

ГРАНИЦЫ УСТОЙЧИВОСТИ ОДНОКЛЕТОЧНОЙ ЗЕЛЕННОЙ ВОДОРОСЛИ SCOTIELLOPSIS RUBESCENS К СОЕДИНЕНИЯМ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

STABILITY BOUNDARIES OF UNICELLULAR ALGAE SCOTIELLOPEIS RUBESCENS TO COMPOUNDS OF HEAVY METALS

S. Lomadze
R. Kabirov
E. Purina
L. Safiullina

Summary. Nowadays soil algal flora is under-researched component (scope) of the soil environment. Algae is a necessary component of adipophilin cenoses, which are subject to anthropogenic impact, in particular by heavy metals (HM). Our work presents the results of the action of salts of HM on unicellular green soil alga *Scotiellopsis rubescens* (Vinatzer).

Viewing of the results was performed at the 3rd, 7th, 14th and 21st days. The greatest changes under the action of nitrate of cadmium was observed on day 3, it was revealed that the concentration of 1×10^{-1} – 1×10^{-3} $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ led to the aging of cells, and a concentration of 1×10^{-4} and 1×10^{-5} influenced at the internal contents of cells. By the action of nitrate of copper and cobalt at a concentration of 1×10^{-5} was observed the death of individual cells. Nickel salts have not led to significant infringements, with the exception of highly concentrated solutions. The results led to the conclusion that all the studied heavy metals in varying degrees, affected the statistical, morphological and dimensional indicators. The lowest morphological changes were observed when the salts of nickel were introduced into the environmental, and the greatest effect on the culture *Scotiellopsis rubescens* of copper salts. A number of toxicity of the metals had the next type: $\text{Cu} > \text{Cd} < \text{Co} > \text{Ni}$.

Keywords: *Scotiellopsis rubescens* (Vinatzer), salts of heavy metals, stress factor, morphological, anatomical, dimensional indicators.

Ломадзе Саломэ Васильевна

Аспирант, ФГБОУ ВО Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы, Уфа, Республика Башкортостан, Россия
salolomi92@gmail.com

Кабиров Рустэм Расхатович

Д.б.н., профессор, ФГБОУ ВО Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы, Уфа, Республика Башкортостан, Россия
kKabirov@yandex.ru

Пурина Елена Сергеевна

К.б.н., старший преподаватель, Бирский филиал Башкирского государственного университета, Бирск, Республика Башкортостан, Бирск, Россия
elenapurina@rambler.ru

Сафиуллина Лиля Мунировна

К.б.н., доцент, ФГБОУ ВО Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы, Уфа, Республика Башкортостан, Россия
safilya@mail.ru

Аннотация. Почвенная альгофлора на сегодняшний день является недостаточно исследованным компонентом почвенной среды. Водоросли — обязательный компонент эдафотрофных ценозов, которые подвергаются антропогенному воздействию, и в особенности тяжелыми металлами (ТМ). В нашей работе представлены результаты действия солей ТМ на почвенную зеленую одноклеточную водоросль *Scotiellopsis rubescens* (Vinatzer). Просмотр результатов проводили на 3, 7, 14 и 21 день. Наибольшие изменения при действии нитрата кадмия наблюдались на 3 сутки, было выявлено, что концентрации 1×10^{-1} – 1×10^{-3} $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ привели к старению клеток, а концентрации 1×10^{-4} и 1×10^{-5} повлияли на внутреннее содержимое клеток. При действии нитрата меди и кобальта в концентрации 1×10^{-5} наблюдалась гибель единичных клеток. Соли никеля не приводили к значительным нарушениям, за исключением сильно концентрированных растворов. Результаты привели к выводам, что все исследуемые соли тяжелых металлов в той или иной степени влияли на статистические, морфологические и размерные показатели. Наименьшие морфологические изменения наблюдались при внесении в среду солей никеля, наибольшие при действии на культуру *Scotiellopsis rubescens* солей меди. Ряд токсичности металлов имел следующий вид: $\text{Cu} > \text{Cd} < \text{Co} > \text{Ni}$.

Ключевые слова: *Scotiellopsis rubescens* (Vinatzer), соли тяжелых металлов, стресс — фактор, морфологические, анатомические, размерные признаки.

Одной из актуальных научных проблем является нарушение экологического равновесия в связи с выбросами в окружающую среду огромных количеств солей тяжелых металлов (ТМ). ТМ, попадают в окружающую среду в результате производственной

деятельности человека и являются одним из самых опасных загрязнителей биосферы.

Внесение удобрений в почву, помогает пополнить запасы элементов питания в ней и снабжают ими растения.

Но, при их неправильном внесении, в почве накапливаются ТМ. Они негативно влияют на альгофлору почвенной среды, вследствие чего понижается плодородие почвы, тем самым оказывается негативное влияние на посевы урожая, снижается их всхожесть.

К ТМ относятся свыше 40 химических элементов таблицы Д. И. Менделеева с атомными массами, превышающими 50 атомных единиц, или химические элементы с удельным весом выше 5 г/см³. По токсичности и способности накопления более десяти элементов признаны приоритетными загрязнителями биосферы. Среди них выделяют: медь, кадмий, кобальт, никель [1].

Механизм воздействия ТМ зависит от природы соединения и изучаемого организма, в основном он заключается в связывании с определенными функциональными группами, что приводит к инактивации ферментов. Дополнительные механизмы токсического воздействия ТМ связаны с тем, что последние могут играть роль антиметаболитов, то есть образовывать хелаты с важными метаболитами или катализировать их распад, а также замещать структурно или электрохимически важные элементы, что приводит к нарушению ферментативной или клеточной функции [2].

В отличие от других микроорганизмов, скопление почвенных водорослей можно легко заметить невооруженным глазом при их обильном развитии на почве. Особенно интенсивно водоросли развиваются на полевых почвах до посева и уборки сельскохозяйственных растений [3].

Водоросли составляют активную часть почвенной микрофлоры, связанную сложными взаимодействиями как со всеми ее компонентами, так и с собственно почвой и высшими растениями, и принимают разнообразное участие в почвенных процессах. Водоросли осуществляют консервацию солнечной энергии на земной поверхности в создаваемых ими органических соединениях. Эта роль водорослей хорошо проявляется в биогеоценозах, в той или иной мере подвергнувшихся антропогенному воздействию [4].

Почвенные водоросли, являясь обязательным компонентом эдафотрофных ценозов подвергаются влиянию ТМ. В процессе изучения почвы, загрязненной ТМ установлено, что на отдельные виды зеленых водорослей загрязняющие вещества оказывают интенсивное ингибирующее воздействие [2].

Цель работы заключалась в исследовании влияния стресс — фактора на зеленую микроскопическую водоросль *Scotiellopsis rubescens* (Vinatzer), в качестве стресс — фактора использовали соединения тяжелых металлов.

Объектом исследования являлась зеленая микроскопическая водоросль *Scotiellopsis rubescens* (Vinatzer).

Divisio: *Chlorophyta*

Class: *Chlorophyceae*

Order: *Sphaeropleales*

Family: *Scenedesmaceae*

Genus: *Scotiellopsis*

Species: *Scotiellopsis rubescens*

В монографии В.М. Андреевой дается следующее описание вида *S. rubescens*: клетки одиночные, молодые веретеновидные до лимоновидных, заостренные на полюсах или явными полярными утолщениями, зрелые от широкоэллипсоидных до шаровидных, чаще без полярных утолщений, от 8 до 15, иногда до 18 мкм длиной, 7,5–12 мкм шириной. Оболочка тонкая, с возрастом клетки утолщающаяся, иногда слоистая и частично сбрасываемая стареющими клетками [5].

Изучали влияние солей нитратов кадмия, меди, кобальта и никеля на морфологические и анатомические показатели водоросли. Соли брали в концентрации 1×10^{-1} – 1×10^{-10} моль/л металла. Расчет производили по действующему веществу.

Эксперименты проводили в жидкой питательной среде Болда. Состав солей (г/л дистиллированной воды): макроэлементы: NaNO_3 –3,0; KH_2PO_4 –4,0; K_2HPO_4 –3,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 3,0; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ — 1,0; NaCl — 1,0; микроэлементы: EDTA — 50; KOH — 31; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 4,98; H_3BO_3 –11,42; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 8,88; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ –1,44; MoO_3 –0,71; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ — 1,57; $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ — 0,49 [6].

Для эксперимента получали альгологически чистую культуру, согласно общепринятым методикам. Эксперименты проводили в трех повторностях в пробирках с марлевыми пробками, в пробирки приливали 5 мл исследуемого раствора, куда добавляли 1 мл суспензии водоросли. Просмотр производили на 3, 7, 14 и 21 сутки.

В ходе эксперимента оценивали диаметр клеток водоросли, описывали морфологические нарушения, а также состояние внутреннего содержимого — протопласта.

На 3 сутки при концентрациях 1×10^{-1} – 1×10^{-3} $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$, наблюдались клетки лимоновидной, широкоэллипсоидной, веретеновидной, а также шаровидной формы, последнее говорит о старении клеток. Цвет клеток изменился с зеленого на желто — зеленый. У части клеток произошло разрушение клеточной оболочки. Наблюдались автоспорангии и освобождение автоспор. Данные концентрации повлияли на внутреннее содержимое клеток. Это привело к частичному обесцвечиванию. У еди-

Таблица. Размерные показатели клеток водоросли *Scotiellopsis rubescens*

Сутки	Соединение металла			
	Cd(NO ₃) ₂			
	Длина, мкм		Ширина, мкм	
	Xmin	Xmax	Xmin	Xmax
3	4,53	14,62	3,79	13,43
14	4,14	12,53	3,85	11,51
Cu(NO ₃) ₂				
3	4,74	12,86	4,16	11,76
14	5,90	12,57	4,08	11,15
Co(NO ₃) ₂				
3	5,42	16,75	5,15	12,05
14	4,88	12,73	3,78	11,97
Ni(NO ₃) ₂				
3	4,76	13,15	4,23	12,63
14	4,43	13,09	4,09	12,50

нических экземпляров наблюдалось разрушение внутренней клеточной стенки и выход протопласта, при том что наружная оболочка не была нарушена. При концентрации 1×10^{-4} внутреннее содержимое было представлено бесформенной массой, что затруднило определение органелл. Концентрация 1×10^{-5} привела к частичному обесцвечиванию внутреннего содержимого. Единично присутствовали клетки зеленого цвета, по внешнему строению идентичны контрольному варианту. При воздействии нитрата кадмия на вид *S. rubescens*, клетки водоросли уменьшились в размерах. Минимальная длина клетки составляла 4,53 мкм, максимальная — 14,62 мкм, также минимальная и максимальная ширина были равны 3,79 и 13,43 мкм, при этом максимальные размеры клеток не превышали нормативного показателя в 18 мкм как в контрольном варианте, так и в экспериментальном. Все концентрации нитрата кадмия вызвали плазмолиз и морфологические нарушения клеток.

Внесение Cu(NO₃)₂ в большей степени повлияло на морфологические показатели клеток. При концентрациях 1×10^{-7} – 1×10^{-10} у части клеток внутреннее содержимое было представлено бесформенной массой, наблюдался плазмолиз. Цвет клеток изменился на желто — зеленый. Концентрация 1×10^{-6} привела к разрыву внутренней стенки и выходу протопласта. Клетки деформировались и уменьшились в размере, при концентрациях 1×10^{-5} – 1×10^{-1} , клетки приобрели темно — зеленый цвет. Наблюдалась их единичная гибель. Размерные показатели составляли минимальную длину 4,74 мкм, максимальную — 12,86 мкм, соответственно минимальная и максимальная ширина были равны 4,16 и 11,76 мкм.

При внесении Co(NO₃)₂ в концентрации 1×10^{-1} клетки были правильной формы, у части клеток оболочка тон-

кая, что являлось нормой. Концентрации 1×10^{-2} – 1×10^{-7} , привели к обесцвечиванию хлорофилла у единичных клеток, также к разрыву оболочки и выходу дочерних клеток. При концентрациях 1×10^{-8} – 1×10^{-10} наблюдались морфологические нарушения. Минимальный и максимальный показатели длины клеток, составляли 5,42 и 16,75 мкм, соответственно, минимальная и максимальной ширины были равны 5,15 и 12,05 мкм.

При всех концентрациях Ni(NO₃)₂ у единичных клеток наблюдались незначительные изменения формы внутренней стенки клеток, присутствовали автоспорангии, в концентрации 1×10^{-10} наблюдался разрыв оболочки и их выход наружу. Минимальные и максимальные показатели длины были равны 4,76 и 13,15 мкм, ширины 4,23 и 12,63 мкм.

Следующим по токсичности были кобальт и никель. На 7-е сутки, Co(NO₃)₂ привел к увеличению числа автоспорангиев. В концентрации 1×10^{-5} наблюдалась гибель клеток, при концентрациях 1×10^{-7} – 1×10^{-8} произошел плазмолиз. Во всех концентрациях наблюдалось морфологическое нарушение внутреннего содержимого. Концентрация 1×10^{-4} привела к деформации клеток.

Ni(NO₃)₂ вызвал наименьшее нарушение морфологии клеток *S. Rubescens*, которые наблюдались только при высоких концентрациях. Так в концентрациях 1×10^{-1} и 1×10^{-2} наблюдалась единичная гибель клеток. Концентрации 1×10^{-3} – 1×10^{-10} привели к деформированию клеток и морфологическим нарушениям.

Cd(NO₃)₂ в концентрациях 1×10^{-6} – 1×10^{-1} привел к гибели клеток. В концентрациях 1×10^{-7} – 1×10^{-10} частичное обесцвечивание внутреннего содержимого клеток.

При всех концентрациях $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ произошло повреждение внутренней оболочки и выход содержимого наружу. Морфологические нарушения не позволяют определить органеллы. Клетки желто — зеленого цвета.

На 14-е сутки внесение $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ в концентрации 1×10^{-5} большая часть клеток погибла, 1×10^{-4} – 1×10^{-1} привела к гибели всех клеток. Минимальная и максимальная длина клеток равны 4,14 и 12,53 мкм, минимальная и максимальная ширина 3,85 и 11,51 мкм.

При внесении $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ во всех концентрациях наблюдалась гибель клеток. Сравнение размерных показателей с 3-ми сутками показало, что минимальная и максимальная длина клеток, уменьшились в размерах. Минимальная и максимальная длина клеток составляла 5,90 и 12,57 мкм, соответственно ширина 4,08 и 11,15 мкм.

$\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ в концентрации 1×10^{-7} привел к единичной гибели клеток. В концентрациях 1×10^{-6} – 1×10^{-1} наблюдалась деформация внутренней стенки, также деформация самих клеток. Произошли морфологические нарушения. Клетки приобрели темно — зеленый цвет. Размерные показатели минимальной длины были равны 4,88 мкм, максимальной — 12,73 мкм, также ширины 3,78 и 11,97 мкм. Данные показывают, что клетки уменьшились в размерах по сравнению с 3-ми сутками и при меньших концентрациях.

Во всех концентрациях $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ наблюдалась единичная гибель клеток. Цвет клеток был темно — зеленый.

Просматривались морфологические нарушения клеток и автоспорангии. В сравнении с 3-ми сутками размерные показатели изменились в сторону уменьшения, что составляло минимальную и максимальную длину в размерах 4,43 и 13,09 мкм. Минимальную и максимальную ширину — 4,09 и 12,50 мкм.

Для удобства цифровые данные были внесены в таблицу.

На 21 сутки воздействия ТМ было выявлено, что при всех концентрациях $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ и $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$, клетки погибли. $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ в концентрациях 1×10^{-3} – 1×10^{-10} , показал морфологические нарушения. Цвет клеток был темно — зеленым. Присутствовали автоспорангии. Концентрации 1×10^{-2} – 1×10^{-1} , привели к единичной гибели клеток. $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$, в концентрациях 1×10^{-3} – 1×10^{-10} , привел к морфологическим нарушениям и единичной гибели клеток. При концентрации 1×10^{-1} , все клетки погибли.

Результаты показали, что в зависимости от концентраций ставших губительными для *Scotiellopsis rubescens* тяжелые металлы имели следующий ряд токсичности: $\text{Cu} > \text{Cd} < \text{Co} > \text{Ni}$. По морфологическим и анатомическим нарушениям, вызванным данными металлами можно сказать, что все концентрации влияли на состояние клеток. Они приводили к деформации внутреннего содержимого и внешнего вида клеток. Также все концентрации металлов привели к сильному уменьшению клеток.

ЛИТЕРАТУРА

1. Казакова Н. А. Загрязнение почвы тяжелыми металлами [Электронный ресурс] / Н. А. Казакова // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. — 2009. 1(8) — 29–31 с. Режим доступа: <https://cyberleninka.ru/article/v/zagryaznenie-pochvy-tyazhelymi-metallami> (дата обращения 01.12.2017).
2. Гайсина Л. А. Биология и экология *Xanthonema exile* (Klebs) Silva (Xanthophyceae, Chrysophyta): дис. . . канд. биол. наук: 03.00.05/ Гайсина Лира Альбертовна. — Уфа. 2000. — 130 с.
3. Звягинцев Д. Г. Биология почв / Д. Г. Звягинцев, И. П. Бабьева, Г. М. Зенова — Москва: МГУ, 2005. — 445 с.
4. Алексахина Т. И. Штина Э. А. Почвенные водоросли лесных биогеоценозов / Т. И. Алексахина, Э. А. Штина, науч. ред. М. М. Голлербах. — Москва: Наука, 1984. — 130 с.
5. Андреева В. М. Почвенные и аэрофильные зеленые водоросли (Chlorophyta: Tetrasporales, Chlorococcales, Chlorosarcinales): монография / В. М. Андреева; под ред. К. Л. Виноградова — СПб.: Наука, 1998. — 351 с.
6. Кабиров Р. Р., Пурина Е. С. Устойчивость анатомической структуры клеток водорослей к воздействию стресс — факторов [Электронный ресурс] / Р. Р. Кабиров, Е. С. Пурина // Успехи современного естествознания. — 2011. — № 4. — Режим доступа <https://www.natural-sciences.ru/ru/article/view?id=21184> (дата обращения 29.11.2017).

© Ломадзе Саломэ Васильевна (salolomi92@gmail.com), Кабиров Рустэм Расхатович (kKabirov@yandex.ru),

Пурина Елена Сергеевна (elenapurina@rambler.ru), Сафиуллина Лиля Мунировна (safilya@mail.ru).

Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»