

УДК 582.232:547.29'05:581.19

**А.В. КУРЕЙШЕВИЧ, В.А. МЕДВЕДЬ, И.Н. НЕЗБРИЦКАЯ**

Институт гидробиологии НАН Украины,

пр. Героев Сталинграда, 12, 04210 Киев, Украина,

e-mail: ALischuk@rambler.ru, vika\_med@i.ua, inna.nezbrytska@mail.ru.

**ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ДЕСМИДИЕВОЙ  
ВОДОРΟΣЛИ *COSMARIUM POLYGONUM* VAR. *ACUTIUS*  
(*STREPTORHYTA*) В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ ФЕНОЛКАРБОНОВЫХ  
КИСЛОТ**

Десмидиевая водоросль *Cosmarium polygonum* (Nägeli) Arch. var. *acutius* Messik. отличается толерантностью по отношению к фенолкарбонovým кислотам (галловой, бензойной и кофейной) в концентрациях, угнетающих ростовые процессы у представителей *Cyanoprokaryota*. Отмечено увеличение активности фермента каталазы и суммарного содержания каротиноидов в опыте по сравнению с контролем.

Ключевые слова: *Cosmarium polygonum* var. *acutius*, фенолкарбонové кислоты, хлорофилл *a*, каротиноиды, сухая масса, активность каталазы, продукты перекисного окисления липидов.

**Введение**

Из многочисленных фенольных соединений, выделяемых растениями в воду, одними из наиболее активных являются фенолкарбонové кислоты (ФКК). Они принадлежат к числу биологически активных веществ (БАВ), способных, как и другие фенольные соединения, подавлять ростовые процессы у микроводорослей (Струбицкий, 1987; Сакевич, Усенко, 2008; Nakai Satoshi et al., 2000). Высшие водные растения, по сравнению с водорослями, экскретируют в водную среду большое количество разнообразных ФКК (Сакевич, Усенко, 2008). При этом различные представители альгофлоры неодинаково чувствительны к действию ФКК. Наиболее толерантны к ним диатомовые и зеленые водоросли, наименее — планктонные синезеленые (Струбицкий, 1987; Сакевич, Усенко, 2008; Nakai Satoshi et al., 2000; Zhy Jingin et al., 2010). В литературе нет сведений о чувствительности к ФКК представителей *Desmidiaceae*. Однако они входят в число ведущих семейств фитоперифитона высших водных растений (Шевченко, 2011).

Цель данной работы — исследование изменения активности каталазы (фермента, участвующего в дезактивации активнйх форм кислорода), интенсивности процессов ПОЛ (перекисное окисление липидов), содержания хлорофилла *a* и каротиноидов (редуктантов свободных радикалов) в клетках десмидиевой водоросли *Cosmarium polygonum* var. *acutius* под влиянием кофейной, галловой и бензойной кислот.

**Материалы и методы**

В работе использовали культуру *Cosmarium polygonum* var. *acutius* IBASU—A 438 из коллекции Института ботаники НАН Украины. Водоросль выращивали на среде Болда (Beakes et al., 1988) при температуре 25–27 °С и интенсивности освещения 2500 лк. ФКК в культуру водоросли вносили в концентрациях 1 мг/л

© А.В. Курейшевич, В.А. Медведь, И.Н. Незбрицкая, 2014

(кофейная), 3 мг/л (бензойная), 5 мг/л (галловая), учитывая их различную активность по отношению к микроводорослям (Сакевич, Усенко, 2008). Сухую массу водорослей определяли стандартным весовым методом (Методы ..., 1975), содержание хлорофилла *a* и суммы каротиноидов – спектрофотометрически с использованием уравнений (Parsons, Strickland, 1963; Jeffrey, Humphrey, 1975), продукты перекисного окисления липидов – по методам: Современные ..., 1977, активность каталазы (КФ 1.11.1.6) в биомассе – по: Починок, 1976.

### Результаты и обсуждение

По мере роста культуры *Cosmarium polygonum* var. *acutius* в контроле и во всех вариантах опыта происходило постепенное увеличение биомассы водоросли. При этом показатели сухой массы, а также содержание хлорофилла *a* в единице объема культуральной среды в условиях роста с добавлением всех ФКК существенно не отличались от таковых в контроле (рисунок, А, Б). Так, средняя величина содержания хлорофилла *a* в сухой массе водоросли в контроле составляла  $8,36 \pm 0,68$ , а в вариантах с добавками галловой, бензойной и кофейной кислот –  $9,39 \pm 0,78$ ;  $9,51 \pm 0,80$  и  $8,53 \pm 0,69$  мкг/мг соответственно. В то же время отмечена тенденция повышения в культуре водоросли с добавками ФКК суммарного содержания каротиноидов в расчете на единицу сухой массы, особенно к 20–24-м суткам опыта (см. рисунок, В). Являясь компонентами неферментативной антиоксидантной системы, каротиноиды выполняют защитную функцию в клетках растений.

Как известно, процессы ПОЛ характеризуют состояние биомембран клеток, которые первыми воспринимают влияние экологических факторов, поэтому, оценивая интенсивность перекисидации мембранных липидов, можно контролировать первичные процессы адаптации растений к различным негативным воздействиям (Кияк, 2010). В экспериментах с *C. polygonum* var. *acutius* мы столкнулись с методическими трудностями при накоплении ее биомассы для биохимических исследований из-за сильного ослизнения культуры. Поэтому опыты по изучению влияния ФКК на содержание продуктов ПОЛ проводились лишь с кофейной кислотой. Установлено, что при добавлении ее в культуру (стационарная фаза роста) у *C. polygonum* var. *acutius* содержание продуктов ПОЛ увеличивается незначительно.

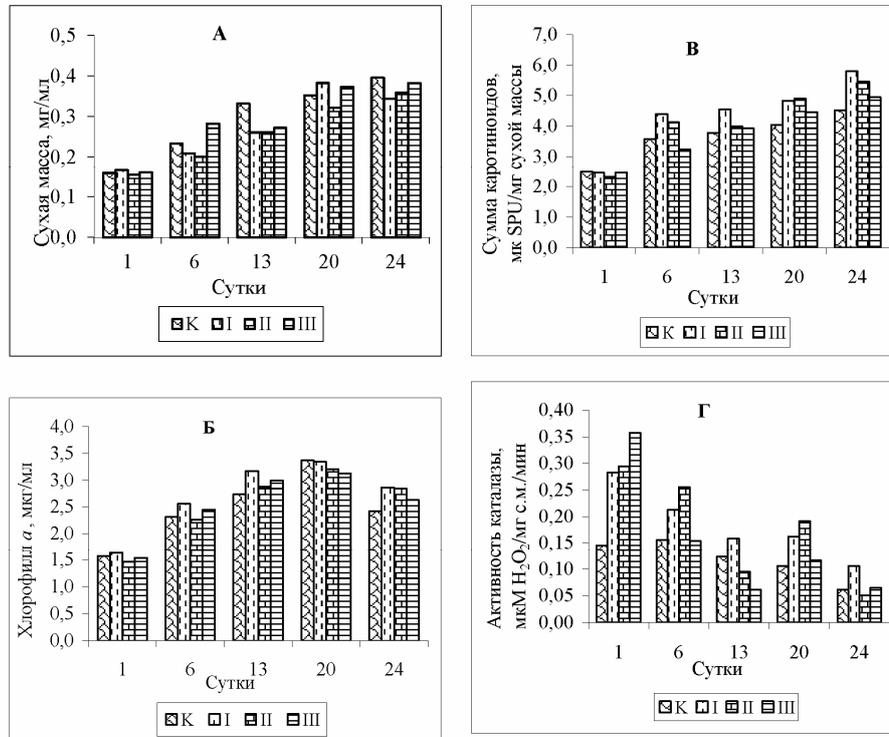
Так, количество диеновых конъюгатов (ДК) возросло в опытном варианте по сравнению с контролем в 1,1 раза, гидроперекисей липидов (ГПЛ) в 1,4 раза, малонового альдегида (МА) в 1,1 раз (см. таблицу).

Содержание продуктов ПОЛ у *Cosmarium polygonum* var. *acutius* на 3-й день после добавления кофейной кислоты (1 мг/л)

Вариант	Содержание продуктов ПОЛ, $M \pm m$		
	ДК, мкМ /мг липидов	ГПЛ, у.е./мг липидов	МА, мкМ/мг липидов
Контроль	$0,268 \pm 0,003$	$2,212 \pm 0,211$	$0,0333 \pm 0,002$
Опыт	$0,308 \pm 0,004$	$3,108 \pm 0,361$	$0,0369 \pm 0,003$

Для сравнения, при добавлении ФКК в той же концентрации к культурам *Cyanoprokaryota*, находящимся на стационарной фазе роста (*Anabaena variabilis* Kütz., *Nostoc punctiforme* (Kütz.) Hariot, *Aphanocapsa planctonica* (G.M. Sm.) Komárek

et Anagn., *Microcystis pulverea* (Woodw.) Forti emend. Elenkin, *M. aeruginosa* Kütz. emend. Elenkin), содержание продуктов ПОЛ увеличивалось у них значительно больше (ДК – в 1,5–2,5, ГПЛ – в 1,2–3,5, МА – в 2,5–3,2 раза), чем у *S. polygonum* var. *acutius* (Курейшевич и др., 2012). Отмечено угнетение ростовых процессов у исследованных культур *Cyanoprokaryota* с добавками кофейной кислоты.



Изменение сухой массы (А), содержания хлорофилла *a* (Б), суммы каротиноидов (В) и активности каталазы (Г) у *Cosmarium polygonum* var. *acutius* в условиях роста культуры с галловой (I), бензойной (II) и кофейной (III) кислотами. К – контроль

Учитывая, что степень липидной пероксидации у растений наиболее часто коррелирует с накоплением МА – конечного стабильного продукта ПОЛ (Россихина-Галича, 2013), очевидно, что *S. polygonum* var. *acutius* достаточно толерантен к исследуемой концентрации кофейной кислоты. После ее добавления в культуру водоросли показатели сухой массы, концентрации хлорофилла *a* и суммы каротиноидов в единице объема культуральной среды практически не изменились по сравнению с контролем.

Как известно, каталаза – фермент системы антиоксидантной защиты, участвующий в расщеплении пероксида водорода в клетках живых организмов. Поэтому интересно было исследовать, как изменяется его активность у *S. polygonum* var. *acutius* при воздействии ФКК. Как видно из рисунка (Г), в культуре с добавками галловой кислоты АК на протяжении всего опыта была выше, чем в контроле. При добавлении бензойной и кофейной кислот этот

показатель в большинстве случаев также был выше по сравнению с контролем или сравним с ним (за исключением 13-х суток).

Таким образом, у *S. polygonum* var. *acutius* при внесении в культуру ФКК в большинстве случаев наблюдается повышение АК (по сравнению с контролем), что может быть, наряду с увеличением суммарного содержания каротиноидов, одним из механизмов защиты клеток от окислительного стресса. В то же время, на наш взгляд, важным фактором в защите клеток десмидиевых водорослей от проникновения в них токсичных соединений и БАВ является специфическое строение их клеточной оболочки, состоящей из нескольких слоев, и наличие большого количества слизи.

#### Выводы

1. Показатели сухой массы, содержания хлорофилла *a*, количества продуктов ПОЛ в условиях роста *Cosmarium polygonum* var. *acutius* с добавлением ФКК в концентрациях, угнетающих ростовые процессы у представителей *Cyanoprokaryota*, существенно не отличались от таковых в контроле.

2. Одним из механизмов защиты водоросли от окислительного стресса, наблюдаемого при воздействии этих соединений может быть увеличение активности фермента каталазы и суммарного содержания каротиноидов в опытных вариантах по сравнению с контролем.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Кияк Н., Микієвич І. Вплив абіотичних стресових факторів на інтенсивність ПОЛ і активність супероксиддисмутази у пагонах водного моху *Fontinalis antipyretica* Hedw. // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. Біол. – 2010. – Вип. 53. – С. 181–187.
- Курейшевич А.В., Потрохов А.С., Зиньковский О.Г. и др. Антиоксидантная активность некоторых видов *Chlorophyta* и *Cyanoprokaryota* как фактор их устойчивости к фенолкарбонovým кислотам // Гидробиол. журн. – 2012. – 48(5). – С. 66–81.
- Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике / Л.А. Сиренко, А.И. Сакевич, Л.Ф. Осипов и др. – Киев: Наук. думка, 1975. – 247 с.
- Починок Х.Н. Методы биохимического анализа растений. – Киев: Наук. думка, 1976. – 334 с.
- Россихіна-Галича Г. Компоненти прооксидантно-антиоксидантної системи вегетативних органів рослин кукурудзи як показники їх реакції на дію гербіцидів // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. Біол. – 2013. – Вип. 62. – С. 315–324.
- Сакевич О.Й, Усенко О.М. Алелопатія в гідроекосистемах. – К.: Логос, 2008. – 304 с.
- Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – 392 с.
- Струбицкий И.В. Регуляция системой "фенольные соединения: ферредоксин: тиоредоксин" ферментов энергетического обмена *Microcystis aeruginosa* Kütz. emend. Elenk. // Гидробиол. журн. – 1987. – 23(4). – С. 45–54.
- Шевченко Т.Ф. Распределение водорослей перифитона днепровских водохранилищ в зависимости от типа субстрата // Там же. – 2011. – 47(13). – С. 3–15.
- Beakes G., Canter H.M., Jaworski G.H.M. Zoospores ultrastructure of *Zygorhizidium affluens* Canter and *Z. planktonicum* Canter, two chytrids parasitizing the diatom *Asterionella formosa* Hassall. // Can. J. Bot. – 1988. – 66(6). – P. 1054–1067.

- Jeffrey S.W., Humphrey F.H. New spectrophotometric equations for determining chlorophyll *a*, *b*, *c*<sub>1</sub> and *c*<sub>2</sub> in higher plants, algae and natural phytoplankton // Biochem. Physiol. Pflanz. – 1975. – Bd 167. – P. 171–194.
- Nakai Satoshi, Yamane Sayuki, Hosomi Masaaki. Algal growth inhibition effects of *Myriophyllum spicatum* – releasing four allelopathic polyphenols // J. Jap. Soc. Water Environ. – 2000. – 23(1). – P. 726–734.
- Parsons T.R., Strickland J.D.H. Discussion of spectrophotometric determination of marine-plant pigments and carotenoids // J. Mar. Res. – 1963. – 21(3). – P. 155–163.
- Zhy Jingin, Liu Biyun, Wang Jing, Gao Yunni, Wu Zhwengig. Study on the mechanism of allelopathic influence on Cyanobacteria and chlorophytes by submerging macrophyte (*Myriophyllum spicatum*) and its secretion // Aquat. Toxicol. – 2010. – 98(2). – P. 196–203.

Подписала в печать Е.И. Шнюкова

A.V. Kureishevich, V.A. Medved, I.N. Nezbritskaya

Institute of Hydrobiology, NAS of Ukraine,

12, Heroev Stalingrada Av., 04210 Kiev, Ukraine

e-mail: ALischuk@rambler.ru, vika\_med@i.ua, inna.nezbrytska@mail.ru

FEATURES OF FUNCTIONING OF DESMID ALGA *COSMARIUM POLYGONUM* VAR. *ACUTIUS* (*STREPTOPHYTA*) EXPOSURE TO PHENOL CARBONIC ACIDS

The desmid alga *Cosmarium polygonum* (Nägeli) Arch. var. *acutius* Messik. is characterized by tolerance to the influence of phenolcarboxylic acids (gallic, benzoic and caffeic) in concentrations which depress the growth processes of some *Cyanoprokaryota*. An increase of catalase enzyme activity and total carotenoid content in the experimental variants in comparison with control was observed.

**Key words:** *Cosmarium polygonum* var. *acutius*, phenolcarboxylic acids, chlorophyll *a*, carotenoids, catalase activity, products of lipid peroxidation.