

## Отклик почвенной цианобактерии *Nostoc paludosum* на действие сульфата меди (II) в присутствии глутатиона восстановленного

© 2019. А. И. Фокина<sup>1</sup>, к. б. н., доцент,  
Е. И. Лялина<sup>2</sup>, инженер-хроматографист, Л. В. Трефилова<sup>3</sup>, к. б. н., доцент,  
Т. Я. Ашихмина<sup>1,4</sup>, д. т. н., профессор, г. н. с., зав. лабораторией,

<sup>1</sup>Вятский государственный университет,  
610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, д. 36,

<sup>2</sup>ООО «Нанолек»,

127055, Россия, г. Москва, ул. Бутырский Вал, д. 68/70,

<sup>3</sup>Вятская государственная сельскохозяйственная академия,  
610017, Россия, г. Киров, Октябрьский проспект, д. 133,

<sup>4</sup>Институт биологии Коми НЦ УрО РАН,  
167982, Россия, Республика Коми, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д. 28,  
e-mail: annushka-fokina@mail.ru, nm-flora@rambler.ru

Изучено влияние растворов  $\text{CuSO}_4$  с концентрациями ионов  $\text{Cu}^{2+}$ , равными 1, 2, 3, 4 и 5 мг/дм<sup>3</sup>, с добавлением трипептида – глутатиона восстановленного (GSH) и без него на почвенную цианобактерию (ЦБ) *Nostoc paludosum* 18. Продолжительность экспозиции культуры с растворами составила 72 часа. В ходе эксперимента наблюдали за формированием биоплёнок ЦБ из гомогената, как за показателем восстановления исходной популяции; измеряли концентрацию растворённого  $\text{O}_2$  в суспензиях ЦБ; определяли долю клеток ЦБ, способных к образованию формазана из 2,3,5-трифенилтетразолий хлорида, как показатель жизнеспособности культуры.

Под действием  $\text{CuSO}_4$  у культуры ЦБ нарушалась способность к формированию биоплёнок в растворах с концентрациями  $\text{Cu}^{2+}$  1 мг/дм<sup>3</sup> и более без добавления GSH и при концентрациях  $\text{Cu}^{2+}$ , равных 3 и более мг/дм<sup>3</sup>, в присутствии этого трипептида. По изменению концентрации растворённого  $\text{O}_2$  не удалось диагностировать токсичность раствора с концентрацией 1 мг  $\text{Cu}^{2+}$ /дм<sup>3</sup> на протяжении всего эксперимента. У раствора с концентрацией 2 мг  $\text{Cu}^{2+}$ /дм<sup>3</sup> через трое суток экспозиции установлена средняя степень токсичности. Среднюю и слабую степени токсичности удалось выявить у растворов с концентрациями  $\text{Cu}^{2+}$ , равными 3–5 мг/дм<sup>3</sup>, через сутки экспозиции. С увеличением концентрации  $\text{Cu}^{2+}$  происходило снижение дегидрогеназной активности ЦБ, по сравнению с контролем, на 50% и более. Растворы с GSH имеют меньшую степень токсичности, чем аналогичные растворы без добавления GSH. Наиболее приемлемой тест-функцией на действие ионов меди (II) с концентрациями их в растворе, превышающими ПДК, является дегидрогеназная активность ЦБ *N. paludosum* с титром  $2 \cdot 10^7$  кл./см<sup>3</sup>.

**Ключевые слова:** цианобактерии, ионы меди (II), глутатион, токсичность.

## The response of soil cyanobacteria *Nostoc paludosum* to the effect of copper(II) sulfate in the presence of the restored glutathione

© 2019. A. I. Fokina<sup>1</sup> ORCID: 0000-0001-8265-8882, E. I. Lyalina<sup>2</sup> ORCID: 0000-0002-2334-0820,  
L. V. Trefilova<sup>3</sup> ORCID: 0000-0002-9932-5803, T. Ya. Ashikhmina<sup>1,4</sup> ORCID: 0000-0003-4919-0047

<sup>1</sup>Vyatka State University,

36, Moskovskaya St., Kirov, Russia, 610000,

<sup>2</sup>LLC «Nanolek»,

68/70, Butyrsky Val St., Moscow, Russia, 127055,

<sup>3</sup>Vyatka State Agricultural Academy,

133, Oktyabrsky Prospect, Kirov, Russia, 610017,

<sup>4</sup>Institute of Biology of the Komi Science Centre of the Ural Branch of RAS,

28, Kommunisticheskaya St., Syktывkar, Komi Republic, Russia, 167982,

e-mail: annushka-fokina@mail.ru, nm-flora@rambler.ru

The effect of  $\text{CuSO}_4$  solutions with  $\text{Cu}^{2+}$  ion concentrations equal to 1, 2, 3, 4, and 5  $\text{mg}/\text{dm}^3$  with the addition of reduced glutathione (GSH) and without it to soil cyanobacteria (CB) of *Nostoc paludosum* 18 was studied. The duration of exposure of the culture with solutions was 72 hours. During the experiment, the formation of biofilms of the CB from the homogenate was observed as an indicator of the recovery of the initial population; the concentration of dissolved  $\text{O}_2$  in suspensions of the CB was measured; the proportion of CB cells capable of forming formazan from 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride was determined as an indicator of the viability of the culture was determined.

Under the action of  $\text{CuSO}_4$ , the ability of the culture of CB to form biofilms in solutions was violated with concentrations of  $\text{Cu}^{2+}$  1  $\text{mg}/\text{dm}^3$  or more without the addition of GSH and at  $\text{Cu}^{2+}$  concentrations equal to 3 or more  $\text{mg}/\text{dm}^3$  in the presence of this tripeptide. It was not possible to diagnose the toxicity of the solution with a concentration of 1  $\text{mg Cu}^{2+}/\text{dm}^3$  by changing the concentration of dissolved  $\text{O}_2$  throughout the experiment. In a solution with a concentration of 2  $\text{mg Cu}^{2+}/\text{dm}^3$ , the average degree of toxicity was established after three days of exposure. The medium and low degrees of toxicity were detected in solutions with  $\text{Cu}^{2+}$  concentrations of 3–5  $\text{mg}/\text{dm}^3$  after one day of exposure. With an increase in the concentration of  $\text{Cu}^{2+}$ , the dehydrogenase activity of the CB decreased by 50% or more compared to the control. Solutions with GSH are less toxic than similar solutions without the addition of GSH. The most acceptable test function for the action of copper(II) ions with their concentrations in the solution exceeding the MPC is the dehydrogenase activity of the *N. paludosum* CB with a titer of  $2 \cdot 10^7$  cells/ $\text{cm}^3$ .

**Keywords:** cyanobacteria, copper(II) ions, glutathione, toxicity.

Среди объектов химико-экологического исследования интерес представляют соединения меди, так как медь – окислительно-восстановительно активный переходный металл, который может быть как необходимым, так и, в зависимости от условий, токсичным для биоты [1]. К числу организмов, присутствие и биохимический статус которых отражает состояние окружающей среды (ОС), относятся почвенные цианобактерии (ЦБ). Отклик почвенных ЦБ на действие токсикантов на физиолого-биохимическом уровне может служить сигналом о загрязнении ОС уже тогда, когда реакция многих других тест-организмов, в частности, высших растений, ещё не позволяет судить о токсичности [2].

Существование в виде биоплёнок (БП) – одна из стратегий адаптации популяции микроорганизмов (МО) к условиям ОС. Процесс образования БП характерен и для ЦБ [3]. Образование БП может идти за счёт непосредственного (физического) контакта между организмами; выработки диффундирующих в среде химических сигнальных агентов (например, диффузные химические агенты коммуникации МО – пептиды, лактоны, аминокислоты и т. д.); генерации тех или иных физических полей. Все три канала коммуникации, вероятно, принимают участие в «чувстве кворума» и могут быть реализованы только при оптимальной плотности МО [4]. Адаптационные способности ЦБ могут быть обусловлены наличием в их околочлесточной слизи гетеротрофных спутников, которые по количеству и видовому разнообразию не постоянны, их состав может меняться в зависимости от особенностей экотопа. ЦБ «рекрутируют» в свой слизистый чехол бактерии, необходимые для их существования в конкретных условиях [5]. Таким образом, способность образо-

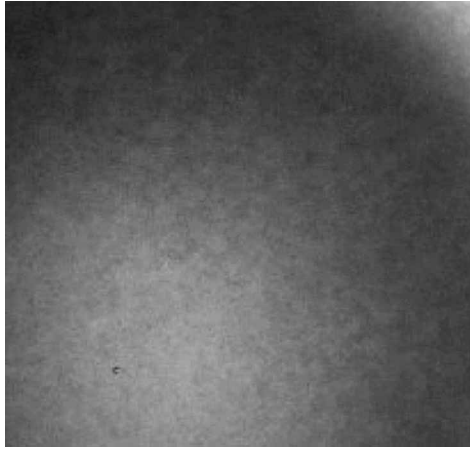
вывать БП обусловлена целым рядом факторов, в том числе присутствием в среде обитания ЦБ ионов металлов, в частности  $\text{Cu}^{2+}$ . Кроме того, ионы тяжёлых металлов (ТМ) влияют на процессы, связанные с поглощением и выделением  $\text{O}_2$  у организмов [6, 7]. Поэтому изменение концентрации  $\text{O}_2$  относительно контроля может быть испытано как тест-функция для определения токсичности растворов.

В результате экспериментов с фосфорсодержащими автошампунями [8], соединениями ТМ, хлоридом натрия, нефтепродуктами, пестицидами [9, 10] установлено, что по мере увеличения концентрации токсиканта происходит уменьшение доли жизнеспособных клеток с одновременным ростом процента мёртвых [11]. Данный показатель признан одним из наиболее надёжных для оценки токсичности исследуемой среды [10, 12].

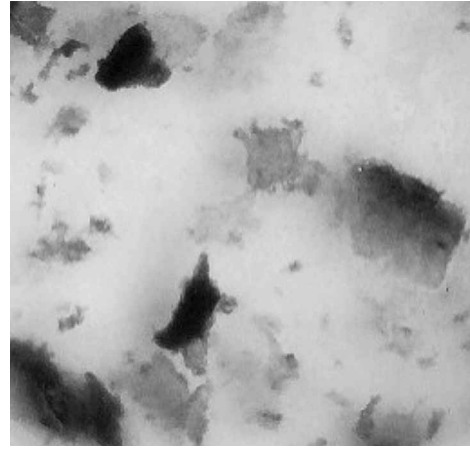
Влияние ионов меди (II) в монорастворах может существенно отличаться от эффекта воздействия ионов металла в присутствии других веществ, в частности, таких природных биопротекторов, как глутатион (GSH) [13]. Поэтому целью работы было исследование возможности использования параметров физиологических и биохимических процессов почвенной цианобактерии *Nostoc paludosum* 18 в качестве тест-функций для диагностики токсичности растворов сульфата меди (II) в присутствии глутатиона восстановленного.

### Объекты и методы исследования

Исследовано влияние  $\text{CuSO}_4$  на способность ЦБ к формированию БП из гомогенизированного состояния, изменение концентрации растворённого молекулярного кислорода ( $\text{O}_2$ ) в суспензии ЦБ и жизнеспособность кле-



А



В

**Рис. 1.** Внешний вид суспензии культуры *N. paludosum*: в виде гомогената – А, в виде биоплёнки – В  
**Fig. 1.** The appearance of the suspension of the culture of *N. paludosum*: А – in the form of a homogenate, В – in the form of a film

ток *N. paludosum*. Для этого культуру почвенной ЦБ (выделена из дерново-подзолистой почвы Кировской области) выращивали на безазотистой среде Громова № 6 в течение трёх месяцев. В течение этого времени культура ЦБ образовала мощную БП, которую для проведения эксперимента гомогенизировали в течение двух минут с помощью гомогенизатора марки HG-15A-Set-A (DAIHAN Scientific, Ю. Корея) при 30 тыс. об./мин. Титр культуры в растворах составил  $2 \cdot 10^7$  кл./см<sup>3</sup>. Суспензию ЦБ вносили в растворы CuSO<sub>4</sub> с концентрациями ионов Cu<sup>2+</sup> равными 1, 2, 3, 4 и 5 мг/дм<sup>3</sup>, что соответствует 1, 2, 3, 4 и 5 ПДК меди в питьевой воде [14], и в растворы с аналогичными концентрациями ионов Cu<sup>2+</sup>, но с добавлением GSH в мольном соотношении 1Cu<sup>2+</sup>:4GSH. Использовали GSH производства фирмы AppliChem GmbH (Германия). Продолжительность эксперимента – 72 часа. В качестве признака, указывающего на формирование БП, использовали появление скоплений МО, устойчивых к лёгкому перемешиванию суспензии стеклянной палочкой. За процессом формирования БП наблюдали на протяжении всего эксперимента. На фото представлен внешний вид культуры в виде гомогената (рис. 1А) и БП (рис. 1В).

Концентрацию растворённого O<sub>2</sub> в суспензии ЦБ измеряли через 1, 24, 48, 72 часа с начала эксперимента методом амперометрии с помощью прибора марки HI 9143 (HANNA Instruments, Германия). Степень токсичности (%) рассчитывали по формуле:

$$A = (X_{\text{ср.к.}} - X_{\text{ср.оп.}}) / X_{\text{ср.к.}} \cdot 100,$$

где X<sub>ср.к.</sub> – среднеарифметическое значение концентрации растворённого O<sub>2</sub> в контрольном варианте, мг/дм<sup>3</sup>; X<sub>ср.оп.</sub> – среднеарифметическое значение концентрации растворённого O<sub>2</sub> в опытном варианте, мг/дм<sup>3</sup>.

Если A < 10% – проба не оказывает токсического действия; от 10 до 25% – проба оказывает слабое токсическое действие; от 25 до 35% – среднее токсическое действие, от 35 до 50% – токсическое, > 50% – пробу считают высокотоксичной [15].

Жизнеспособность культуры, подвергшейся влиянию солей меди(II) в течение 24 и 72 часов, определяли тетразольно-топографическим методом прямого счёта клеток ЦБ с кристаллами формазана, используя микроскоп марки Micros (Австрия) [12]. За критерий токсичности принимали снижение доли клеток с кристаллами формазана более, чем на 50%, по сравнению с контролем.

## Результаты и обсуждение

**Способность культуры ЦБ образовывать биоплёнки.** В вариантах без добавления GSH под действием сульфата меди(II) у культуры ЦБ *N. paludosum* нарушалась способность к образованию БП из гомогената. С увеличением концентрации Cu<sup>2+</sup> эффект от воздействия токсиканта усиливался. Так, если в вариантах с концентрациями ионов Cu<sup>2+</sup> 1 и 2 мг/дм<sup>3</sup> зачатки БП образовывались в течение первых суток, то в вариантах с концентрациями ионов Cu<sup>2+</sup> от 3 до 5 мг/дм<sup>3</sup> МО оставались в состоянии гомогената на протяжении всего эксперимента. Ионы Cu<sup>2+</sup>, оказывая как прямое (бло-

кирование связующих звеньев внешнего полисахаридного слоя слизи ЦБ за счёт образования связей между ионами металла и функциональными группами соединений слоя), так и опосредованное действие (влияние на процессы образования сигнальных и связующих веществ), нарушали процесс формирования БП ЦБ. О насыщении полигликанового слоя ионами  $Cu^{2+}$  свидетельствовала окраска гомогената. В вариантах с концентрациями  $Cu^{2+}$ , равными 4 и 5 мг/дм<sup>3</sup>, без добавления GSH гомогенат имел неестественную для культуры окраску, характерную для соединений меди (II).

Добавление GSH положительно сказалось на образовании БП за счёт связывания ионов  $Cu^{2+}$  в комплексы с GSH [16], и тем самым, не давая ионам металла связываться с компонентами клеток МО. В присутствии GSH в вариантах с концентрациями ионов  $Cu^{2+}$ , равными 1 и 2 мг/дм<sup>3</sup>, уже в течение первых суток образовались фрагменты БП по размерам приближающиеся к таковым в контрольном варианте. С увеличением концентрации  $Cu^{2+}$  биопротекторное действие GSH снижалось. В вариантах с концентрациями ионов  $Cu^{2+}$  3 и 4 мг/дм<sup>3</sup> наблюдали образование БП, но меньшего размера и в меньших количествах, чем в вариантах, в которых concentra-

ция  $Cu^{2+}$  1 и 2 мг/дм<sup>3</sup>. В варианте с концентрацией  $Cu^{2+}$  5 мг/дм<sup>3</sup> БП не обнаружено даже к концу эксперимента.

Таким образом, использование гомогената ЦБ с титром  $2 \cdot 10^7$  кл./см<sup>3</sup> позволило диагностировать токсичность по способности МО к формированию БП через сутки экспозиции во всех вариантах без GSH, в присутствии GSH – при концентрациях  $Cu^{2+}$  более 2 мг/дм<sup>3</sup>.

**Временная динамика концентрации  $O_2$  в суспензиях ЦБ.** Измерение концентрации растворённого  $O_2$  в суспензиях ЦБ показало, что в варианте без внесения  $CuSO_4$  и GSH (контроль) этот показатель увеличился на 1,0 мг/дм<sup>3</sup> (9,5% от начального) в течение 72 часов в результате фотосинтеза у ЦБ [17]. В варианте с концентрацией ионов  $Cu^{2+}$ , равной 1 мг/дм<sup>3</sup>, увеличение концентрации  $O_2$  сопоставимо с контролем (0,8 мг/дм<sup>3</sup> – 8,3% от начального) (рис. 2А), что позволило говорить об отсутствии токсического влияния ионов  $Cu^{2+}$  при данной концентрации на *N. paludosum*. Количество  $O_2$  в суспензиях, содержащих ионы  $Cu^{2+}$  в дозах, равных 2–5 мг/дм<sup>3</sup>, через трое суток уменьшилось на 2,2–4,7 мг/дм<sup>3</sup> (22,0–45,5% от начального). Между величинами концентраций ионов  $Cu^{2+}$  и растворённого  $O_2$  выявлена достаточно тесная обратная взаимосвязь (табл.).

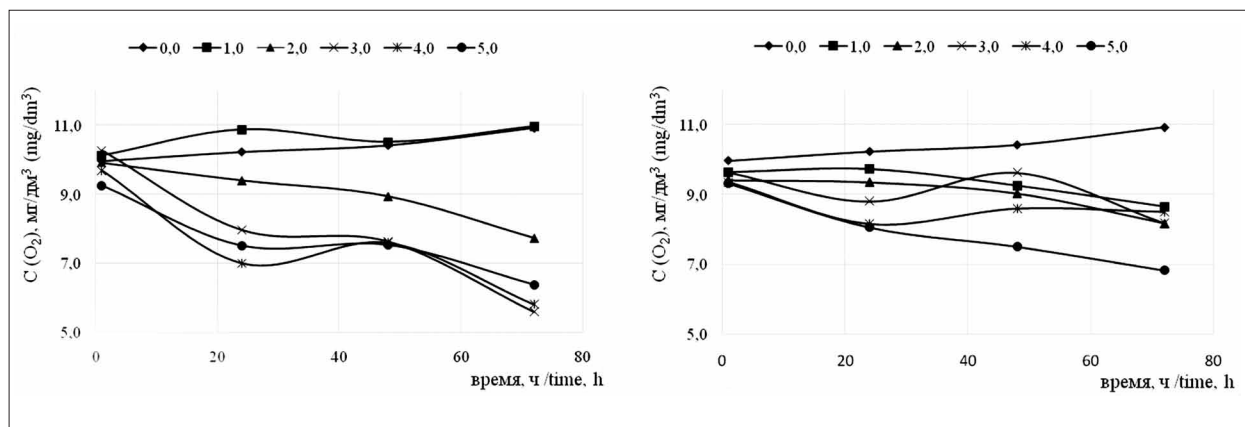
Таблица / Table

Степень токсичности растворов, % / Degree of toxicity of solutions, %

C ( $Cu^{2+}$ ), мг/дм <sup>3</sup> C ( $Cu^{2+}$ ), mg/dm <sup>3</sup>	Мольное отношение Mole ratio Cu:GSH	Продолжительность эксперимента, час Duration of the experiment, hour			
		1	24	48	72
1	1Cu:0GSH	-1,6	-6,4	-1,0	-0,5
	1Cu:4GSH	3,2	4,8	11,1*	20,8*
2	1Cu:0GSH	0,5	8,1	14,1*	29,2**
	1Cu:4GSH	5,6	8,6	13,4*	25,2**
3	1Cu:0GSH	3,0	22,1*	26,7**	48,7***
	1Cu:4GSH	3,3	13,9*	17,6*	25,0**
4	1Cu:0GSH	2,8	31,5**	27,1**	46,8***
	1Cu:4GSH	6,2	20,2*	17,5*	22,1*
5	1Cu:0GSH	7,1	26,5**	27,7**	41,5***
	1Cu:4GSH	6,5	21,2*	28,0**	37,5***
R( $Cu^{2+}/O_2$ )					
(без GSH/ с GSH) (without GSH/ with GSH)		-0,67/-0,85	-0,91/-0,99	-0,92/-0,87	-0,87/-0,84

Примечание: Количество «\*» указывает на степень токсичности пробы: отсутствие – нетоксичная, «\*» – слаботоксичная, «\*\*» – среднетоксичная, «\*\*\*» – токсичная. Коэффициент корреляции (R) между концентрациями ионов меди (II) в растворе и растворённого молекулярного кислорода рассчитан в программе Excel.

Note: The number «\*» indicates the degree of toxicity of the sample: no – non-toxic, «\*» – slightly toxic, «\*\*» – medium-toxic, «\*\*\*» – toxic. The correlation coefficient (R) between the concentrations of copper(II) ions in solution and dissolved molecular oxygen is calculated in Excel.



**Рис. 2.** Динамика концентрации  $O_2$  в водных суспензиях *N. paludosum* с различной концентрацией  $Cu^{2+}$  (1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 мг/дм<sup>3</sup>): А – без добавления GSH, В – с добавлением GSH в мольном соотношении 1Cu:4GSH  
**Fig. 2.** Dynamics of  $O_2$  concentration in aqueous suspensions of *N. paludosum* with different concentrations of  $Cu^{2+}$  (1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mg/dm<sup>3</sup>): А – without addition of GSH, В – with addition of GSH in the molar ratio 1Cu: 4GSH

Добавление GSH в суспензии, содержащие  $Cu^{2+}$  1, 2, 3 и 4 мг/дм<sup>3</sup> до мольного соотношения 1Cu:4GSH, привело к снижению концентрации  $O_2$  через трое суток экспозиции на 0,9–1,5 мг/дм<sup>3</sup> (8,7–15,1% от начального) (рис. 2Б). В варианте с 5 мг  $Cu^{2+}$ /дм<sup>3</sup> в присутствии GSH концентрация  $O_2$  снизилась за это же время на 2,5 мг/дм<sup>3</sup> (26,7% от начального). Снижение концентрации растворённого  $O_2$  в суспензии может быть следствием как снижения активности окислительного фотосинтеза, так и расхода  $O_2$  на процесс образования активных форм кислорода, спровоцированный появлением в растворе медьсодержащих комплексов глутатиона [18]. Между величинами концентраций ионов  $Cu^{2+}$  и растворённого  $O_2$  в присутствии GSH выявлена тесная обратная взаимосвязь (табл. 1).

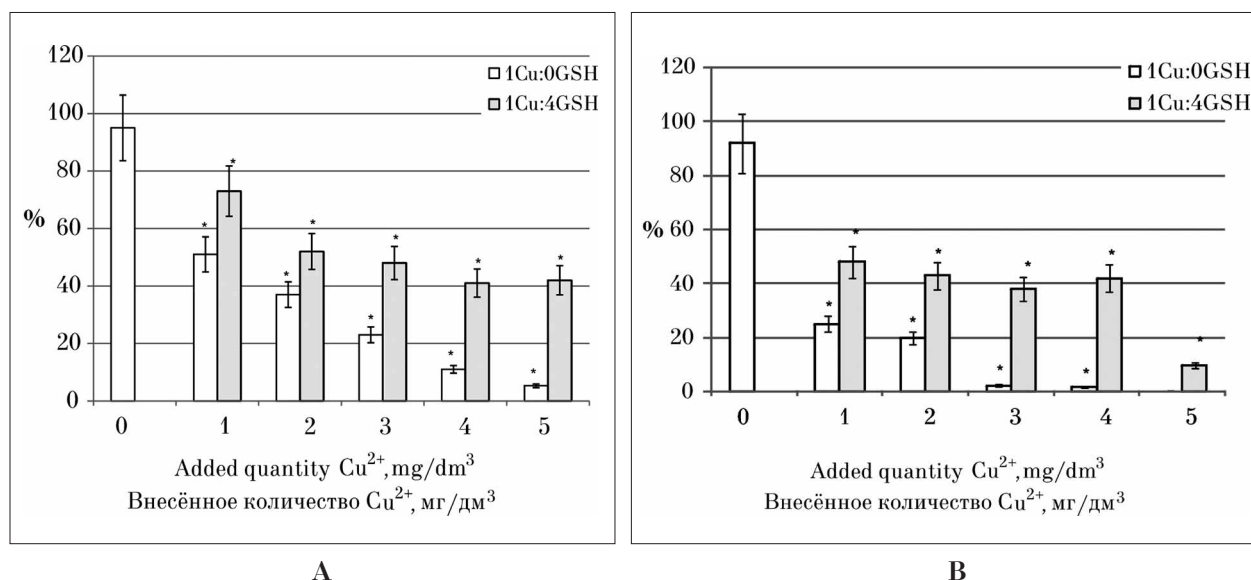
Несмотря на тесную взаимосвязь между концентрациями  $Cu^{2+}$  и  $O_2$  (табл.), не удалось диагностировать токсичность раствора с концентрацией ионов  $Cu^{2+}$ , равной ПДК (1 мг/дм<sup>3</sup>), на протяжении всего эксперимента. Средняя токсичность диагностирована в растворе, имеющем концентрацию иона металла в два раза превышающую ПДК (2 мг/дм<sup>3</sup>), только через 72 часа экспозиции ЦБ с раствором. Статус «слабая токсичность» и «средняя токсичность» появился у растворов с концентрациями  $Cu^{2+}$ , в 3–5 раз превышающими ПДК после их контакта с ЦБ в течение суток (табл. 1).

Внесение GSH привело к снижению степени токсичности растворов, однако не позволило перевести ни один из вариантов в статус «нетоксичный».

**Влияние  $CuSO_4$  на жизнеспособность *Nostoc paludosum*.** С увеличением концентрации ионов  $Cu^{2+}$  в растворе у культуры ЦБ снижалась дегидрогеназная активность ( $R_{1\text{сут}} = -0,94$ ;  $R_{3\text{сут}} = -0,83$  при  $n = 3$  и  $P = 0,95$ ). Следствием этого стало сокращение доли клеток ностока, способных восстанавливать 2,3,5-трифенилтетразолия хлорид (ТТХ) до формазана (рис. 3). Добавление GSH привело к ослаблению токсического действия сульфата меди (II) на культуру ЦБ и, как следствие, к снижению взаимосвязи между концентрацией  $Cu^{2+}$  и долей клеток ЦБ с кристаллами формазана ( $R_{1\text{сут}} = -0,78$ ;  $R_{3\text{сут}} = -0,70$ ) (рис. 3). Однако независимо от присутствия GSH, ионы  $Cu^{2+}$  во всех вариантах, кроме варианта с концентрацией  $Cu^{2+}$  1 мг/дм<sup>3</sup>, вызвали снижение количества жизнеспособных клеток ЦБ по сравнению с контролем на 50% и более уже через сутки экспозиции (рис. 3А). Через трое суток жизнеспособность цианобактериальных клеток во всех вариантах существенно снизилась по сравнению с суточной экспозицией, а доля клеток с кристаллами формазана не превышала 50% во всех вариантах (рис. 3В). Данное обстоятельство указывает на токсичность всех медьсодержащих вариантов растворов.

### Заключение

Установлено, что под действием сульфата меди (II) у культуры ЦБ *N. paludosum* нарушается способность к формированию БП из гомогената. С помощью данного показателя удаётся выявить превышение ПДК  $Cu^{2+}$  в растворе, не



**Рис. 3.** Доля (%) клеток с кристаллами формазана в культуре ЦБ *N. paludosum*: А – 24 часа, В – 72 часа; «\*» – результаты достоверно отличаются от контроля при  $P \geq 0,95$   
**Fig. 3.** Proportion (%) of cells with crystals of formazan in culture of CB *N. paludosum*: А – 24 hours, В – 72 hours; «\*» – the results are significantly different from the control at  $P \geq 0,95$

содержащем GSH. Глутатион оптимизирует процесс образования БП, поэтому нарушение процесса образования БП в вариантах, в которых он присутствует, наблюдали при концентрациях  $\text{Cu}^{2+}$  3 мг/дм<sup>3</sup> и более.

По изменениям концентрации растворённого  $\text{O}_2$  не удалось диагностировать токсичность в растворах с концентрацией  $\text{Cu}^{2+}$  равной 1 мг/дм<sup>3</sup>. При концентрации  $\text{Cu}^{2+}$  2 мг/дм<sup>3</sup> через 72 часа контакта ЦБ с раствором токсиканта диагностирована средняя токсичность. Через сутки экспозиции ЦБ с растворами, в которых концентрации  $\text{Cu}^{2+}$  превышают ПДК для питьевой воды в 3–5 раз (3–5 мг  $\text{Cu}^{2+}$ /дм<sup>3</sup> соответственно) установлена слабая и средняя степени токсичности. Присутствие GSH снижает степень токсичности растворов сульфата меди(II).

С увеличением концентрации  $\text{Cu}^{2+}$  происходит снижение дегидрогеназной активности *N. paludosum* по сравнению с контролем и, как следствие, снижается доля клеток, способных восстанавливать ТТХ до формазана (50% клеток с формазаном в варианте 1 мг  $\text{Cu}^{2+}$ /дм<sup>3</sup>, менее 50% клеток с формазаном в вариантах, где  $C(\text{Cu}^{2+}) \geq 2$  мг/дм<sup>3</sup>). Введение GSH в суспензию ЦБ приводит к снижению токсичности растворов  $\text{CuSO}_4$ , так в варианте с концентрацией  $\text{Cu}^{2+}$  1 мг/дм<sup>3</sup> после суточной экспозиции доля клеток с кристаллами формазана составляет 70%.

Исходя из результатов экспериментов установлено, что наиболее перспективной

тест-функцией при определении токсичности растворов солей меди(II) является жизнеспособность клеток ЦБ *N. paludosum*. Такие показатели, как способность к формированию БП и изменение концентрации растворённого кислорода в суспензии ЦБ оказались менее чувствительными.

*Работа выполнена в рамках государственного задания Вятского государственного университета по теме «Механизмы адаптации и устойчивости почвенной микробиоты к техногенному загрязнению» № 5.4962.2017/БЧ.*

### Литература

1. Yadav P., Kaur R., Kanwar M.K., Bhardwaj R., Sirhindi G., Wijaya L., Alyemeni M.N., Ahmad P. Ameliorative role of castasterone on copper metal toxicity by Improving redox homeostasis in *Brassica juncea* L. // Journal of Plant Growth Regulation. October 2017. P. 1–16.
2. Фокина А.И., Дабах Е.В., Домрачева Л.И., Скугорева С.Г., Лялина Е.И., Ашихмина Т.Я., Зыкова Ю.Н., Леонова К.А. Методические подходы к химико-биологической диагностике состояния почв техногенно-преобразованных территорий // Почвоведение. 2018. № 5. С. 589–600. doi: 10.7868/S0032180X18050088
3. Кондакова Л.В., Горностаева Е.А., Домрачева Л.И. Самосборка природных биоплёнок с доминированием *Nostoc commune* // Биологический мониторинг природно-техногенных систем: Материалы Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием. Ч. 2. Киров: ООО «Лобань», 2014. С. 169–174.

4. Олескин А.В., Ботвиненко И.В., Цавкелова Е.А. Колониальная организация и межклеточная коммуникация у микроорганизмов // Микробиология. 2000. Т. 69. № 3. С. 309–327.

5. Панкратова Е.М., Трефилова Л.В., Зяблых Р.Ю., Устюжанин И.А. Цианобактерия *Nostoc paludosum* Kütz как основа для создания агрономически полезных микробных ассоциаций на примере бактерий р. *Rhizobium* // Микробиология. 2008. Т. 77. № 2. С. 266–272.

6. Хоботьев В.Г., Капков В.И. Влияние полиметаллических руд на выделение и поглощение кислорода в процессе фотосинтеза и дыхания протококковых водорослей // Биологические науки. 1968. № 4. С. 82–85.

7. Kulikova A.L., Kuznetsova N.A., Burmistrova N.A. Change in growth and physiological parameters in soybean seedlings in response to toxic action of copper // Russian Journal of Plant Physiology. 2015. V. 62. No. 4. P. 455–464.

8. Симакова В.С., Домрачева Л.И., Огородникова С.Ю., Фокина А.И., Ашихмина Т.Я. Влияние фосфорсодержащих автошампуней на развитие почвенных цианобактерий // Теоретическая и прикладная экология. 2016. № 3. С. 89–94. doi: 10.25750/1995-4301-2016-3-089-094

9. Огородникова С.Ю., Зыкова Ю.Н., Березин Г.И., Домрачева Л.И., Калинин А.А. Комплексная оценка состояния цианобактерий *Nostoc paludosum* 18 при воздействии различных поллютантов // Теоретическая и прикладная экология. 2010. № 3. С. 47–51. doi: 10.25750/1995-4301-2010-3-047-051

10. Домрачева Л.И., Ашихмина Т.Я., Кондакова Л.В., Березин Г.И. Реакция почвенной биоты на действие пестицидов (обзор) // Теоретическая и прикладная экология. 2012. № 3. С. 4–18. doi: 10.25750/1995-4301-2012-3-004-018

11. Домрачева Л.И., Кондакова Л.В., Фокина А.И., Огородникова С.Ю., Кантор Г.Я. Биомониторинг и биотестирование почв // Биоиндикаторы и биотестсистемы в оценке окружающей среды техногенных территорий / Под ред. Т.Я. Ашихминой, Н.М. Алалыкиной. Киров, 2008. С. 68–105.

12. Фокина А.И., Домрачева Л.И., Зыкова Ю.Н., Скугорева С.Г., Лялина Е.И., Трефилова Л.В. Совершенствование тетразольно-топографической методики биотестирования с использованием цианобактерий // Теоретическая и прикладная экология. 2017. № 1. С. 31–41. doi: 10.25750/1995-4301-2017-1-031-041

13. Burkhead J.L., Reynolds K.A.G., Abdel-Ghany S.E., CoHu Ch.M., Pilon M. Copper homeostasis // New phytologist. 2009. V. 182. No. 4. P. 799–816. doi: 10.1111/j.1469-8137.2009.02846.x

14. СанПиН 2.1.4.1074-01. Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества. Гигиенические требования к обеспечению безопасности систем горячего водоснабжения. М.: Минздрав России, 2002. 46 с.

15. ГОСТ Р 53910-2010 Вода. Методы определения токсичности по замедлению роста морских одноклеточных водорослей *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin и *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve. М.: Стандартинформ, 2010. 38 с.

16. Hossain M.A., Piyatida P., da Silva J.A.T., Fujita M. Molecular mechanism of heavy metal toxicity and tolerance in plants: central role of glutathione in detoxification of reactive oxygen species and methylglyoxal and in heavy metal chelation // Journal of Botany. 2012. V. 2012. P. 1–37. doi: 10.1155/2012/872875

17. Громов Б.В. Цианобактерии в биосфере // Соросовский образовательный журнал. 1996. № 9. С. 33–39.

18. Скурлатов Ю.И., Дука Г.Г., Мизити А. Введение в экологическую химию М.: Высшая школа, 1994. 400 с.

## References

1. Yadav P., Kaur R., Kanwar M.K., Bhardwaj R., Sirhindi G., Wijaya L., Alyemni M.N., Ahmad P. Ameliorative role of castasterone on copper metal toxicity by Improving redox homeostasis in *Brassica juncea* L. // Journal of Plant Growth Regulation. October 2017. P. 1–16. doi: 10.1007/s00344-017-9757-8

2. Fokina A.I., Dabakh E.V., Domracheva L.I., Skugoreva S.G., Lyalina E.I., Ashikhmina T.Ya., Zyкова Yu.N., Leonova K.A. Methodological approaches toward chemico-biological diagnostics of the state of soils in technogenically transformed territories // Pochvovedenie. 2018. No. 5. P. 589–600 (in Russian). doi: 10.7868/S0032180X18050088

3. Kondakova L.V., Gornostaeva E.A., Domracheva L.I. Self-assembly of natural biofilms dominated by *Nostoc commune* // Biological monitoring of natural and man-made systems: Materialy Vseros. nauch.-prakt. konf. s mezhdunar. uchastiem. Ch. 2. Киров: Loban, 2011. P. 169–174 (in Russian).

4. Oleskin A.V., Botvinenko I.V., Tsavkelova E.A. Colonial organization and intercellular communication in microorganisms // Mikrobiologiya. 2000. T. 69. No. 3. P. 309–327 (in Russian).

5. Pankratova E.M., Trefilova L.V., Zyablykh R.Yu., Ustyuzhanin I.A. *Nostoc paludosum* Kütz cyanobacterium as a basis for creating agronomically beneficial microbial associations using the example of p. *Rhizobium* // Mikrobiologiya. 2008. V. 77. No. 2. P. 266–272 (in Russian).

6. Khobotev V.G., Kapkov V.I. Influence of polymetallic ores on the release and absorption of oxygen in the process of photosynthesis and respiration of proto-coccal algae // Biologicheskie nauki. 1968. No. 4. P. 82–85 (in Russian).

7. Kulikova A.L., Kuznetsova N.A., Burmistrova N.A. Change in growth and physiological parameters in soybean seedlings in response to toxic action of copper // Russian Journal of Plant Physiology. 2015. V. 62. No. 4. P. 455–464. doi: 10.1134/S1021443715040111

8. Simakova V.S., Domracheva L.I., Ogorodnikova S.Yu., Fokina A.I., Ashikhmina T.Ya. The effect of phosphorus-containing car shampoos on the development of soil cyanobacteria // *Theoretical and Applied Ecology*. 2016. No. 3. P. 89–94 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2016-3-089-094
9. Ogorodnikova S.Yu., Zykova Yu.N., Berezin G.I., Domracheva L.I., Kalinin A.A. Comprehensive assessment of the state of cyanobacteria *Nostoc paludosum* 18 when exposed to various pollutants // *Theoretical and Applied Ecology*. 2010. No. 3. P. 47–51 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2010-3-047-051
10. Domracheva L.I., Ashikhmina T.Ya., Kondakova L.V., Berezin G.I. The reaction of soil biota to the action of pesticides (review) // *Theoretical and Applied Ecology*. 2012. No. 3. P. 4–18. doi: 10.25750/1995-4301-2012-3-004-018
11. Domracheva L.I., Kondakova L.V., Fokina A.I., Ogorodnikova S.Yu., Kantor G.Ya. Soil biomonitoring and biotesting // *Bioindicators and biotest systems in environmental assessment of technogenic territories* / Eds. T.Ya. Ashikhmina, N.M. Alalykina. Kirov, 2008. P. 68–105 (in Russian).
12. Fokina A.I., Domracheva L.I., Zykova Yu.N., Skugoreva S.G., Lyalina E.I., Trefilova L.V. Improving the tetrazole-topographic biotesting technique using cyanobacteria // *Theoretical and Applied Ecology*. 2017. No. 1. P. 31–41 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2017-1-031-041
13. Burkhead J.L., Reynolds K.A.G., Abdel-Ghany S.E., Cochu Ch.M., Pilon M. Copper homeostasis // *New phytologist*. 2009. V. 182. No. 4. P. 799–816. doi: 10.1111/j.1469-8137.2009.02846.x
14. SanPiN 2.1.4.1074-01. Drinking water. Hygienic requirements for water quality of centralized drinking water supply systems. Quality control. Hygienic requirements for ensuring the safety of hot water systems. Moskva: Minzdrav Rossii, 2002. 46 p.
15. GOST R 53910-2010. Water. Methods for the determination of toxicity to slow the growth of marine unicellular *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin and *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve. Moskva: Standartinform, 2010. 38 p.
16. Hossain M.A., Piyatida P., da Silva J.A.T., Fujita M. Molecular mechanism of heavy metal toxicity and tolerance in plants: central role of glutathione in detoxification of reactive oxygen species and methylglyoxal and in heavy metal chelation // *Journal of botany*. 2012. V. 2012. Article ID 872875. 37 p. doi: 10.1155/2012/872875
17. Gromov B.V. Cyanobacteria in the biosphere // *Sorosovskiy obrazovatelnyy zhurnal*. 1996. No. 9. P. 33–39 (in Russian).
18. Skurlatov Yu.I., Duka G.G., Miziti A. Introduction to environmental chemistry. Moskva: Vysshaya shkola, 1994. 400 p. (in Russian).