

УДК 577.472 : 615.9

**МЕТОДИКА ПРОВЕДЕНИЯ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ОПЫТОВ
И НЕКОТОРЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ДЕЙСТВИЯ МЕТАЛЛОВ
НА МОРСКИЕ ОДНОКЛЕТОЧНЫЕ ВОДОРОСЛИ**

В. Н. Ткаченко, С. В. Мортина, Е. В. Луканкина

Мы выясняли влияние на морские одноклеточные водоросли тяжелых металлов Cd и Pb. Опыты проводили в двух вариантах: суточные и длительные (15 суток и более). Объектами служили черноморские диатомовые водоросли *Ditylum brightwellii*, *Coscinodiscus granii* и перидиниевая *Gyrodinium fissum*. Водоросли были получены из коллекции Л. А. Ланской в ИнБЮМ и культивировались в лабораторных условиях на среде Гольдберга. При постановке опытов с диатомовыми водорослями использовали чашки Петри, а с перидиниевыми 50-мл колбы Эрленмейера. Объем опытных растворов во всех случаях составлял 20 мл. Опыты с диатомовыми водорослями ставили в двух повторностях, плотность клеток в среде составляла для *Ditylum br.* 10, для *Coscinodiscus* 5 клеток в 1 мл. Опыты ставили при температуре $20 \pm 2^\circ\text{C}$, интенсивности освещения 10^5 эрг/(см²·с). В качестве токсикантов использовали сернистый кадмий и азотный свинец. Концентрации металла в опытных растворах составляли 1, 10, 100, 1000 мкг/л.

При кратковременном опыте чашки экспонировали под лампами дневного света в течение 12 ч, а затем выдерживали 12 ч в темноте. После этого в опытные растворы добавляли $0,8 \text{ Ки} \cdot \text{C}^{14}$ в виде $\text{NaHC}^{14}\text{O}_3$ и снова экспонировали на свету в течение 5 ч. Затем водоросли отфильтровывали на мембранных фильтрах № 6 и помещали в эксикатор с силикагелем на 24 ч, после чего на установке ДП-100 с торцовым счетчиком СБТ-7 определяли активность фильтров, которую после вычитания собственного фона установки относили к активности фильтров в контрольном опыте. Полученное процентное соотношение рассматривали как меру изменения интенсивности фотосинтеза под действием ионов металлов.

Из рис. 1, на котором приведена зависимость ассимиляции углерода от концентрации металлов в растворах, видно, что свинец и кадмий при низких концентрациях (от 1 до 100 мкг/л) оказывают стимулирующее действие на ассимиляцию углерода. Ингибирование наблюдается при концентрации металлов выше 100 мкг/л. Суточные опыты с лабораторными культурами не дают полного представления о действии металла на водоросли (Строганов, 1971)**, поэтому была постав-

* Ки (кюри) в системе СИ = $3,7 \cdot 10^{10} \text{ с}^{-1}$.

** Строганов Н. Н. Методика определения токсичности водной среды. — В кн.: Методики биологических исследований по водной токсикологии, М., 1971, с. 14—61.

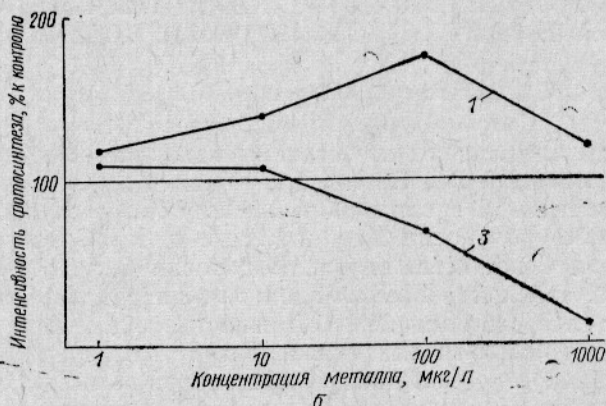
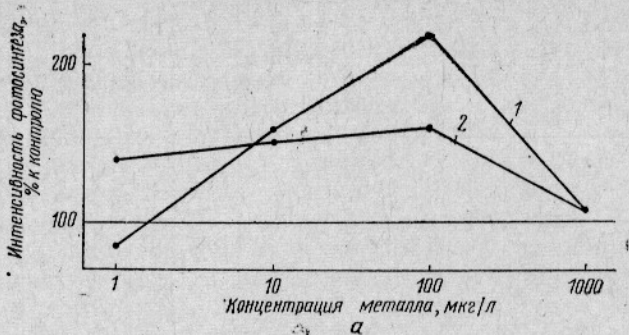


Рис. 1. Действие Pb (а) и Cd (б) на водоросли:
1—*Ditylum br*; 2—*Conscinodiscus* sp.; 3—*Gyrodinium fissum*.

лена серия длительных опытов, причем опыты с перидиниевыми водорослями проводили в конических колбах, а с диатомовыми в специально изготовленных счетных камерах.

При длительном опыте в колбы с опытными растворами объемами 20 мл добавляли кадмий. Опыты ставили в трех повторностях. Плотность культуры *Gyrodinium f.* составляла 300 клеток в 1 мл. Колбы с растворами помещали в люминостат с лампами дневного света. При этом выдерживание культур на свету (10 ч) чередовали с выдерживанием в темноте (14 ч). В связи с тем что к концу недели в контрольных колбах плотность культуры возрастала приблизительно в 4 раза, четвертую часть раствора с клетками из каждой колбы пересевали на новую среду объемом 15 мл с теми же концентрациями металла. Колбы с новыми растворами снова помещали в люминостат на неделю. В оставшихся 15 мл подсчитывали клетки, затем добавляли радиоуглерод и проводили такие же операции, как при суточном опыте. По истечении второй недели весь цикл повторяли. Таким образом, при длительном (четыре недели) воздействии кадмия (рис. 2) концентрация 1000 мкг/л оказывала ингибирующее действие в первую неделю, а к концу третьей недели клетки погибали. При концентрации 100 мкг/л ингибирование наступает по истечении второй недели. Концентрация 10 мкг/л стимулирует рост клеток, однако к концу четвертой недели стимулирующее действие несколько снижается.

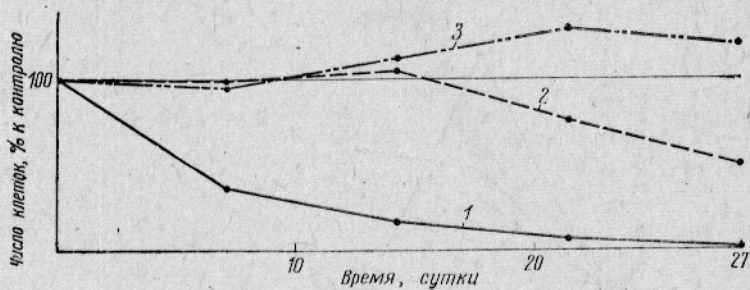


Рис. 2. Влияние Cd на *Gyrodinium fiss.* в длительном опыте при концентрациях металла:
1 — 1000 мкг/л; 2 — 100 мкг/л; 3 — 10 мкг/л.

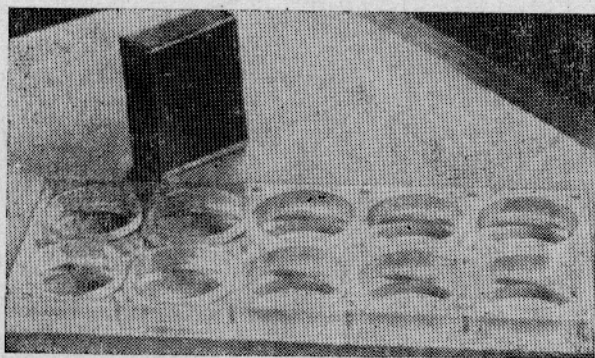


Рис. 3. Общий вид счетной камеры.

При длительных опытах с диатомовыми водорослями были использованы специальные счетные камеры из оргстекла с десятью цилиндрическими ячейками емкостью 3 мл каждая (рис. 3). Для удобства подсчета клеток водорослей при помощи микроскопа МБС-1 на дно каждой цилиндрической ячейки были нанесены параллельные линии. Среду Гольдберга с добавками Pb разливали в параллельные цилиндрические ячейки по 2,5 мл. Две контрольные ячейки заполняли чистой средой. Затем в каждую ячейку помещали по 10 клеток диатомовых водорослей, камеры накрывали стеклом и помещали под лампы дневного света. Выдерживание на свету (12 ч) чередовали с выдерживанием в темноте (12 ч). Через два дня в камерах с культурой *Ditylum br.* и через три-четыре дня в камерах с культурой *Coscinodiscus gr.* клетки подсчитывали и часть их отсаживали в новую камеру с теми же условиями. Из контрольных ячеек пересаживали по 10 клеток, а из остальных пропорционально контрольным. Камеры снова ставили под свет и весь цикл повторяли. Опыты в таких камерах можно продолжать в течение пяти-шести недель и более (рис. 4). Ингибирующее действие Pb при концентрации 100 мкг/л проявлялось для *Ditylum br.* в начале второй недели, для *Coscinodiscus gr.* в конце первой недели. В суточных опытах при этих концентрациях металла наблюдается стимулирование роста клеток аналогичное тому, которое происходит в счетных камерах в первые дни опыта. Концентрации Pb 1 и 10 мкг/л для

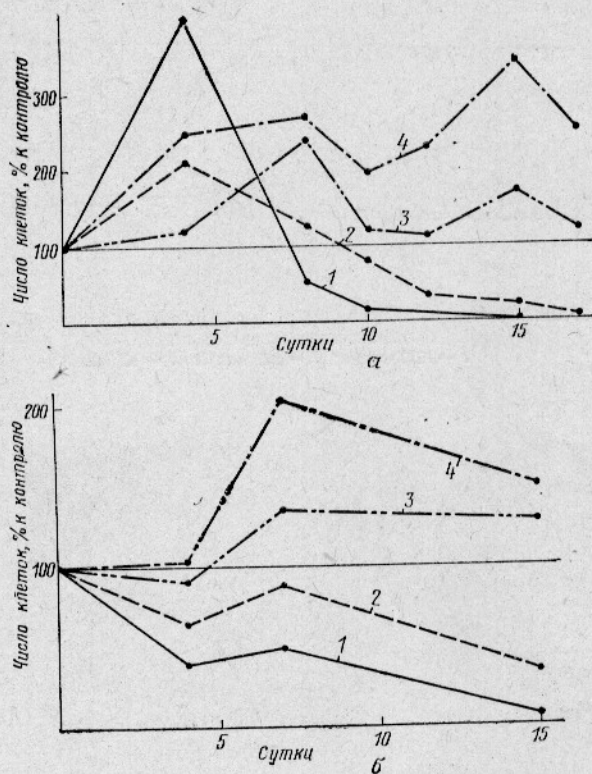


Рис. 4. Влияние Pb на *Ditylum br.* (а) и *Coscinodinus sp.* (б) в длительном опыте при концентрациях металла:
 1 — 1000 мкг/л; 2 — 100 мкг/л; 3 — 10 мкг/л; 4 — 1 мкг/л.

диатомовых явились стимулирующими. Стимулирующее действие низких концентраций Pb и Cd, которые, как известно, не являются биологически активными элементами, по всей вероятности, можно объяснить либо изменением взаимоотношений в симбиозе фитопланктон—бактериопланктон, либо каталитическим действием низких концентраций металлов на биохимические процессы в клетках.

Выводы

1. Ингибирующее действие Pb и Cd на некоторые виды морских водорослей начинается с концентраций 100 мкг/л, более низкие концентрации оказывают стимулирующее действие.

2. Наиболее чувствительны к действию низких концентраций металлов перидиниевые водоросли.

3. Длительные опыты дают более полную картину воздействия металлов на морские водоросли; суточные опыты целесообразны для выяснения действия больших концентраций токсикантов.

SUMMARY

A series of short-term (diurnal) and long-term experiments have been carried out to reveal an influence of lead and cadmium on selective species of marine phytoplankton. Long-term experiments (20 days or longer) have yielded a more comprehensive pattern of the influence of heavy metals on algae. The latter is assessed by the radio-carbon method and by counting cells in special counting chambers. It has been ascertained that the concentrations of metals higher than 100 $\mu\text{g/l}$ make an inhibiting effect on algae, whereas the concentrations ranging from 1 to 10 $\mu\text{g/l}$ stimulate their growth rate and development of cells.