

НАНОМАТЕРИАЛЫ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО И КОНСТРУКЦИОННОГО НАЗНАЧЕНИЯ

УДК 541.6+544.1

ОЦЕНКА ПОТЕНЦИАЛА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ РОДА *Desmodesmus* ДЛЯ БИОРЕМЕДИАЦИИ ЗАГРЯЗНЕНИЙ ВОДЫ НАНОЧАСТИЦАМИ TiO_2

© 2023 г. С. П. Чеботарева^{1,*}, О. В. Захарова^{1,2,3}, П. А. Баранчиков¹,
Е. А. Колесников², А. А. Гусев^{1,2,3}

¹Тамбовский государственный университет им. Г.Р. Державина, Тамбов, Россия

²Национальный исследовательский технологический университет «МИСИС», Москва, Россия

³Российский экономический университет им. Г.В. Плеханова, Москва, Россия

*E-mail: sweta-chebotarjova@yandex.ru

Поступила в редакцию 10.01.2023 г.

После доработки 10.01.2023 г.

Принята к публикации 17.03.2023 г.

Возрастающий спрос на продукты, произведенные с использованием нанотехнологий, способствует масштабному увеличению синтеза наноразмерных материалов и поступлению их в водную среду. Наночастицы (НЧ) TiO_2 в качестве микрополлютантов водной среды воздействуют на многие живые организмы, оказывая, как правило, негативные эффекты. Микроводоросли имеют доказанную эффективность в области биоремедиации, что делает их потенциальным агентом для биоудаления НЧ из сточных вод. Проведена оценка способности микроводорослей рода *Desmodesmus* к биоаккумуляции НЧ TiO_2 , а также определена степень устойчивости клеток микроводоросли к воздействию экологически значимых концентраций данных НЧ. Использовались сферические НЧ TiO_2 размером 30–40 нм. Методом проточной цитометрии обнаружено, что НЧ TiO_2 в концентрациях 10, 100 и 1000 мкг/л не оказывали значимого влияния на жизнеспособность клеток микроводоросли и уровень окислительного стресса. НЧ в концентрации 1000 мкг/л повышали содержание фотосинтетических пигментов на 18–33% на 13-е сутки эксперимента. *Desmodesmus* sp. оказалась относительно устойчивой культурой к воздействию НЧ, методом ICP-MS выявлено повышенное бионакопление титана клетками микроводоросли в экспериментальных группах. Все это указывает на значительный потенциал *Desmodesmus* sp. для удаления наноструктурных поллютантов из водной среды.

DOI: 10.56304/S1992722323030020

ВВЕДЕНИЕ

Наночастицы (НЧ) благодаря своим уникальным физическим и химическим характеристикам все чаще используются в промышленных и коммерческих целях. Широкое распространение получили НЧ TiO_2 , которые нашли разнообразное применение в производстве текстиля, косметики, электроники, пластмасс, батарей, красок и пищевых добавок [1–3]. НЧ TiO_2 проявляют фотореактивность и используются в качестве катализаторов для очистки воды и сточных вод [4]. Применение НЧ продолжает расширяться и по прогнозам к 2025 г. мировое производство НЧ TiO_2 достигнет 2.5 млн тонн [5].

Использование НЧ в различных областях приводит к их неконтролируемому выбросу в окружающую среду, вызывая риск негативного воздействия на природные экосистемы [1]. Содержание НЧ TiO_2 в водной среде может достигать экологически значимых концентраций [6].

В свою очередь, НЧ TiO_2 могут способствовать образованию реактивных форм кислорода, способных вызывать окислительное повреждение бактерий и гидробионтов [7]. Экотоксичность НЧ для водорослей была описана в некоторых исследованиях, например в [8] указано, что адсорбция НЧ TiO_2 на поверхности клеток *P. tricornutum* вызывала повреждение клеточной стенки. Также НЧ TiO_2 ингибировали рост популяции морских микроводорослей *D. tertiolecta* из-за интернализации НЧ в клетках и дестабилизации структуры ДНК [9, 10]. Было показано 50%-ное снижение роста *D. subspicatus* в присутствии частиц TiO_2 размером 25 и 100 нм в концентрации 4 и 50 мг/дм³ [11]. Таким образом, НЧ TiO_2 вызывают снижение роста культур водорослей, причем степень подавления зависит от размера и формы частиц, а также от видовой специфики объекта. В то же время некоторые работы свидетельствуют о положительной роли НЧ. Например, в [12] установи-

ли, что НЧ TiO_2 оказывали стимулирующее действие на рост клеток водоросли *Picochlorum* sp. Отметим, что различия полученных результатов прежде всего могут быть связаны с используемыми концентрациями. Так, в [13–15] показано токсическое действие НЧ TiO_2 при дозе более 1 мг/л, в то время как реальное содержание TiO_2 в водной среде не превышает 1 мг/л [16, 17], при этом в [18, 19] показано отсутствие ингибирующих эффектов для низких доз TiO_2 .

Известно, что НЧ, накапливаясь в живых организмах, могут переноситься через пищевую цепь от низших трофических организмов к высшим, при этом концентрируясь, что представляет большую опасность как для природных экосистем, так и для человека [20].

Подобное воздействие синтетических НЧ на окружающую среду наряду с появляющимися признаками экотоксичности привело к необходимости создания научно обоснованных подходов, направленных на снижение негативных эффектов, вызванных НЧ, на экосистемы. Поэтому все большее внимание уделяется разработке методов биоудаления НЧ из окружающей среды [21]. Поскольку использование механических систем очистки требует высоких энергетических затрат, все чаще изучают технологии применения микроорганизмов при очистке окружающей среды от микрополлютантов [22]. Одним из перспективных решений проблемы очистки сточных вод от НЧ является культивирование микроводорослей, так как данные организмы уже успешно применяются в области биоремедиации [23]. Согласно [9, 10] микроводоросли способны аккумулировать НЧ TiO_2 . Однако, как уже говорилось, данные НЧ, особенно в высоких концентрациях, токсичны для многих видов микроводорослей.

Для создания основы биотехнологии очистки сточных вод от загрязнения НЧ TiO_2 с помощью микроводорослей необходимо подобрать вид, устойчивый к воздействию реалистичных концентраций НЧ (до 1 мг/л) и проявляющий способность к биоаккумуляции НЧ или их компонентов. Поэтому цель данного исследования – оценка толерантности к воздействию НЧ TiO_2 и оценка биоаккумуляционного потенциала микроводорослей *Desmodesmus* sp. [24, 25].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Наночастицы

Характеризация наночастиц. В работе использовали НЧ TiO_2 (Sigma-Aldrich, США). Морфологию и размер частиц перед началом эксперимента определяли методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) на микроскопе Tescan Vega 3 (Чехия). Элементный анализ осуществляли мето-

дом энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии с помощью энергодисперсионного анализатора “10mm² SDD Detector – X-Act” (Oxford Instruments, Великобритания).

Получение и анализ суспензий наночастиц. Для внесения НЧ в культивационную среду готовили их водные дисперсии. Навески порошков частиц (0.5 мг) взвешивали при помощи аналитических весов ViBRA HT (Shinko Denshi, Япония), всыпали в цилиндрические пробирки с завинчивающимися крышками объемом 10 мл со стерильной дистиллированной водой (рН 7.1 ± 0.2) и перемешивали. После перемешивания суспензии обрабатывали в ультразвуковой ванне VBS-41H (Вилитек, Россия) в течение 10 мин (мощность ультразвука – 180 Вт, объем – 4 л). Таким образом получали водный коллоидный раствор с концентрацией НЧ 500 мкг/10 мл. После чего из исходного раствора путем разбавления получали суспензии с концентрацией 50 и 5 мкг/10 мл.

Для оценки стабильности полученных дисперсных систем проводили анализ ζ -потенциала частиц в суспензиях с использованием анализатора ZetasizerNanoZS (Malvern, Великобритания).

Размер частиц и агрегатов частиц в полученных коллоидных растворах определяли методом динамического рассеяния света также на приборе ZetasizerNanoZS.

Влияние наночастиц на микроводоросли

Тест-объекты. В качестве объекта исследования была выбрана культура одноклеточных зеленых водорослей *Desmodesmus* sp., штамм 3 Dp 86 E-1. Исследуемый штамм микроводоросли выделен из фрагментов беспозвоночного животного гидроида *D. pumila* [24]. Микрофотография культуры водоросли *Desmodesmus* sp. представлена на рис. 1.

Культивирование *Desmodesmus* sp. проводили на среде BG-11 [26, 27] в стеклянных конических колбах емкостью 250 мл при постоянном освещении светодиодными лампами белого света (480 мкЕ/(м² с) ФАР) и поддержании температуры 27°C, рН – 7.0–7.2.

Методики оценки воздействия наночастиц на микроводоросли

Дизайн эксперимента. В исследовании использовали питательную среду BG-11. Изначальная оптическая плотность засеваемой тест-культуры водоросли при длине волны 560 нм составляла 0.59. Внесение НЧ осуществляли непосредственно перед началом эксперимента.

В каждую из лунок шестилуночного планшета вносили по 6 мл питательной среды, содержащей микроорганизмы. Туда же вносили 120 мкл суспензии наночастиц.

пензий НЧ и аккуратно перемешивали круговыми движениями, в контрольные лунки вносили 120 мкл дистиллированной воды без добавления НЧ. Таким образом, в ходе культивирования микроорганизмы экспонировались наночастицами в концентрациях 10, 100 и 1000 мкг/л питательной среды, так как данные значения лежат в пределах экологически значимых концентраций [16, 17].

Анализ жизнеспособности. Основным показателем состояния культуры служило изменение процента жизнеспособности опытного тест-объекта по отношению к контрольному. Контролем служил рост водорослей в чистой среде без добавления токсикантов. Данный показатель определяли с помощью клеточного анализатора Muse Cell Analyzer, (Merck Millipore, Германия) с использованием реагента Muse Count & Viability. Так как изначальные клеточные суспензии были высококонцентрированные, перед добавлением культуры водорослей в опытные и контрольные пробы потребовалось дополнительное разведение 1:20 питательной средой BG-11. После этого культуры клеток разбавляли реагентом Muse Count & Viability в соотношении 1:20 и давали клеткам окраситься в течение 5 мин перед выполнением расчетов. Дополнительно определяли общую численность клеток в присутствии НЧ и в контрольных образцах без добавления токсикантов.

Анализ окислительного стресса. Параметры окислительного стресса получали с помощью клеточного анализатора Muse Cell Analyzer, (Merck Millipore, Германия) с использованием набора Muse Oxidative Stress kit. Для приготовления промежуточного раствора реагент Muse oxidative stress разводили в соотношении 1:100 с 1X Assay buffer. Рабочий раствор был приготовлен при разбавлении промежуточного раствора с 1X Assay buffer в соотношении 1:80. Перед добавлением культуры водорослей в опытные и контрольные пробы клетки разводили 1X Assay buffer в соотношении 1:20. После чего отбирали 10 мкл клеток и добавляли к ним 190 мкл рабочего раствора. Перед выполнением анализа полученные образцы инкубировали в течение 30 мин при 37°C.

Определение содержания фотосинтетических пигментов. Для количественного определения пигментного состава микроводорослей использовали традиционный метод – приготовление экстракта для спектрофотометрического анализа [29]. Экстракцию образцов проводили при помощи диметилсульфоксида (ДМСО). Для этого 1 мл суспензии клеток центрифугировали в течение 5 мин при 6000 оборотов на центрифуге MiniSpin (Eppendorf, Германия). Супернатант удаляли. Клетки инкубировали в ДМСО при 70°C в течение

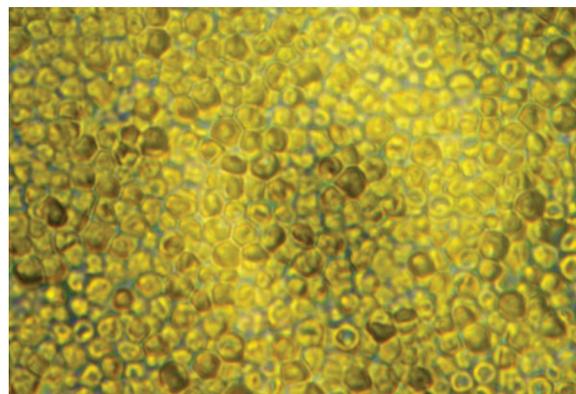


Рис. 1. Микрофотография клеток микроводоросли *Desmodesmus* sp., выполненная на световом микроскопе (увеличение $\times 20/0.40$ ВД).

10 мин при интенсивном перемешивании. Затем клетки удаляли путем центрифугирования.

Определение концентрации хлорофиллов *a* и *b*, а также суммарной концентрации каротиноидов в экстракте проводили спектрофотометрически в 96-луночных планшетах на спектрофотометре Multiskan Sky (Thermo Scientific, США). Расчет суммарной концентрации каротиноидов и концентрации хлорофиллов проводили по уравнениям [29]:

$$C_{\text{хл}a} = 13.44D_{666} - 4.85D_{650}, \quad (1)$$

$$C_{\text{хл}b} = 24.58D_{650} - 6.65D_{666}, \quad (2)$$

$$C_{\text{Кар}} = (1000D_{480} - 1.29C_{\text{хл}a} - 53.7C_{\text{хл}b})/220, \quad (3)$$

где $C_{\text{хл}a}$, $C_{\text{хл}b}$, $C_{\text{Кар}}$ – концентрации хлорофиллов *a* и *b* и каротиноидов в экстракте соответственно (мг/л), D_{λ} – оптическая плотность при соответствующей длине волны λ в нм.

Описанные выше исследования проводили с использованием оборудования Центра коллективного пользования научным оборудованием ТГУ им. Г.Р. Державина.

Измерение максимального квантового выхода фотосистемы 2. Для характеристики состояния фотосистемы 2 регистрировали ее максимальный квантовый выход (F_v/F_m) с помощью флуорометра PAR-FluorPen FP 110 (“Photon Systems Instruments”, Чехия). Перед измерением образцы водорослей выдерживали в темноте в течение 15 мин. Данный показатель обычно используется для мониторинга стрессовых воздействий на растение, он отражает высокую чувствительность фотосистемы 2 к раздражителям окружающей среды прямо или косвенно. Любое нарушение, приводящее к ингибированию фотосистемы или повреждению ее реакционных центров, приводит к снижению F_v/F_m [30].

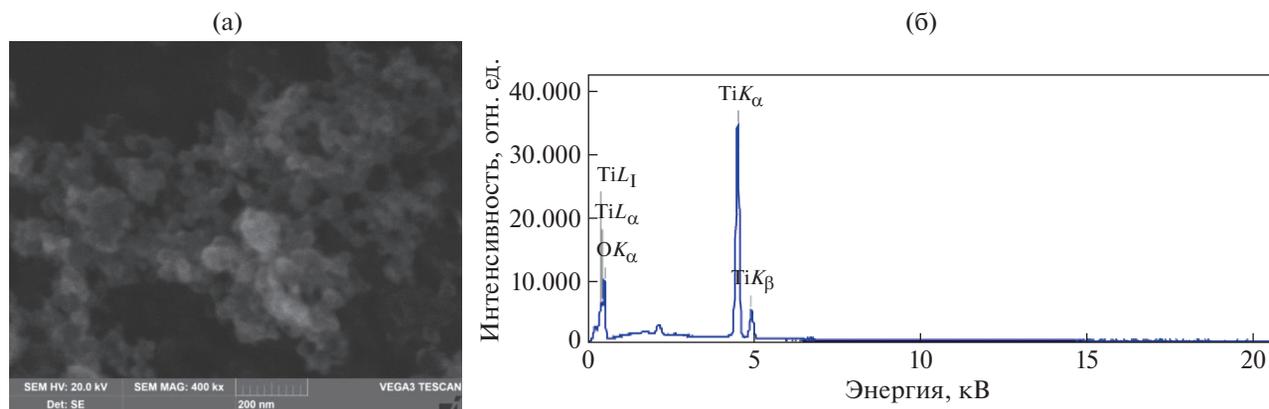


Рис. 2. СЭМ-исследование образца TiO_2 : а – микрофотография НЧ TiO_2 , б – элементный анализ.

Анализ эффективности бионакопления/адсорбции. Количественное содержание НЧ или их компонентов в клетках микроводорослей и остаточное содержание частиц в питательной среде определяли методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой (ICP-AES) на спектрометре Varian 720-ES ICP-AES (Agilent Technologies, США). В ходе подготовки образцов для анализа 2 мл отфильтровывали через мембранные фильтры (Millipore, США) с размером пор 0.45 мкм. В качестве проб для анализа брали микроводоросли, инкубируемые с НЧ при максимальной концентрации. С учетом того что крупные агрегаты НЧ могли задержаться на фильтре независимо от накопления/адсорбции водорослями, дополнительно проводили фильтрацию питательной среды, содержащей ту же концентрацию НЧ без культуры водорослей. Полученные данные учитывали при расчете эффективности биоаккумуляции.

Для проведения анализа образцы биоматериала разлагали с помощью смеси насыщенной HCl и HNO_3 3:1 v/v и затем анализировали.

Эффективность биоаккумуляции/адсорбции НЧ клетками микроводорослей рассчитывали по формуле [31, 32]:

$$\text{Биоаккумуляция/адсорбция (\%)} = (C_i/C_f) \times 100\%, \quad (4)$$

где C_i – концентрация НЧ в клетках микроводоросли, C_f – изначальная концентрация НЧ в питательной среде.

Статистическая обработка данных. Все эксперименты проводили в трех повторностях. Статистическую достоверность основных показателей состояния культуры (содержание хлорофиллов и каротиноидов, общая численность клеток, показатели жизнеспособности и оксидативного стресса) оценивали при помощи стандартного t -критерия (значения $p < 0.05$ были признаны значимы-

ми). Для оценки статистической достоверности параметра F_v/F_m использовали непараметрический U -тест Манна–Уитни (значения $p < 0.05$ были признаны значимыми), так как параметры флуоресценции в общем случае не подчиняются нормальному распределению [34]. Значения показателя F_v/F_m определяли через 24 ч, 4, 6, 7, 11, 13 сут после внесения суспензий НЧ. На рис. 2–8 приведены средние значения и их стандартные отклонения. Статистическую обработку результатов проводили в программе Excel-2010 с использованием пакета анализа данных.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты исследования наночастиц

Методом СЭМ установлено, что средний размер частиц TiO_2 составляет 30–40 нм, при этом они имеют сферическую форму и узкий размерный диапазон (рис. 2а).

С помощью энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии установлено, что анализируемый порошок является диоксидом титана без каких-либо примесей (рис. 2б).

Таким образом, проведенное электронно-микроскопическое исследование показало сферическую форму и нанометровый размер частиц TiO_2 (30–40 нм), а также отсутствие примесей в образце.

Результаты исследования коллоидных систем наночастиц

Измерение ζ -потенциала суспензии НЧ показало значение 32 мВ (рис. 3а), что говорит о высокой стабильности дисперсной системы.

При анализе водной дисперсии TiO_2 наблюдалось увеличение размера частиц до 150–250 нм (рис. 3б) при 30–40 нм в порошке.

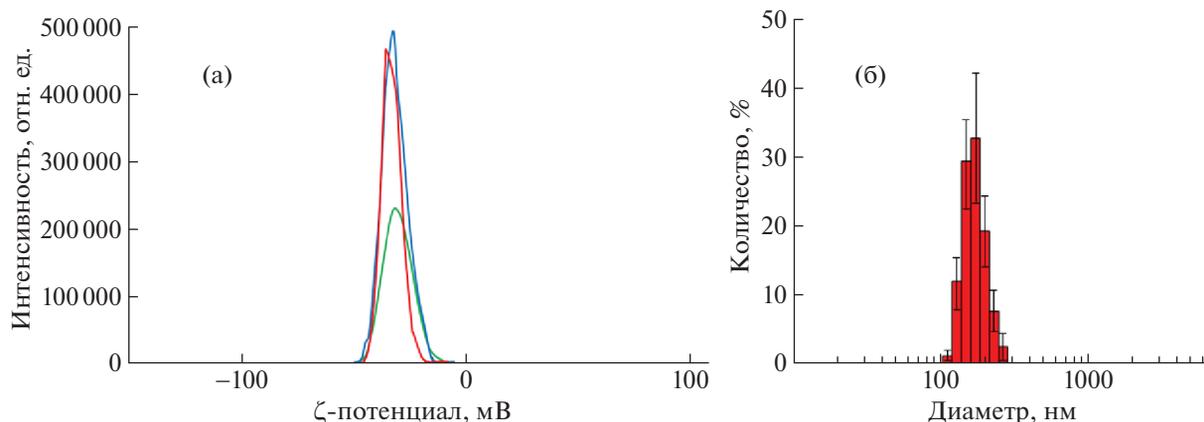


Рис. 3. ζ -потенциал TiO_2 (а) и средний размер частиц TiO_2 в суспензии (б).

В целом результаты анализа дисперсного состава коллоидных суспензий НЧ показывали, что, несмотря на применение ультразвуковой обработки, частицы в водной среде агрегировали.

Результаты исследования влияния наночастиц на микроводоросли

Жизнеспособность. Полученные результаты по определению жизнеспособности клеток не выявили значимого влияния НЧ TiO_2 на анализируемый показатель (рис. 4).

На рис. 5 показана динамика изменения общей численности клеток в присутствии НЧ и в контрольных образцах без добавления токсиканта. Как видно, НЧ TiO_2 в концентрации 1000 мкг/л значительно повлияли на общую численность клеток микроводоросли *Desmodesmus* sp., причем количество клеток увеличилось на 53% на 13-е сутки. Похожий эффект наблюдался в [12]. Снижения количества клеток выявлено не было.

Таким образом, микроводоросль *Desmodesmus* sp. оказалась относительно устойчивой культурой к воздействию НЧ TiO_2 , если рассматривать показатели жизнеспособности и динамику изменения общей численности клеток.

Окислительный стресс. Анализ окислительного стресса показал, что НЧ TiO_2 не оказывали значимого влияния на генерацию активных форм кислорода (АФК) (рис. 6).

Пигментный состав. При количественном анализе пигментного состава статистически значимые отличия от контроля были выявлены у проб только на 13-е сутки. Так, содержание хлорофилла *a*, *b* и каротиноидов увеличено на 27, 18 и 33% соответственно в культурах, обработанных НЧ TiO_2 в максимальной концентрации, такой же эффект получен с более низкими концентрациями, но значительно увеличены были только каротиноиды в среднем на 22% (рис. 7а–7в). В случае

с общей (*a* + *b*) концентрацией хлорофилла значительные отличия были выявлены только при максимальной концентрации НЧ на 13-е сутки, где концентрация пигментов увеличилась на 18% (рис. 7г). Снижения содержания пигментов установлено не было.

Характеристика состояния фотосистемы 2. Результаты оценки максимального квантового выхода фотосистемы 2 обобщены на рис. 8. Так, проведенные флуоресцентные исследования показали, что НЧ TiO_2 (100 и 1000 мкг/л) на 13-е сутки вызвали увеличение параметра *Fv/Fm* на 17 и 22% соответственно. Похожий эффект наблюдался на 4-е и 6-е сутки при тех же концентрациях. В то же время на 7-е сутки под действием НЧ в концентрации 100 мкг/л был замечен спад данного параметра на 18%, на 11-е сутки при максимальной концентрации ингибирование установлено на уровне 11%.

Таким образом, структура распределения *Fv/Fm* в изучаемой культуре может изменяться в зависимости от концентрации НЧ и времени их воздействия на тест-объект.

Анализ бионакопления/адсорбции. Результаты по определению содержания металлических НЧ в клетках микроводоросли показали, что количество НЧ TiO_2 , которое поглотилось или адсорбировалось *Desmodesmus* sp., составило 1 мкг/л при концентрации клеток 1.16×10^7 (клеток/мл). В итоге эффективность биоаккумуляции и адсорбции НЧ TiO_2 клетками *Desmodesmus* sp. составила 0.1%.

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время мощное развитие получили нанотехнологии, отличительными чертами которых являются создание, эксплуатация и утилизация продуктов, содержащих НЧ. Создавая беспрецедентный класс промышленных загрязнений окружающей среды, НЧ непосредственно воздействуют на живые организмы, поэтому вызванные

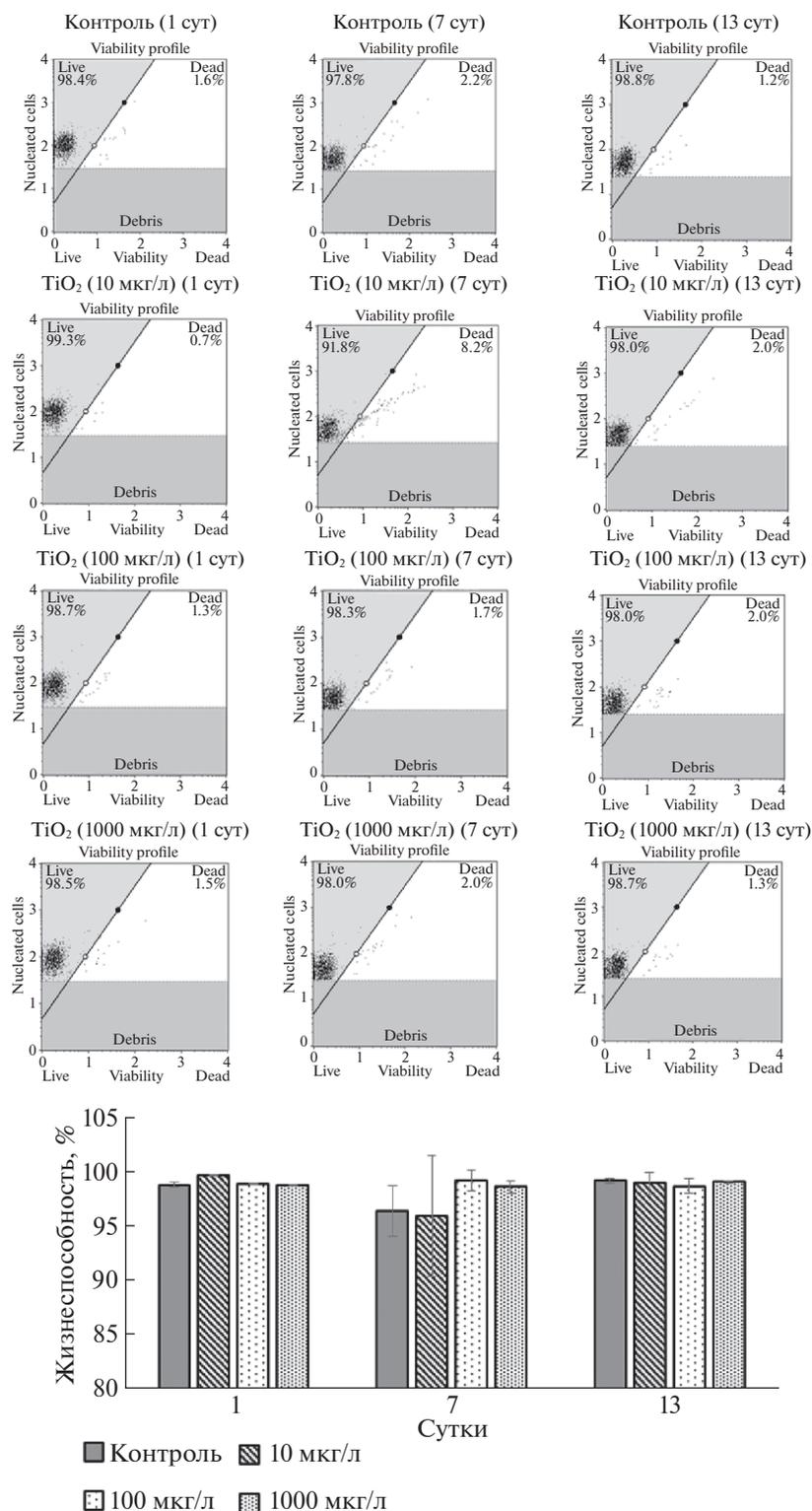


Рис. 4. Анализ жизнеспособности клеток микроводоросли *Desmodesmus* sp., инкубируемых в лунках с добавлением НЧ TiO₂ и в контрольных образцах без добавления НЧ. Здесь и далее * — достоверные различия с контролем.

ими риски как для человека, так и для природных экосистем должны быть оценены. Основной целью данной работы было изучение влияния НЧ на мик-

роводоросль *Desmodesmus* sp. для оценки толерантности культуры к воздействию выбранных НЧ. Также было важным выяснить, можно ли использовать

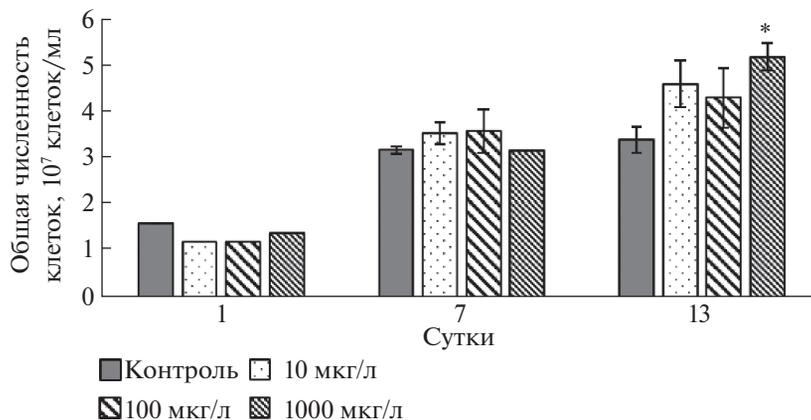


Рис. 5. Изменение общей численности клеток *Desmodesmus* sp. в присутствии НЧ TiO₂.

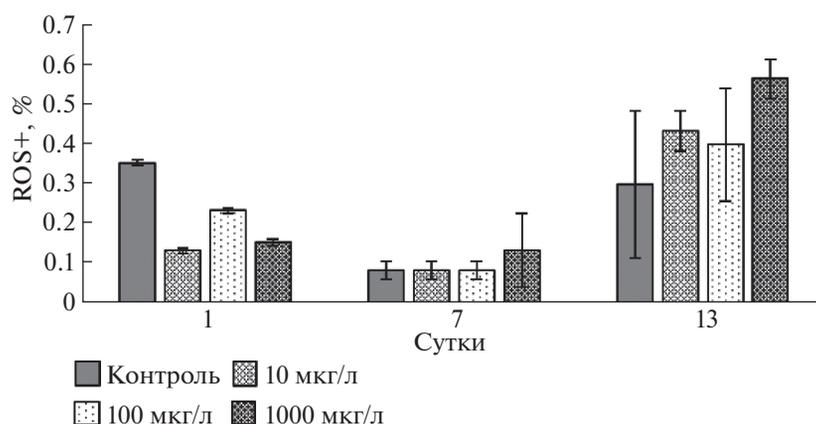


Рис. 6. Анализ наличия окислительного стресса у клеток микроводоросли *Desmodesmus* sp. под действием НЧ TiO₂.

культуру *Desmodesmus* sp. для биоремедиации сточных вод, загрязненных НЧ TiO₂.

При изучении влияния НЧ TiO₂ на различные биологические объекты были описаны неоднозначные результаты [10–12]. Установлено, что техногенные НЧ могут иметь как положительное, так и отрицательное влияние на изучаемые параметры различных культур. В целом настоящее исследование продемонстрировало высокую устойчивость тест-объекта к присутствию в среде НЧ TiO₂. Так, НЧ не оказывали значимого влияния как на жизнеспособность образца, так и на увеличение процента клеток, подвергшихся окислительному стрессу. Кроме того, отмечено увеличение общей численности клеток на 53% под действием НЧ TiO₂ в концентрации 1000 мкг/л. В [12] предложены несколько возможных механизмов, описывающих увеличение общего количества клеток под действием НЧ. Один из них обусловлен возможностью НЧ TiO₂ стимулировать выработку АФК клетками. Считается, что АФК оказывают негативное воздействие на клетки микроводо-

доросли, но, с другой стороны, эти же радикалы кислорода обладают потенциалом для разрушения естественного органического вещества и высвобождения питательных веществ, которые способны стимулировать рост водорослей. Возможно, подобный эффект наблюдался и в проведенном исследовании, так как отмечена тенденция к увеличению общего количества клеток, подвергшихся окислительному стрессу на 13-е сутки под действием НЧ в максимальной концентрации.

Также установлено, что НЧ TiO₂ в концентрации 1000 мкг/л на 13-е сутки способствовали увеличению содержания хлорофилла *a*, *b* и каротиноидов на 10.4, 5 и 3.7 мг/л соответственно. Общее содержание хлорофиллов увеличилось на 2.6 мг/л. При более низких концентрациях TiO₂ наблюдалось увеличение содержания только каротиноидов — на 2 мг/л. Повышение содержания хлорофилла можно объяснить увеличением числа клеток водоросли в максимальной концентрации на 13-е сутки, так как известно, что концентрация пигмента прямо пропорциональна числу живых клеток [35]. С

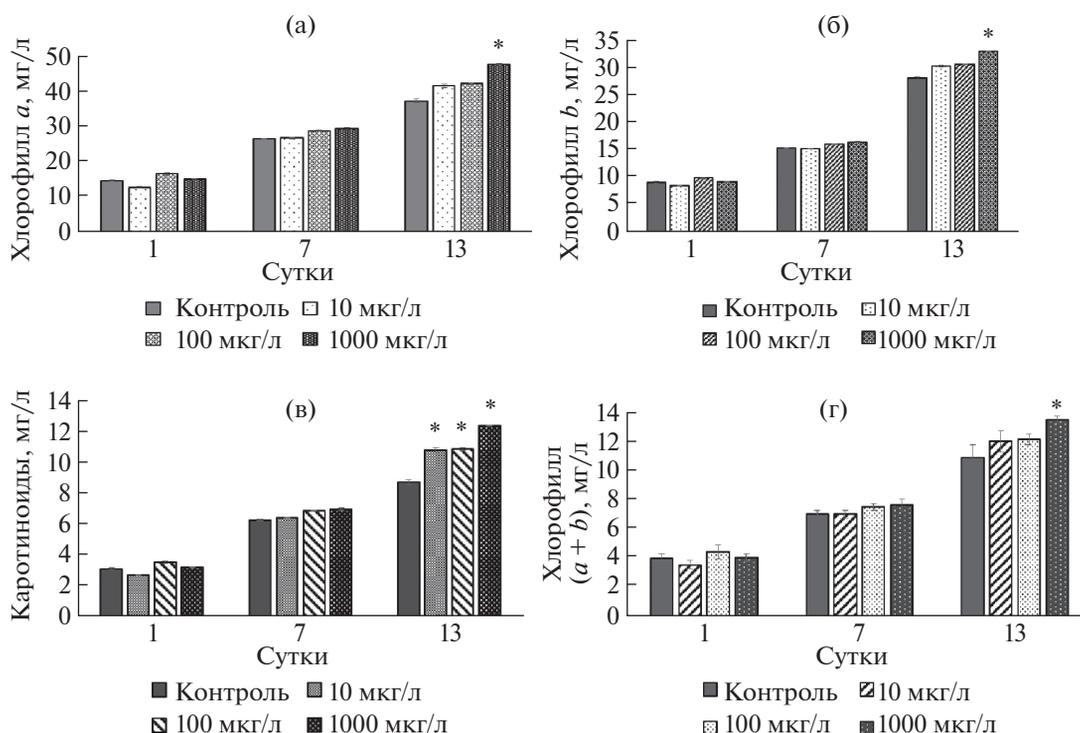


Рис. 7. Динамика содержания пигментов в культуре *Desmodismus* sp. при культивировании с добавлением НЧ TiO_2 : а – хлорофилла a , б – хлорофилла b , в – каротиноидов, г – хлорофиллов $a + b$.

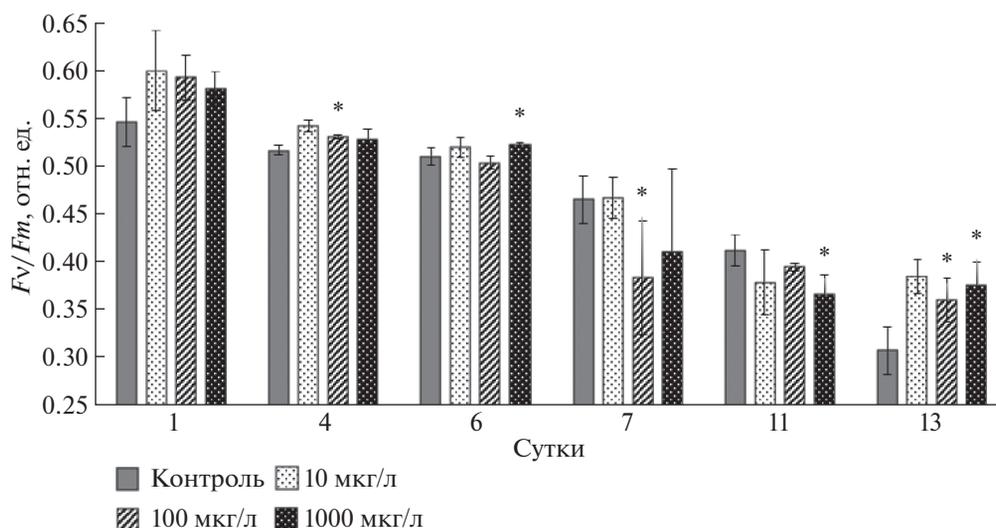


Рис. 8. Динамика изменения параметра F_v/F_m в культуре *Desmodismus* sp. при культивировании в среде BG-11 с добавлением НЧ TiO_2 .

другой стороны, сообщалось, что концентрация пигментов может увеличиваться в ответ на условия низкой освещенности, вызванной НЧ TiO_2 [12, 36].

Известно [37], что НЧ металлов способны влиять на ферменты антиоксидантной системы и стимулировать накопление в тканях растений низкомолекулярных антиоксидантов – пролина,

глутатиона и каротиноидов. Возможно, увеличение концентрации каротиноидов в клетках микроводоросли, наблюдавшееся в настоящем исследовании, стало защитным механизмом против воздействия АФК. Это могло стать одной из причин низкого процентного содержания клеток, подвергшихся окислительному стрессу.

Результаты исследования максимального квантового выхода фотосистемы 2 показали нелинейный характер токсического действия используемых НЧ, что согласуется с данными [38–40]. Предполагается, что подобный нелинейный характер токсичности может быть связан с такими факторами, как ступенчатый характер адаптации живых организмов к стрессам, сигнальная роль низкоинтенсивного влияния НЧ, нелинейный стохастический резонанс, индуцированный слабыми воздействиями [41]. Также нелинейные эффекты в данном случае могут быть обусловлены индивидуальными различиями НЧ [40].

Ингибирование показателя F_v/F_m , наблюдаемое в данном исследовании, можно объяснить несколькими механизмами. Доказано, что токсичность НЧ TiO_2 обусловлена их фотокаталитической активностью, которая проявляется в увеличении ингибирующего эффекта после обработки УФ-излучением. Относительно низкие уровни УФ-лучей, согласующиеся с природным солнечным излучением, могут способствовать повышению токсичности НЧ для фитопланктона [42–44]. Также показано, что НЧ TiO_2 способны прикрепляться к поверхности клеток микроводорослей [8], приводя к прямой или косвенной токсичности через эффект затенения [12].

Таким образом, микроводоросль *Desmodesmus* sp. оказалась относительно устойчивой культурой к воздействию НЧ TiO_2 . Установлено, что *Desmodesmus* sp. обладает способностью поглощать и/или адсорбировать НЧ из водной среды. Известно, что для проникновения НЧ в клетки водорослей им необходимо преодолеть два барьера – клеточные стенки и плазматические мембраны. При этом клеточные стенки водорослей полупроницаемы и обычно пористы по своей структуре. Диаметр этих пор находится в пределах 5–20 нм. Как правило, НЧ размером меньше максимального диаметра пор могут легко проходить через клеточную стенку [45]. Так как в настоящем исследовании средний размер частиц TiO_2 составил 30–40 нм, можно предположить, что их интернализация в клетки микроводоросли затруднена, поэтому в данном случае велика вероятность именно адсорбции НЧ, а не внутреннего поглощения.

Эффективность биоудаления НЧ составила 0.1%, что делает *Desmodesmus* sp. потенциальным инструментом для биоремедиации сточных вод, загрязненных НЧ TiO_2 .

Авторы выражают благодарность коллективу кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова и лично проф. А.Е. Соловченко за предоставленную культуру микроводорослей.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 21-74-20004).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Mueller N.C., Nowack B. // Environ. Sci. Technol. 2008. V. 42. P. 4447. <https://doi.org/10.1021/es7029637>
2. Chen X., Mao S.S. // Chem. Rev. 2007. V. 107. P. 2891. <https://doi.org/10.1021/cr0500535>
3. Chen D., Huang F., Cheng Y.B., Caruso R.A. // Adv. Mater. 2009. V. 21. P. 2206. <https://doi.org/10.1002/adma.200802603>
4. Ozkaleli M., Erdem A. // Int. J. Environ. Res. Public Health. 2018. V. 15. P. 416. <https://doi.org/10.3390/ijerph15030416>
5. Robichaud C., Uyar A.E., Darby M.R. et al. // Environ. Sci. Technol. 2009. V. 43. P. 4227. <https://doi.org/10.1021/es8032549>
6. Kaegi R., Ulrich A., Sinnet B. et al. // Environ. Pollut. 2008. V. 156. P. 233. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.08.004>
7. Hu J., Wang J., Liu S. et al. // J. Environ. Sci. 2018. V. 66. P. 208. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2017.05.026>
8. Wang Y., Zhu X., Lao Y. et al. // Sci. Total Environ. 2016. V. 565. P. 818. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.164>
9. Schiavo S., Oliviero M., Miglietta M. et al. // Sci. Total Environ. 2016. V. 550. P. 619. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.01.135>
10. Miao A.J., Luo Z., Chen C.S. et al. // PLoS One. 2010. V. 5. P. 15196. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015196>
11. Hund-Rinke K., Baun A., Cupi D. et al. // Nanotoxicology. 2016. V. 10. P. 1442. <https://doi.org/10.1080/17435390.2016.1229517>
12. Kulacki K.J., Cardinale B.J. // PLoS One. 2012. V. 7. P. 47130. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047130>
13. Middepogu A., Hou J., Gao X., Lin D. // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2018. V. 161. P. 497. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.06.027>
14. Li Z., Juneau P., Lian Y. et al. // Plants (Basel). 2020. V. 9. P. 1748. <https://doi.org/10.3390/plants9121748>
15. Bameri L., Sourinejad I., Ghasemi Z., Fazelian N. // Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 2022. V. 29. P. 30427. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-17870-z>
16. Gottschalk F., Sun T., Nowack B. // Environ. Pollut. 2013. V. 181. P. 287. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.06.003>
17. Kiser M.A., Westerhoff P., Benn T. et al. // Environ. Sci. Technol. 2009. V. 43. P. 6757. <https://doi.org/10.1021/es901102n>
18. Morelli E., Gabellieri E., Bonomini A. et al. // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2018. V. 148. P. 184. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.10.024>

19. *Kulacki K.J., Cardinale B.J., Keller A.A. et al.* // *Environ. Toxicol. Chem.* 2012. V. 31. P. 2414.
<https://doi.org/10.1002/etc.1962>
20. *Peng C., Zhang W., Gao H. et al.* // *Nanomaterials.* 2017. V. 7. P. 21.
<https://doi.org/10.3390/nano7010021>
21. *Gusev A.A., Zakharova O.V., Vasyukova I.A. et al.* // *Moscow Univ. Biol. Sci. Bull.* 2021. V. 76. P. 165.
<https://doi.org/10.3103/S0096392521040039>
22. *Plappally A., Lienhard J.H.* // *Renew. Sust. Energ. Rev.* 2012. V. 16. P. 4818.
<https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.05.022>
23. *Rempel A., Gutkoski J.P., Nazari M.T. et al.* // *Sci. Total Environ.* 2021. V. 772. P. 144918.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144918>
24. *Solovchenko A., Gorelova O., Selyakh I. et al.* // *Mar. Biotechnol.* 2014. V. 16. P. 495.
<https://doi.org/10.1007/s10126-014-9572-1>
25. *Solovchenko A., Gorelova O., Selyakh I. et al.* // *Algal Res.* 2015. V. 11. P. 399.
<https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.04.011>
26. *Lobakova E.S., Selyakh I.O., Semenova L.R. et al.* // *Moscow Univ. Biol. Sci. Bull.* 2016. V. 74. P. 284.
<https://doi.org/10.3103/S009639251602005X>
27. *Stanier R.Y., Kunisawa R., Mandel M., Cohen-Bazire G.* // *Bacteriol. Rev.* 1971. V. 35. P. 171.
<https://doi.org/10.1128/br.35.2.171-205.1971>
28. *De Marchi L., Coppola F., Soares A.M. et al.* // *Environ. Res.* 2019. V. 178. P. 108683.
<https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.108683>
29. *Solovchenko A.E., Merzlyak M.N., Khozin-Goldberg I. et al.* // *J. Phycol.* 2010. V. 46. P. 763.
<https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2010.00849.x>
30. *Murchie E.H., Lawson T.* // *J. Exp. Bot.* 2013. V. 64. P. 3983.
<https://doi.org/10.1093/jxb/ert208>
31. *Sari A., Tuzen M.* // *J. Hazard. Mater.* 2008. V. 6. P. 302.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.06.097>
32. *Ababna H., Afkar E., Fathi A.* // *Am. J. Environ. Sci.* 2010. V. 6. P. 230.
<https://doi.org/10.3844/AJESSP.2010.230.237>
33. *Che X., Ding R., Li Y. et al.* // *Nanotoxicology.* 2018. V. 12. P. 923.
<https://doi.org/10.1080/17435390.2018.1498928>
34. *Lazár D.* // *Funct. Plant. Biol.* 2006. V. 33. P. 9.
<https://doi.org/10.1071/FP05095>
35. *Janani B., Al Farraj D.A., Raju L.L. et al.* // *J. Environ. Health Sci. Eng.* 2020. V. 18. P. 1465.
<https://doi.org/10.1007/s40201-020-00561-1>
36. *Jørgensen E.G.* // *Physiol. Plant.* 1969. V. 22. P. 1307.
<https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1969.tb09121.x>
37. *Venzhik Y.V., Moshkov I.E., Dykman L.A.* // *Biol. Bull.* 2021. V. 48. P. 140.
<https://doi.org/10.1134/S106235902102014X>
38. *Zakharova O.V., Godymchuk A.Y., Gusev A.A. et al.* // *Biomed. Res. Int.* 2015. V. 2015. P. 2206.
<https://doi.org/10.1155/2015/412530>
39. *Bayade G., Rong Wu M., Massicotte R. et al.* // *Eng. Biomater.* 2021. V. 159. P. 2.
<https://doi.org/10.34821/eng.biomater.159.2021.2-17>
40. *Bell I.R., Ives J.A., Jonas W.B.* // *Dose Response.* 2013. V. 12. P. 202.
<https://doi.org/10.2203/dose-response.13-025.Bell>
41. *Stovbun S.V., Kiselev A.V., Zanin A.M. et al.* // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2012. V. 153. P. 455.
<https://doi.org/10.1007/s10517-012-1739-z>
42. *Zhang A.P., Sun Y.P.* // *World J. Gastroenterol.* 2004. V. 10. P. 3191.
<https://doi.org/10.3748/wjg.v10.i21.3191>
43. *Hund-Rinke K., Simon M.* // *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2006. V. 13. P. 225.
<https://doi.org/10.1065/espr2006.06.311>
44. *Gurr J.R., Wang A.S., Chen C.H., Jan K.Y.* // *Toxicology.* 2005. V. 213. P. 66.
<https://doi.org/10.1016/j.tox.2005.05.007>
45. *Wang F., Guan W., Xu L. et al.* // *Appl. Sci.* 2019. V. 9. P. 1534.
<https://doi.org/10.3390/app9081534>