

ВЛИЯНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА НЕКОТОРЫЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ НИТЧАТЫХ ЦИАНОБАКТЕРИЙ

Тяжелые металлы представляют собой наиболее широко распространенные загрязнители почвенной и водной среды. Цианобактерии являются перспективными объектами для применения в очистке объектов окружающей природной среды от ионов тяжелых металлов, поскольку способны накапливать многие элементы и переводить их в нетоксичную форму. Производили оценку влияния тяжелых металлов (кадмия, меди, свинца и серебра) на некоторые морфологические и физиологические параметры нитчатых цианобактерий. При этом повышенные концентрации тяжелых металлов оказывают влияние на размеры, морфологию, ультраструктуру клеток и физиолого-биохимические признаки цианобактерий. В ходе экспериментальных исследований выявлено, что исследуемые цианобактерии чувствительны к токсическому действию тяжелых металлов. Отмечено, что степень выраженности токсического эффекта снижается от кадмия к свинцу. Показано, что в присутствии тяжелых металлов цианобактерии развиваются преимущественно на поверхности плотной питательной среды, а также испытывают морфологические изменения: появление атипичных крупных клеток (до 4 мкм на 2 мкм), и клеток с неровными краями; образование скоплений трихом и трихом, «распадающихся» на фрагменты и отдельные клетки. Отмечена адаптация цианобактерий к ионам свинца. Выявлено, что низкие концентрации ионов свинца стимулируют прирост биомассы цианобактерий до двух раз по сравнению с контролем. Обнаружено, что все исследуемые концентрации свинца оказывают угнетающее действие на фотосинтетическую систему нитчатых цианобактерий, что выражается в снижении концентрации хлорофилла а и каротиноидов при увеличении содержания свинца в среде.

Ключевые слова: тяжелые металлы, цианобактерии, фотосинтетические пигменты.

Наиболее широко распространенными загрязнителями почвенной и водной среды являются тяжелые металлы [1], [2]. По причине острой токсичности и постепенной аккумуляции в природной среде до критического значения, металлы образуют группу наиболее опасных загрязнителей среды, и представляют серьезную угрозу для биоты, однако, в то же время, они составляют необходимую часть ферментативных систем живых организмов [3], [4]. Для очистки промышленных стоков от высококонцентрированных загрязнений наиболее целесообразно использовать механические, физические и химические методы. Но со снижением концентрации поллютантов их рентабельность падает и здесь наступает очередь методов биологической очистки. Перспективными объектами для применения в очистке сточных вод от соединений тяжелых металлов являются цианобактерии, так как они обладают способностью аккумулировать в высоких концентрациях многие элементы, а так же переводить их в нетоксичную форму. Благодаря короткому циклу их развития можно на нескольких поколениях проследить действие экстремальных факторов окружающей среды [5], [6], [7]. Повышенные концентрации тяжелых металлов оказывают влияние

на размеры, морфологию, ультраструктуру клеток и физиолого-биохимические признаки цианобактерий. Многими исследователями отмечено угнетение развития цианобактерий, что выражается как в снижении прироста биомассы, так и в снижении содержания фотосинтетических пигментов в клетках. Вместе с тем, имеются данные о существенной роли каротиноидных и фикобилиновых пигментов в инактивации ионов тяжелых металлов [8], [9], [10], [11], [12], [13].

Целью исследований являлось изучение влияния тяжелых металлов (свинца, кадмия, меди, серебра) на некоторые физиологические параметры нитчатых цианобактерий.

Объектом исследований являлась альгологически чистая культура нитчатых цианобактерий, выделенная из состава лабораторного цианобактериального сообщества. Культивирование цианобактерий проводили на среде BG-11 в колбах Эрленмейера при температуре $20 \pm 2^\circ\text{C}$ и постоянном искусственном освещении 1500 люкс.

Серебро вносили в среду в виде AgNO_3 , кадмий – в виде CdCl_2 , свинец – в виде $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, медь – в виде CuSO_4 . Токсичность тяжелых металлов оценивали по их концентрациям: 200 мг/л; 20 мг/л; 2 мг/л; 0,2 мг/л; 0,02 мг/л; 0,002 мг/л.

Рост цианобактерий контролировали по приросту сырой биомассы, визуально (окраска биомассы и характер роста в питательной среде) и микроскопически (форма и размер клеток, особенности трихом).

Контроль пигментного комплекса цианобактерий осуществляли по изменению содержания хлорофилла *a* и каротиноидов. Содержание фотосинтетических пигментов в клетках исследуемых цианобактерий определяли колориметрическим методом. Для определения концентраций пигментов в вытяжке использовали формулы Вернона [14] и Виттштейна [15].

Исследуемая культура растет в виде пленок и тяжелой ярко-зеленого цвета. При выращивании на твердых средах наблюдается стелющийся рост пучков трихомов; в жидкой среде трихомы переплетаются между собой, образуя плотные кожистые тяжи. Трихомы от прямых до слабо волнистых. Клетки в трихоме цилиндрические, размер клеток 1,6–2,3 мкм в длину и 1,5–1,8 мкм в ширину. Чехлы вокруг тонкие или отсутствуют.

Содержание хлорофилла *a* в исследуемом штамме цианобактерий составило 0,223 мг/г сырой биомассы, каротиноидов – 0,086 мг/г сырой биомассы.

Для предварительной оценки токсичности некоторых тяжелых металлов проводили сравнение интенсивности роста цианобактерий на плотной среде BG-11, содержащих тяжелые металлы, с интенсивностью роста в контрольной среде (без тяжелых металлов) и по результатам сравнения оценивали рост цианобактерий в баллах от 0 до 5 (0 – рост отсутствует; 5 – интенсивный рост).

Спустя 30 суток культивирования цианобактерий на средах с тяжелыми металлами установлено, что данные микроорганизмы выдерживают до 20 мг/л $Pb(CH_3COO)_2$, до 2 мг/л $AgNO_3$, до 0,2 мг/л $CuSO_4$, до 0,02 мг/л $CdCl_2$.

Отмечено, что исследуемые цианобактерии чувствительны к токсическому действию тяжелых металлов. При этом степень выраженности токсического эффекта солей тяжелых металлов неодинакова: $Cd > Cu > Ag > Pb$. Наименее токсичным тяжелым металлом является свинец.

Визуальная оценка культуральных признаков выявила, что в контрольной среде микроорганизмы проявляют рост внутри питательной среды, а так же образуют пленку на ее поверхности. На средах с тяжелыми металлами отмечен рост ближе

к поверхности среды и образование пленок. Биомасса в контроле и в средах, содержащих тяжелые металлы, имеет насыщенный зеленый цвет.

В процессе изучения морфологии клеток цианобактерий выявлено, что в контроле цианобактерии представлены слегка вытянутыми клетками, образующими длинные трихомы с клетками 1,6–2,3 мкм × 1,5–1,8 мкм. В присутствии соли серебра наблюдалось появление атипичных клеток, отличающихся неровными краями и крупными размерами (до 3,8 мкм). В присутствии солей меди и кадмия наблюдалось так же появление крупных клеток, с неровными краями, и, кроме того, не типичное для данной культуры, образование небольших отдельных скоплений трихом (при концентрации 0,2 мг/л). В присутствии соли свинца было обнаружено появление очень крупных клеток (до 4 мкм × 2 мкм). Кроме того, нередко встречались трихомы, «распадающиеся» на отдельные клетки и короткие цепочки клеток. Данная особенность была отмечена при следующих концентрациях $AgNO_3$: 0,2 мг/л, 2 мг/л; при 0,2 мг/л $CuSO_4$; при 0,02 мг/л $Pb(CH_3COO)_2$.

Таким образом, в ходе предварительной оценки токсичности тяжелых металлов отмечена устойчивость исследуемой культуры цианобактерий к воздействию ионов свинца. В связи с этим, следующим этапом исследований являлось определение влияния ионов свинца на некоторые физиологические параметры нитчатых цианобактерий

Для этого использовали жидкие минеральные среды BG-11, содержащие концентрации 1, 5, 10 ПДК ионов свинца. В конце инкубации оценивали прирост биомассы и содержание хлорофилла *a* и каротиноидов. Длительность эксперимента составила 30 дней.

Отмечена чувствительность физиологических параметров исследуемых цианобактерий к токсическому действию тяжелых металлов. При этом различные концентрации токсикантов по-разному влияли на синтез пигментов и накопление биомассы (табл. 1).

Выявлено, что ионы свинца в концентрации 5 ПДК максимально стимулируют накопление биомассы цианобактериями. Прирост биомассы более чем в 2 раза выше, чем в контроле.

Вместе с тем, отмечено, что увеличение концентрации свинца способствует снижению концентрации фотосинтетических пигментов. При

Таблица 1 – Влияние ионов свинца на некоторые физиологические параметры нитчатых цианобактерий

| Концентрация, ПДК | Прирост биомассы | Хлорофилл а, мг/г | Каротиноиды, мг/г |
|-------------------|------------------|-------------------|-------------------|
| Контроль | 0,5 | 0,081 | 0,155 |
| 1 | 0,635 | 0,044 | 0,032 |
| 5 | 1,115 | 0,049 | 0,016 |
| 10 | 0,2 | 0,019 | 0,006 |

концентрации свинца в 1 и 5 ПДК уменьшение содержания хлорофилла а происходит практически в 2 раза, а при 10 ПДК – в 4.

Содержание каротиноидов более чувствительно к воздействию ионов свинца. При возрастании концентрации от 1 до 10 ПДК происходит снижение содержания каротиноидов от 5 до 25 раз.

Таким образом, в ходе исследований отмечено, что токсическое действие ионов свинца на цианобактерии сопровождается морфологическими и физиологическими изменениями в клетках. Под действием свинца происходило увеличение

клеток цианобактерий, распад нитей на фрагменты, а так же изменение расположения трихом относительно друг друга. Отмечена адаптация цианобактерий к данному тяжелому металлу, что выражается в увеличении биомассы и изменении фотосинтетической системы. Выявлено, что концентрация ионов свинца 5 ПДК стимулирует увеличение биомассы (более чем в 2 раза, по сравнению с контролем). При этом, выявлено угнетающее действие ионов свинца на содержание фотосинтетических пигментов: хлорофилла а и каротиноидов.

13.09.2017

Список литературы:

1. Будников, Г.К. Тяжелые металлы в экологическом мониторинге водных систем // Соросовский образовательный журнал. – 1998. – №5. – С. 23-29.
2. Луковникова Л.В. Металлы в окружающей среде, проблемы мониторинга // Эфферентная терапия. -2004. – Т.10. – С. 74-79.
3. Шилов В.В. Токсикология свинца [Текст] : пособие для врачей – СПб. : Издательство Политехнического университета, 2010. – 28 с.
4. Богачева, А.С. Чувствительность цианобактерий к токсическому действию солей тяжелых металлов.– Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Санкт – Петербург, 2011. – 24 с.
5. Черникова, А.А. Накопление меди и марганца в клетках цианобактерии *Spirulina platensis*. – Автореферат дисс. канд. биол. наук. – Москва, 2009. – 18с.
6. Vijayakumar, S. Potential applications of Cyanobacteria in industrial effluents – a review // Bioremediation & Biodegradation. – 2012. – Vol.3/ – Issue 6.– <http://dx.doi.org/10.4172/2155-6199.1000154>
7. Priyadarshani I., Rath B. Effect of heavy metals on cyanobacteria of Odisha coast // Journal of Microbiology and Biotechnology Research. – 2012. – 2(5). – p. 665-674.
8. Penfu Li, Stephen E. Harding, Zhili Liu Cyanobacterial exopolysaccharides: their nature and potential biotechnological applications // Biotechnology and Genetic Engineering Reviews. – 2001/ – Vol.18. – P.375-405.
9. Shukla M.K., Tripathi R.D., Sharma N., Dwiweidi S., Mishra S., Singh R., Shukla O.P., Rai U.N. Responses of cyanobacterium *Anabaena doliolum* during nickel stress // Journal of Environmental Biology. – 2009. – 30 (5). – P. 871-876/
10. Morin, A. Empirical models predicting primary productivity from chlorophyll a and water temperature for stream periphyton and lake and ocean phytoplankton //Journal of the North American Benthological Society. – 1999. – P. 299 –307.
11. Бреховских А.А. Защитные механизмы автотрофной цианобактерии *Nostoc muscorum* от токсического воздействия ионов кадмия. – Автореферат дис. канд. биол. наук. – Москва, 2006. – 26с.
12. Багаева, Т.В. Микробиологическая ремедиация природных систем от тяжелых металлов : учеб. – метод. пособие – Казань : Казанский университет, 2013. – 56 с.
13. Горностаева, Е.А. Влияние ионов меди и никеля на почвенные цианобактерии и цианобактериальные сообщества. – Диссертация ... канд. биол. наук. – М., 2015. – 189 с. – Библиогр. : с. 160-189.
14. Vernon, L.P. Spectrophotometric determination of chlorophylls and pheophytins in plant extracts // Anal. Chemistry.– 1960. – Vol.32. – p. 1144-1150.
15. Wettstein P. von Chlorofyll – letal und submiscipische Form wechsel der Plastiden // Exp. Cell Res. – 1957. – V.12, No4. – P.427 – 431.

Сведения об авторе:

Гальперина Алина Равильевна, доцент кафедры прикладной биологии и микробиологии Института рыбного хозяйства, биологии и природопользования Астраханского государственного технического университета,

кандидат биологических наук

E-mail: alina_r_s@rambler.ru

414056, г. Астрахань, ул. Татищева, 16