

**ВЛИЯНИЕ CuSO_4 НА ДИНАМИКУ БИОМАССЫ И УРОВЕНЬ НАКОПЛЕНИЯ
ВНУТРИКЛЕТОНОГО БЕЛКА *CHLORELLA VULGARIS****Р.Н. Сеген, магистрант**Научный руководитель – В.Н. Никандров, д.б.н., профессор
Полесский государственный университет*

Одноклеточная зеленая водоросль *Chlorella vulgaris* на протяжении ряда десятилетий является важным объектом биотехнологии благодаря своему белковому составу, синтезу ряда витаминов и высших жирных кислот, а также своей способности накапливать большую биомассу в процессе роста.

Микроводоросль *Chlorella vulgaris* используется человеком в самых разнообразных отраслях народного хозяйства. Суспензия хлореллы с большим успехом применяется в качестве подкормки при разведении и выращивании промысловых видов рыб [1, с. 221]. Водоросль нашла свое применение и при очистке сточных вод от различного рода загрязнений, альголизации водоёмов, а так же для предотвращения бурного цветения в них сине-зелёной водоросли. В агропромышленности используется для полива и обработки растений против грибковых заболеваний. Биомасса хлореллы широко используется в фармакологии, а также при обогащении продуктов питания биологически активными веществами [2, с. 47].

Содержание белков у *Chlorella vulgaris* колеблется от 42 до 58% от сухого веса биомассы. Белки имеют хороший показатель качества питания по сравнению со стандартным профилем питания [3, с. 573]. Изменяя состав питательной среды и другие условия, можно повысить в микроводорослях содержание белка от 8 до 60% и более, углеводов от 6 до 37%, жиров от 5 до 85%.

Одним из таких условий, влияющих на изменение биомассы и концентрацию внутриклеточного белка, может служить дополнительное введение в питательную среду микроэлементов [4, с. 105].

Медь является жизненно необходимым микроэлементом в организме человека. Так, она входит в состав различных ферментов, которые жизненно необходимы в процессах кроветворения, всасывания и усвоения железа, формирования соединительной ткани, а также медь играет немаловажную роль в процессе иммунного ответа.

В организмах гидробионтов данный микроэлемент играет важную роль в процессах метаболизма. Медь входит в состав ряда ферментативных систем, относящихся к группе оксидаз, таких, как полифенолоксидаза, аскорбатоксидаза, цитохромоксидаза. В данных ферментах медь соединена с белком через SH-группы. Медь активизирует ряд ферментов, главным образом нитратредуктазу, а также различные протеазы.

К содержанию различных концентраций меди в воде высокую чувствительность проявляют водоросли многих таксономических групп [5, с. 389]. Известно, что ионы меди влияют на инактивацию реакционных центров фотосистемы II у *Chlorella vulgaris*. При высоких концентрациях на свету происходит фотоингибирование фотосистемы II.

Цель настоящей работы – исследовать влияние CuSO_4 на динамику биомассы и уровень накопления внутриклеточного белка *Chlorella vulgaris*.

Материалы и методы исследования. Исследование выполнено на культуре микроводоросли *Chlorella vulgaris*, штамм ИВСЕ С-19 из коллекции водорослей Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси. Микроводоросль культивировалась на питательной среде Тамия, не содержащей этилендиаминтетрауксусной кислоты (рН 7,1).

В исследовании фигурировало 5 вариантов в трехкратной повторности с различной концентрацией внесённого фактора (CuSO_4) от 10^{-4} до 10^{-8} М, а также контроль (отсутствие фактора). Концентрацию клеток хлореллы определяли каждые вторые сутки с помощью камеры Горяева.

На 1, 3, 5, 7, 9, 11 и 13-е сутки исследование отбирали аликвоты культуры, содержащие по $10 \pm 0,47$ млн клеток, отделяли их путем центрифугирования при 6000 об/мин в течение 10 мин, трижды отмывали от культуральной жидкости дистиллированной водой.

Определение концентрации внутриклеточного белка осуществляли методом Bradford каждые вторые сутки исследования.

Полученные результаты обработаны с использованием программы Excel.

Результаты и их обсуждение. При добавлении различных концентраций эффектора уровень биомассы на всем протяжении исследования был ниже в сравнении с контролем, либо же мало отличался от контроля (таблица 1).

Таблица 1. – Динамика биомассы *Chlorella vulgaris* (млн клеток/мл) при добавлении в питательную среду CuSO_4 в различных концентрациях (n=3)

Сутки	Концентрация CuSO_4 , М					
	К	10^{-4} М	10^{-5} М	10^{-6} М	10^{-7} М	10^{-8} М
1	3,41±0,11	3,24±0,12	3,57±0,09	3,26±0,08	3,08±0,07	3,53±0,09
3	3,35±0,07	3,17±0,09	3,47±0,07	3,11±0,09	3,22±0,09	3,89±0,07
5	4,12±0,09	3,43±0,06	3,85±0,05	3,97±0,06	3,81±0,06	4,61±0,05
7	4,88±0,05	4,69±0,07	3,73±0,07	5,17±0,05	4,31±0,07	4,77±0,08
9	5,38±0,07	5,01±0,08	5,47±0,11	5,55±0,07	6,01±0,04	4,67±0,10
11	7,21±0,09	4,75±0,05	6,86±0,09	5,89±0,09	6,27±0,12	5,42±0,07
13	8,47±0,06	4,43±0,06	8,25±0,07	6,41±0,11	6,55±0,07	6,01±0,09

На протяжении 13 суток исследования максимум количества клеток был достигнут на 13 сутки в контрольном образце и составил $8,47 \pm 0,06$ млн клеток/мл. Из образцов, имевших в своём составе эффектор, лучший рост показали варианты с концентрацией $\text{CuSO}_4 10^{-5}$ М с пиком $8,25 \pm 0,07$ млн клеток/мл на 13 сутки. Худший рост наблюдался в образце с концентрацией $\text{CuSO}_4 10^{-4}$ М, достигнув максимальной концентрации $4,65 \pm 0,05$ на 9 сутки исследования.

За 13 суток исследования максимальная концентрация внутриклеточного белка наблюдалась на последние сутки в контрольном образце и составляла $39,04 \pm 0,10$ мкг/мл млн клеток (таблица 1).

Таблица 2. – Влияние CuSO_4 на концентрацию внутриклеточного белка (мкг/мл млн клеток) *Chlorellavulgaris* (n=3)

Сутки	Концентрация CuSO_4 , М					
	К	10^{-4} М	10^{-5} М	10^{-6} М	10^{-7} М	10^{-8} М
1	14,25±0,09	17,25±0,07	15,66±0,06	12,37±0,08	17,92±0,10	14,19±0,10
3	14,83±0,05	16,42±0,05	16,31±0,04	12,57±0,09	19,85±0,08	18,62±0,04
5	20,34±0,11	17,61±0,07	19,55±0,04	19,72±0,10	25,38±0,04	24,77±0,05
7	23,83±0,09	20,13±0,09	23,37±0,05	24,85±0,08	28,73±0,09	28,69±0,05
9	30,07±0,08	21,37±0,05	27,83±0,07	31,53±0,05	32,09±0,07	33,72±0,06
11	34,38±0,06	24,94±0,04	30,34±0,11	33,15±0,07	35,24±0,06	37,87±0,12
13	39,04±0,10	23,79±0,08	34,01±0,09	37,63±0,09	36,82±0,12	38,64±0,07

Худшая концентрация внутриклеточного белка наблюдалась в образце с концентрацией $\text{CuSO}_4 10^{-4}$ М с пиком $24,94 \pm 0,04$ мкг/мл млн клеток на 11 сутки. Пик концентрации наблюдался на 13 сутки в остальных вариантах опыта и мало отличался от контроля. Так, для образцов с концентрациями $\text{CuSO}_4 10^{-5}$; 10^{-6} ; 10^{-7} и 10^{-8} М максимальное значение внутриклеточного белка составило $34,01 \pm 0,09$; $37,63 \pm 0,09$; $36,82 \pm 0,12$; $38,64 \pm 0,07$ мкг/мл млн клеток, соответственно.

Выводы. Внесение эффектора CuSO_4 в приведенных концентрациях оказывает отрицательное влияние на динамику биомассы клеток культуры *Chlorella vulgaris* и на уровень накопления внутриклеточного белка.

На протяжении исследования различные концентрации внесенного эффектора не превысили показания контроля ни в динамике роста клеток культуры, ни в накоплении внутриклеточного белка.

Список использованных источников

1. Упитис, В.В. Макро- и микроэлементы в оптимизации минерального питания микроводорослей / В. В. Упитис. – Рига: Зинатне, 1983. – 221 с.
2. Мельников, С.С. Оптимизация условий выращивания хлореллы // Весці НАН Беларусі. Сер.біял.наук. – 2014. – № 3. – С. 47–51.
3. Кузнецов, Е.Д. Железо как фактор, лимитирующий рост хлореллы на среде Тамия / Е.Д. Кузнецов, М.Г. Владимирова // Физиология растений. – 1964. – №. 4. – Т.11. – С. 573-577.
4. Лукьянов, В.А. Прикладные аспекты применения микроводорослей в агроценозе / В. А. Лукьянов, А. И. Стифеев. – Курск : Изд-во Кур.гос. с.-х. акад., 2014. – 105 с.
5. Кретович, В.Л. Биохимия растений / В. Л. Кретович. – М. :Высш. школа, 1986. – 389 с.