

**РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК  
ЮЖНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР  
ДОНСКОЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ**



# **АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ РЫБНОГО ХОЗЯЙСТВА И АКВАКУЛЬТУРЫ БАССЕЙНОВ ЮЖНЫХ МОРЕЙ РОССИИ**

**Материалы Международной научной конференции  
г. Ростов-на-Дону  
1–3 октября 2014 г.**

**Ростов-на-Дону  
Издательство ЮНЦ РАН  
2014**

## **ДИНАМИКА РОСТА ДИНОФИТОВЫХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ ПРИ НАЛИЧИИ В ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ ТРОФИЧЕСКИХ ИЛИ ТОКСИЧНЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ**

*В.Е. Ерохин, А.П. Гордиенко*

## **DYNAMICS OF GROWTH OF DINOPHYTES MICROALGAE IN THE PRESENCE AT A NUTRIENT MEDIUM TROPHIC OR TOXIC ORGANIC SUBSTANCES**

*V.E. Erokhin, A.P. Gordienko*

*Институт биологии южных морей им А.О. Ковалевского, Севастополь, Россия  
veerokhin@gmail.com, apgord@gmail.com*

---

Динофитовые водоросли играют значительную роль в функционировании морских экосистем, а сведений по влиянию на них трофически ценных и токсичных органических загрязнений, например фенольных соединений, практически не имеется. Скорее всего, причина слабой изученности этих микроводорослей связана с особенностями их культивирования и метаболизма. Известно, что при возникновении отрицательно влияющих на фотосинтез факторов и при наличии в среде органических веществ, динофлагелляты переходят на гетеротрофный механизм энергообеспечения. Установлено, что вещества фенольной природы имеют различные механизмы взаимодействия при автотрофном и гетеротрофном способах питания, что не только осложняет технику постановки эксперимента, но и снижает достоверность получаемых данных [1].

Целью настоящей работы явилась экспериментальная оценка динамики роста морских динофитовых микроводорослей при влиянии трофически ценных и токсичных органических загрязнений.

Опыты проводили на альгологически чистых культурах динофитовых микроводорослей *Prorocentrum cordatum* (Ostenfeld, 1901) Dodge, 1975 (Dinophyta), взятых из коллекции отдела экологической физиологии водорослей Института биологии южных морей НАН Украины. Для адаптации к условиям культивирования с естественным чередованием фаз освещенности и темного периода микроводоросли выращивали на решётке с люминесцентными лампами. Уровень освещения культур составлял от 1000 лк ( $17 \text{ мкЕ м}^{-2} \text{ с}^{-1}$ ) до 6000 лк ( $100 \text{ мкЕ м}^{-2} \text{ с}^{-1}$ ) в течение 6 часов. Остальное время суток культуру содержали при естественном освещении и длительности светового дня. Температура во время проведения опыта составляла от  $+18^\circ\text{C}$  до  $+26^\circ\text{C}$ . Накопительную культуру выращивали в конических колбах емкостью 200 мл, разводя плотную культуру средой для опыта до оптической плотности 0,1 ед. опт. пл. (измеренную в 20 мм кювете при 670 нм на КФК-2). Опыты проводили в трех повторностях. Определение концентрации клеток в культуре микроводорослей проводили стандартным способом прямого учета в камере Горяева и колориметрическим методом. Культуры в контроле выращивали либо на среде

Гольдберга в модификации Ю.Г. Кабановой, либо на пастеризованной морской воде, опыт – на той же среде с добавлением мидийного гидролизата с конечной концентрацией белка до  $0,5 \text{ мгл}^{-1}$ . Данная концентрация белка близка к таковой в естественных условиях, не мешает фотокolorиметрированию культуральной жидкости и является физиологически значимой для микроводорослей. В данной работе использовали специфическую технику постановки эксперимента. После разведения культур до оптической плотности  $0,1$  отн. ед., в двух повторностях (контроль и опыт с концентрацией белка  $0,5$  и  $0,05 \text{ мгл}^{-1}$ ) колбы помещали на световую решётку, или в бокс со светонепроницаемой крышкой (в опытах по культивированию в темноте). Измерения характеристик роста водорослей проводили один раз в сутки до выхода культур на экспоненциальную фазу роста, после чего аликвоты культур использовали в качестве инокулята для экспериментального выращивания на питательных средах с заданными условиями освещения и концентрациями фенола и гидролизата.

В качестве модельных трофически ценных органических загрязнений нами был использован щелочной мидийный гидролизат, который имитировал в экспериментах растворённое органическое вещество, поступающее в воду в результате деструкции и физико-химического выщелачивания отмирающих организмов. Для моделирования токсических веществ использовали концентрации фенола, как близкие к его содержанию в море, так и заведомо токсичные. Обработку полученных экспериментальных результатов проводили стандартными методами.

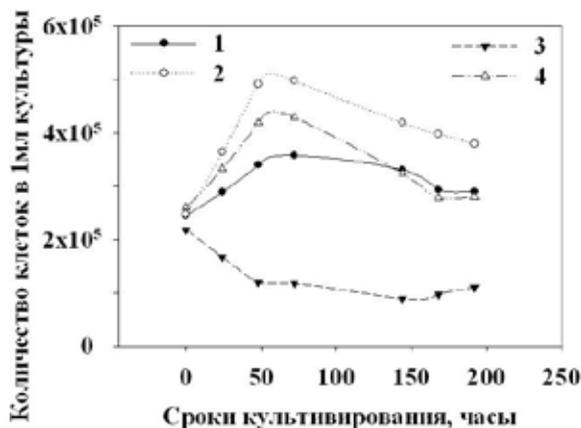
Получены экспериментальные данные по динамике роста динофлагеллят в накопительных культурах при токсическом воздействии фенольных соединений, в условиях различной освещённости. Исследовано также влияние добавок растворённых в воде модельных органических трофически ценных загрязнений на рост динофитовых микроводорослей при различных уровнях освещения. Проведены опыты по сочетанному влиянию гидролизата мидий и фенольных соединений на динамику роста водорослей. На рисунке представлены данные по динамике роста культур в одном из экспериментов.

Стимулирование роста культуры при незначительных концентрациях фенолов (до  $1 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$ ) можно объяснить либо непосредственной утилизацией фенола микроводорослями, либо утилизацией и деструкцией фенола сопутствующими микроорганизмами. Во втором случае, потребление продуктов трансформации фенола может происходить либо путём утилизации растворённой органики, либо путём захвата сопутствующих бактериальных клеток. Следует отметить, что указанное предположение требует экспериментальной проверки.

Рис. Динамика роста культур *P. cordatum* на морской воде (1), на морской воде с добавкой  $0,5 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$  гидролизата мидий (2), а также при добавке фенола в концентрациях  $100 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$  (3) и  $10 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$  (4) в культуральную среду, содержащую  $0,5 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$  гидролизата мидий. Освещение  $100 \text{ мкЕ}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ .

Высокая концентрация фенола ( $100 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$ ) угнетала развитие микроводорослей, клетки теряли подвижность, оседали на дно, но при этом сохраняли клеточную

оболочку и органеллы. Аналогичная картина наблюдается и при культивировании *P. cordatum* при низких уровнях освещенности. Обнаружено, что культура *P. cordatum* при отсутствии освещения и доступных органических трофически ценных веществ, вероятно, может переходить в период покоя, так как численность клеток при высокой концентрации фенола в среде достаточно длительное время не изменяется. При продолжительной экспозиции, превышающей 15 суток, вновь наблюдали увеличение роста численности клеток. Последнее может быть вызвано утилизацией сопутствующей бактериальной микрофлорой избыточной концентрации фенолов с переработкой их в доступные для микроводорослей соединения.



Нами было показано, что мидийный гидролизат использовался большинством исследованных видов микроводорослей, особенно представителями пиррофитовых и диатомовых [1,2]. Широкий спектр органических веществ гидролизата оказывает значительное влияние на рост популяции планктонных водорослей.

Наиболее характерным показателем потребления растворённой органики могут служить изменения в темпе деления культур микроводорослей. Сбалансированный состав органических веществ гидролизата – органические формы углерода, азота, фосфора, витаминов и микроэлементов – утилизируются фитопланктоном, не только в качестве энергетического, но и пластического материала, что приводит к ускорению темпа деления. Полученные данные показывают, что в культуре *P. cordatum*, которая потребляла гидролизат в течение всего опыта, темп деления клеток увеличился более чем вдвое по сравнению с контролем, растущим на среде Гольдберга.

Значительный интерес представляет способность микроводорослей *P. cordatum* расти на органических веществах гидролизата в темноте. При этом на рост культур влияют концентрация растворённых веществ, плотность клеток в инокуляте и другие факторы, которые необходимо учитывать, нормировать, а в некоторых случаях адаптировать, например, к новому субстрату. Указанный эффект достигается в результате выравнивания физиолого-биохимических параметров за счёт адаптации культур динофитовых водорослей к условиям гетеротрофного мета-

болизма. Адаптацию осуществляют путём предварительного культивирования микроводорослей в темноте на питательных средах с мидийным гидролизатом до выхода культур на экспоненциальную фазу роста.

Для уточнения влияния органических трофически ценных веществ при сочетании действия гидролизата и фенолов на культуральных средах, имитирующих загрязнение разными типами органических веществ, были поставлены специальные эксперименты. Основная задача этих опытов сводилась к проверке гипотезы о том, что при достаточном содержании в среде трофически ценных органических веществ, токсическое действие фенольных соединений на динофлагеллят снижается.

Получены данные по динамике роста динофитовой водоросли *P. cordatum* при сочетании действия гидролизата и фенола. На фоне добавки в культуральную среду  $0,5 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$  щелочного гидролизата мидий и освещении  $100 \text{ мкЕ}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ , исследованы как низкие концентрации фенола ( $0,25$ ;  $0,5$ ;  $0,75 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$ ) так и высокие ( $10 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$  и  $100 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$ ).

На свету наблюдали стимулирование роста микроводорослей, по сравнению с контролем на морской воде в вариантах опыта на морской воде с добавкой  $0,5 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$  щелочного гидролизата мидий, а также при добавке фенола в концентрации  $10 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$  в культуральную среду, содержащую  $0,5 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$  щелочного гидролизата мидий. При концентрации фенола  $100 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$  на фоне содержания в среде  $0,5 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$  щелочного гидролизата мидий, рост водорослей ингибировался.

Вполне очевидно, что при массовом цветении фитопланктона в эвтрофированных акваториях возможна реализация пластичного механизма энергообеспечения исследованных планктонных водорослей. Исходя из способности планктонных водорослей к гетеротрофному энергообеспечению, следует учитывать в трофодинамических расчетах их вклад в формирование замкнутого цикла углерода в экосистемах. Результаты исследования могут быть использованы при разработке рекомендаций по улучшению состояния окружающей среды, а также могут найти применение в биотехнологии для разработки методов стимулирования роста культур микроводорослей.

Резюмируя изложенное, необходимо отметить, что нами установлен стимулирующий, а также снижающий токсическое действие фенола эффект взаимодействия динофитовых водорослей *Prorocentrum cordatum* и мидийного гидролизата при концентрациях от  $0,05$  до  $0,5 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$  в перерасчёте на белок. Длительность поддержания роста водорослей в темноте, за наблюдаемый период культивирования, определяется концентрацией в питательной среде трофически ценных растворённых органических веществ. Низкие концентрации трофически ценных растворённых органических веществ при освещении используются в качестве эффективного питательного субстрата, что является одной из причин стимуляции роста *P. cordatum* в условиях освещенности  $17 \text{ мкЕ}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$  и  $100 \text{ мкЕ}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$  и может быть объяснено наличием миксотрофии у этих водорослей. Экспериментально подтверждено, что фенол в концентрации от  $0,25$  до  $10 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$  стимулирует рост динофитовых водорослей. Механизм этого эффекта остается неясным.

**Список использованной литературы**

1. Ерохин В.Е., Голубь Н.А. Динамика роста планктонных водорослей в накопительной культуре с добавками растворённых органических веществ // Микроводоросли Чёрного моря: проблемы сохранения биоразнообразия и биотехнологического использования. Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2008. С. 320–342.
2. Ерохин В.Е., Голубь Н.А., Гордиенко А.П. Влияние фенольных соединений на морские водоросли. //Збірник наукових статей до Міжнародної науково-практичної конференції «Екологічні проблеми Чорного моря» (27–28 жовтня, 2011, Одеса): 3-б. наук.ст./відп.ред. В.М. Небрат. Одеса: Інноваційно-інформаційний центр «ІНВАЦ», 2011, С. 257–260.