

ӘӨЖ. 504.064:36

М.Ө. Бауенова\*, М. Салех, А.К. Садвакасова, Ж. Еркеш  
 әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Алматы қ., Қазақстан  
 \*e-mail: meru.2@mail.ru

### Кадмийге сезімтал *Chlamydomonas reinhardtii*-дің мутантты штамдарын алу

Бұл мақалада УК-сәуле әсерімен *Chlamydomonas reinhardtii* жасыл микробалдырының кадмий иондарына сезімтал мутантты штамдарының алынғаны қарастырылған. Зерттеу барысында *Chl. reinhardtii* CC-124 жасыл микробалдырының табиғи түріне УК-сәулелендіру арқылы мутагенез жүргізіліп, *Chl. reinhardtii* CC-124y-1, CC-124p-1, CC-124y-2, CC-124p-2 мутантты штамдары алынды. *Chl. reinhardtii* табиғи және мутантты штамдарына скрининг жасау барысында кадмий ионына жоғары сезімтал *Chl. reinhardtii* CC-124p-2 мутантты штамы сұрыпталынды.

**Түйін сөздер:** УК-сәулесі, микробалдыр *Chlamydomonas reinhardtii*, ауыр металлдар, кадмий.

М.Ө. Бауенова, М. Салех, А.К. Садвакасова, Ж. Еркеш

#### Получение мутантных штаммов *Chlamydomonas reinhardtii* чувствительных к кадмию

Методами индуцированного мутагенеза получены мутантные штаммы зеленой микроводоросли *Chlamydomonas reinhardtii* : CC-124y-1, CC-124y-2, CC-124p-1, CC-124p-2. Изучено влияние различных концентраций кадмия на выживаемость диких и мутантных штаммов *Chlamydomonas reinhardtii*. Мутантный штамм CC-124p-2, проявивший высокую чувствительность к низкой концентрации ионов кадмия предлагается к использованию в качестве тест-объекта для оценки экологического состояния водных экосистем загрязненных тяжелыми металлами.

**Ключевые слова:** УФ-луч, микроводоросли *Chlamydomonas reinhardtii*, тяжелые металлы, кадмий.

M.O. Bauenova, M. Saleh, A.K. Sadvakasova, Zh. Erkesh

#### Obtaining of *Chlamydomonas reinhardtii* mutant strain sensitive to cadmium

It was taken mutant strains of green microalgae *Chlamydomonas reinhardtii*: SS-124y-1, SS-124y-2, CC-124p-1, SS-124p-2 by induced mutagenesis techniques. It was studied the effect of different concentrations of cadmium on the survival of wild and mutant strains of *Chlamydomonas reinhardtii*. Mutant strain SS-124 p-2 showed a high sensitivity to low concentrations of cadmium ions was proposed to be used as a test object for assessing the ecological status of aquatic ecosystems contaminated with heavy metals.

**Keywords:** UV-light, microalgae *Chlamydomonas reinhardtii*, heavy metals, cadmium.

Біздің еліміз экономикалық жағынан қарқынды дамығаныменен, қоршаған ортаны қорғау және экология мәселелері өзекті проблемалар тудырып отыр. Кейбір су қоймалары құрамында органикалық заттар және токсикалық элементтер мен ауыр металлдар иондарының жоғары концентрациялары бар болғандықтан адам денсаулығы мен табиғатқа қауіп төндіру үстінде [1].

Қоршаған орта мен адам денсаулығы үшін қауіптілігінің дәрежесі бойынша жоғары мәнгеріне экотоксиканттарға ауыр металлдар жатады. Қазіргі таңда көптеген экосистемалардың құрамында ауыр металлдардың санының артуы, жалпы адамзат баласы мен барлық тірі организмдердің өміріне аса қауіп төндіруде.

Ауыр металлдардың қатарындағы, аса жоғары токсинділеріне Hg, Ag, Cu, Cd жатады [2]. Солардың ішінде әр түрлі өндірістердің қалдық сулары мен топырақтарында кездесетін, аз ғана мөлшерде болса да тірі организмдерге жоғары токсикалық әсер беретін және қоршаған ортада аса кең таралған элементтердің бірі – кадмий.

Осыған байланысты су экожүйелерін тазалаудан бұрын, олардың ластану деңгейлерін анықтауда қолданылатын жаңа әдістерді өңдеу мәселелері өзекті болып отыр.

Су экожүйелерінің ластануын зерттеуде, соның ішінде ауыр металлдармен және радиоактивті заттармен, судың токсикалық заттармен ластану деңгейін анықтауда ыңғайлы тест-объектілердің бірі біржасушалы

микробалдырлар болып табылады [3]. Олардың ішінде ерекше орынды генетикалық зерттеулер мен бағытталған селекция және мутагенез әдістері көмегімен берілген қасиеттерге ие жаңа формаларды жасау үшін ыңғайлы объект *Chl. reinhardtii* алады [4]. Сондықтан ауыр металл кадмий ионымен ластанған су экожүйелерін биологиялық бақылауға арналған *Chl. reinhardtii* табиғи және мутант штамдары негізінде тест-штамдарды сұрыптап алу экобиотехнологияның өзекті мәселелерінің бірі болып табылады.

### Зерттеу материалдары мен әдістері

Зерттеу жұмысына зерттеу объектілері ретінде әл-Фараби атындағы ҚазҰУ-дың (ССМКазНУ) микробалдырлар коллекциясынан алынған жасыл микробалдыр *Chl. reinhardtii*-дің *CC-124* штамы қолданылды. Микробалдырлар клеткалары 4000 люксте жарықтандырылып, *L<sub>2</sub> min* қоректік ортасында өсірілді.

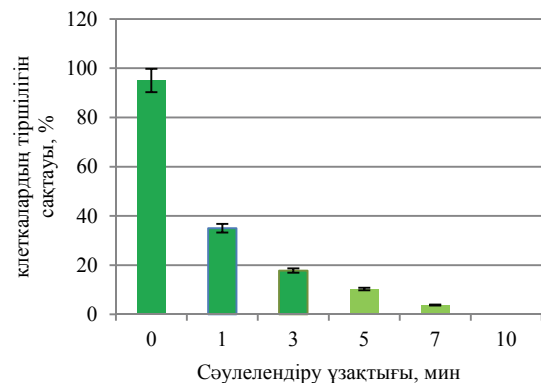
Мутантты штамдар алу УК лампы ОБНП «Генерис» көмегімен жүзеге асырылды. Бес күндік хламидоманада клеткаларын, 10 мл дистелденген суда суспензиялап,  $10^6$  тығыздықтағы клеткалар суспензиясын Петри табақшаларында 4 мл көлемде 1, 3, 5, 7 және 10 мин бойы сәулелендірілді. Сәулелендіру кезінде *Orbital Shaker OS-20* тербелткіші көмегімен үздіксіз араластыру жүргізілді, кейін сәулелендірілген клеткаларды *L<sub>2</sub> min* қоректік ортасына отырғызып, фотореактивацияны болдырмау үшін қараңғы жерге 24 сағатқа қойылды, сонан соң олар жарыққа (1500 лк) шығарылып, 7-10 күннен кейін клеткалардың тіршілігін сақтап қалуы және мутацияларды тудыратын мутагеннің оптимальді дозалары анықталды. Кадмийге сезімтал хламидоманада коллекциялық штамдарының табиғи және мутантты клеткаларының тіршілік сақтауына кадмий иондарының 000,1 мг/л, 0,002 мг/л және 0,005 мг/л концентрацияларының әсері зерттеледі.

### Зерттеу нәтижелері және оларды талдау

*Chl. reinhardtii* *CC-124* табиғи штамы клеткаларының тіршілігін сақтауына УК-сәулесінің әсері зерттелді.

Экспериментальді мәліметтер УК-сәулесі жасушалардың тіршілік сақтауына жоғары токсикалық әсер ететіндігін көрсетті. Сонымен, 1 мин сәулелендіруден кейін 10 тәулік бойы жарықта дақылданған тірі қалған клеткалардың

үлесі 31%-ды құрады. Жасушалар ірі мөлшерлі және жасыл түсті болды, олар бақылау тобынан аз ерекшеленді. 3 мин бойы сәулелендіруден кейін тірі қалған клеткалардың үлесі біршама азайды, сонымен қатар колониялардың мөлшері мен түсі бойынша біртекті емес (ірі, орташа және өте ұсақ, жасыл, ашық жасыл және қою жасыл түсті) екендігі байқалады – 17,8%. 5 минуттық сәулелендіруден кейін өсіп шыққан клеткалардың жалпы саны - 10,5%-ды құрады. 7 минуттық сәулелендіруден кейін тірі қалған клеткалардың үлесі - 4,5%-ға тең болды. 10 минут бойы сәулелендіруден кейін микробалдырлар клеткаларының өсуі байқалмады (Сурет 1).



Сурет 1 – *Chl. reinhardtii* *CC-124* табиғи штамын УК-мен сәулелендірудің клеткалар тіршілігін сақтауына әсері

УК сәулелендірумен тудырылған клетканың ферментативті жүйелерінің өзгерісі барлық клеткалық құрылымдардың жұмыс істеуіне күшті әсер етеді, сондай-ақ УК сәулелер хламидоманада клеткаларына мутагенді әсер ететінін дәлелдейді.

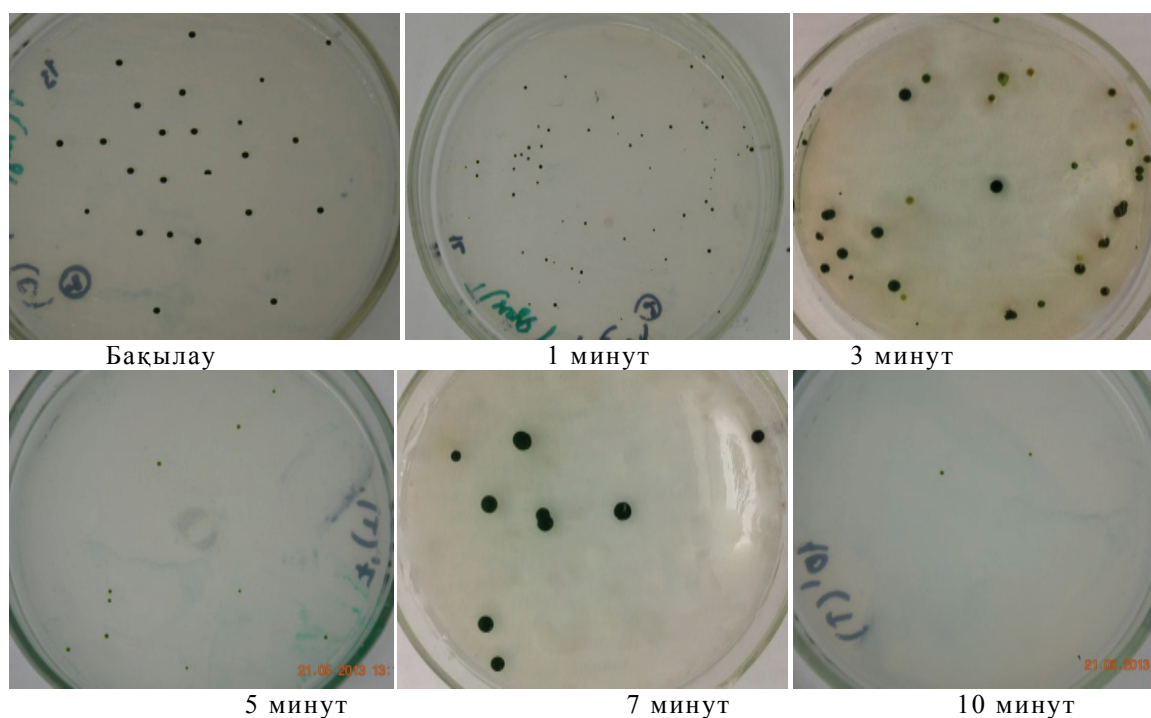
Қараңғы жерде, яғни термостатта (27°C) дақылдағанда алынған тәжірибелік мәліметтер УК-сәулесінің клеткалардың тіршілігінің жойылуына күшті токсикалық эффект беретінін көрсетті. 1 мин сәулелендіру - жасыл түсті, мөлшері орташа - 18,3%. 3 мин сәулелендіру – орташа және өте майда, түсі: күңгірт жасылдан ашық жасыл - 3,9% болды. 5 мин сәулелендіру – ашық жасыл түсті, мөлшері орташа - 1,6%. 7 мин сәулелендіру – сары түсті, өте майда - 0,9%. 10 минуттық сәулелендіру кезінде бірде бір клетка тірі қалмады, яғни бұл доза микробалдыр клеткаларының тіршілігін жоятыны анықталды. Алынған

экспериментальды мәліметтерден УК-сәулесі хламидомонада клеткаларына летальды әсер ететіні көрінеді.

Әртүрлі мутанттардың шығуын талдау пигментті және карликтік мутациялар үлкен пайызды құрайтынын көрсетті. *Chl. reinhardtii* CC-124 табиғи тип штамының мутабельділігі сәулелендіру дозасына

тәуелдігі екені анықталды. 3 минуттық сәулелендіруде жарықта 8550 колониядан 147 мутантты колония, ал 3 минуттық сәулелендіруде қараңғыда 43 мутантты колония алынды.

УК сәулелер көмегімен колониялардың түсі мен мөлшерлерінің өзгеруімен сипатталатын морфологиялық мутанттар алынды (Сурет 2).



Сурет 2 – *Chlamydomonas reinhardtii*-дің әртүрлі мутантты колониялары

Фототрофты және гетеротрофты дақылдау жағдайларында генотипін тексерусіз, массалық сұрыптау нәтижесінде колониялардың түсі мен мөлшерлерінің өзгеруімен сипатталатын колониялар алынды. Алынған колонияларды біз 6 топқа бөлдік:

Фототрофты жағдайда өсіру: 1 топ – ірі көлемді, жасыл түсті колониялар (А) - 6%; 2 топ – микроскоптық көлемді, жасыл түсті колониялар (В) – 24%;

3 топ – орташа көлемді ашық-жасыл түсті колониялар (С) – 43%; 4 топ – орташа көлемді, сары түсті колониялар (D) – 27%. Бақылау тобының колониялары жасыл түсті, орташа көлемді көрсетті.

Гетеротрофты жағдайда өсіру: 5 топ – орташа көлемді, ашық-жасыл түсті колониялар (Е) – 55%; 6 топ – орташа көлемді, сары түсті колониялар (F) – 45%. Бақылау тобының

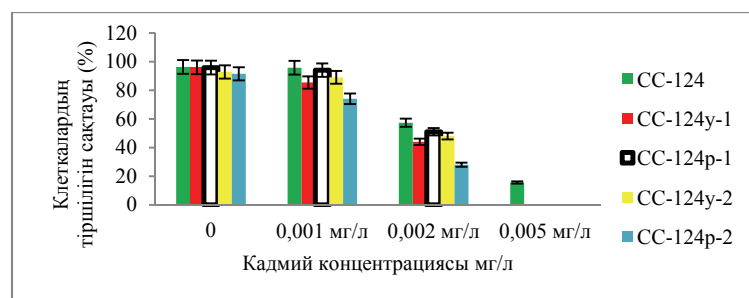
колониялары жасыл түсті, орташа көлемді көрсетті.

Түрлі мутантты колониялардың өсіп шығуы фототрофты жағдайларда ең көп пайызды ашық жасыл түсті, орташа мөлшерлі колониялар 43%-ға дейін құрағанын көрсетті. Гетеротрофты жағдайларда мутантты колониялардың жалпы санынан 55%-ын құраған ашық жасыл түсті, майда мөлшерлі колониялар басым болды. Мутациялардың максимальды жиілігі УК сәулемен 3 минут бойы әсер еткенде байқалды.

Пішіні мен өлшеміне байланысты алынған 12 мутантты колониялардан, көп сатылы селекция әдісі бойынша 4-колония алынды. Фототрофты жағдайда сары және ашық-жасыл түсті көрсететін пигменттік мутанттар алынып, олар 124у-1 және 124р-1 - пигменттік мутанттар деп белгіленді. Ал, сары және ашық-

жасыл түсті көрсететін, гетеретрофты жағдайда алынған пигменттік мутанттар, 124у-2 және 124р-2 – пигменттік мутанттар деп белгіленді.

*Chl. reinhardtii* табиғи және мутантты штамдарынан кадмий ионына сезімтал штамдарды бөліп алу мақсатында олардың тіршілік сақтауына кадмий иондарының түрлі концентрацияларының әсері зерттелді. *Chl. reinhardtii* СС-124 табиғи штамы, *Chl. reinhardtii* СС-124у-1, СС-124р-1 және СС-124у-2, СС-124р-2 мутантты штамдары тексерілді (Сурет 3).



**Сурет 3** – Кадмий иондарының әртүрлі концентрациясында микробалдыр *Chl. reinhardtii*-дың табиғи және мутант штамдарының өсуі

Кадмий иондарының концентрациясы 0,001 мг/л-ге тең ортада *СС-124р-2* штамының өсіп шыққан клеткаларының жалпы саны бақылаумен салыстырғанда 74%-ды құрады. Металдың концентрациясын 0,002 мг/л-ге дейін жоғарылатқанда сақтауы 28%-ды құрады. Одан басқа, оларға бақылау тобымен салыстырғанда пигмент құрамының азаюы мен колония мөлшерлерінің кішіреюі тән. Ортадағы кадмий иондарының 0,005 мг/л концентрациялары бұл штамм үшін сублетальды деп санауға болады, себебі токсиканттың бұндай мөлшерлерінде клеткалардың өсуі байқалмайды. Бақылау нұсқасында, яғни кадмий иондары қосылмаған ортада өскен клеткалар үшін тіршілік сақтау 96,3%-ды құрады.

СС-124 табиғи штамы клеткаларының өсуі ортадағы кадмий иондарының 0,001 және 0,002 мг/л концентрацияларында 2 және 3 есе төмендеді. Клеткалар жасыл түсті, орташа мөлшерлі болды. Кадмий иондарының концентрациясын 0,005 мг/л-ге дейін жоғарылату дақылдардың толығымен өлуіне әкелді.

Кадмий иондары дақылдағы клеткалар санына айқын көрінетін әсер етеді: кадмий иондарының концентрациясы неғұрлым жоғары болса, соғұрлым оның микробалдырлар клеткаларына теріс әсері айқынырақ көрінеді. Кадмий иондарына жоғары сезімталдылықты СС-124у-1 және СС-124р-2, СС-124у-2 мутантты штамдар көрсетті, ал ең жоғары сезімталдылықпен СС-124р-2 мутантты штамының клеткалары ерекшеленді.

Кадмий иондарының 0,005 мг/л концентрациясында жасушалардың өсуі байқалмайды, яғни микробалдырдың пигменттік мутантты штамдарының клеткалары тіршілігін жояды.

Кадмий иондарына сезімтал *Chl. reinhardtii* СС-124р-2 мутантты штамы су экожүйелерінің кадмиймен ластануын деңгейін анықтау кезінде тест-объект ретінде қолдануға мүмкіндік береді.

Жасыл микробалдырдың табиғи түрі *Chl. reinhardtii* СС-124-ке УК сәулелендіру арқылы мутагенез жүргізіп, сезімтал *Chl. reinhardtii* СС-124у-1, *Chl. reinhardtii* СС-124р-1, *Chl. reinhardtii* СС-124у-2 және *Chl. reinhardtii* СС-124р-2 мутантты субклондары алынды.

*Chl. reinhardtii*-дің табиғи түрі мен мутантты субклондарына скрининг жасау барысында кадмий ионына жоғары сезімтал *Chl. reinhardtii* СС-124р-2 штамы таңдалып алынды. Бұл таңдалып алынған штамдар әр түрлі ауыр металдармен ластанған экожүйелерді бақылауда маңызды болып табылады.

---

**Әдебиеттер**

- 1 Яковлев С. В., Скирдов И.В., Шевцов В.Н. и др. Биологическая очистка производственных сточных вод: Процессы, аппараты и сооружения. – М.: Стройиздат, 2007. - 208 с.
- 2 Будников Г. К. Тяжелые металлы в экологическом мониторинге водных экосистем // Соросовский образовательный журнал. - 2008. - № 5. – С. 23-29.
- 3 Маторин Д.Н., Погосян С.И., Смуров А.В. Оценка качества среды инструментальными методами с использованием фототрофных организмов. – М.: Изд. Академия, 2007. – С. 243-246.
- 4 Заядан Б.К., Садвакасова А.К., Жубанова А.А. Устойчивость клеток микроводоросли *Chlamydomonas reinhardtii* к токсическому действию ионов кадмия в различных условиях культивирования // Вестник КазНУ, Серия биологическая. – 2005. - № 3(26). – С. 116-121.