

УДК 543.395:582.26/.27

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ДЕЙСТВИЯ АНИОННОГО И КАТИОННОГО ДЕТЕРГЕНТОВ НА РОСТ НАКОПИТЕЛЬНЫХ КУЛЬТУР МИКРОВОДОРОСЛИ *PLATYMONAS VIRIDIS*

Парфенова И.А.

*Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина
E-mail: Antares_Irina@ukr.net*

Исследовали влияние катионных и анионных детергентов на состояние накопительных культур микроводорослей *Platymonas viridis*. В качестве анионного детергента применяли додецилсульфат натрия (SDS), а катионного – тетрадецилтриметаммоний бромид (TDTMA) в концентрационном диапазоне 0-1 мг л⁻¹. Показано, что TDTMA оказывает существенное влияние на темпы роста культуры *Platymonas viridis*: угнетение ростовых процессов отмечали при концентрации TDTMA 0.25 мг·л⁻¹. При 0.50 мг·л⁻¹ эффект приобретал достоверные значения. SDS в указанном концентрационном диапазоне не оказывал значимого влияния на состояние культур *Platymonas viridis*.

Ключевые слова: морские микроводоросли, накопительные культуры, детергенты.

ВВЕДЕНИЕ

К категории детергентов относят различные химические вещества [1, 2]. По характеру поведения в водных средах их разделяют на три группы [3]. В первую группу входят ионогенные детергенты, диссоциирующие в воде на ионы. Среди ионогенных различают анионные, катионные и амфолитные (или амфотерные). Во второй группе ПАВ – неионогенные соединения, растворимость которых в воде обусловлена не диссоциацией, а образованием водородных связей между молекулами воды и кислородом ПАВ. Отдельную группу синтетических ПАВ составляют высокомолекулярные соединения, включающие большое количество звеньев, каждое из которых содержит как полярные, так и неполярные группы.

Особый интерес представляет изучение мембранотропного эффекта детергентов, который проявляется в нарушении структуры и повышении проницаемости биологических мембран клеток. Следствием этих изменений является как накопление в клетках водорослей посторонних соединений, так и выход наружу эндобиополимеров. В этой связи представляет интерес сравнить действие анионных и катионных детергентов, которые должны иметь различное сродство к цитоплазматическим мембранам клеток [4].

В настоящей работе представлены результаты сравнительных исследований действия анионного детергента додецилсульфата натрия (SDS) и катионного ПАВ – тетрадецилтриметаммоний бромида (TDTMA) на рост микроводоросли *Platymonas viridis* в накопительной культуре.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали альгологически чистую культуру зеленой микроводоросли: *Platymonas viridis*, предоставленную отделом физиологии водорослей ИнБИОМ НАН Украины. В качестве инкубационной среды применяли среду Гольдберга в модификации Кабановой [5]. В количестве 40 мл ее вносили в конические колбы объемом 100 мл. Образцы, не содержащие детергентов, служили контролем, а в остальные добавляли SDS и TDTMA до конечных концентраций 0,25; 0,5 и 1,0 мг·л⁻¹. Затем в инкубационные среды вносился инокулят маточной культуры в количестве 0,5 мл. Эксперименты выполнены в трехкратной повторности. Культивирование проводилось при температуре – 18-22 °С и круглосуточном освещении при помощи лампы дневного света SYLVANIA интенсивностью 1500 люкс. Экспозиция – 6-7 суток. Ежедневно в культурах проводился контроль численности клеток путем измерения оптической плотности клеточной взвеси при 750 нм [6]. Расчет числа клеток осуществлялся по калибровочному графику. Результаты обработаны статистически с использованием критерия Стьюдента (t) и методов корреляционного и регрессионного анализов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Действие SDS. Исходная плотность культуры после внесения инокулята составила 0.133 (10³) клеток в мкл. При оптимальном освещении рост культуры происходил в течение всего периода наблюдений – 142 часов, однако он был неравномерен. В состоянии культуры можно было выделить две последовательные фазы: лаг-период и период устойчивого роста (рис. 1). Лаг-период наблюдался в течение 25-ти часов. Рост культуры в этот период времени был крайне незначительным. Оптические плотности были близки к исходным значениям. Период устойчивого роста культуры продолжался в течение последующих 25-142 часов. Рост культуры был равномерным на протяжении всего периода наблюдений. Динамика роста культуры описывалась уравнением линейной регрессии: $y = ax + b$ (рис. 1). Значения коэффициентов a и b представлены в таблице 1.

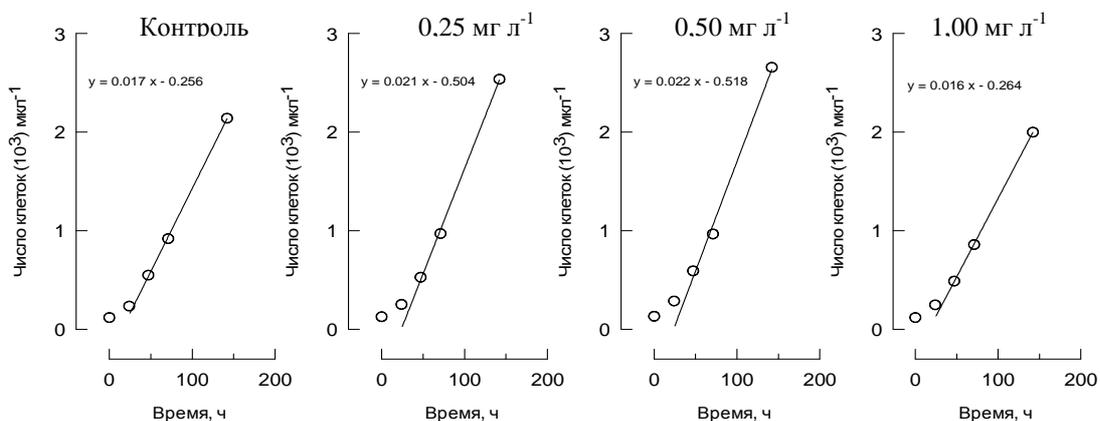


Рис. 1. Динамика роста накопительных культур *Pl. viridis* при различных концентрациях SDS в культуральной среде

Введение в питательную среду SDS в концентрациях 0.25-1.0 мг·л⁻¹ не оказывало значимого влияния на темпы ее роста и величины конечной численности клеток в культуре. Значения коэффициентов a и b , рассчитанные для всех концентраций SDS, были близки к контрольным величинам. Имеющиеся различия не были статистически достоверны.

Таблица 1

Параметры уравнения роста культуры *Pl. viridis* при различных концентрациях SDS

Концентрация SDS, мг л ⁻¹	Уравнение ($y = ax + b$)	
	a	b
Контроль	0,017±0,002	-0,272±0,124
0.25	0,020±0,001	-0,442±0,066
0.50	0,019±0,001	-0,223±0,017
1.00	0,018±0,002	-0,232±0,024

Действие TDTMA. Исходная плотность клеток в культуре после внесения инокулята была ниже, чем в случае с SDS и составила 0.034-0.047 (10³) клеток на мкл. В кривой роста также выделялся лаг-период длительностью 50 часов. Период интенсивного роста культуры наблюдали в течение 50-209 часов (рис. 2). Рост был равномерным на протяжении всего периода наблюдений. Динамика роста также описывалась уравнением линейной регрессии.

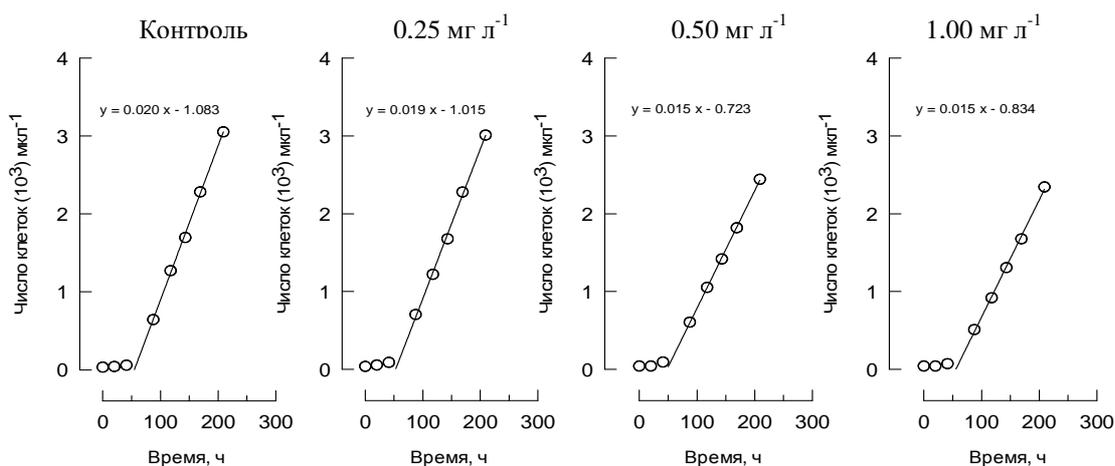


Рис. 2. Динамика роста накопительных культур *Pl. viridis* при различных концентрациях TDTMA в культуральной среде

В отличие от вариантов с SDS, внесение в культуральную среду TDTMA оказывало негативное действие на состояние культур *Pl. viridis*. Это видно из значений углового коэффициента, которые проявляли обратную зависимость по отношению к концентрации детергента в среде. При концентрации TDTMA 1.0 мг·

л¹ различия с контрольными культурами достигали статистически значимых величин ($p < 0,05$).

Таблица 2

Параметры уравнения роста культуры *Pl. viridis* при различных концентрациях TDTMA

Концентрация TDTMA, мг·л ⁻¹	Уравнение ($y = ax + b$)	
	<i>a</i>	<i>b</i>
Контроль	0,021±0,001	-1,128±0,036
0.25	0,018±0,001	-0,973±0,029
0.50	0,016±0,002	-0,918±0,179
1.00	0,014±0,002	-1,069±0,188

Как отмечалось ранее, TDTMA и SDS относятся к ионогенной группе ПАВ. Известно, что эта группа детергентов оказывает неоднозначное влияние на культуры микроорганизмов. Эффект катионных ПАВ более выражен, чем анионных [3], что совпадает с результатами настоящей работы и позволяет предположить наличие общих механизмов токсического действия этих видов соединений на клеточные системы.

Анализ результатов проведенного исследования свидетельствует о том, что при равных концентрациях TDTMA и SDS в среде культивирования они проявляют разный характер действия на клетки микроводорослей. SDS не вызывает угнетение ростовых характеристик культуры *Platymonas viridis* при всех изученных концентрациях от 0 до 1 мг·л⁻¹, но это не означает, что при более высоких концентрациях SDS эффект также будет отсутствовать. TDTMA, напротив, подавляет темпы клеточного деления культур *Platymonas viridis* при сохранении устойчивого характера их роста. При этом прослеживалась явно выраженная концентрационная зависимость: при концентрации TDTMA 0.25 мг·л⁻¹ эффект был выражен слабо, тогда как при 0.5 и 1.0 мг·л⁻¹ он пропорционально усиливался.

Ингибирование роста водорослей под влиянием детергентов может быть следствием ряда нарушений их структур и метаболизма [3]. Во-первых, ПАВ относятся к числу устойчивых органических соединений, характеризующихся токсичностью и высокими коэффициентами биологической аккумуляции. Во-вторых, детергенты могут оказывать влияние на пигментный комплекс водорослей и его фотосинтетическую активность. Какой из этих процессов является определяющим, сказать на данный момент сложно, и это требует дальнейшего изучения. Известно, что действие ПАВ реализуется преимущественно на уровне клеточных мембран [3]. Высокая чувствительность культуры *Platymonas viridis* к катионному детергенту позволяет предположить, что на поверхности оболочек ее клеток должны доминировать отрицательно заряженные химические группы, способствующие ассоциации катионного детергента с клеткой.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Катионный ионогенный детергент – тетрадецилтриметаммоний бромид, подавляет темпы роста накопительной культуры микроводоросли *Platymonas viridis* в концентрационном диапазоне от 0 до 1 мг·л⁻¹ пропорционально увеличению его содержания в питательной среде.
2. Действие анионного ионогенный детергента – додецилсульфата натрия, в сходном концентрационном диапазоне на накопительную культуру микроводоросли *Platymonas viridis* не было выражено.
3. Синтетические препараты ПАВ, содержащие катионные ионогенные соединения, с экологической точки зрения, должны быть более опасными, чем анионные.

Список литературы

1. Остроумов С.А. Введение в биохимическую экологию / С.А. Остроумов. - М.: Изд-во МГУ, 1986. –176 с.
2. Поверхностные явления и поверхностно-активные вещества (справочник). – Л.: Химия, 1984. –392 с.
3. Паршикова Т.В. Влияние ПАВ на водоросли / Т.В. Паршикова, С.Ф. Негрудский // Гидробиол. ж. – 1988. – Т.24, №6. – С. 46-57.
4. Гроздов А.О. Биотестирование поверхностно-активных веществ / А.О. Гроздов, М.В. Переладов, А.И. Старцева // Биотест. природ. и сточ. вод. – М.: Наука, 1981.- С. 64-69.
5. Кабанова Ю.Г. Органический фосфор, как источник питания фитопланктона / Ю.Г. Кабанова // Тр. Ин-та Океанологии. –1968. –Вып. 1. –С. 16-24.
6. Минюк Г.С. Влияние селена на рост микроводоросли *Spirulina platensis* (Nords.) в накопительной и квазинепрерывной культурах / Г.С. Минюк, Р.П. Тренкеншу, А.В. Алисиевич, И.В. Дробецкая // Экология моря. –2000. Вып. 54. –С. 42-49.

Парфенова І.О. Порівняльна оцінка дії аніонного і катіонного детергентів на зростання накопичувальних культур микроводорості *Platymonas viridis* / І.О. Парфенова // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2013. – Т. 26 (65), № 2. – С. 154-158.

Досліджували вплив катіонних і аніонних детергентів на стан накопичувальних культур микроводоростей *Platymonas viridis*. Як аніонний детергент застосовували додецилсульфат натрію (SDS), а катіонний – тетрадецилтриметаммоній бромід (TDTMA) в концентраційному діапазоні 0-1 мг·л⁻¹. Показано, що TDTMA значно впливає на темпи зростання культури *Platymonas viridis*. Пригноблення ростових процесів відзначали при концентрації TDTMA 0.25 мг·л⁻¹. При 0.50 мг·л⁻¹ ефект був статистично виражений. SDS у вказаному концентраційному діапазоні не чинив значимого впливу на стан культур *Platymonas viridis*.

Ключові слова: морські микроводорості, накопичувальні культури, детергенти.

Parfenova I.A. Comparative assessment of anionic and cationic detergent on the growth of cumulative microalgae cultures *Platymonas viridis* / I.A. Parfenova // Scientific Notes OF Taurida V.Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2013. – Vol. 26 (65), No. 2. – P. 154-158.

Influence of cationic and anionic detergents on the accumulation of cultures of microalgae *Platymonas viridis*. As anionic detergent used sodium dodecylsulfat (SDS) and cation-tetradeciltrimetammonium bromide (TDTMA) in the concentration range of 0-1 mg·l⁻¹. It was shown, that TDTMA has a significant impact on the growth of a culture of *Platymonas viridis*. Oppression growth processes observed at a concentration of 0.25 mg·l⁻¹ TDTMA. When 0.50 mg·l⁻¹ the effect was statistically expressed. SDS in a specified concentration range had no significant effects on the cultures of *Platymonas viridis*.

Keywords: морские микроводоросли, накопительные культуры, детергенты.

Поступила в редакцию 16.03.2013 г.