

УДК 582.263:577.112:577.115(58.036)

Н. И. Кирпенко, О. М. Усенко, Т. О. Мусий

**СОДЕРЖАНИЕ БЕЛКОВ, УГЛЕВОДОВ И ЛИПИДОВ В
БИОМАССЕ ЗЕЛЕННЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ ПРИ РАЗНОЙ
ТЕМПЕРАТУРЕ ВЫРАЩИВАНИЯ**

Содержание основных биохимических компонентов в клетках зеленых водорослей обусловлено их видоспецифическими особенностями, а также существенно зависит от внешних факторов, в частности, температуры выращивания. Наибольшее количество белков отмечено в оптимальном для роста интервале температур, при повышении или снижении температуры наблюдаются тенденции к увеличению содержания углеводов и липидов.

Ключевые слова: зеленые водоросли, температура, относительная скорость роста, белки, углеводы, липиды.

Микроскопические водоросли привлекают внимание как потенциальное сырье для получения ценных соединений [3]. В то же время закономерности формирования их биохимического состава до сих пор окончательно не выяснены. Известно, что для водорослей характерна значительная изменчивость содержания биохимических компонентов [4], что в некоторой степени обусловлено широким спектром жизненных стратегий вследствие огромного разнообразия условий произрастания. Кроме того, открытость метаболизма водорослевых клеток и его тесная связь с окружающей водной средой позволяет предположить высокую степень зависимости биохимических показателей от внешних факторов.

Одним из важных факторов, оказывающих влияние на рост и функционирование водорослей, является температура. В настоящей работе предпринята попытка связать накопление основных биохимических компонентов (общих белков, углеводов и липидов) в клетках некоторых зеленых водорослей с их экологическими характеристиками, в частности реакцией на колебания температуры выращивания.

Материал и методика исследований. Изучен биохимический состав культур зеленых хлорококковых водорослей: *Acutodesmus dimorphus* (Turpin) P. Tsarenko HPDP-108, *A. obliquus* (Turpin) P. Tsarenko IBASU-473, *Desmodesmus brasiliensis* (Bohlin) E. Hegew. IBASU-273, *D. subspicatus* (Chodat) E. Hegew. et A. Schmidt IBASU-302, *Scenedesmus obtusus* Meyen HPDP-113, *Selenastrum gracile* Reinsch. IBASU-317 и *Tetraedron caudatum* (Cor-

© Н. И. Кирпенко, О. М. Усенко, Т. О. Мусий, 2015

da) Hansg. HPDP-116. Водоросли выращивали на среде Фитцджеральда в модификации Цендера и Горема при интенсивности освещения 2,5 клк, с чередованием светового и темного периодов 16 : 8.

В процессе выращивания температура колебалась в довольно узких пределах. Так, в опыте, длившемся с конца февраля до середины апреля, средняя температура составила 26,5°C при колебаниях от 26,0 до 27,0°, с конца марта до мая — 29,1 (27,0—31,2°), в мае — июле — 29,0° (26,2—30,5°C), то есть разброс средних составляет 2,6° при колебаниях от 26,0 до 31,2°C.

Для определения биохимических показателей биомассу отфильтровывали от культуральной среды через фильтровальную бумагу. Навески биомассы тотчас замораживали и до анализа хранили в замороженном состоянии. Параллельно устанавливали массу сухого вещества водорослей путем высушивания навесок при температуре 105°C до постоянного значения. Для проведения биохимических анализов биомассу гомогенизировали в фарфоровой ступке с кварцевым песком. Общее содержание белков определяли методом Лоури [11], общее количество углеводов и липидов — гравиметрическим методом после экстракции соответственно водным раствором этанола (75%) или хлороформно-метаноловой (2 : 1) смесью [2].

Результаты исследований и их обсуждение

Для каждого вида водорослей характерен определенный уровень накопления биохимических компонентов, соответствующий, очевидно, экологическим особенностям вида и его потенциальным возможностям. По содержанию белков исследованные водоросли различались в основном незначительно — у большинства видов этот показатель находился в пределах 20—30% сухой массы, что согласуется с данными литературы [7]. Исключение составляли *Acutodesmus dimorphus*, накапливающий вдвое больше этих компонентов — свыше 50%, и *Tetraedron caudatum*, у которого их содержание было минимальным (15%).

Углеводы характеризовались более низким содержанием, однако и их нижние и верхние пределы накопления различались более чем в три раза — от 10,3% у *A. dimorphus* до 34,5% у *Selenastrum gracile*. Общее содержание липидов в клетках зеленых водорослей было в пределах 6,5—27,2%, что также не отличается от данных других авторов [9].

Следует отметить, что существенные различия могут наблюдаться у видов одного рода. Так, в клетках *A. dimorphus* обнаружено 53,2% белков, 10,3% углеводов и 6,5% липидов, в то время как у *A. obliquus* — соответственно 33,7, 18,9 и 13,3%, то есть почти в два раза меньше белков и в два раза больше углеводов и липидов.

Подобные различия характерны и для представителей р. *Desmodesmus* — у них количество белков изменялось от 19,3 до 30,6%, углеводов и липидов — соответственно от 17,4 до 20,3% и от 15,9 до 22,2%.

Обращает на себя внимание тот факт, что даже для одного и того же вида водорослей содержание основных биохимических компонентов может заметно различаться, например в биомассе *Cladophora* количество углеводов

1. Относительное содержание белков, углеводов и липидов в биомассе зеленых водорослей, %

Дата и длительность выращивания	Белки	Углеводы	Липиды
<i>Desmodesmus brasiliensis</i>			
26.02—19.04 (52 сут)	29,7 ± 1,3	22,0 ± 1,1	26,9 ± 3,4
28.03—20.05 (52 сут)	33,0 ± 2,4	25,6 ± 2,3	17,9 ± 0,5
21.05—10.07 (50 сут)	29,3 ± 1,5	22,2 ± 1,7	15,0 ± 1,0
<i>Scenedesmus obtusus</i>			
26.02—19.04 (52 сут)	14,3 ± 0,5	23,4 ± 0,9	14,4 ± 1,3
28.03—20.05 (52 сут)	25,1 ± 1,8	18,3 ± 1,4	11,9 ± 0,7
21.05—10.07 (50 сут)	31,9 ± 2,1	19,9 ± 1,0	8,8 ± 0,6

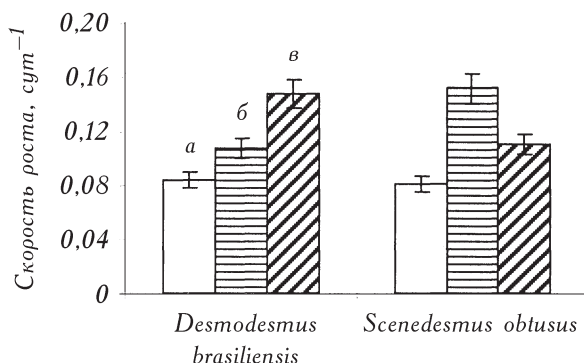
ных соединений колебалось от 6,3 до 24,8% [8]. В наших исследованиях в разных опытах содержание белков, углеводов и липидов различалось в культурах практически одинакового возраста (табл. 1).

Очевидно, колебания биохимического состава клеток связаны с влиянием внешних факторов. При выращивании водорослей различался лишь температурный режим, поскольку культуры росли в нетермостатированном помещении. Известно, что колебания температуры оказывают положительное влияние на водоросли. Так, в оптимальном диапазоне температур 20—25°C удельная скорость роста и фотосинтеза *Ulva pertusa* существенно повышалась при колебаниях температуры в пределах ± 3°, хотя дальнейшее увеличение амплитуды вызывало негативный эффект [10].

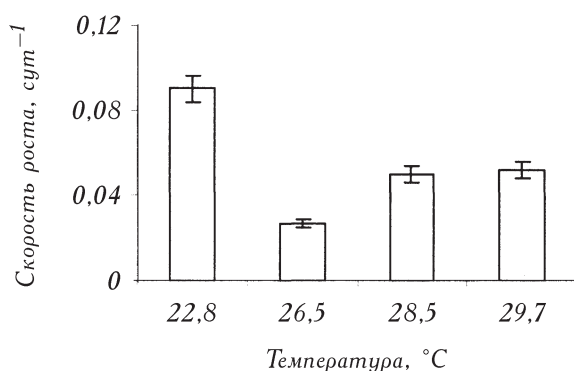
Экспериментальные результаты свидетельствуют, что температура является важным фактором как для роста водорослей, так и для формирования в их клетках соотношения биохимических компонентов. Сравнение интенсивности роста исследованных видов в разных температурных диапазонах показало, что они имеют разные температурные оптимумы (рис. 1).

Высокая температура благоприятна для *Sc. obtusus* и *D. brasiliensis*, однако реакция этих видов на ее изменение неоднозначна. В исследованном диапазоне для *D. brasiliensis* точка перегиба не определена, следовательно, максимальная интенсивность роста этого вида еще не достигнута и для него характерен более высокий температурный оптимум.

Динамика относительной скорости роста *Sc. obtusus* позволила установить, что его температурный оптимум составляет 28 ± 0,5°C, дальнейшее повышение температуры приводило к снижению интенсивности ростовых процессов. В то же время *S. gracile* предпочитает более умеренный температурный диапазон, при высоких значениях его скорость роста заметно уменьшалась (рис. 2). Высокая температура неблагоприятна также для *D. subspicatus*: снижение интенсивности размножения и наступление стационарной стадии происходило в более короткие сроки и при более низкой плотности культуры (рис. 3).



1. Относительная скорость роста *Desmodesmus brasiliensis* и *Scenedesmus obtusus* при температуре 26,5°C (а), 28,5°C (б) и 29,7°C (в).



2. Относительная скорость роста *Selenastrum gracile* при разной температуре.

Таким образом, исследованные виды водорослей даже в условиях культур существенно различались по реакции на температуру. В частности, *Sc. obtusus* и *D. brasiliensis* можно считать термофильными видами, а *S. gracile* и *D. subspicatus*, максимальная интенсивность роста которых приходится на температуру ниже 25°C, очевидно, можно отнести к мезофильным. Это вполне согласуется с тем общеизвестным фактом, что большая часть зеленых водорослей, в отличие от синезеленых, предпочитают более умеренные температурные диапазоны [1]. Так, оптимум для роста видов р. *Cladophora* составляет 20°C, хотя развиваться они могут в диапазоне 2—40°C [8].

Анализ биохимического состава водорослей свидетельствует о том, что даже незначительные колебания температуры существенно отражаются на их биосинтетических процессах. На наш взгляд, направленность метаболических процессов исследованных видов согласуется с их реакцией на изменения этого фактора. В частности, содержание белков в клетках *D. brasiliensis*, как термотолерантного вида, с повышением температуры продолжает возрастать, что свидетельствует о наличии потенциала к дальнейшему усилению интенсивности роста (рис. 4).

В биомассе *Sc. obtusus* наибольшее количество белков отмечено в диапазоне 26,2—30,5°C (средняя 29°), при дальнейшем увеличении температуры оно снижалось. На наш взгляд, эти результаты свидетельствуют о том, что максимум содержания белков в клетках водорослей приходится на оптимальный для их роста интервал температур (см. рис. 4).

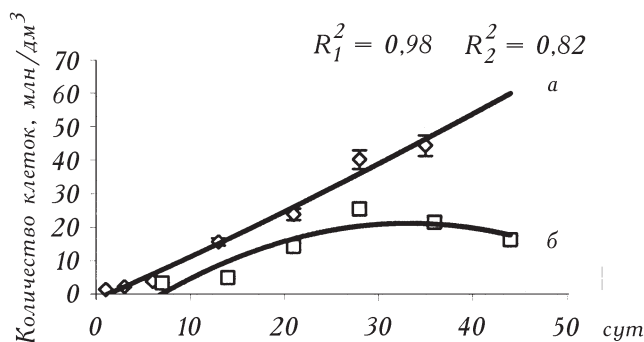
Содержание углеводов в клетках исследованных видов было максимальным в наиболее низком температурном диапазоне, что позволяет предположить наличие у этих соединений определенных защитных функций для под-

держания гомеостаза при снижении температуры ниже оптимальной. В то же время зависимость между этими показателями неоднозначна, что требует дальнейших детальных исследований.

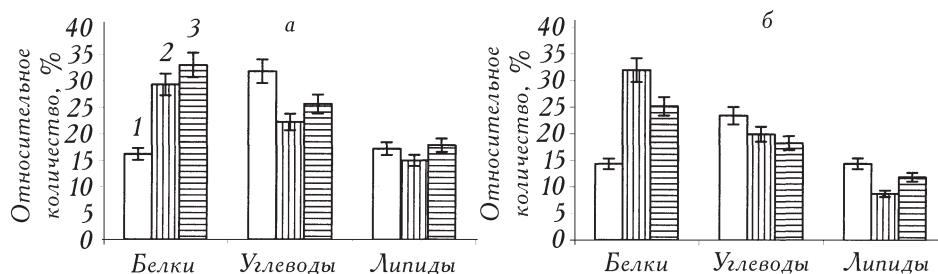
Количество липидов в клетках водорослей характеризуется более низкой амплитудой колебаний, особенно у *D. brasiliensis*. Следовательно, у данного вида накопление липидных компонентов меньше зависит от температуры в исследованном интервале. У *Sc. obtusus* минимальное количество липидов зарегистрировано при оптимальной для роста температуре.

При повышении температуры выше оптимальной у *S. gracile* и *D. subspicatus*, наряду с определенными видоспецифическими особенностями, отмечены тенденции к снижению количества белков и увеличению содержания углеводов и липидов (рис. 5).

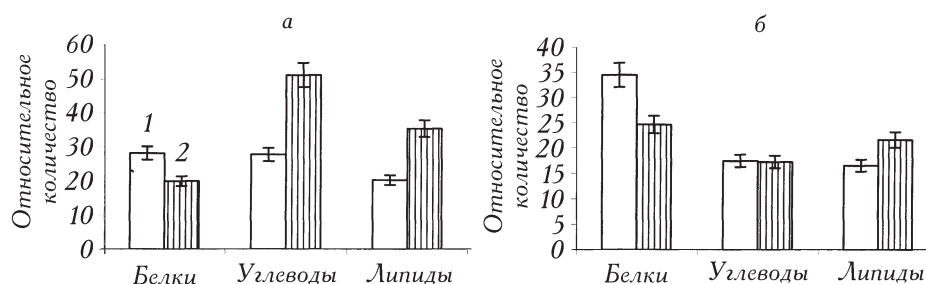
Таким образом, объяснение особенностей реакции водорослей на влияние температуры следует искать в экологических характеристиках видов. Наличие температурных оптимумов для каждого из них определяет сезонные особенности формирования алгосообществ, обуславливая стратегию их развития в природных водоемах. Регуляторная роль температурного фактора осуществляется, очевидно, через влияние на интенсивность метаболических процессов [6], что отражается на формировании биохимического состава клеток. Например, максимум содержания липидов в макрофитах Черного моря обнаружен в весенний сезон, а минимум (0,4—1%) зафиксирован аномально жарким летом 2010 года при температуре воды до 29°C [5].



3. Количество клеток в процессе выращивания *Desmodesmus subspicatus* при температуре $24,4 \pm 2,2^\circ\text{C}$ (а) и $28,5 \pm 1,6^\circ\text{C}$ (б).



4. Относительное количество белков, углеводов и липидов в биомассе *Desmodesmus brasiliensis* (а) и *Scenedesmus obtusus* (б) при выращивании при температуре 26—27°C (1); 26,2—30,5°C (2) и 27,0—31,2°C (3).



5. Относительное количество белков, углеводов и липидов в биомассе *Selenastrum gracile* (а) при температуре $21,9 \pm 1,9^\circ\text{C}$ (1) и $26,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$ (2) и *Desmodesmus subspicatus* (б) при температуре $23,5 \pm 2,4^\circ\text{C}$ (3) и $28,5 \pm 1,8^\circ\text{C}$ (4).

Различия в оптимальных диапазонах значений внешних условий формируют и особенности биохимического состава водорослей вследствие различий в интенсивности и направленности метаболических процессов. Эти особенности каждого конкретного вида водорослей в определенных условиях внешней среды могут быть использованы для регулирования соотношения биохимических компонентов при получении биомассы в искусственных условиях.

Заключение

Содержание биохимических компонентов в клетках зеленых водорослей обусловлено видоспецифическими особенностями и может различаться даже у близкородственных видов. У исследованных культур зеленых водорослей (*Acutodesmus dimorphus*, *A. obliquus*, *Desmodesmus brasiliensis*, *D. subspicatus*, *Scenedesmus obtusus*, *Selenastrum gracile* и *Tetraedron caudatum*) содержание белков составляло 14,7—53,2% сухой массы, углеводов — 10,3—34,5, липидов — 6,5—27,2%.

Зеленые водоросли характеризуются видоспецифическими особенностями также в отношении оптимального для роста диапазона температур: *Desmodesmus brasiliensis* и *Scenedesmus obtusus* проявляют черты термофильных водорослей, *Selenastrum gracile* и *D. subspicatus* — мезофильных.

Температура существенно влияет не только на ростовые, но и на биосинтетические процессы водорослей. Количество белков максимально в оптимальном для роста интервале температур, при повышении или снижении температуры наблюдаются тенденции к увеличению содержания углеводов и липидов.

**

Культури різних видів зелених водоростей суттєво відрізняються за реакцією на температуру, яка впливає на інтенсивність їхнього росту і формування співвідношення основних біохімічних компонентів. У діапазоні температур, оптимальних для росту водоростей, у їхніх клітинах відзначено найбільше білків і найменше вуглеводів та ліпідів. Відхилення значень температури від оптимальних сприяє збільшенню кількості вуглеводів та ліпідів.

**

The cultures of various species of green algae differ in their response to temperature changes, which influence their growth and relationship between the main biochemical components. The highest content of proteins and the lowest content of carbohydrates and lipids in algal cells are observed at the optimal temperature. The deviation of temperature from its optimal values results in increase in amount of carbohydrates and lipids.

**

1. *Vogorosli*. Справочник / Под ред. С. П. Вассера. — Киев: Наук. думка, 1989. — 608 с.
2. *Горга А.І., Грубінко В.В.* Вплив дизельного палива на біосинтез протеїнів, вуглеводів і ліпідів у *Chlorella vulgaris* Beijer. // Біотехнологія. — 2011. — Т. 4, № 6. — С. 74—81.
3. *Золотарьова О.К., Шнюкова Є.І., Сиваш О.О., Михайленко Н.Ф.* Перспективи використання мікроводоростей у біотехнології / Під ред. О. К. Золотарьової. — К.: Альтерпрес, 2008. — 234 с.
4. *Курпенко Н.И., Усенко О.М., Мусий Т.О.* Изменчивость биохимического состава водорослей (обзор) // Гидробиол. журн. — 2014. — Т. 50, № 5. — С. 53—70.
5. *Муравьева И.П., Миронова Т.О.* Сезонная динамика липидно-углеводородного состава макрофитообрастаний гидротехнических сооружений Артиллерийской бухты (Севастополь, Черное море) // Уч. зап. Тавр. нац. ун-та. Сер. Биология, химия. — 2011. — Т. 24, № 4. — С. 166—170.
6. *Незбрицкая И.Н., Курейшевич А.В.* Механизмы резистентности водорослей к высоким температурам (обзор) // Гидробиол. журн. — 2013. — Т. 49, № 6. — С. 37—55.
7. *Barbarino E., Lourenco S.O.* An evaluation of methods for extraction and quantification of protein from marine macro- and microalgae // J. Appl. Phycology. — 2005. — Vol. 17. — P. 447—460.
8. *Borgen K.* Evaluation of physicochemical properties of modified algae protein adhesives. A thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree. — Kansas state university, 2012. — 46 p.
9. *Costa D.F.A., Isherwood P.I., Quigley S.P. et al.* Chemical composition and *in vitro* degradability of various algae species and protein supplements commonly fed to ruminants // Proc. Aust. Soc. Anim. Prod. — 2010. — Vol. 28. — P. 61.
10. *Guo G.-L., Dong S.-L., Dong Y.-W.* Влияние постоянных и ограниченно-колеблющихся температур на рост и фотосинтез макроводоросли *Ulva pertusa* Kjellm // Period. Ocean Univ. China. — 2006. — Vol. 36, N 6. — P. 941—945.
11. *Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.A., Randall R.C.* Protein measurement with the Folin phenol reagents // J. Biol. Chem. — 1951. — Vol. 193, N 1—2. — P. 265—268.