

Н. А. ГОЛУБЬ

ВЛИЯНИЕ МИДИЙНОГО ГИДРОЛИЗАТА НА СПЕКТРЫ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ
МИКРОВОДОРОСЛЕЙ

Исследованы изменения в параметрах люминесценции культур микроводорослей, растущих при наличии и отсутствии в среде органических питательных веществ. Показано, что под влиянием РОВ гидролизата у исследованных видов микроводорослей снижалась люминесценция хлорофилла, а люминесценция компонентов гетеротрофного энергообеспечения клетки возрастала. Анализ динамики соотношения люминесценции хлорофилла и окисленных флавопротеинов позволяет судить о типе питания в культуре микроводорослей.

Поскольку компоненты фототрофной и гетеротрофной систем энергообеспечения клетки компартаментализованы и различаются по спектрам люминесценции, то преобладание активности той или иной системы будет отражаться на интенсивности люминесценции на определенных длинах волн [4]. Для одиночных клеток с использованием метода люминесцентно-спектрального анализа (ЛСА) было показано существенное различие спектров люминесценции, как по видам планктонных водорослей, так и в зависимости от фототрофного или гетеротрофного типа питания [6].

Некоторые виды микроводорослей способны на свету использовать в качестве источника питания белки и углеводы [1,3,7,8,9] и это, вероятно, должно влиять на метаболические процессы в системах энергообеспечения клетки и связанные с ними характеристики люминесценции. Для характеристики типов питания в культуре микроводорослей метод ЛСА до настоящего времени не использовался. Цель настоящей работы – изучить изменения люминесцентных характеристик микроводорослей при наличии и отсутствии в среде органических питательных веществ и оценить тип питания культуры микроводорослей, анализируя соотношение этих характеристик.

Материал и методика. В качестве модельной среды для гетеротрофного питания культуры микроводорослей использован мидийный щелочной гидролизат, содержащий аминокислоты, производные белков, углеводов и липидов [2]. Опыты проводили на двух альгологически чистых культурах микроводорослей – *Exuviaella cordata* (Pyrrhophyta) и *Nitzschia closterium* (Bacillariophyta), взятых из коллекции отдела экологической физиологии водорослей ИнБЮМ НАНУ.

Для адаптации к условиям опыта культуры микроводорослей в течение недели выращивали при непрерывном освещении и постоянной мощности – 5000 лк и температуре от 18 до 26°C.

Культуры в контроле выращивали на среде Гольдберга в модификации Ю.Г. Кабановой, опыт – на той же среде с добавлением мидийного гидролизата с конечной концентрацией белка 30 мг·л⁻¹. В экспериментах аликвоту культуры микроводорослей, находящуюся в стадии логарифмического роста, разводили средой до концентрации клеток, имеющей оптическую плотность при 670 нм – 0,1 ед. Измерения проводили в течение суток через каждые 4 ч.

Для измерения люминесцентных характеристик культур микроводорослей использовали спектрофлюорофотометр RF-5000. Аликвоту культуральной жидкости объемом 4 мл помещали в кварцевую кювету с длиной оптического пути 10 мм и проводили измерения без предварительной выдержки. Интенсивность люминесценции окисленных флавопротеинов измеряли при 530 нм, используя возбуждающий свет с длиной волны 365 нм. Для хлорофилла использовали возбуждающий свет с длиной волны 436 нм, измерения проводили при 682-684 нм.

По полученным данным рассчитывали параметр χ , который отражает соотношение вклада фотоавтотрофной и гетеротрофной компонент системы

энергообеспечения клетки [5], по следующей формуле :

$$\chi = \frac{I_{530}}{I_{683}}$$

Результаты и обсуждение. Влияние РОВ на люминесцентные характеристики исследованных видов микроводорослей неоднозначно. Добавка гидролизата в среду вызывала ингибирование фотосинтеза у *E. cordata* и *N. closterium*, что подтверждается снижением люминесценции хлорофилла в течение всего опыта (рис. 1).

В первые 8 ч параметр χ у *E. cordata* убывал по отношению к контролю, затем возрастал до конца опыта, указывая на преобладание люминесценции окисленных флавопротеинов над люминесценцией хлорофилла (рис. 2). В опыте культуры *N. closterium* параметр χ постоянно возрастал по сравнению с контролем (рис. 2).

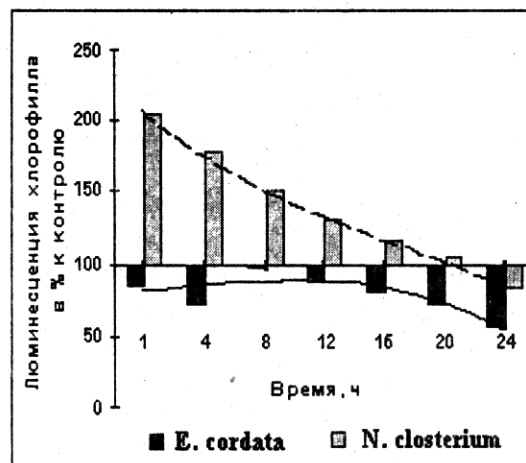


Рис. 1. Динамика люминесценции хлорофилла в сравнении с контролем.

Fig. 1. Dynamics of chlorophyll luminescence in comparison with control.

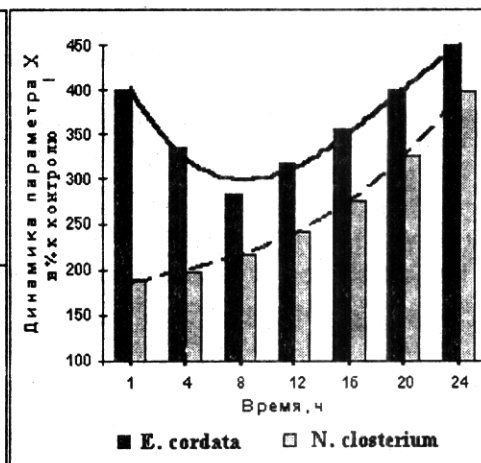


Рис.2 Динамика параметра χ в сравнении с контролем.

Fig. 2. Dynamics of parameter χ in comparison with control.

По нашим данным [2], *E. cordata* активно потребляла гидролизат в течение всего эксперимента, а при ингибировании фотосинтеза это может указывать на смену типа питания у этого вида. По [1], у культур планктонных водорослей при смене источника углерода часто наблюдается многочасовая переадаптация. Вероятно этим могут объясняться изменения в направленности линий тренда люминесценции хлорофилла и параметра χ у *E. cordata*.

В культуре *N. closterium* наблюдается постепенное ингибирование фотосинтеза с параллельным усилением энергопродукции в гетеротрофной системе энергообеспечения клетки, что может свидетельствовать об использовании смешанного типа метаболизма. В ходе эксперимента нами показано, что *N. closterium* потребляла гидролизат [2]. По некоторым данным у диатомовых на свету преобладает прямая ассимиляция и накопление липидов из окружающей среды [1].

Ингибирование фотосинтеза происходит на фоне увеличения концентрации клеток в опытных культурах по сравнению с контролем [2], что также может подтверждать использование смешанного типа питания у *N. closterium* и даже переход на гетеротрофное потребление органики у *E. cordata*.

Таким образом, проведенные исследования показали: 1) при потреблении мидийного гидролизата у микроводорослей возрастает люминесценция окисленных флавопротеинов, что сопровождается снижением люминесценции хлорофилла; 2) анализ динамики параметра χ и люминесценции хлорофилла показал, что у *Exuviaella cordata* преобладал гетеротрофный тип питания, а *Nitzschia closterium* использовала смешанный тип питания.

1. Гавриленко В.Ф., Гусев М.В., Никитина К.А., Хоффманн П. Использование органических соединений. Фотогетеротрофия. //Избранные главы физиологии растений. – М.: МГУ, 1986.– С. 392-411.
2. Голубь Н.А. Регулирующее действие мидийного гидролизата на темп деления микроводорослей //Экология моря.– 1999.– Вып.48.– С.35-38.
3. Злобин В., Нянишкене В., Путинцев Н. Экосистемы водорослей в изменяющихся условиях среды обитания.– Вильнюс, 1987. – С.144.
4. Карнаухов В.Н. Люминесцентный спектральный анализ клетки.– М., 1978.– С.44-62.
5. Карнаухов В.Н., Керженцев А.С., Лисовский А.Е., Яшин В.А. Люминесцентный спектральный анализ в биомониторинге загрязнения воздушной среды.– Пушкино, 1983.– С.4-22.
6. Карнаухов В.Н., Яшин В.А. Спектральные исследования морского микропланктона.– Пушкино, 1980.– С.5-37.
7. Кондратьева Т.М. Регулирующее действие органических веществ на рост и фотосинтез планктонных водорослей в культурах. //Экология моря. – 1982. – Вып.9.– С.75-84.
8. Раймонт Дж. Влияние содержания биогенных веществ на первичную продукцию. / Планктон и продуктивность океана. – М., 1983. – 1.– С.335-392.
9. Рейен П., Эверт Р., Айкхорн С. Современная ботаника. /В 2-х т.– М., 1990 –1.– С.223-228.

Институт биологии южных морей НАНУ,
г. Севастополь

Получено 15.02..99

N. A. GOLUB

THE EFFECT OF MUSSEL HYDROLYZATE ON MICROALGAE LUMINESCENCE SPECTRA

Summary

Cultures of microalgae cultivated in a medium with and without organic nutrients were studied for changes in parameters of luminescence employing the method of luminescent spectral analysis (LSA). It was found that in the majority of species injection of mussel hydrolyzate brought a reduction of chlorophyll luminescence while the luminescence of components of cell heterotrophic energy supply increased. Analysis of the dynamics of parameter % revealed that heterotrophic kind of feeding prevailed in *Exuviaella cordata*, while in *Nitzschia closterium* feeding kind was mixed.

УДК 594.124/575

А.В.КУЗНЕЦОВ*, А.В.ПИРКОВА**, Г.А.ДВОРЯНЧИКОВ***,
Е.А.ПАНФЕРЦЕВ*, А.В.ГАВРЮШКИН****, И.В.КУЗНЕЦОВА*****,
В.Е.ЕРОХИН**

ПЕРЕНОС ЧУЖЕРОДНЫХ ГЕНОВ СПЕРМАТОЗОИДАМИ В ЯЙЦЕКЛЕТКИ МИДИИ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* LMK.

Разработки в области генной инженерии морских беспозвоночных проводятся с учетом опыта, накопленного при конструировании генетически модифицированных микроорганизмов и при создании трансгенных растений и животных. В данной работе предпринята первая попытка генетической трансформации черноморской мидии *Mytilus galloprovincialis* Lmk.

Изучали возможность переноса экзогенных ДНК сперматозоидами мидии *M. galloprovincialis* в яйцеклетки в естественных условиях и при использовании ряда методов трансфекции. Оценивали уровень оплодотворяемости яйцеклеток и интенсивность развития личинок после обработки спермиев ДНК. Отмечено негативное

© А.В. Кузнецов, А.В. Пиркова, Г.А. Дворянчиков, Е.А. Панферцев,
А.В. Гаврюшкин, И.В. Кузнецова, В.Е. Ерохин, 1999