

**ВЛИЯНИЕ ХЛОРОРГАНИЧЕСКИХ
ПЕСТИЦИДОВ НА ДИНАМИКУ
ЧИСЛЕННОСТИ, РАЗМЕРОВ
КЛЕТОК И АДЕНИЛАТНЫЙ
ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ЗАРЯД
МИКРОВОДОРОСЛЕЙ
В КУЛЬТУРАХ**

**А.А. Сысов, И.В. Сысова,
В.А. Безымянный**

Институт биологии южных морей
НАН Украины
г. Севастополь, пр. Нахимова, 2
E-mail: alexsysoev@yandex.ru

*В статье рассматриваются особенности динамики численности и размеров клеток, а также аденилатного энергетического заряда в культурах морских планктонных водорослей: *Peridinium trochoideum*, *Prorocentrum micans*, *Prorocentrum pusillum* и *Platymonas viridis*, в зависимости от содержания хлороорганических пестицидов. Приводится анализ изменений означенных параметров в аспекте физиологических нарушений и энергетических трат на адаптивные процессы.*

Введение. Негативное влияние факторов среды отражается, в первую очередь, на репродуктивной активности организмов, что, как правило, приводит к снижению численности и биомассы микроорганизмов в исследуемых водах. Степень этого влияния по-разному проявляется на организмах различных таксономических групп, обладающих различными адаптационными способностями. Адаптационные биохимические процессы, сопровождающие адаптационные реакции организмов, непосредственно связаны с использованием внутриклеточной энергетической системы, главным образом, с пулом адениновых нуклеотидов [1]. Достаточно надежную оценку физиологического состояния одноклеточных организмов можно получить, используя определение внутриклеточного аденилатного энергетического заряда Аткинсона [2]. Используя анализы содержания АТФ, АДФ и АМФ можно рассчитать аденилатный энерге-

тический заряд (АЭЗ) по модели Аткинсона [3]:

$$АЭЗ = (АТФ + 1/2АДФ)/(АТФ + АДФ + АМФ).$$

В результате многочисленных исследований, после анализа исчерпывающего количества данных, применительно к микропланктону, были обозначены следующие критерии значений АЭЗ, включающие функциональные характеристики сообщества [4]:

- клетки в фазе активного роста: АЭЗ = 0,75 – 0,95; физиологический гомеостаз, все физиологические процессы, включая деление клеток, ничем не ограничены;

- клетки в постоянной фазе: АЭЗ = 0,55 — 0,65; умеренный физиологический стресс, некоторые энзиматические реакции блокированы, деление клеток приостановлено [5].

- дряхлые клетки или «бездействующие»: АЭЗ < 0,5; сильный физиологический стресс, большинство энзиматических реакций блокировано, в некоторых случаях энергии недостаточно для обеспечения жизнедеятельности [6].

Одними из наиболее распространенных загрязнителей водной среды признаны хлороорганические пестициды (ХОП). При этом их негативное влияние на репродуктивную активность и физиологическое состояние основных первичных продуцентов морской пелагиали – фитопланктонного сообщества изучено недостаточно. Наш выбор по изучению динамики численности, размеров клеток и АЭЗ обусловлен целью составить представления об изменениях репродуктивной активности и физиологического состояния планктонных водорослей при воздействии различных концентраций ХОП, на примере культур: *Peridinium trochoideum*, *Prorocentrum micans*, *Prorocentrum pusillum* (класс *Dinophyceae*) и *Platymonas viridis* (класс *Chlorophyceae*).

Условия эксперимента. Означенные культуры водорослей были выставлены на 6-дневную экспозицию при естественном освещении в трех вариантах:

Контроль: стерилизованная морская вода, плюс – питательная среда F/2.

Вариант А: то же, что в контроле, плюс стандарт ХОП-5 с конечной концентрацией 0,025 мкг/мл.

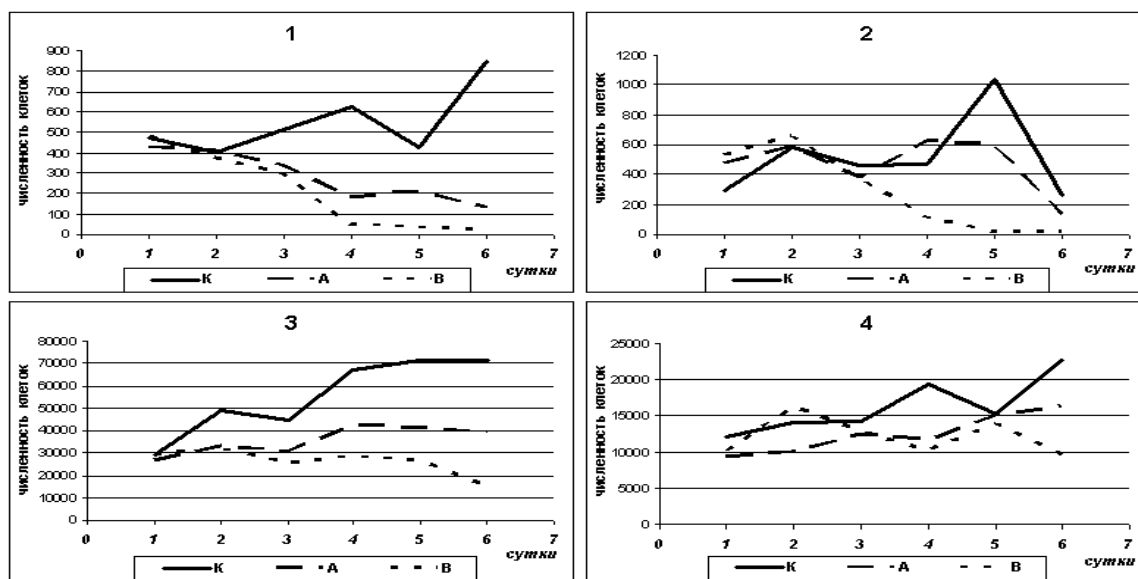
Вариант В: то же, что в контроле, плюс стандарт ХОП-5 с конечной концентрацией 0,150 мкг/мл.

Экспозицию проводили в конических колбах, при естественном освещении. Объем образцов составлял 250 мл. Из каждой экспонируемой емкости ежедневно отбирали пробы на анализ численности и размеров клеток, а также на содержание внутриклеточных адениновых нуклеотидов. Отобранные объемы проб компенсировали добавлением таких же растворов, соответственно вариантам содержания.

Анализы численности и размеров клеток проводили на проточном цитофлуориметре Cytomics FC 500, анализы содержания внутриклеточных адениновых нуклеотидов – по стандартной хемилюминесцентной методике на приборе ATP Luminometer – 1250.

Основные результаты. Динамика численности клеток. В процессе экспозиции культур в означенных вариантах среды произошли следующие изменения.

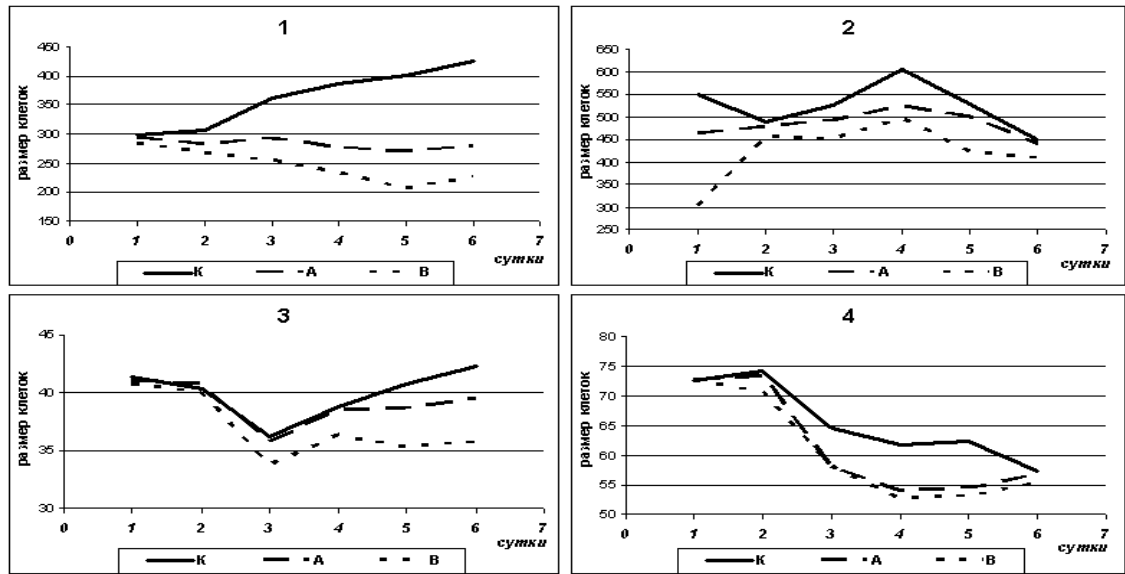
У крупных видов *Peridinium trochoideum* и *Prorocentrum micans* отмечена большая зависимость репродуктивной активности от содержания ХОП: в то время, как в контроле численность клеток, практически, удвоилась, в варианте А заметно снизилась, а в варианте В к концу экспозиции была близка к единичным значениям (рис. 1). У мелкого вида *Prorocentrum pusillum* влияние ХОП на численность клеток было более умеренным, чем у крупных, а у мелкой зеленой водоросли *Platymonas viridis* влияние ХОП на снижение численности отразилось только в варианте В, в умеренной степени.



Р и с. 1. Динамика численности клеток (кл./мл) в культурах *Peridinium trochoideum* (1), *Prorocentrum micans* (2), *Prorocentrum pusillum* (3), *Platymonas viridis* (4) под воздействием хлороорганических пестицидов: К – контроль; А – вариант А; В – вариант В

Средние размеры клеток. У крупных видов влияние ХОП обозначилось в укрупнении клеток, соответственно концентрациям поллютантов, в то время как в контроле наблюдалось постепенное снижение средних размеров клеток, вероятно связанное с усиленным клеточным делением (рис. 2). В культурах мелких форм водорослей влияние ХОП на размеры клеток было незначительным, прослеживалось постепенное снижение средних размеров. Клетки крупных мик-

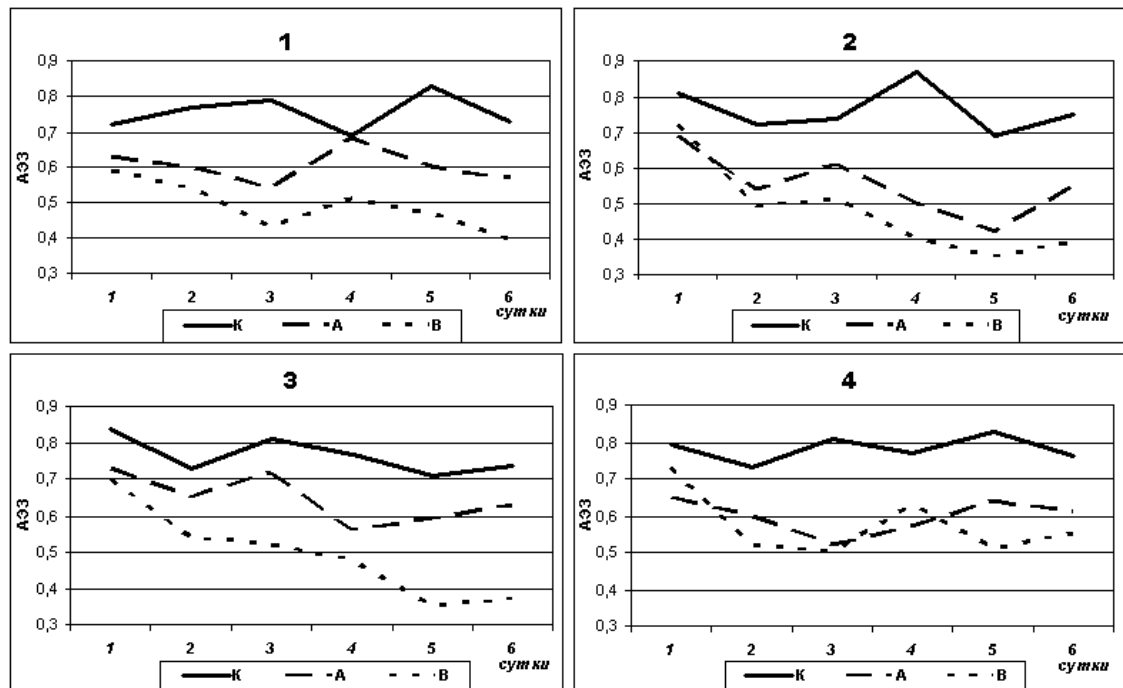
роводорослей имеют значительную объемную составляющую органелл – пищеварительные вакуоли, которые пополняются питательными веществами в более или менее стабильном режиме. В случаях снижения репродуктивной активности, размеры клеток способны к значительному увеличению объемов за счет накопления питательных веществ. Этим, вероятно, обусловлено увеличение средних размеров клеток у динофитовых водорослей.



Р и с. 2. Динамика размеров клеток (усл. ед.) в культурах *Peridinium trochoideum* (1), *Prorocentrum micans* (2), *Prorocentrum pusillum* (3), *Platymonas viridis* (4) под воздействием хлороорганических пестицидов: К – контроль; А – вариант А; В – вариант В

Динамика аденилатного энергетического заряда. Согласно данным по АЭЗ, наиболее ощутимое негативное воздействие на физиологическое состояние клеток ХОП оказали на крупные виды исследуемых культур, соответственно вариантам среды (рис. 3). При этом, если в варианте А, соответствующая концен-

трация ХОП привела к относительно стабильной неактивной фазе физиологического состояния клеток, то в варианте В происходило снижение АЭЗ до значений сублетального состояния, что отразилось на катастрофическом снижении численности клеток (рис. 1(1), 1(2), варианты В).



Р и с. 3. Динамика аденилатного энергетического заряда в культурах *Peridinium trochoideum* (1), *Prorocentrum micans* (2), *Prorocentrum pusillum* (3), *Platymonas viridis* (4) под воздействием хлороорганических пестицидов: К – контроль; А – вариант А; В – вариант В

В гораздо меньшей степени это влияние проявилось в культуре мелкой динофитовой водоросли *Prorocentrum pusillum* и в незначительной мере – в культуре мелкой зеленой водоросли *Platymonas viridis*. Мелкая динофлагеллята *Prorocentrum pusillum* также в значительной мере снизила физиологический статус в варианте В, в то время как мелкая зеленая *Platymonas viridis*, снизившая АЭЗ до фазы устойчивого физиологического состояния в первые сутки эксперимента, находилась в этой фазе до окончания эксперимента в обоих вариантах содержания. При сравнении динамики других параметров, задействованных в эксперименте, в этой культуре обнаруживается механизм адаптации к токсиканту, отличный от динофитовых водорослей: относительно высокий аденилатный заряд клеткам удается поддерживать в ущерб своим размерам (рис. 2, 3). В этом случае клетки в аспекте энергетических трат получают, по крайней мере, две выигрышные позиции: улучшение обмена со средой за счет увеличения удельной поверхности, что дает им преимущество в потреблении биогенов, активизации метаболических процессов, с одной стороны и уменьшение внутриклеточных энергетических трат, с другой. В этом механизме проявляется стратегия активной адаптации организмов к негативным факторам среды [1].

Заключение. Таким образом, в результате поставленного эксперимента обозначились следующие особенности влияния ХОП на динамику численности и размеров клеток и физиологическое состояние в культурах различных морских планктонных водорослей.

Негативное влияние ХОП на культуры водорослей проявлялось в соответствии с их содержанием в среде.

Наибольшему влиянию ХОП подверглись культуры крупных видов динофлагеллят, меньшему – культуры мелких видов.

Наибольшую устойчивость к влиянию ХОП проявила культура мелкой зеленой водоросли *Platymonas viridis*.

Несмотря на значительные различия в динамике численности и размеров кле-

ток у различных культур динофитовых, прослеживается тенденция увеличения размеров клеток при негативном влиянии ХОП, вероятно, связанная со снижением деления клеток и накоплением органического вещества. В то же время, в культуре мелкой зеленой водоросли *Platymonas viridis* наблюдался обратный эффект – уменьшение размеров клеток, что давало преимущество в активной стратегии адаптации к негативному фактору среды.

Динамика аденилатного энергетического заряда во всех приведенных случаях показала зависимость степени физиологического угнетения от содержания ХОП в среде.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Хочачка П., Сомеро Дж.* Стратегия биохимических адаптаций. – М.: Мир. – 1977. – 398 с.
2. *Atkinson D.E.* Adenine nucleotides as universal stoichiometric metabolic coupling agents // *Advances in enzyme regulations*, edited by G. Weber Academic Press – 1971. – New York. – P. 207 – 219.
3. *Chapman A.G., Fall L., Atkinson D.E.* Adenylate energy charge in *Escherichia coli* during growth and starvation // *J. Bacteriol.* – 1971. – 108. – N 3. – P. 1072 – 1086.
4. *Poulicek M., Danckers V.* ATP and adenylic energy charge (ECA) in microbial aquatic ecology // *Ecologie bacterienne des milieux aquatiques.*, Institut oceanographeque, Paris (France). – Oceanis. – Serie de documents oceanographiques. – Paris. – 1995. – vol 21. – No 1. – P. 191–223.
5. *Swedes J.S., Sedo R.J., Atkinson D.E.* Relation of growth and protein synthesis to the adenylate energy charge in an adenine-requiring mutant of *Echerichia coli* // *J. Biol. Chem.* – 1975. – 250. – P. 6930 – 6938.
6. *Livingstone D.R.* General biochemical indices of sublethal stress // *Mar. Pol. Bull.* – 1982. – 13. – No 8. – P. 261–263.