

УДК 581.1

СОЗДАНИЕ КОНСОРЦИУМА ВЫСШИХ ВОДНЫХ РАСТЕНИЙ И МИКРОВОДОРОСЛЕЙ ДЛЯ ОЧИСТКИ СТОЧНЫХ ВОД ОТ ИОНОВ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

© 2018 г. Н. Р. Акмуханова, Б. К. Заядан, А. К. Садвакасова¹,
К. Болатхан, М. О. Бауенова

Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Алматы, Казахстан

Поступила в редакцию 02.03.2017 г.

Проведен отбор высших водных растений (ВВР) и микроводорослей, обладающих высокой сорбционной способностью в отношении тяжелых металлов, для создания консорциума с целью его использования в очистке загрязненных водных экосистем. Исследовано накопление тяжелых металлов Cd^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} растениями *Pistia stratiotes*, *Elodea canadensis*, *Lemna minor* и зелеными микроводорослями *Chlorella vulgaris* ВВ-2, *Ankistrodesmus* sp. ВІ-1, *Chlamydomonas reinhardtii* В-4 и *Scenedesmus quadricauda* В-1. Установлено, что интенсивное накопление металлов наблюдается в культурах ВВР *Pistia stratiotes* и *Elodea canadensis*. Эти растения являются макроконцентраторами по отношению к цинку, свинцу и меди, и микроконцентраторами по отношению к кадмию. Из исследованных культур микроводорослей эффективными биоаккумуляторами тяжелых металлов являлись *C. vulgaris* ВВ-2 и *Ankistrodesmus* sp. ВІ-1. Установлено, что тяжелые металлы из среды селективно поглощаются в последовательности $Zn^{2+} > Cu^{2+} > Cd^{2+} > Pb^{2+}$. С целью создания консорциума высших водных растений и микроводорослей для очистки загрязненных водных экосистем исследовано взаимодействие ВВР *P. stratiotes* и *E. canadensis* с микроводорослями *C. vulgaris* ВВ-2 и *Ankistrodesmus* sp. ВІ-1 при их совместном культивировании. Установлено, что между клетками микроводорослей *C. vulgaris* ВВ-2, *Ankistrodesmus* sp. ВІ-1 и ВВР *E. canadensis* сформировался нейтральный тип взаимоотношений. В то же время клетки *Ankistrodesmus* sp. ВІ-1 и ВВР *P. stratiotes* демонстрировали симбиоз. Микроскопический анализ показал обильное прикрепление к корням растения *P. stratiotes* клеток микроводорослей *Ankistrodesmus* sp. ВІ-1. Изучена возможность применения консорциума *P. stratiotes* и *Ankistrodesmus* sp. ВІ-1 для очистки моделированной сточной воды, загрязненной ионами тяжелых металлов. Показана способность этого консорциума к выведению загрязняющих веществ из сточных вод до нормативных значений и активное накопление ионов тяжелых металлов.

Ключевые слова: консорциум – высшие водные растения – микроводоросли – сточные воды – тяжелые металлы

DOI: ...

ВВЕДЕНИЕ

Очистка бытовых и сточных вод промышленных предприятий является актуальной экологической проблемой во многих регионах планеты. Как известно, несмотря на все меры и методы, применяемые для очистки сточных вод, загрязнители продолжают поступать в водные объекты. Одними из наиболее опасных загрязнителей являются ионы

тяжелых металлов (ТМ). Известно, что тяжелые металлы могут образовывать чрезвычайно токсичные соединения, взаимодействуя с другими веществами, и накапливаться в пищевой цепи “вода – растения – животные – человек” в количествах, многократно превышающих их содержание в водных объектах, что может быть причиной различных заболеваний нервной системы и ряд других, включая онкологические [1].

Для ускорения процессов очистки и восстановления нарушенных водных экосистем необходимо использовать биологические резервы не только бактерий, но и других сообществ, включающих организмы с разными биохимическими возможностями. Природные ассоциации имеют значительно более богатый набор восстановительных функций,

Сокращения: ТМ – тяжелые металлы; ВВР – высшие водные растения.

¹Адрес для корреспонденции: Садвакасова Асем Каликумаровна. Республика Казахстан, 050040 Алматы, ул. Тимирязева 71. КазНУ имени аль-Фараби, факультет биологии и биотехнологии, корпус 6. Электронная почта: asem182010@gmail.com

так как всегда включают в себя фотосинтезирующие организмы – высшие растения, эукариотические водоросли и цианобактерии [2].

Использование в искусственных системах очистки воды консорциумов организмов различных таксономических групп, применение активных штаммов микроорганизмов-деструкторов, выделение и использование устойчивых к загрязненным водам микроводорослей, а также введение в очищающий консорциум высших водных растений, позволяет создать новую комплексную биотехнологию очистки и восстановления водоемов, загрязненных различными поллютантами, в том числе и тяжелыми металлами. При этом экспериментальные данные о количественных взаимоотношениях ТМ в системе окружающая среда – растение необходимы и могут способствовать научно-обоснованному решению вопроса о выборе культур для биоремедиации загрязненной воды.

В связи с этим, поиск и подбор активных биообъектов для создания консорциума, выявление основных типов взаимоотношений между ними в искусственно сформированных ассоциациях и создание на этой базе консорциума с обширным спектром сорбции тяжелых металлов, его широкое применение для биоремедиации природных и сточных вод представляет особую актуальность.

В этой работе мы попытались создать консорциум высших водных растений (ВВР) и микроводорослей и изучить возможности его применения для очистки сточных вод, загрязненных ионами тяжелых металлов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объекты исследования: природные и коллекционные штаммы микроводорослей: *Chlorella vulgaris* ВВ-2, *Scenedesmus quadricauda* В-1, *Chlamydomonas reinhardtii* В-4, *Ankistrodesmus* sp. В1-1 и высшие водные растения: *Pistia stratiotes* (пистия слоистая), *Lemna minor* (ряска малая), *Elodea canadensis* (элодея канадская).

Перед постановкой опыта клетки микроводорослей пересеивали со скошенного агара или из жидкой среды хранения в колбы со свежеприготовленной питательной средой того же состава, который в дальнейшем использовался в опыте. В опытах по сравнению различных культур подготовительный высеив проводили для всех форм в один и тот же день и с одинаковым по числу клеток или по биомассе количеством микроводорослей. Культуры микроводорослей подращивали 4–6 дней при освещении 60 Вт/м². Штаммы микроводорослей культивировали на жидких

и агаризованных питательных средах 04, Тамия, L2-min [3]. Микроводоросли выращивали в конических колбах объемом 250–1000 мл при освещении лампами дневного света (60 Вт/м²) и температуре 25–28 °С.

При изучении влияния тяжелых металлов на ВВР металлы вносили в питательные среды в виде солей: $\text{CuSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, PbSO_4 , $\text{CdCl}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ в концентрациях 0.01 до 1 мг/л из расчета 10 ПДК на ион каждого металла. Для *P. stratiotes* в 4 емкости объемом 500 мл к дистиллированной воде до 5% добавляли среду Штейнберга [4]. Для эксперимента отбирали крупные и средние экземпляры с диаметром розетки 6–12 см и массой 4.0–13.0 г в количестве 5 штук. Для эксперимента с элодеей был произведен отбор растений, сходных по морфологическим параметрам. Верхушечные мутовки элодеи по 5 экземпляров помещались в емкости объемом 500 мл с отстоянной водопроводной водой с добавлением 5% среды Хогланда-Арнона [5], при температуре 23–25 °С и естественном освещении. Растения ряски выращивали в стеклянных емкостях объемом 500 мл при комнатной температуре 20–22 °С и постоянном освещении люминесцентной лампой. В качестве питательной среды использовалась среда Штейнберга. В стаканы, содержащие питательную среду с определенной концентрацией ТМ, помещали растения. Сосуды помещали под люминесцентную лампу с интенсивностью освещения 60 Вт/м² при комнатной температуре. Отобранные для анализа пробы растительного материала отмывали в течение 3 мин 0.01% раствором Na-ЭДТА, затем в течение 3–5 мин трижды промывали дистиллированной водой для удаления металлов, сорбированных на поверхности.

При изучении влияния тяжелых металлов на микроводоросли металлы вносили в соответствующие питательные среды (04, Тамия, L2-min) в виде солей $\text{CuSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, PbSO_4 , $\text{CdCl}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ в концентрации 0.01 до 1 мг/л из расчета 10 ПДК на ион каждого металла. Культивирование проводили в течение 6 суток в конических колбах объемом 250 мл при освещении лампами дневного света (30–60 Вт/м²), температуре 25–28 °С и постоянной аэрации. Биомассу микроводорослей после культивирования отбирали центрифугированием на Centrifuge 5810 R (“Eppendorf”, Германия) в течение 15 мин при 3000 об/мин.

Содержание тяжелых металлов в тканях исследованных растений и биомассе микроводорослей определяли методом атомно-адсорбционной спектроскопии с помощью спектрометра “МГА-915МД” (“Атомприбор”, Россия) после мокрого озоления 70% HNO_3 (о.с.ч.) [6].

Для определения взаимоотношений высших водных растений *P. stratiotes*, и *E. canadensis* и микроводорослей *C. vulgaris* ВВ-2 и *Ankistrodesmus* sp. В1-1 выращивали их совместно в лабораторных условиях. Для этого в стерильные стаканы наливали по 250 мл стерильной питательной среды, затем вносили культуру микроводорослей с исходным количеством 10^6 клеток/мл и помещали по пять растений. Одновременно с опытными вариантами (микроводоросли + ВВР) исследовали контрольные варианты монокультур в тех же условиях. Все варианты опыта ставили в трех повторностях. Через 7 суток проводили сравнительный анализ роста и морфологических изменений растений и микроводорослей опытных и контрольных вариантов.

Для изучения очистительных свойств полученных консорциумов в сточные воды, взятые из накопителя “Сорбулак” очистных сооружений г. Алматы, содержащие различные минеральные вещества, вносили соли тяжелых металлов (Cd^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+}) в концентрации по 20 мг/л каждая, и при перемешивании вводили десять ВВР *P. stratiotes* на 10 л, а также *Ankistrodesmus* sp. В1-1 с расчетом $2.5 \cdot 10^7$ клеток/мл. Культивировали в течение 48 ч. Затем *P. stratiotes* и *Ankistrodesmus* sp. В1-1 отделяли от раствора методом фильтрации и центрифугирования. После этого определяли содержание биогенных элементов и ионов исследуемых тяжелых металлов в надосадочной жидкости.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Отбор высших водных растений (ВВР) для использования в очистке водных экосистем, загрязненных тяжелыми металлами

По величине аккумуляции ТМ водные растения условно подразделяют на макро-, микро- и деконцентраторы [7]. При разных уровнях содержания металлов в донных отложениях один и тот же вид ВВР может относиться к разным классификационным группам. По характеру накопления и распределения металлов в зависимости от содержания их в среде обитания растения также делят на 3 группы: 1) “накопители” характеризуются повышенным содержанием металлов в органах независимо от концентрации последних в среде обитания; 2) “индикаторы” – поглощение металлов пропорционально их концентрации в среде обитания; 3) “исключители” – внутриклеточная концентрация данного металла поддерживается на постоянно низком уровне независимо от внешних концентраций [8].

Мы исследовали накопление тяжелых металлов (Cd^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+}) растениями *P. stratiotes*, *E. canadensis*, *L. minor* при концентрации металлов в расчете 10 ПДК. Результаты анализа количества тяжелых металлов в растениях показали, что почти все металлы проявляли тенденцию накапливаться в растительных тканях.

Анализ полученных экспериментальных данных показал, что в среде после культивирования растений концентрация изучаемых металлов значи-

Таблица 1. Накопление тяжелых металлов высшими водными растениями

Растение	Me ²⁺	Начальная концентрация Me ²⁺ в среде, мг/л	Конечная концентрация металла в надосадочной жидкости, мг/л	Концентрация Me ²⁺ в растениях, мг/л	Коэффициент накопления Me ²⁺ в растениях, %
<i>Lemna minor</i>	Zn	1	0.256 ± 0.001	0.74 ± 0.001	74
<i>Pistia stratiotes</i>	Zn	1	0.02 ± 0.001	0.978 ± 0.001	98
<i>Elodea canadensis</i>	Zn	1	0.139 ± 0.001	0,86 ± 0,001	86
<i>L. minor</i>	Cu	1	0.28 ± 0.00015	0.719 ± 0.00015	72
<i>P. stratiotes</i>	Cu	1	0.2 ± 0.0001	0.978 ± 0.0001	98
<i>E. canadensis</i>	Cu	1	0.07 ± 0.0001	0.931 ± 0.0001	93
<i>L. minor</i>	Pb	0.3	0.80 ± 0.0005	0.219 ± 0.0002	73
<i>P. stratiotes</i>	Pb	0.3	0.054 ± 0.002	0.246 ± 0.001	82
<i>E. canadensis</i>	Pb	0.3	0.045 ± 0.0001	0.255 ± 0.0003	85
<i>L. minor</i>	Cd	0.01	0.003 ± 0.0006	0.006 ± 0.0007	60
<i>P. stratiotes</i>	Cd	0.01	0.0020 ± 0.001	0.0080 ± 0.001	80
<i>E. canadensis</i>	Cd	0.01	0.0020 ± 0.001	0.0080 ± 0.001	80

тельно снизилась. Из исследуемых тяжелых металлов в высших водных растениях в наибольшей степени аккумулировался Zn^{2+} , содержание ТМ в биомассе растений колебалось от 0.74 до 0.978 мг/г. При этом максимальный показатель накопления цинка у *P. stratiotes* составил 98% и у *E. canadensis* 86% от начальной внесенной концентрации Zn^{2+} . *L. minor* накапливала данный элемент меньше, процентное содержание накопленного растением металла составило 74%. Аналогичная картина наблюдалась и в отношении ионов меди. Наибольший показатель накопления Cu^{2+} был у *P. stratiotes* – 97%, затем *E. canadensis* – 93%, наименьший – *L. minor* – 71%. Количество накопленного Pb^{2+} находилось в диапазоне от 0.219 до 0.255 мг/г сухого веса. При этом его наибольшее содержание было у *E. canadensis* (85%). Процентное содержание сорбированного Cd^{2+} оказалось низким во всех исследованных растениях (табл. 1). Наибольшее накопление (80%) демонстрировали *P. stratiotes* и *E. canadensis*.

Таким образом, установлены различия в накоплении тяжелых металлов у изучаемых видов ВВР. Анализируя полученные данные, так же можно сделать предположение о том, что доступность ТМ для ВВР зависит от их “биологии” (принадлежности к той или иной группе – накопителей, исключателей или индикаторов), которая, при одинаковом количестве ТМ, определяет их содержание, динамику накопления и абсолютные количества. По поглощению ТМ изученные нами виды ВВР образуют ряды, представленные в таблице 2.

Водные растения независимо от их принадлежности к различным экологическим группам в процессе своей жизнедеятельности могут накапливать элементы в довольно высоких концентрациях [9]. Исследования ВВР являются необходимой составляющей мониторинга водных объектов, т.к. компоненты природной среды демонстрируют различный отклик на техногенное вмешательство. Способность накопления химических элементов имеет большое значение в оценке качества вод. Таким образом, накапливая значительную часть тяжелых металлов в своей фитомассе, ВВР выполняют роль мощного биофильтра, способствуя самоочищению экосистемы водоема. Нами установлено, что *P. stratiotes* и *E. canadensis* являются макроконцентраторами по отношению к ионам цинка, свинца и меди, и микроконцентраторами по отношению к ионам кадмия. *L. minor* является микроконцентрактором всех исследованных тяжелых металлов. Проведенные исследования показали, что наиболее интенсивно вовлекаются в миграционные циклы Zn^{2+} и Cu^{2+} , а в меньшей степени – Pb^{2+} , Cd^{2+} . Такая избирательная способность Zn и Cu накапливаться в растительных тканях, возможно,

связана с их участием в процессах метаболизма в составе пигментов, витаминов, ферментов.

Отбор микроводорослей для использования в очистке загрязненных водных экосистем

В прибрежных экосистемах водоросли аккумулируют металлы по “групповому типу” накопления, т.е. способны к повышенному накоплению определенной группы металлов (табл. 3). Причем определенный вид водорослей и высших водных растений могут накапливать характерную для него группу, состоящую из пяти–семи металлов. Например, водоросли Ceramiales в большей степени концентрируют Ti, Mn, Fe, V [10]. В то же время некоторым водорослям свойственен “селективный тип” аккумуляции металлов, в том числе и токсичных. Как известно, избирательное концентрирование элементов водорослями и толерантность организма находится под генетическим контролем. К примеру, некоторые водоросли способны к селективному накоплению цинка. К ним относятся виды рода *Fucus*. У берегов Норвегии, в районах с антропогенным загрязнением содержание цинка у *Fucus evanesceus* достигало 2207 мкг/г. Селективный тип накопления тяжелых металлов водорослями подчеркивает их важную биогеохимическую роль в распределении как микроэлементов, так и токсичных металлов между абиотической и биотической компонентами морских прибрежных экосистем. Это свойство некоторых водорослей позволяет использовать их в составе биофильтров и консорциумов при очистке локального загрязнения водных экосистем [11].

При внесении в культуральную среду $CuSO_4 \cdot 2H_2O$ в концентрации 1 мг/л содержание меди в клетках *C. vulgaris* и *Ankistrodesmus* sp. резко возрастало уже через 6 ч и в дальнейшем в течение 6 суток постепенно увеличивалось. Так, на 6 сутки накопление Cu клетками *C. vulgaris* составило 0.92 мг/л, клетками *Ankistrodesmus* sp. – 0.89 мг/л. В клетках *C. reinhardtii*, *S. quadricauda* наблюдалось накопление меди через 24 ч культивирования в концентрации 0.49 мг/л и снижение концентрации к 6 суткам культивирования в среднем до 0.37 мг/л.

При исследовании динамики убывания Zn в культуральной среде в процессе развития культур микроводорослей было обнаружено, что

Таблица 2. Ряды поглощения ионов тяжелых металлов высшими водными растениями

Растения	Тяжелые металлы
<i>Lemna minor</i>	Zn > Pb > Cu > Cd
<i>Pistia stratiotes</i>	Zn > Cu > Pb > Cd
<i>Elodea canadensis</i>	Cu > Zn > Pb > Cd

Таблица 3. Накопление ионов тяжелых металлов клетками микроводорослей

Штамм микроводорослей	Накопление различных ионов тяжелых металлов клетками микроводорослей, мг/л			
	Cu ²⁺	Cd ²⁺	Zn ²⁺	Pb ²⁺
<i>Chlorella vulgaris</i> BB-2	0.921 ± 0.02	0.004 ± 0.0001	0.853 ± 0.01	0.105 ± 0.01
<i>Ankistrodesmus</i> sp. BI-1	0.892 ± 0.02	0.006 ± 0.0002	0.902 ± 0.03	0.097 ± 0.002
<i>Scenedesmus quadricauda</i> B-1	0.453 ± 0.01	0.004 ± 0.0001	0.877 ± 0.01	0.086 ± 0.002
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> B-4	0.303 ± 0.01	0.006 ± 0.0001	0.893 ± 0.02	0.090 ± 0.003

максимальное поглощение металла клетками всех исследованных культур микроводорослей происходит в течение первых 24 ч после его внесения в среду. Уже через 6 ч после внесения Zn в концентрации 1.0 мг/л в среде обнаруживается значительное снижение Zn, в среднем до 0.75 мг/л. Через 24 ч из среды поглощалось уже до 0.85 мг/л ионов цинка, на 6 сутки культивирования в среднем накапливалось до 0.90 мг/л.

Все исследованные культуры микроводорослей показали высокую кумулятивную активность в отношении цинка, что в первую очередь, по видимому, связано с его необходимостью фотосинтезирующим организмам для нормального роста, в частности для транспорта электронов и функционирования многих ключевых ферментов, а также его меньшей токсичностью по сравнению с другими исследованными ионами металлов [12]. При этом, для получения Zn в достаточных для метаболизма количествах клетки используют несколько типов белков, которые вовлечены в его связывание и транспорт. Доказана возможность транспортировки цинка в клетках водорослей и растений белками семейств CDF и ZIP [13]. Задействованные в транспорте металлов белки характеризуются как высоким, так и низким сродством к переносимым ионам. Широкий спектр генов, участвующих в синтезе транспортных белков, предоставляет возможность для функционирования регуляторных механизмов, способствующих адаптации водорослей и растений к высоким концентрациям ТМ в окружающей среде.

Изучение динамики накопления ионов кадмия в клетках микроводорослей при внесении кадмия в среду в концентрации 0.01 мг/л. показало, что культуры *C. reinhardtii* и *Ankistrodesmus* начинают активно накапливать кадмий в первые 6 ч культивирования. В течение 6 ч концентрация кадмия в надосадочной жидкости снижалась в среднем до 0.0068 мг/л, а его количество в клетках достигало 0.0030 мг/л. На 6 сутки культивирования накопление металла клетками этих культур составило в среднем 0.0060 мг/л.

Клетки *C. vulgaris* и *S. quadricauda* в первые часы поглощали относительно небольшие количества кадмия. Однако при продолжительном культивировании в присутствии ионов Cd²⁺ внутриклеточное количество этих ионов несколько возрастало. Накопление кадмия клетками *C. vulgaris* и *S. quadricauda* в среднем составило 0.0042 мг/л.

Анализ накопления свинца в процессе культивирования микроводорослей при внесении его в культуральную среду в концентрации 0.3 мг/л показал, что накопление клетками данного металла значительно ниже, по сравнению с остальными ТМ. Так накопление свинца клетками *Ankistrodesmus* sp. составило 0.097 мг/л, для *C. vulgaris* этот показатель – 0.105 мг/л, *S. quadricauda* накапливает до 0.086 мг/л и *C. reinhardtii* – 0.090 мг/л, что в среднем составляет 31% от внесенной начальной концентрации металла, при этом подавляющее количество свинца поглощалось к 24 ч опыта.

Таким образом, наиболее эффективными биоаккумуляторами ТМ среди исследованных микроводорослей оказались *C. vulgaris* и *Ankistrodesmus* sp. Предпочтения клеток в отношении поглощения ТМ из среды описывается следующим рядом: Zn²⁺ > Cu²⁺ > Cd²⁺ > Pb²⁺ (табл. 3).

Эти данные свидетельствуют о существенном различии в скорости и степени аккумуляции тяжелых металлов клетками различных микроводорослей.

Создание консорциума высших водных растений и микроводорослей для очистки загрязненных водных экосистем

Структура и функциональные особенности группировок водорослей и цианобактерий во многом зависят от того, развиваются они самостоятельно или с высшими водными растениями. Внесение азота (400 мг/дм³) в биотопах без макрофитов вызывало интенсивное развитие цианобактерий с доминированием вида *Oscillatoria planctonica*. В то же время в биотопах с макрофитами отмечалось лишь временное усиление развития зеленых водорослей с последующим возобновлением домини-

Таблица 4. Влияние высших водных растений на рост микроводорослей

Штамм микроводорослей	Исходное количество клеток микроводорослей, 10 ⁶ клеток/мл	Количество клеток микроводорослей без ВВР, 10 ⁶ клеток/мл	Количество клеток микроводорослей с ВВР, 10 ⁶ клеток/мл	
			<i>Pistia stratiotes</i>	<i>Elodea canadensis</i>
<i>Chlorella vulgaris</i> ВВ-2	1 ± 0.1	9.2 ± 0.04	9.1 ± 0.02	9.3 ± 0.01
<i>Ankistrodesmus</i> sp. ВI-1	1 ± 0.2	9.1 ± 0.02	9.4 ± 0.01	9.0 ± 0.02

рования диатомовых на фоне почти полного изъятия азота (до 2.3 мг/дм³). Таким образом, ВВР существенно влияют как на гидрохимический режим водоемов, так и на альгосообщества [14].

Для определения взаимодействия ВВР *P. stratiotes* и *E. canadensis* и микроводорослей *C. vulgaris* и *Ankistrodesmus* sp. их выращивали совместно в лабораторных условиях. Через 7 суток проводили анализ изменений количества микроводорослей при совместном культивировании с ВВР (табл. 4).

При совместном выращивании микроводоросли *C. vulgaris* с ВВР наблюдалась незначительная (2%-ный прирост) стимуляция роста хлореллы. При этом клетки хлореллы размножались свободно, не прикрепляясь к растениям. Одновременно никакого отрицательного влияния хлореллы на

рост ВВР не наблюдалось. Установлено, что между клетками *C. vulgaris* и ВВР сформировался нейтральный тип взаимоотношения. Аналогичная картина наблюдалась и при совместном культивировании *E. canadensis* с клетками *Ankistrodesmus* sp.

Между тем совместное культивирование *Ankistrodesmus* sp. и *P. stratiotes* выявило симбиотический тип взаимоотношений. Микроскопический анализ показал обильное прикрепление к корням растений *Pistia stratiotes* клеток микроводорослей *Ankistrodesmus* sp. ВI-1. На рис. 1 и 2 отчетливо продемонстрировано различие в корневой системе *Pistia stratiotes* до и после культивирования с микроводорослями. Так на рисунке 2 стрелками показано активное прикрепление к корням растения клеток микроводорослей *Ankistrodesmus* sp., наблюдаемое

**Рис. 1.** *Pistia stratiotes* до культивирования с микроводорослями.

На рисунке показана корневая система растения, свободная от клеток микроводорослей, (увеличение ×40)

**Рис. 2.** *Pistia stratiotes* при совместном культивировании с *Ankistrodesmus* sp. ВI-1.

Стрелками указано активное прикрепление микроводорослей к корням растений, (увеличение ×40)

Таблица 5. Степень очистки моделированной сточной воды с помощью консорциума высших водных растений *P. stratiotes* и микроводоросли *Ankistrodesmus* sp. в течение 72 ч

Показатель	Начальная концентрация загрязнителя, мг/л	Конечная концентрация загрязнителя, мг/л		
		<i>Ankistrodesmus</i> sp.	<i>Pistia stratiotes</i>	Консорциум (<i>P. stratiotes</i> + <i>Ankistrodesmus</i> sp.)
БПК ₅ (мг/л O ₂)	62.2	25.6 ± 0.02	12.4 ± 0.03	4.6 ± 0.04
Аммиак	13.7 ± 0.3	1.2 ± 0.01	—	—
Нитриты	0.4 ± 0.01	—	—	—
Нитраты	0.8 ± 0.01	—	—	—
Фосфаты	4.46 ± 0.2	—	—	—
Кадмий	20 ± 0.2	7.8 ± 0.02	7.1 ± 0.02	2.2 ± 0.02
Цинк	20 ± 0.3	6.1 ± 0.03	5.9 ± 0.03	1.4 ± 0.03
Медь	20 ± 0.3	7.3 ± 0.01	6.1 ± 0.02	3.62 ± 0.01
Свинец	20 ± 0.2	7.2 ± 0.05	6.6 ± 0.03	2.0 ± 0.02

при их совместном культивировании (табл. 5). При этом выявлено, что, как клетки микроводоросли *Ankistrodesmus* sp. В1-1, так и *Pistia stratiotes* при совместном культивировании росли активно, более того наблюдалось незначительное увеличение количества клеток микроводорослей в опытном варианте по сравнению с контролем.

Изучение степени очистки загрязненных вод с помощью консорциума ВВР и микроводорослей

Изучение любого метода очистки на начальном этапе исследований целесообразно проводить на модельных растворах-имитаторах. Это позволяет выявить и описать механизмы реакций, происходящих в процессе обработки, идентифицировать наиболее вероятные продукты трансформации основных загрязнителей, оценить динамику их накопления, а также произвести первоначальную оптимизацию параметров процесса очистки [15].

Поскольку основной задачей работы было создание консорциума ВВР и микроводорослей для применения в очистке сточных вод, загрязненных ионами ТМ, мы изучили возможность применения ассоциации *P. stratiotes* и *Ankistrodesmus* по назначению. Для очистки мы использовали бытовые сточные воды, в которые дополнительно вносили соли ТМ. Экспериментальная “сточная вода” характеризовалась показателем биохимического потребления кислорода (БПК₅) 62.2 мг/л O₂, содержание аммиака составило 13.7 мг/л⁻, нитритов — 0.4 мг/л, нитратов — 0.8 мг/л и фосфатов — 4.46 мг/л. Содержание ионов ТМ (Cd²⁺, Cu²⁺, Pb²⁺, Zn²⁺) составляло по 20 мг/л каждого. В моделированную сточную воду помещали *P. stratiotes* в количестве 10 штук, вносили *Ankistrodesmus* sp. в количестве 2.5 · 10⁷ кл/мл и культивировали в течение 72 ч. Затем растения и микроводоросли отделяли от сточной воды методом

фильтрации. Исходя из данных табл. 5, показано, что эффективность очистки модельной сточной воды с применением данного консорциума составила 98% для биогенных веществ и 89–93% для ионов тяжелых металлов.

Таким образом, показана возможность использования полученного консорциума ВВР и микроводорослей для очистки моделированной сточной воды загрязненной ионами ТМ. Полученные результаты свидетельствуют о том, что использование консорциума ВВР *P. stratiotes* и микроводоросли *Ankistrodesmus* sp. в очистке моделированной сточной воды в лабораторных условиях весьма эффективна, по сравнению с отдельным использованием растений и микроводорослей. Полученные данные могут служить основой для разработки биологического способа очистки сточных вод различных производственных предприятий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Teo S.C., Wong L.S. Whole cell-based biosensors for environmental heavy metals detection // Annu. Res. Rev. Biol. 2014. V. 4. P. 2663–2674.
2. Fulekar M.H. Bioremediation technology: Recent advances. Springer Science & Business Media, 2012. 290 p.
3. Заядан Б.К., Акмуханова Н.Р., Садуакасова А.К. Коллекция микроводорослей и методы их культивирования / Казахстан: Литер, 2013. С. 158.
4. Гигевич Г.С., Власов Б.П. Мониторинг высшей водной растительности как метод контроля за трансформацией природной среды // Природопользование в условиях дифференцированного антропогенного воздействия. Минск: Sosnowies, 2000. С. 186–192.

5. *Воденев В.А., Акинчиц Е.К., Орлова Л.А., Сухов В.С.* Анализ роли ионов Ca^{2+} , H^+ , Cl^- в генерации вариационного потенциала у высшего растения *Cucurbita pepo L.* // Физиология растений. 2011. Т. 6. С. 826–833.
6. *Toumi A., Belkoura M., Benabdallah S., El Alami M., Loukili Idrissi L., Nejmeddine A.* Effect and bioaccumulation of heavy Metals (Zn, Cd) on *Micractinium pusillum* alga // Environ. Technol. 2007. V. 28. P. 19–23.
7. *Крот Ю.Г.* Использование высших водных растений в биотехнологиях очистки поверхностных и сточных вод // Гидробиологический журнал. 2006. Т. 42. С. 76–91.
8. *Тарушкина Ю.А.* Высшие водные растения для очистки сточных вод // Экология и промышленность России. 2006. № 5. С. 36–39.
9. *Черных Н.А.* Тяжелые металлы и радионуклиды в биогеоценозах. Москва: Агроконсалт, 2002. 200 с.
10. *Saleh M.M., Matorin D.N., Zayadan B.K., Todorenko D.A., Lukashov E.P., Gaballah M.M.* Differentiation between two strains of microalga *Parachlorella kessleri* using modern spectroscopic method // Botanical Studies. 2014. V. 55. P. 32–35.
11. *Мурадов С.В.* Воздействие тяжелых металлов на водоросли-макрофиты Авачинской губы // Фундаментальные исследования. 2014. № 9. С. 1998–2002.
12. *Ajayan K.V., Selvaraju M. and Thirugnanamoorthy K.* Growth and Heavy Metals Accumulation Potential of Microalgae Grown in Sewage Wastewater and Petrochemical Effluents // Pakistan Journal of Biological Sciences, 2011. № 14. P. 805–811.
13. *Титов А.Ф., Таланова В.В., Казнина Н.М., Лайдунен Г.Ф.* Устойчивость растений к тяжелым металлам. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2007. 172 с.
14. *Ratushnyak A.A., Abramova K.I., Shagidullin R.R., Andreeva M.G., Trushin M.V.* Ecologic plasticity of *Typha angustifolia* under the action of nitrate-nitrogen // World Appl. Sci. J. 2010. V. 8. P. 1032–1035.
15. *Jais N.M., Mohamed R.M.S.R., Al-Gheethi A.A., Amir Hashim M.K.* The dual roles of phycoremediation of wet market wastewater for nutrients and heavy metals removal and microalgae biomass production // Clean Techn. Environ. Policy. 2017. V. 19. P. 37–52.