

ӘОЖ: 631.95:581

Г. М. САЛХОЖАЕВА¹, Қ. М. ӘБДИЕВА², Е. Ж. ШОРАБАЕВ², А. Қ. САДАНОВ³

CHLORELLA ЖАСЫЛ БАЛДЫР КЛЕТКАЛАРЫНА СЫНАП ИОНЫНЫҢ ӘСЕРІ

¹«Биомедпрепарат-инжинирингі орталығы». Мониторинг зертханасы, Степногор қ.²Қазақстан Республикасы Ұлттық биотехнологиялық орталығы, Астана қ.³«Биологиялық зерттеулер орталығы», Алматы қ.)

Балдырларға сынап иондарының әсері биологиялық тестілеу арқылы зерттелді. Нәтижесінде уыттылықтың әсерінен тестілеуге алынған судағы клеткалар саны бақылаумен салыстырғанда төмендегені анықталды.

Қазіргі уақытта ағынды және табиғи сулардың сапасын бағалау үшін биотестілеу әдісі жиі қолданылуда, алайда теңіздер, көлдер мен өзендердің ластануы, сонымен қатар көптеген антропогенді қосылыстармен өнімдердің бір-бірімен әрекеттесуі зерттеушілердің назарынан тыс қалуда. Ал қазіргі уақытта тұщы сулардағы планктонды балдырлардың қарқынды көбеюі мен ингибирлі өсуіне негізделген, тұщы сулардың сапасын бағалайтын ұлттық стандартты нұсқалар қолданылуда [1–3].

Суларды биотестілеу әдісі – республикалық және аймақтық қоршаған ортаны қорғау комитеттері мен басқа да министрліктер, ведомстволардың көмегімен биотестілеу әдісін, ағынды және табиғи сулардың улылығын бақылауды жүзеге асыру мақсатында өңделген. Украинаның нормативті құжаттар жер үсті, жер асты, қайтымды сулардың қоспалары мен сулы ерітінділердің қосылыстарын, топырақты балдырлардың сулы экстракттарының (*Scenedesmus quadricauda* (Turp) Vreb) ластану дәрежелері мен улылығын зерттеу үшін биотестілеу әдістерін ұсынады. Сонымен қатар қазіргі кезде Украинада биотестілеу көрсеткіштері мемлекеттік сапаны бақылау жүйесіне енгізілген. Сондықтан жана материалдар мен практикалық бақылаулар осы әдістің кеңінен пайдалануына әсерін тигізуде [4].

Біздің зерттеу жұмысымыздың мақсаты – сынап ерітінділерінің балдырларға әсерін бақылаумен салыстыру арқылы зерттеу.

Материалдар мен зерттеу әдістері

Зерттеу жұмысымызда материал ретінде экспозиционалді өсу сатысындағы 7-10 күндік алгологиялық таза штамм *Chlorella vulgaris*-G балдыры қолданылды. Балдырларды Тамия қоректік ортада, 22-25°C температурада, рН-7,8 және 2000-3000 лк жарықта өсірдік [5]. Балдырлардың клеткалар санын Горяев камерасымен және оптикалық тығыз-

дығын ФЭК көмегімен анықтадық. Балдырлардың бастапқы клеткалар саны 5-10 млн кл/мл. Жалпы зерттеу жұмысымыздың ұзақтығы 14 күн. Тестілеу орта ретінде сынаптың (0,001 мМ; 0,005 мМ, 0,01 мМ; 0,05 мМ; 0,1 мМ) концентрациялары алынды. Зерттеу жұмысымыз 2 бөлімнен тұрады:

1. Қысқа мерзімді.

2. Ұзақ мерзімді.

Қысқа мерзімді зерттеу барысында 100 мл бақылау және тестілеу ортасы ерітінділеріне 0,5 мл қаныққан балдыр ерітіндісін, 0,1 мл-ден минералды тұз ерітінділері мен микроэлементтерді қосамыз. Сосын колбаларды тығындармен жауып, әрбір колбадағы балдырлардың бастапқы клетка санын анықтаймыз. Әрбір колбадағы клетка саны – 25-50 мың кл/мл болу қажет. Қысқа мерзімді биотестілеу әдісін 96 сағ. аяқталғаннан соң бақылау мен тестілеу ортадағы балдырлардың клетка саны анықталады.

Қысқа мерзімді зерттеу барысында балдырларға сынап ионының улы әсері байқалмаса ұзақ мерзімді биотестілеу әдісін жалғастырамыз. Ол үшін биотестілеу басталғаннан кейінгі 7 күні бақылау мен тестілеу ортасының жаңа ерітінділері дайындалады. Жаңадан дайындалған ерітіндінің көлемі – 100 мл. Осы дайындалған ерітіндіден 75 мл ерітінді алып, оған зерттеу жүргізіліп отырған колбалардан 25 мл-ден ерітінділер қосылады. Сосын әрбір колбадағы балдырлардың санын анықтаймыз да, биотестілеуді тағы 7 күнге жалғастырамыз. Сөйтіп 14 күні ұзақ мерзімді биотестілеу әдісін аяқтаймыз да тестілеу ортаның балдыр клеткаларына улы әсерінің бар-жоқтығын анықтаймыз. Алынған зерттеу жұмысымыздағы тестілеу ортамыздың балдырларға улы әсерлерін анықтау үшін бақылау мен тестілеу ортасындағы балдырлардың клетка санының өсу коэффициентін есептейміз. Осы алынған зерттеу жұмысымыздың нәтижелері статистикалық өңдеу жасады [6]:

1. Бақылау мен тестілеу ортасындағы балдырлардың клетка санының орташа арифметикалық көрсеткіші;

2. орташа квадраттық ауытқу көрсеткіші;

3. орташа арифметикалық көрсеткішінің кателігін;

4. Екі салыстырмалы шамалардың айырымдық дұрыстау критерийлері;

5. Алынған көрсеткіштерді Стьюдент критерийлерімен салыстыру.

Зерттеу жұмысымыздың нәтижелері

Зерттеу жұмысымыздың нәтижелеріне тоқталатын болсақ, зертханада бақылау ретінде алынған бір клеткалы жасыл балдыр хлорелланы Тамия қоректік ортасында өсірдік, ал тестілеу орта ретінде сынаптың (0,001 мМ; 0,005 мМ, 0,01 мМ; 0,05 мМ; 0,1 мМ) концентрацияларының 2 түрлі нұсқалары алынды. Осы алынған көрсеткіштерге сүйене отырып, төмендегі нәтижелерге тоқталайық (1-кесте). Қысқа мерзімді биотестілеу барысында хлорелланың бастапқы оптикалық тығыздығы 0,08, ал сынаптың 0,001-0,07 0,005-0,07 0,01-0,07 0,05-0,07 0,1-0,07 алынды. Төртінші тәулікте (96 сағ.), бақылаудағы хлорелланың клетка тығыздығы 0,08-0,14 болса, ал

тестілеу ортадағы клеткалардың тығыздығы 0,001-0,13, 0,005-0,13, 0,01-0,11, 0,05-0,07, 0,1 0,07 болғанын байқадық. Осы алынған нәтижелерде бақылау мен сынаптың 0,001, 0,005, 0,01 концентрацияларында клеткалардың өсу динамикасының жоғарылағанын байқаймыз. Ал сынаптың 0,05-0,07 мМ 0,1-0,07 мМ концентрацияларында балдырлардың клетка саны бастапқы клетка санымен салыстырғанда еш өзгеріссіз қалды. Осы алынған нәтижелерден сынаптың балдыр клеткаларына әсерін бақылаумен салыстыру арқылы анықтау үшін, балдыр клеткаларының өсу коэффициентін анықтадық. Осы қысқа мерзімді биотестілеу кезінде сынаптың (0,001, 0,005, 0,01) концентрацияларын бақылаумен салыстырғанда улы әсерінің жоқ екендігін 4 тәулік бойы жүргізілген зерттеуімізде анықтадық.

Ал сынаптың 0,05 мМ, 0,1 мМ концентрацияларында балдырлардың клеткаларына улы әсерінің бар екендігін байқадық. Кейбір әдебиеттерге сүйенетін болсақ, көптеген ауыр металдар микроорганизмдердің тіршілік етуіне қажетті элементтер болып табылады.

Сонымен бірге металдар тірі организмдердің клеткаларында аккумуляциялану қасиеттеріне ие. Бірақ металдардың микроорганизмдер клеткаларын-

1-кесте. Қысқа мерзімді тестілеуде балдырлардың клетка тығыздығы мен олардың өсу коэффициент көрсеткіштері

С HgCl ₂	Бастапқы оптик. тығ.		96 сағ.		Клет. өсу коэф.		7-тәу. бас. тығ. опт.		14 тәу.		Клет. өсу коэф.	
0,001	0,078	0,074	0,132	0,13	1,69	1,81	0,074	0,075	0,1110	0,105	1,50	1,41
	0,069		0,133	2	1,93		0,076		0,0998	4	1,31	
0,005	0,075	0,074	0,128	0,13	1,71	1,76	0,068	0,066	0,0960	0,092	1,41	1,39
	0,073		0,132		1,81		0,065	5	0,0889	5	1,37	
0,01	0,077	0,075	0,115	0,11	1,49	1,52	0,065	0,066	0,0878	0,086	1,35	1,31
	0,072		0,112	3	1,56		0,067		0,0854	6	1,27	
0,05	0,074	0,073	0,073	0,07	0,99	0,99						
	0,071		0,07	1	0,99							
0,1	0,075	0,073	0,074	0,07	0,99	0,99						
	0,07		0,07	2	1,00							
Бақылау	0,08	0,081	0,144	0,14	1,80	1,81	0,08	0,081	0,1730	0,178	2,16	2,20
	0,082		0,15	7	1,83		0,082		0,1840	5	2,24	

2-кесте. Ұзақ мерзімді биотестілеудегі алынған көрсеткіштерді статистикалық өңдеу нәтижелері

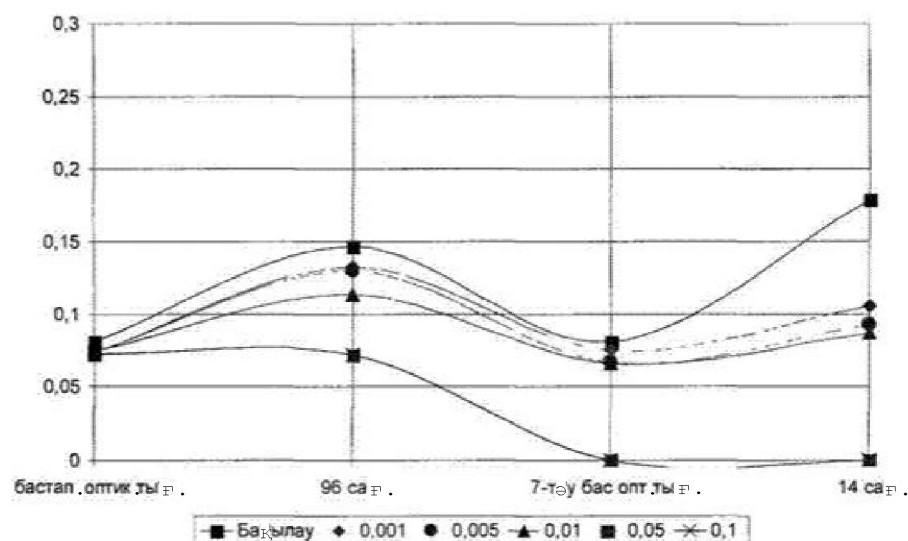
	$X_{орт.}$	Клетка саны	M	V	M/V	x'_i	x_i	s	S	x_t	x_k	s_k^2	s_t^2	t_d		
Бак.	0,267 0,293	0,280	361,464	200	63,2	3,16	9,5 0	0,142	0,09	0,046	0,095	0,280	0,000 0	0,0002	13,65	$t_d > t_{st}$
0,001	0,103 0,102	0,102	93,719	106	51	2,08										
0,005	0,08 0 0,10 9	0,095	82,0 45	84	42	2,00										
0,01	0,07 8 0,101	0,090	74,5 14	71	31,5	2,25										

да концентрациялары жоғарылаған сайын қолайсыз жағдайларға әкеліп соғады, яғни клеткалардың аккумуляциялануымен бірге, улы токсикологиялық эффектілердің шоғырлануы пайда болады [7].

Сондықтан біздің зерттеу жұмысымызда сынап концентрациясының жоғарылауы балдыр клеткаларының улануына балдырлардың клетка санының өсуі кері әсерін тигізуін анықтадық. Қысқа мерзімді зерттеу жұмысымызда осы алынған нәтижелерді статистикалық есептеулер арқылы осындай қорытындыға келдік.

Ұзақ мерзімді биотестілеу барысы әдісінде сынаптың улы әсерлері байқалмаған (0,001 мМ; 0,005 мМ; 0,01 мМ) концентрациялары алынып, зерттеуімізді әрі қарай жағастырдық. 7-тәулікте зерттеу жұмысымыздағы бақылау мен тестілеу ортадағы алынған колбалардың ерітінділері жаңаланып, клеткалардың бастапқы тығыздығын анықтадық. 7-тәуліктен соң, яғни 14-тәулікте балдырлардың клеткаларының өсу динамикасы анықталынды. Осы алынған нәтижелерден біз бақылауда балдырлардың

клетка тығыздығы (Бақылау-0,17), сынаптың (0,001-0,10, 0,005-0,09, 0,01-0,08.) болғаны байқалды. Қысқа мерзімді биотестілеуде ұзақ мерзімді биотестілеумен салыстырғанда клеткалар тығыздығының төмендей бастағаны байқалды. Яғни уақыт ұзара келе сынаптың балдыр клеткаларына әсерінің жоғарылауы тірі клеткалардан гөрі, өлі клеткалардың көбеюіне әкеліп соғады. Осы алынған нәтижелерде сынаптың балдыр клеткаларына қарқынды әсерін бақылаумен салыстыру арқылы анықтау үшін, балдыр клеткаларының өсу коэффициентін және статистикалық есептеулерден өткіздік (2-кесте). Есептеулер нәтижесінде сынаптың балдырларға улы әсерінің бар екендігін анықтадық. Алынған нәтижелерден балдыр клеткаларының тығыздығы мен уақыт аралығындағы тәуелділігі бойынша сызба жасалды (1-сурет). Сонымен, қорыта келгенде, қысқа және ұзақ мерзімді биотестілеу барысында тестілеу ортаның балдырлар клеткаларына улы әсерлерінің бар екендігін бақылаумен салыстыру арқылы анықтадық. Бұл зерттеу жұмысымыз көптеген



Клеткалардың оптикалық тығыздығы мен уақыт аралығындағы тәуелділігі

зерттеулерді қажет етеді және ол жалғасын табу да.

ӘДЕБИЕТ

1. Water quality – Algae growth inhibition test. Draft international Standard ISO/DIS 8692- Geneva, 1987.
2. Айвазова Л.Е., Старцева А.И., Цвылев О.П. Метод биотестирования водной среды с использованием одноклеточных водорослей // Методы биотестирования вод. Черноголовка, 1988. С. 18-21.
3. Методические рекомендации по экспрессному биотестированию природных и сточных вод с использованием одноклеточных водорослей. М.: Изд-во ВНИРО, 1987. 28 с.
4. Дятлов С.Е., Петросян А.Г. Альгология. 2001.
5. Методическое руководство по биотестированию воды. РД-118-02-90. М-1991. С. 28.
6. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высш. шк., 1990. 352 с.
7. Осокина О.Б., Гапочка Л.Д., Дрожжина Т.С. Особенности устойчивости зеленых водорослей *Scenedesmus quadricauda* к токсическому воздействию меди и ртути //

Вестн. унив. Сер. 12. Биология. 1992. №5. 52 с.

Резюме

Исследовано влияние ртути на водоросли методом биотестирования. Критерием токсичности являлось снижение численности клеток в тестируемой воде по сравнению с контролем.

Summary

The influence of mercury on algae was researched by biotest method. The toxication criterion was a decrease of the cell number in the tested water by comparison with the control.