

НАКОПЛЕНИЕ ХЛОРОФИЛЛОВ У *CHLORELLA VULGARIS* В ПРИСУТСТВИИ ИОНОВ МАРГАНЦА (II) В СРЕДЕ

А.И. Лакишик, Д.М. Бужаев, 4 курс
Научный руководитель – И.А. Ильючик, старший преподаватель
Полесский государственный университет

Проблема загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами (Cu, Zn, Hg, Cd, Pb, Sn, Mn и др.) в последнее время становится все более актуальной, постепенно накапливаясь в окружающей среде, они становятся токсичными для всего живого. У растений при их избытке нарушаются процессы роста, развития морфологических структур, повреждается фотосинтетический аппарат. В тоже время металлы (Cu, Zn, Fe, Mn, Co) являются необходимой частью ферментативных систем живых организмов [1, с. 94]. Так, марганец необходим для нормального протекания фотосинтеза, поскольку входит в состав активного центра комплекса фотосистемы II, выделяет кислород и осуществляет разложение воды и выделение кислорода, участвует в восстановлении CO₂, играет роль в поддержании структуры хлоропластов. При его недостатке снижается синтез органических веществ, уменьшается содержание хлорофилла, а при отсутствии марганца хлорофилл быстро разрушается на свету и у растений проявляется хлороз [2, с. 240].

Удобным объектом для исследований влияния металлов на живые организмы служит хлорелла, которая широко распространена в природе, легко поддается культивированию в лабораторных условиях и является перспективным объектом биотехнологии [3, с. 81]. Ее хлоропласты содержат хлорофилл-а и хлорофилл-б [4, с. 49]. Хлорофилл-а необходим для преобразования энергии света в химическую энергию, а хлорофилл-б улавливает солнечные лучи и передает энергию на хлорофилл-а. *Chlorella* для фотосинтеза использует хлорофилл-а [5, с. 248]. Содержание пигментов у зеленых водорослей является одним из показателей состояния и функционирования фотосинтеза, но насколько существенно влияние марганца на процесс формирования хлорофиллов у *Cl. vulgaris* до конца не выяснено.

Цель работы – изучение влияния ионов марганца (II) в среде на накопление хлорофилла-а, хлорофилла-б у зеленой микроводоросли *Ch. vulgaris*.

Методика и объекты исследования. Исследования проводили на культуре микроводоросли *Ch. vulgaris*, штамм *IBCEC-19* из коллекции водорослей Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси.

Хлореллу выращивали в условиях периодической культуры на среде Тамия [6, с. 23] при температуре окружающей среды 23 °С, при непрерывном барботировании суспензии воздухом со скоростью 20–25 л/ч; освещенность на поверхности сосуда – 4500–5000 лк; продолжительность световых и темновых фаз – 12ч/12ч.

Концентрацию клеток хлореллы определяли визуально под микроскопом Микмед-5 ЛОМО (×40) с помощью камеры Горяева. На 1-е, 4-е, 7-е, 10-е сутки культивирования отбирали аликваты культуры, содержащие по 50 ± 0,43 млн клеток, трижды их отмывали от культуральной среды дистиллированной водой. Клетки хлореллы разрушали в гомогенизаторе на льду. Вытяжку пигментов осуществляли с помощью 90% ацетона. Концентрацию хлорофиллов определяли спектрофотометрическим методом [7, с. 76].

Эксперименты проведены в трех биологических и в трех аналитических повторностях в 5 вариантах: 1. Среда Тамия без добавления Mn²⁺ – контроль. 2. Среда Тамия с концентрацией Mn²⁺ 0,010 мг/л. 3. Среда Тамия с концентрацией Mn²⁺ 0,1 мг/л. 4. Среда Тамия с концентрацией Mn²⁺ 1,0 мг/л. 5. Среда Тамия с концентрацией Mn²⁺ 10,0 мг/л. Результаты обработаны математически и статистически с использованием программ MS Excel 2010 и Statistica 6.0.

Результаты и их обсуждение.

Хлорид марганца, внесенный в пяти вариантах в культуральную среду Тамия, оказал влияние на накопление хлореллой хлорофилла-а и б (таблица).

Таблица – Содержание пигментов в клетках хлореллы

Сутки экспозиции	Исходная концентрация марганца в среде, мг/л	Концентрация пигментов, мг/млн кл	
		Хлорофилл–а	Хлорофилл–b
1–е	0,00	0,09 ± 0,006	0,04 ± 0,002
	0,01	0,19 ± 0,008*	0,06 ± 0,005*
	0,10	0,22 ± 0,009*	0,07 ± 0,002*
	1,00	0,18 ± 0,016*	0,05 ± 0,002*
	10,00	0,15 ± 0,007*	0,04 ± 0,003*
4–е	0,00	0,18 ± 0,013	0,06 ± 0,002
	0,01	0,20 ± 0,002	0,06 ± 0,003*
	0,10	0,16 ± 0,000	0,04 ± 0,002*
	1,00	0,23 ± 0,001*	0,07 ± 0,001*
	10,00	0,22 ± 0,010	0,07 ± 0,005*
7–е	0,00	0,31 ± 0,006	0,12 ± 0,000
	0,01	0,39 ± 0,002*	0,14 ± 0,001*
	0,10	0,24 ± 0,015*	0,08 ± 0,005*
	1,00	0,36 ± 0,016*	0,12 ± 0,009
	10,00	0,24 ± 0,021*	0,08 ± 0,010*
10–е	0,00	0,23 ± 0,018	0,09 ± 0,003
	0,01	0,31 ± 0,007*	0,11 ± 0,000*
	0,10	0,23 ± 0,038	0,07 ± 0,013
	1,00	0,19 ± 0,031	0,06 ± 0,010*
	10,00	0,30 ± 0,026*	0,10 ± 0,011

Примечание: * – изменения статистически достоверны при $P \leq 0,05$

На 1–е сутки экспозиции наибольшие концентрации хлорофилла–а и хлорофилла–b в клетках хлореллы были при концентрации Mn^{2+} 0,1 мг/л, что составило увеличение на 140 и 75% соответственно по отношению к контролю.

На 4–е сутки экспозиции наибольшие концентрации хлорофилла–а и хлорофилла–b была при концентрации Mn^{2+} 1,0 мг/л, увеличение на 28 и 17% соответственно, а в случае хлорофилла–b также при концентрации марганца 10,00 мг/л (увеличение на 17%) по отношению к контролю.

На 7–е сутки экспозиции наибольшая концентрация, хлорофилла–а и хлорофилла–b была при концентрации Mn^{2+} 0,01 мг/л, что составило на 26 и 17% соответственно увеличение по отношению к контролю.

На 10–е сутки экспозиции наибольшая концентрация хлорофилла–а и хлорофилла–b была при концентрации Mn^{2+} 0,01 мг/л, что составило увеличение на 35 и 22% соответственно по отношению к контролю.

Максимальное содержание хлорофиллов а и b в клетках хлореллы наблюдалось на седьмые сутки культивирования в образцах при концентрации Mn^{2+} 0,01 мг/л и составило $0,39 \pm 0,002$ и $0,14 \pm 0,001$ мг/млн клеток соответственно.

За 10 суток экспозиции концентрации хлорофилла–а в зависимости от концентрации Mn^{2+} были следующими: в контроле, при концентрациях Mn^{2+} 0,01; 0,1 и 1,0 мг/л максимальны на 7 сутки культивирования ($0,31 \pm 0,006$; $0,39 \pm 0,002$; $0,24 \pm 0,015$; $0,36 \pm 0,016$ мг/млн клеток соответственно), а при концентрации Mn^{2+} 10,0 мг/л на 10 сутки ($0,30 \pm 0,026$ мг/млн клеток).

Наибольшее влияние марганец оказал на накопление хлорофилла–а, в то время как концентрация хлорофилл–b за время культивирования изменялась не значительно.

Таким образом, полученные данные позволяют нам заключить, что ионы марганца (II) являются одним из факторов, способствующих накоплению хлорофиллов–а и b у *Cl. vulgaris*. Наиболее оптимальной концентрация Mn^{2+} в культуральной среде для этой цели является – 0,01 мг/л, а наиболее оптимальные сутки экспозиции – седьмые.

Список использованных источников

1. A New Strategy for Heavy Metal Polluted Environments: A Review of Microbial Biosorbents / Ayansina Segun Ayangbenro, Olubukola Oluranti Babalola // Int J Environ Res Public Health. 2017 Jan; 14(1): 94.
2. Упитис, В.В. Макро– и микроэлементы в оптимизации минерального питания микроводорослей / В. В. Упитис. – Рига: Зинатне, 1983. – 240 с.
3. Музафаров, А.М. Хлорелла и ее использование в животноводстве / А.М. Музафаров, Т.Т. Таубаев, Р.А.Селяметов. – Ташкент, 1974. – 81 с.
4. Лукьянов, В.А. К вопросу использования *Chlorella vulgaris* для биологической доочистки сточных вод / В.А. Лукьянов // Актуальные проблемы агропромышленного производства, 2013. – 49 с.
5. Пейве, Я.В. Микроэлементы – регуляторы жизнедеятельности и продуктивности растений / под. ред. акад. Я.В. Пейве. – Рига, 1971 г. – 248 с.
6. Романенко, В.Д. Биотехнология культивирования гидрибионтов / В.Д. Романенко, Ю.Г. Крот, Л.А Сиренко, В.Д Соломатина: НАН Украины, Ин–т гидробиологии. – Киев, 1999. – 23 с.
7. Сиренко, Л.А. Методы физиолого–биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике / Л.А. Сиренко, А.И. Сакевич. – Киев: Наукова думка, 1975.– 76 с.