

СОДЕРЖАНИЕ САХАРА В *OSCILLATORIA AGARDHII* ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ В РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ СРЕДЫ

SUGAR CONTENT OF *OSCILLATORIA AGARDHII* WHEN CULTURED UNDER DIFFERENT MEDIUM CONDITIONS

K. Korlyakov
S. Marinin

Summary. The article presents the results of a study on the specificity of sugar content in the culture of algae *Oscillatoria agardhii* in the water of lakes of various mineralization. It has been established that algae accumulate the highest concentrations of sugars in microelement-rich environments. Also, in cells developing in planktonic form, the sugar content is usually higher compared to the algobacterial mat formed from the culture on the bottom and walls of cultured containers.

Keywords: algae, sugar, planktonic form, trace elements, trichome length.

Корляков Константин Александрович

Кандидат биологических наук, доцент,
ФГБОУ ВО «Челябинский Государственный университет»
korfish@mail.ru

Маринин Сергей Александрович

ФГБОУ ВО «Челябинский Государственный университет»

Аннотация. В статье представлены результаты исследования по специфике содержания сахара в культуре водоросли *Oscillatoria agardhii* в воде озер различной минерализации. Установлено, что наибольшие концентрации сахаров водоросль аккумулирует в более богатых по микроэлементам средах. Также в клетках, развивающихся в планктонной форме содержание сахаров, как правило, выше по сравнению с альгобактериальным матом, формирующимся из культуры на дне и стенках культивируемых емкостей.

Ключевые слова: водоросль, сахар, планктонная форма, микроэлементы, длина трихом.

Введение

Адаптация синезеленых водорослей к широким градиентам условий среды делает их часто используемым промышленным объектом в аквакультуре и позволяет изучать особенности физиологической пластичности. В связи с чем, при акклиматизационных работах следует знать изменение физиологических и молекулярных особенностей используемых в промышленности культурах. Динамика изменения концентрации сахара изучена в сухопутных формах растений, в водных экосистемах содержание сахаров, как правило, изучается в используемых в промышленности видах. Однако, в непродовольственных видах водорослей специфика изменения концентрации сахара в различных условиях среды исследована в значительно меньшей мере. Один из эвригалинных видов водорослей — *Oscillatoria agardhii* культивируется в искусственных условиях и является удобным объектом для экспериментальных исследований. Целью нашей работы было изучение развития *Oscillatoria agardhii* в воде озер различной минерализации и особенности накопления сахара в различных условиях среды.

Материал и методика

В экспериментах использовалась культура *Oscillatoria agardhii*. Для исследования акклиматизации и накопления сахаров в различных природных средах были взяты выборки воды из средне- и высокоминерализованных

озер Челябинской области с диапазоном минерализации 12–43 г/л [3]. Также использовалась морская вода, которая была получена из состава среды, используемой для морских аквариумов. Концентрация соли измерялась рефрактометром WZ-212 (RHS-28ATC) в диапазоне 0–50 % с разрешением 0.1 % и точностью ± 0.2 % [1, 8]. В пробу воды объемом 0.5 л из каждого озера добавлялся инокулят культуры в размере 10 мл и культивировался в течение 1 месяца. На протяжении всего исследования производился подсчет численности клеток *Oscillatoria agardhii* методом микроскопирования путём зрительного пересчёта на микроскопе Levenhuk D2L NG монокулярный в поле зрения 280 мкм² с окуляром WF16x м объективом 4x. Для каждого растения брали навеску из 5 граммов и толкли в ступке до получения однородной консистенции. Затем брали марлю, складывали ее в 4 раза и процеживали растолчённое растение. Таким образом, получался слегка мутный сок. Подготовка пробы с водорослью *Oscillatoria agardhii* проводилась с помощью центрифугирования на аппарате «Центрифуга лабораторная Армед СН80-2S». Полученный супернатант сливался, а полученный осадок исследовался с использованием рефрактометра для измерения уровня сахара RHB-32ATC.

При выполнении исследований были использованы реактивы, такие как: сода двууглекислая, двуххромовокислый калий, медный купорос, аммиак, дистиллированная вода. Анализ проб растений проводился по действующему ГОСТ 34128–2017.

Для определения химического состава воды озер был применен метод капиллярного электрофореза (Капель 104Т). Данный анализ проводился согласно ПНД Ф 14.1:2:4.157-99 и ПНД Ф 14.1:2:4.167-2000 [5, 6].

Результаты исследования

Оптимальная минерализация, при которой развивалась осцилатория составила 40–43 г/л. Наибольшая масса осцилатории достигала 2 г в 500 мл культуры питательной среды. При этом, чем выше минерализация, тем выше содержание сахара в осцилатории (табл. 1). Концентрация сахара увеличивалась почти в два раза в диапазоне от 40 до 60 г/л.

Таблица 1.

Содержание сахара в планктонной и перифитонной формах осцилатории в зависимости от солёности питательной среды

Проба	Минерализация, г/л	Сахар, г/100 г	Биотопическая форма <i>Oscillatoria agardhii</i>
1	43	5	Планктонная
		4	Прикрепленная
2	60	10	Планктонная
		7	Прикрепленная
3	60	12	Планктонная
		11	Прикрепленная
4	80	11	Планктонная
		13	Прикрепленная

Содержание сахара во всех культивируемых пробах было выше в планктонной форме водорослей, кроме пробы с наиболее высокой минерализацией, составляющей 80 г/л (табл. 1). Ранее нами таким же методом, представленным в данной работе определено содержание сахара в хлорелле, а также водных мхах и высших водных растениях [4]. Данное исследование показало, что содержание сахара в *Oscillatoria agardhii* отличалось наиболее высокими показателями по сравнению с хлореллой и другими водными растениями. Данные исследования также показали, что даже у тропических видов растений при снижении температуры воды и возникновении других негативных эффектов увеличивается концентрация сахара в тканях. В данном случае эффект увеличения содержания сахара в прикрепленной, донной форме *Oscillatoria agardhii* может свидетельствовать о схожих «защитных» механизмах. Прямым механизмом может являться и то, что в прикрепленной форме клетки водорослей, находящиеся более глубоко в межклеточном матриксе, становятся более удаленными от соленой среды в отличие от планктонных клеток. Так, как в большинстве планктонных проб водорослей концентрация сахара была выше.

Причиной относительно большей концентрации сахара в планктонной форме, относительно прикрепленной в большинстве проб с менее высокой минерализацией, может являться меньшая интенсивность света слабее проникающего внутрь альгобактериального мата и тормозящая метаболические реакции. Также внутри альгобактериального мата сахара могут интенсивней расщепляться и расходоваться на другие анаэробные реакции, в том числе катаболизма. Причиной более высокой концентрации сахара в альгобактериальном мате в самой высокой по минерализации среде (80 г/л) может также объясняться обратными процессами — задержкой распада сахаров в мате и его более интенсивной освещенностью, так как в самой высокой минерализации плотность клеток в планктонной форме снижалась. Это метаболическая трактовка выявленных концентраций сахара. Отмеченное же выше увеличение концентрации сахара в *Oscillatoria agardhii* и других растениях вызванное влиянием негативных факторов среды является уже физиологической адаптацией. Данное явление отмечено другими исследователями [2, 9, 10].

Наиболее высокие концентрации сахара осцилатория накапливала при содержании в морской воде (табл. 2). Следует отметить, что концентрация сахара в культуре, содержащейся в морской воде, превышала данный показатель в контрольной питательной среде. Концентрация в 6–7 % была зафиксирована в озерах Большое солёное, Горькое и Линейское. В данных озерах минерализация колебалась в пределах 17–43 г/л. В озерах Каясан, Спорное-3, и Хомутино-3 с градиентом минерализации 12–16 г/л концентрация сахара в культуре осцилатории колебалась в пределах 2–4 %.

Таблица 2.

Уровень сахара, содержащийся в *Oscillatoria agardhii*, выращенной в воде из естественных высокоминерализованных водоёмов и морской воде

№	Наименование пробы	Минерализация, г/л	Плотность колонии (шт./280 мкм ²)						Уровень сахара (в % Brix)
			30.04	2.05	4.05	6.05	8.05	10.05	
1	Контроль	40	97	101	104	102	135	168	9
2	Море	33	10	14	6	7	20	15	11
3	Большое солёное	43	16	18	17	12	25	27	7
4	Горькое	–	7	16	19	8	21	26	7
5	Линейское	17	9	20	8	5	9	14	6
6	Спорное 3	12	24	37	19	5	8	7	4
7	Каясан	16	11	14	17	10	15	5	3
8	Хомутино-3	12	8	13	7	2	7	8	2

Если сравнить гидрохимический состав воды, то озеро Каясан отличалось более высокими концентрациями почти всех элементов и соединений (табл. 3). Так, концентрация Na, K и Mg в озере Каясан превышала аналогичные показатели в озере Хомутино 3 на 2 порядка, концентрация Cl была выше на 1 порядок. Концентрации NO₃ и SO₄ также были выше в озере Каясан. Таким образом, в воде с более повышенной концентрацией микроэлементов повышается концентрация сахара в клетках водорослей.

Таблица 3.

Гидрохимический состав воды из некоторых озер, в которых культивировалась *Oscillatoria agardhii*

Компонент	Концентрация, мг/л		
	Хомутино 3	Каясан	ПДК, мг/л
F	–	–	0,75
Cl	2572	14600	300
NH ₃	–	179.7	0,5
NO ₃	317	388.1	40
K	3.578	159.5	50
Sr	3.781	–	0,4
Na	84.74	5669	120
Ca	0.7989	–	180
Mg	4.242	405.4	40
Li	–	359	–
SO ₄	285.9	454	100
PO ₄	655.2	–	0,5

Примечание: жирным шрифтом выделены показатели превышающие нормативы (Приказ...2020) [7].

В среднем самая большая плотность *Oscillatoria agardhii* была отмечена в ёмкости с искусственной средой (контроль), достигающая 168 клеток на 280 мкм². Наибольшая плотность в естественной среде зафиксирована в ёмкости с водой из оз. Большое солёное; в среднем наименьшая плотность выявлена в ёмкости с водой из оз. Хомутино 3. Во всех ёмкостях с естественной средой наблюдался явный прирост водоросли до 2–3 измерения (3–5 дней), затем наблюдался спад, что предположительно связано с расходом питательных веществ в среде, так как после спада численности клеток прирост водоросли увеличивался после добавления исходной среды водоёма.

Наибольший уровень сахара был отмечен в ёмкости с морской водой — 11 % Brix, хотя плотность *Oscillatoria agardhii* в морской среде отличалась средними величинами и была значительно меньше, чем в ёмкости с искусственной средой, где уровень сахара составил 9 % Brix. В воде из природных озер количество клеток *Oscillatoria agardhii* было меньше, но длина их в 2–5 превышала длину клеток в контроле, также была выше ширина клеток. Самые длинные клетки наблюдались в морской воде. Причиной увеличения длины клеток в озерах может являться снижение общей плотности клеток в толще воды. Таким образом, наблюдаются две разные стратегии развития *Oscillatoria agardhii* в воде с различным гидрохимическим составом и разными, по происхождению, природными и искусственными водами.

Выводы

1. Увеличение концентрации сахаров в более минерализованной среде в целом и в более богатых по отдельным микроэлементам озерах в частности свидетельствует, что более насыщенная микро- и макроэлементами среда способствует более интенсивному накоплению сахара *Oscillatoria agardhii*.
2. Планктонные формы, как правило, отличаются повышенной концентрацией сахаров по сравнению с альгобактериальным матом. Причиной может служить, как снижение численности сахаров по причине перехода клеток водорослей в другое функциональное состояние, так и по причине наличия в матах внеклеточных компонентов и сторонних микроорганизмов, а также ускорения реакций распада сахаров. Увеличение концентрации сахара в матах при повышенной минерализации может объясняться замедлением распада сахаров.
3. В различных водоемах наблюдаются различные стратегии в развитии форм водоросли заключающиеся в изменении длины и формы трихом. Скорость развития культуры с повышенной численностью непродолжительная и составляет 5–7 дней, а также зависит от разбавления аллохтонной водой.

ЛИТЕРАТУРА

1. ГОСТ 34128–2017. Продукция соковая. Рефрактометрический метод определения массовой доли растворимых сухих веществ. — Москва: Изд-во стандартов, 2019. — 7 с.
2. Зайцева Т.Б., Медведева Н.Г. 2019. Молекулярные механизмы стрессового ответа цианобактерии *Planktothrix agardhii* на воздействие 4-трет-октилфенола // Микробиология. — 2019. — Т. 88, № 4. — С. 417–425.
3. Ивлева Д.П. Минерализация и фауна солоноватых, соленых и соляных озер эго-востока Челябинской области / Д.П. Ивлева, К.А. Корляков // Экология, природопользование и ресурсы Урала. — 2018 г. — № 1. — С. 3–7.
4. Корляков К.А., Чучкина Ю.Д. Содержание сахаров в некоторых тропических искусственно культивируемых водных растениях // Вестник Совета молодых ученых и специалистов Челябинской области. — 2022. — № 2 (37). Т. 1. — С. 4–6.
5. ПНД Ф 14.1:2.4.167-2000 Количественный химический анализ вод. Методика выполнения измерений массовых концентраций катионов калия, натрия, лития, магния, кальция, аммония, стронция, бария в пробах питьевых, природных, сточных вод методом капиллярного электрофореза с использованием системы капиллярного электрофореза «Капель». Москва: 2000 г. (дата обращения: 20.05.2022).
6. ПНД Ф 14.1:2.4.157-99 Количественный химический анализ вод. Методика выполнения измерений массовых концентраций хлорид-ионов, нитрит-ионов, сульфат-ионов, нитрат-ионов, фторид-ионов и фосфат-ионов в пробах природных, питьевых и очищенных сточных вод с применением системы капиллярного электрофореза «Капель». Москва: 1999 г. (дата обращения: 20.05.2022).
7. Приказ Министерства сельского хозяйства Российской Федерации от 10.03.2020 № 118 «О внесении изменений в приказ Минсельхоза России от 13 декабря 2016 г. № 552 «Об утверждении нормативов качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения, в том числе нормативов предельно допустимых концентраций вредных веществ в водах водных объектов рыбохозяйственного значения»: [зарегистрировано в Минюстре РФ 15.06.2020 N 58643].
8. Рефрактометрия: метод. указ. к лаб. работе. / Сост.: Б.М. Стифатов, Ю.В. Рублинецкая. — Самара; Самар. гос. техн. ун-т, 2017. — 16 с.: ил.
9. Сиренко Л.А. Биологически активные вещества водорослей и качество воды / Л.А. Сиренко, В.Н. Козицкая. — Киев: Наук. думка, 1988. — 256 с.
10. ХелдтГанс-Вальтер. Биохимия растений; пер. с англ. М.А. Брейгиной [и др.]; под ред. А.М. Носова, В.В. Чуба. — Москва: Бином. Лаборатория знаний, 2011. — 471 с.

© Корляков Константин Александрович (korfish@mail.ru); Маринин Сергей Александрович
Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»