

УДК 229.873:375.35(122.29)

Л.А. Ничкова, ассистент,

А.А Солдатов, канд. биолог. наук, доцент

Севастопольский национальный технический университет

Студгородок, г. Севастополь, Украина, 99053

E-mail: root@sevgtu.sebastopol.ua

ВЛИЯНИЕ АНИОННОГО И КАТИОННОГО ДЕТЕРГЕНТОВ НА ПОДВИЖНОСТЬ КУЛЬТУР ЗОЛОТИСТЫХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ

*В условиях эксперимента сравнивается действие анионных и катионных ПАВ на культуры золотистых микроводорослей (*Exuviaella pussilla* и *Emiliana huxleyi*); предполагались слабые темпы клеточного деления.*

Среди органических соединений, поступающих в водную среду и представляющих для нее значительную опасность, являются детергенты или поверхностно активные вещества (ПАВ), производство которых постоянно возрастает. Это связано с тем, что в воде большинство поллютантов находятся в растворенном состоянии; поэтому они легко переносятся с водными массами на значительные расстояния, охватывая большие акватории [1], и достаточно хорошо проникают в организм гидробионтов с последующей миграцией по трофическим цепям. Экологическая опасность этих соединений связана, по-видимому, с тем, что они способны воздействовать на цитоплазматические мембраны, изменяя их проницаемость. В результате наблюдается нарушение нормального течения метаболических процессов в клетках.

Водные экосистемы и прежде всего их автотрофное звено, представленное в основном микроводорослями испытывает на себе влияние ПАВ. Известно, что повреждающий эффект поллютанта прямо зависит от пролиферативной активности клеточных структур, защитных свойств клеточной оболочки. В отношении ПАВ такая информация отсутствует.

Токсичность действия ПАВ обычно оценивается в условиях острого или хронического эксперимента на организмах разных трофических уровней [2]. При этом сравнительный учет чувствительности организмов к данной группе поллютантов не проводился. В связи с этим изучение биологической активности ПАВ в отношении микроводорослей представляется интересным по двум причинам. Во-первых, данные формы жизни являются общепризнанными объектами биотестирования среды, а во-вторых, они являются компонентами автотрофного звена любой экосистемы, и от их состояния зависит благополучие остальных трофических уровней.

Цель настоящей работы – сравнить в условиях эксперимента действие анионных и катионных ПАВ на культуры золотистых микроводорослей. Задача исследования – изучить действие анионного детергента додецилсульфата натрия (SDS), входящего в состав большинства синтетических препаратов, на подвижность золотистых культур микроводорослей.

В статье представлены результаты изучения влияния SDS и TDTMA на культуры золотистых микроводорослей *Ex. pussilla* и *Em. huxleyi*.

Изучение влияния SDS.

1. SDS относится к группе анионных детергентов и входит в состав большинства ПАВ препаратов. Изучение влияния данного соединения было выполнено на обеих культурах микроводорослей.

Эксперименты на культуре *Ex. Pussilla*.

1.1. *Эксперимент №1 (среда – морская вода)*. Культура микроводоросли *Ex. pussilla*, содержащаяся на среде Гольдберга, характеризуется достаточно высокой подвижностью клеток, которая в норме обычно превышает 75 %. При переносе инокулята из маточной среды в стерилизованную морскую воду отмечали существенное угнетение двигательной активности клеток. В контрольной культуре подвижность клеток в течение всего периода наблюдений находилась на уровне 50 % (таблица 1, рисунок 1).

В присутствии SDS она существенно подавлялась. Степень подавления определялась концентрацией детергента. Во всех культурах с SDS она не превышала 25 %. Однако если в культуре с концентрацией детергента 0,1 мг л⁻¹ она оставалась таковой на протяжении всего эксперимента (73,5 часа), то в остальных случаях она с течением времени угнеталась полностью.

Таблица 1 – Влияние различных концентраций SDS на подвижность клеток в культуре *Ex. pussilla* по результатам эксперимента №1

Экспозиция (час)	Концентрация SDS, мг л ⁻¹					
	Контроль	0,10	0,25	0,50	0,75	1,00
18,5	++	+	+	+	+	+
52,5	++	+	+	-	-	+
75,5	++	+	-	-	+	-

Примечание. «+++» – более 75 % клеток культуры подвижны; «++» – около 50 % клеток культуры подвижны; «+» – не более 25 % клеток культуры подвижны; «-» – подвижны единичные клетки.

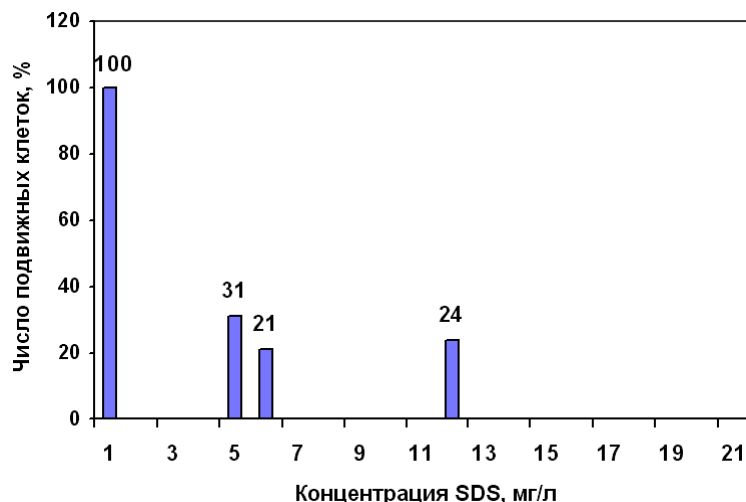


Рисунок 1 – Влияние различных концентраций SDS на число подвижных клеток в культуре *Ex. pussilla*

Следует отметить, что оценку подвижности клеток культуры *Ex. pussilla* необходимо проводить сразу после заполнения камеры Горяева, поскольку в противном случае клетки быстро угнетаются.

Эксперимент № 2 (среда Гольдберга). В данной среде культура *Ex. pussilla* сохраняла в отличие от предыдущего эксперимента свои свойства более стабильно, что позволило полнее изучить характеристику действия SDS на ее состояние.

Подвижность клеток. По сравнению с предыдущим экспериментом в среде Гольдберга подвижность клеток была существенно выше, как в контрольной, так и опытных сериях. Учет подвижности проводился по 4-х бальной шкале. Результаты оценки изображены на рисунке 1.

В контрольной серии подвижность клеток сохранялась на высоком уровне в течение всего периода наблюдений. Более 75 % клеток активно перемещались в толще инкубационной среды. Только за 170 часов наблюдений было замечено некоторое ограничение активности. Подвижность сохраняли около 50 % клеток.

SDS заметно повлиял на подвижность клеток. Спустя 15 часов во всех пробах, содержащих детергент в различных концентрациях, отмечали подавление подвижности. Подвижность сохраняли не более 25 % клеток.

Негативное действие детергента, отмеченное в начальный момент, с течением времени компенсировалось культурой *Ex. pussilla*. Причем компенсация наблюдалась только при низких концентрациях SDS – 0,10 и 0,25 мг л⁻¹. На 54-й час эксперимента подвижность клеток в этих культурах совпадала с таковой у контрольной серии (более 75 %). При концентрации детергента в культуре 0,50 мг л⁻¹ восстановление подвижности было частичным и находилось на уровне 50 % клеток. При концентрациях SDS 0,75 и 1,0 мг л⁻¹ восстановление отсутствовало совсем. Необходимо отметить, что восстановление подвижности клеток в культурах с уровнем SDS 0,01... 0,50 мг л⁻¹ было временным и утрачивалось уже на 78 часу наблюдений. На 58-й час экспозиции подвижность клеток в культурах с концентрацией детергента 0,25...1,00 мг л⁻¹ была полностью утрачена.

Механизм компенсации действия SDS представляет определенный интерес и требует специального изучения. Не следует также исключать из внимания возможность разрушения детергента в культуре с течением времени [3]. Однако этот момент в опыте не контролировался.

Эксперименты на культуре *Em. huxleyi*

1.2. Подвижность клеток. В контрольной культуре *Em. huxleyi* подвижности клеток сохранялась на уровне 50 % на протяжении всего эксперимента (таблица 2). Эта было характерно для обоих экспериментов. Аналогичная картина сохранялась и при концентрации SDS в инкубационной среде 0,2 мг л⁻¹. Только на 75-й час наблюдений отмечали некоторое угнетение подвижности до уровня 25 % (эксперимент № 2).

Концентрация SDS 0,4 мг л⁻¹ оказала более выраженный эффект на культуру, особенно в эксперименте № 2. Так, если в первом эксперименте угнетение подвижности отмечалось лишь на 59-й час до уровня 25 %, то во втором случае активность клеток падала до подобных значений уже на 23-й час, а на 50-й час и в последующий период наблюдений она полностью подавлялась.

Действие концентраций 0,6...1,0 мг л⁻¹ на культуру *Em. huxleyi* было более выраженным. В условиях первого эксперимента ограничение подвижности отмечали на 35-й час наблюдений.

Активность клеток находилась на уровне 25 %. Во втором эксперименте это уже происходило на 23-й час действия SDS. Начиная с 50-го часа, подвижность полностью подавлялась.

Компенсации действия SDS, как это было в случае с культурой *Ex. pussilla*, не наблюдалась. Подвижность клеток в обоих экспериментах не восстанавливалась.

Таблица 2 – Влияние различных концентраций SDS на подвижность клеток в культуре *Em. Huxleyi*

Экспозиция, час	Концентрация SDS, мг л ⁻¹					
	Контроль	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0
<u>Эксперимент N1</u>						
0	++	++	++	++	++	++
17,5	++	++	++	++	++	+++
35	++	++	++	+	+	+
59	++	++	+	+	+	+
<u>Эксперимент N2</u>						
0	++	++	++	++	++	++
23	++	++	+	++	+	+
50,5	++	++	-	-	+	-
74,5	+	-	-	-	-	-

Примечание. «+++» – более 75 % клеток культуры подвижны; «++» – около 50 % клеток культуры подвижны; «+» – не более 25 % клеток культуры подвижны; «-» – подвижны единичные клетки.

Таким образом, подводя итог экспериментам с культурами микроводорослей *Ex. pussilla* и *Em. huxleyi* можно заключить, что они оказались весьма чувствительными к действию SDS. Незначительные концентрации этого анионного детергента (0,1...0,2 мг л⁻¹) вызывали выраженные изменения подвижности клеток, их пролиферативной активности.

Изучение влияния TDTMA.

2. Тетрадецилтриметиламмоний бромид (TDTMA) также, как и SDS входит в группу поверхностно-активных препаратов, но относится к группе не анионных, а катионных соединений. Поэтому воздействие его на клетки микроводорослей может быть иным. Влияние TDTMA было изучено только на культуре *Em. huxleyi*.

Подвижность клеток. Подвижность клеток в культуре была изучена в двух экспериментальных сериях. В первой серии контрольная культура обладала низкой активностью. В поле зрения микроскопа перемещалось не более 25 % клеток. На протяжении опыта данный уровень подвижности не претерпевал существенных изменений. Внесение в культуру детергента оказало выраженный негативный эффект [4]. При концентрациях TDTMA 0,2...0,4 мг л⁻¹ подвижность клеток сохранялась только на момент внесения препарата. В дальнейшем она полностью подавлялась. В культурах, где концентрация TDTMA составила 0,6...1,0 мг л⁻¹, двигательная активность клеток не обнаруживалась совсем.

Во второй экспериментальной серии подвижность клеток в контрольной культуре составляла около 50 % и была устойчива в течение всего периода наблюдений. Такая же подвижность сохранялась в культурах с концентрацией TDTMA 0,2 ... 0,6 мг л⁻¹ на момент внесения детергента. Однако в ходе эксперимента она явно угнеталась до уровня 25 %. При 0,2 мг л⁻¹ угнетение наступало на 46-й час экспозиции, а при 0,4...0,6 мг л⁻¹ на 22-й час экспозиции. Затем подвижность клеток полностью подавлялась. В культурах с концентрацией TDTMA 0,2...0,4 мг л⁻¹ это наступало на 70-й час, а с концентрацией 0,6 мг л⁻¹ на 46-й час эксперимента. Концентрации TDTMA 0,8...1,0 мг л⁻¹ оказывали более выраженное действие. Угнетение подвижности клеток до уровня 25 % наблюдалось уже на момент внесения препарата. На 22-й час (концентрация 1,0 мг л⁻¹) и 46-й час эксперимента концентрация 0,8 мг л⁻¹ движение клеток в среде вообще не обнаруживалось.

Таблица 3 – Влияние различных концентраций TDTMA на подвижность клеток в культуре *Em. Huxley*

Экспозиция, час	Концентрация TDTMA, мг л ⁻¹					
	Контроль	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0
<u>Эксперимент N1</u>						
0	+	+	+	-	-	-
23,5	+	-	-	-	-	-
51,2	+	-	-	-	-	-
75,4	+	-	-	-	-	-
<u>Эксперимент N2</u>						
0	++	++	++	++	+	+
22	++	++	+	+	+	-
46	++	+	+	-	-	-
70	++	-	-	-	-	-

Примечание: «+++» – более 75 % клеток культуры подвижны; «++» – около 50 % клеток культуры подвижны; «+» – не более 25 % клеток культуры подвижны; «-» – подвижны единичные клетки.

Таким образом, действие TDTMA на культуру *Em. huxleyi* качественно совпадало с таковым, отмеченным для SDS, и выражалось в угнетении подвижности. Однако влияние это было более значительным. Оно наблюдалось при более низких концентрациях детергента, развивалось в более короткие промежутки времени и затрагивало больший процент клеток.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Известно, что при отборе культур микроводорослей в качестве объекта биотестирования важное значение имеет их чувствительность по отношению к факторам среды. Как уже отмечалось, чувствительность клеток в значительной степени определяется их пролиферативной активностью.

Выполнено целенаправленное сравнение действия двух детергентов на культуры золотистых микроводорослей (*Exuviaella pussilla* и *Emiliania huxleyi*), со слабыми темпами клеточного деления. Неожиданно культуры золотистых водорослей оказались более чувствительными к действию SDS и TDTMA. Это выражалось в следующем:

- клетки утрачивали двигательную активность при незначительных концентрациях детергента в среде (0,2...0,4 мг л⁻¹);
- у клеток микроводорослей визуально наблюдались значительные морфологические изменения – деформация поверхности, фрагментация цитоплазмы, депигментация.

Высокая чувствительность культур золотистых микроводорослей к детергентам, по-видимому, определялась особенностями структуры их наружного слоя клетки. Известно, что они не имеют настоящей клеточной стенки, как зеленые микроводоросли. Наружный слой у них представлен пелликулой или текой с теми или иными видоизменениями [5]. Это должно делать более доступной мембрану этих клеток к действию детергента, что, по всей видимости, и имело место.

Сравнительная оценка действия анионного (SDS) и катионного (TDTMA) детергентов показала более высокую эффективность последнего соединения, которое вызывало наиболее серьезные изменения в состоянии культур вплоть до их полной деградации. Известно, что действие ПАВ реализуется преимущественно на уровне клеточных мембран. Чувствительность их к катионному детергенту позволяет предположить, что на поверхности оболочек микроводорослей должны доминировать отрицательно заряженные химические группы, способствующие ассоциации катионного детергента с клеткой.

Следует отметить, что нормы сброса ПАВ в водоемы определяются на основании их способности к биологическому разложению без учета особенностей их действия на биообъекты. Однако более корректно устанавливать эти нормы с учетом комплексного влияния ПАВ на водную экосистему, которые рассмотрены в данной работе.

Целью дальнейших исследований является изучение действия анионного детергента додецилсульфата натрия с более высокими концентрациями, на темпы клеточного деления и подвижность золотистых культур микроводорослей.

Библиографический список

1. Паршикова Т.В. Влияние ПАВ на водоросли / Т.В. Паршикова, С.Ф. Негрудский // Гидробиол. журнал. — 1988. — Т. 24. № 6. — С. 46 – 57.
2. Остроумов С.А. Деградация водорослей при загрязнении водной среды ПАВ этонием / С.А. Остроумов, В.Н. Максимов // Экология. — 1988. — № 6. — С. 165 – 68.
3. Остроумов С.А. Воздействие загрязнения среды катионным ПАВ на водоросли и проростки *Fagohyrum esculentum* / С.А. Остроумов, А.Н. Третьякова // Экология. — 1990. — N 2. — С. 43 – 46.
4. Bayne A., Newell N. Physiological energetics of marine molluscs // Mollusca / Eds: K.M. Wilbur – New York; London, 1983. — № 4. — P. 407 – 515.
5. Николаев И.И. Планктонные водоросли / И.И. Николаев // Жизнь растений. — 1977. — Т.3. — С. 44 – 54.

Поступила в редакцию 19.04.2006 г.