

Чувствительность биотестов на основе водорослей хлорелла и сценедесмус к тяжёлым металлам

© 2014. Е. А. Тютюкова, магистрант, Ю. С. Григорьев, к.б.н., профессор, Сибирский федеральный университет, e-mail: gr2897@gmail.com

Проведено сравнение роста и чувствительности к ионам тяжёлых металлов (кадмий, цинк и медь) водоросли *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb. и *Chlorella vulgaris* Beijer. Обе культуры широко используются в Российской Федерации в качестве тест-организмов при биотестировании токсичности водных сред. Водоросль хлорелла выращивалась в культиваторе КВ-05 на 50% среде Тамия при 36°C. Биотестирование проводилось в 24-х кюветном культиваторе КВМ-05 в течение 22 часов при 36°C на 2% среде Тамия, а также на средах Успенского и Прата. Культуру водоросли сценедесмус выращивали на 10% среде Тамия в культиваторе КВ-05 при 20°C и непрерывном освещении. Биотестирование проводилось в устройствах УЭР-03 на средах Успенского, Прата и 1% среде Тамия при 25°C. Благодаря вращению кассеты с пробами воды и тест-организмами данные устройства обеспечивают для них равные температурные и световые условия, а также аэрацию. За время культивирования (45 часов) численность клеток в контроле возрастала в 20–25 раз. Установлено, что прирост каждой из тест-культур на средах Прата, Успенского и 1–2% среде Тамия был практически одинаковым. При этом различия в степени подавления роста обеих культур водорослей тяжёлыми металлами были невелики и укладывались в диапазон 20–30%. Хорошее сходство по чувствительности данных биотестов свидетельствует о возможности их применения, не противопоставляя друг другу.

The toxic effect of cadmium, zinc and copper ions on growth and sensitivity of algae *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb. and *Chlorella vulgaris* Beijer was examined. Both cultures are widely used in the Russian Federation as test-organisms for water toxicity bioassay. Chlorella was cultured in 50% Tamiya medium in cultivator KV-05 at 36°C. Chlorella growth inhibition test was conducted in the cultivator KVM-05 during 22 hours at 36°C in Uspenskii, Prat and 2% Tamiya media. Alga Scenedesmus was cultured in 10% Tamiya medium in cultivator KV-05 at 20°C under continuous illumination. Scenedesmus growth inhibition test was conducted in devices UER-03 in Uspenskii, Prat and 1% Tamiya media at 25°C. Due to the rotation of the cassette with the water samples and test organisms these devices provide equal temperature, light conditions and aeration. During cultivation (45 hours), the number of cells in control increased by 20–25 times. It was shown, that growth of both test-cultures practically did not differ when Prat, Uspenskii and 1–2% Tamiya media were used. At the same time the degree of growth inhibition of both algae cultures in presence of heavy metals was within the range of 20–30%. Good likeness of the sensitivity of these bioassays indicates the possibility of their application, without opposing them to each other.

Ключевые слова: биотестирование, токсичность, тяжёлые металлы, водоросли хлорелла и сценедесмус

Keywords: bioassay, toxicity, heavy metals, algae Chlorella and Scenedesmus

Введение

В настоящее время в России для целей государственного экологического контроля допущено две методики биотестирования токсичности вод на водорослях – на культурах сценедесмус (*Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb.) [1] и хлорелла (*Chlorella vulgaris* Beijer) [2]. Обе методики используются во многих экологических организациях и службах, но, как правило, по отдельности. При этом биотест на основе широко и давно используемой одноклеточной зелёной водоросли сценедесмус имеет ряд недостатков. К ним можно отнести недостаточную оперативность, трудоёмкость в исполнении и необеспеченность комплексом аппаратуры,

позволяющим поддерживать стандартные условия для тест-организма.

В последние годы на кафедре экотоксикологии и микробиологии Сибирского федерального университета (СФУ) ведутся исследования, направленные на решение данных проблем. Разработаны оригинальные устройства экспонирования тест-организмов при биотестировании (УЭР-03). Для поддержания требуемых световых и температурных условий содержания тест-организмов созданы специализированные климатостаты.

Целью настоящих исследований явилось сравнение методик биотестирования вод на водоросли хлорелла [2] и сценедесмус через оценку их чувствительности к тяжёлым металлам. Для обеспечения стандартных

условий проведения токсикологических экспериментов культуру водоросли сценедесмус выращивали с помощью разработанного в СФУ оборудования.

Методы исследования

Водоросль хлорелла выращивалась по методике [2] в культиваторе КВ-05 на 50% среде Тамия при 36°C. Биотестирование проводилось в 24-кюветном культиваторе КВМ-05 в течение 22 часов при 36°C на 2% среде Тамия, а также на широко используемых средах Успенского и Прата. Плотность засева – 70 тыс. клеток/см³ (что соответствует оптической плотности 0,005). За время культивирования численность клеток в контроле возрасла в 30–35 раз.

Культуру водоросли сценедесмус выращивали в 10% среде Тамия в культиваторе КВ-05 при температуре 20°C и непрерывном освещении. Биотестирование проводилось на средах Успенского, Прата и 1% среде Тамия в устройствах УЭР-03 при 25°C. Благодаря вращению кассеты с пробами воды и тест-организмами со скоростью 6–8 об./мин. данные устройства обеспечивают активное перемешивание и аэрацию сред. Кроме того, в результате вращения создаются равные условия по температуре и освещению для всех анализируемых проб воды. УЭР-03 устанавливались в климатостат ВЗ, который обеспечивал поддержание температуры 25°C и световое облучение интенсивностью 3500–4000 люкс. Плотность засева тест-культуры сценедесмуса составляла 27 тыс. клеток/см³ (что соответствует оптической плотности 0,005). За 45 часов экспонирования в УЭРах численность клеток возрасла в 20–25 раз.

Оптическую плотность водорослевых суспензий как показатель численности клеток измеряли на приборе ИПС-03 в круглых кюветах диаметром 20 мм при длине волны 560 нм. Всё используемое в работе оборудование разработано в СФУ.

Результаты и их обсуждение

В первой серии опытов были изучены ростовые характеристики тест-культур хлореллы и сценедесмуса при выращивании на всех трёх питательных средах, рекомендованных для биотестирования. Поскольку среда Тамия обладает повышенным содержанием солей по сравнению со средами Успенского и Прата, то для снижения возможности связывания с ними токсических компонентов анализи-

руемых проб воды с образованием труднодоступных для тест-организма комплексов её многократно разбавляли. При этом выбранная степень разбавления не должна лимитировать рост самих тест-культур водорослей.

С этой целью была изучена зависимость прироста и чувствительности к модельному токсиканту бихромату калия тест-культуры водоросли сценедесмус от степени разбавления питательной среды Тамия.

Результаты экспериментов, представленные на рисунке 1, показывают, что на 1% и 2% среде Тамия прирост водоросли за 45 часов остаётся практически неизменным, в то время как чувствительность к бихромату калия существенно выше на 1% среде.

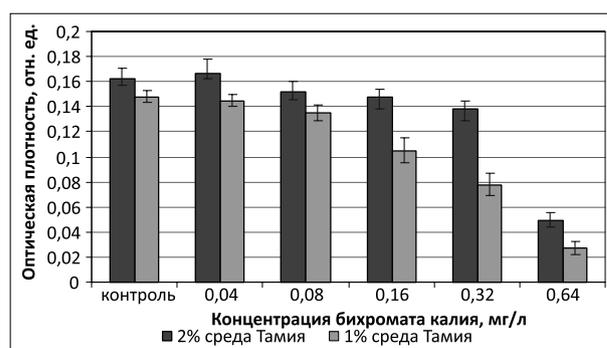


Рис. 1. Прирост водоросли сценедесмус за 45 часов культивирования в УЭР-03 на 1 и 2% среде Тамия в присутствии различных концентраций бихромата калия.

Таким образом, разбавление среды Тамия приводит к значительному повышению чувствительности тест-культуры водоросли сценедесмус к токсиканту. При этом какого-либо ограничения в скорости роста тест-культуры водоросли даже при 100-кратном разбавлении данной среды не наблюдается.

Сравнение роста водорослей на других средах (рис. 2) показало, что за 45 часов культивирования в устройствах УЭР-03 водоросли сценедесмус её прирост на всех средах был близким приросту более продуктивной водоросли хлорелла после 22 часов выращивания на тех же средах по методике [2].

В плане биотестирования несомненный интерес представляло сравнение чувствительности обеих тест-культур к токсикантам на различных питательных средах. Для этого были использованы соли трёх тяжёлых металлов – сульфаты кадмия, меди и цинка

Результаты проведённых экспериментов (рис. 3–5) свидетельствуют, что с увеличением концентрации тяжёлых металлов наблюдается однонаправленное снижение прироста водо-

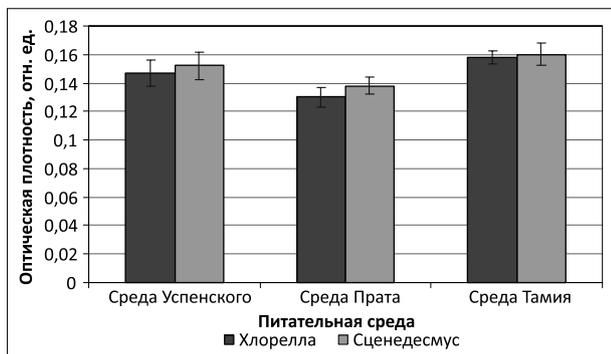


Рис. 2. Прирост тест-культур водорослей сценедесмус (45 часов) и хлорелла (22 часа) на средах Успенского, Прата и среде Тамия 1% и 2% соответственно в контрольных вариантах опыта.

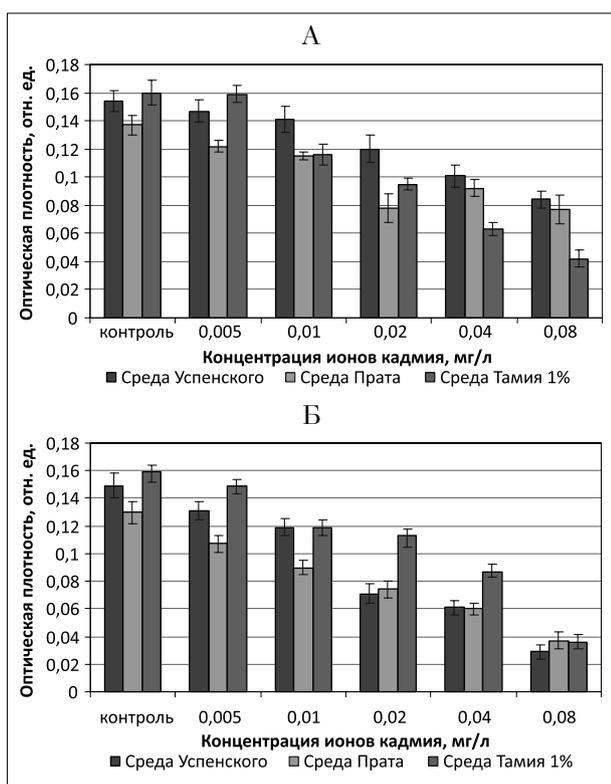


Рис. 3. Оптическая плотность тест-культур водорослей сценедесмус (А) и хлорелла (Б), выращенных на трёх питательных средах в присутствии различных концентраций ионов кадмия (условия как на рис. 2).

рослевых культур. При этом степень подавления роста водорослей хлорелла и сценедесмус была близка на всех трёх питательных средах. Разница укладывалась в диапазон 20–30%.

Заключение

Хорошее сходство по чувствительности данных биотестов свидетельствует о возможности их применения, не противопоставляя друг другу. Нельзя не отметить также, что

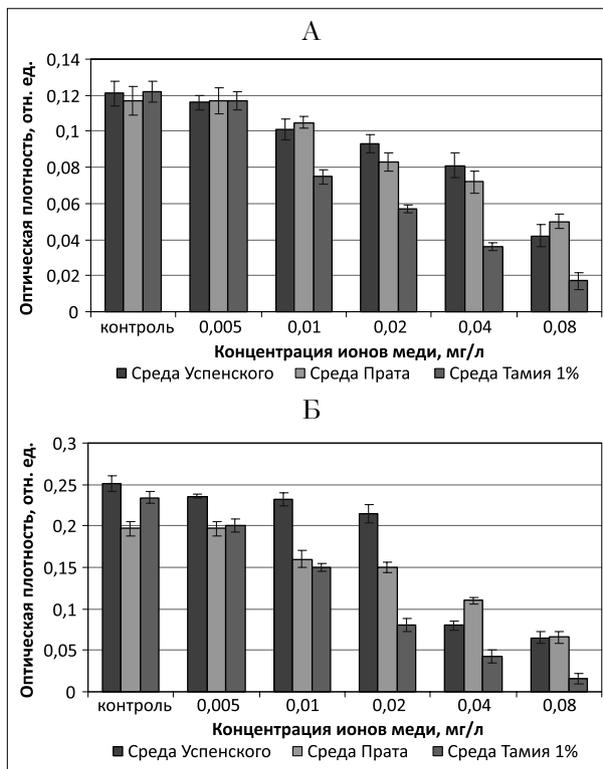


Рис. 4. Оптическая плотность тест-культуры водорослей сценедесмус (А) и хлорелла (Б), выращенных на трёх питательных средах в присутствии различных концентраций ионов меди (условия как на рис. 2).

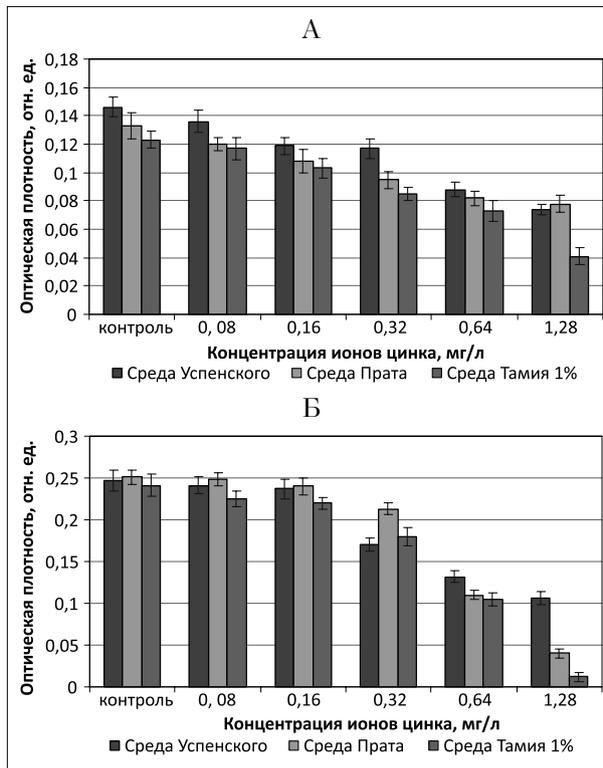


Рис. 5. Оптическая плотность тест-культуры водорослей сценедесмус (А) и хлорелла (Б), выращенных на трёх питательных средах в присутствии различных концентраций ионов цинка (условия как на рис. 2).

использование устройств УЭР-03 позволило существенно сократить длительность биотестирования на водоросли сценедесмус и значительно улучшить воспроизводимость получаемых результатов.

Литература

1. Жмур Н.С., Орлова Т.Л. Методика определения токсичности вод, водных вытяжек из почв, осадков

сточных вод и отходов по изменению уровня флуоресценции хлорофилла и численности клеток водорослей. ФР. 1.39.2007.03223. М. 2007. 48 с.

2. Григорьев Ю.С. Методика определения токсичности питьевых, природных и сточных вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению оптической плотности культуры водоросли хлорелла (*Chlorella vulgaris* Beijer). ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.10-04 16.1:2.3:3.7-04, ФР.1.39.2012.12370. Москва, 2004 (издание 2012 г.), 42 с.

Институт биологии Коми НЦ УрО РАН
Санкт-Петербургский государственный университет
МГУ им. М. В. Ломоносова
Общество почвоведов им. В. В. Докучаева
Общество по изучению гуминовых веществ им. Д. С. Орлова
Региональное отделение СНГ Международного гуминового общества
Почвенный институт им. В. В. Докучаева РАСХН

**VI Всероссийская научная конференция с международным участием
«Гуминовые вещества в биосфере»**
Институт биологии Коми НЦ УрО РАН,
6–9 октября 2014 г.
г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28

Основные направления работы конференции:

1. Функции гуминовых веществ в биосфере.
2. Структурные параметры гуминовых веществ и современные методы их изучения.
3. Гуминовые вещества палеопочв.
4. Гуминовые вещества в условиях техногенеза.
5. Гуминовые препараты и их применение.
6. Гумусное состояние почв, региональные аспекты (только стендовая сессия).
7. Круглый стол «Современные представления о природе гуминовых веществ».

Информация о конференции размещена на сайте Института биологии Коми НЦ УрО РАН по адресу <http://ib.komisc.ru>, а также на сайте Общества по изучению гуминовых веществ <http://humic.pu.ru>.