

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ МАРГАНЦА (II) НА *SCENEDESMUS QUADRICAUDA*

А. Ф. Каменец

Саратовский государственный технический университет им. Гагарина Ю.А.

Поступила в редакцию 8.09.2016 г.

Аннотация. Показано, что присутствие в водных системах солей марганца в концентрациях, даже незначительно превышающих предельно допустимую, может привести к уменьшению численности фитопланктона и снижению продуктивности водоема. Присутствие ионов хлора, как правило, усиливает этот эффект.

Ключевые слова: биотестирование, воздействие, *Scenedesmus quadricauda*, концентрация, марганец, токсичность, гидробионты, фитопланктон, численность клеток, хлориды, сульфаты

Abstract. Presence of salts of manganese in water systems at concentration, even slightly exceeding marginal limit, can lead to decreasing of quantity of phytoplankton cells and decrease in efficiency of a reservoir. Presence of ions of chlorine, as a rule, strengthens this effect.

Keywords: biotesting, influence, *Scenedesmus quadricauda*, concentration, manganese, toxicity, hydrobionts, phytoplankton, quantity of cells, chlorides, sulfates

Наиболее распространенными загрязнителями водоёмов являются соединения марганца [1]. Они способны нарушить целостность физиологических и биохимических процессов, вызвать серьёзные изменения в метаболических реакциях у гидробионтов [2-6]. Важной динамической переменной является уровень жизненной активности каждого отдельного организма (клетки), оценка которой даёт основание судить о функциональной гетерогенности популяции [7, 8]. Токсичная нагрузка позволяет, с одной стороны, оценить общую резистентность клеток, входящих в популяцию, а с другой стороны, модифицирует их жизнеспособность [9-11].

Целью работы было исследовать влияние хлорида и сульфата марганца (II) в различных концентрациях на численность микроводорослей *Scenedesmus quadricauda*.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Объектом исследования являлась лабораторная альгологически чистая культура зеленой хлорококковой водоросли *Scenedesmus quadricauda*. Культивирование водорослей проводили в колбах Эрленмейера на среде Прата в люминостате при

интенсивности света от 3 до 10 тыс. люкс со сменной днём и ночью (12:12ч) и температуре 20-24°C. Для поддержания экспоненциальной стадии роста водорослей пересевы осуществляют регулярно 1 раз в 7 суток на среде Прата. Во избежание оседания клеток водорослей и для обогащения культуры CO₂ содержимое колб перемешивали 1-2 раза в сутки [12-14].

Перед началом эксперимента исходную (3-5-суточную) культуру водорослей, достигшую плотности 320 тыс. кл/см³ (в опыте с хлоридом марганца (II)) и 340 тыс. кл/см³ (в опыте с сульфатом марганца (II)), сгустили до образования суспензии путем отстаивания в холодильной камере в течении 2 суток. Численность клеток суспензии водорослей определяли с помощью светового микроскопа в камере Горяева [14, 15], чтобы рассчитать необходимый объем добавки суспензии (в контрольные и испытываемые колбы), обеспечивающий нужную плотность клеток при посеве в начале эксперимента.

После посева и тщательного перемешивания водорослей в контрольных и испытываемых колбах перед началом эксперимента подсчитали в камере Горяева прямым способом с помощью светового микроскопа.

Численность водорослей в начале биотестирования (через 30 минут) в контроле и в растворах

хлорида марганца в среднем составила 32 тыс. кл./см³, а в растворах сульфата марганца и в контроле – 34 тыс. кл./см³. Повторный счет водорослей в камере Горяева осуществлялся также при использовании метода прямого счета после установленного времени экспозиции (72 часа) контрольных и исследуемых вод в колбах в люминостате [14].

В качестве токсикантов мы использовали сульфат и хлорид марганца как представителя группы тяжелых металлов. Эксперименты проводили в водных растворах хлорида и сульфата марганца концентрациями с 0.001; 0.01 (ПДК_{рх} Mn²⁺ 16[6]); 0.05; 0.1; 1; 3 и 10 мг/л. Для *S. quadricauda* растворы готовили на дистиллированной воде. Испытания при каждой концентрации проводили в двух повторностях.

Для определения численности клеток водорослей камеру Горяева предварительно накрыли покровным стеклом и притёрли его до образования радужных колец интерференции. После этого перемешали в колбе водоросли и затем пипеткой нанесли жидкость объёмом 1 см³ на верхний и нижний края покровного стекла. После того, как камера Горяева заполнилась водорослевой культурой, ее поместили под объектив микроскопа и подсчитали число клеток в 25 больших квадратах, а затем по формуле (1) определили количество клеток водорослей в см³ раствора:

$$X = n \cdot 10^4, \quad (1)$$

где X - количество клеток в см³; n - число клеток в 25 больших квадратах; 10^4 – переводной коэффициент пересчета кубических миллиметров в кубические сантиметры.

В каждой колбе подсчитывались клетки водорослей в двух камерах с последующим вычислением среднего арифметического.

В случае малого количества водорослей в про-

бе (например, в контрольных и испытуемых колбах в начале эксперимента) численность клеток водорослей подсчитывается по всему полю сетки камеры Горяева. Тогда количество клеток водорослей в см³ раствора определяется по формуле (2):

$$X = n \cdot 10^3, \quad (2)$$

где X - количество клеток в см³; n - число клеток по всему полю камеры; 10^3 – переводной коэффициент пересчета кубических миллиметров в кубические сантиметры.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для каждого тестируемого раствора было определено относительное изменение численности клеток *S. quadricauda* по сравнению с контролем. Известно, что при отклонении опытного значения от контроля менее чем на 20% среда считается не токсичной для клеток, отклонения более 50% свидетельствуют о проявлении острой токсичности [14].

При определении острого токсичного действия для каждого разведения по результатам двух параллельных определений среднее значение численности клеток по формуле (3):

$$X = \frac{\sum X_i}{n} \cdot 100\%, \quad (3)$$

где X – среднее значение численности клеток; – значение тест-параметра в i -м параллельном определении; n – количество параллельных определений.

Рассчитать относительное (в %) изменение численности клеток водорослей для каждого разведения по сравнению с контролем (I):

$$I = \frac{X_k - X_0}{X_k} \cdot 100\%, \quad (4)$$

где X_k – среднее значение тест параметра в контроле, X_0 – среднее значение тест-параметра в опыте.

Результаты исследования приведены в табл. 1 и 2 и рис. 1.

Таблица 1.

Воздействие хлорида марганца (II) на *S. quadricauda*

Концентрация, мг/л	Численность клеток в контроле · 10 ³			Численность клеток в опыте · 10 ³			Относительное изменение численности клеток водорослей по сравнению с контролем	Характеристика степени токсичности испытуемой воды
	1-й опыт	2-й опыт	Среднее	1-й опыт	2-й опыт	Среднее		
0.001	747	740	743.5	690	687	688.5	7.40%	Нетоксичная
0.01	747	740	743.5	634	611	622.5	16.27%	Нетоксичная
0.05	747	740	743.5	568	558	563	24.28%	Острая токсичность не доказана
0.1	747	740	743.5	554	511	532.5	28.38%	Острая токсичность не доказана
1	747	740	743.5	455	465	460	38.13%	Острая токсичность не доказана
3	747	740	743.5	436	444	440	40.82%	Острая токсичность не доказана
10	747	740	743.5	399	409	404	45.66%	Острая токсичность не доказана

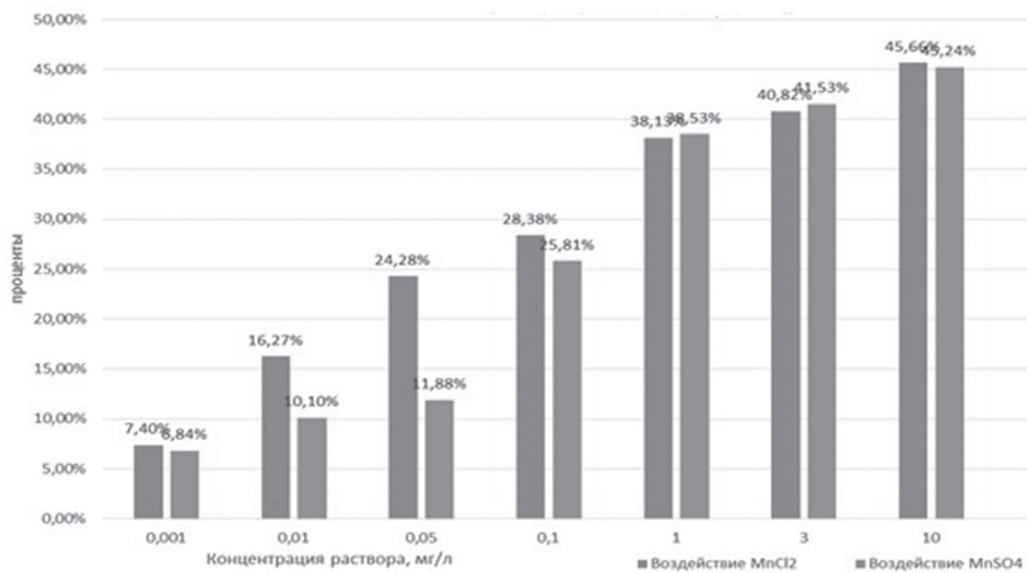


Рис. 1. Относительное уменьшение численности клеток *S. quadricauda* по сравнению с контролем в зависимости от концентрации хлорида и сульфата марганца (II)

Таблица 2.

Воздействие сульфата марганца (II) на *S. quadricauda*

Концентрация, мг/л	Численность клеток в контроле, 10 ³			Численность клеток в опыте, 10 ³			Относительное изменение численности клеток водорослей по сравнению с контролем	Характеристика степени токсичности испытуемой воды
	1-й опыт	2-й опыт	Среднее	1-й опыт	2-й опыт	Среднее		
0.001	797	768	782.5	748	710	729	6.84%	Нетоксичная
0.01	797	768	782.5	701	706	703.5	10.10%	Нетоксичная
0.05	797	768	782.5	690	689	689.5	11.88%	Нетоксичная
0.1	797	768	782.5	600	561	580.5	25.81%	Острая токсичность не доказана
1	797	768	782.5	496	466	481	38.53%	Острая токсичность не доказана
3	797	768	782.5	453	462	457.5	41.53%	Острая токсичность не доказана
10	797	768	782.5	425	432	428.5	45.24%	Острая токсичность не доказана

Установлено, что при инкубировании микроводорослей в растворах $MnCl_2$ с концентрацией Mn^{2+} 0.001–0.01 мг/л – численность клеток уменьшилась на 7–16%; при содержании ионов марганца 0.05–10 мг/л – на 24–46%. В растворах $MnSO_4$ с концентрацией катионов Mn^{2+} 0.001–0.05 мг/л численность клеток уменьшилась на 7–12%, с концентрацией 0.1–10 мг/л – на 26–45%. Следовательно, ионы марганца не проявляют острой токсичности по отношению к фитопланктону, но в концентрации более 0,01 мг/л в присутствии ионов Cl^- и в концентрации более 0,05 мг/л в присутствии ионов SO_4^{2-} оказывают негативное воздействие на жизнеспособность микроводорослей. Наличие в водной среде анионов хлора усиливает этот эффект [14].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нами показано, что присутствие солей марганца в водных системах в концентрациях, даже незначительно превышающих $ПДК_{рх} = 0,01$ мг/л [16], особенно в сочетании с ионами хлора, может привести к уменьшению содержания фитопланктона и, следовательно, к ухудшению кормовой базы рыб и снижению продуктивности водоемов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Мартынова М.В. Формы нахождения марганца, их содержание и трансформация в пресноводных отложениях / М.В. Мартынова // Экологическая химия. — 2012. — Т. 21, № 1. — С. 38-52.

Каменец А. Ф.

2. Филенко О.Ф. Исследование структуры модельной популяции водоросли *Scenedesmus quadricauda* методом раздельного культивирования клеток / О.Ф. Филенко, А.Г. Дмитриева, Е.В. Марушкина // Человечество и окружающая среда: сборник материалов международной научно-практической конференции МГУ — СУНИ, Москва. 26 – 28 октября 2004 г. — Москва: МГУ им. М.В. Ломоносова, 2004. — С. 190 – 193.

3. Дмитриева А.Г. Физиология растительных организмов и роль металлов / А.Г. Дмитриева, О.Н. Кожанова, Н.Л. Дронина. — Москва: Изд-во МГУ, 2002. — 160 с.

4. Успенская В.И. Экология и физиология питания пресноводных водорослей / В.И. Успенская. — Москва: МГУ, 1966. — 124 с.

5. Фелленберг Г. Загрязнение природной среды. Введение в экологическую химию / Г. Фелленберг; пер. с нем. — Москва: Мир, 1997. — 232 с.

6. Шилова Н.А. Влияние ЭМИ КВЧ на устойчивость гидробионтов к солям тяжелых металлов / Н.А. Шилова, С.М. Рогачева, М.В. Линник // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. — 2012. — Т. 14. — № 5(3). — С. 863 – 865.

7. Гроздинский Д.М. Надежность растительных систем / Д.М. Гроздинский. — Киев: Наукова думка, 1983. — 365 с.

8. Сиренко Л.А. Физиологические основы массового размножения сине-зелёных водорослей в водохранилищах и методы его регулирования / Л.А. Сиренко — Киев: Автореф. докт. дисс. 1970. — 48 с.

9. Владимирова М.Г. Интенсивная культура одноклеточных водорослей / М.Г. Владимирова,

В.Е. Семененко. — Москва: Изд-во АН СССР, 1962. — 59 с.

10. Гапочка Л.Д. Об адаптации водорослей к токсическому воздействию / Л.Д. Гапочка. — Москва: МГУ, 1981. — 80 с.

11. Шестерин И.С. Изучение причинных связей, определяющих взаимоотношения зеленых протококковых водорослей на уровне метаболитов / И.С. Шестерин — Москва: МГУ им. М.В. Ломоносова. Автореф. дисс. 1972. — 24 с.

12. Марушкина Е.В. Исследование состояния популяции водоросли *Scenedesmus quadricauda* в норме и при интоксикации методом микрокультур / Е.В. Марушкина — Москва: МГУ им. М.В. Ломоносова. Автореф. дисс. 2005. — 24 с.

13. Дмитриева А.Г. Метод биотестирования по определению живых и мертвых клеток водорослей с помощью люминесцентной микроскопии / А.Г. Дмитриева // Методы биотестирования вод. Черноголовка. — 1988. — С. 85-89.

14. ФР 1.39.2007.03223 Методика определения токсичности вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению уровня флуоресценции хлорофилла и численности клеток водорослей.

15. РД 118-02-90, 1991. М. 48 с. Методическое руководство по определению методом биотестирования токсичности вод, донных отложений, загрязняющих веществ и буровых растворов.

16. Приказ Федерального агентства по рыболовству от 18 января 2010 г. № 20 «Об утверждении нормативов качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения, в том числе нормативов предельно допустимых концентраций вредных веществ в водах водных объектов рыбохозяйственного значения».

Саратовский государственный технический университет им. Гагарина Ю. А.

Каменец А. Ф., аспирант кафедры «Природная и техносферная безопасность»

E-mail: kamenetsaf@yandex.ru

Тел.: 8-937-630-85-21

Saratov State Technical University of Gagarin Y. A.

Kamenets A. F., post-graduate student of the “Natural and technospheric safety” Department

E-mail: kamenetsaf@yandex.ru

Ph.: 8-937-630-85-21