

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ МЕДИ НА ДИНАМИКУ РОСТА ВОДОРΟΣЛИ ХЛОРЕЛЛА

Давыдова Н.С.,

научный руководитель канд. биол. наук Григорьев Ю.С.

Сибирский федеральный университет

В биотестировании токсичности вод широко распространенным тест-объектом являются одноклеточные зеленые водоросли. Они удобны тем, что имеют короткий жизненный цикл, быстро размножаются, и обладают малыми размерами. Биотестирование на водорослях выполняется в достаточно длительном токсикологическом эксперименте, занимающем до 4 суток [1]. На кафедре экологии и природопользования СФУ в последние годы разработана более оперативная методика биотестирования на водоросли *Chlorella vulgaris*, длительностью 22 часа [2]. Вместе с тем, неизвестно на какой стадии роста накопительной культуры водоросли в наибольшей степени проявляется действие токсиканта. Для изучения ростовых процессов водорослевой культуры на кафедре создан прибор, который благодаря автоматизированному измерению позволяет непрерывно считывать динамику изменения оптической плотности в процессе роста тест-культур водоросли в каждом из 18 флаконов - реакторов. С его помощью можно регистрировать и изучать ростовые характеристики культуры водоросли в любой промежуток времени. Такие данные представляют большой научный и практический интерес. В связи с этим, целью настоящих исследования был анализ ростовых характеристик культуры водоросли *Chlorella vulgaris* и характер влияния ионов меди на ростовые показатели водоросли.

Для изучения кривых роста и скорости роста водоросль выращивалась в автоматизированном культиваторе КВМ-06 при температуре 36° С, световом облучении светодиодами источниками интенсивностью 150 Вт/м², непрерывном перемешивании, обеспечивающем поступление углекислого газа из воздушной среды (0.03%). Последнее достигалось благодаря интенсивному вращению флаконов с водорослевой суспензией. Засев культуры производился с исходной оптической плотностью 0,002; 0,006; 0,018. В качестве питательной среды использовалась 2% среда Тамия. Одновременно определяли влияние дополнительного внесения микроэлементов в разбавленную до 2% среду на рост культуры водоросли, из расчета 1 мл/л. Для сравнения чувствительности культуры водоросли к модельному токсиканту, суспензию водоросли выращивали на 2 и 50% среде Тамия, при условиях описанных выше. Засев культуры производился с исходной оптической плотностью 0,010. Во флаконы-реакторы с опытными образцами добавляли по 0,8 мл модельного токсиканта в виде раствора $\text{CuSO}_4 \times 5 \text{H}_2\text{O}$, при этом концентрация ионов меди составляла 0,04 мг/л. Культивирование производилось в течении 24 часов. Оптическая плотность суспензии водоросли хлорелла для засева измерялась на приборе ИПС - 03 в 2 см кювете при длине волны 560 нм.

Была изучена динамика роста культуры водоросли *Chlorella vulgaris* Beijer в культиваторе КВМ-06 в течение суток при разной плотности засева. По результатам экспериментов построены кривые роста и рассчитана скорость роста культуры водоросли.

Из рисунка (рис. 1) видно, что при выбранных условиях культивирования, независимо от засеваемого количества клеток культуры водоросли, оптическая плотность биомассы культуры росла по экспоненциальной кривой. Графики скорости роста культуры при этом имели вид немонотонных кривых с двумя пиками.

Наличие двух пиков скорости роста тест-культуры может быть вызвано изменением механизма фотоассимиляции CO_2 в процессе нарастания численности клеток в водорослевой культуре и возникновением в связи с этим дефицита растворенного углекислого газа в среде.

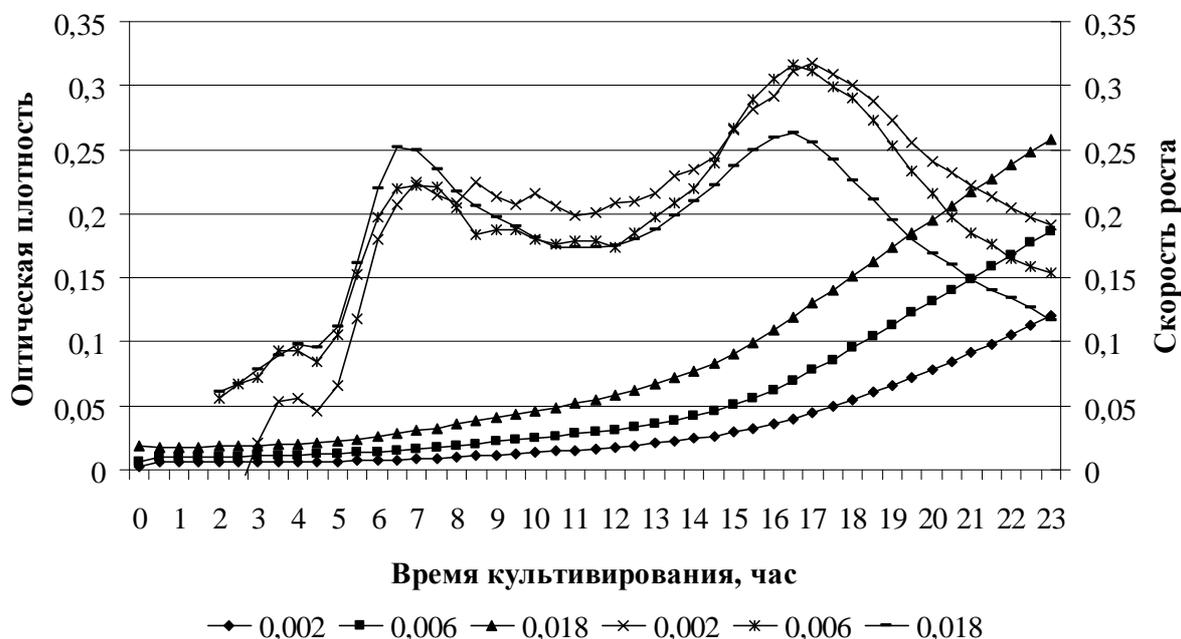


Рисунок 1 - Кривые оптической плотности и скорости роста культуры водоросли *Chlorella vulgaris* при разной плотности засева.

Также было установлено, что нет различий между конечной оптической плотностью проб с дополнительным внесением растворов микроэлементов и без него. Отсутствие различий в приросте культуры можно объяснить тем, что концентрация микроэлементов после разбавления среды Тамия до 2% достаточна для полноценного роста культуры водоросли. При этом лимитирование роста хлореллы при суточной световой экспозиции со стороны макроэлементов в разбавленной среде не наблюдается. Об этом свидетельствуют одинаковые приросты культуры хлореллы при равном засеве в 2 и 50% среде Тамия. В связи с этим при выращивании культуры на 2% среде Тамия нет необходимости проводить дополнительную корректировку ее по содержанию микроэлементов.

Однако выращивание культуры на 2 и 50% среде Тамия сказывается на чувствительности водоросли к тяжелым металлам. Из рисунка 3 видно, что при выращивании водоросли на 2% среде Тамия рост хлореллы полностью подавляется при концентрации ионов меди в растворе 0,04 мг/л. Из графика отражающего скорость роста хлореллы видно, что внесение токсиканта в среде подавляет рост хлореллы с начальных этапов культивирования, затем скорость роста начинает постепенно увеличиваться. Это вероятно связано с тем, что в начале культивирования ионы меди подавляют рост культуры, но потом клетки водоросли адаптируются к наличию токсиканта в среде и скорость роста увеличивается.

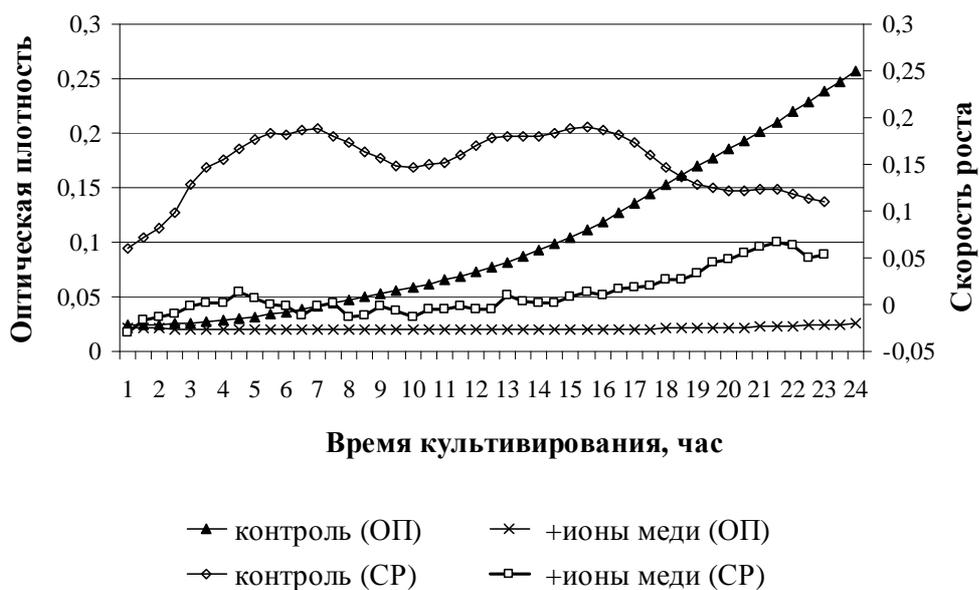


Рисунок 2 – Графики изменения оптической плотности (ОП) и скорости роста (СР) суспензии водоросли хлорелла в процессе культивирования в 2% среде Тамия до и после добавления 0,04 мг/л ионов меди. Начальная оптическая плотность засеваемой культуры 0,010.

Внесение такой же концентрации ионов меди в суспензию водоросли в 50% среду Тамия не оказывает токсического действия на прирост оптической плотности культуры и на скорость роста (рис. 4). Отсутствие воздействия токсиканта в 50% среде Тамия, вероятно, обусловлено его взаимодействием с компонентами этой высококонцентрированной среды. Для снижения возможности связывания токсикантов с солями с образованием труднодоступных для тест-организма комплексов, лучше использовать 2% среду Тамия.



Рисунок 3 - Графики изменения оптической плотности (ОП) и скорости роста (СР) суспензии водоросли хлорелла в процессе культивирования в 50% среде Тамия до и после добавления 0,04 мг/л ионов меди. Начальная оптическая плотность засеваемой культуры 0,010.

Таким образом, регистрация кривых роста культуры водоросли позволяет получать новые данные о состоянии тест-организма, в том числе и при проведении токсикологического эксперимента.

Литература:

1. Жмур Н.С., Орлова Т.Л., Методика определения токсичности вод,.... по изменению уровня флуоресценции хлорофилла и численности клеток водорослей, ФР. 1.39.2007.03223 М. 2007, 48.
2. Григорьев Ю.С. Методика определения токсичности проб поверхностных пресных, грунтовых, питьевых, сточных вод и отходов по изменению оптической плотности культуры водоросли хлорелла (*Chlorella vulgaris* Beijer). Москва, 2004 (издание 2012 г.), 37 с., ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.10-04 16.1:2.3:3.7-04, ФР.1.31.2009.06643.