

инженерно-экологических изысканий, которые определены с учётом требований перечисленной нормативно-технической документации и позволят, на наш взгляд, повысить качество инструментальных исследований физических факторов.

Изложенные предложения предварительные, необходима разработка Рекомендаций по оценке и измерениям физических полей на участках инженерно-экологических изысканий, которые бы учитывали все аспекты требований законодательства, в том числе по выявлению гигиенически значимых источников, определения необходимого и достаточного перечня и объёма измерений параметров физических факторов (шум, вибрация, инфразвук) в зависимости от назначения участков проектирования и специфики обследуемых территорий.

Рекомендации будут полезны контролирующим органам, экспертным и проектным организациям, испытательным лабораториям при составлении программы работ по инженерно-экологическим изысканиям, проведению полевых исследований, проектировании, при экспертизе проектной документации.

Разработка Рекомендаций поможет повысить эффективность выполняемых исследований, оптимизировать объём и устранить избыточность требований при проектировании и экспертизе.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.
Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Теличенко В.И. Комплексная безопасность строительства. *Вестник МГСУ*. 2010; 4(1): 10–7.
2. Постановление Правительства РФ № 1521. «Об утверждении перечня национальных стандартов и сводов правил (частей таких стандартов и сводов правил), в результате применения которых на обязательной основе обеспечивается соблюдение требований Феде-

рального закона «Технический регламент о безопасности зданий и сооружений». М.; 2014.

3. Озерова Е.М. *Пособие по проведению инженерно-экологических изысканий*. СПб.: Знание; 2014.
4. Постановление Правительства РФ № 87. «О составе разделов проектной документации и требованиях к их содержанию». М.; 2008.
5. Осипов Г.Л., Коробков В.Е., Климухин А.А., Прохода А.С., Карагодина И.Л., Зотов Б.С. *Защита от шума в градостроительстве. Справочник проектировщика*. М.: Стройиздат; 1993.
6. Пособие к МГСН 2.04–97. *Проектирование защиты от транспортного шума и вибрации жилых и общественных зданий*. М.: Москомархитектура; 1999.
7. Пособие к МГСН 2.04–97. *Проектирование звукоизоляции ограждающих конструкций жилых и общественных зданий*. М.: Москомархитектура; 1999.

References

1. Telichenko V.I. Integrated security of construction. *Vestnik MGSU*. 2010; 4(1): 10–7. (in Russian)
2. RF Government Decree № 1521 «On the approval of the list of national standards and codes of practice (parts of such standards and codes of practice), the obligatory usage of which provides compliance of the Federal law entitled «Technical Regulations on Safety of Buildings and Facilities». Moscow; 2014. (in Russian)
3. Ozerova E.M. *Handbook on Carrying out of Engineering and Ecological Surveys*. St. Petersburg: Znanie, 2014. (in Russian)
4. RF Government Decree № 87 «On the structure of project documentation sections and requirements of their contents». Moscow; 2008. (in Russian)
5. Osipov G.L., Korobkov V.E., Klimukhin A.A., Prokhoda A.S., Karagodina I.L., Zotov B.S. *Noise Protection in City Planning. Designer's Guide*. Moscow: Stroyizdat; 1993. (in Russian)
6. Guide to MGSN 2.04–97. *Designing protection against traffic noise and vibration of residential and public buildings*. Moscow: Moskomarkhitektura; 1999. (in Russian)
7. Guide to MGSN 2.04–97. *Designing of ZI enclosing structures of residential and public buildings*. Moscow: Moskomarkhitektura; 1999. (in Russian)

Поступила 15.03.17

Принята к печати 05.07.17

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

Полозова Е.В.^{1,2}, Шилов В.В.^{1,2}, Богачева А.С.^{1,2}, Ключкин И.Н.³

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЦИАНОБАКТЕРИЙ *SYNECHOCYSTIS SP.* ДЛЯ ОЦЕНКИ СТЕПЕНИ ЗАГРЯЗНЕННОСТИ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ СОЛЯМИ ТЯЖЁЛЫХ МЕТАЛЛОВ

¹ ФБУН «Северо-Западный научный центр гигиены и общественного здоровья» Роспотребнадзора, 191036, Санкт-Петербург, Россия;

² ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Минздрава России, 191015, Санкт-Петербург, Россия;

³ Филиал ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в г. Санкт-Петербург в Московском, Фрунзенском, Пушкинском, Колпинском районах и г. Павловске, 196653, Санкт-Петербург, Россия

*Впервые получены данные о параметрах токсичности солей тяжелых металлов для цианобактерий *Synechocystis sp.* CALU 713 и PCC 6803. Показано, что изменения световых и температурных условий модифицируют чувствительность цианобактерий к токсическому действию солей тяжелых металлов. Токсичность солей тяжелых металлов определяется дозозависимым эффектом снижения скорости роста цианобактерий в инкубационной среде на водной основе. Изменения световых и температурных условий культивирования модифицируют чувствительность цианобактерий *Synechocystis sp.* к токсическому действию солей тяжелых металлов. Снижение температуры и освещенности в разной степени усиливает их токсический эффект. Установлено, что морфологические изменения цианобактерий, вызванные токсическим действием солей тяжелых металлов, носят неспецифический характер, независимо от штамма и вида исследованного токсиканта, проявляются изменением формы и размеров, в том числе делящихся клеток. На ультраструктурном уровне морфологические изменения клеток цианобактерий представлены изменением толщины и целостности пептидогликанового слоя клеточной стенки; повреждением внутриклеточных органелл, имеющих отношение к энергетическому обмену: расхождением тилакоидных мембран с образованием внутритилакоидных пространств; агрегацией фикобилисом и накоплением полифосфатных гранул; волокнистым преобразованием нуклеоплазмы с потерей характерной зернистости. Наиболее чувствителен к токсическому действию солей тяжелых металлов и, соответственно, подходящий для использования в экспериментальной токсикологии – штамм *Synechocystis sp.* CALU 713. Цианобактерии *Synechocystis sp.* CALU 713 и PCC 6803 – перспективный тест-объект в экспериментальной токсикологии для оценки степени загрязненности водных объектов солями тяжелых металлов. Получены*

параметры токсичности солей тяжелых металлов ($AgNO_3$; $3CdSO_4 \cdot 8H_2O$; $Hg(CH_3COO)_2$; $CuSO_4 \cdot 5H_2O$) для двух штаммов цианобактерий *Synechocystis* sp. В этих условиях выявлены морфологические изменения поверхности и ультраструктуры клеток *Synechocystis* sp.

Ключевые слова: альтернативные методы; биотестирование; тест-объект; клеточная культура; соли тяжелых металлов; токсичность; цианобактерии.

Для цитирования: Полозова Е.В., Шилов В.В., Богачева А.С., Ключкин И.Н. Перспективы использования цианобактерий *Synechocystis* sp. для оценки степени загрязненности водных объектов солями тяжелых металлов. *Гигиена и санитария*. 2017; 96(7): 656-660. DOI: <http://dx.doi.org/10.1882/0016-9900-2017-96-7-656-660>

Для корреспонденции: Полозова Елена Валентиновна, доктор мед. наук, проф. кафедры токсикологии, экстремальной и водолазной медицины ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, ведущ. научн. сотр. ФБУН «Северо-Западный научный центр гигиены и общественного здоровья». E-mail: doctorpolozova@yandex.ru.

Polozova E.V.^{1,2}, Shilov V.V.^{1,2}, Bogacheva A.S.^{1,2}, Klyushkin I.N.³

THE POSSIBILITY OF USING CYANOBACTERIA SYNECHOCYSTIS SP. FOR THE ASSESSMENT OF THE DEGREE OF WATER POLLUTION WITH HEAVY METAL SALTS

¹I. I. Mechnikov Northwestern State Medical University, Saint-Petersburg, 191015, Russian Federation;

²North-West Public Health Research Center, St.-Peterburg, 191036, Russian Federation;

³Departments of Center of hygiene and epidemiology in the Moskovsky, Frunzensky, Pavlovsk Pushkin, Kolpino districts, Saint-Petersburg, 196653, Russian Federation;

For the first time there are provided data on the toxicity of salts of heavy metals to the cyanobacteria *Synechocystis* sp. CALU 713 and PCC 6803. Changes of light and temperature conditions were shown to modify cyanobacteria sensitivity to the toxic effect of salts of heavy metals. The toxicity of salts of heavy metals is determined by the dose-dependent effect of the reducing the growth rate of cyanobacteria in the incubation medium on water basis. Changes of light and temperature culture conditions modify the sensitivity of the cyanobacteria *Synechocystis* sp. to toxic effect of salts of heavy metals. The decrease in temperature and light in various degrees enhances the toxic effect of salts of heavy metals. Morphological changes of cyanobacteria, caused by the toxic action of salts of heavy metals were established to be nonspecific, regardless of the strain and species of the studied toxicant, showing the change of shapes and sizes, including dividing cells. At the ultrastructural level morphological changes in the cells of cyanobacteria are represented by changes of the thickness and the integrity of peptidoglycan layer of the cell wall; the damage to intracellular organelles relevant to energy metabolism: divergent tilakoid membranes with formation of intratilakoid spaces; agglutination of phycobilisomes and accumulation of polyphosphate granules; fibrous transformation of nucleoplasm with the loss of the typical granulation. A strain of *Synechocystis* sp. CALU 713 is the most sensitive to the toxic action of salts of heavy metals and, therefore, suitable for the use in experimental toxicology. Cyanobacteria *Synechocystis* sp. CALU 713 and PCC 6803 are promising test-object in experimental toxicology for the assessment of the degree of water pollution with heavy metal salts. There were obtained parameters of toxicity of heavy metal salts ($AgNO_3$; $3CdSO_4 \cdot 8H_2O$; $Hg(CH_3COO)_2$; $CuSO_4 \cdot 5H_2O$) for two strains of the cyanobacteria *Synechocystis* sp. In these circumstances there were revealed morphological changes of the surface ultrastructure of cells of *Synechocystis* sp.

Key words: alternative methods; biological testing; test facility; cell culture; salts of heavy metals; toxicity; cyanobacteria.

For citation: Polozova E. V., Shilov V. V., Bogacheva A. S., Klyushkin I. N. The possibility of using Cyanobacteria *Synechocystis* sp. for the assessment of the degree of water pollution with heavy metal salts. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)* 2017; 96(7): 656-660. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.1882/0016-9900-2017-96-7-656-660>

For correspondence: Elena V. Polozova, MD, PhD, DSci., professor of toxicology and extreme diving medicine of the I.I. Mechnikov Northwestern State Medical University, Saint-Petersburg, 191015, Russian Federation. E-mail: doctorpolozova@yandex.ru

Information about authors:

Polozova E.V., <http://orcid.org/0000-0002-9280-4908>; Shilov V.V. <http://orcid.org/0000-0003-3256-2609>;

Bogacheva A.S. <http://orcid.org/0000-0003-0146-9639>; Klyushkin I.N. <http://orcid.org/0000-0002-5654-6710>.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgement. The study had no sponsorship.

Received: 15.03.17

Accepted: 05.07.17

Введение

Одна из отрицательных сторон научно-технического прогресса – постоянно нарастающее антропогенное загрязнение окружающей среды. И здесь особый интерес представляют соли тяжелых металлов, которые относятся к наиболее широко распространенным поллютантам [1–3].

Одна из важнейших экологических задач – контроль за условиями окружающей среды, которые влияют на человеческий организм и могут повлечь за собой различные нарушения здоровья. Разрабатываются законодательные, нормативные и методические документы, связанные с нормированием качества природных сред [1, 4–6], но обеспечение безопасности и безвредности источников водоснабжения, почвы, воздуха, пищевых продуктов и т. д. в значительной мере зависит от полноты,

достоверности и оперативности контроля качества исследуемых объектов.

Для оценки и нормирования качества окружающей среды приоритетным является использование токсикологических методов [3, 4, 6]. Для определения параметров токсичности химических веществ традиционно применяют различные методы с использованием теплокровных животных. Но недостатками этих методов оказываются большие материальные затраты и длительность экспериментов. Кроме этого, существует этическая точка зрения. Вместе с тем, исследования на животных остаются необходимым звеном при установлении токсичности, поскольку только *in vivo* можно выявить весь объем прямых и опосредованных эффектов, нарушающих физиологические механизмы. Это позволяет экстраполировать получаемые данные на другие виды животных и на человека. Поэтому в последние

Таблица 1

Эффективные концентрации (EC_{50} ; $мкг \cdot л^{-1}$) $Hg(CH_3COO)_2$ для *Synechocystis sp.* CALU 713 при разных условиях культивирования

Время культивирования, сут	Условия культивирования			
	1-я серия	2-я серия	3-я серия	4-я серия
	23 °С, 2200 лк	23 °С, 500 лк	15 °С, 2200 лк	15 °С, 500 лк
4	8,4 ± 0,5	600,5 ± 10,5*	7,7 ± 0,9	1,8 ± 0,1*
7	20,9 ± 1,6	14,6 ± 2,3	1,3 ± 0,3*	1,7 ± 0,1*
10	1 ± 0,1	1,2 ± 0,3	24,8 ± 1,5*	1,7 ± 0,1
14	**	15,5 ± 1,8*	1,9 ± 0,1*	1,6 ± 0,1*

Примечание. Здесь и в табл. 2: * – $p \leq 0,05$ – в сравнении с первой серией экспериментов; ** – культура погибла.

десятилетия интенсивно ведутся поиски новых биологических тест-объектов, которые были бы способны достоверно отражать воздействие различных токсикантов на организм человека.

Большую актуальность приобретает разработка методологических и теоретических вопросов применения при токсикологических исследованиях биологических тест-объектов (культур клеток, микроорганизмов, простейших и т. д.), которые позволяют, как правило, в короткие сроки получить ценную информацию о биологическом действии веществ [7–10].

Альтернативные токсикологические методы исследования основаны на оценке степени опасности исследуемого объекта по реакции живых организмов (тест-объектов) к вредному фактору, а информация, получаемая при использовании методов биотестирования, отражает комплексное токсическое воздействие всех содержащихся в данной среде токсикантов, их совместного присутствия. Таким образом, методы биотестирования обеспечивают более высокий уровень безопасности.

В современных условиях существует достаточно широкий спектр альтернативных методов исследования в токсикологии. Для целей биотестирования применяют аттестованные методики с использованием в качестве тест-объектов спермы крупного рогатого скота, бактерий, культуры водоросли и одноклеточных организмов – инфузорий, высших растений, низших ракообразных (рачков, дафний, цериодафний), микроскопических червей-коллекторов (кл. *Rotatoria*).

Уникальные представители мира микроорганизмов – цианобактерии. Обладая пластичным метаболизмом, они в настоящее время являются удобными модельными объектами для изучения целого ряда биологических процессов. Благодаря короткому циклу их развития можно проследить на нескольких поколениях действие вредных факторов. Одним из малоизученных, с точки зрения чувствительности к токсикантам, классом цианобактерий являются *Synechocystis sp.* [8, 9, 11].

Цель исследования – изучить возможность использования цианобактерий *Synechocystis sp.* в качестве тест-объекта для оценки токсичности ксенобиотиков на примере солей тяжелых металлов.

Материал и методы

В работе использованы штаммы цианобактерий: PCC 6803 получен из коллекции штаммов кафедры генетики Московского государственного университета, CALU 713 – из коллекции Санкт-Петербургского государственного университета.

Культура цианобактерий выращивалась при освещенности 500 и 2200 лк и температурах 15 и 23 °С в течение 14 сут. Культивирование штаммов проводили в жидкой питательной среде и температуре 23 °С и непрерывном освещении люминесцентными лампами с интенсивностью 2200 лк по методике Б.В. Громова (1976) [12].

Токсичность солей тяжелых металлов ($AgNO_3$; $3CdSO_4 \cdot 8H_2O$; $Hg(CH_3COO)_2$; $CuSO_4 \cdot 5H_2O$) оценивали по их среднеэффективным концентрациям (EC_{50} , $мкг \cdot л^{-1}$) через разные промежутки времени (4, 7, 10 и 14-е сутки) после помещения в инкубационную среду, содержащую исходную культуру разных штаммов

Таблица 2

Эффективные концентрации (EC_{50} ; $мкг \cdot л^{-1}$) $AgNO_3$ для *Synechocystis sp.* PCC 6803 при разных условиях культивирования

Время культивирования, сут	Условия культивирования			
	1-я серия	2-я серия	3-я серия	4-я серия
	23 °С, 2200 лк	23 °С, 500 лк	15 °С, 2200 лк	15 °С, 500 лк
4	750,9 ± 5,6	16,0 ± 2,1*	12,1 ± 1,3*	17,6 ± 1,5*
7	130,6 ± 2,5	62,1 ± 3,1*	11,6 ± 0,5*	15,8 ± 2,1*
10	180,4 ± 3,2	73,0 ± 5,8*	13,6 ± 0,2*	4,0 ± 0,5*
14	15,1 ± 1,1	95,3 ± 5,5*	14,5 ± 0,4	12,6 ± 1,3*

цианобактерий *Synechocystis sp.* Опыт проводили в трёх параллельных пробах. За среднеэффективные концентрации солей тяжелых металлов (EC_{50} , $мкг \cdot л^{-1}$) принимали концентрации, при которых количество клеток в культуре цианобактерий при инкубации с разными концентрациями солей тяжелых металлов снижалось на 50% относительно начальной плотности культуры к определенному сроку. Рассчитывали процент погибших клеток в каждом разведении по отношению к контролю методом пробит-анализа.

Для изучения основных проявлений цитотоксического действия солей тяжелых металлов использовали световую и электронную микроскопию. Исследование проводили на 7-е сутки инкубации цианобактерий с солями тяжелых металлов, поскольку к этому времени культуры цианобактерий достигают оптимальной репродуктивной активности [10]. Оценивали форму и размер клеток, толщину клеточной стенки, процесс деления, изучали состояние нуклеоплазмы и цитоплазмы, а также изменения, происходящие в области нуклеоида, рибосом и тилакоидных мембран.

Результаты

В результате проведенных исследований установлено, что для штамма CALU 713 наиболее токсичными были соли ртути ($EC_{50} = 1 \pm 0,1$ $мкг \cdot л^{-1}$) и свинца ($EC_{50} = 2 \pm 0,3$ $мкг \cdot л^{-1}$), а наименее – серебра ($EC_{50} = 14 \pm 0,1$ $мкг \cdot л^{-1}$) и меди ($EC_{50} = 15 \pm 2,1$ $мкг \cdot л^{-1}$). Токсичность металлов убывала в следующей последовательности: $Hg > Pb > Ag > Cu$. Результаты исследования токсичности ртути для штамма *Synechocystis sp.* CALU 713 представлены в табл. 1.

Согласно представленным данным, при оптимальных условиях культивирования (23 °С и 2200 лк) минимальная токсичность соли ртути была зарегистрирована на 7-е сутки ($EC_{50} = 20,9 \pm 1,6$ $мкг \cdot л^{-1}$). Однако к концу эксперимента (14-е сутки) наблюдалась 100% гибель исследуемой культуры, что свидетельствовало о высоком токсическом эффекте соли ртути на данный штамм цианобактерий.

При изолированном снижении освещенности до 500 лк, в начале эксперимента наблюдался минимальный токсический эффект соли ртути ($EC_{50} = 600,5 \pm 10,52$ $мкг \cdot л^{-1}$). В динамике, начиная с 7-х суток и до конца наблюдения, отмечалось увеличение токсичности в 38,7–500,4 раза по сравнению с исходными данными с максимальной выраженностью на 7-е сутки.

При изолированном снижении температуры среды до 15 °С максимальный токсический эффект соли ртути отмечался на 7-е сутки ($EC_{50} = 1,3 \pm 0,3$ $мкг \cdot л^{-1}$), а минимальный – на 10-е сутки ($EC_{50} = 24,8 \pm 1,5$ $мкг \cdot л^{-1}$).

При максимально некомфортных условиях (температура 15 °С, освещенность 500 лк) токсический эффект соли ртути, как и при действии солей меди и кадмия, был максимально высоким ($EC_{50} = 1,6 \pm 0,1$ – $1,8 \pm 0,1$ $мкг \cdot л^{-1}$) и сохранялся на протяжении всего эксперимента (до 14-х суток). В этих условиях культивирования токсический эффект соли ртути был в 4,9–352,9 раза выше, чем при других условиях культивирования. Аналогичная зависимость наблюдалась и в отношении солей других металлов для данного штамма.

При изучении токсичности солей тяжелых металлов для штамма *Synechocystis sp.* PCC 6803 установлено, что при оп-

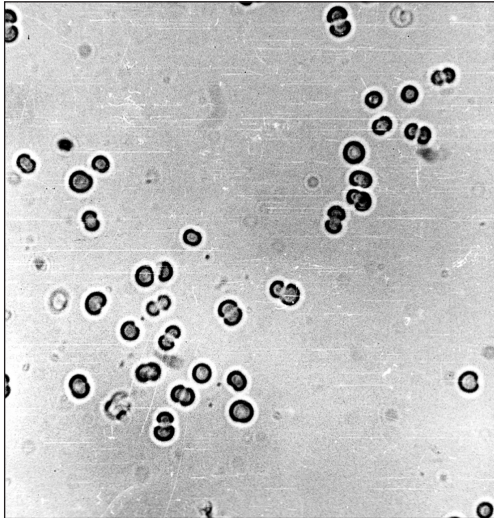


Рис. 1. Результаты световой микроскопии клеток *Synechocystis* sp. в контроле, штамм PCC 6803 ($\times 40$). Масштаб: 10 мкм.

тимальных условиях культивирования наибольшую токсичность проявили соли серебра и ртути ($EC_{50} = 15,1 \pm 1,1$ мкг \cdot л $^{-1}$; $EC_{50} = 18,3 \pm 1,2$ мкг \cdot л $^{-1}$ соответственно). Проявление токсического эффекта исследуемых токсикантов убывало в следующей последовательности: Ag > Hg > Cd > Cu. Результаты исследования токсичности соли серебра для штамма *Synechocystis* sp. PCC 6803 представлены в табл. 2.

Согласно приведенным данным, при 23°C и 2200 лк в динамике к 14-м суткам наблюдалось постепенное увеличение токсического эффекта соли серебра в отношении культуры *Synechocystis* sp. PCC 6803. Так, если минимальный токсический эффект исследуемой соли был зафиксирован на 4-е сутки и составил $750,9 \pm 5,6$ мкг \cdot л $^{-1}$, то к 14-м суткам среднееэффективная концентрация серебра равнялась $15,1 \pm 1,1$ мкг \cdot л $^{-1}$, что в 50 раз больше исходных данных.

При снижении освещенности до 500 лк и оптимальной температуре максимальная токсичность соли серебра отмечалась на 4-е сутки. В динамике наблюдалось снижение токсического эффекта AgNO₃, и к концу эксперимента исследуемый показатель был почти в 6 раз выше исходных данных ($EC_{50} = 95,3 \pm 5,5$ мкг \cdot л $^{-1}$). Таким образом, снижение освещенности среды с 2200 лк до 500 лк при температуре 23°C, по-видимому, способствовало включению адаптационных механизмов для *Synechocystis* sp. PCC 6803, что приводило к снижению чувствительности цианобактерий к токсическому действию соли серебра.

При изолированном снижении температуры до 15°C наблюдался постоянно высокий токсический эффект соли серебра, который был в 12,2–63,1 раза выше по сравнению с оптимальными условиями культивирования.

При одновременном снижении температуры и освещенности среды максимальный токсический эффект соли серебра отмечался на 10-е сутки ($EC_{50} = 4,0 \pm 0,5$ мкг \cdot л $^{-1}$), а минимальный – на 4-е сутки ($EC_{50} = 17,6 \pm 1,5$ мкг \cdot л $^{-1}$). В этих условиях токсический эффект соли серебра был значительно ниже (в 3,9–18,2 раза), чем при изолированном снижении освещенности среды до 500 лк, но выше в 1,2–43,4 раза по сравнению с оптимальными условиями культивирования.

Для изучения основных проявлений цитотоксического действия солей тяжелых металлов исследовали их влияние на структурные изменения цианобактерий.

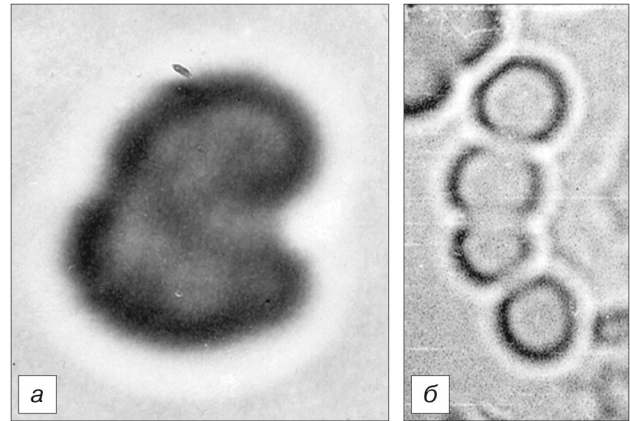


Рис. 2. Результаты световой микроскопии клеток *Synechocystis* sp. к 7-м суткам инкубации в среде с исследуемыми солями тяжелых металлов.

a – атипичная форма клетки штамма CALU 713 ($\times 90$); *б* – формирование многоклеточных цепочек у штамма PCC 6803 ($\times 90$). Масштаб: 2 мкм.

Для решения этой задачи мы использовали световую и электронную микроскопию. Исследование проводили на 7-е сутки инкубации цианобактерий с солями тяжелых металлов, поскольку к этому времени культуры цианобактерий достигают оптимальной репродуктивной активности [5].

В результате проведенных исследований установлено, что в контроле при оптимальных условиях культивирования (23°C, 2200 лк) оба штамма *Synechocystis* sp. CALU 713 и PCC 6803 были представлены клетками сферической формы. Диаметр клеток 2–3 мкм. Клетки в культуре обычно располагались парами (рис. 1).

В присутствии солей тяжелых металлов у цианобактерий были обнаружены изменения формы и размеров клеток – наблюдалось появление как относительно крупных (до 4,7 мкм), так и мелких клеток (до 1,3 мкм), отмечено появление атипичных форм клеток, а также появление нехарактерных для данных штаммов многоклеточных цепочек (рис. 2).

Выявленные, по данным световой микроскопии, морфологические признаки токсического действия солей тяжелых металлов позволили предположить отражение этого эффекта и на ультраструктурном уровне.

В связи с этим были проведены исследования ультраструктуры клеток цианобактерий на трансмиссионном электронном микроскопе. Установлено, что в контроле у цианобактерий

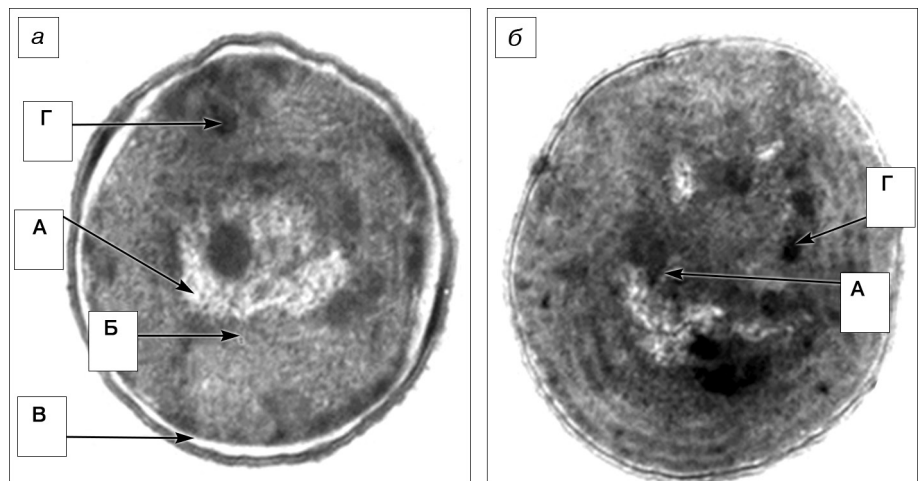


Рис. 3. Результаты электронной микроскопии клеток *Synechocystis* sp. к 7-м суткам инкубации в среде с солью ртути Hg(CH₃COO)₂.

a – штамм PCC 6803; *б* – штамм CALU 713; А – зона нуклеоида; Б – деструкция тилакоидов в хромоплазме; В – отслоение клеточной стенки; Г – полифосфатные тела. Масштаб: 0,5 мкм.

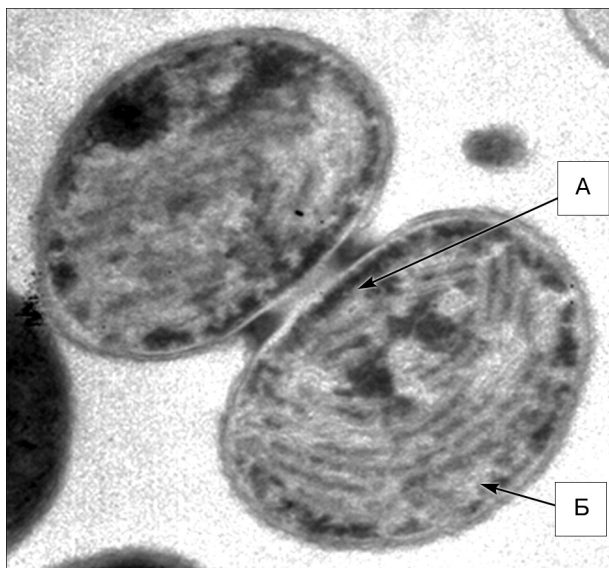


Рис. 4. Результаты электронной микроскопии клеток *Synechocystis sp.* штамм CALU 713 к 7-м суткам инкубации в среде с солью ртути $\text{Hg}(\text{CH}_3\text{COO})_2$.

А – мурейн; Б – деструкция тилакоидов. Масштаб: 0,5 м.

внутриклеточные органеллы тилакоиды расположены в концентрических рядах, наружный чехол дифференцирован слабо. Область нуклеоида зернистой структуры, четко выражена, сферической формы у штамма PCC 6803 и полигональной формы у штамма CALU 713.

При культивировании *цианобактерий* в средах с солями тяжелых металлов выявлены изменения ультраструктуры клеток, однотипные при действии всех исследованных солей тяжелых металлов. Так, наблюдалось утолщение клеточной стенки, был зарегистрирован плазмолиз (отслоение клеточной стенки от протопласта), отмечена деструкция тилакоидных мембран. В нуклеоплазме выявлялось накопление полифосфатных гранул, по-видимому, играющих важную роль в связывании ионов металлов и их детоксикации. Цитоплазма теряла характерную зернистость, и в ней появлялись обширные светлые участки. Нуклеоид, в норме гомогенный, агрегировал в нерегулярно расположенные плотные тяжи (рис. 3). При культивировании *цианобактерий* в средах, содержащих соли тяжелых металлов, происходило скопление мурейна в области септы, что препятствовало процессу деления клеток (рис. 4).

Заключение

В результате проведенных исследований установлено наличие значительной чувствительности *Synechocystis sp.* PCC 6803 и CALU 713 к токсическому действию солей тяжелых металлов. Однако наибольшую чувствительность к токсическому действию солей всех исследованных тяжелых металлов проявляют *цианобактерии Synechocystis sp.* штамма CALU 713. На выраженность токсического эффекта солей тяжелых металлов наиболее существенное влияние оказывало снижение температуры среды, в меньшей степени – освещенности. Установлено, что изолированное снижение освещенности среды значительно влияло на токсический эффект солей меди и ртути и практически не действовало на токсичность солей кадмия и серебра. А при изолированном снижении температурных условий изменялась чувствительность данных штаммов, в основном к токсическому действию солей меди и серебра. Одновременное снижение температуры и освещенности среды сопровождалось усилением выраженности токсического эффекта всех исследуемых солей тяжелых металлов. При культивировании *цианобактерий* в средах с солями тяжелых металлов наблюдались изменения ультраструктуры клеток, однотипные при действии всех исследованных солей тяжелых металлов.

Таким образом, чувствительность *цианобактерий* к токсическому действию исследованных тяжелых металлов позволяет рекомендовать эти микроорганизмы в качестве тест-объекта в альтернативных методах исследования токсичности ксенобиотиков, в том числе металлосодержащих загрязнителей продукции и материалов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.
Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Богачева А.С., Шилов В.В., Полозова Е.В. Токсичность соли кадмия для *цианобактерий*. В кн.: *Чрезвычайные ситуации: организационные, эколого-гигиенические и эпидемиологические проблемы. Материалы XXXXIII научной конференции «Хлопинские чтения»*. СПб.; 2010: 140–3.
2. Куценко С.А. *Основы токсикологии*. СПб.: Фолиант; 2004.
3. Полозова Е.В., Богачева А.С., Шилов В.В., Салова Л.С. Исследование токсичности химических веществ с использованием биологических тестов (альтернативных методов). *Вестник Российской военной медицинской академии*. 2008; (1): 23–7.
4. Другов Ю.С., Родин А.А. *Анализ загрязненных биосред и пищевых продуктов*. М.: Бином-Лаборатория знаний; 2007.
5. Еськов А.П. Токсикологические испытания. Альтернативные методы. *Токсикологический вестник*. 2003; (5): 25–9.
6. Красовский Г.Н. Проблема биотестирования в токсиколого-гигиенических исследованиях. *Токсикологический вестник*. 2005; (3): 29–34.
7. Баулина О.И. Ультраструктурная пластичность *цианобактерий*. В кн.: *Всероссийский симпозиум «Автотрофные микроорганизмы»*. М.; 2005.
8. Бреховских А.А. *Защитные механизмы автотрофной цианобактерии Nostoc muscorum от токсического воздействия ионов кадмия*. М.: МГУ; 2006.
9. Гусев М.В. *Микробиология*. М.: Академия; 2003.
10. Заварзин Г.А. *Бактериальная палеонтология*. М.: ПИН РАН; 2002.
11. Нетрусов А.И. *Микробиология*. М.: Академия; 2006.
12. Громов Б.В. *Ультраструктура сине-зеленых водорослей*. Ленинград: Наука; 1976.

References

1. Bogacheva A.S., Shilov V.V., Polozova E.V. The toxicity of cadmium salts for cyanobacteria. In: *Emergencies: Institutional, Ecological-hygienic and Epidemiological Problems. Materials of XXXXIII Scientific Conference «Hlopinskiy Readings»*. [Chrezvychaynye situatsii: organizatsionnyye, ekologo-gigienicheskie i epidemiologicheskie problemy. Materialy XXXXIII nauchnoy konferentsii «Khlupinskiy chteniya»]. St. Petersburg; 2010: 140–3. (in Russian)
2. Kutsenko S.A. Basics of Toxicology [Osnovy toksikologii]. St. Petersburg.: Foliant; 2004. (in Russian)
3. Polozova E.V., Bogacheva A.S., Shilov V.V., Salova L.S. A study of chemicals toxicity using biological tests (alternative techniques). *Vestnik Rossiyskoy voenno-meditsinskoy akademii*. 2008; (1): 23–7. (in Russian)
4. Drugov Yu.S., Rodin A.A. *Analysis of Contaminated Biological Media and Food Products [Analiz zagryaznennykh biosred i pishchevykh produktov]*. Moscow: Binom-Laboratoriya znaniy; 2007. (in Russian)
5. Es'kov A.P. Toxicological testing. Alternative methods. *Toksikologicheskii vestnik*. 2003; (5): 25–9. (in Russian)
6. Krasovskiy G.N. The problem of bioassay in Toxicological and hygienic studies. *Toksikologicheskii vestnik*. 2005; (3): 29–34. (in Russian)
7. Baulina O.I. Ultrastructural plasticity of cyanobacteria. In: *All-Russian Symposium «Autotrophic microorganisms» [Vserossiyskiy simpozium «Avtotrofnyye mikroorganizmy»]*. Moscow; 2005. (in Russian)
8. Brekhovskikh A.A. *Protective Mechanisms of Autotrophic Cyanobacterium Nostoc muscorum Against the Toxic Effects of Cadmium Ions [Zashchitnyye mekhanizmy avtotrofnoy tsianobakterii Nostoc muscorum ot toksicheskogo vozdeystviya ionov kadmiya]*. Moscow: MGU; 2006. (in Russian)
9. Gusev M.V. *Microbiology [Mikrobiologiya]*. Moscow: Akademiya; 2003. (in Russian)
10. Zavarzin G.A. *Bacterial Paleontology [Bakteri'naya paleontologiya]*. Moscow: PIN RAN; 2002. (in Russian)
11. Netrusov A.I. *Microbiology [Mikrobiologiya]*. Moscow: Akademiya; 2006. (in Russian)
12. Gromov B.V. *Ultrastructure of Blue-green Algae [Ul'trastruktura sine-zelemykh vodorosley]*. Leningrad: Nauka; 1976. (in Russian)

Поступила 15.03.17

Принята к печати 05.07.17