



УДК 574;591.544

© 2012

А. И. Божков, Н. Г. Мензянова, М. К. Ковалева

## Влияние электромагнитного излучения солнца на формирование ритмичности биосинтетических процессов в культуре *Dunaliella viridis* Teodor

(Представлено академиком НАН Украины А. Н. Гольцевым)

*Исследована годовая динамика количества клеток Dunaliella viridis на 21 день культивирования каждого месяца года, определено содержание белков, триацилглицеридов и β-каротина при культивировании клеток при постоянном освещении 6 клк и температуре 26–28 °С в строго стандартизированных условиях. Выявлена выраженная ритмичность интенсивности роста D. viridis на протяжении года, которая имеет обратную зависимость с интенсивностью изменения числа Вольфа и площадью солнечных пятен. Эта зависимость не имеет жестких связей ( $r = 0,5 \div 0,8$ ), ритмичность имеет фликкер-шумовую структуру. Подобная ритмика выявлена и в содержании белка, триацилглицеридов и β-каротина в клетках D. viridis при сохранении постоянного освещения и температуры на протяжении года. Высказана гипотеза, согласно которой в биологических объектах функционирует принцип переменного доминирующих факторов, который может объяснить фликкер-шумовую структуру биотронных эффектов гелиофизических факторов.*

Ритмические изменения метаболических процессов являются основой временной организации биологических систем и проявляются на всех уровнях их организации [1]. Существующие ритмические проявления функциональной активности объясняются временными изменениями комплекса гелиофизических факторов среды обитания. Это, прежде всего, чередование интенсивности освещения, температуры и других факторов на протяжении суток, года и т. д. [2].

Ритмичность метаболических процессов (пролиферации, синтеза белка, липидного обмена) индуцирует и ритмичность интенсивности размножения бактерий [3] и, как следствие, формирование вспышек инфекционных болезней [4], изменение продуктивности сельскохозяйственных объектов [5], а также влияет на получение целевых продуктов в современных биотехнологиях [6].

Контроль продуктивности биологических систем не может быть осуществлен без учета временной организации метаболизма продуцентов. Одним из путей управления продуктивностью является создание условий культивирования или выращивания биологических объе-

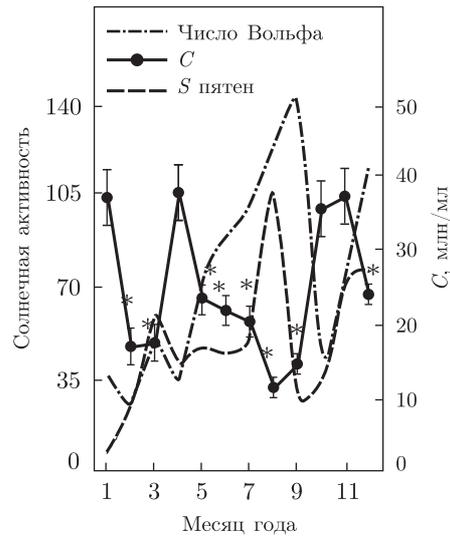


Рис. 1. Концентрация клеток ( $C$ ) в 21-дневной культуре *D. viridis* в разные месяцы года в случае культивирования их при постоянной освещенности и температуре, флуктуации числа Вольфа и площади солнечных пятен.

\* —  $P < 0,05$  по сравнению с 1 мес. культивирования

ктов, при которых устраняются периоды с низкой интенсивностью метаболических процессов, за счет подбора оптимальных температур, освещенности и оптимизации питательных сред.

Один из перспективных объектов биотехнологий — культура микроводорослей рода *Dunaliella*. Эти микроводоросли являются продуцентами  $\beta$ -каротина, белков и липидов, их биомасса используется в качестве пищевых добавок [7]. Поскольку эти микроводоросли относятся к автотрофным организмам, то их продуктивность сильно зависит от освещенности и температуры, и поэтому значительно изменяется в течение года [8].

Для получения стабильного выхода биомассы,  $\beta$ -каротина, белков и липидов микроводоросли *Dunaliella viridis* на протяжении года культивировали в боксе с постоянной освещенностью 6 клк и температурой 26–28 °С, условия культивирования были строго стандартизированы и все процедуры по пересадке осуществлялись одним специалистом для исключения субъективных ошибок.

*D. viridis* культивировали на среде Артари в модификации [9], каждый 21 день (выход на стационарную фазу роста) культуру пересаживали на свежую среду, при этом исходное количество клеток было всегда 1,3 млн/мл. Каждый 21 день на протяжении года определяли количество клеток в камере Горяева, содержание белка в клетках [10], содержание триацилглицеридов (ТГ) [11] и  $\beta$ -каротина [12]. Каждая экспериментальная точка была представлена тремя или пятью биологическими повторностями. Вычисляли среднее арифметическое и стандартную ошибку среднего. Достоверность различий между выборками определяли с помощью непараметрического метода, используя  $U$ -критерий Манна–Уитни. На графиках в программе Excel были построены линии трендов. Для каждой линии тренда указывали величину достоверности аппроксимации ( $R^2$ ).

Несмотря на строгое соблюдение постоянства условий культивирования на протяжении года, количество клеток, образующихся за 21 день, различалось в разные месяцы года (рис. 1). В годовой динамике роста культуры выявляли выраженные ритмические коле-

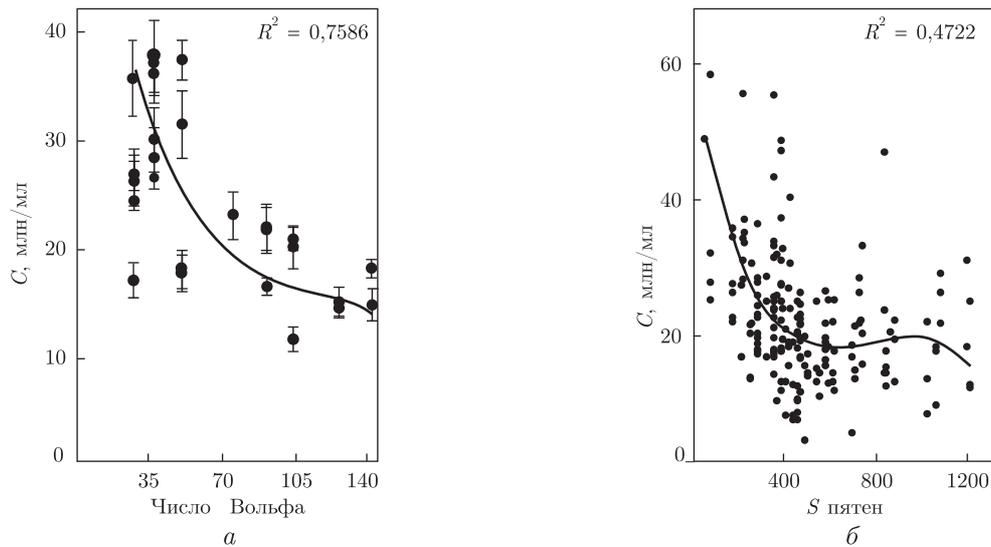


Рис. 2. Зависимость концентрации клеток в 21-дневной культуре *D. viridis* от абсолютных значений числа Вольфа (а) и площади солнечных пятен (б). Линии трендов построены с полиномиальной аппроксимацией, степень 3 в программе Excel. Для каждой линии тренда указана величина достоверности аппроксимации ( $R^2$ )

бания интенсивности роста культуры, которые не были связаны с изменением температуры, освещенности или других условий культивирования. Изменения в интенсивности роста культуры на протяжении года были столь значительны и достоверны, что трудно объяснить их какими-либо субъективными факторами.

Было высказано предположение, что выявленная годовая ритмика интенсивности роста микроводорослей может иметь эндогенную природу и перевод микроводорослей в искусственные условия культивирования не влияет на сформировавшуюся у них ритмику в процессе эволюции, или же она индуцируется глобальными космофизическими факторами. Наиболее вероятными кандидатами на роль факторов, индуцирующих годовую ритмику у микроводорослей, являются амплитудно-спектральные вариации низкочастотных электромагнитных полей и корпускулярное излучение солнца, которые могут свободно проникать даже в защищенные от внешней среды помещения.

Сравнение годовой варибельности числа Вольфа, которое является интегральной характеристикой корпускулярного излучения солнца и площади солнечных пятен (характеризует электромагнитное излучение солнца), позволило выявить обратную корреляцию между интенсивностью роста культуры и этими факторами солнечной активности (см. рис. 1).

Необходимо отметить, что выявленная корреляция не является жесткой (рис. 2), что свидетельствует о влиянии на годовую ритмичность и других, возможно, локальных факторов, или же эта зависимость определяется не только или не столько абсолютными значениями числа Вольфа и площади солнечных пятен.

Ясно, что изменения интенсивности роста культуры определяются интенсивностью биосинтетических процессов в клетке, в частности интенсивностью синтеза нуклеиновых кислот и белка, скоростью липидного обмена и других синтетических процессов.

Содержание белка в клетках *D. viridis* очень сильно изменялось в течение года при соблюдении строго постоянных условий культивирования. Эти изменения имели хорошо выраженный квазипериодический характер с периодом около 3 мес. (рис. 3). Сопостав-

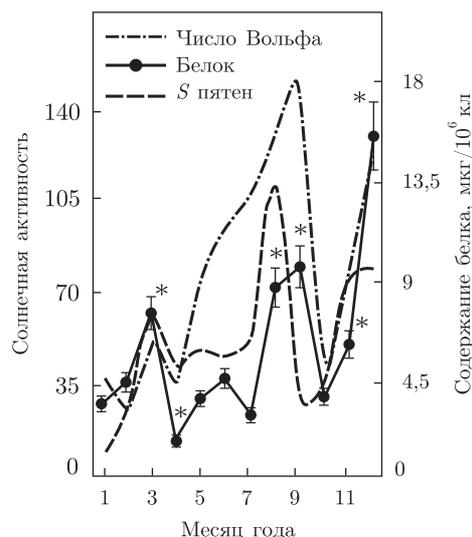


Рис. 3. Содержание белка в клетках 21-дневной культуры *D. viridis* в разные месяцы года в стандартных условиях культивирования и флуктуации числа Вольфа и площади солнечных пятен.

\* —  $P < 0,05$  по сравнению с 1 мес. культивирования

ление годовой динамики содержания белка на  $10^6$  клеток с флуктуациями числа Вольфа и площади солнечных пятен в это же время позволило выявить положительную корреляцию между этими показателями (см. рис. 3).

В то же время зависимость содержания белка в клетках *D. viridis* от абсолютных значений числа Вольфа имела U-образный характер, а от абсолютных значений площади солнечных пятен выявили два типа связей. Для одной части клеток имело место уменьшение содержания белка, а для другой — напротив, его увеличение с возрастанием абсолютных значений площади солнечных пятен.

U-образная зависимость биотронных эффектов может указывать на то, что для этого фактора могут существовать некоторые критические интервалы значений, при которых характер ответа белоксинтезирующей системы клетки меняется на противоположный.

Наличие двух типов коррелятивных связей для содержания белка в клетках микроводорослей подтверждает высказанное ранее предположение о зависимости ответной реакции биосистемы не только от действующего на нее фактора, но и от функционального состояния системы в момент воздействия [13]. В данном случае такой ответ отражает функциональную гетерогенность клеточной популяции микроводорослей, что и проявляется в неоднозначном ответе.

В ритмическом режиме изменялось и содержание ТГ на протяжении года в постоянных условиях культивирования (рис. 4). При этом между абсолютными значениями числа Вольфа и увеличением содержания ТГ существует прямая зависимость, а между содержанием ТГ и площадью солнечных пятен — выраженная U-образная зависимость с широким коридором значений.

В настоящее время можно считать доказанным, что очень низкие дозы физических и химических факторов могут индуцировать значительные биологические ответы [14]. Результаты настоящей работы указывают на наличие ритмических изменений биосинтетических процессов в клетках микроводорослей, которые коррелировали с электромагнитным и корпускулярными излучениями солнца. Исходя из этого, можно утверждать, что такой гло-

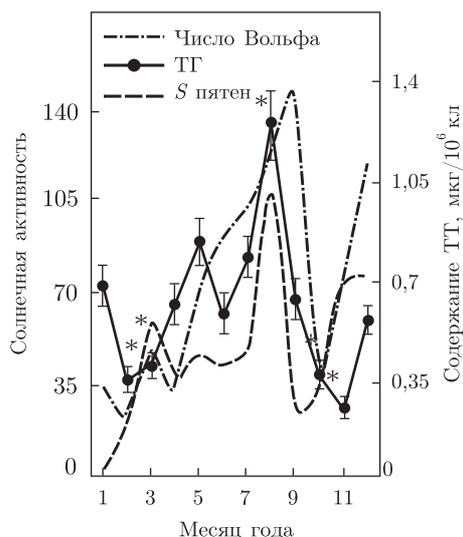


Рис. 4. Содержание триацилглицеридов (ТГ) в клетках 21-дневной культуры *D. viridis* в разные месяцы года в стандартных условиях культивирования и флуктуации числа Вольфа и площади солнечных пятен. \* —  $P < 0,05$  по сравнению с 1 мес. культивирования

бальный гелиофизический фактор, как солнечная активность, способен выполнять функцию водителей ритма и, следовательно, обеспечивать временную организацию биосистемы.

Вместе с тем мы имеем дело со сложными биотронными эффектами, которые зависят от количественных характеристик гелиофизических факторов и функциональных характеристик самих биологических систем. Для объяснения этих сложных эффектов нами была предложена гипотеза, согласно которой в живых системах реализуется принцип переменного доминирующих факторов. Суть принципа сводится к тому, что на организм одновременно действует множество (комплекс) факторов, однако метаболическая система в данный момент времени реагирует только на некоторые из них, т.е. имеет место доминирование каких-то из факторов. Смена доминирующих факторов и приводит к локально индивидуализированной стохастической вариабельности биосистемы во времени, что мы и наблюдаем в эксперименте.

Время доминирования того или иного фактора в индивидуальной биологической системе может определяться как минимум двумя обстоятельствами: 1 — скоростью или интенсивностью изменения глобального фактора, а не его абсолютными значениями; 2 — функциональным состоянием индивидуальной метаболической системы, воспринимающей действие фактора. Или, иными словами, когерентностью между ритмичностью фактора и метаболическими процессами. Так как “взаимодействия” факторов среды и элементов метаболической системы никогда не проявляются в чистом виде, мы имели вариант фликкер-шумовой структуры ответной реакции клеток. Такая фликкер-шумовая структура обеспечивает неоднозначность и многовариантность биологического ответа на одно и то же глобальное воздействие.

На смену доминирующих факторов указывает наличие U-образных зависимостей кривых биотронных эффектов. Подобные зависимости ответной реакции проявляются в различных биологических системах в ответ на разнообразные факторы.

1. Asher G., Schibler U. Crosstalk between components of circadian and metabolic cycles in mammals // Cell Metab. – 2011. – 13, No 2. – P. 125–137.

2. *Одинцов В. И., Кондрадов А. А.* Роль секторной структуры межпланетного магнитного поля в геофизических физико-химических и биофизических процессах // *Геофиз. процессы и биосфера.* – 2005. – 4, № 1–2. – С. 5–17.
3. *Фараоне П., Кондрадов А. А., Зенченко Т. А., Владимирский Б. М.* Гелиогеофизические эффекты в ежедневных показателях жизнедеятельности бактерий // *Там же.* – 2005. – 4, № 1–2. – С. 89–97.
4. *Charland K. M., Buckeridge D. L., Sturtevant J. L.* Effect of environmental factors on the spatio-temporal patterns of influenza spread // *Epidemiol. Infect.* – 2009. – 137, No 10. – P. 1377–1387.
5. *Colaço A., Prieto C., Martins A. et al.* Seasonal variations in lipid composition of the hydrothermal vent mussel *Bathymodiolus azoricus* from the Menez Gwen vent field // *Mar. Environ. Res.* – 2009. – 67, No 3. – P. 146–152.
6. *Lee J. E., Lee B. J., Chung J. O. et al.* Geographical and climatic dependencies of green tea (*Camellia sinensis*) metabolites: a (1)H NMR-based metabolomics study // *J. Agric. Food. Chem.* – 2010. – 58, No 19. – P. 10582–10589.
7. *Hosseini T. A., Shariati M.* *Dunaliella* biotechnology: methods and applications // *J. Appl. Microbiol.* – 2009. – 107, No 1. – P. 14–35.
8. *Lamers P. P., Laak C. C., Kaasenbrood P. S. et al.* Carotenoid and fatty acid metabolism in light-stressed *Dunaliella salina* // *Biotechnol. Bioeng.* – 2010. – 106, No 4. – P. 638–648.
9. *Масюк Н. П.* Морфология, систематика, экология, географическое распространение рода *Dunaliella* Teod. – Киев: Наук. думка, 1973. – 244 с.
10. *Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J.* Protein measurement with the Folin phenol reagent // *J. Biol. Chem.* – 1951. – 193. – P. 265–275.
11. *Bozhkov A. I., Menzjanova N. G.* Age dependence of lipid metabolism and beta-carotene content in cells of *Dunaliella viridis* Teod // *Hydrobiol. J.* – 1997. – No 6. – P. 132–138.
12. *Божков А. И., Комаристая В. П.* Липидно-каротиноидный обмен в клетках *Dunaliella viridis* Teod. при различных условиях культивирования // *Альгология.* – 2003. – 13, № 2. – С. 137–147.
13. *Bozhkov A. I., Menzjanova N. G., Kovalyova M. K.* Annual rhythm of growth intensity of microalgal culture *Dunaliella viridis* Teod. (Chlorophyta) and fluctuations of some heliophysical factors // *Intern. J. Algae.* – 2008. – 10, No 4. – P. 350–364.
14. *Бурлакова Е. Б., Кондрадов А. А., Мальцева Е. Л.* Действие сверхмалых доз физиологически активных веществ и низкоинтенсивных физических факторов // *Хим. физика.* – 2003. – 2, № 2. – С. 21–40.
15. *Божков А. И., Длубовская В. Л., Линник М. А. и др.* Возрастные особенности адаптации животных к сернокислой меди // *Доп. НАН України.* – 1998. – № 5. – С. 153–157.

НИИ биологии Харьковского национального университета им. В. Н. Каразина

Поступило в редакцию 26.07.2011

**А. И. Божков, Н. Г. Мензянова, М. К. Ковальова**

### **Вплив електромагнітного випромінювання сонця на формування ритмічності біосинтетичних процесів у культурі *Dunaliella viridis* Teodor**

Досліджено річну динаміку кількості клітин *Dunaliella viridis* на 21 день культивування кожного місяця року, визначено вміст білків, триацилгліцеридів і  $\beta$ -каротину при культивуванні клітин при постійному освітленні в клк і температурі 26–28 °С в строго стандартизованих умовах. Виявлено виражену ритмічність інтенсивності росту *D. viridis* протягом року, яка має зворотну залежність з інтенсивністю зміни числа Вольфа і площею сонячних плям. Ця залежність не має жорстких зв'язків ( $r = 0,5 \div 0,8$ ), ритмічність має фліккер-шумову структуру. Подібна ритміка виявляється й у вмісті білка, триацилгліцеридів і  $\beta$ -каротину в клітинах *D. viridis* за умов збереження постійного освітлення і температури протягом року. Висловлено гіпотезу, згідно з якою в біологічних об'єктах функціонує принцип змінно домінуючих чинників, який може пояснити фліккер-шумову структуру біотронних ефектів геліофізичних факторів.

A. I. Bozhkov, N. G. Menzyanova, M. K. Kovaleva

**Influence of electromagnetic radiation of the Sun on the formation of a rhythm of biosynthetic processes in the culture of *Dunaliella viridis***  
**Teodor**

*We have studied the annual dynamics of Dunaliella viridis cells on the 21th day of cultivation of each month, the contents of proteins, triacylglyceride, and  $\beta$ -carotene in cultured cells under a constant illumination of 6 klx and the temperature 26–28 °C under strictly standardized conditions. We revealed a marked rhythm of the growth intensity of D. viridis during the year, which had an inverse relationship with intensity changes in the Wolf number and the area of sunspots. This relationship did not have hard links ( $r = 0.5 \div 0.8$ ), and the rhythm has a flicker-noise structure. Similar rhythms were revealed in the content of proteins, triacylglyceride, and  $\beta$ -carotene in the cells of D. viridis. under constant illumination and temperature during the year. A hypothesis, according to which the principle of alternating dominant factors holds in biological objects, may explain the flicker noise structure of the Biotron effects of heliophysical factors.*