

УДК 574.64

ТОКСИЧНОСТЬ МЕДИ ДЛЯ КУЛЬТУРЫ ЗЕЛЕННОЙ ВОДОРОСЛИ *SCENEDESMUS QUADRICAUDA* ПРИ ФЛУКТУАЦИЯХ УРОВНЯ АКТИВНОЙ РЕАКЦИИ СРЕДЫ (PH)

Шавырина О.Б.

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва,
e-mail: o_sha2013@mail.ru

Водородный показатель (pH) воды – строго нормируемый параметр при приготовлении питательных сред и ведении аквакультуры. Однако он лабилен и зависит от свойства самой воды (буферность, жесткость), внешних факторов (кислотные осадки, стоки), а также от жизнедеятельности фотосинтезирующих организмов. В связи с этим может меняться физиологическое состояние гидробионтов и их устойчивость к стрессу, в том числе токсическому. Исследовано изменение pH среды в процессе роста лабораторной культуры *Sc. quadricauda* в норме и при воздействии токсичной концентрации меди (0,3 мг/л), а также влияние флуктуаций pH на устойчивость водорослей к воздействию меди. В процессе роста интактной культуры водорослей pH среды увеличивался от 7,8 до 10,8 в течение 8 суток. При добавлении меди в свежеприготовленные культуры водорослей фотосинтетическое подщелачивание до уровня 9,6 происходило медленно на фоне отсутствия деления клеток. Искусственное подщелачивание питательной среды до pH 10 приводило к снижению токсичности меди. В процессе роста культуры обнаружено повышение устойчивости водорослей к воздействию меди, однако это связано не только с естественным подщелачиванием среды в результате фотосинтеза. Накопление экзометаболитов в среде и формирование целостной популяции в процессе роста культуры вносят свой вклад в повышение резистентности водорослей.

Ключевые слова: pH, водоросли, медь, устойчивость, токсичность

COPPER TOXICITY FOR GREEN ALGAE CULTURE *SCENEDESMUS QUADRICAUDA* UNDER FLUCTUATIONS IN PH VALUE

Shayrina O.B.

Lomonosov Moscow State University, Moscow, e-mail: o_sha2013@mail.ru

pH value (pH) of water is a strictly normalized parameter in the preparation of culture media and aquaculture. However, the pH is very labile and depends on the properties of the water (buffering, hardness), external factors (acid rain, wastewater), as well as vital activity of photosynthetic organisms. In this regard, physiological state of aquatic organisms and their resistance to stress, including toxicity may vary. Changes in pH was examined during growth of laboratory culture *Sc. quadricauda* normally and when exposed to toxic concentrations of copper (0.3 mg / l), and the impact of pH fluctuations on the stability of the algae exposed to copper. During growth intact algal culture pH value increased from 7.8 to 10.8 for 8 days. By adding copper to fresh culture photosynthetic alkalization proceeded slowly to the level of 9.6 on the background of the lack of cell division. The artificial alkalization of culture media to pH 10 led to reduce the toxicity of copper. The increased algal resistance to copper during growth was detected, but it was not only due to the natural alkalization by photosynthesis. Metabolites accumulation in the culture media and the formation of an integrated population in the process of growth of the culture are contributing to the increase of algae resistance.

Keywords: PH, algae, copper, resistance, toxicity

Изменение pH среды в процессе роста водорослей служит косвенным показателем их фотосинтетической активности. В то же время, само изменение pH среды влияет на физиологическое состояние водорослей [3] и сказывается на их чувствительности к воздействию токсикантов. Это особенно важно, если токсикантом является тяжелый металл, форма присутствия которого в среде зависит от pH водного раствора [5], и водоросли испытывают как прямое воздействие ионов металлов, так и образующихся в воде комплексов [2, 4].

Исследования динамики изменений pH в процессе роста лабораторной культуры зеленой водоросли *Sc. quadricauda* в норме и при различных способах интоксикации медью позволяют выяснить, как влияет из-

менение pH культуральной среды на устойчивость водорослей к воздействию этого металла на разных стадиях их развития, что, в свою очередь, важно для выявления наиболее уязвимых стадий развития не только лабораторной культуры, но и популяций водорослей в естественных и искусственных водоемах.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования служила лабораторная альгологически чистая культура зеленой водоросли *Scenedesmus quadricauda* Vreb., которую выращивали на среде Кратца-Майерса с pH 7,8 в люминестате при $t = 22-25^{\circ}\text{C}$, круглосуточном освещении 2000 люкс. Опыты проводили в колбах Эрленмейера объемом 250 мл с количеством культуры 100 мл, в трех повторностях. Численность клеток водорослей определяли методом прямого счета в камере Горяева и колориме-

трически с использованием КФК-2. Продолжительность экспериментов – 25 суток.

Плотность посева – 0,1 млн кл/мл, испытуемая концентрация – 0,3 мг Cu^{2+} /л в виде соли $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

Результаты исследования и их обсуждение

В предварительных опытах для лабораторной культуры *Sc. quadricauda* с плотностью 0,1 млн кл/мл определен диапазон витальных концентраций меди от минимально действующей (0,25 мг/л) до летальной (0,5 мг/л). В дальнейших экспериментах использована высокотоксичная концентрация меди 0,3 мг/л.

В процессе роста интактной культуры водорослей рН среды увеличился от 7,8 до 10,5 в течение 8 суток, при этом численность клеток возросла в 70 раз. В присутствии меди рН среды увеличивался значительно медленнее: на 10-е сутки достиг

величины 8,5 и только после 17-х суток опыта начал приближаться к контрольному уровню и достиг величины 9,6, причем прирост численности клеток водорослей за этот период был статистически не значимым. Таким образом, несмотря на отсутствие роста культуры в присутствии меди, клетки оставались жизнеспособными, о чем свидетельствует увеличение рН среды за счет фотосинтеза (рис. 1).

При исходном искусственном подщелачивании среды Кратца-Майерса до уровня рН 10, токсичность меди снижалась по сравнению с действием меди при стандартном для данной среды уровне рН (7,8). Культура водорослей активно развивалась, особенно после 9-и суток опыта, и на 14-е сутки численность клеток составляла 30,3% от контроля и в 13 раз превышала численность клеток в варианте с медью при рН 7,8 (рис. 2).

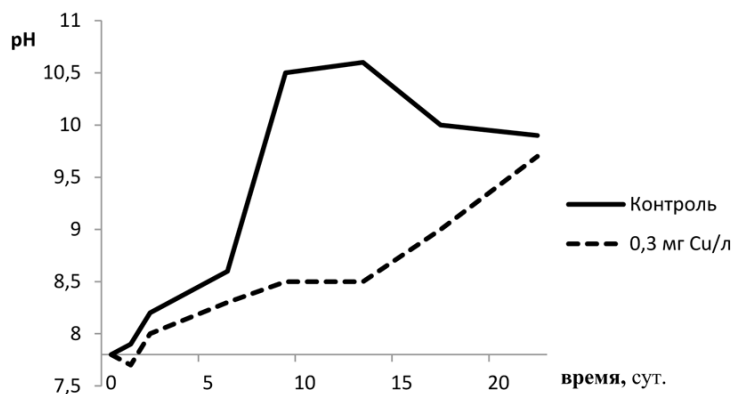


Рис. 1. Динамика рН в процессе роста культуры *Sc. quadricauda*

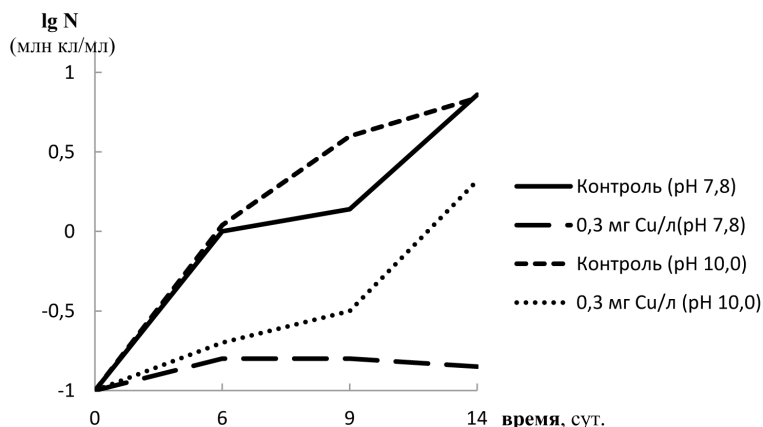


Рис. 2. Рост культуры *Sc. quadricauda* при различном исходном уровне рН среды

Возникает вопрос, а может ли естественное повышение pH в процессе роста культуры оказывать аналогичное протекторное действие на зрелые культуры, повышая их устойчивость к воздействию меди. Для выяснения этого медь вносили не в свежеприготовленную культуру, а в 5-, 10- и 23-суточные культуры однократно и пропорционально возросшей численности клеток (для снятия детоксицирующего «эффекта биомассы»). При этом культуры не отмирали, их численность стабилизировалась на уровне, достигнутом к моменту внесения меди, несмотря на то, что реальные концентрации меди в этих вариантах в десятки раз превышали летальную для свежеприготовленной культуры *Sc. quadricauda* (с плотностью 0,1 млн кл/мл) концентрацию меди.

Для выяснения того, насколько существенна роль подщелачивания среды за счет фотосинтеза в повышении устойчивости зрелых культур водорослей к меди, каждому варианту этого опыта соответствовала параллель, где культуральную среду перед внесением меди подкисляли, доводя pH до исходной величины (~ 8). Однако статистически значимых отличий роста этих параллелей от соответствующих им вариантов не получено. Вместе с тем, к концу опыта стало очевидно, что культуры, где среду подкисляли, значительно желтее контрольных, однако клетки не утратили присущей им формы и соединены в ценобии по 4 клетки. В то же время, в тех вариантах, где после добавления меди культуры продолжали развиваться естественным образом, наблюдалась сильная деформация клеток и их высокая агрегированность, но при этом сохранялся интенсивный зеленый цвет, свойственный данной культуре. По-видимому, способы выживания зрелых культур *Sc. quadricauda* в средах с большими концентрациями меди

при высоком и низком уровне pH среды различны, однако представляется, что сохранение пигментного состава (при высоком уровне pH) физиологически более ценно для выживания, чем сохранение морфологии клеток (при низком уровне pH).

Заключение

На основании полученных данных можно сделать вывод о том, что свежеприготовленные культуры *Sc. quadricauda* весьма чувствительны к воздействию меди, но при искусственном повышении pH токсичность меди для таких культур уменьшается. В процессе роста культур их устойчивость к действию меди повышается, но относить это только на счет фотосинтетического подщелачивания среды вряд ли уместно. В этот период в среде накапливаются экзометаболиты водорослей, снижающие эффективность концентрации металла за счет способности к комплексообразованию [4], а также формируется целостная популяция водорослей, качественно отличная от свежеприготовленной культуры [1].

Список литературы

1. Гапочка Л.Д., Шавырина О.Б. Формирование популяций микроводорослей и их устойчивость в условиях токсического воздействия // Вестник Московского университета. – 2004. – Серия 16. Биология. – № 4. – С. 22–28.
2. Lüderitz V., Nicklisch A. The effect pH on copper toxicity to blue-green alga // Int. Revue der Hydrobiol. – 1989. – 74, № 3. – P. 283–291.
3. Peterson H.G., Healey F.P., Wagemann R. Metal toxicity to alga: highly pH-dependent phenomenon // Can. J. Fish. Aquat. Sci. – 1984. – 41. – P. 974–979.
4. Starodub M.E., Wong P.T.S., Mayfield C.L., Chau Y.K. Influence of complexation and pH on individual and combined heavy metal toxicity to a fresh water green alga // Can. J. Fish. Aquat. Sci. – 1987. – 44. – P. 1173–1180.
5. William A. Wurts and Robert M. Durborow. Interactions of pH, Carbon Dioxide, Alkalinity and Hardness in Fish Ponds // SRAC Publication No. 464, 1992. URL: <http://www2.ca.uky.edu/wkrec/WurtsLitpage.htm> (дата обращения: 10.07.2015).