

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ
СТАТЬИ

УДК 581.132

ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА НА ПАРАМЕТРЫ
ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА И РЕАКЦИИ P_{700}
ЗЕЛЕННОЙ ВОДОРОСЛИ *CHLAMYDOMONAS REINHARDTII*

© 2014 г. Д. Н. Маторин^{*,1}, Д. А. Тодоренко^{*}, Н. Х. Сейфуллина^{*}, Б. К. Заядан^{**}, А. Б. Рубин^{*}

^{*}Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, биологический факультет

^{**}КазНУ им. аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан

Поступила в редакцию 18.06.2013 г.

На флуориметре М-РЕА2 проведены исследования острой токсичности наночастиц серебра ($AgHCl$) на фотосинтез *Chlamydomonas reinhardtii*. Анализ индукционных кривых флуоресценции в присутствии низких концентраций $AgHCl$ показал ингибирование электронного транспорта в ФС2 и увеличение доли Q_B — невосстанавливающих центров. Обнаружено влияние на процессы энергизации фотосинтетических мембран и отсутствие прямого действия на реакции окисления пигмента ФС1 — P_{700} . Предлагается использовать параметры индукционных кривых быстрой и замедленной флуоресценции для раннего обнаружения появления $AgHCl$ в среде.

Ключевые слова: *Chlamydomonas reinhardtii*, наночастицы серебра, флуоресценция хлорофилла, фотосинтез, экология.

DOI: 10.7868/S0026365614010108

В настоящее время при изготовлении различных товаров все шире используют серебросодержащие материалы, в том числе и металлические наночастицы серебра ($AgHCl$). К таким продуктам производства относятся: ткани, воздушные фильтры, косметические средства, зубные пасты, товары для детей, пылесосы и стиральные машины [1]. Появилось большое количество серебросодержащих медицинских препаратов, которые обладают антимикробными свойствами благодаря наличию в них ионов серебра [2].

В течение длительного времени считалось однозначно доказанным, что лечебными свойствами обладают ионы Ag^+ , а не металлическое серебро. Тем не менее, вопрос о механизме действия наночастиц серебра на различные биообъекты до настоящего времени остается окончательно не выясненным и требует дополнительных исследований [2]. Токсичность ионов серебра для водорослей изучена в ряде работ [5, 6]. Токсичное действие $AgHCl$ на пресноводные водоросли *Chlamydomonas reinhardtii* показано в работе [7, 8]. Обнаружено, что $AgHCl$ способны ингибировать фотосинтез у

природного фитопланктона, который является основой биопродуктивности водоемов [4].

Существует высокая вероятность того, что $AgHCl$ могут попасть в водные экосистемы и стать источником растворенного серебра, что, возможно, окажет токсическое действие на водные организмы [3, 4].

В токсикологических опытах на микроводорослях используются флуоресцентные методы, поскольку они являются наиболее удобным методом, который позволяет следить за процессами фотосинтеза, и дают подробную информацию о начальных нарушениях клеточного метаболизма в основном на мембранном уровне [4, 9, 10]. Кроме того, такие методы позволяют получить информацию о состоянии природного фитопланктона в режиме реального времени. Хлорофилл, находящийся в фотосинтетических мембранах водорослей, служит своего рода природным датчиком фотосинтетической активности клеток за счет испускания квантов флуоресценции. Измерение соотношения интенсивности флуоресценции при насыщающем фотосинтезе свете (F_m) и в условиях, не вызывающих изменений состояния фотосинтетического аппарата (F_0) (низкая интенсивность света), позволяет определить максимальную эффективность процессов фотосистемы 2 (ФС2), которая равна $(F_m - F_0)/F_m = F_v/F_m$. Параметр F_v/F_m представляет собой безразмерную энергетическую

¹ Автор для корреспонденции (e-mail: matorin@biophys.msu.ru). Сокращения: наночастицы серебра — $AgHCl$; ФС2 — фотосистема 2, РЦ — реакционный центр, Q_A — первичный, Q_B — вторичный хиноновые акцепторы электрона, PQ — пластохинон, О, J, I, P — промежуточные стадии в светоиндуцированной кривой флуоресценции; ЗФ — замедленная флуоресценция; P_{700} — пигмент РЦ ФС1.

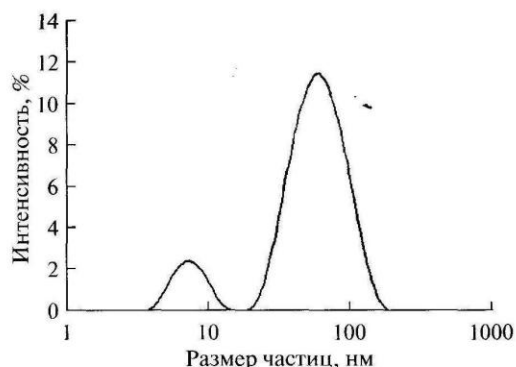


Рис. 1. Гистограмма размера наночастиц серебра, измеренная на приборе Zetasizer Nano ZS.

характеристику фотосинтеза, аналогичную коэффициенту полезного действия и не зависящую от видовой специфики организма.

В последнее время для оценки работы фотосинтетического аппарата высших растений и культур водорослей, начинают использовать методы измерения индукционных кривых флуоресценции с высоким временным разрешением (от 10 мкс) при возбуждении интенсивном свете [11–15]. Измерение индукционных кривых флуоресценции с высоким разрешением занимает всего несколько секунд и проводится на приборах типа РАМ и РЕА. На приборе М-РЕА2 появилась возможность наряду с регистрацией флуоресценции измерять изменения поглощения P_{700} (пигмента ФС1). То есть прибор позволяет одновременно следить за отдельными реакциями ФС1 и ФС2 [11, 12]. Более того, прибор регистрирует индукционные изменения замедленной флуоресценции, которые дают информацию о кинетике электрохимического градиента протонов на фотосинтетической мембране [4].

В настоящей работе на флуориметре М-РЕА2 проведены исследования процессов ФС1 и ФС2 и электрохимического градиента протонов на тилакоидной мембране водоросли *Chlamydomonas reinhardtii* после воздействия на них наночастиц серебра в концентрациях, вызывающих незначительные изменения величины отношения F_v/F_m .

Целью данной работы явилось изучение возможности применения анализа быстрых кинетик флуоресценции хлорофилла для оценки состояния фотосинтетического аппарата водорослей на ранних стадиях токсического воздействия наночастиц серебра.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве объекта исследования были выбраны зеленые водоросли *Chlamydomonas reinhardtii* Dang cl37+, выращиваемые фототрофно на трис-ацетат-фосфатной среде. Культивирование проводили накопительным методом при освещении 30 мкЕ/м² и температуре (18–20°C). Начальная плотность культуры составила 300 тыс. кл./мл. В опытах использовали культуры стационарной фазы роста. Численность клеток водорослей была определена микроскопическим методом подсчета клеток с помощью камеры Горяева.

Измерения флуоресцентных показателей водорослей проводили на приборе М-РЕА2 ("NanosaTech", Англия), который позволяет проводить одновременно регистрацию индукций быстрой и замедленной флуоресценции, а также изменений P_{700} по поглощению при длине 820 нм с высоким временным разрешением (начиная с 0.01 мс). Регистрация быстрой и замедленной флуоресценции производится при чередовании актиничного света (627 нм, 1200 мкЕ/м²с) и темновых интервалов. Перед измерением образцы водорослей концентрировали на мембранном фильтре, затем отфильтрованный образец помещали в измерительную ячейку и выдерживали в темноте перед регистрацией в течение 10 мин. Измерения величины F_v/F_m непосредственно в культуре водорослей проводили на флуориметре Aqua-Pep ("Photon Systems Instruments", Чехия).

В опытах использовали препарат наночастиц серебра ("Sigma-Aldrich"). Размер частиц определяли в составе очищенной водной суспензии с помощью динамического рассеяния света на приборе Zetasizer Nano ZS ("Malvern", Великобритания). Для сравнения был использован химический препарат нитрата серебра ($AgNO_3$).

Все измерения проводили не менее чем в пяти повторностях. На представленных рисунках приведены результаты опытов, повторяющиеся не менее трех раз.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На рис. 1 представлена гистограмма размера наночастиц серебра. Размер частиц определялся методом динамического светорассеяния. В 10% водном растворе у основной группы частиц средний размер составил около 80 ± 13 нм.

Проведенные флуоресцентные исследования на культуре *C. reinhardtii* подтвердили, что фотосинтетический аппарат водорослей является чувствительной мишенью для наночастиц серебра. После суточной инкубации водорослей с наночастицами серебра в концентрации 2×10^{-6} М активность ФС2 снижалась. В концентрации

Параметры ОЖР-кинетики индукции флуоресценции, измеренной на клетках *Clamydomonas reinhardtii* после 24 ч инкубации с AgNP в разных концентрациях. Измерения кинетики индукции флуоресценции проводили на приборе М-РЕА2 при освещении действующим светом с интенсивностью 1000 мкЕ/м² с

Параметры ЖР-теста		Контроль	AgNP 2×10^{-6} М	AgNP 2×10^{-5} М
F_v/F_m	Максимальный квантовый выход разделения зарядов в ФС2	0.71	0.69	0.66
F_0	Относительная амплитуда О–J фазы	0.39	0.41	0.43
F_1	Относительная амплитуда J–I фазы	0.67	0.68	0.68
M_0	Начальный наклон фазы О–J роста флуоресценции	0.86	0.90	0.93
S_M	Площадь между кинетической кривой флуоресценции (О–J–I–Р) и уровнем F_m , нормированная на величину F_v	19.11	19.78	20.9
ABS/RC	Среднее значение поглощенных потоков фотонов в РЦ ФС2 (или видимый размер активной антенны ФС2)	3.12	3.17	3.29
q_E	Способность к рН-индуцированному нефотохимическому тушению флуоресценции	0.41	0.40	0.32
q_{PQ}	Способность пула хинонов тушить флуоресценцию	0.33	0.32	0.32

2×10^{-5} М AgНЧ вызывали уменьшение величины F_v/F_m с 0.71 до 0.66 (таблица). Было отмечено, что и азотистое серебро вызывало изменение F_v/F_m до 0.64 при таких же концентрациях (10^{-5} М).

Для более детального выяснения влияния AgНЧ на фотосинтетическую активность клеток водорослей на приборе М-РЕА2 измеряли параметры быстрой и замедленной флуоресценции, а также P_{700} (рис. 2). Выполнение таких исследований важно не только для понимания первичных механизмов воздействия AgНЧ на работу ФС2 и ФС1 и на процессы энергизации фотосинтетических мембран, но и для возможного использования различных параметров флуоресценции в биомониторинге для выяснения токсикологического действия наночастиц серебра в водных системах.

На рис. 2, представлены кинетические кривые индукции флуоресценции после включения света, нормированные по уровню О. В контрольных клетках форма кривой флуоресценции соответствовала

описанной в литературе [11–15]. В кинетике индукции флуоресценции в ответ на свет высокой интенсивности обычно наблюдается несколько компонент, т.е. О–J–I–Р переходы. Начальный уровень О соответствует интенсивности флуоресценции хлорофилла при “открытых” РЦ ФС2 (F_0), когда все Q_A окислены. Временной интервал достижения этого уровня до 50 мкс. Фаза О–J обусловлена светоиндуцированным восстановлением Q_A , тогда как следующие фазы отражают главным образом дальнейшее накопление восстановленного Q_A^- , обусловленное снижением его реокисления в результате восстановления акцепторов Q_B и пула хинонов.

Важно отметить, что измерения на флуориметре М-РЕА2 выполняются на клетках, предварительно отфильтрованных на поверхность мембранного фильтра. Контрольные измерения, выполненные на Aqua-Rep, показали их соответствие с кривыми, полученными на М-РЕА2 (рис. 2, рис. 3). Сходство кривых указывает на то, что примененная нами процедура обогащения

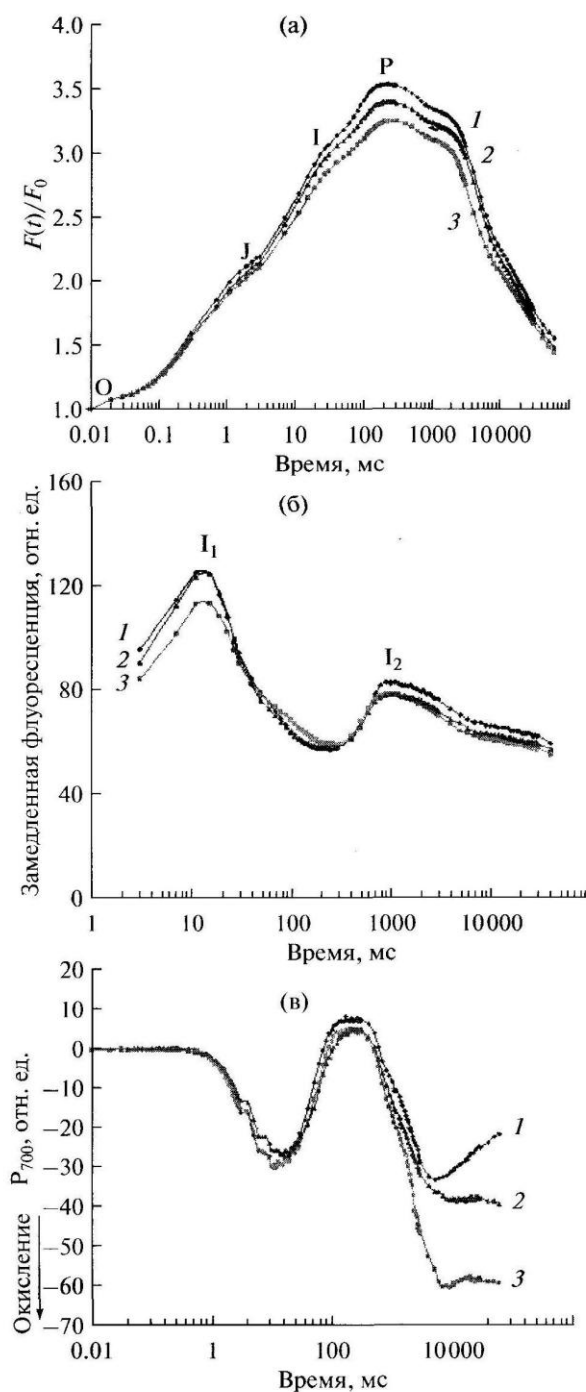


Рис. 2. Индукционные кривые быстрой флуоресценции (а), замедленной флуоресценции (б) и изменение поглощения при длине волны 820 нм (в), после включения освещения на культуре водорослей *Clamydomonas reinhardtii* после 24 ч инкубации с AgNC в разных концентрациях. 1 – контроль, 2 – 2×10^{-6} М, 3 – 2×10^{-5} М. Интенсивность действующего света $1000 \text{ мкЕ/м}^2 \text{ с}$. Инкубация с AgNC течение 24 ч. Одновременные измерения всех параметров на приборе M-PEA2.

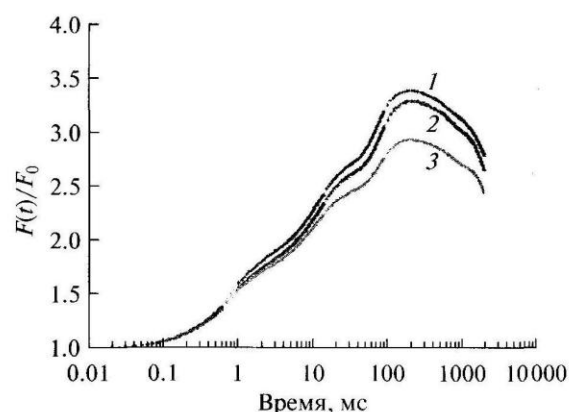


Рис. 3. Индукционные кривые быстрой флуоресценции хлорофилла после включения освещения на культуре водорослей *Clamydomonas reinhardtii* после 24 ч инкубации с AgNC в разных концентрациях: 1 – контроль, 2 – 2×10^{-6} М, 3 – 2×10^{-5} М. Интенсивность действующего света $1000 \text{ мкЕ/м}^2 \text{ с}$. Инкубация с AgNC течение 24-х часов. Одновременные измерения параметров на флуориметре Aqua-Pep.

проб на фильтре не влияла на физиологическое состояние клеток.

При действии AgNC изменялась форма кривой O–J–I–P и наблюдалось снижение вклада фотохимической фазы J–I–P, что свидетельствует о нарушении потока электронов от ФС2 в пул хинонов.

Для проведения количественного анализа характеристик первичных процессов фотосинтеза на основе параметров кинетической кривой O–J–I–P использовали так называемый “JIP-тест” [4, 11]. JIP-тест оперирует следующими параметрами кинетической кривой индукции флуоресценции: а) интенсивностью флуоресценции при 50 мкс (F_0), 300 мкс ($F_{300 \text{ мкс}}$), 2 мс (F_J), 30 мс (F_I), 6 с ($F_{6 \text{ с}}$) и F_P (F_m – максимальный выход флуоресценции); б) временем достижения максимальной флуоресценции ($t(F_m)$) и в) площадью над кинетической кривой до уровня F_m .

Эти характеристики использовали для расчета следующих параметров, приведенных в таблице: 1 – максимальной эффективности ФС2 ($F_v/F_m = F_m - F_0/F_m$); 2 – относительной амплитуды O–J фазы ($V_J = (F_J - F_0)/F_v$) – доля Q_B -невосстанавливаемых ФС2, у которых отсутствует контакт между двумя последовательными акцепторами ФС2 – Q_A и Q_B ; 3 – относительной амплитуды J–I фазы ($V_I = (F_I - F_J)/F_v$); 4 – параметра M_0 ($M_0 = 4 \times (F_{300 \text{ мкс}} - F_0)/F_v$), который отражает начальный наклон кривой роста индукционной кривой; величина M_0 пропорциональна скорости восста-

новления Q_A в условиях, когда Q_B и пул пластохинонов находится преимущественно в окисленном состоянии; 5 — $S_M = (Area)/F_v$ — нормированной величины площади между ОЛР кривой и величиной F_m , отражающей число оборотов ФС2 во время ОЛР фазы роста выхода флуоресценции; 6 — $ABS/RC - M_O (1/F_v/F_m) (1/V_f)$ — среднего значения поглощенных потоков фотонов в РЦ ФС2 видимый размер активной антенны ФС2; 7 — способности к рН-индуцированному нефотохимическому тушению флуоресценции ($q_E = (F_m - F_{6s})/F_v$); 8 — способности пула хинонов тушить флуоресценцию $q_{PQ} = (F_m - F_1)/F_v$.

Многие параметры ЛР-теста являются взаимозависимыми, т.е. изменение одних приводит к изменению других. Независимые параметры V_f и M_O , полученные из анализа фазы О—J, обеспечивают информацией о восстановлении Q_A . Из параметров (V_f , S_M), можно получить информацию о дальнейшем накоплении восстановленного Q_A , которое происходит в результате восстановления Q_B и пула хинонов.

Предполагают, что фаза индукции флуоресценции О—J отражает накопление Q_A как в Q_B восстанавливающих ФС2, так и в Q_B -невосстанавливающих ФС2 [11, 13]. Доказательством является тот факт, что диурон, который ингибирует электронный транспорт между Q_A и Q_B , приводит к быстрому росту флуоресценции до максимального уровня за время 2 мс, которое соответствует появлению пика J в контроле. Анализ показал, что при действии AgНЧ увеличивается количество Q_B -невосстанавливающих центров ФС2, неспособных восстанавливать пул хинонов. Об этом же свидетельствует также ряд других параметров (таблица). Соответственно, увеличивалось значение параметра M_O , который отражает начальный наклон кривой роста индукционной кривой и значение параметра S_M . Общий поток поглощенных фотонов пигментами антенны ФС2, нормированный на РЦ (ABS/RC) увеличивался в культурах, подверженных действию наночастиц серебра, относительно контрольного значения. В тоже время относительная амплитуда фазы J—I (V_f) мало изменялась.

На индукционных кривых быстрой флуоресценции так же хорошо видно подавление спада флуоресценции после достижения максимума, возникающего за счет ΔpH зависимого нефотохимического тушения (параметр $q_E = (F_m - F_{6s})/F_v$). Значение этого параметра уменьшалось в присутствии AgНЧ, что указывает на снижение энергизации мембран. В тоже время способность пула хинонов тушить флуоресценцию $q_{PQ} = (F_m - F_1)/F_v$ у водорослей, обработанных AgНЧ, не изменялась.

Одновременное измерение кинетической кривой $\Delta A820$ на приборе М-РЕА2 показывает, что действие света у темноадаптированного объекта вызывает начальное окисление P_{700} (с максимумом накопления P_{700}^+ при $t \approx 30$ мс), которое сменяется восстановлением P_{700} (рис. 2). При этом сигналы флуоресценции, отражающие восстановление Q_A , и процессы восстановления P_{700} , выходят на плато примерно синхронно. Параллельное накопление восстановленных форм P_{700} и Q_A отражает восстановление переносчиков на всем участке ЭТЦ между фотосистемами в связи с отсутствием оттока электронов из акцепторной части ФС1 в условиях, когда FNR (ферредоксин-NADP-редуктаза) инактивирована вследствие темновой инкубации [12, 14]. При длительном освещении (~ 10 с) наблюдали вторую волну окисления P_{700} , которую объясняют оттоком электронов от ФС1 при активации FNR и ферментов цикла Кальвина.

В присутствии AgНЧ пигмент реакционного центра ФС1 — P_{700} способен к процессам окисления при включении света (рис. 2). Однако у обработанных AgНЧ водорослей, наблюдалось снижение скорости восстановления от ФС2, вследствие ингибирования электронного транспорта. Такие изменения особенно заметны в интервале времени >10 с и согласуются с увеличением Q_B -невосстанавливающих РЦ ФС2.

Известно, что замедленная флуоресценция (ЗФ) является одним из методов, который позволяет следить за изменением градиента протонов мембраны клетки [4]. Явление ЗФ состоит в том, что после светового возбуждения в фотосинтезирующих клетках наблюдается слабое длительно затухающее красное свечение, испускаемое хлорофиллом [4, 15]. Это свечение возникает уже после прекращения быстрой флуоресценции (БФ) за счет энергии, выделяемой в ходе реакций первичных фотопродуктов в РЦ ФС2. Различие между быстрой и замедленной флуоресценцией связано с природой возбуждения излучающей молекулы хлорофилла. БФ связана с процессами дезактивации возбуждения хлорофилла перед разделением зарядов в РЦ, тогда как ЗФ возникает после первичного акта фотосинтеза и энергия появляется в результате обратной рекомбинации разделенных зарядов в реакционном центре ФС2. БФ является чисто фотофизическим процессом и обусловлена высвечиванием части поглощенной антенным хлорофиллом энергии, которая не успела мигрировать на реакционный центр. Замедленная флуоресценция (ЗФ) тесно связана с фотохимическими реакциями, протекающими в РЦ ФС2. Максимум на кривой ЗФ в миллисекундном диапазоне (I_1) совпадает с фазой возрастания J—I на индукционной кривой быстрой флуоресценции (рис. 2). Образование I_1 может

быть обусловлено накоплением определенных редокс-состояний, отвечающих за рекомбинацию зарядов и испускание квантов ЗФ (т.е. высвечивающие состояния), а также усилением ЗФ за счет образующегося электрического потенциала на мембране. Наличие второго пика ЗФ I_2 в секундном диапазоне связано с фотоиндуцированным образованием трансмембранного градиента протонов, который увеличивает константу скорости излучательных переходов в РЦ ФС2. Эти закономерности рассмотрены во многих работах (см. [4]).

В присутствии $AgHCl$ (при достаточно низких концентрациях) наблюдалось снижение пиков на кривой замедленной флуоресценции в областях 20–50 мс и 1 с, что свидетельствует об уменьшении электрической (потенциал) и химической составляющих электрохимического градиента протонов. С увеличением концентрации $AgHCl$ амплитуда пиков ЗФ уменьшалась.

Таким образом, одновременная регистрация индукции быстрой и замедленной флуоресценции, а также изменений P_{700} позволила следить за отдельными реакциями накопления восстановленных переносчиков между фотосистемами, включением ФС1 и кинетикой электрохимического градиента протонов на тилакоидной мембране в присутствии $AgHCl$.

ОБСУЖДЕНИЕ

Микроводоросли, использующие солнечную энергию для синтеза органического вещества, являются основным источником энергии в водных системах и пищей для других организмов. Поэтому фитопланктон может быть первым этапом/барьером накопления наночастиц в пищевых цепях водных экосистем. Серебряные наночастицы ($AgHCl$) благодаря широкому спектру использования с высокой долей вероятности могут попадать в водные экосистемы [3, 4].

Результаты нашей работы подтвердили токсичность наночастиц серебра в низких концентрациях (10^{-6} – 10^{-5} М) на культуры микроводорослей. Одновременные исследования, проведенные на М-РЕА2, позволили выявить особенности влияния наночастицы ($AgHCl$) на реакции ФС2 и отсутствия прямого действия на реакции окисления пигмента ФС1- P_{700} . Анализ индукционных кривых флуоресценции показал ингибирование электронного транспорта в ФС2 и увеличение доли Q_B -невосстанавливающих центров. Кроме того, по анализу индукционных кривых замедленной флуоресценции было выявлено влияние наночастиц на процессы энергизации фотосинтетических мембран клеток.

Несмотря на то, что токсичность $AgHCl$ на бактериях исследовалась в ряде работ [16–18], меха-

низм этого воздействия пока неясен. Предполагается, что токсический эффект $AgHCl$ может быть связан с повреждением клеточной мембраны, окислительным стрессом или взаимодействием Ag^+ с белками и ферментами. Кроме того, вопрос о том, обусловлен ли токсический эффект на микроорганизмы спецификой свойств наночастиц в целом, или это результат воздействия ионов серебра, остается неясным.

В наших экспериментах не наблюдалось значительного различия между серебром в виде наночастиц и солью азотнокислого серебра. Такой эффект согласуется с многочисленными литературными данными, поскольку высвобождение ионов металлов из наночастиц и образование их комплексов могут быть основным фактором экотоксичности наночастиц. Действительно, было показано на культурах клеток *in vitro*, что растворимость окислов наночастиц (в том числе TiO_2 и ZnO) значительно влияла на их цитотоксичность [19]. Для водоросли *Pseudokirchneriella subcapitata* было отмечено, что токсичность наночастиц и крупных частиц ZnO можно связать исключительно с растворенным Zn . Результаты, полученные в работе [20] также показали, что токсичность CuO и ZnO для бактерий и ракообразных *Thamnocephalus platyurus* в основном была связана с биодоступностью ионов Cu и Zn , хотя растворимость CuO и ZnO в воде низка [21]. Аналогичные данные для наночастиц ZnO и CuO в отношении водорослей *Pseudokirchneriella subcapitata* и *Selenastrum capricornutum* приведены в работе [22]. В работе [8] этот вопрос попытались решить с помощью добавки цистеина, сильного лиганда Ag^+ . Обнаружено, что цистеин устраняет ингибиторный эффект на фотосинтез водорослей как $AgHCl$, так и Ag^+ . Это позволило авторам сделать вывод, что наличие Ag^+ в суспензии $AgHCl$ не может полностью объяснять их токсичность. Данные результаты указывают на взаимодействие этих частиц с водорослями, что усиливает токсичность $AgHCl$ через Ag^+ . Сделано предположение, что токсичность частиц обусловлена испусканием ионов серебра, которые образуются в присутствии водорослей.

Проведенные нами исследования показали, что одним из первых параметров реакций водоросли на появления наночастиц в среде являются изменения в индукционных кривых быстрой и замедленной флуоресценции. Эти параметры могут быть весьма эффективно использованы для диагностики влияния наноматериалов на водоросли, а также для оперативного диагностирования появления наноматериалов в водной среде.

Авторы благодарят Осипова В.А. за помощь при проведении измерений.

Статья поддержана грантом РФФИ № 13-04-01853 и ФЦПГК № 14.512.11.0097.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Lee H.Y., Park H.K., Lee Y.M., Kim K., Park S.B. A practical procedure for producing silver nanocoated fabric and its antibacterial evaluation for biomedical applications // Chem. Commun. 2007. V. 28. P. 2959–2961.
- Choi O., Deng K.K., Kim N.J., Ross L., Jr., Surampalli R.Y., Hu Z. The inhibitory effects of silver nanoparticles, silver ions, and silver chloride colloids on microbial growth // Water Res. 2008. V. 42. P. 3066–3074.
- Wiesner M.R., Lowry G.V., Alvarez P., Dionysiou D., Biswas P. Assessing the risks of manufactured nanomaterials // Environ. Sci. Technol. 2006. V. 40. P. 4336–4345.
- Маторин Д.Н., Рубин А.Б. Флуоресценции хлорофилла высших растений и водорослей. М.–Ижевск: ИКИ-РХД, 2012. 256 с.
- Hiriart-Baer V.P., Fortin C., Lee D.Y., Campbell P.G. Toxicity of silver to two freshwater algae *Chlamydomonas reinhardtii* and *Pseudokirchneriella subcapitata* grown under continuous culture conditions: Influence of thiosulphate // Aquat. Toxicol. 2006. V. 78. P. 136–148.
- Дмитриева А.Г., Бойчук Т.В., Филенко О.Ф. Гетерогенность популяции *Scenedesmus quadricauda* при разных режимах интоксикации серебром // Экологические приборы и системы. 2007. № 3. С. 42–45.
- Oukarroum A., Perreault F., Bras S., Popovic R. Inhibitory effects of silver nanoparticles in two green algae, *Chlorella vulgaris* and *Dunaliella tertiolecta* // Ecotoxicol. Environ. 2012. V. 78. P. 80–85.
- Varro E., Piccapietra F., Wagner B., Kogi R., Odzak N., Beg L., Behra R. Toxicity of silver nanoparticles to *Chlamydomonas reinhardtii* // Environ. Sci. Technol. 2008. V. 42. P. 8959–8964.
- Маторин Д.Н., Каратеева А.В., Осипов В.А., Лукашев Е.П., Сейфуллина Н.Х., Рубин А.Б. Влияние углеродных нанотрубок на параметры флуоресценции хлорофилла зеленой водоросли *Chlamydomonas reinhardtii* // Российские нанотехнологии. 2010. Т. 5. № 5–6. С. 71–76.
- Matorin D.N., Karateeva A.V., Osipov V.A., Lukashev E.P., Seifullina N.Kh., Rubin A.B. Influence of carbon nanoparticles on chlorophyll fluorescence parameters of green algae *Chlamydomonas reinhardtii* // Nanotechnologies in Russia. 2010. № 5–6. P. 320–327.
- Маторин Д.Н., Осипов В.А., Сейфуллина Н.Х., Ведиктов П.С., Рубин А.Б. Усиление токсического действия метилртути на микроводоросли *Chlorella vulgaris* под действием светового и холодового стресса // Микробиология. 2009. Т. 78. № 3. С. 362–368.
- Matorin D.N., Osipov V.A., Seifullina N.Kh., Venediktov P.S., Rubin A.B. Increasing toxic effect of methylmercury on *Chlorella vulgaris* under high light and cold stress conditions // Microbiology (Moscow). 2009. V. 78. № 3. P. 321–327.
- Strasser R.J., Tsimilli-Michael M., Qiang Sheng, Goltsev V. Simultaneous *in vivo* recording of prompt and delayed fluorescence and 820-nm reflection changes during drying and after rehydration of the resurrection plant *Haberlea rhodopensis* // Biochim. Biophys. Acta. 2010. V. 1797. № 6–7. P. 1313–1326.
12. Bulychev A.A., Osipov V.A., Matorin D.N., Vredenberg W.J. Effects of far-red light on fluorescence induction in infiltrated pea leaves under diminished ΔpH and $\Delta \phi$ components of the proton motive force // J. Bioenerg. Biomembr. 2013. V. 45. № 1. P. 37–45.
13. Antal T.K., Osipov V.A., Matorin D.N., Rubin A.B. Membrane potential is involved in regulation of photosynthetic reactions in the marine diatom *Thalassiosira weissflogii* // J. Photochem. Photobiol. B: Biology. 2011. V. 102. P. 169–173.
14. Булычев А.А. Индукционные изменения состояния двух фотосистем в листьях растений при модификациях мембранного транспорта ионов // Биологические мембраны. 2011. Т. 28. № 5. С. 365–373. Bulychev A.A. Induction changes in photosystem I and II in plant leaves upon modulation of membrane ion transport // Biochemistry (Moscow). Supplement Series A: Membrane and Cell Biology. 2011. V. 5. № 4. P. 335–342.
15. Goltsev V., Zaharieva I., Chernev P., Strasser R.J. Delayed fluorescence in photosynthesis // Photosynth. Res. 2009. V. 101. P. 217–232.
16. Kim J.S., Kuk E., Yu K.N., Kim J.H., Park S.J., Lee H.J., Kim S.H., Park Y.K., Park Y.H., Hwang C.Y., Kim Y.K., Lee Y.S., Jeong D.H., Cho M.H. Antimicrobial effects of silver nanoparticles // Nanomed. Nanotechnol. Biol. Med. 2007. V. 3. P. 95–101.
17. Pal S., Tak Y.K., Song J.M. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium *Escherichia coli* // Appl. Environ. Microbiol. 2007. V. 73. P. 1712–1720.
18. Yamanaka M., Hara K., Kudo J. Bactericidal actions of a silver ion solution on *Escherichia coli*, studied by energy-filtering transmission electron microscopy and proteomic analysis // Appl. Environ. Microbiol. 2005. V. 71. P. 7589–7593.
19. Brunner T.J., Wick P., Manser P., Spohn P., Grass R.N., Limbach L.K., A. Bruinink A., Stark W.J. *In vitro* cytotoxicity of oxide nanoparticles: comparison to asbestos, silica, and the effect of particle solubility // Environ. Sci. Technol. 2006. V. 40. P. 4374–4381.
20. Franklin N., Rogers N., Apte S., Batley G., Gadd G., Casey P. Comparative toxicity of nanoparticulate ZnO, bulk ZnO, and ZnCl₂ to a freshwater microalga (*Pseudokirchneriella subcapitata*): the importance of particle solubility // Environ. Sci. Technol. 2007. V. 41. P. 8484–8490.
21. Heinlaan M., Ivask A., Blinova I., Dubourguier H.C., Kahru A. Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO₂ to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus* // Chemosphere. 2008. V. 71. P. 1308–1316.
22. Aruoja V., Dubourguier H.C., Kasemets K., Kahru A. Toxicity of nanoparticles of CuO, ZnO and TiO₂ to microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata* // Sci. Total Environ. 2009. V. 407. № 4. P. 1461–1468.