

ВЛИЯНИЯ МЕТИЛРТУТИ НА ПАРАМЕТРЫ СВЕТОВОЙ ЗАВИСИМОСТИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ЗЕЛЕННОЙ ВОДОРОСЛИ *CHLAMYDOMONAS MOEWUSII*

© 2015 г. Ф. Ф. Протопопов*,¹, Д. Н. Маторин*, Н. Х. Сейфуллина*,
Л. Б. Братковская*, Б. К. Заядан**

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Биологический факультет

**Казахский национальный университет имени аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан

Поступила в редакцию 20.05. 2015 г.

Изучены световые кривые параметров флуоресценции хлорофилла микроводорослей *Chlamydomonas moewusii* при действии опасного токсиканта – метилртути. Обнаружено, что метилртуть в низких концентрациях 10^{-7} М вызывает уменьшение относительной скорости нециклического электронного транспорта активность ФС2, снижение коэффициента максимальной утилизации световой энергии (α) и насыщающей интенсивности света (E_n). Нефотохимическое тушение флуоресценции NPQ увеличивается при коротких временах воздействия и уменьшается при длительной инкубации. Эти параметры более чувствительны к действию токсиканта по сравнению с широко используемым параметром F_v/F_m - максимальный квантовый выход ФС2. Сделано предложение использовать метод измерения параметров световых кривых флуоресценции для выявления изменений в клетках водорослей на ранних стадиях воздействия солями ртути.

Ключевые слова: *Chlamydomonas moewusii*, метилртуть, флуоресценция хлорофилла, фотосистема, биотестирование, экология.

DOI: 10.7868/S0026365615060129

Соли тяжелых металлов занимают особое положение среди загрязнений внешней среды, что связано с их высокой токсичностью, способностью накапливаться в организмах и передаваться по трофической цепи (Мур, Раммамурти, 1987). Тяжёлые металлы, попадая в водоемы, оказывают токсическое действие на фитопланктон, который является первичным звеном в системе пищевых связей водных организмов и определяет состояние водной экосистемы в целом. Одними из наиболее опасными для окружающей среды являются соединения ртути (Bertrand, Poirier, 2005). Особенно опасны органические соединения ртути, в частности метилртуть, которая образуется в результате меркурирования органических соединений и является чрезвычайно токсичным веществом (Janeau и соавт., 2001; Lu и соавт., 2000). Среди метаболических процессов внутри растительной клетки чувствительным к действию тяжелых металлов является фотосинтез. Известно, что соединения ртути ингибируют световые реакции фотосинтеза (Janeau и соавт., 2001; Антал и соавт., 2003; Гаевская и соавт., 2003). Основной механизм действия этих соединений - инги-

бирование мембранных процессов в результате взаимодействия с SH-содержащими соединениями и дисульфидными группами белков, а также замещение коферментов (Stohs, Bagchi, 1995).

В последнее время в связи с необходимостью организации систем оперативного контроля за качеством природных вод и токсичностью стоков биотестирование приобретает широкое значение. (Заядан, Маторин, 2015; Филенко, 1988; Perminova и соавт. 2001). Важнейшим оперативным биотестом являются микроводоросли, являющиеся главными продуцентами в водоемах и своеобразными экологическими мишенями для солей металлов, часто поступающих в водные экосистемы (Заядан, Маторин, 2015; Филенко, 1988; Vavilin и соавт., 1995).

Для слежения за изменениями процессов фотосинтеза у водорослей под действием загрязнений солями тяжелых металлов перспективным является применение методов измерения флуоресценции хлорофилла (Vavilin и соавт., 1995; Маторин и соавт., 2007; Маторин и соавт., 2014; Black, Frank, 1998). Основой флуоресцентных методов является то, что хлорофилл, находящийся в фотосинтетических мембранах, служит своего рода природным датчиком состояния клеток во-

¹ Автор для корреспонденции (e-mail: protopopov_fedor@mail.ru).

дорослей и его фотосинтетического аппарата. Важнейшими характеристиками первичных световых реакций фотосинтеза являются эффективность фотохимического преобразования энергии в фотосистема 2 (в дальнейшем – фотохимическая активность ФС 2), а также коэффициенты фотохимического и нефотохимического тушения флуоресценции, которые оценивают методом РАМ (pulse-amplitude-modulation). В последнее время при работе с листьями и культурами водорослей активно развиваются методы быстрого измерения световых зависимостей (световых кривых) различных параметров флуоресценции, отражающих развитие фотохимического и нефотохимического тушения на свету, что позволяет регистрировать ранние изменения в работе фотосинтетического аппарата при действии факторов среды (White, Critchley, 1999; Serodio и соавт., 2005; Ralph, Gademann, 2005; Herlory и соавт. 2007). Ранее этот метод был применен нами для исследования состояния природного фитопланктона (Заядан, Маторин, 2015; Matorin и соавт., 2004).

Преимуществом флуоресцентных методов является их экспрессность и высокая чувствительность, что позволяет быстро диагностировать состояние клеток микроводорослей под действием токсикантов непосредственно в среде их обитания *in situ* в режиме реального времени (Matorin и соавт. 2004). Оперативность измерений показателей флуоресценции имеет особое значение для раннего обнаружения появления полютантов в среде.

В данной работе были изучены изменения световых зависимостей параметров флуоресценции хлорофилла в клетках *Chlamydomonas moewusii* в присутствии метилртути в разных концентрациях. Показано, что использование этих зависимостей позволяет регистрировать изменения в энергозапасяющих фотосинтетических процессах клеток водорослей при очень низких концентрациях метилртути.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Культивирование водорослей и обработка токсикантами. Объектом служила альгологически чистая культура зеленой водоросли *C. moewusii* Gerloff, Lewin 1002, CALU 228 (flagellaless mutant), полученная из коллекции микроорганизмов кафедры микробиологии С.-Петербургского государственного университета. В отличие от дикого типа у клеток данного штамма на всех стадиях роста на исследованных средах полностью отсутствуют жгутики. Культуру выращивали при 25°C фототрофно на трис-ацетат-фосфатной среде (рН 7.0) при интенсивности освещения люминесцентными лампами 30 мкЕ/м²с и продолжительностью светового и темного периодов 14 и 10 ч,

соответственно. Культуру, достигшую стационарной фазы роста, разливали в условиях стерильности по 100 мл в колбы объемом 250 мл и вводили изучаемые соль метилртути (MeHg chloride) (Aldrich Chemical Company, Inc. USA). Водоросли экспонировались от нескольких часов до двух суток при разных концентрациях солей метилртути в тех же условиях, что и при выращивании культуры. Концентрация клеток перед добавлением препаратов составляла 250 тыс. кл. мл⁻¹.

Численность микроводорослей определялась микроскопически методом прямого счета в камере Горяева ($V = 0.0001$ мл) при трехкратном ее заполнении.

Измерения флуоресцентных показателей водорослей проводили на импульсном флуорометре WaterPAM (Walz, Германия). В адаптированных к темноте образцах водорослей регистрировали постоянную (F_0) и максимальную флуоресценцию (F_M), а также относительный выход переменной флуоресценции (F_V/F_M), который является мерой максимальной потенциальной квантовой эффективности ФС 2. На свету проводили измерения быстрых световых зависимостей различных параметров флуоресценции при последовательном увеличении интенсивности от 0 до 400 мкЕ/м² с (White, Critchley, 1999). Время освещения составляло 50 секунд. В работе (Serodio и соавт., 2005) показано, что за этот период проходят быстрые адаптационные изменения в фотосинтезе водорослей при увеличении интенсивности света. В конце каждого сеанса освещения при определенной интенсивности с использованием насыщающей вспышки (0.8 с, 3000 мкЕ/м² с), регистрировались параметры F'_M , а также выход флуоресценции на свету $F(t)$. На основании всех параметров рассчитывали – нефотохимическое тушение флуоресценции $NPQ = (F_M - F'_M)/F'_M$, квантовый выход фотохимического превращения поглощенной световой энергии в фотосистеме 2 как отношение $Y = (F'_M - F_t)/F'_M$ и относительную скорость нециклического электронного транспорта при данной интенсивности света (ETR). Скорость транспорта электронов определяли по формуле $ETR = Y \times E_i \times 0.5$, где E_i – освещенность, (мкЕ/м² с) (Lippemeier и соавт., 1999). На основании полученных световых кривых (P/E кривых) оценивали следующие фотосинтетические параметры: коэффициент максимальной утилизации световой энергии (угол наклона P/E кривой, α), максимальную относительную скорость электронов по электрон транспортной цепи (ETR_{max}) и насыщающую интенсивность света (E_n). α рассчитывали как коэффициент линейной регрессии, построенной по точкам, лежащим на светолимитированном участке P/E кривой, ETR_{max} – как среднее по значениям ETR, находящимся на

светонасыщающем участке (Jassby, Platt, 1976). E_n рассчитывали по формуле $E_n = ETR_{max} / \alpha$ (Platt и соавт., 1977; MacInture и соавт., 2002). Обозначения и определения фотосинтетических параметров приведены в соответствии с общепринятой номенклатурой (Platt и соавт., 1977).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изменения концентрации клеток *S. toewusii* во время роста в контрольных условиях и при добавлении метилртути представлены на рис. 1а. Как видно из рисунка, у контрольной культуры после лаг-фазы (3 часа) наблюдается быстрый рост количества клеток. При действии низких концентраций метилртути (10^{-7} М) в начальные часы количество клеток по сравнению с контролем несколько увеличивалось, но в дальнейшем наблюдалась остановка роста культуры. При концентрации 5×10^{-7} М начального увеличения количества клеток не происходило, а при длительной инкубации (более 24 часа) наблюдалось существенное уменьшение числа клеток.

Подобные зависимости отмечались в изменении уровня постоянной флуоресценции (F_0) (не показано), которая с высоким коэффициентом корреляции соответствует суммарному содержанию пигментов фотосинтетического аппарата клеток водорослей, осуществляющих светосбор световой энергии. Этот параметр рассматривают как косвенный показатель концентрации светопоглощающих пигментов водорослей (Matorin и соавт., 2004).

Фотосинтетический аппарат микроводорослей является чувствительной мишенью для солей ртути (Japeau и соавт., 2001; Антал и соавт., 2003). Величина F_V/F_M отражает максимальной квантовой выход ФС2 (Schreibeg и соавт., 1994). Она связана с процессами разложения воды и выделения кислорода. В контроле высокое значение F_V/F_M (0.7) сохранялось в течение длительного времени культивирования (рис. 1б). Добавление метилртути приводило к полной инактивации ФС2 через 24 часа при концентрации всего 5×10^{-7} М, что согласуется с данными о высоком токсическом действии этого вещества (Japeau и соавт., 2001; Graevskaia и соавт., 2003). В концентрации 10^{-7} М метилртуть вызывала снижение величины F_V/F_M с 0.7 до 0.55. Изменения F_V/F_M , происходило главным образом, за счет уменьшения амплитуды максимальной флуоресценции F_M . Следует отметить, что при коротких в несколько часов инкубации водорослей с метилртутью F_0 и, соответственно, количество клеток мало изменялось. При этом на коротких временах инкубации практически не изменялись спектры поглощения суспензий водорослей (данные не показаны), что свидетельствует об отсутствии влияния на пигментный аппарат.

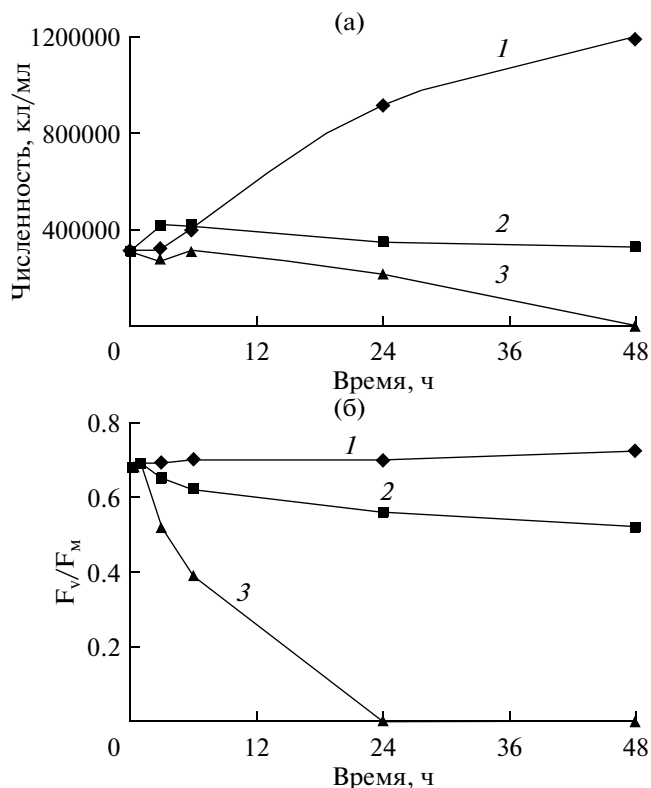


Рис. 1. Изменения количества клеток (а) и параметра флуоресценции F_V/F_M (б) суспензии *S. toewusii* в зависимости от времени инкубации с метилртутью. 1-контроль, 2, 3-метилртуть в концентрации 10^{-7} М и 5×10^{-7} М, соответственно.

Поэтому изменения в фотосинтетической активности по F_V/F_M позволяют зарегистрировать эффект на ранних стадиях токсического воздействия.

Наиболее контрастные различия у водорослей при действии солей ртути были выявлены при измерении и анализе параметров флуоресценции на свету при разной интенсивности, то есть в условиях увеличивающейся световой нагрузки (см методику).

На рис. 2 представлены световые зависимости относительной скорости нециклического электронного транспорта (ЕТР) водорослей после инкубации с метилртутью, рассчитанные как описано в методике. Видно, что в присутствии метилртути сильно уменьшается скорость электронного транспорта при всех освещенностях. Максимальная относительная скорость электронов по электронтранспортной цепи (ETR_{max}) была наибольшей для контрольной культуры (рис. 2). После добавления метилртути наблюдались более низкое значение ETR_{max} . Крайне низкая скорость ЕТР отмечалась для клеток после суточной инкубации с 5×10^{-7} М метилртути, что согласуется с

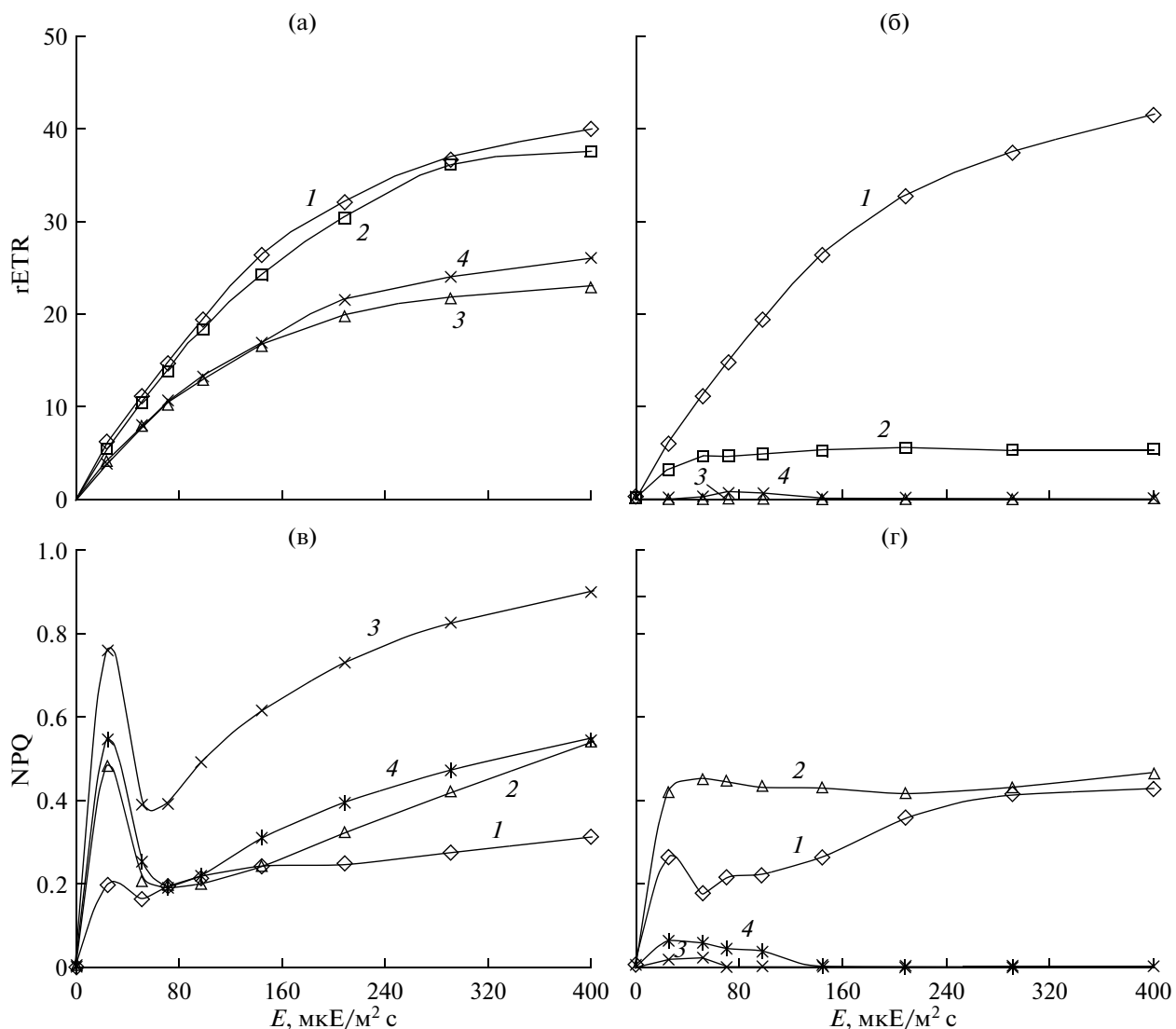


Рис. 2. Изменения параметров флуоресценции в зависимости от интенсивности действующего света в клетках суспензии *C. toewusii*, обработанных метилртутью в концентрации 10^{-7} М (а, в) и 5×10^{-7} М (б, г) при разных временах инкубации. а, б – относительная скорость электронного транспорта ETR и в, г – нефотохимическое тушение NPQ. 1 – контроль, 2, 3, 4 – время инкубации с метилртутью – 3, 24 и 48 часов, соответственно.

низкими значениями темнового F_V/F_M в этих условиях.

Были определены параметры, описывающие эти зависимости фотосинтетической активности от освещенности: коэффициент максимальной утилизации световой энергии, угол наклона на линейном участке световой кривой (α) и насыщающая интенсивность света (E_H). Коэффициент максимальной утилизации световой энергии (α) был наибольший у контрольных клеток (рис. 3). После добавления метилртути этот параметр снижался. Насыщающая интенсивность света (E_H) максимальна для контроля и составляла $204 \text{ мкЕ/м}^2\text{с}$. После добавления метилртути значения насыщающей интенсивности резко умень-

шались. Важно отметить, что изменения в коэффициенте максимальной утилизации световой энергии (α) и насыщающей интенсивности света (E_H) происходили раньше, чем при регистрации F_V/F_M (рис. 1б, рис. 3).

Снижение квантового выхода фотохимии ФС 2-Y при увеличении освещенности у водорослей связано с увеличением тепловой диссипации сброса избыточной световой энергии, когда она не способна утилизироваться в световых реакциях. Этот процесс отражается в развитии нефотохимического тушения флуоресценции на действующем свете и рассчитывается по формуле $NPQ = (F_M/F'_M) - 1$ (Schreiber и соавт., 1994). Ртутьсодержащие соединения, влияя на первич-

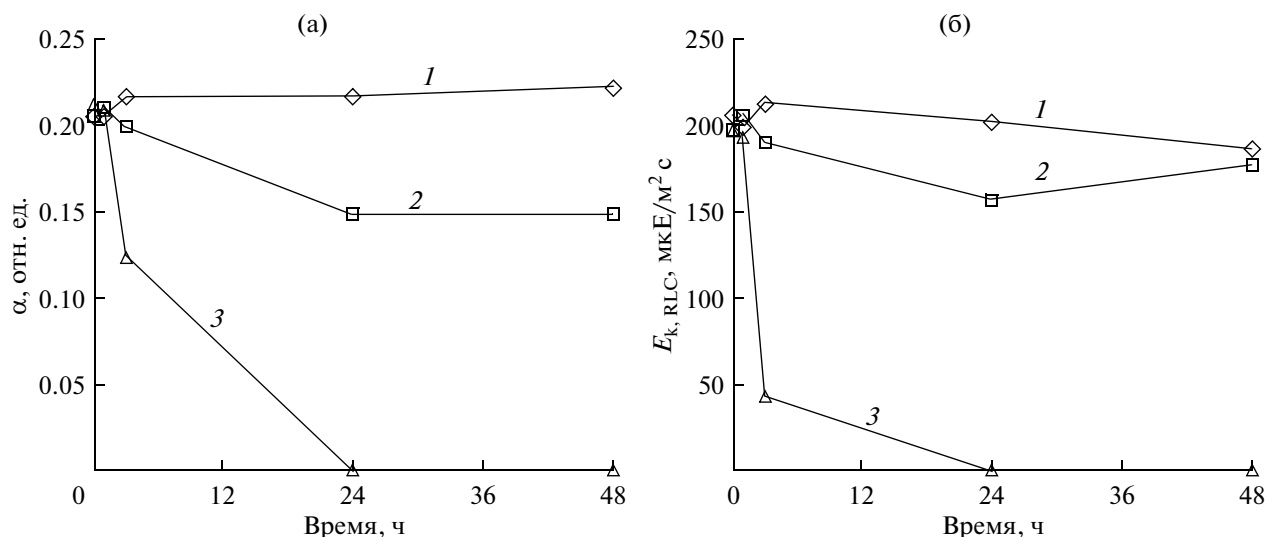


Рис. 3. Изменения параметров световой зависимости флуоресценции относительного электронного транспорта ETR в клетках суспензии *C. toewusii* в зависимости от времени инкубации 1 – контроль, 2, 3 – метилртуть в концентрации 10⁻⁷ М и 5 × 10⁻⁷ М, соответственно. а – коэффициент максимальной утилизации световой энергии (α) и б – насыщающая интенсивность света (E_k).

ные процессы утилизации энергии в ФС 2, могут увеличивать диссипацию энергии в тепло в антенных комплексах ФС 2. На рис. 2 приведены данные по изменению нефотохимического тушения флуоресценции (NPQ) под действием света в клетках *C. toewusii* через разное время после добавления к образцам метилртути. При низкой концентрации метилртути особенно в области невысоких интенсивностях действующего света наблюдалось увеличение значения NPQ по сравнению с контролем, тогда как при высокой 5 × 10⁻⁷ М и инкубации более 3 часов происходило снижение амплитуды. Ранее нами этот эффект отмечался при действии метилртути на морские водоросли (Антал и соавт., 2003; Graevskaya и соавт., 2003; Wu, Wang, 2013). Вероятно, увеличение нефотохимического тушения флуоресценции при действии низких концентраций происходило за счет увеличения вклада энергизационного компонента внутритилакоидного рН вследствие нарушения процессов фосфорилирования в присутствии ртути. Более высокие концентрации значительно нарушают электронный транспорт и интактность фотосинтетических мембран, на которых образуется электрохимический градиент протонов, что соответственно и нарушает нефотохимический сброс избыточной световой энергии. Нефототоксическое тушение флуоресценции в контрольном образце, а также образце, содержащем метилртуть, полностью подавлял метиламин, который является разобщителем фосфорилирования в тилакоидных мембранах (данные не приведены). Следует отметить, кривая изменений амплитуды NPQ от интенсивности света в контрольном и, особенно, в обработанных образцах, имеет немо-

тонную форму. В образцах, обработанных метилртутью, в концентрации 10⁻⁷ М наблюдался начальный рост величины NPQ, небольшое падение при 60 $\mu E/m^2 \cdot s$ с последующим ростом значения. Вероятно, это связано с нелинейностью процессов при регистрации быстрых световых зависимостей.

Известно, что соли тяжелых металлов могут влиять на разные процессы в растительной клетке. В литературе имеются данные о том, что ионы тяжелых металлов действуют путем связывания с органическими кислотами или фосфатными анионами, блокируя важнейшие группы (такие как сульфгидрильные), а также путем замещения ионов других металлов в белках (Stohs, Bagchi, 1995; Rauser, 1999). Вследствие этого развиваются процессы перекисного окисления липидов, наблюдается нарушение ионного транспорта и гомеостаза, повышение концентрации АТФ, ингибирование ферментных систем (ферментов антиокислительной системы, АТФаз), и повреждение ДНК (Luo и соавт., 1996; Navari-Izzo, Quartacci, 2001). Эти изменения приводят к остановке роста популяции клеток водорослей. Именно на анализе скорости роста водорослей при действии токсикантов основаны методы биотестирования, используемые при оценке загрязнения водной среды различными агентами или выработки норм допустимых нагрузок на водные экосистемы. Вместе с тем наши опыты с метилртутью показали, что уже при коротких в несколько часов инкубации даже при низких концентрациях метилртути происходят изменения в световых реакциях фотосинтеза водорослей, которые отражаются в

изменениях световых зависимостей параметров флуоресценции. Происходило уменьшение квантового выхода фотохимического превращения поглощенной световой энергии в ФС 2 и относительной скорости нециклического электронного транспорта активность, а также изменения в коэффициенте максимальной утилизации световой энергии (α) и насыщающей интенсивности света (E_{II}). Кроме того, метилртуть увеличивала тепловую диссипацию энергии возбуждения в антенных комплексах ФС 2, что, по предварительным данным, связано с нарушением процесса фосфорилирования в тилакоидах.

Поскольку при коротких временах количество клеток мало изменяется сложно контролировать токсикологическое воздействие по скорости роста. Именно поэтому изменения в фотосинтетической активности, регистрируемое примененным нами методом по световым кривым электронного транспорта и NPQ, позволяет диагностировать токсикологический эффект на самых ранних стадиях воздействия и соответственно на более ранних стадиях принимать природоохранительные меры.

Токсическое действие метилртути на активность ФС 2 усиливается при увеличении интенсивности освещения, вероятно в результате ингибирования процесса репарации фотосистемы. Ранее подобный эффект был описан и для солей меди (Vavilin и соавт., 1995). Последнее может играть существенную роль в снижении фотосинтетической активности клеток при действии низких концентраций этих металлов в условиях фотоокислительного стресса и использовано для обнаружения действия низких концентраций солей ртути на водорослевые сообщества.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Антал Т.К., Граевская Е.Э., Маторин Д.Н., Воронова Е.Н., Погосян С.И., Кренделева Т.Е., Рубин А.Б. Изучение токсического действия хлорида ртути и метилртути на фотосинтетическую активность диатомовой водоросли *Thalassiosira weissflogii* флуоресцентными методами // Биофизика. 2003. Т. 49. № 1. С. 72–78.
- Антал Т.К., Graevskaya E.E., Matorin D.N., Voronova E.N., Pogosyan S.I., Krendeleva T.E., Rubin A.B. Fluorescence study of the effect of mercuric chloride and methylmercury chloride on the photosynthetic activity of the diatom *Thalassiosira weissflogii* // Biophysics (Moscow). 2004. V. 49. № 1. P. 66–72.
- Заядан Б.К., Маторин Д.Н. Биомониторинг водных экосистем на основе микроводорослей // М.: Изд-во "Альтекс". 2015. 252 с.
- Маторин Д.Н., Тодоренко Д.А., Сейфуллина Н.Х., Заядан Б.К., Рубин А.Б. Влияние наночастиц серебра на параметры флуоресценции хлорофилла и реакции P700 зеленой водоросли *Chlamydomonas reinhardtii* // Микробиология. 2014. Т. 83. № 1. С. 33–40.
- Matorin D.N., Todorenko D.A., Seifullina N.Kh., Zayadan B.K., Rubin A.B. Effect of silver nanoparticles on the parameters of chlorophyll fluorescence and P700 reaction in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* // Microbiology (Moscow). 2013. V. 82. № 6. P. 862–867.
- Маторин Д.Н., Погосян С.И., Смуров А.В. Оценка качества среды инструментальными методами с использованием фототрофных организмов. В учебном пособии // Биологический контроль окружающей среды. Биоиндикация и биотестирование. Ред. Мелехова О.П., Егорова Е.И. М.: Изд. Академия. 2007. С. 243–246.
- Мур Д., Раммамурти С. Тяжелые металлы в природных водах. Контроль и оценка влияния. М.: Изд-во "Мир". 1987. 288 с.
- Филенко О.Ф. Водная токсикология // М.: Изд-во "Черноголовка", 1988. 156 с.
- Bertrand M., Poirier I. Photosynthetic organisms and excess of metals // Photosynthetica. 2005. V. 43. № 3. P. 345–353.
- Brack W., Frank H. Chlorophyll a fluorescence: a tool for the investigation of toxic effects in the photosynthetic apparatus // Ecotoxicology and Environmental Safety. 1998. V. 40. № 1. P. 34–41.
- Graevskaya E.E., Antal T.K., Matorin D.N., Voronova E.N., Pogosyan S.I., Rubin A.B. Evaluation of diatom algae *Thalassiosira weissflogii* sensitivity to chloride mercury and methylmercury by chlorophyll fluorescence analysis // Journal de Physique IV. 2003. V. 107. P. 569–572.
- Herlory O., Richard P., Blanchard G. F. Methodology of light response curves: application of chlorophyll fluorescence to microphytobenthic biofilms // Mar. Biol. 2007. V. 153. № 1. P. 91–101.
- Janeau P., Dewez D., Matsui S., Kim S-G, Popovich R. Evaluation of different algal species sensitivity to mercury and metolachlor by PAM-fluorometry // Chemosphere. 2001. V. 45. № 4. P. 589–598.
- Jassby A.D., Platt T. Mathematical formulation of the relationship between photosynthesis and light for phytoplankton // Limnol. Oceanogr. 1976. V. 21. № 4. P. 540–547.
- Lippemeier S., Harting P., Colijn F. Direct impact of silicate on the photosynthetic performance of the diatom *Thalassiosira weissflogii* assessed by on- and off-line PAM fluorescence measurements // J. Plankton Res. 1999. V. 21. № 2. P. 269–283.
- Luo H., Lu Y., Shi X., Mao Y., Delal N.S. Chromium (IV)-mediated Fenton-like reaction causes DNA damage: implication to genotoxicity of chromate // Annals of Clinical & Laboratory Science. 1996. V. 26. № 2. P. 185–191.
- Lu C.M., Chau C.W., Zhang J.H. Acute toxicity of excess mercury on the photosynthetic performance of cyanobacterium, *S. platensis* – assessment by chlorophyll fluorescence analysis // Chemosphere. 2000. V. 41. № 1. P. 191–196.
- MacInture H.L., Kana T., Anning T., Geider R. Photoacclimation of photosynthesis irradiance response curves and photosynthetic pigments in microalgae and cyanobacteria // J. Phycology. 2002. V. 38. P. 17–38.
- Matorin D.N., Antal T.K., Ostrowska M., Rubin A.B., Ficek D. Chlorophyll fluorometry as a method for studying light absorption by photosynthetic pigments in marine algae // Oceanologia. 2004. V. 46. № 4. P. 519–531.
- Navari-Izzo F., Quartacci M.F. Phytoremediation of metals // Minerva Biotech. 2001. V. 13. P. 73–83.

- Perminova I.V., Grechishcheva N.Yu., Kovalevskii D.V., Kudryavtsev A.V., Petrosyan V.S., Matorin D.N.* Quantification and prediction of the detoxifying effects of humic substances related to their chemical binding to polycyclic aromatic hydrocarbons // *Environ. Toxicol. Chem.* 2001. V. 35. № 19. P. 3841–3848.
- Platt T., Denman K.L., Jassby A.D.* Modeling the productivity of phytoplankton // *The Sea*. Ed. Golberg E.D. N.Y.: John Wiley. 1977. P. 807–856.
- Ralph P.J., Gademann R.* Rapid light curves: a powerful tool to assess photosynthetic activity // *Aquat. Bot.* 2005. V. 82. № 3. P. 222–237.
- Rausser W.E.* Structure and function of metal chelators produced by plants // *Cell Biochem. Biophys.* 1999. V. 31. № 1. P. 19–48.
- Schreiber U., Bilger W., Neubauer C.* Chlorophyll fluorescence as a noninvasive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis. // *Ecophysiology of photosynthesis*. Springer. Berlin. 1994. P. 49–70.
- Serodio J., Vieira S., Cruz S., Barroso F.* Short-term variability in the photosynthetic activity of microphytobenthos as detected by measuring rapid light curves using variable fluorescence // *Mar. Biol.* 2005. V. 146. № 5. P. 903–914.
- Stojs S.J., Bagchi D.* Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions // *Free Rad. Biol. Med.*, 1995. V. 18. № 2. P. 321–336.
- Vavilin D.V., Polynov V.A., Matorin D.N., Venediktov P.S.* Sublethal concentrations of copper stimulate photosystem II photoinhibition in *Chlorella pyrenoidosa*. // *J. Plant Physiol.* 1995. V. 146. № 5. P. 609–614.
- White A.J., Critchley C.* Rapid light curves: A new fluorescence method to assess the state of the photosynthetic apparatus // *Photosynth. Res.* 1999. V. 59. № 1. P. 63–72.
- Wu Y., Wang W.X.* Differential acclimation of a marine diatom to inorganic mercury and methylmercury exposure // *Aquatic Toxicology*. 2013. V. 138. P. 52–59.

Effect of Methylmercury on the Light Dependence Fluorescence Parameters in a Green Alga *Chlamydomonas moewusii*

F. F. Protopopov^{a, 1}, D. N. Matorin^a, N. H. Seifullina^a, L. B. Bratkovskaya^a, and B. K. Zayadan^b

^a *Biological Faculty, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

^b *Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan*

Received May 20, 2015

Abstract—The effect of a dangerous toxic substance, methylmercury, on light dependence curves of chlorophyll fluorescence in *Chlamydomonas moewusii* was studied. We found low concentration of methylmercury (10^{-7} M) to cause a decrease in the relative rate of the non-cyclic electron transport activity of PS 2, a decline in the maximum utilization of light energy (α), and a decline in the saturation light intensity (E_s). Non-photochemical fluorescence quenching increased after short-term exposure and decreased in the course of prolonged incubation. These parameters were more sensitive to the action of the toxic substance than the widely used parameter F_v/F_M , which reflects the maximum quantum yield of PS 2. We propose the use of the method of fast measurement of light dependence curves of fluorescence to detect the changes in algal cells at the early stages of exposure to mercury salts.

Keywords: *Chlamydomonas moewusii*, methylmercury, chlorophyll fluorescence, photosystem, bioassay, ecology

¹ Corresponding author: e-mail: protopopov_fedor@mail.ru.