

УДК 577.47:628.54

А. С. САРСЕНОВА¹, А. У. ЧУКПАРОВА¹, Е. Ж. ШОРАБАЕВ¹,
А. К. ЖАМАНГАРА², А. Е. ТАСТАНОВА,³ А. К. САДАНОВ³

ИЗУЧЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ КЛЕТОК МИКРОВОДОРОСЛЕЙ К ВОЗДЕЙСТВИЮ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ИОНОВ РТУТИ (Hg⁺)

¹Национальный центр биотехнологии Республики Казахстан МОН РК, г. Астана;

²Евразийский национальный университет им. Л. Н. Гумилева, г. Астана;

³Институт почвоведения им. У. У. Успанова, г. Алматы)

Изучена устойчивость к ионам ртути клеток микроводорослей, выделенных из воды и донных отложений р. Нуры. В результате скрининга отобраны две устойчивые к концентрации ионов ртути в среде 0,001 мг/мл культуры микроводорослей – *Chlorella vulgaris* и *Chlorella vulgaris* var. *vulgaris*. Штамм *Chlorella vulgaris* способен сорбировать до 88% ртути.

Загрязнение окружающей среды ртутью является одной из актуальных экологических проблем. Ртуть и ее органические соединения высокотоксичны и представляют опасность с точки зрения глобального загрязнения окружающей среды [1]. В природе ртуть может накапливаться как в металлической форме, так и в виде соединений с различной степенью окисления – Hg (0), Hg (I), Hg (II). Металлическая ртуть и ее неорганические соли выводятся из организма сравнительно быстро. Гораздо более ядовиты алкильные соединения ртути, в частности метилртуть, которая может образовываться в водоемах из металлической ртути под влиянием микроорганизмов, обитающих в поверхностных донных отложениях или взвешенных в воде илах [2, 3].

В Казахстане сегодня сложилась неблагоприятная экологическая обстановка по загрязнению окружающей среды ртутью в результате деятельности промышленных заводов: АО «Химпром» (г. Павлодар), ПО «Карбид» (г. Темиртау). Например, применение на ПО «Карбид» ртути в качестве катализатора технологического процесса привело к загрязнению воды, ила и прибрежных районов р. Нуры. По оценке, проведенной Е.П. Яниным [4], за время функционирования ацетальдегидного производства в составе сточных вод завода «Карбид» было сброшено в р. Нуру более 500 т ртути. Кроме этого в реку поступали содержащие ртуть сточные воды Карагандинского металлургического комбината (КМК) и КарГРЭС-1. Воды р. Нуры поступали также стоки с сельскохозяйственных полей, на которых применялись в больших количествах ртутьорганические пестициды.

Существует ряд способов очистки объектов окружающей среды от тяжелых металлов, в том

числе и ртути: механический, физико-химический и биологический. Биологический метод очистки привлекает все большее внимание исследователей, так как он экологически безопасен и дешев. Использование биологических объектов (макро- и микрофитов) в качестве биосорбентов позволяет за небольшой период времени провести очистку почвы, воды и донных отложений. В связи с этим была поставлена цель – выделить устойчивые к ионам ртути штаммы микроводорослей и изучить их сорбционную способность.

Материалы и методы. Объектами исследований являлись микроводоросли, выделенные из воды и донных отложений р. Нуры. Пробы воды и донных отложений отбирались в трех точках – в районе сброса сточных вод в р. Нуру, в районе дамбы пруда-накопителя и после очистного сооружения.

Культуры микроводорослей выделяли методом накопительных культур на питательных средах 04, Успенского и Елениной [5].

Выделение бактериологически чистых культур микроводорослей проводили методом пересевов на плотные питательные среды, методом Мак-Дениела, Миддлброка, Боумана, Больда [5] и путем микроскопирования.

Идентификацию культур микроводорослей проводили по «Определителю водорослей» [6, 7].

Культуры микроводорослей выращивали на жидкой питательной среде 04 при температуре 23–25 °С, постоянной аэрации и освещении лампами дневного света. В среду добавляли соль ртути азотнокислой (HgNO₃·H₂O) в количестве 0,001; 0,01; 0,1 мг/мл. Подсчет титра клеток микроводорослей проводили с помощью камеры Горяева [5].

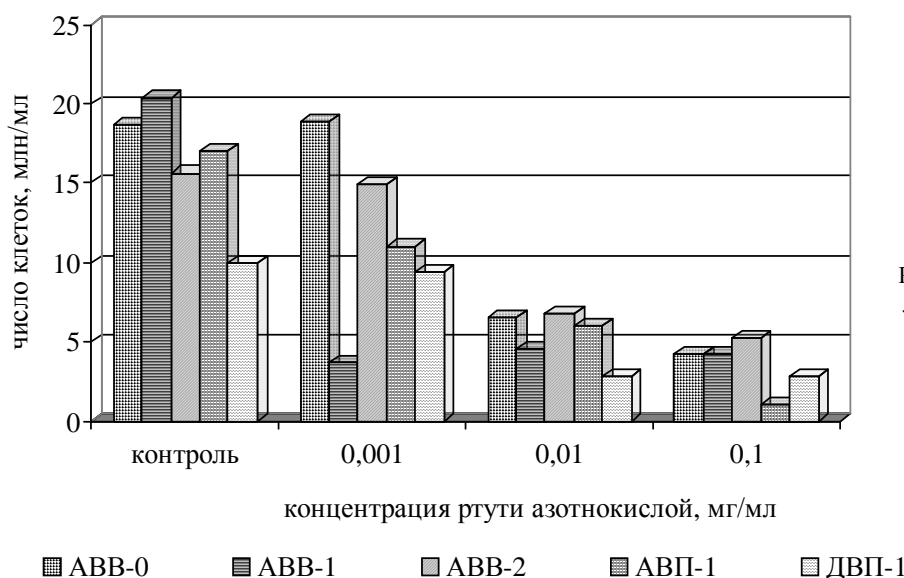


Рис. 1. Влияние ионов ртути азотнокислой на рост культур микроводорослей

Анализ содержания ртути в клетках микроводорослей проводили на атомно-абсорбционном спектрофотометре Perkin Elmer методом холодного пара.

Результаты и их обсуждение. Из отобранных проб воды и донных отложений р. Нуры нами было выделено 10 чистых культур микроводорослей. В результате скрининга были отобраны пять устойчивых к содержанию ртути в среде 0,0001 мг/мл культур микроводорослей АВВ-0, АВВ-1, АВВ-2 (выделены из проб воды) АВП-1, ДВП-1 (выделены из проб донных отложений).

Путем культивирования выделенных культур микроводорослей на жидкой питательной среде 04 с добавлением ртути в количестве 0,001, 0,01, 0,1 мг/мл были отобраны две культуры микроводорослей, устойчивые к 0,001 мг/мл содержанию ртути в среде. Концентрация ртути 0,01 и 0,1 мг/мл оказалась токсичной для всех культур микроводорослей (рис. 1). Исходный титр клеток микроводорослей составлял 5 млн/мл.

На 4-е сутки культивирования в контрольном варианте опыта увеличивалось количество клеток у всех изучаемых культур микроводорослей. Наибольшее число клеток отмечалось у культуры АВВ-1 – 20,4 млн/мл, наименьшее у ДВП-1 – 10 млн/мл клеток.

При добавлении в среду ртути азотнокислой в количестве 0,001 мг/мл наблюдалось ингибирование роста клеток у культуры микроводоросли АВВ-1, число клеток уменьшалось в 1,34 раза по сравнению с изначальным титром клеток. Для культур микроводорослей АВВ-0, АВВ-2, АВП-1 и ДВП-1

такая концентрация ртути не токсична. Биомасса микроводорослей увеличилась в среднем в 3–3,7 раза. Менее интенсивным ростом обладала культура микроводоросли ДВП-1.

Внесение ртути азотнокислой в среду в количестве 0,01 мг/мл ингибировало рост клеток культур микроводорослей АВП-1 и ДВП-1, у остальных культур микроводорослей число клеток увеличилось с 5 до 6–6,8 млн/мл. Концентрация ртути в среде 0,1 мг/мл являлась токсичной для всех изучаемых культур микроводорослей. В результате эксперимента нами были отобраны две устойчивые культуры микроводорослей – АВВ-2 и АВВ-0, которые обладали быстрым ростом и способностью интенсивно накапливать биомассу. Отобранные культуры микроводорослей идентифицированы как *Chlorella vulgaris* (АВВ-0) и *Chlorella vulgaris var. vulgaris* (АВВ-2).

Исследование влияния ионов ртути на динамику накопления биомассы штаммов микроводорослей *Chlorella vulgaris* и *Chlorella vulgaris var. vulgaris* проводили культивированием их в жидкой среде 04 с внесением разного количества ртути – 0,001; 0,01; 0,1; 1 мг/мл. При этом с помощью камеры Горяева ежедневно в течение 7 суток подсчитывали число клеток микроводорослей. Изменение числа клеток у культуры микроводоросли *Chlorella vulgaris var. vulgaris* представлено на рис. 2.

В контрольном варианте опыта число клеток микроводоросли *Chlorella vulgaris var. vulgaris* максимально увеличивалась на 4-е сутки и достигала 18,7 млн/мл. На 7-е сутки культивирования количе-

Рис. 2. Динамика накопления биомассы культуры *Chlorella vulgaris* var. *vulgaris* при различных концентрациях ртути в среде

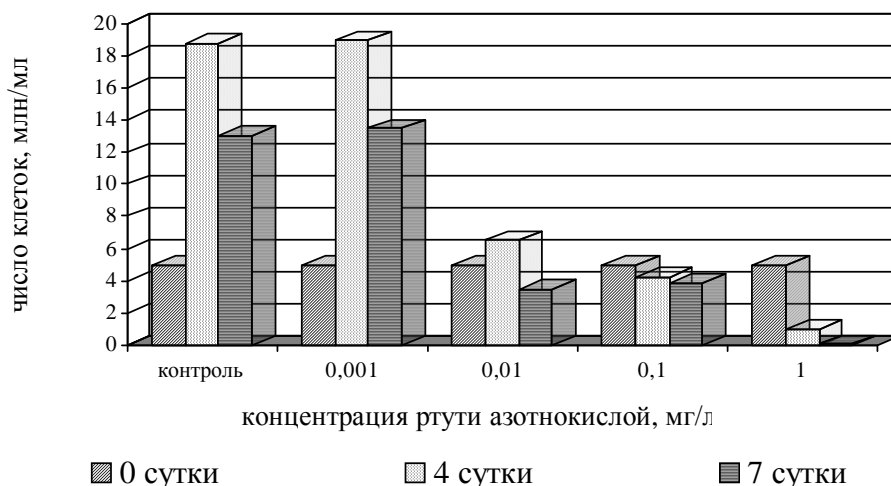
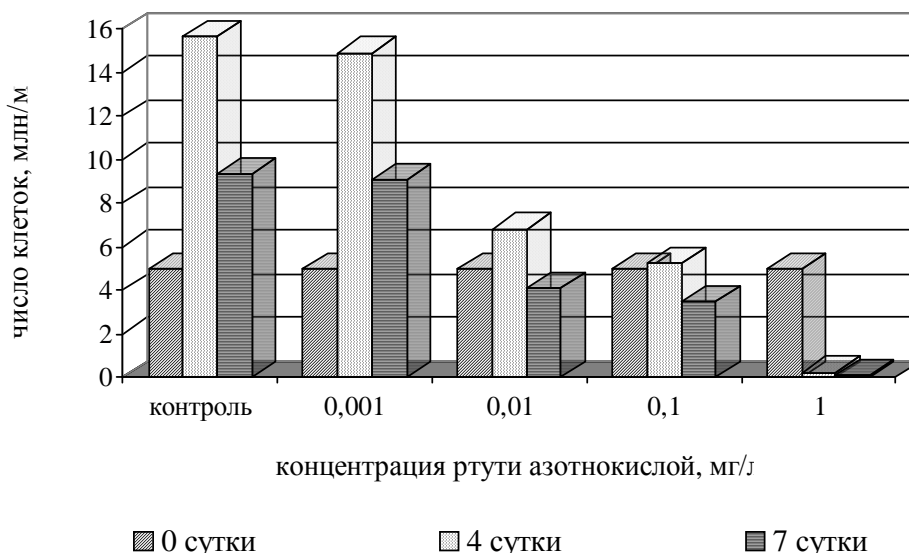


Рис. 3. Динамика накопления биомассы культуры *Chlorella vulgaris* при различных концентрациях ртути в среде



ство клеток снизилось до 13,5 млн/мл, что, вероятно, связано с истощением питательных веществ в среде.

Аналогичная картина наблюдалась и при внесении в среду ртути азотнокислой в количестве 0,001 и 0,01 мг/мл. В опытном варианте с внесением ртути в среду 0,001 мг/мл число клеток на 4-е сутки культивирования было близко к показателю в контроле. При добавлении ртути в среду 0,01 мг/мл число клеток по сравнению с первоначальным титром клеток увеличивалась в 1,4 раза, но по сравнению с контролем число клеток уменьшалось почти в 3 раза. Добавление в среду ртути азотнокислой в количестве 0,1 и 1 мг/мл полностью подавляло рост изучаемой микроводоросли.

Аналогичная картина наблюдается при изучении культуры *Chlorella vulgaris* (рис. 3), за исключе-

нием варианта с содержанием ртути в среде 0,1 мг/мл, при котором число клеток микроводоросли увеличивалось в 1,1 раза по сравнению с изначальным титром.

Ингибирование роста клеток культуры микроводоросли *Chlorella vulgaris* наблюдалось только при добавлении в среду ртути азотнокислой в концентрации 1 мг/мл.

В настоящее время для разработки эффективных методов биоаккумуляции тяжелых металлов применяются активные штаммы бактерий, грибов и водорослей. В основе такой технологии лежит способность клеток некоторых микроорганизмов аккумулировать тяжелые металлы в больших количествах из водной среды, а также из почвы и ила [8, 9].

В связи с этим мы изучали сорбционную способность выделенных штаммов *Chlorella vulgaris* var.

vulgaris и *Chlorella vulgaris*. В жидкую среду 04 вносили ртуть азотнокислую в концентрации 0,001 мг/мл, что в 2000 раз превышает ПДК ртути в воде (ПДК ртути в воде 0,0005 мг/л).

Отбор проб фильтрата и биомассы микроводорослей проводили на 4-е сутки, так как за это время происходит максимальное накопление биомассы. Химический анализ на содержание ртути в биомассе культуры микроводоросли *Chlorella vulgaris* показал наличие ее в количестве 0,0088 мг/г, тогда как в фильтрате ее содержание составило 0,0003 мг/мл. Это указывает на то, что культура *Chlorella vulgaris* способна аккумулировать практически 88% ионов ртути. Очистка среды составила 93%. Данные приведены в таблице.

Сорбция ионов ртути клетками микроводорослей *Chlorella vulgaris* и *Chlorella vulgaris* var. *vulgaris*

Время, сут	Концентрация ртути			
	в фильтрате, мг/мл		в биомассе, мг/г	
	<i>Chlorella vulgaris</i>	<i>Chlorella vulgaris</i> var. <i>vulgaris</i>	<i>Chlorella vulgaris</i>	<i>Chlorella vulgaris</i> var. <i>vulgaris</i>
0 сутки	0,0010		0	
4 сутки	0,0003	0,0006	0,0088	0,0012

Анализ содержания ртути в биомассе штамма *Chlorella vulgaris* var. *vulgaris* показал, что клетки данной культуры микроводоросли способны накапливать ртуть всего 0,0012 мг/г. Накопление ртути клетками микроводоросли *Chlorella vulgaris* var. *vulgaris* составило 12%.

Таким образом, нами выделены два устойчивых штамма – *Chlorella vulgaris* и *Chlorella vulgaris* var. *vulgaris*, из которых только штамм *Chlorella vulgaris* обладал высокой сорбционной способностью. Проведенные нами эксперименты требуют дальнейшего изучения выделенных микроводорослей–биосорбентов ртути в целях применения их в очистке сточных вод и водоемов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Машьянов Н.П. Ртуть в окружающей среде //Минерал. 1999. № 1. С. 5-64.
2. Mason R.P., Morel F.M., Edmond H.F. The role of microorganisms in elemental mercury formation in natural waters //Water, Air and Soil pollution. 1995. V. 80. P. 775-787.
3. Сидоренко Г.И., Новиков С.М. Экология человека и гигиена окружающей среды на пороге XXI века //Гигиена и санитария. 1995. № 5. С. 3-7.
4. Янин Е. П. Экогеохимическая оценка загрязнения реки Нуры ртутью. М.: ИМГРЭ, 1989. 44 с.
5. Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике. Киев: Наукова думка, 1975. С. 22-26.
6. Определитель низших растений / Под ред. Л.И. Курсанова И.А. М.М. Забелиной, К.И. Мейер, Я.В. Ролл, Н.И. Пишанской. М.: Сов. наука, 1953. Т.1. Водоросли. 396 с.
7. Жизнь растений. Водоросли. Лишайники. М.: Просвещение, 1977. Т.3. 487 с.
8. Накопление ртути и других тяжелых металлов водорослями и другими водными растениями // Поведение ртути и других тяжелых металлов в экосистемах. Новосибирск: Изд-во ГПНТБ, 1989. Ч. 2. С. 64-90.
9. Абраштова С.А., Айткельдиева С.А. Микробная трансформация неорганических ионов в природных экосистемах. Алматы, 2002. 185 с.

Резюме

Нұра өзенінің сынап және шөгінді тұнбаларынан бөлініп алынған микробалдыр жасушаларының сынап иондарына төзімділігі зерттелді. Тәжірибе нәтижесінде 0,01 мг/мл сынап ионының мөлшерлі ортаға төзімді *Chlorella vulgaris* және *Chlorella vulgaris* var. *vulgaris* таңдап алынды. *Chlorella vulgaris* штаммы сынап мөлшерін 88%-ға дейін сорбциялауға қабілетті.

Summary

It was studied the resistance of micro algae cells, taken from water and sediments of Nura river to mercury ions. As result of screening it was taken 2 strains of algae *Chlorella vulgaris* и *Chlorella vulgaris* var. *vulgaris*, which are resistant to 0.01 mg/ml concentration of mercury. The strain of *Chlorella vulgaris* can accumulate 88% of mercury.