

ПРИМЕНЕНИЕ флуориметрического метода ДЛЯ БИОИНДИКАЦИИ КАЧЕСТВА ВОД

В течение 2007-2010 гг. проводился мониторинг экологического состояния р. Каменка (бассейн р. Волга) на основе данных флуоресцентного анализа речной воды. Оценка осуществлялась по параметрам флуоресценции хлорофилла, отражающим состояние фотосинтетического аппарата (ФСА) речного фитопланктона. По эффективности фотосинтеза речного фитопланктона были выявлены благоприятные и токсичные участки реки. Применение флуориметра «МЕГА-25» позволило оперативно и с высокой точностью оценить воздействие гидротехнических работ по расчистке и дноуглублению участка р. Каменка, проводимых в 2008-2009 гг.



Введение

Выбор р. Каменка в качестве объекта исследования представляет большое значение для мониторинга малых водоемов Владимирской области. Река Каменка относится к бассейну р. Волга и является правым притоком р. Нерль, используемой в качестве источника централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения г. Владимира. На примере Владимирской области становится ясно, что систематический контроль охватывает лишь крупные водохозяйственные объекты. Небольшие водные объекты контролируются не систематически или не контролируются вообще. Отсутствие контроля качества воды притоков создает риск загрязнения водоисточников.

По данным Департамента природопользования и охраны окружающей среды Владимирской области вода рек признана наиболее грязной по сравнению с другими водными объектами, тогда как именно реки являются основными источниками воды для системы централизованного коммунально-бытового и промышленного водоснабжения региона [1]. Поэтому контроль качества питьевой воды и мониторинг состояния водоисточников представляют собой акту-

А.В. Кузнецова*,
аспирант кафедры
биофизики
биологического
факультета
Московского
государственного
университета имени
М.В. Ломоносова

И.Ю. Винокуров,
кандидат химических
наук, доцент кафедры
химии факультета
химии и экологии
Владимирского
государственного
университета имени
А.Г. и Н.Г. Столетовых

альную задачу для обеспечения безопасности здоровья населения и благоприятных условий санитарно-бытового водопользования.

Для решения этой задачи необходимо внедрение наиболее чувствительных, экспрессных и недорогих методов анализа воды в систему муниципального экологического контроля.

В настоящее время достигнуты большие успехи в использовании флуоресцентных методов для оценки функционального состояния фотосинтетического аппарата (ФСА) растений и водорослей. Эти методы обладают высокой чувствительностью, точностью, производительностью, позволяют проводить измерения на растительных объектах в природных условиях в режиме реального времени, что очень важно для решения экологических проблем [2-16].

Различные спектральные и люминесцентные методы 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

* Адрес для корреспонденции: alya_kuznetsova@mail.ru

влияние на фотосинтетический аппарат водорослей, что в итоге уменьшает продуктивность всей водной экологической системы [7].

Применение флуориметрического метода для биомониторинга влияния загрязнений на фитопланктонные популяции в природных водоемах имеет важное практическое значение для осуществления экологического контроля. Результаты зондирования подобной аппаратурой фитопланктона оз. Байкал вблизи сброса вод с целлюлозного комбината (ЦБК, г. Байкальск), наглядно продемонстрировали аномалии в распределении фитопланктона, его фотосинтетической активности и температуры вблизи сброса вод [16]. При исследовании р. Москвы флуоресцентным методом отмечено существенное ингибирование фотосинтетической активности фитопланктона в местах сброса сточных вод [8]. Снижение фотосинтетической активности при постоянной обилии фитопланктона регистрировали также при исследовании микроводорослей в заливах оз. Иссык-Куль, где были обнаружены пороговые концентрации некоторых тяжелых металлов [16]. Полученные результаты свидетельствуют о возможности определения загрязненности вод на ранних стадиях загрязнения, когда концентрация водорослей заметно не снижается.

Использование флуориметра «МЕГА-25» для оценки экологического состояния водных объектов имеет ряд преимуществ.

Высокая скорость измерения позволяет анализировать получаемую информацию в режиме реального времени и оперативно реагировать на нежелательные изменения состояния водных экосистем. Использование на флуориметре «МЕГА-25» специального программного обеспечения и проточной

С.И. Погосян,
доктор
биологических наук,
профессор кафедры
биофизики биологического факультета
Московского
государственного
университета имени
М.В. Ломоносова

измерительной камеры обеспечивают производство непрерывных автоматических измерений в протоке [8].

Система непрерывного контроля с использованием флуориметра «МЕГА-25» позволяет проследить появление в воде токсических веществ, влияющих на состояние ФСА фитопланктона. В данном случае фитопланктон является биоиндикатором экологического состояния природной воды.

Материалы и методы исследования

Река Каменка – водоем рыбохозяйственного значения, протекает по Владимирской области и имеет длину 47 км. Исследовали участок в нижнем течении реки в районе г. Суздаль длиной 14 км. Пробоотбор производили в 5-6 пунктах в зависимости от программы мониторинга в соответствии с требованиями ГОСТ Р 51592-2000 «Вода. Общие требования к отбору проб». Пункты отбора проб: 1 – Плотина (ГТК) (0-й км); 2 – Спасо-Ефимиевский монастырь (2-й км); 3 – улица Шмидта (5-й км); 4 – Музей деревянного зодчества (9-й км); 5 – улица Ленина (мост) (10-й км); 6 – Васильевский омут (14-й км). Анализ речной воды проводился в лабораторных условиях с помощью флуориметра «МЕГА-25». Ошибка измерений не превышала 3 %. Параметры флуоресценции изменялись в пределах ошибки измерения в течение 1-2 суток.

В апреле 2008 г., благодаря участию Центра контроля воды МУП «Владимирводоканал», проводился гидрохимический мониторинг р. Каменка. Данные по составу и количеству загрязнений речной воды приведены в *табл. 1*.

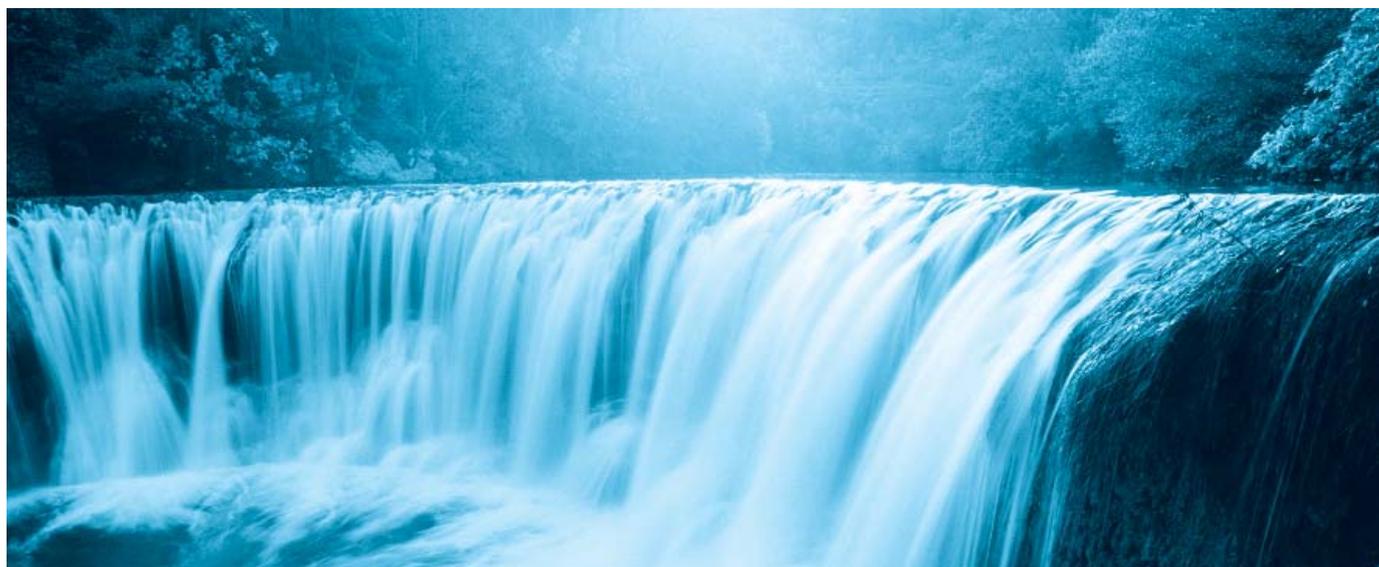


Таблица 1

Состав и количество загрязняющих веществ

Определяемый показатель	Концентрация, мг/дм ³				
	Номер пробы				
	1	3	4	5	6
Cl ⁻	11,8	11,3	11,2	12,0	13,8
SO ₄ ²⁻	12,9	15,4	16,7	15,0	14,6
Fe ²⁺ , Fe ³⁺	0,224*	0,235*	0,198*	0,226*	0,167*
Cu ²⁺	0,0185*	0,001**	0,001**	0,001**	0,001**
Ni ⁺	0,0	0,0136*	0,0	0,0100**	0,0
Zn ²⁺	0,0	0,0206*	0,042*	0,0	0,0
Cr ³⁺	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Cr ⁶⁺	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Cd ²⁺	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Al ³⁺	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Нефтепродукты	0,0204	0,0213	0,0130	0,0162	0,0296
C ₆ H ₅ OH	0,0	0,0	0,0	0,003*	0,0
HCOH	0,0	0,0	0,0036	0,0078	0,0
CH ₃ COCH ₃	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
CH ₃ OH	0,030	0,0	0,0	0,030	0,0
Кислоты жирного ряда	1,49*	1,20*	2,09*	1,20*	1,79*
CN ⁻	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Жиры	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Температура, °C	13	13	13	13	12
Водородный показатель, ед. рН	7,10	6,90	7,05	7,15	7,20
Взвешенные вещества	13,3	12,6	12,4	8,1	9,6
БПК ₅ , мгО ₂ /дм ³	1,49	1,21	1,0	1,33	1,63
ХПК, мг/дм ³	25,1	22,0	21,7	16,3	17,4
Растворенный О ₂	9,13*	9,98*	9,14*	9,02*	8,50*
NH ₃ и NH ₄ ⁺ (суммарно)	0,179	0,176	0,165	0,43*	0,46*
NO ₃ ⁻	0,72	1,08	1,15	1,72	2,99
NO ₂ ⁻	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
PO ₄ ³⁻	0,0480	0,0500	0,0580	0,0530	0,0570
АПАВ	0,058*	0,190*	0,0118*	0,0218*	0,0135*
НПАВ	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

* – Уровень загрязнения, превышающий ПДК

** – Уровень загрязнения, равный ПДК



Фитопланктон – удобный объект индикации экологического благополучия, поскольку является основой цепи питания в водной экосистеме. Загрязнение природных вод оказывает прямое влияние на состояние ФСА фитопланктона. Используя эту зависимость, с помощью флуоресцентного метода можно дать интегральную оценку загрязнения природных вод по фотосинтетической активности фитопланктона. Для этого обычно используют два параметра – переменная флуоресценция F_v/F_m , связанная с эффективностью фотосинтеза (ЭФ) и фоновая флуоресценция F_0 , связанная с обилием фитопланктона [2-16].

Основа флуоресцентных методов состоит в том, что хлорофилл, находящийся в фотосинтетических мембранах, при фотовозбуждении испускает флуоресценцию, которая регистрируется специальным прибором – флуориметром «МЕГА-25». Возбуждение флуоресценции происходит сверхярким светодиодом при длине волны 455 нм, а регистрация флуоресценции проводится в области длин волн ≥ 670 нм. Устройство и принцип работы флуориметра «МЕГА-25» подробно описаны в работе [8]. В условиях эффективной работы ФСА реакционные центры (РЦ) находятся в рабочем (открытом) состоянии, квантовый выход флуоресценции не превосходит 1,5 % и интенсивность флуоресценции имеет небольшую величину (F_0). В этих условиях энергия электронного возбуждения хлорофилла практически полностью используется в первичных стадиях фотосинтеза. Флуоресценция хлорофилла существенно возрастает и достигает максимальных значений (F_m) при достижении насыщения фотосинтеза, когда РЦ переходят в неактивное (закрытое) состояние. Потенциальную ЭФ оценивают по изменению интенсивности флуоресценции хлорофилла при переходе ФСА из состояния полной готовности к утилизации энергии квантов света в состояние полного насыщения фотосинтеза. Разницу между интенсивностями флуоресценции хлорофилла при закрытых и открытых РЦ ($F_v = F_m - F_0$) называют переменной флуоресценцией (F_v) хлорофилла в клетках. На практике оценивают отношение F_v/F_m , которое является безразмерной энергетической характеристикой ЭФ и не зависит от видовой специфики организма [7]. Экспериментально показано, что переменная флуоресценция F_v/F_m может достигать значения 0,84 отн.ед. При значении F_v/F_m ниже 0,3 отн.ед. считается, что ЭФ невысокая вследствие нарушения функционирования ФСА, которое может быть вызвано неблагоприятными факторами среды [16].

Ключевые слова: Результаты и их обсуждение

биомониторинг,
качество воды,
флуоресцентный
метод,
флуориметр
«МЕГА-25»,
эффективность
фотосинтеза
фитопланктона

Апрель 2007 г. (рис. 1): F_v/F_m изменяется в диапазоне от 0,06 до 0,55 отн.ед. Наиболее токсичный участок выявлен в пункте 2-й км, где F_v/F_m составляет 0,06 отн.ед., что ниже критической отметки более чем в 3 раза.

Токсичность выявлена также в пункте 0-й км, где F_v/F_m составляет 0,18 отн.ед., что также ниже критической отметки. Ситуация интересна тем, что в этих пунктах очень высокий показатель обилия фитопланктона. Проведенные другими авторами исследования показали, что во многих водоемах максимальная ЭФ не всегда совпадает с максимумом концентрации фитопланктона, зачастую это зависит от условий минераль-

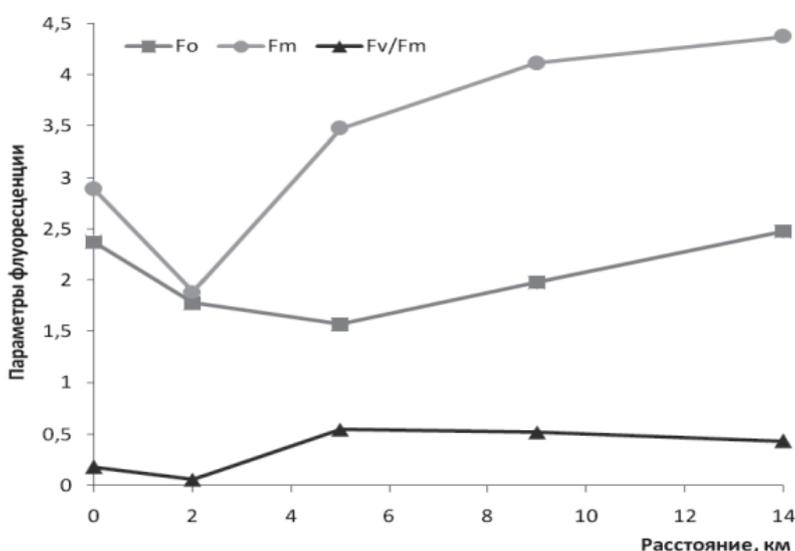


Рис. 1. Изменение параметров флуоресценции фитопланктона по результатам биоиндикации воды р. Каменка в апреле 2007 г.

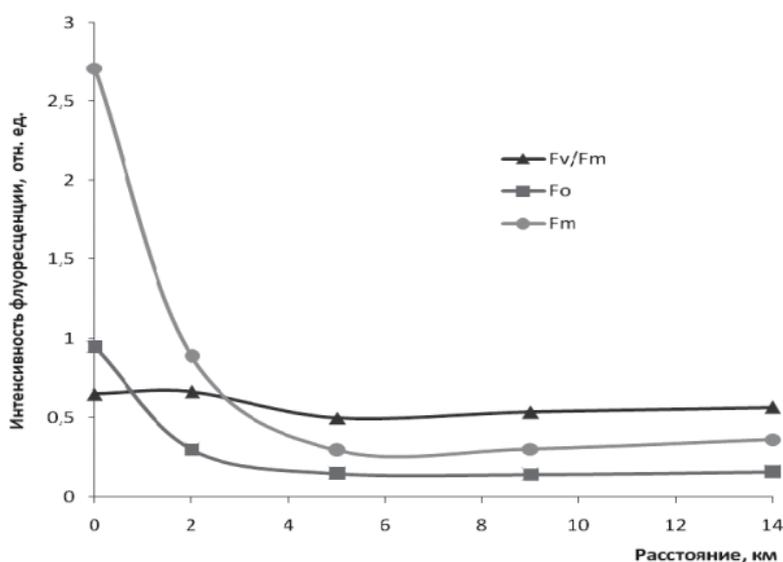


Рис. 2. Изменение параметров флуоресценции фитопланктона по результатам биоиндикации воды р. Каменка в сентябре 2007 г.

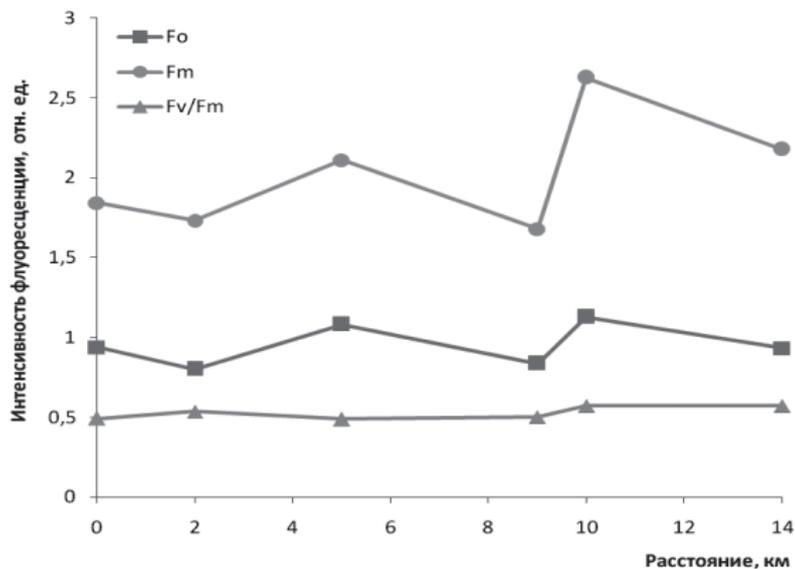


Рис. 3. Изменение параметров флуоресценции фитопланктона по результатам биоиндикации воды р. Каменка в апреле 2008 г.

ного питания. В нашей ситуации это может означать, что популяция фитопланктона находится на стадии стагнации, когда изменение численности фитопланктона еще не произошло, а ФСА фитопланктона уже отреагировал на токсичность среды снижением ЭФ.

Сентябрь 2007 г. (рис 2): Fv/Fm изменяется равномерно и имеет высокие значения в пределах от 0,5 до 0,66 отн.ед.

По-прежнему в пунктах 0-й и 2-й км наблюдается высокий показатель обилия фитопланктона относительно других исследуемых пунктов, которому, по сравнению с весенними данными, соответствуют высокие значения ЭФ, что свидетельствует об улучшении экологической ситуации.

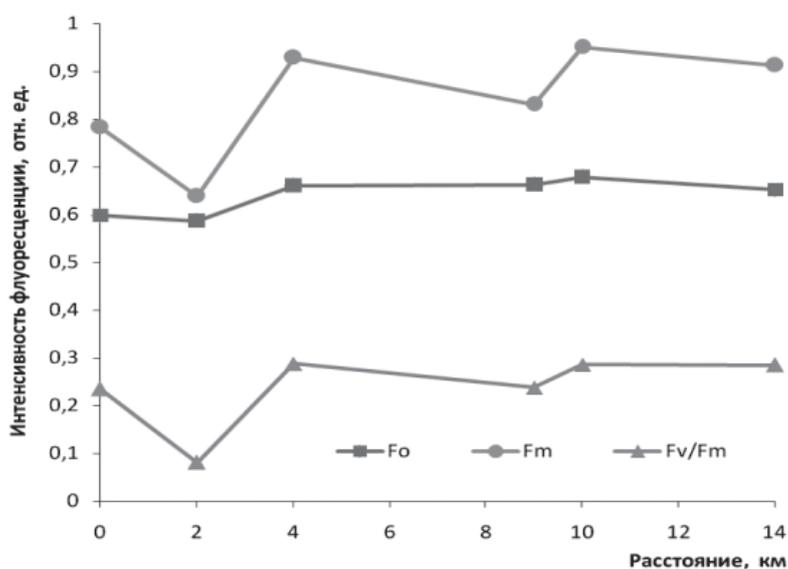


Рис. 4. Изменение параметров флуоресценции фитопланктона по результатам биоиндикации воды р. Каменка в сентябре 2008 г.

Апрель 2008 г. (рис. 3): Изменение показателя обилия фитопланктона происходит скачкообразно, что не удивительно для динамичной речной экосистемы.

По ЭФ экологическую ситуацию на исследуемом участке реки можно считать благоприятной, так как Fv/Fm изменяется в диапазоне 0,47-0,57 отн.ед. По данным гидрохимических исследований (табл. 1) был рассчитан индекс загрязненности воды (ИЗВ) [17], в соответствии с которым воду в р. Каменка можно отнести к классу качества «очень грязная». Многократные исследования показали, что реакции живых систем на разнообразные химические и физические факторы и их сочетание характеризуются такими особенностями, как интегральность и кумулятивность множества воздействий, парадоксальные эффекты слабых доз на организмы животных и растений, наличие цепных процессов и отдаленных последствий локальных влияний на различные «этажи» сложноорганизованных экосистем [18]. В связи с этим, опираясь только на ПДК загрязняющих веществ и рассчитанный на их основе ИЗВ, оценка экологической ситуации в водоеме не всегда может оказаться объективной.

Сентябрь 2008 г. (рис. 4): По состоянию ФСА фитопланктона отражается неблагоприятная ситуация на всем исследуемом участке реки.

ЭФ во всех пунктах очень низкая, ниже 0,3 отн.ед. Наиболее острая токсичность воды выявлена в пункте 2-й км. Здесь наблюдается ярко выраженный минимум по параметрам флуоресценции, Fv/Fm=0,081 отн.ед. Снижение ЭФ, скорее всего, произошло под

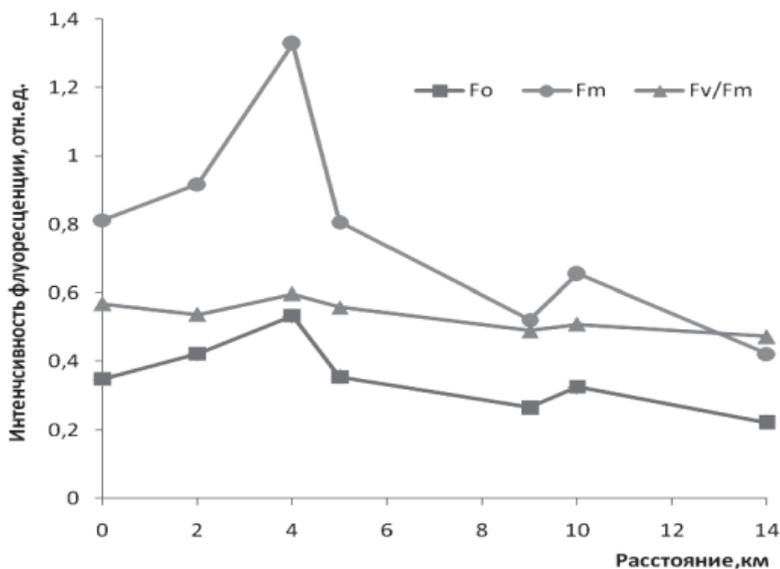


Рис. 5. Изменение параметров флуоресценции фитопланктона по результатам биоиндикации воды р. Каменка в апреле 2009 г.



воздействием гидротехнических работ по расчистке и углублению дна р. Каменка, которые на момент исследований уже длились больше 2-х месяцев.

Апрель 2009 г. (рис. 5): По сравнению с осенними данными ситуация значительно улучшилась. ЭФ повысилась во всех пунктах, ее значения изменяются в диапазоне от 0,47 до 0,57.

На момент исследований гидротехнические работы над углублением и расчисткой русла реки были приостановлены и не проводились в течение 6 месяцев, что говорит о возможности восстановления ФСА и биомассы фитопланктона за это время и проявлении в результатах заметного улучшения.

Апрель 2010 г. (рис. 6): Чрезвычайно низкие показатели ЭФ наблюдали в пунктах 0, 2 и 9-й км.

В целом на всем исследуемом участке реки показатели ЭФ были ниже 0,3 отн.ед., что свидетельствует о токсичности воды и неблагоприятном действии гидротехнических работ на гидрофауну р. Каменка в целом. Известно, что качество воды притоков зависит от процессов, в том числе антропогенных, происходящих на водосборных площадях. Основные антропогенные факторы негативного воздействия на водные объекты бассейна р. Каменка и их водосборные площади:

высокая концентрация поголовья крупного рогатого скота; интенсивное ведение земледелия с нарушением агротехники; возделывание сельхозкультур; высокая химическая и пестицидная нагрузка на пашню; организация стихийных свалок и бытовых отходов; нарушения режима природопользования в прибрежных полосах и водоохраных зонах

ручьев реки; сброс недостаточно очищенных сточных вод с очистных сооружений биологической очистки и загребных ям и накопителей; эксплуатация плотин.

В результате многолетней эксплуатации плотин и хозяйственной деятельности человека произошли существенные негативные изменения состояния р. Каменка: обмеление русла реки, вызванное аккумуляцией в нем наносов; заболачивание и зарастание поймы реки; загрязнение речной воды. Участок реки между плотинами мелководен, зарос травами, ширина русла местами не превышает 4 м.

Для улучшения экологической ситуации по заказу Департамента природопользования и охраны окружающей среды Владимирской

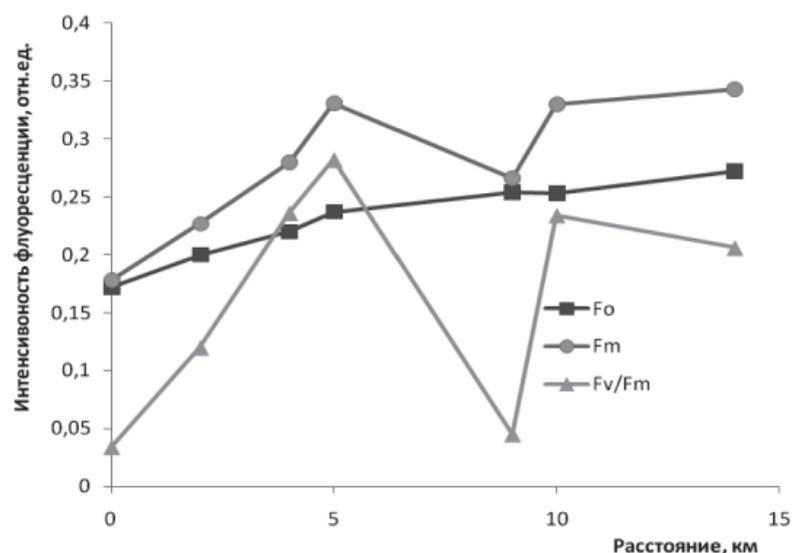


Рис. 6. Изменение параметров флуоресценции фитопланктона по результатам биоиндикации воды р. Каменка в апреле 2010 г.



области в 2008-2009 гг. был реализован проект по расчистке русла и дноуглублению участка р. Каменка в черте г. Суздаль между двумя плотинами. Проект направлен на улучшение экологического и эстетического состояния реки, образование в городе рекреационно-привлекательной акватории и сохранении рыбных запасов.

Производство работ на рыбохозяйственных водоемах в большинстве случаев оказывает отрицательное воздействие на экологические условия в этих зонах и приводят к снижению их продуктивности. Определенное негативное влияние на гидрофауну оказывают дноочистительные работы. Однако, как утверждают специалисты по экологической экспертизе проекта, уже через 2-3 года следует ожидать не только полного восстановления фито- и зообентоса, но и создания условий для увеличения биопродуктивности рассматриваемой территории.

Результаты многолетнего биомониторинга р. Каменка с использованием флуориметра «МЕГА-25» свидетельствуют о том, что воздействие неблагоприятных факторов среды оказывает прямое влияние на состояние речного фитопланктона, что отражается в изменении параметров флуоресценции. Проведение гидротехнических работ по расчистке и дноуглублению р. Каменка в 2008-2009 гг., сопряженное с негативными воздействиями на атмосферу, подземные и поверхностные воды, животный мир, почвенный покров и растительность речной экосистемы отразились в первую очередь на продуктивности реки. Мы наблюдали снижение обилия фитопланктона и эффективности его фотосинтеза.

Заключение

Видимо, снижение ЭФ и концентрации микроводорослей – это ответная реакция речного фитопланктонного сообщества на токсичное действие среды. Таким образом, с помощью флуоресцентного метода можно дать интегральную оценку качества природной воды. Для выяснения природы загрязнения и концентрации загрязняющих веществ, вызывающих токсичный эффект, необходимо дополнительно привлекать физико-химические методы анализа. Для получения полных представлений о состоянии и прогнозирования развития речного фитопланктонного сообщества под действием негативных факторов среды рекомендуется использовать флуориметр «МЕГА-25» в системе непрерывного мониторинга.

Авторы выражают глубокую благодарность за помощь в организации научно-исследовательской экспедиции и проведении исследований химического состава речной воды И. Б. Сорокиной, Т.А. Румянцевой, Е.Г. Калининной, Е.А. Тихвинской и всему коллективу Центра контроля воды МУП "Владимирводоканал".

Литература

1. О состоянии окружающей природной среды и здоровья населения Владимирской области в 2006 году: Ежегодный доклад // Администрация Владимирской области, Департамент природопользования и охраны окружающей среды; ред. С.А. Алексеев. Владимир, 2007. Вып. 14, С 33.
2. Винокуров И.Ю. Обследование загрязнения реки Каменка флуориметрическим методом // Владимирский земледелец. 2006. № 1-2. С. 22-23.
3. Маторин Д.Н. Люминисценция хлорофилла в культурах микроводорослей и природных популяциях фитопланктона / Маторин Д.Н., Венедиктов П.С. // М.: Итоги науки и техники. ВИНТИ Сер. Биофизика. 1990. Т 40. С49-100.
4. Matorin D.N. Application of chlorophyll fluorescence in studied of phytoplankton in Mediterranean Sea / Matorin D.N., Vuksanovich N., Rubin A.B., Venediktov P.S. // Studia Marina. 2002. V. 23. P. 79-86.
5. Pogosyan S.I. Variability in the state of the photosynthetic system of the Black Sea phytoplankton / Pogosyan S.I., Matorin D.N. // Oceanology. 2005. V 45, № 1. P 139-148.
6. Антал Т.К. «Исследование продукционных характеристик фитопланктона с помощью погружного флуоресцентного зонда»: Автореф.дисс.канд.наук: МГУ, М.:2000, 25 с.

7. Рубин А.Б. Биофизические методы в экологическом мониторинге // Соросовский Образовательный Журнал. 2000. № 4. С. 7–13.
8. Погосян С.И. Применение флуориметра «МЕГА-25» для определения количества фитопланктона и оценки состояния его фотосинтетического аппарата / Погосян С.И., Гальчук С.В., Казимирко Ю.В., Конохов И.В., Рубин А.Б. // Вода: Химия и экология. 2009. № 6. С 34-40.
9. Карапетян Н.В. Переменная флуоресценция хлорофилла как показатель физиологического состояния растений / Карапетян Н.В., Бухов Н. Г. // Физиол. раст. 1986. Т. 33. С. 1013-1026.
10. Falkowski P.G. Aquatic photosynthesis / Falkowski P.G., Raven J.A. // Blackwell Science 1997. P. 375.
11. Krause, G.H. Chlorophyll Fluorescence as a Tool in Plant Physiology: 11. Interpretation of Fluorescence Signals / Krause, G.H. and Weis, E. // Photosynth. Res., 1984. V. 5 P. 139 -157.
12. Krause G.H. Chlorophyll Fluorescence and Photosynthesis: the Basic |Krause G.H., Weis E. // Ann. Rev. Plant. Physiol. Plant Mol. Biol. 1991. V. 42. P. 313-349.
13. Lichtenthaler H.K. Applications of Chlorophyll Fluorescence in Photosynthesis Research // Stress Physiology, Hydrobiology, and Remote Sensing, Dordrecht: Kluwer, 1988.
14. Schreiber, U. New type of dual-channel PAM chlorophyll fluorometer for highly sensitive water toxicity biotests / Schreiber, U., Mueller, J. F., Haugg, A., Gademann, R. // Photosynthesis Research. 2002. V 74. P. 317-330.
15. Schreiber, U. Methodology and evaluation of a highly sensitive algae toxicity test based on multiwell chlorophyll fluorescence imaging / Schreiber, U., Quayle, P., Schmidt, S., Escher, Beate I., Mueller, Jochen F., Anthony P. F. Turner // Biosensors and Bioelectronics. 2007. V. 22. P. 2554 – 2563.
16. Маторин Д.Н. Определение состояния растений и водорослей по флуоресценции хлорофилла / Д.Н.Маторин, В.А.Осипов, О.В.Яковлева, С.И.Погосян // М: изд-во «Макс Пресс». 2010. с. 67-74.
17. ГОСТ 27065-86 (СТ СЭВ 5184-85) "Качество вод Термины и определения".
18. Биологический контроль окружающей среды. Биоиндикация и биотестирование. Под редакцией Мелеховой О.П. и Егоровой Е.И. // Учеб.пос., М.: изд-во «Академия», 2007, с. 6.



A.V. Kuznetsova, I.Yu. Vinokurov, S.I. Pogosyan

FLUORIMETRY METHOD FOR WATER QUALITY BIOINDICATION

On the basis of fluorescence analysis of water there has been made an ecological monitoring of river Kamenka (the Volga basin) during the period 2007-2010 years. Chlorophyll fluorescence method reflecting photosynthetic mechanism of river phytoplankton was used

for environmental assessment. Pure and toxic parts of the river were outlined by photosynthetic efficiency of phytoplankton. Fluorometer "MEGA-25" application enabled estimation of hydraulic engineering works on river Kamenka dredging in the period 2008-2009.

Key words: biomonitoring, water quality, fluorescence method, fluorometer "MEGA-25", photosynthetic efficiency of phytoplankton.