**Лысцева А.А.**

**Использование хлореллы для оценки степени загрязнения тяжелыми металлами водной среды**

***Аннотация:*** *данная работа посвящена изучению адаптационных реакций и влиянию тяжелых металлов на регенерационный коэффициент при оценке адаптационных возможностей Сhlorella vulgaris* Beijer*. Сравнение реакций хлореллы на присутствие в растворах тяжелых металлов в зависимости от концентрации.*

***Ключевые слова:*** *токсичность; коэффициент регенерации; адаптации хлореллы; медь; цинк; свинец.*

В настоящее время в связи с решением экологических проблем, к одной из которых относится накопление в поверхностных водах тяжелых металлов, является важным изучение клеточных механизмов адаптации водных растений к токсикантам. Устойчивость гидробионтов к неблагоприятным факторам среды определяется как специфическими реакциями клеточных мембран, так и неспецифическими, сопряженные с изменением их состава и структуры.

При воздействии свинца и цинка на одноклеточные водоросли образуются связи между металлами и компонентами мембран, активизируются мембранные ферменты, транспорт ионов, энергетические процессы, изменение ионного и энергетического постоянства в клетках. Медь воздействуя на клетки водоросли изменяет структуру мембран за счет окисления липидов, а также усиления генерации форм кислорода. Помимо этого, она принимает участие в транспортировке кислорода в клетке, конвертируя неактивный кислород, который может приводить к окислительному стрессу. [Грубинко, 2011].

Цель данной работы состояла в изучении влияния тяжелых металлов на регенерационный коэффициент при оценке адаптационных возможностей *Сhlorella vulgaris* Beijer.

**Материал и методика исследования**

Для оценки токсичности тяжелых металлов использовали соль CuSO4, ZnSO4, PbSO4 с концентрациями: 0,1; 0,01; 0,001; 0,0001; 0,00001 мг/л. Каждую концентрацию растворов делали в трёхкратной повторности. При проведении опытов использовали два вида контроля: 1) питательная среда Тамия; 2) дистиллированная вода. Подсчет клеток проводится на 1, 4 и 8 сутки с помощью камеры Горяева [Рябухина,2006].

Оценивали возможность фиксации данных солей клеточными структурами водоросли. Для этого после культивирования хлореллы питательную среду отфильтровывали и повторно вносили новые клетки. Подсчеты проводили на 1, 4 и 8-е сутки, после чего рассчитывали коэффициент регенерации. Исследовали возможность адаптации хлореллы к растворам солей тяжелых металлов [Franklin, 202].

**Результаты исследований и их обсуждение**

Для исследования возможности сорбции клетками хлореллы ионов тяжелых металлов использовали соли: сульфат меди, сульфат цинка, сульфат свинца.

При первом культивировании в присутствии CuSO4 коэффициент регенерации в течение восьми суток был отрицательным, что говорит о преобладании мертвых клеток над живыми. При дальнейшем инкубировании ожидалось снижение токсического действия.

Таблица 1. Влияние сульфата меди на регенерационный коэффициент при оценке возможности сорбции ионов клеткой

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Вариант | 1-ое культивирование | | | | | 2-ое культивирование | |
| 1 сутки | 2 сутки | 3 сутки | 4 сутки | 5 сутки | 1 сутки | 4 сутки |
| Дистиллированная вода | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 0,00001 мг/л | -0,23 | 0 | 0,13 | 0,25 | 0,2 | 0,3 | 0,6 |
| 0,0001 мг/л | -0,52 | -0,1 | -0,13 | 0 | -0,01 | 0,15 | 0,32 |
| 0,001 мг/л | -0,63 | -0,37 | -0,42 | -0,24 | -0,19 | 0,07 | 0,17 |
| 0,01 мг/л | -0,84 | -0,48 | -0,62 | -0,29 | -0,43 | -0,1 | -0,05 |
| 0,1 мг/л | -1,17 | -0,56 | -0,92 | -0,43 | -0,68 | -0,22 | -0,1 |

Второе культивирование отличалось повышением значений коэффициента регенерации. На первые сутки показатели исследуемых растворов также указывали на острое токсическое действие, кроме варианта с концентрацией 0,00001 мг/л, где наблюдалось подострое ТД (таблица 1).

Четвертые сутки отличались увеличением коэффициента регенерации в два раза, что говорит о быстром восстановлении регенерирующих процессов.

Чтобы оценить токсичность растворов с добавлением ZnSO4 производили расчет коэффициента регенерации (таблица 2).

На протяжении первого культивирования значительное снижение коэффициента регенерации было отмечено в растворе с концентрацией 0,1 мг/л. В остальных вариантах токсическое действие при длительном инкубировании снижалось.

Таблица 2. Влияние сульфата цинка на регенерационный коэффициент при оценке возможности сорбции ионов клеткой

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Вариант | 1-ое культивирование | | | | | 2-ое культивирование | |
| 1 сутки | 2 сутки | 3 сутки | 4 сутки | 5 сутки | 1 сутки | 4 сутки |
| Дистиллированная вода | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 0,00001 мг/л | 0,67 | 0,7 | 0,81 | 0,73 | 0,82 | 0,75 | 0,87 |
| 0,0001 мг/л | 0,53 | 0,6 | 0,55 | 0,7 | 0,73 | 0,71 | 0,8 |
| 0,001 мг/л | 0,42 | 0,73 | 0,57 | 0,62 | 0,54 | 0,6 | 0,71 |
| 0,01 мг/л | 0,31 | 0,52 | 0,37 | 0,41 | 0,32 | 0,4 | 0,59 |
| 0,1 мг/л | 0,03 | 0,29 | 0,18 | 0,27 | 0,2 | 0,25 | 0,36 |

При втором культивировании коэффициент регенерации соответствовал показателям четвертых суток первого эксперимента. Помимо этого, при повторном засеивании исследуемой среды, высокий уровень токсичности был зафиксирован в варианте с концентрацией 0,1 мг/л. В данном опыте, как и в предыдущем, было отмечено снижение токсического эффекта (таблица 2).

При внесении PbSo4 в среду наблюдалось скачкообразное изменение коэффициента регенерации (таблица 3). На протяжении всего опыта данные показатели постепенно возрастали.

В первом эксперименте на первые сутки наиболее острая реакция прослеживалась в растворах с максимальными концентрациями (0,1; 0,01; 0,001 мг/л). На четвертые сутки значения повысились и указывали на подострое токсическое действие (0,0001; 0,00001 мг/л).

Таблица 3. Влияние сульфата свинца на регенерационный коэффициент при оценке возможности сорбции ионов клеткой

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Вариант | 1-ое культивирование | | | | | 2-ое культивирование | |
| 1 сутки | 2 сутки | 3 сутки | 4 сутки | 5 сутки | 1 сутки | 4 сутки |
| Дистиллированная вода | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 0,00001 мг/л | 0,21 | 0,2 | 0,29 | 0,37 | 0,4 | 0,3 | 0,45 |
| 0,0001 мг/л | 0,11 | 0,12 | 0,15 | 0,19 | 0,28 | 0,18 | 0,33 |
| 0,001 мг/л | -0,04 | -0,06 | 0,04 | 0,07 | 0,15 | 0,06 | 0,27 |
| 0,01 мг/л | -0,11 | -0,14 | -0,07 | -0,05 | 0,12 | -0,03 | 0,2 |
| 0,1 мг/л | -0,17 | -0,14 | -0,1 | -0,07 | 0,06 | -0,09 | 0,12 |

Второй эксперимент практически не отличался. Как и при первом культивировании, снижение численности было отмечено в наиболее концентрированных растворах: 0,1 и 0,01 мг/л. При продолжении культивирования токсичность исследуемых сред снижалось (таблица 3).

**Заключение**

Важно отметить, что при длительном инкубировании водоросль приспосабливается к условиям среды, и включаются механизмы нейтрализации негативного воздействия. Наиболее острые реакции протекали в средах с максимальными концентрациями 0,1 и 0,01 мг/л, что позволяет рассмотреть их как токсичные. Также выявлено, что адаптационные реакции прослеживались с четвертых суток культивирования.

**Библиографический список**

1. Грубинко, В. В. Структурные изменения в клеточных мембранах водных растений при воздействии токсических веществ / В. В. Грубинко, К. В. Костюк // Гидробиологический журнал. – 2011. – Т. 47, № 6. – С.43-57.

2. Рябухина, Е. В. Биологические методы определения токсичности водной среды: метод. указания / Е. В. Рябухина, С. Л. Зарубин. – Ярославль: ЯрГУ, 2006. – 64 с.

3. Franklin, N. M. Effect of initial cell density on the bioavailability and toxicity of copper in microalgal bioassays / N. M. Franklin, J. L. Stauber, S. Apte, R. P. Lim // Environmental Toxicology and Chemistry. – 2002 – Vol. 21. – P. 742-751.

**Информация об авторе**

Лысцева Алина Алексеевна (Россия, г. Вологда) – студент второго курса магистратуры, Вологодский Государственный Университет.

**Lystseva A.A**

**Use of Chlorella to assess the degree of heavy metal contamination of the aquatic environment**

***Abstract.*** *This work is devoted to the study of adaptation reactions and the influence of heavy metals on the regeneration coefficient in assessing the adaptive capabilities of Chlorella vulgaris Beijer.*

***Keywords:*** *toxicity; the recovery rate; adaptation of Chlorella; copper; zinc; lead.*

**Information about the author**

Alina lystseva (Vologda, Russia) – second-year master's student, Vologda State University.

**Bibliography**

1. Grebenko, V. V. Structural changes in the cell membranes of the aquatic plants when exposed to toxic substances / V. V. Grebenko, K. V. Kostyuk // Hydrobiological journal. – 2011. – Vol. 47, No. 6. – S. 43-57.

2. Ryabukhina, E. V. Biological methods for determining toxicity of aquatic environment: method. instructions / E. V. ryabukhina, S. L. Zarubin. – Yaroslavl: Yaroslavl State University, 2006. – 64 p.

3. Franklin, N. M. Effect of initial cell density on the bioavailability and toxicity of copper in microalgal bioassays / N. M. Franklin, J. L. Stauber, S. Apte, R. P. lim // Environmental Toxicology and chemistry. - 2002 – Volume 21. – Pp. 742-751.