

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ

УДК 581.1; 582.232; 628.394

О НЕКОТОРЫХ ОСОБЕННОСТЯХ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ ГЕТЕРОГЕННОСТИ ПОПУЛЯЦИИ *SCENEDESMUS QUADRICAUDA* (TURP.) BREB. В ПРИСУТСТВИИ НИЗКИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ МЕТАЛЛОВ

В.И. Ипатова¹,
А.Г. Дмитриева¹,
О.Ф. Филенко¹,
Т.В. Дрозденко²

¹Московский государственный
университет им. М.В. Ломоносова,
119991, г. Москва, Российская
Федерация

²ФГБОУ ВО Псковский
государственный университет,
180000, г. Псков, Российская
Федерация

Исследовали структуру лабораторной популяции зеленой микроводоросли *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb. (= *Desmodesmus communis* (E. Hegew.) E. Hegew.) на разных этапах ее развития (лаг-фазе, фазе логарифмического роста и стационарной фазе) при низких концентрациях хлорида меди и нитрата серебра методом микрокультур, позволяющего контролировать состояние и развитие одиночных клеток, имеющих разный физиологический статус. Ответная реакция культуры *S. quadricauda* – изменение численности клеток и фракционного состава (доля делящихся, покоящихся и отмирающих клеток) зависели не только от концентрации токсиканта в среде, но и от физиологического состояния культуры: уровня синхронизации и фазы роста. Ионы серебра в низких концентрациях оказали на культуру более выраженное токсическое действие, чем ионы меди на разных фазах ее развития, особенно при концентрации 0,001 мг/л (10^{-9} М). Основным механизмом токсического действия солей металлов заключается в торможении процесса деления клеток. При низких концентрациях токсикантов, особенно при концентрации 0,001 мг/л, выявлен «парадоксальный» эффект, выразившийся в преобладании фракции покоящихся клеток. Временное торможение процесса деления клеток можно рассматривать в качестве защитного механизма, позволяющего сохранить целостность популяции и ее способность к длительному существованию в изменяющихся условиях среды. Полученные данные объясняют эффект действия низких концентраций веществ за счет их включения в клетку, последующего накопления и низкого их выведения.

Ключевые слова: *Scenedesmus quadricauda*, нитрат серебра, хлорид меди, низкие концентрации, гетерогенность популяции.

Введение. В последнее время значительное внимание уделяется воздействию различных факторов внешней среды низкой интенсивности – магнитного поля ниже уровня земного поля [1]; слабого магнитного [2] и электромагнитного из-

лучения [3]; светового воздействия [4]; субпорогового постоянного и переменного токов; психотерапевтического воздействия [5]; малых доз биологически активных веществ [6]; низких концентраций различных химических веществ. Во

Ипатова Валентина Ивановна (Ipatova Valentina Ivanovna), к.б.н., доцент, старший научный сотрудник кафедры гидробиологии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, г. Москва, viipatova@hotmail.com

Дмитриева Аида Георгиевна (Dmitrieva Aida Georgievna), к.б.н., старший научный сотрудник, ведущий научный сотрудник кафедры гидробиологии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, г. Москва, aigdai@mail.ru

Филенко Олег Федорович (Filenko Oleg Fedorovich), д.б.н., профессор кафедры гидробиологии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, г. Москва, ofilenko@mail.ru

Дрозденко Татьяна Викторовна (Drozdenko Tatiana Viktorovna), к.б.н., доцент кафедры ботаники и экологии растений факультета естественных наук, медицинского и психологического образования ФГБОУ ВО Псковский государственный университет, г. Псков, boichuk@mail.ru

многих случаях воздействия различных факторов при низких интенсивностях оказываются выше, чем при высоких. Токсический эффект низких концентраций обнаружен для многих веществ: металлов, антибиотиков, пестицидов, ионизирующей радиации и других факторов. Механизмы их взаимодействий с живым организмом зависят от скорости включения веществ в клетку и скорости выведения их из клетки, а также от эффективности формирования защитных механизмов.

В лаборатории водной токсикологии (кафедра гидробиологии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова) такая неспецифическая реакция была выявлена для солей хрома, меди, серебра. Причем токсичность этих соединений при концентрации 0,001 мг/л по ряду показателей для микроводорослей и макрофитов была сопоставима с токсичностью концентраций, больших на 2-3 порядка [7, 8, 9].

Альгологически чистые культуры микроводорослей широко используются в мировой практике как тест-объекты для оценки качества природных и сточных вод, а также для установления токсичности различных веществ, попадающих со стоками в водоемы. Такие культуры характеризуются определенной неоднородностью, поскольку клетки, ее образующие, различаются размерностью, возрастом, скоростями роста и ответными реакциями на изменение среды обитания. Физиологическая гетерогенность популяции проявляется в процессе филогенеза, когда формируются специфические и неспецифические механизмы приспособления ее к меняющимся условиям среды.

Токсичность различных веществ для микроводорослей вследствие включения их в метаболические процессы лучше всего выявляется при проведении длительных экспериментов. В результате может происходить превращение и обезвреживание токсиканта или же его накопление с проявлением токсического эффекта. Многие металлы при низких концентрациях оказывают стимулирующее действие. Однако при длительном воздействии может наблюдаться привыкание к ним с одной стороны, а с другой, вследствие накопления металла клетками и слабого его выведения, токсический эффект может усиливаться.

Процессы активного поглощения различных элементов, в том числе и токсичных, имеют определенные пределы и зависят как от содержания элементов в окружающей среде, так и от метаболической активности самого организма.

Интегральным показателем характеристики популяции микроводорослей является ее численность. Однако для более полной оценки состояния популяции необходимо включать параметры гетерогенности, поскольку клетки, образующие популяцию, различаются по воз-

расту, размерам, скоростям роста и реакциями на изменения условий существования. Важным показателем физиологической гетерогенности популяции является ее структура, поскольку популяция состоит из клеток, имеющих разный физиологический статус.

Целью данной работы является детальное рассмотрение структуры популяции микроводоросли *Scenedesmus quadricauda* при низких концентрациях солей меди и серебра.

Материалы и методы исследований. Объектом исследования была альгологически чистая культура пресноводной хлорококковой водоросли *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Vreb. (= *Desmodesmus communis* (E. Hegew.) E. Hegew.) Для экспериментов использовали нормально развивающуюся культуру, частично синхронизированную чередованием «дня» и «ночи», с исходной численностью 100 – 200 тыс. кл/мл. Культивирование водорослей проводили на среде Успенского № 1 в люминостате с интенсивностью света 3 клюкс (при 12 час чередовании света и темноты) и температурой 20–24 °С.

Испытывали хлорид меди в малых концентрациях 0,0001 мг/л; 0,001 мг/л; и более высоких 0,01 мг/л; 0,1 и 1 мг/л в пересчете на медь. Токсикант добавляли непосредственно в культуру на разных этапах ее выращивания: в период лаг-фазы (0 сут), экспоненциальной фазы (14-15 сут) и на стационарной фазе (29 сут). Длительность опытов – до 31 сут. В качестве другого токсиканта использовали серебро Ag^+ в форме раствора соли $AgNO_3$. Влияние нитрата серебра в диапазоне концентраций от 0,0001 до 0,1 мг/л изучали на однократно- и дважды синхронизированных культурах, находившихся на фазах логарифмического и стационарного роста. Испытания проводили в трех повторностях для каждой концентрации и контроля. Синхронизацию культуры осуществляли путем помещения ее в темноту на 3 сут и последующего пересева в чистую среду.

Численность клеток определяли с помощью светового микроскопа в камере Горяева. Методом люминесцентной микроскопии оценивали соотношение живых и мертвых клеток. Оценку гетерогенности популяции проводили методом микрокультур, позволяющего контролировать состояние и развитие одиночных клеток (с расчетом удельных рождаемости и смертности клеток) и адекватно отражающим процессы, протекающие в макрокультуре [10]. Микрокультуры – отдельные клетки, взятые из макрокультуры на определенный срок ее развития, и помещенные в миниатюрные камеры для их роста. Макрокультура – популяция клеток, в которую вносили токсикант в соответствующие сроки.

Удельную рождаемость (Р) и смертность (С) клеток рассчитывали по формулам:

P (кл/сут) = $N_{\text{род}}/N_{\text{исх}} \cdot \Delta t$, где $N_{\text{род}}$ – число клеток, появившихся в микрокультуре за время Δt ; $N_{\text{исх}}$ – исходное число клеток; Δt – время наблюдения (3 сут);

C (кл/сут) = $N_{\text{отм}}/N_{\text{исх}} \cdot \Delta t$, где $N_{\text{отм}}$ – общее число клеток, отмерших за время Δt . Статистическую обработку полученных результатов производили в программе Excel с использованием пакета анализа данных.

Результаты и обсуждение. Исследование структуры популяции *S. quadricauda* проводили на разных этапах ее развития - на лаг-фазе, фазе логарифмического роста и стационарной фазе при однократном внесении хлорида меди в низких концентрациях 0,001 и 0,0001 мг Cu/л (10^{-9} и 10^{-10} М) и более высоких 0,01; 0,1 и 1 мг/л.

Относительная численность клеток в макрокультуре к концу эксперимента на 30 сутки после внесения хлорида меди на лаг-фазе в концентрации 0,0001 мг Cu/л была ниже контроля примерно на 18 %, а при 0,001 мг Cu/л – на 45 %. В контроле на 1-4 сутки и на 25-28 сут преобладала фракция покоящихся клеток (рис. 1). В период 22-31 сут фракция покоящихся клеток составляла при концентрации 0,0001 мг Cu/л 60 %, а при 0,01 мг Cu/л – 88 %. Однако к концу эксперимента в обоих вариантах возрастала доля делящихся клеток: до 10 % при 0,001 и до 25 % при 0,0001 мг Cu/л, но общая численность клеток была ниже уровня контроля.

Относительная численность клеток *S. quadricauda* также была ниже уровня контроля при внесении меди в этих же концентрациях на фазе логарифмического роста культуры. На 14-17 сут в структуре популяции макрокультуры преобладала фракция покоящихся клеток, особенно при концентрации 0,0001 мг Cu/л (рис. 2). На 28-31 сут структурный состав изменился: если при концентрации 0,0001 мг Cu/л увеличилась доля делящихся клеток и доля отмерших клеток, то при 0,001 мг Cu/л увеличивалась доля покоящихся клеток до 80 % (по данным метода микрокультуры). Следует отметить, что снижение численности клеток при концентрации 0,0001 мг Cu/л было сопоставимо с таковым при концентрации 0,1 мг Cu/л [11], что свидетельствует о наличии токсического эффекта.

С одной стороны, увеличение доли делящихся клеток к концу эксперимента после внесения хлорида меди в концентрациях 0,0001 и 0,001 мг Cu/л, как на лаг-, так и на лог-фазах свидетельствует об активации компенсаторных механизмов у *S. quadricauda*, способствующих постепенному восстановлению численности популяции за счет формирующихся устойчивых к меди клеток. С другой стороны, известно, что в любой популяции имеется пул исходно резистентных клеток, которые также обеспечивают сохранность популяции. Таким образом, при токсической на-

грузке любая популяция способна противостоять негативному воздействию, мобилизуя различные адаптационные механизмы.

На стационарной фазе роста численность клеток была высокой, а доля размножившихся клеток (по данным метода микрокультуры) – низкой. Поэтому общая численность клеток изменялась мало. В контроле как в начале, так и в конце развития культуры преобладала фракция покоящихся клеток, а некоторый прирост общей численности происходил за счет увеличения удельной рождаемости, когда немногочисленные размножающиеся клетки давали большее число новых клеток.

При концентрации 0,001 мг Cu/л численность клеток в макрокультуре была близкой к таковой в контроле и даже наблюдалась некоторая стимуляция ее роста за счет увеличения удельной рождаемости (0,22-0,33 кл/сут). Удельная смертность клеток также была выше, чем в контроле (0,11-0,17 кл/сут), но увеличение удельной смертности было менее значимо, чем увеличение удельной рождаемости. Это и послужило причиной некоторого прироста численности клеток – на увеличение смертности популяция отреагировала повышением рождаемости. А при концентрации 0,0001 мг Cu/л доля размножившихся клеток была ниже, чем в контроле, и, соответственно, ниже была удельная рождаемость (0,03 кл/сут). Большая часть клеток находилась в покоящемся состоянии. Поэтому общая численность клеток в макрокультуре была ниже, чем в контроле. Таким образом, при концентрации 0,0001 мг Cu/л проявился больший токсический эффект, чем при концентрации 0,001 мг Cu/л. Увеличение же числа размножившихся клеток в присутствии 0,001 мг Cu/л также можно рассматривать в качестве ответной реакции на токсикант. Это можно объяснить тем, что при токсическом воздействии клетки *S. quadricauda* могут делиться, не достигая оптимальных размеров, т.е. делятся «молодые» мелкие клетки. Подобный эффект описан В.Ю. Прохоцкой с соавт. [12,13], а именно: делились «мелкие» клетки при воздействии сульфата имазалила и бихромата калия, что можно рассматривать в качестве компенсаторного механизма популяции микроводорослей на токсическое воздействие.

В контроле, как в начале, так и в конце развития макрокультуры, преобладала фракция покоящихся клеток, а некоторый прирост общей численности происходил за счет увеличения удельной рождаемости, когда немногочисленные размножающиеся клетки давали большее число новых клеток. В целом проявление токсичности меди в концентрациях 0,001 и 0,0001 мг Cu/л при внесении ее на стационарной фазе роста было более слабым по сравнению с опытами, когда медь

вносили на лаг- и лог-фазах роста. Такая реакция на внесение меди может быть связана с тем, что «молодые» клетки (лаг- и лог-фазы роста) более чувствительны к действию токсиканта. Кроме того, общая численность клеток при внесении меди на лаг- и лог-фазах была существенно ниже (20 и 70 тыс кл/мл), чем на стационарной фазе роста культуры (650 тыс кл/мл), поскольку на каждую клетку меди приходилось в 4-5 раз меньше, чем на лаг- и лог-фазах.

Ранее было показано [7], что при концентрации 0,001 мг Cu/л максимум накопления меди клетками *S. quadricauda* приходился на 15 сут, а затем наблюдалось ее медленное выведение из клеток.

Оказалось, что на 30 сут содержание меди в клетках при концентрации 0,001 было выше, чем при концентрациях 0,01 и 0,1 мг Cu/л.

Влияние нитрата серебра в концентрациях 0,0001 и 0,001 мг Ag/л было исследовано при внесении в однократно синхронизированную культуру на стационарной и лог-фазах роста и в дважды синхронизированную на лог-фазе роста.

Однократно синхронизированная культура на стационарной фазе роста содержала 66 % живых клеток, тогда как на лог-фазе – более 90%. При концентрациях 0,0001 и 0,001 мг Ag/л численность клеток на стационарной фазе роста была выше уровня контроля, а на лог-фазе к концу

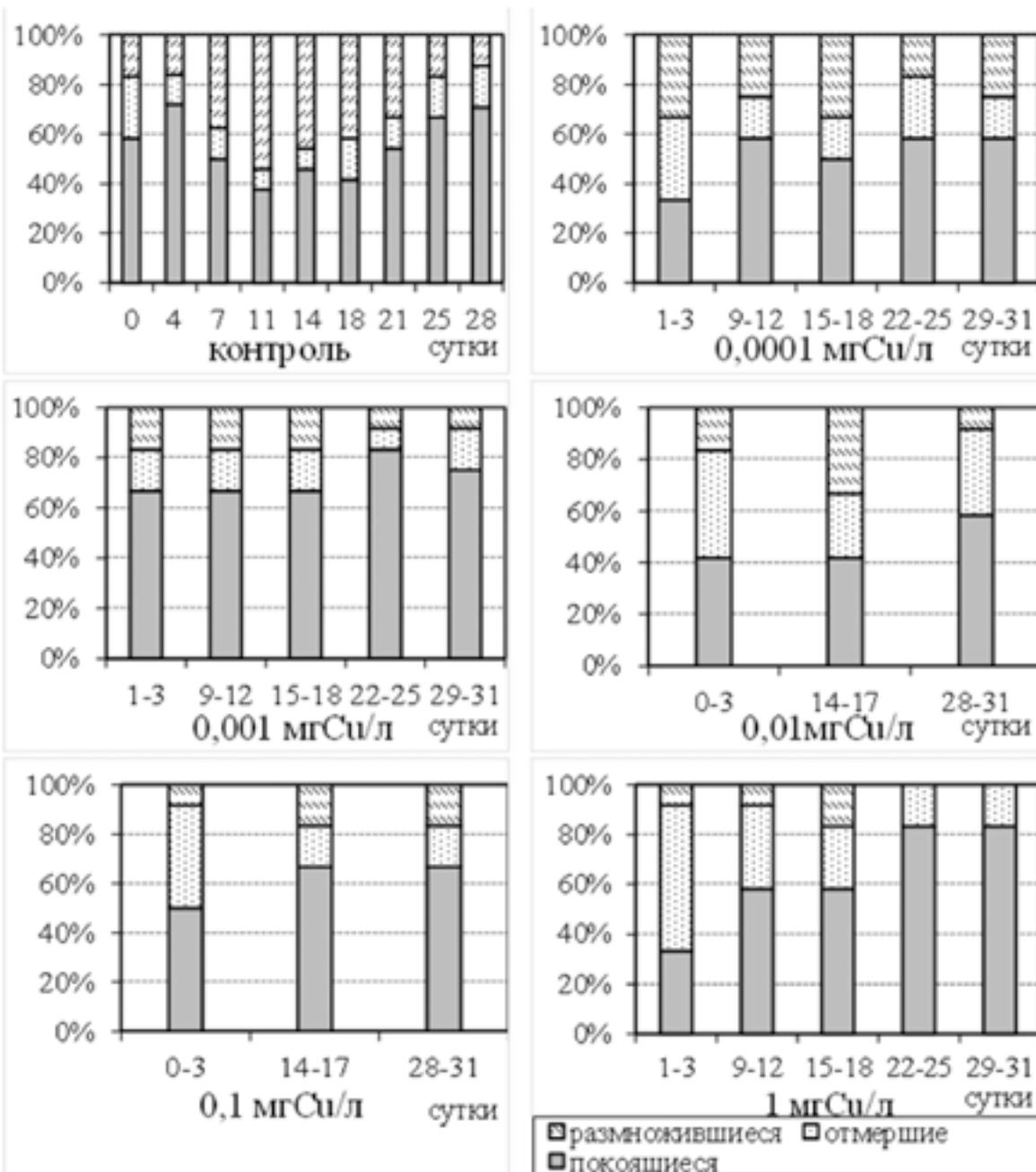


Рис. 1. Динамика изменения фракционного состава культуры *Scenedesmus quadricauda* после внесения хлорида меди на лаг-фазе, определявшаяся методом микрокультур

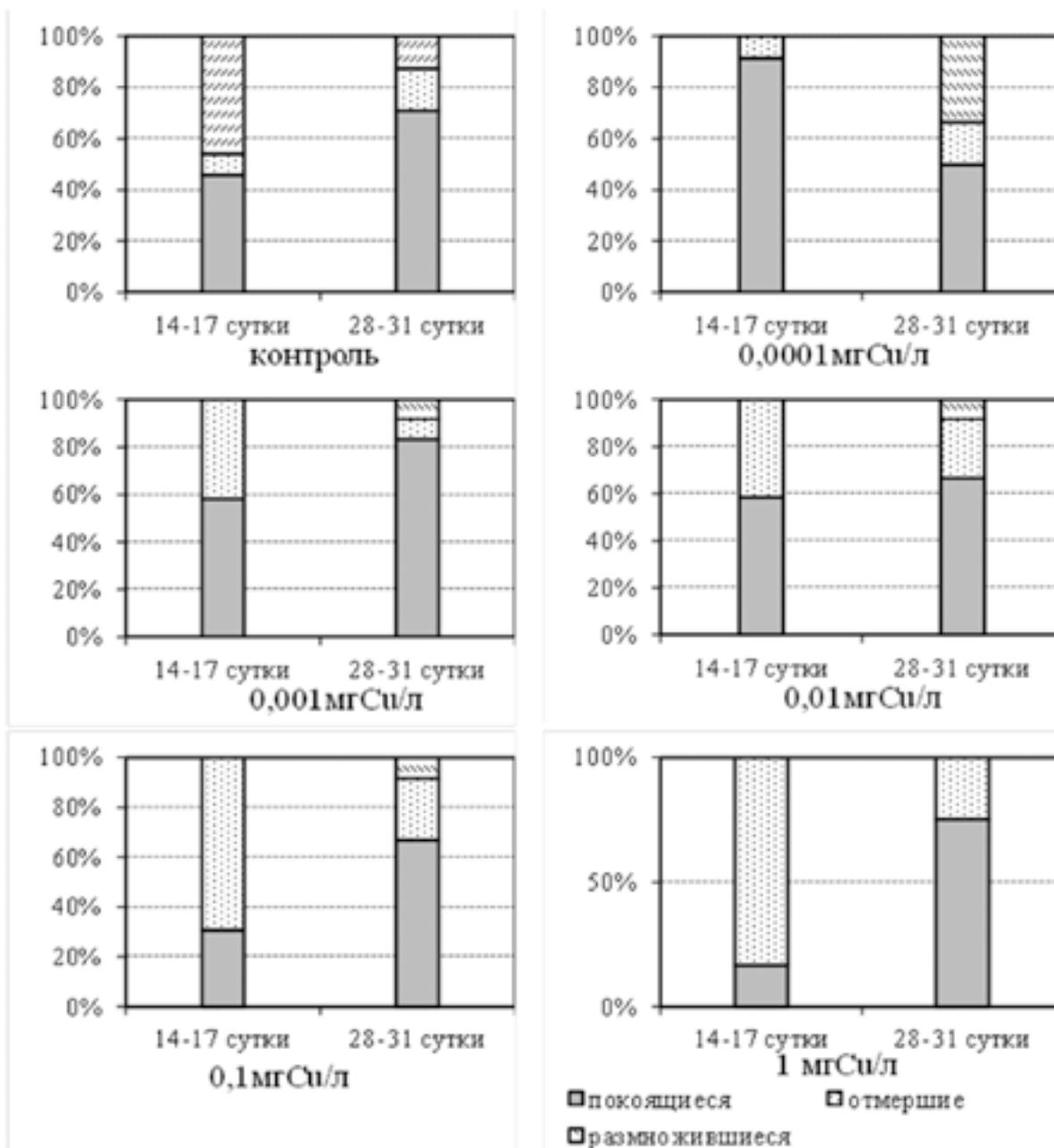


Рис. 2. Динамика изменения фракционного состава культуры *Scenedesmus quadricauda* после внесения хлорида меди на экспоненциальной фазе роста

эксперимента достоверно снижалась, особенно при концентрации 0,001 мг Ag/l (на 50 %). В дважды синхронизированной культуре, состоявшей исключительно из молодых делящихся клеток на лог-фазе роста, в присутствии 0,0001 и 0,001 мг Ag/l изменение численности клеток проходило в том же режиме, что и у однократно синхронизированной культуры, взятой в эксперимент на стационарной фазе роста. Среднее время одного клеточного деления в однократно синхронизированной культуре на стационарной фазе роста в контроле и при концентрациях 0,0001 и 0,001 мг Ag/l составляло 5,2-5,5 сут, а при этих же концентрациях в дважды синхрони-

зированной культуре на логарифмической фазе роста одно клеточное деление в среднем происходило за 5,6 и 5,8 сут, соответственно, т.е. темп деления клеток был более замедленным.

Структурный состав однократно синхронизированной культуры на стационарной фазе роста, определенный методом микрокультур, характеризовался преобладанием фракции покоящихся клеток как в контроле, так и при концентрации 0,0001 мг Ag/l (рис. 3). Однако в период 14-17 сут в присутствии 0,0001 мг Ag/l возрастало число размножившихся клеток (до 50%). При этом удельная рождаемость была в 2 раза выше, чем в контроле, и составляла 0,33 кл/сут (табл. 1). При concentra-

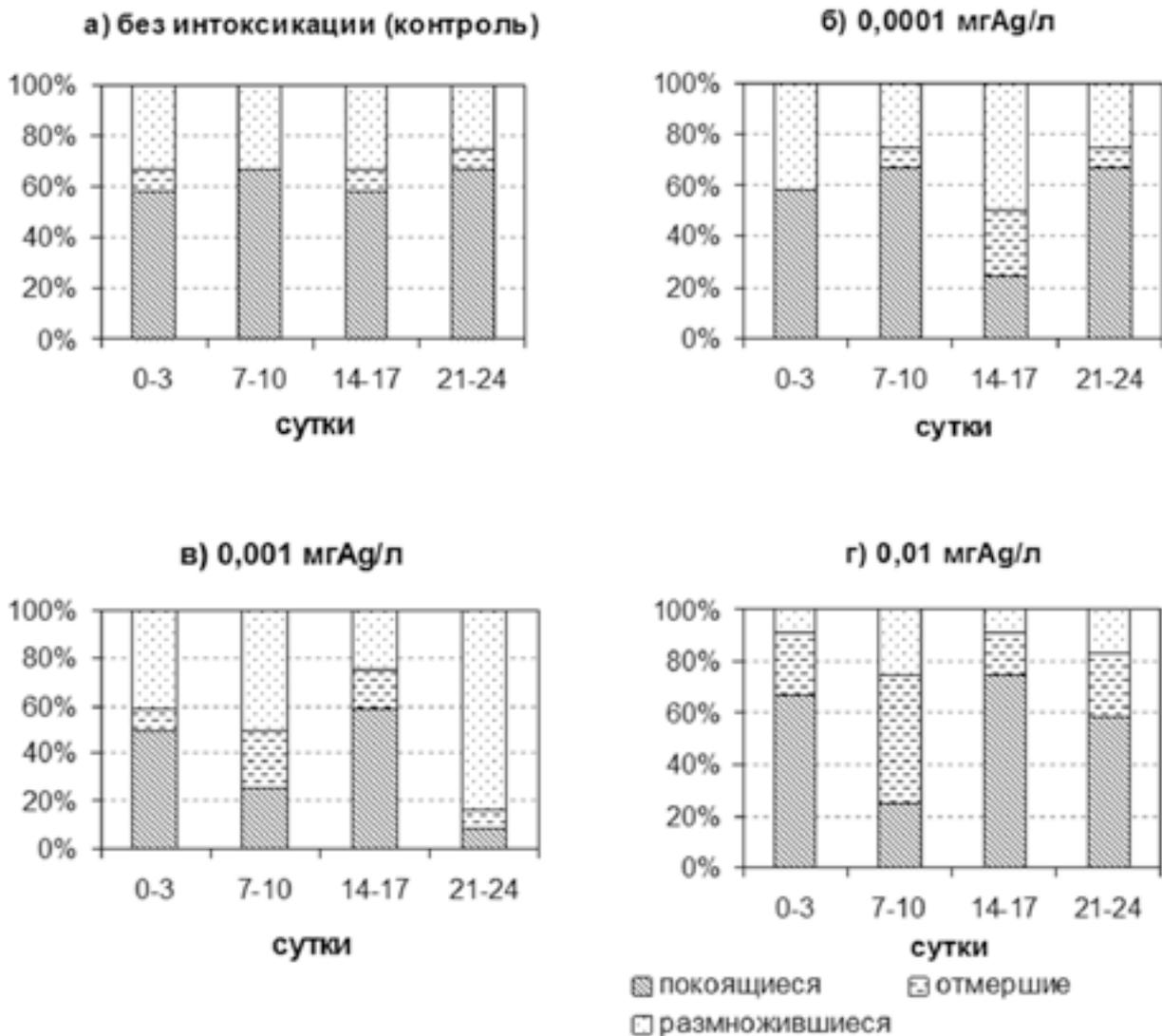


Рис. 3. Динамика изменения фракционного состава культуры *Scenedesmus quadricauda* после внесения нитрата серебра на стационарной фазе роста

ции 0,001 мг Ag/л на 21 сут преобладала фракция размножившихся клеток (до 83 %).

Увеличение числа размножившихся клеток при концентрации 0,001 мг Ag/л может быть ответной реакцией на наличие токсиканта в среде, поскольку удельная смертность была выше, чем в контроле, почти в 10 раз, а при 0,0001 мг Ag/л – в 2 раза.

Фракционный состав дважды синхронизированной культуры, взятой в опыт на логарифмической фазе роста, был иным (рис. 4). В контроле и при концентрации 0,0001 мг Ag/л преобладала фракция размножившихся клеток в период 21-31 суток, а при концентрации 0,001 мг Ag/л - с 14 по 24 сутки, однако к концу опыта 0,001 мг Ag/л культура состояла практически из покоящихся клеток (96%), т.е. произошло торможение деления клеток и их переход в покоящееся состояние. При этом удельная рождаемость в контроле и при концентрации нитрата серебра 0,0001 мг Ag/л на 28-31

сутки наблюдений была практически одинаковой на фоне повышенной удельной смертности, тогда как при концентрации 0,001 мг Ag/л удельная рождаемость была ниже, чем в контроле, более чем в 2 раза, а удельная смертность – выше в 1,5 раза (табл. 2).

Таким образом, ответная реакция культуры *S. quadricauda* (изменение численности клеток и фракционный состав) зависели не только от концентрации токсиканта в среде, но и от физиологического состояния: уровня синхронизации культуры и фазы роста.

Нитрат серебра в низких концентрациях оказал на культуру более выраженное токсическое действие, особенно при концентрации 0,001 мг/л, чем хлорид меди при таких же концентрациях после внесения на разных этапах ее развития.

Анализ полученных результатов с внесением низких концентраций (0,0001 и 0,001 мг/л) хлори-

Таблица 1

Удельная рождаемость (P) и смертность (C) клеток культуры *S. quadricauda* на стационарной фазе роста при действии нитрата серебра, кл/сут

Ag ⁺ , мг/л	0-3 сут		7-10 сут		14-17 сут		21-24 сут	
	P	C	P	C	P	C	P	C
контроль	0,17	0,14	0,42	0,06	0,17	0,06	0,11	0,06
0,0001	0,25	0,17	0,25	0,14	0,33	0,22	0,08	0,14
0,001	0,22	0,06	0,39	0,28	0,33	0,39	1,11	0,58
0,01	0,03	0,17	0,14	0,47	0,03	0,11	0,08	0,28

Таблица 2

Удельная рождаемость (P) и смертность (C) клеток дважды синхронизированной культуры *S. quadricauda* на логарифмической фазе при действии нитрата серебра, кл/сут

Ag ⁺ , мг/л	0-3 сут		7-10 сут		14-17 сут		21-24 сут		28-31 сут	
	P	C	P	C	P	C	P	C	P	C
контроль	0,22	0,13	1,15	0,11	1,47	0,24	1,06	0,17	0,44	0,04
0,0001	0,26	0,18	0,61	0,35	1,06	0,06	0,57	0,26	0,46	0,15
0,001	0,25	0,17	0,24	0,14	0,90	0,06	0,35	0,15	0,19	0,06
0,01	0,03	0,14	0,06	0,22	0,57	0,25	0,46	0,19	0,44	0,24

да меди и нитрата серебра показал, что токсичность данных веществ проявлялась сходным образом – наблюдалось торможение деления клеток и часть клеток в тот или иной период развития макрокультуры переходили в покоящееся состояние, что способствует сохранению потенциала популяции при интоксикации. Было показано [14], что переход клеток в покоящееся состояние наблюдается и при более высоких концентрациях солей меди и серебра. Таким образом, основной механизм токсического действия солей металлов заключается в торможении процесса деления живых клеток. Наиболее чувствительными были клетки культуры, взятой в эксперимент на лаг- и лог-фазах развития. Даже в дважды синхронизированной культуре, которая состояла только из размножившихся клеток, при концентрации 0,001 мг Ag/л к концу эксперимента почти все клетки перешли в покоящееся состояние (как и при внесении токсиканта в культуру на стационарной фазе роста), тогда как при 0,01 мг Ag/л, так и при 0,0001 мг Ag/л преобладала фракция размножившихся клеток.

При концентрациях 0,0001 и 0,001 мг/л меди и серебра методом микрокультур выявлен «парадоксальный» эффект, заключающийся в том, что большая часть клеток в культуре на разных этапах ее развития и времени внесения токсиканта

(лаг-, лог- и стационарная фазы роста) большая часть клеток переходит в покоящееся состояние, т.е. происходит торможение процесса деления клеток. Существует мнение [15], что торможение деления клеток в присутствии токсикантов, возможно, связано со снижением (или задержкой) синтеза специфических серосодержащих полинуклеотидных комплексов, играющих важную роль в процессе образования нуклеиновых кислот и белков в ядерном делении клеток хлорококковых водорослей. При высоких концентрациях токсиканта, когда смертность клеток высокая, по-видимому, происходит усиленный синтез полинуклеотидных комплексов, приводящий к быстрому созреванию резистентных клеток, исходно присутствующих в любой популяции, и их ускоренному делению. Поэтому в любой популяции практически не наблюдается 100% гибели, а включение такого механизма регуляции клеточного деления при неблагоприятных условиях, скорее всего, способствует сохранности популяции в целом. Вероятно, этот механизм срабатывает и при низких концентрациях токсиканта, способствуя увеличению численности клеток.

Неспецифический «парадоксальный эффект» низких концентраций токсикантов (0,001 и 0,0001 мг/л (10^{-9} и 10^{-10} М), впервые обнаруженный Д.Н. Насоновым и В.Я. Александровым в 40-е

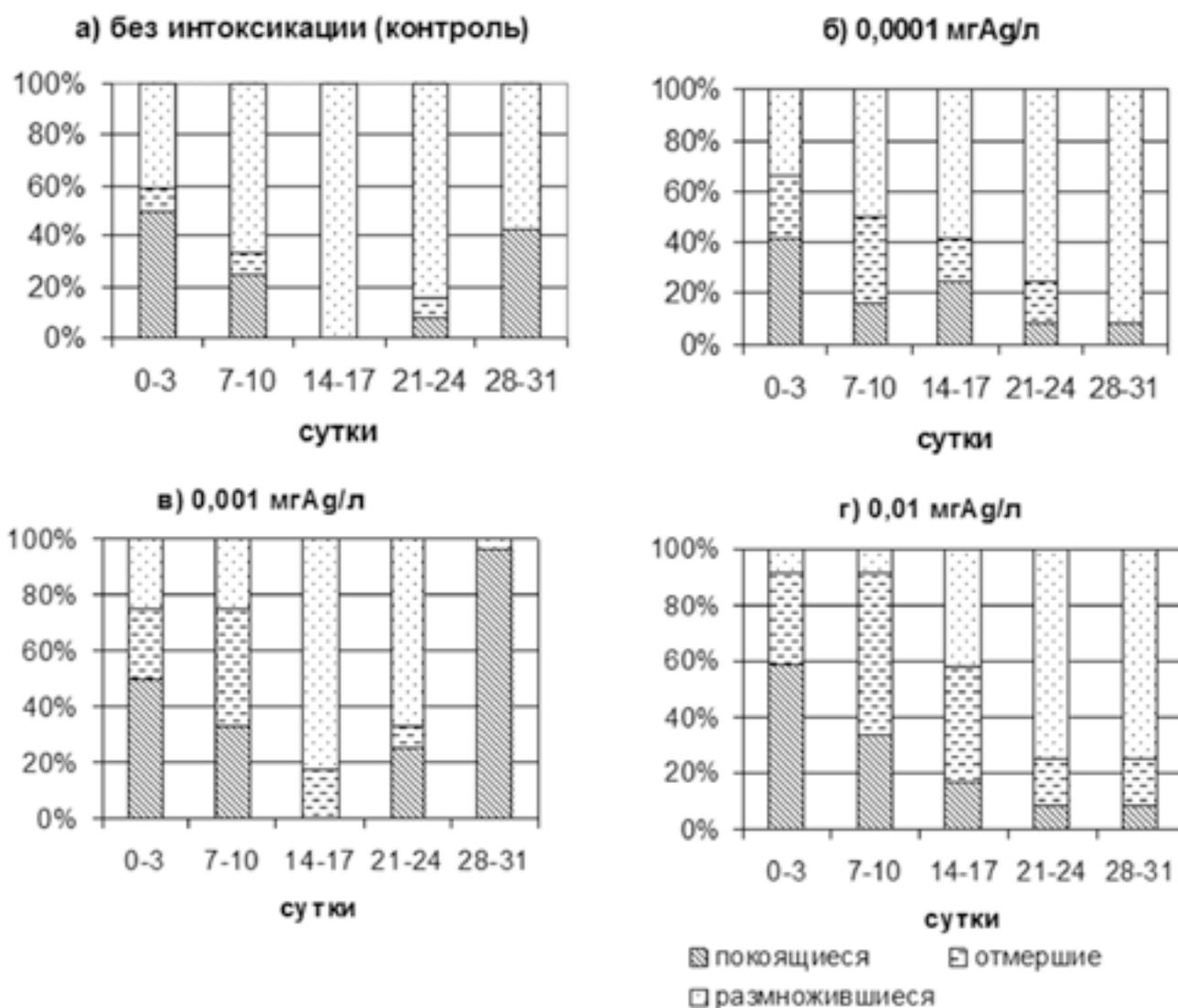


Рис. 4. Динамика изменения фракционного состава дважды синхронизированной культуры *Scenedesmus quadricauda* после внесения нитрата серебра на логарифмической фазе роста

годы прошлого столетия [16] может быть объяснен тем фактом, что клетки водорослей при низких концентрациях накапливают больше токсиканта, чем при более высоких (0,01; 0,1; 1,0 мг/л). Поэтому токсичность солей меди, серебра и хрома по изменению физиологических и биологических показателей сопоставима с токсичностью концентраций, больших на 2-3 порядка [7,8]. Как показали ранее проведенные эксперименты, водные растительные организмы при низких концентрациях металла после длительной интоксикации накапливают его больше, чем при более высоких. Чем выше концентрация металлов, тем быстрее идет их накопление с последующим их выведением из клеток. Так, максимум накопления меди после внесения хлорида меди в культуру *S. quadricauda* происходит в диапазоне от 0,01 до 1 мг/л на 5-7 сут, а при 0,001 мг/л на 15 сут [7]. Следует отметить, что к концу эксперимента при концентрации 0,001 мг/л содержание меди в клет-

ках было выше, чем при 0,01 и 0,1 мг/л. Это можно объяснить тем, что при концентрации 0,001 мг/л процессы выведения были минимальными. Сходная связь накопления хрома в зависимости от его концентрации в среде выявлена и у высшего растения *Elodea canadensis* [8]. К концу эксперимента при концентрации 0,001 мг/л бихромата калия (0,00035 мг Cr/л) содержание хрома в листьях было выше, чем при более высоких концентрациях (0,0035 и 0,035 мг Cr/л).

Таким образом, при низких концентрациях токсиканта водные растительные организмы способны накапливать его и удерживать в клетках больше, чем при средних (больших на 2-3 порядка) концентрациях, вероятно, вследствие его слабого выведения. Поэтому у водорослей наблюдается задержка деления клеток с преобладанием в структуре популяции покоящихся клеток, а у элодеи – замедление прироста основного и боковых побегов из-за недостаточной индуги-

рованности адаптивно-компенсаторных реакций организма [8].

Такой эффект действия низких концентраций в литературе носит название «парадоксального» и является неспецифической реакцией, проявляющейся и при других воздействиях низкой интенсивности (антибиотики, ионизирующая радиация, пестициды и др.) [17] «Парадоксальный» эффект рассматривается в качестве универсального феномена, в основе которого лежат фундаментальные физиологические свойства клетки. По своей сути «парадоксальный» эффект является общебиологической закономерностью, в которой механизмы взаимодействия токсичных веществ с клеткой в каждом отдельном случае зависят от природы токсиканта и эффективности ее защитных механизмов.

Исследование структуры популяции *S. quadricauda* при внесении низких концентраций хлорида меди и нитрата серебра выявило «парадоксальный» эффект, особенно при концентрации 0,001 мг/л, выразившийся в преобладании фракции покоящихся клеток. Ответные реакции микроводорослей на токсическое воздействие сопряжены с различным исходным физиологическим состоянием популяции, а также чувствительностью определенной части клеток в культуре на разных этапах ее развития, что определяет вариабельность ответной реакции со сменой фракций покоящихся, размножившихся и отмирающих клеток в длительном отрезке времени воздействия токсиканта. Временное торможение процесса деления клеток можно рассматривать в качестве защитного механизма, позволяющего сохранить целостность популяции и ее способность к длительному существованию в изменяющихся условиях среды.

Влияние малых доз на живые организмы было показано еще С. Ганеманом в 1790 г. Он предложил лечение малыми дозами. Этот метод лечения получил название гомеопатии. На тот период исследований научной доказательности действия малых доз было недостаточно. А уже в 60-х годах прошлого столетия J. Townsend и T. Luskey была достоверно установлена эффективность действия около 100 гомеопатических препаратов.

Изучение веществ в малых и сверхмалых дозах и концентрациях (10^{-16} и даже 10^{-20}) сравнительно новое направление в токсикологии. Для многих ксенобиотиков при таких условиях обнаруживаются биологические эффекты, зачастую сопоставимые по величине с концентрациями 10^{-4} - 10^{-8} [18]. Подобные эффекты действия выявлены и для некоторых биологических веществ, включая и отравляющие вещества, способные в микроконцентрациях вызывать патологические сдвиги в организме человека и других биообъектах. Причем, сверхмалые дозы этих веществ оказались намного ниже уровня их ПДК [19], поскольку эти низкие дозы не регистрируются никакими методами химического и биохимического анализа.

Несмотря на то, что достоверность эффектов малых доз биологически активных веществ не вызывает сомнений, в литературе до сих пор нет стройной теории, объясняющей парадоксы их действия. Наши данные подтверждают и объясняют эффект действия низких концентраций веществ за счет их включения в клетку, последующего накопления в клетке и низкого их выведения.

Выводы:

1. Колебательный уровень ответа популяции микроводорослей на токсическое воздействие в низких концентрациях сопровождается сменой фракций покоящихся, размножившихся и отмирающих клеток в длительном отрезке времени и установлением ее статуса в измененной среде.

2. Торможение деления клеток при воздействии токсиканта является основным механизмом, способствующим сохранению целостности популяции и ее способности к длительному существованию.

3. Токсический эффект соединений меди и серебра в малой концентрации 0,001 мг/л (в расчете на металл) можно рассматривать в качестве общебиологической закономерности, зависящей от механизмов взаимодействия вещества с клеткой: скорости включения и выведения токсиканта, метаболической активности организма и эффективности защитных механизмов.

Работа выполнена в рамках Государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова часть 2 (тема № АААА-А16-116021660047-6).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ansari R.M., Hei T.K. Effect of 60Hz extremely low frequency magnetic fields (EMF) on radiation- and chemical-induced mutagenesis in mammalian cells. *Carcinogenesis*. 2000; 6:1221-26.
2. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Кузьменко Т.С. Антистрессорные реакции и активационная терапия. М.: Имедис; 1998; 565 с.
3. Jain S.C., Tyagi K. Effect of extremely low frequency electromagnetic fields on health. *Indian J. Biochem. Biophys.* 1999; 36 (5):348-51.
4. Козлов В.И., Буйлин В.А., Самойлов Н.Г., Марков И.И. Основы лазерной физио- и рефлексотерапии. Самара, Киев: Здоров'я; 1993; 216 с.
5. Белякова Е.П. Артсинтезтерапия в лечении больных с пограничными психическими расстройствами. М.: Шаг; 2000, 68 с.
6. Сергеев П.В., Шимановский Н.Л., Петров В.И. Рецепторы. М., Волгоград: Семь ветров; 1999; 640 с.
7. Дмитриева А.Г., Даллакян Г.А., Лысенко Н.Л. Анализ функциональных показателей популяции водорослей в условиях накопления меди. *Альгология*. 1992; 2 (2):30-
8. Дмитриева А.Г., Ипатова (Артюхова) В.И., Кожанова О.Н., Дронина Н.Л., Желтухин Г.О., Крупина М.В. Реакция *Elodea canadensis* на загрязнение хромом среды обитания. *Вестник МГУ. Сер. Биология*. 2006; 2:17-24.
9. Дмитриева А.Г., Бойчук Т.В., Филленко О.Ф. Гетерогенность популяции *Scenedesmus quadricauda* при разных режимах интоксикации серебром. *Экологические системы и приборы*. 2007; 3:42-3.
10. Филленко О.Ф., Дмитриева А.Г., Марушкина Е.В. Исследование лабораторной популяции водоросли

Scenedesmus quadricauda Turp. (Breb.) методом микрокультур. Гидробиологический журнал. 2007; 42 (5):80-8.

11. Дмитриева А.Г., Марушкина Е.В., Филенко О.Ф. Оценка эффекта меди на модельную популяцию водоросли Scenedesmus quadricauda (Turp.) Breb. методом микрокультур. Гидробиологический журнал. 2007; 42 (6): 53-

12. Прохоцкая В.Ю., Веселова Т.В., Веселовский В.А., Дмитриева А.Г., Артюхова В.И. О причине трехфазного ответа популяции водоросли Scenedesmus quadricauda на действие сульфата имазалила. Физиология растений. 2000;

47 (6):877-84.

13. Prokhotskaya V.Yu., Dmitrieva A.G., Veselova T.V., Veselovskii V.A. Types of responses of a model population of microalga Scenedesmus quadricauda (Turp.) Breb. under different intoxication conditions. Moscow University biological sciences bulletin. Allerton Press (New York, N.Y., United States), 2007; 62 (4):171-5.

14. Дмитриева А.Г., Филенко О.Ф., Ипатова В.И. Функциональная гетерогенность популяции клеток микроводоросли Desmodesmus communis (E. Hegew.) E. Hegew. (Chlorophyta) в норме и при интоксикации. Альгология=Algologia.

Киев.: Ин-т ботаники им. Н. Г. Холодного. 2014; 2:147-62.

15. Горюнова С.В., Герасименко Л.М., Лушева М.А. Роль нуклеотидпептидов в клеточном делении водорослей. М.: Наука; 1980; 198 с.

16. Насонов Д.Н., Александров В.Я. Реакция живого вещества на внешние воздействия. М. - Л.: АН СССР; 1940; 240 с.

17. Подколзин А.А., Гуревич К.Г. Действие биологически активных веществ в малых дозах. М.: КМК; 2002; 170 с.

18. Филов В.А. Два актуальных вопроса.

В кн.: Тезисы докладов 2-го съезда токсикологов России. М.: Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ Минздрава России; 2003: 271-2.

19. Шульга В.Я., Петрунин В.А., Имашева М.А., Худенко А.В. Токсикологические аспекты безопасного уничтожения запасов ОВ и ликвидации бывших химических объектов их производства на территории Российской Федерации. В кн.: Тезисы докладов 2-го съезда токсикологов России. М.: Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ Минздрава России; 2003: 297-8.

REFERENCES:

1. Ansari R.M., Hei T.K. Effect of 60Hz extremely low frequency magnetic fields (EMF) on radiation- and chemical-induced mutagenesis in mammalian cells. *Carcinogenesis*. 2000; 6:1221-26.

2. Garkavi L.Kh., Kvakina E.B., Kuz'menko T.S. Anti-stress reactions and activation therapy. М.: Imedis; 1998; 565 p. (in Russian).

3. Jain S.C., Tyagi K. Effect of extremely low frequency electromagnetic fields on health. *Indian J. Biochem. Biophys.* 1999; 36 (5):348-51.

4. Kozlov V.I., Buylin V.A., Samoylov N.G., Markov I.I. Basic of laser physio- and reflexotherapy. Samara, Kiev: Zdorov'ya; 1993; 216 p. (in Russian).

5. Belyakova E.P. Artsintezterapiya in the treatment of patients with borderline mental disorders. М.: Shaq; 2000; 68 p. (in Russian).

6. Sergeev P.V., Shimanovskiy N.L., Petrov V.I. Receptors. М., Volgograd: Sem' vetrov; 1999; 640 p. (in Russian).

7. Dmitrieva A.G., Dallakyan G.A., Lysenko

N.L. Analysis of functional indices of algae population under copper accumulation. *Al'gologiya*. 1992; 2 (2):30-6 (in Russian).

8. Dmitrieva A. G., Ipatova (Artyukhova) V. I., Kozhanova O. N., Dronina N. L., Zheltukhin G. O., Krupina M. V. Elodea canadensis reaction to chromium contamination of habitat. *Vestnik MGU. Ser. Biologiya*. 2006; 2:17-24 (in Russian).

9. Dmitrieva A.G., Boychuk T.V., Filenko O.F. The heterogeneity of the Scenedesmus quadricauda population under different regimes of intoxication with silver. *Ekologicheskie sistemy i pribory*. 2007; 3:42-3 (in Russian).

10. Filenko O.F., Dmitrieva A.G., Marushkina E.V. Study of the laboratory population of alga Scenedesmus quadricauda Turp. (Breb.) by the method of microcultures. *Gidrobiologicheskii zhurnal*. 2007; 42 (5):80-8 (in Russian).

11. Dmitrieva A.G., Marushkina E.V., Filenko O.F. Estimation of the effect of copper on the model population of alga Scenedesmus

quadricauda (Turp.) Breb. by the method microcultures. *Gidrobiologicheskii zhurnal*. 2007; 42 (6): 53-61 (in Russian).

12. Prokhotskaya V.Yu., Veselova T.V., Veselovskiy V.A., Dmitrieva A.G., Artyukhova V.I. About the reason for the three-phase response of the alga Scenedesmus quadricauda to imazalil sulphate. *Fiziologiya rasteniy*. 2000; 47 (6):877-84 (in Russian).

13. Prokhotskaya V.Yu., Dmitrieva A.G., Veselova T.V., Veselovskii V.A. Types of responses of a model population of microalga Scenedesmus quadricauda (Turp.) Breb. under different intoxication conditions // Moscow University biological sciences bulletin. Allerton Press (New York, N.Y., United States), 2007; 62 (4):171-5.

14. Dmitrieva A.G., Filenko O.F., Ipatova V.I. Functional heterogeneity of the microalgal cell population Desmodesmus communis (E. Hegew.) E. Hegew. (Chlorophyta) under normal and toxic exposure. *Al'gologiya*. Kiev: In-t botaniki im. N. G. Kholodnogo; 2014; 2:147-62 (in Russian).

15. Goryunova S.V., Gerasimenko L.M., Pusheva M.A. Role of nucleotide peptides in the cell division of algae. М.: Nauka; 1980; 198 p. (in Russian).

16. Nasonov D.N., Aleksandrov V.Ya. The reaction of living matter to external influences. М. - Л.: АН СССР; 1940; 252 p. (in Russian).

17. Podkolzin A.A., Gurevich K.G. The action of biologically active substances in small doses. М.: КМК; 2002; 170 p. (in Russian).

18. Filov V.A. Two topical issues. *Tezisy dokladov 2-go s'ezda toksikologov Rossii*. М.: Rossiyskiy registr potentsial'no opasnykh khimicheskikh i biologicheskikh veshchestv Minzdrava Rossii; 2003: 271-2 (in Russian).

19. Shul'ga V.Ya., Petrunin V.A., Imasheva M.A., Khudenko A.V. Toxicological aspects of safe destruction of inventory of OM and liquidation of former chemical objects of their production in the territory of the Russian Federation. *Tezisy dokladov 2-go s'ezda toksikologov Rossii*. М.: Rossiyskiy registr potentsial'no opasnykh khimicheskikh i biologicheskikh veshchestv Minzdrava Rossii; 2003: 297-8 (in Russian).

V.I. Ipatova¹, A.G. Dmitrieva¹, O.F. Filenko¹, T.V. Drozdenko²

ABOUT SOME PECULIARITIES OF THE PHYSIOLOGICAL HETEROGENEITY OF THE POPULATION OF SCENEDESMUS QUADRICAUDA (TURP.) BREB. IN THE PRESENCE OF LOW CONCENTRATIONS OF METALS

¹M.V. Lomonosov Moscow State University, 119991, Moscow, Russian Federation

²Pskov State University, 180000, Pskov, Russian Federation

The structure of the laboratory population of green microalgae Scenedesmus quadricauda (Turp.) Breb (=Desmodesmus communis E. Hegew.) was studied at different stages of its growth (lag-phase, log-phase and stationary phase) at low concentrations of copper chloride and silver nitrate by the method microculture, allowing to monitor the state and development of single cells having different physiological status. The response of the culture of S. quadricauda - the change in the number of cells and the fractional composition (the fraction of dividing, «dormant» and dying cells) depended not only on the concentration of the toxicant in the medium, but also on the physiological state of the culture: the level of synchronization and the growth phase. Silver ions at low concentrations had a more pronounced toxic effect on the culture than copper ions at different phases of its development, especially at a concentration of 0.001 mg/l (10^{-9} M). The main mechanism of the toxic effect of metals is to inhibit the process of cell division. At low concentrations of toxicants, especially at a concentration of 0.001 mg/l, a «paradoxical» effect expressed in the predominance of the fraction of «dormant» cells was revealed. The temporary inhibition of the process of cell division can be regarded as a protective mechanism that allows preserving the integrity of the population and its ability to survive in a changing environment. The obtained data explain the effect of action of low concentrations of substances due to their inclusion in the cell, the subsequent accumulation in the cell and their low excretion.

Keywords: Scenedesmus quadricauda, silver nitrate, copper chloride, low concentrations, heterogeneity of population.

Материал поступил в редакцию 28.03.2018 г.