i$ ,

– общий оценочный балл:  $B_i = K_i \cdot H_i$ ,

$$\text{– УКИЗВ: УКИЗВ} = \frac{\sum_{i=0}^n B_i}{N_i},$$

где  $C_i$  – концентрация  $i$ -го вещества в пробе воды;  $\text{ПДК}_i$  – предельно допустимая концентрация  $i$ -го вещества в пробе воды;  $N_{\text{ПДК}_i}$  – число превышений значения ПДК для  $i$ -го вещества;  $N_i$  – общее число измерений содержания  $i$ -го вещества в среде [18].

Класс загрязненности определяли согласно коэффициенту, вычисленному из следующего соотношения:  $\text{УКИЗВ}/k$ , где  $k$  – коэффициент запаса, который рассчитывается в зависимости от числа критических показателей загрязненности  $F$ , согласно выражению:  $k = 1 - 0.1F$ . По значению полученного коэффициента определяли класс загрязненности воды [18].

Сбор фитопланктона осуществляли общепринятыми методами [20]. Из реки в мониторинговых точках отбирали по 2 дм<sup>3</sup> воды. Изучение качественного состава фитопланктона проводили в препаратах раздавленной капли с помощью светового микроскопа Primo Star (Carl Zeiss, Германия). При определении видовой принадлежности микроводорослей использовали классификационные схемы, общепринятые в специализированной литературе [21].

Флуориметрический анализ проб воды проводили с помощью двух импульсных флуориметров: Phyto-PAM (Walz, Германия), а также разработанного на базе СКТБ «Турбулентность» (Донецк) макета флуориметра ФС-2.

Проводили измерение содержания хлорофилла в пробах воды, а также базовых показателей флуоресценции: уровней минимальной ( $F_0$ ), максимальной ( $F_m$ ) и переменной ( $F_v = F_m - F_0$ ) флуоресценции хлорофилла, а также квантового выхода флуоресценции ( $F_0 = (F_m - F_0)/F_m$ ) [10, 12, 22, 23].

С помощью флуориметра ФС-2 получали кривые индукции флуоресценции хлорофилла. На основании полученных кривых (см. рис. 2) и параметров ОЖР-теста [22, 24] проводили анализ состояния микроводорослей.

При анализе индукционных кривых получали следующие параметры:

$t_{F_m}$  – время, необходимое для достижения максимального уровня флуоресценции (миллисекунды);

$A_0$  или  $Area$  – площадь над индукционной кривой;

$\Phi_{p0} = (F_m - F_0)/F_m$  – максимальный квантовый выход;

$S_M = A_0 / (F_m - F_0)$  – нормированная общая площадь над кривой ОЖР (отражающая емкость пула электронных акцепторов до полного восстановления  $Q_a$ );

$V_t = (F_t - F_0)/(F_m - F_0)$  – относительная величина переменной флуоресценции в момент времени  $t$ ;

$V_J = (F_J - F_0)/(F_m - F_0)$  – относительная величина переменной флуоресценции в фазе J (после 2 мс освещения); отражает количество закрытых реакционных центров по отношению к общему числу реакционных центров, которые могут быть закрыты;

$V_I = (F_I - F_0)/(F_m - F_0)$  – относительная величина переменной флуоресценции во время фазы I (30 мс), связанная с промежуточным стационарным уровнем восстановления пула пластохинонов; отражает способность фотосистемы (ФС) I и ее акцепторов окислять  $\text{PQH}_2$ ;

$\Phi_{E_0} = (F_v/F_m) \times (1 - V_J)$  – квантовая эффективность переноса электронов от  $Q_A^-$  (при  $t = 0$ );

$\Psi_0 = (1 - V_J)$  – вероятность транспорта электронов за пределы  $Q_A^-$  (при  $t = 0$ ), т. е. эффективность, с которой экситон, захваченный реакционным центром, движет электрон по цепочке после  $Q_A$ ;

$PI = (V_{J \times \Phi_{p0}}/M_0) \times (\Phi_{p0}/(1 - \Phi_{p0})) \times (\Psi_0/(1 - \Psi_0))$  – тотальный индекс производительности – показатель функциональной активности ФС II, ФС I и цепи переноса электронов между ними [22, 24].

Статистическую обработку полученных результатов исследования проводили с помощью

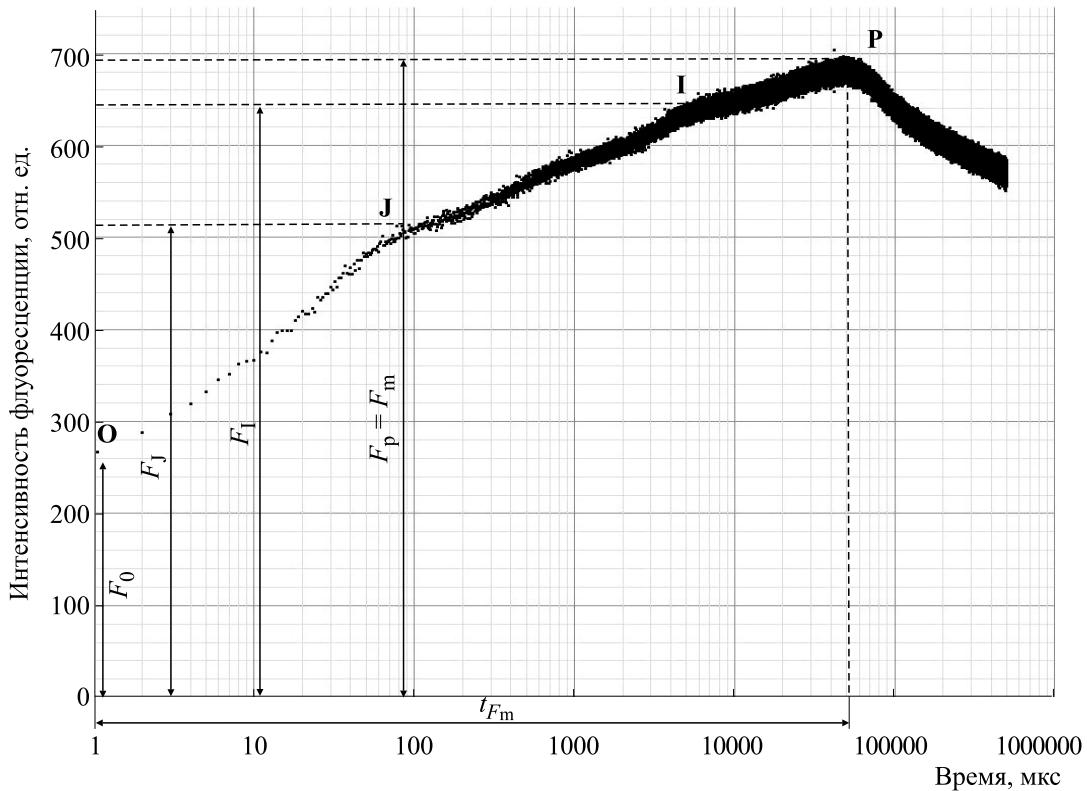


Рис. 2. Некоторые параметры кривой индукции флуоресценции (кривая измерена в мониторинговой точке 3).

программ Statistica 8 (StatSoft Inc., США) и Excel 2003 (Microsoft, США). Достоверность отличий средних значений полученных данных определяли с использованием *t*-теста и критерия Вилкоксона [6].

## РЕЗУЛЬТАТЫ

**Видовой состав альгофлоры.** Анализ видового состава проводили в следующих мониторинговых точках: № 3, которую принимали за контрольную, содержащую наибольшее количество биомассы фитопланктона; №№ 5, 7 и 8 – для оценки видового состава фитопланктона в загрязненном русле реки в условиях загрязнения при различной длительности экспозиции клеток фитопланктона. Следует отметить достаточно низкое содержание клеток фитопланктона в исследуемых образцах воды даже после концентрирования отобранных проб.

Наиболее многочисленными в мониторинговых точках № 3 и № 5 являлись представители рода *Nitzshia*, в частности *N. longissima*. Также были обнаружены клетки рода *Chlorella*, в частности *C. vulgaris*. В мониторинговых точках № 7 и № 8 (после впадения притоков) наиболее многочисленными являлись представители рода *Chlorella*, в частности *C. vulgaris*. Однако количество клеток

*N. longissima* не изменилось в сравнении с результатами, полученными в точках № 3 и № 5. Наиболее широко представлен отдел Chlorophyta, для которого были определены представители трех классов (Chlorophyceae, Treloxiophyceae, Ulvophyceae), 3 порядков (Sphaeropleales, Chlorellales, Ulotrichales), пяти семейств (Scenedesmaceae, Hydrodictyaceae, Selenastraceae, Chlorelaceae, Ulotrichaceae) и семи родов (*Coelastrum*, *Scenedesmus*, *Tetraedron*, *Monoraphidium*, *Closteriopsis*, *Chlorella*, *Ulothrix*), видовую принадлежность удалось установить лишь для шести видов.

Таким образом, в точке № 3 были обнаружены представители рода *Amphora*, *Nitzshia*, *Chlorella* и *Monoraphidium*, до вида были определены *Nitzshia longissima* и *Chlorella vulgaris*; в точке № 5 – представители родов *Ulothrix* и *Merismopedia*; в точке № 7 – представители родов *Pinnularia*, *Chlorella*, *Nitzshia*, *Stephanodiscus*, *Closteriopsis*, *Amphora*, *Coelastrum*, *Tetraedron*, *Scenedesmus*, до вида были определены *Nitzshia longissima*, *Chlorella vulgaris*, *Closteriopsis longissima*, *Coelastrum micronium*, *Tetraedron minimum*, *Scenedesmus quadricauda*; в точке № 8 – представители родов *Chlorella*, *Nitzshia*, *Stephanodiscus* и *Scenedesmus*, до вида были определены *Nitzshia longissima*, *Chlorella vulgaris* и *Scenedesmus quadricauda*.

Перечень физико-химических параметров проб воды р. Ольховая

Наименование показателя	Точка № 1	Точка № 3	Точка № 4	Точка № 5	Точка № 6	Точка № 7	ПДК, мг/л [19]	УКИЗВ
Температура, °С	24.6	24.2	24.9	22.2	22.2	23.2	—	—
Мутность, отн. ед.	2.52	5	4.88	5.02	4.92	6.6	—	—
Растворенный O <sub>2</sub> , мг/л	5.08	5.44	5.45	5.46	5.43	5.42	>4	—
pH	8.00	8.35	8.40	8.20	8.40	8.40	8.5	—
Na <sup>+</sup> , мг/л	<b>510</b>	<b>482</b>	<b>462</b>	<b>494</b>	<b>508</b>	<b>516</b>	200	2.48
K <sup>+</sup> , мг/л	134	127	122	130	134	136	—	—
Pb <sup>2+</sup> , мкг/л	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	<0.2	0.01	—
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , мг/л	<10	<10	<10	<10	<10	<10	45	—
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , мг/л	<1	<1	<1	<1	<1	<1	3.3	—
PO <sub>4</sub> <sup>3+</sup> , мг/л	0.1	0.2	0.33	0.18	0.36	0.26	3.5	—
Mg <sup>2+</sup> , мг/л	<b>55</b>	<b>54</b>	<b>55</b>	<b>63</b>	<b>62</b>	<b>61</b>	50	1.17
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , мг/л	952	909	878	805	903	903	—	—
Fe <sub>общ</sub> , мг/л	0.11	0.11	0.1	0.08	0.09	0.11	0.3	—
Ca <sup>2+</sup> , мг/л	29	40	24	20	22	20	—	—
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , мг/л	<b>632</b>	<b>609</b>	<b>612</b>	<b>784</b>	<b>655</b>	<b>729</b>	500	1.34
Cl <sup>-</sup> , мг/л	145	148	145	130	159	148	отс.	—
Co <sup>2+</sup> , мкг/л	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	0.1	—
Cd <sup>2+</sup> , мг/л	<b>0.009</b>	<b>0.007</b>	<b>0.008</b>	<b>0.009</b>	<b>0.01</b>	<b>0.009</b>	0.001	8.7
Mo <sub>общ</sub> , мкг/л	<10	<10	<10	<10	<10	<10	0.25	—
Hg <sub>общ</sub> , мкг/л	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	0.0005	—

Примечание. Полужирным шрифтом выделены значения, превышающие ПДК для соответствующих веществ.

В мониторинговой точке № 8 биоразнообразие значительно снижалось. Однако основные доминантные виды сохранились, что указывает на их устойчивость к воздействию шламовых стоков, тогда как остальные виды являются чувствительными к данному типу загрязнения, которое вызывало их гибель.

Таким образом, снижение биомассы фитопланктона по ходу русла р. Ольховая связано с гибеллю представителей родов *Coelastrum*, *Tetraedron*, *Monoraphidium*, *Closteriopsis*, *Ulotrix*, *Amphora*, *Pinnularia*, *Merismopedia*, обладающих чувствительностью к загрязнению шламовыми стоками, тогда как представители рода *Nitzshia*, *Chlorella* и *Scenedesmus* обладают некоторой устойчивостью к данному роду загрязнениям.

**Физико-химические показатели проб воды.** Результаты анализа физико-химических параметров проб воды представлены в таблице.

Для всех проб была характерна высокая степень минерализации. Показатели pH не превышали нормы, однако в точках № 6 и № 7 колебались около максимальной границы. Содержание растворенного кислорода не изменялось по ходу русла реки и не выходило за границы нормальных значений. Содержание ионов тяжелых металлов было значительно ниже предельно допустимых, кроме концентраций Cd<sup>2+</sup>. Содержание ионов Cd<sup>2+</sup> превышало показатели ПДК в семь-десять раз (см. таблицу).

В сравнении с первым этапом исследования [14] сохранилось превышение ПДК по сульфатам

и количеству взвешенных частиц. Также превышение предельных концентраций наблюдалось для натрия и магния (см. таблицу). Наблюдалось двукратное повышение мутности проб при попадании шламовых загрязнений. Следует отметить повышение мутности пробы в точке № 7, которое обусловлено накоплением угольной взвеси в донных отложениях реки, а также скопления шламовых отходов на водных растениях. В литературных источниках не указан четкий механизм воздействия угольной взвеси на клетки фитопланктона. Однако значительное повышение мутности проб приводит к снижению количества солнечного света, потребляемого клетками фитопланктона, что приводит к снижению их фотосинтетической активности [15].

Согласно нормативному документу [19], не установлены нормы контроля для  $K^+$  и  $Ca^{2+}$ . Однако содержание  $K^+$  оставалось высоким во всех мониторинговых точках. Содержание биогенных веществ ( $NO_3^-$ ,  $NO_2^-$  и  $PO_4^{3+}$ ) оставалось низким на протяжении всего исследуемого участка русла, что может обуславливать лимитирование скорости нарастания биомассы фитопланктона.

Согласно полученным значениям УКИЗВ для каждого из веществ, воду в русле реки можно характеризовать как очень грязную (класс 4, разряд 6) [18].

**Флуориметрический анализ проб воды.** Содержание суммарного хлорофилла в пробах воды возрастало от мониторинговой точки № 1 до № 3 (см. рис. 3).

В начальной точке, у истока реки содержание хлорофилла было низким – около 0.2 мг/л. Значительное нарастание биомассы фитопланктона обусловлено двумя русловыми водоемами, в которых значительно снижалась скорость течения, создавая благоприятные условия для размножения микроводорослей (см. рис. 1 – мониторинговые точки № 2 и № 3). Снижение исследуемого показателя в точке № 4 обусловлено воздействием шламовых сбросов. Пробы воды в мониторинговой точке № 5 (загрязненный приток) характеризовались низким содержанием хлорофилла. После впадения загрязненного шламовыми и шахтными водами притока в р. Ольховая происходило постепенное снижение концентрации суммарного хлорофилла от точки № 6 до точки № 8 (см. рис. 3).

В результате анализа кривых индукции флуоресценции с помощью ОЖР-теста был получен ряд показательных тест-функций:  $F_0$ ,  $F_m$ ,  $Area$ ,  $\Phi_0$ ,  $t_{Fm}$ ,  $\Psi_0$ ,  $PI$ ,  $\Phi_{E0}$ . Изменения остальных параметров статистической значимости не имели.

Изменение уровней минимальной и максимальной флуоресценции, а также площади над

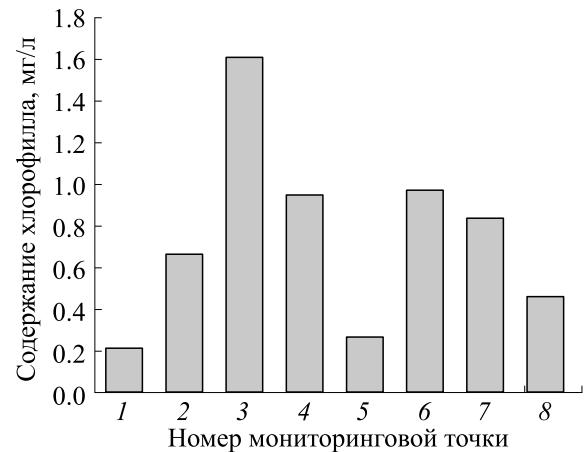


Рис. 3. Изменение содержания суммарного хлорофилла в мониторинговых точках р. Ольховая.

кривой индукции флуоресценции происходило сходно с изменением содержания хлорофилла в пробах воды – нарастание показателей в мониторинговой точке № 3, затем снижение в точке № 4 под воздействием загрязнения, с последующим снижением всех параметров в точках №№ 6–8 после впадения загрязненного притока в русло реки (см. рис. 4а).

Снижение уровня максимальной флуоресценции ( $F_m$ ) связано как со снижением общей интенсивности сигнала флуоресценции в результате гибели части клеток фитопланктона, так и с уменьшением числа реакционных центров ФС II, способных передавать поглощенную световую энергию по электрон-транспортной цепи. Снижение уровня минимальной флуоресценции ( $F_0$ ) может быть связано с уменьшением содержания хлорофилла в пробах воды (см. рис. 4а). Изменение параметра  $Area$  связано со снижением интенсивности сигнала флуоресценции также в результате уменьшения содержания хлорофилла в пробах воды (см. рис. 4б).

Уменьшение параметра  $t_{Fm}$ , времени нарастания флуоресценции до пика Р (соответствующего значению  $F_m$ ), указывает на снижение амплитуды данного пика (см. рис. 5а). Снижение показателей квантовой передачи ( $\Psi_0$ ) и эффективности переноса ( $\Phi_{E0}$ ) электронов от первичного акцептора по электрон-транспортной цепи в сравнении со значениями в мониторинговой точке № 3 указывает на ингибирование функций реакционных центров [22] (см. рис. 5б). Переносчики электронов  $Q_A$  под воздействием факторов внешней среды не способны эффективно передавать поглощенную световую энергию, что приводит к замедлению протекания фотосинтетических реакций и усилению процессов тепловой диссипации.

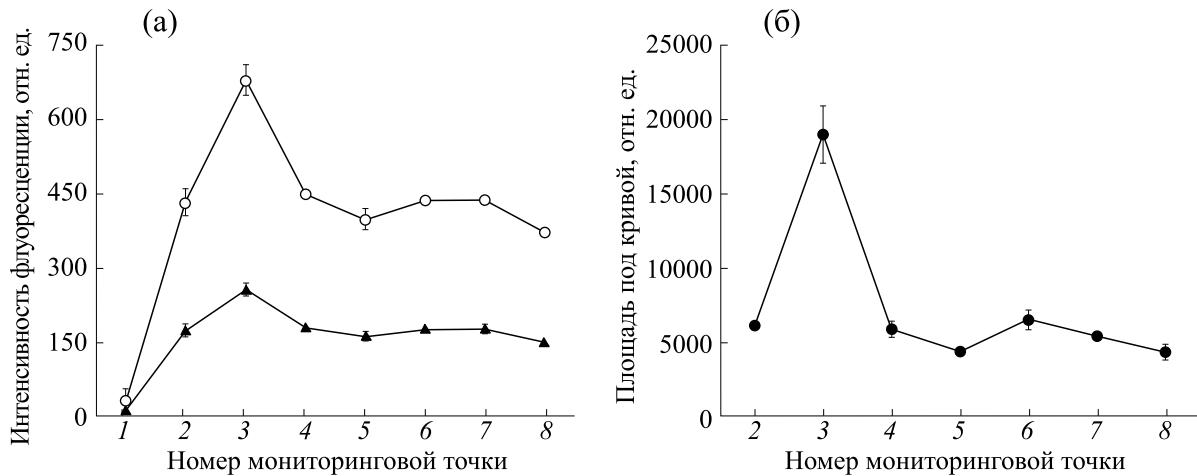


Рис. 4. (а) – Изменение уровня минимальной ( $F_0$ , треугольники) и максимальной ( $F_m$ , кружки) флуоресценции хлорофилла; (б) – изменение общей площади под кривой индукции флуоресценции.

Показатели общей фотосинтетической продуктивности в исследуемых пробах воды – квантовый выход флуоресценции клеток фитопланктона ( $\Phi_0$ ), а также тотальный индекс производительности ( $PI$ ) – снижались относительно значений, полученных в точке № 3 (см. рис. 5а, б).

Значения  $\Phi_0$  и  $PI$  в точке № 8 соответствовали таковым в загрязненном шламовыми стоками притоке (точка № 5). Несмотря на попадание фитопланктона из чистых притоков, между точками № 6 и № 7 происходило быстрое угнетение функционирования клеток. Индекс производительности ( $PI$ ) фитопланктона принимал достаточно низкие значения во всех отобранных пробах воды.

Все полученные в результате ОЖР-теста параметры согласуются между собой, а также с результатами анализа химического состава проб воды и указывают на негативное воздействие шламовых загрязнений на фитопланктон р. Ольховая, вызываая угнетение фотосинтетической активности.

## ВЫВОДЫ

Снижение биомассы фитопланктона по ходу русла реки Ольховая связано с гибеллю представителей родов *Coelastrum*, *Tetraedron*, *Monoraphidium*, *Closteriopsis*, *Ulothrix*, *Amphora*, *Pinnularia*, *Mermistopedia*, обладающих чувствительностью к загрязнению шламовыми стоками, тогда как представители рода *Nitzschia*, *Chlorella* и *Scened-*

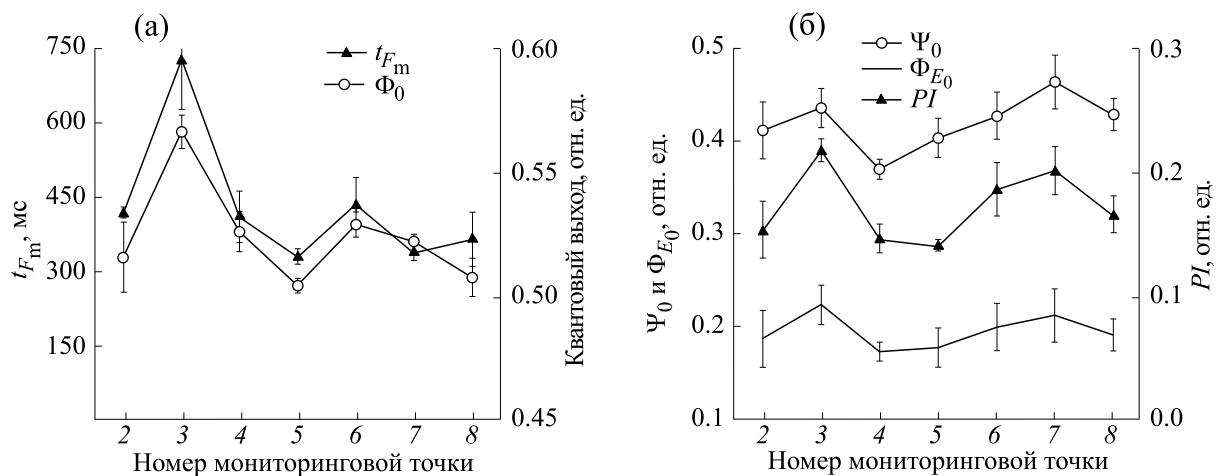


Рис. 5. (а) – Изменение значений квантового выхода ( $\Phi_0$ ) и параметра  $t_{Fm}$  в мониторинговых точках; (б) – изменение показателя вероятности передачи электронов от первичного переносчика ( $\Psi_0$ ), тотального индекса производительности ( $PI$ ), а также показателя квантовой эффективности переноса электронов от первичного переносчика  $\Phi_{E0}$  в мониторинговых точках.

*estus* обладают некоторой устойчивостью к шламовым загрязнениям.

В сравнении с первым этапом исследования [14] сохранилось превышение ПДК по сульфатам и количеству взвешенных частиц. Также превышение предельных концентраций наблюдалось для натрия, магния и кадмия. Пробы воды содержали низкие концентрации биогенных веществ. Согласно значениям УКИЗВ для каждого из веществ, воду в русле реки можно характеризовать как очень грязную (класс 4, разряд б).

Наибольшее содержание хлорофилла ( $1.60 \pm 0.03$  мг/л) наблюдалось в мониторинговой точке № 3 (до попадания шламовых стоков), тогда как после впадения загрязненного притока, а также попадания загрязнения в русло реки из шламонакопителей происходило постепенное снижение концентрации суммарного хлорофилла до  $0.462 \pm 0.013$  мг/л (в загрязненном притоке данный показатель не превышал  $0.266 \pm 0.012$  мг/л).

Попадание шламовых отходов приводило к снижению уровня максимальной ( $F_m$ ) и минимальной ( $F_0$ ) флуоресценции, что может быть связано со снижением общей интенсивности сигнала флуоресценции в результате гибели части клеток фитопланктона, а также уменьшением числа реакционных центров ФС II, способных поглощать и передавать поглощенную световую энергию по электрон-транспортной цепи. Кроме того, загрязнение приводит к снижению показателей эффективности функционирования фотосинтетического аппарата клеток фитопланктона, что указывает на ингибирование функций реакционных центров.

Поскольку в исследуемых мониторинговых точках не происходило смены доминантных форм фитопланктона, снижение параметров кривых индукции флуоресценции хлорофилла связано, прежде всего, с воздействием шламового загрязнения.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Коллектив авторов выражает благодарность старшему преподавателю кафедры ботаники и экологии биологического факультета Донецкого национального университета Э. И. Мирненко за помощь в определении видового состава фитопланктона в исследуемых пробах воды.

## 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. А. И. Гавришин, Успехи современного естествознания **10**, 102 (2016).
2. А. И. Гавришин, Фундаментальные исследования **11**, 2465 (2014).
3. E. G. Gorlov, O. G. Safiev, and A. I. Seregin, Solid fuel chemistry **42** (1), 46 (2008).
4. Е. И. Захаров, Н. М. Качурин и И. И. Мохначук, Изв. Тульского гос. университета. Науки о земле **2**, 58 (2012).
5. А. П. Красавин, Защита окружающей среды в угольной промышленности (Недра, М., 1991).
6. Г. А. Соловьев, Е. В. Жбырь, А. В. Папин и др., Изв. Томского политехнич. университета **310** (1), 139 (2007).
7. А. В. Папин, Г. А. Соловьев, А. Н. Заостровский и др., Вестн. Кузбасского гос. технич. университета **2** (39), 86 (2004).
8. K. Trishala Parmar, D. Rawtani, and Y. K. Agrawal, Front. Life Sci. **9**, 110 (2016).
9. Д. Н. Маторин и А. Б. Рубин, Флуоресценции хлорофилла высших растений и водорослей (ИКИ-РХД, Ижевск, 2012).
10. G. C. Papageorgiou and Govindjee, *Chlorophyll fluorescence: a signature of photosynthesis* (Springer, The Netherlands, Dordrecht, 2004).
11. U. Schreiber, W. Bilger, and C. Neubauer, Ecophysiol. Photosynthesis **100**, 49 (1994).
12. Д. Ю. Корнеев, Информационные возможности метода индукции флуоресценции хлорофилла (Альтерпрес, Киев, 2002).
13. В. А. Осипов, Г. М. Абдурахманов, А. А. Гаджиев и др., Юг России: экология, развитие **7** (2), 93 (2012).
14. С. В. Беспалова, С. В. Чуфицкий, С. М. Романчук и др., Проблемы экологии и охраны природы техногенного региона **3–4**, 152 (2018).
15. C. Jaffrennou, L. Stephan, P. Giamarchi, et al., J. Fluorescence **17**, 564 (2007).
16. T. E. Weakly, Hydrobiologia **97**, 97 (1982).
17. S. L. Hoeffner and S. E. Manahan, J. Environ. Sci. Health. Part A: Environmental Science and Engineering **15** (2), 149 (1980).
18. РД 52.24.643-2002 Метод комплексной оценки степени загрязнения поверхностных вод по гидрохимическим показателям (Федеральная служба по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды, 2013).
19. ГН 2.1.5.1315-03 Предельно допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в воде водных объектов

- тov хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования* (2003).
20. И. Г. Радченко, В. И. Капков и В. Д. Федоров, *Руководство по сбору и анализу проб морского фитопланктона* (Мордвинцев, М., 2010).
  21. А. В. Топачевский и Н. П. Масюк, *Пресноводные водоросли Украинской ССР* (Наук. думка, Киев, 1984).
  22. В. Н. Гольцов, 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).
  23. K. Maxwell and G. N. Johnson, *J. Exp. Bot.* **51** (345), 659 (2000).
  24. R. J. Strassner, A. Srivastava, and M. Tsimilli-Michael, *Probing Photosynthesis: Mechanism, Regulation & Adaptation* (Taylor & Francis, London, 2000).
  25. Д. А. Новиков и В. В. Новочадов, *Статистические методы в медико-биологическом эксперименте* (ВолГМУ, Волгоград, 2005).

## Fluorescence Analysis of Coal Slurry Pollution Effects on Phytoplankton

S.V. Bespalova, S.M. Romanchuk, S.V. Chufitskiy, V.V. Perebeinos, and B.A. Gotin

*Donetsk National University, ul. Schorsa 46, Donetsk, 283050*

This paper reports the results of biomonitoring of pollutant inputs to the Olkhovaya river. Coal slurry pollution effects on the state of surface waters are shown. The results obtained after the analysis of physico-chemical parameters of the Olkhovaya river show that the water has poor quality, is contaminated with a large number of suspended coal particles, the content of which significantly exceeded the threshold limit values. A decrease in the chlorophyll content in water samples, taken after water pollution from coal slurry spilled into the river bed, was observed using the fluorescence analysis. The paper presents the results of the analysis of chlorophyll fluorescence induction curves. It was found that contamination with coal slurry leads to alterations in primary photosynthetic reactions of phytoplankton cells.

*Keywords:* fluorimetry, phytoplankton, slurry accumulators, bioindication