

БИОЛОГИЯ

УДК 582.26:581.4

Влияние ионов меди на морфологические показатели *Chlorococcum hypnosporum* Starr. в культуре

Ю.М. БАЧУРА, О.М. ХРАМЧЕНКОВА

Установлено, что увеличение содержания ионов меди в культуральной среде вызывает изменение ряда морфологических признаков *Chlorococcum hypnosporum*: деформацию клеток, изменение формы хлоропластов и снижение интенсивности их окраски, утолщение клеточной стенки, отставание протопласта от клеточной стенки. Имело место нарушение спорообразования: при 2 ПДК и выше прекращалось формирование зооспор, при 2,5 ПДК и выше уменьшалось число апланоспор. Показано достоверное уменьшение диаметров клеток на 1,5–2,5 мкм при 2 ПДК и выше.

Ключевые слова: почвенные водоросли, ионы меди, морфологические показатели.

It is established that the increase in the maintenance of copper ions in cultivation substances changes some morphological signs of *Chlorococcum hypnosporum*: deformation of cells, change of chloroplast form and decrease in intensity of its colouring, thickening of a cellular wall, backlog of a protolayer from a cellular wall. Infringement of sporulation took place: at 2 maximum concentration limits and above zoospore formation stopped, at 2.5 maximum concentration limits and above the number of aplanospores decreased. Authentic reduction of diameters of cells by 1.5–2.5 microns is shown at 2 maximum concentration limits and above.

Keywords: soil algae, copper ions, morphological indicators.

Введение

Источниками поступления соединений меди в окружающую среду являются: черная и цветная металлургия, добыча и сжигание нефти, бензина, отходы рудников и выбросы предприятий [1], [2]. Ионы меди поступают в почву с пестицидами и органическими удобрениями [3]. Важными источниками также являются: ветровая пыль, лесные пожары, вулканический материал, растительность, морские соли и пр. [4]. Ионы меди способны концентрироваться в верхних слоях почвы, влиять на ее биологическую активность, быть доступными для потребления многими живыми организмами. В живых клетках ионы меди входят в состав многих ферментов, участвуют в окислительно-восстановительных процессах тканей, формировании иммунной реакции, стабилизации рибосом и мембран клеток [5], [6]. Избыточные концентрации негативно влияют на живые организмы, вызывают существенные нарушения наружных клеточных структур [7].

Токсическое действие ионов меди на почвенные водоросли показано в ряде исследований [8]–[12]. В результате воздействия обедняется почвенная альгофлора за счет угнетения и исчезновения желто-зеленых, диатомовых и азотфиксирующих сине-зеленых водорослей; наиболее устойчивы зеленые водоросли. В лабораторных условиях токсическое действие медьсодержащих соединений на водоросли проявляется в угнетении роста культур, их гибели, изменении морфологии клеток, снижении содержания хлорофилла.

В реальных почвенных условиях изменения численности и структуры альгосообществ, морфологических показателей отдельных видов не могут быть однозначно объяснены как результат влияния высоких концентраций ионов тяжелых металлов (в том числе – меди). Весьма существенно влияние на водоросли влаги, света, температуры, химических и физических свойств данного типа почвы и т. д. Методологически обоснованным подходом при изучении влияния определенных соединений на почвенные водоросли является их лабораторное

культивирование в контролируемых условиях на фоне градиента концентрации изучаемого соединения.

Целью настоящего исследования было изучение влияния соединений меди на морфологические показатели клеток *Chlorococcum hypnosporum* Start в культуре. Выбор *Ch. hypnosporum* в качестве объекта исследования связан с его популяционно-экологическими свойствами: в природе этот вид обитает в толще почвы, весьма устойчив к различным неблагоприятным условиям обитания, распространен повсеместно.

Методика исследований

Для исследования были использованы водоросли из коллекции культур почвенных водорослей кафедры ботаники и физиологии растений Гомельского государственного университета им. Ф. Скорины. Исходный материал для коллекции был получен ранее из аналогичной коллекции Киевского национального университета имени Т. Шевченко (Algological Collection of Kyiv University – АСКУ).

Chlorococcum hypnosporum выращивали на агаризованной среде Болда с различным содержанием растворимых соединений меди (от 0,5 ПДК до 3 ПДК). Под ПДК понимали предельно-допустимую концентрацию подвижных форм ионов меди в почвах, извлекаемую при определении ацетатно-аммонийным буферным раствором с рН 4,8 [13]. В культуральную среду ионы меди вносили в форме ацетатной соли, принимая ПДК равной 3 мг/кг, плотность почвы – 1,54 г/см³.

Водоросли культивировали в климатостате КС-200 при температуре 17±2 с 14/10-часовым чередованием световой и темновой фаз, при освещении 3500–4000 лк. Наблюдение за развитием *Chlorococcum hypnosporum* проводили с помощью микроскопа Nikon Eclipse 80i. Для анализа изменения морфометрических показателей *Chlorococcum hypnosporum* через 1, 3, 5 и 7 недель фиксировали линейные размеры длины и ширины 50 вегетативных клеток и зооспор, визуально оценивали повреждения клеток. Статистическую обработку данных проводили с применением стандартного пакета Statistica 6.0.

Результаты исследований и их обсуждение

Клетки *Chlorococcum hypnosporum* яйцевидные (в основном молодые) или шаровидные (большинство зрелых), до 30 мкм в диаметре; одиночные или во временных скоплениях. Оболочка клеток тонкая, при старении культуры заметно не утолщается. Хлоропласт полый, шаровидный. Пиреноид один, окружен несколькими крупными зёрнами крахмала. Часто видны 2 сократительные вакуоли. Ядро одно. Зооспоры и апланоспоры образуются путем последовательного деления. Зооспоры эллипсоидные, в среднем 7,5 мкм длиной, 3,5 мкм шириной, с передней линейной стигмой. Покоящиеся клетки, обильные в стареющих культурах, с гладким наружным и шиповатым внутренним слоями оболочки, заполнены маслом, при прорастании дают начало двум клеткам [14].

К концу первой недели культивирования клетки *Chlorococcum hypnosporum* на средах 0,5–1,5 ПДК и в контроле имели нормальный вид, в культурах формировались зоо- и апланоспорангии. Начиная с 1,5 ПДК и выше зооспорангии практически отсутствовали, апланоспорангии были единичны. При 2 ПДК и выше отмечены повреждения вегетативных клеток, начальная деформация хлоропластов, утолщения клеточных стенок, гранулированность цитоплазмы (рисунок 1).

Через три недели культивирования морфологические показатели водорослей, развивающихся на средах 0,5–1 ПДК и в контроле, практически не изменились. При 1,5 ПДК у некоторых клеток наблюдалось отставание протопласта от клеточной стенки. В культурах с более высоким содержанием ионов меди нормальные клетки практически отсутствовали; имели место утолщения клеточных оболочек, деформации и обесцвечивания хлоропластов (рисунок 2). Снижение содержания хлорофилла при действии медьсодержащих соединений описано для *Anabaena variabilis* Kütz. ex Bornet et Flahault и *Scenedesmus quadricauda* Bréb. [9], [10].

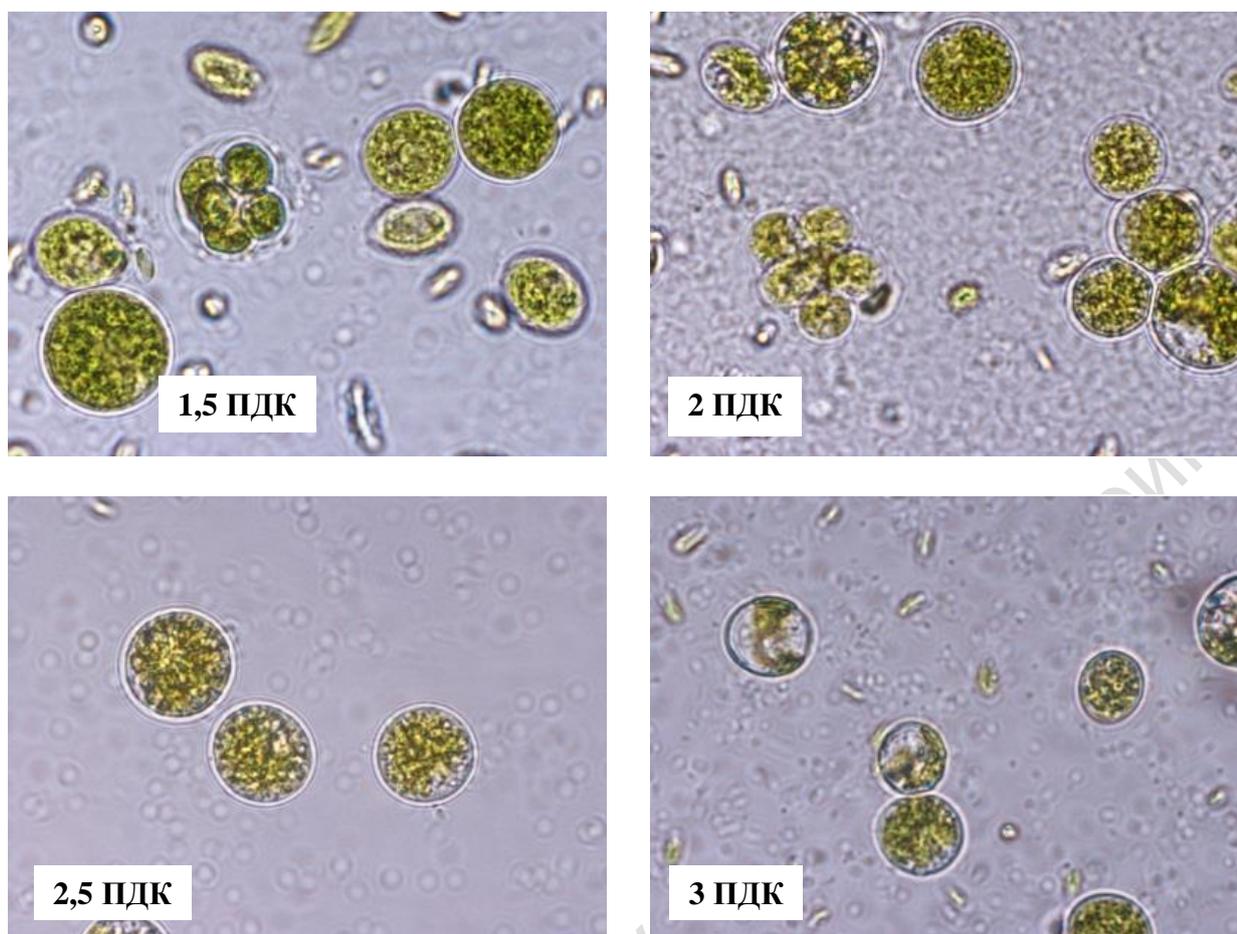


Рисунок 1 – Влияние ионов меди на культуры *Chlorococcum hypnosporum* (1 неделя культивирования)

После пяти недель культивирования культуры у *Chlorococcum hypnosporum* на средах 0,5–1 ПДК и в контроле появились первые признаки старения (накопление крахмала), формирование зоо- и апланоспорангиев продолжалось. При 1,5 ПДК наблюдалось утолщение клеточных оболочек вегетативных клеток, у каждой десятой клетки – легкая деформация хлоропласта; частично был нарушен процесс выхода зооспор из зооспорангиев. При более высоких концентрациях ионов меди отмечено утолщение клеточных оболочек, сжатие и обесцвечивание хлоропластов, вакуолизация цитоплазмы, деформация клеток.

К исходу седьмой недели культивирования контрольная культура *Chlorococcum hypnosporum* характеризовалась разновозрастным составом водорослей: наряду с преобладающими старыми шаровидными клетками, заполненными крахмалом, присутствовали молодые яйцевидные клетки (рисунок 3).

Окраска клеток была менее интенсивной, зоо- и апланоспорангии присутствовали. При 1 ПДК у некоторых клеток наблюдалось отставание протопласта от клеточной стенки. При 2 ПДК клетки были шаровидными со значительными утолщениями клеточных оболочек (до 3 мкм), сильной деформацией и обесцвечиванием хлоропластов, отстающими от клеточной стенки протопластами. Наблюдалась деформация и гибель клеток водорослей; зооспорангии отсутствовали, апланоспорангии были единичны, выхода апланоспор зафиксировано не было.

При 2,5 и 3 ПДК нормальных клеток в культурах не выявлено, возросло число мертвых и отмирающих клеток, увеличилась степень деформации клеток и хлоропластов, вакуолизация цитоплазмы, клеточная оболочка в некоторых случаях была утолщена до 5 мкм, зоо- и апланоспорангии не выявлены.

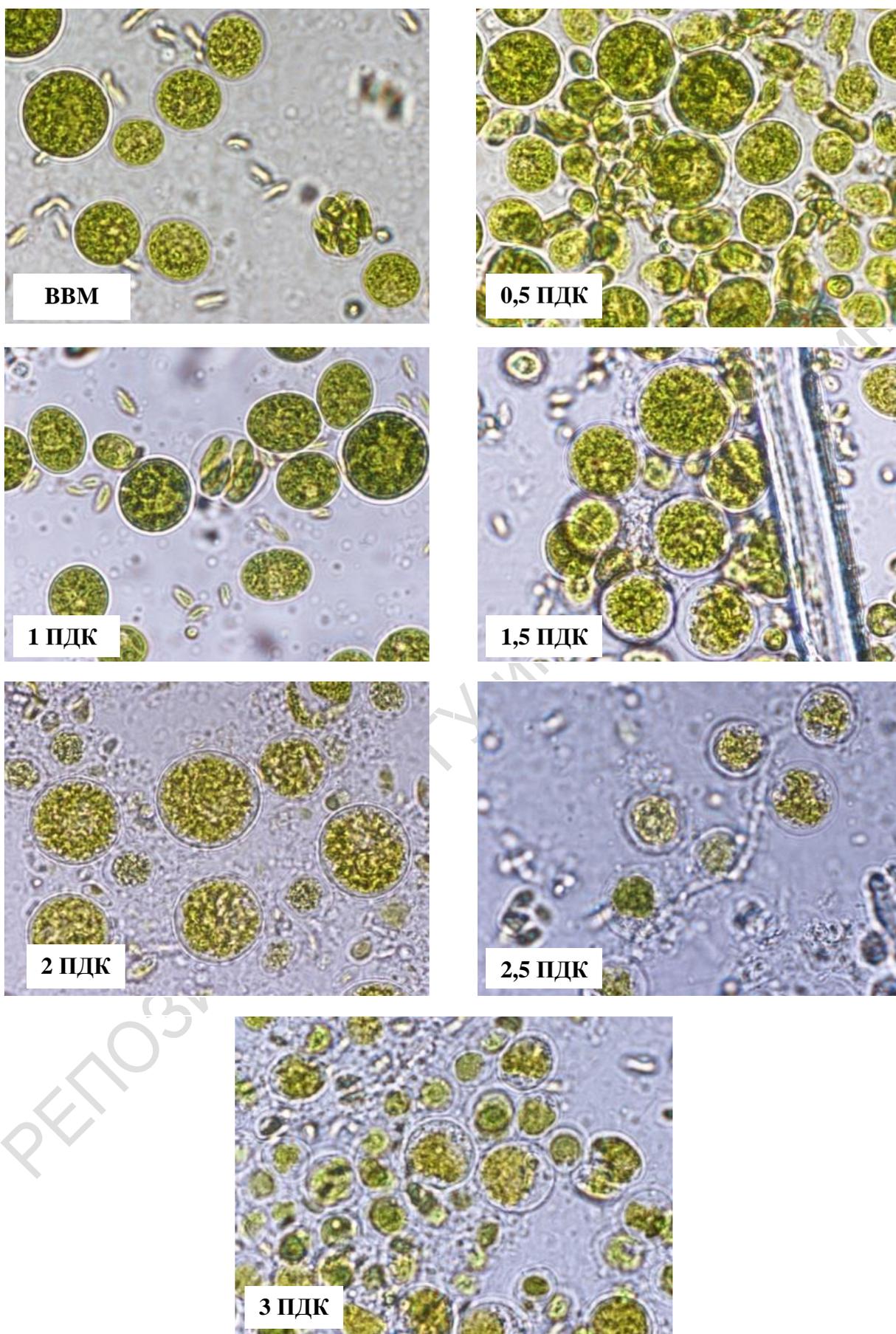


Рисунок 2 – Влияние ионов меди на культуры *Chlorococcum hynnosporum* (3 недели культивирования)

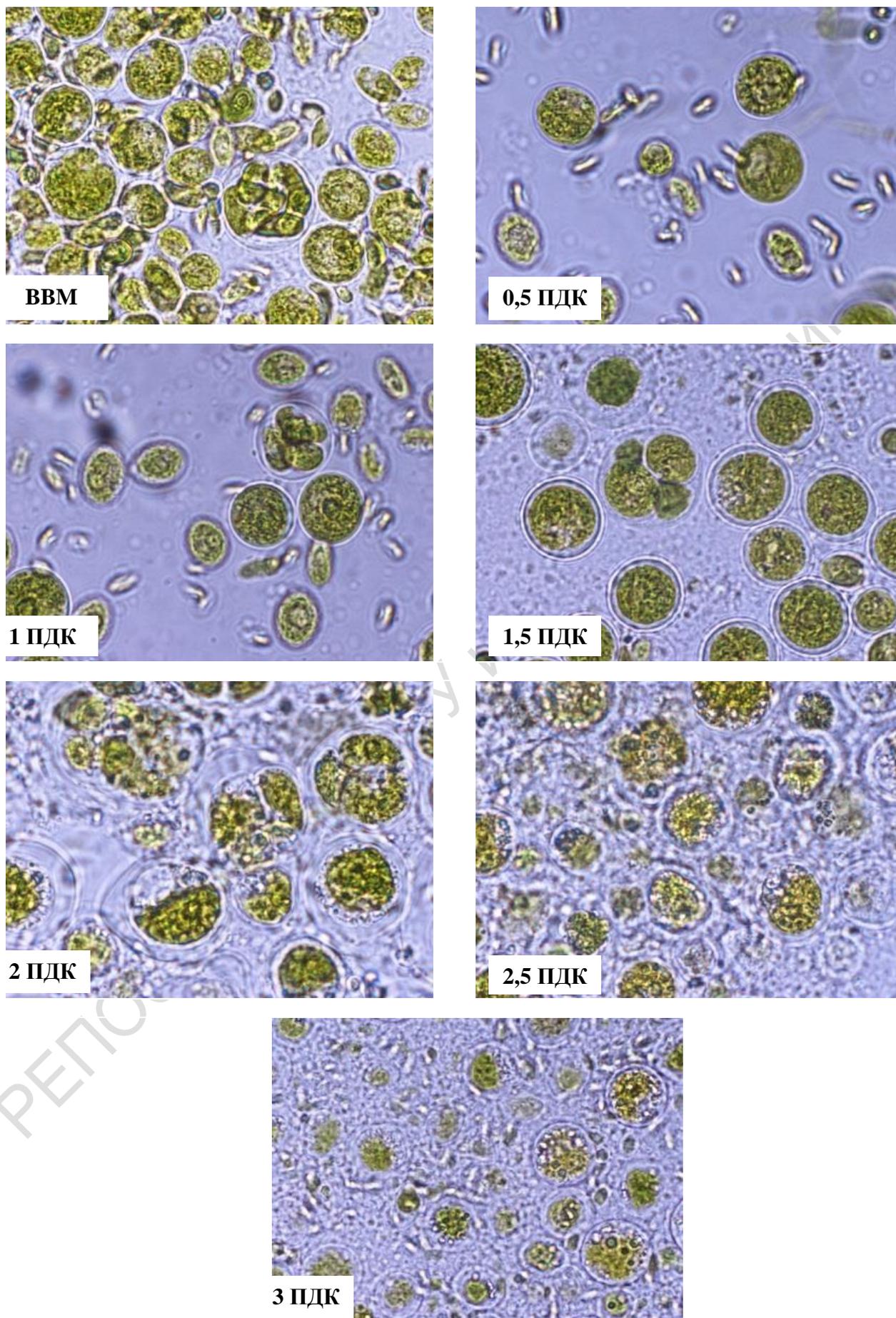


Рисунок 3 – Влияние ионов меди на культуры *Chlorococcum hypnosporum* (7 недель культивирования)

На рисунке 4 приведены результаты измерения длины (диаметра) клеток *Chlorococcum hypnosporum* в культуре.

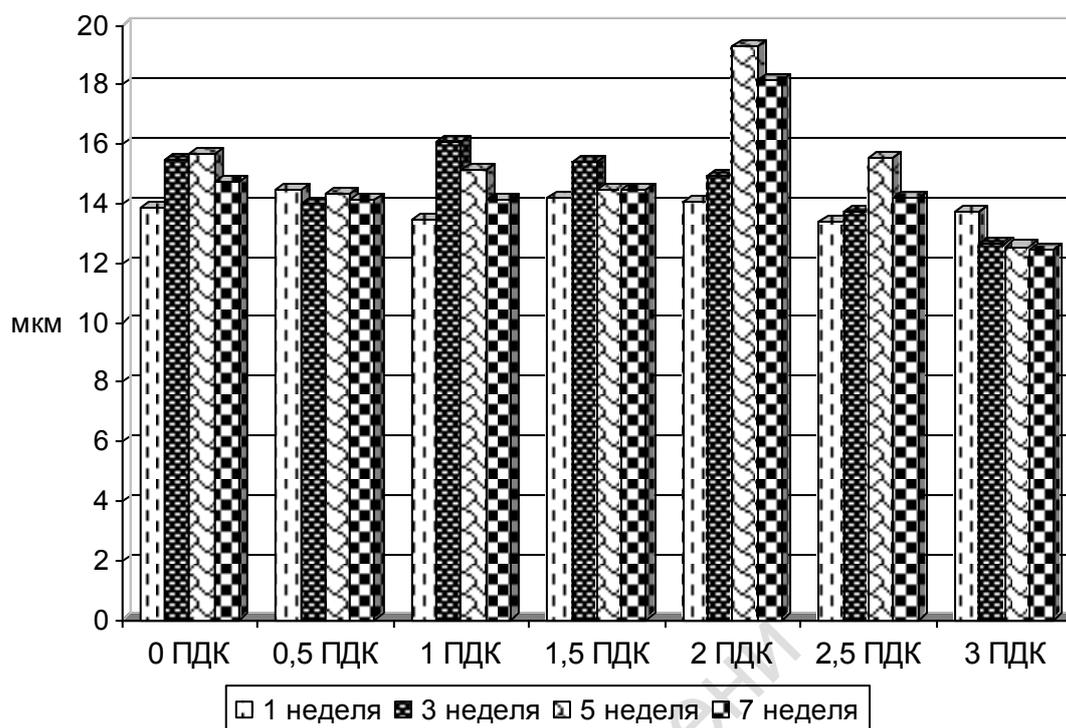


Рисунок 4 – Медианы длины клеток *Chlorococcum hypnosporum* в культуре

К концу первой недели культивирования диаметр вегетативных клеток, длина и ширина зооспор во всех вариантах опыта не отличались от контроля. Через три недели культивирования значения длины и ширины клеток при 2,5 ПДК и 3 ПДК были достоверно ниже контрольных на 1,5–2,5 мкм. После пяти недель культивирования было обнаружено, что величины диаметра вегетативных клеток и длины и ширины зооспор в большинстве вариантов опыта находились на уровне контроля, тогда как при 2 ПДК они превышали контроль на 4–5 мкм, при 3 ПДК были ниже контроля на 3 мкм. К исходу седьмой недели культивирования показатели длины и ширины клеток соответствовали таковым для пятой недели наблюдений. Полученные данные свидетельствуют о достоверном влиянии концентрации ионов меди на морфологические показатели клеток *Chlorococcum hypnosporum* в культуре.

Заключение

Увеличение содержания ионов меди в культуральной среде вызывает изменение ряда морфологических признаков *Chlorococcum hypnosporum*: деформацию клеток, изменение формы хлоропластов и снижение интенсивности их окраски, утолщение клеточной стенки, отставание протопласта от клеточной стенки. Имело место нарушение спорообразования: при 2 ПДК и выше прекращалось формирование зооспор, при 2,5 ПДК и выше уменьшалось число апланоспор. Показано достоверное уменьшение диаметров клеток на 1,5–2,5 мкм при 2 ПДК и выше.

Литература

1. Спозито, Г. Некоторые вопросы токсичности ионов металлов / Г. Спозито. – М. : Мир, 1993. – 284 с.
2. Кирпичников, Н.А. Влияние антропогенных факторов на распределение тяжелых металлов в почвах ландшафтов Московской области / Н.А. Кирпичников, Н.А. Черных, И.Н. Черных // Агрохимия. – 1993. – Т. 105, № 2. – С. 38–42.

3. Ключковский, В.М. Агрохимия / В.М. Ключковский. – М. : Колос, 1967. – 412 с.
4. Роева, Н.Н. Специфические особенности поведения тяжелых металлов в различных природных средах / Н.Н. Роева, Ф.Я. Ровинский, Э.Я. Кононов // Журнал аналитической химии. – 1996. – Т. 51, № 4. – С. 384–397.
5. Кабата-Пендиас, А. Микроэлементы в почвах и растениях / А. Кабата-Пендиас, Х. Пендиас. – М. : Мир, 1989. – 439 с.
6. Ковальский, В.В. Биологическая роль меди / В.В. Ковальский. – М. : Наука, 1970. – 345 с.
7. Гайсина, Л.А. Популяционная альгология / Л.А. Гайсина, А.И. Фазлутдинова, Р.Р. Кабиров. – Уфа : Гилем, 2008. – 152 с.
8. Ваулина, Э.Н. О влиянии меди на почвенные водоросли / Э. Ваулина // Ботан. ж. – 1957. – Т. 42, № 7. – 1097–1099.
9. Токсичность медьсодержащих соединений для водорослей / В.Г. Хоботьев, В.И. Капков, Е.Г. Рухадзе, Н.В. Турунина, Н.А. Шидловская // Гидробиологический журнал. – 1975. – Т. 11, № 5. – С. 49–55.
10. Дмитриева, А.Г. Анализ функциональных показателей популяции водорослей в условиях накопления меди / А.Г. Дмитриева, Г.А. Даллакян, Н.Л. Лысенко // Альгология. – 1992. – Т. 2, № 2. – С. 30–36, 109.
11. Кузяхметов, Г.Г. Альгологическая оценка токсичности препаратов меди в серой лесной почве и в черноземе выщелоченном / Г.Г. Кузяхметов // Почвоведение. – 1998. – № 8. – С. 968–973.
12. Кабиров, Р.Р. Показатели устойчивости почвенных водорослей тяжелым металлам / Р.Р. Кабиров, Е.А. Воронкова // Экологические проблемы современности : сб. науч. тр. Ч. 1 / Башкир. гос. пед. ун-т. – Уфа, 2001. – С. 152–160.
13. Справочник агрохимика / В.В. Лапа [и др.] ; под ред. В.В. Лапа. – Минск : Беларус. наука, 2007. – 390 с.
14. Андреева, В.М. Почвенные и аэрофильные зеленые водоросли / В.М. Андреева. – СПб. : Наука, 1998. – 351 с.