

П.О. МУШАК

Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України
вул. Терещенківська, 2, Київ, 01601, Україна

ВПЛИВ ВУГЛЕВОДІВ НА РІСТ І БІОХІМІЧНИЙ СКЛАД СИНЬОЗЕЛЕНИХ ВОДОРОСТЕЙ

Ключові слова: глікопротеїни, білок, цукроза, фруктоза, біомаса, ріст, живильне середовище.

Відомо, що деякі біополімери водоростей здатні адсорбувати одно-, дво- і полівалентні метали із зовнішнього середовища. До них належать і глікопротеїни. Представники різних груп водоростей можуть бути джерелом таких речовин [5, 6]. Раніше нами було показано [4], що на світлі одноклітинні та багатоклітинні водорості здатні засвоювати органічні сполуки і використовувати їх у процесі синтезу речовин, причому вплив цих речовин на ріст водоростей залежить від їх видових особливостей та фізіологічного стану. На засвоєння цукрів водоростями суттєво впливає їх концентрація [14, 15], а також освітленість [12]. Використання вуглеводів водоростями супроводжується деякими змінами в обміні речовин. Так, додавання глюкози до живильного середовища впливає на біосинтез і співвідношення фотосинтетичних пігментів [1, 9], вуглеводний обмін [11], фракційний склад білків [4].

Мета нашої роботи — пошук методів інтенсифікації росту синьозелених водоростей, а відтак, біосинтезу білка та глікопротеїнів.

Матеріал і методи досліджень

Об'єктом досліджень були представники нитчастих синьозелених водоростей *Spirulina platensis* (Nordts.) Geitl., 26, *Nostoc linckia* (Roth.) Born. et Flah., 102 з колекції відділу мембранології та фітохімії Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України (IBASU-B) [10]. Водорості вирощували в колбах Ерленмейера ємністю 750 мл на стерильних живильних середовищах: Заррука — для *S. platensis* [3], Фітцджеральда в модифікації А. Цендера і П. Горхема [16] — для *N. linckia*. Усі операції, пов'язані з висівом культур, здійснювали у стерильних умовах. Колби освітлювали люмінесцентними лампами типу ДС-40 (3000 лк) протягом 12 год при температурі 25–27 °С. Під час дослідів у живильне середовище додавали в одному випадку цукрозу, в іншому — фруктозу, кінцева концентрація яких становила 0,5 %. Водорості вирощували на світлі протягом 6 діб. Контрольні культури вирощували за тих самих умов, але без вуглеводів. На 3-тю та 6-ту добу досліду водорості відбирали для аналізу. Вміст білка визначали за методом О. Лоурі та співавт. [13]. Глікопротеїни (лугорозчинні білки) екстрагували 0,2%-м розчином NaOH [8]. Із одержаного екстракту їх осаджували зниженням рН до 4,5. Осад відділяли

центрифугуванням і багато разів промивали дистильованою водою. Для визначення амінокислотного складу білка його гідролізували в 6 N HCl протягом 24 год при температурі 105 °C [2]. Амінокислоти визначали на аналізаторі амінокислот марки Біотронік-6001.

Результати досліджень та їх обговорення

Серед стимуляторів росту водоростей важливе місце займають цукроза та фруктоза. У наших дослідах встановлено, що додавання 0,5 % цукрози в живильне середовище збільшує приріст біомаси *Spirulina platensis*, зокрема, на 3-тю добу вирощування — в 1,3 раза, а на 6-ту — удвічі порівняно з контролем. На середовищі з додаванням 0,5 % цукрози також збільшується біомаса *Nostoc linckia* — в 1,2 та 1,6 раза (відповідно, 3-тя і 6-та доба вирощування) відносно контролю. У дослідах із додаванням в живильне середовище 0,5 % фруктози показано, що цей вуглевод, як і цукроза, сприяє підвищенню продуктивності досліджених водоростей. Так, у *S. platensis* приріст біомаси був у 1,3 та 1,5 раза вищим, ніж у контрольному варіанті (3-тя і 6-та доба вирощування, відповідно). За результатами наших досліджень, додавання в живильне середовище 0,5 % фруктози хоча й підвищує продуктивність *N. linckia*, але меншою мірою, ніж цукрози. Так, на 3-тю добу вирощування водорості спостерігали незначне збільшення приросту біомаси відносно контролю, а на 6-ту добу культивування приріст біомаси був у 1,3 раза вищий, ніж у контрольному варіанті (табл. 1).

Таблиця 1. Нагромадження біомаси синьозелених водоростей на світлі під впливом цукрів, г/л суспензії

Доба вирощування	Цукроза, 0,5 %		Фруктоза, 0,5 %	
	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід
	<i>Spirulina platensis</i> (Nordts.) Geitl., 26			
Вихідна культура	0,150	—	0,130	—
3	0,202	0,303	0,172	0,228
6	0,308	0,614	0,260	0,394
	<i>Nostoc linckia</i> (Roth.) Born. et Flah., 102			
Вихідна культура	0,162	—	0,170	—
3	0,175	0,210	0,182	0,215
6	0,187	0,300	0,190	0,247

Активне засвоєння цукрів на світлі в умовах фотосинтезу супроводжується інтенсивнішим біосинтезом білка, ніж у темряві, коли фотосинтез відсутній. Природно, що клітини, які швидко ростуть і діляться, для своєї життєдіяльності потребують необхідну кількість білків, а також певний їх набір. Так, у варіантах дослідів з додаванням в живильне середовище цукрози вміст білка у клітинах *S. platensis* на 6-ту добу вирощування становив 39,76 %, водночас

як у контролі — 33,14 % сухої маси. У клітинах *N. linckia*, вирощеної на середовищі з цукрозою, вміст білка був вищим, ніж у контролі, і становив 23,98 і 18,15 % сухої маси відповідно.

Аналогічні результати отримано в дослідах із додаванням фруктози в живильне середовище, хоча в даному разі спостерігали дещо менше нагромадження білка. Так, у клітинах *S. platensis* і *N. linckia* дослідного варіанта вміст білка становив 38,75 і 21,74 % сухої маси відповідно, у контрольних варіантах — 34,55 і 18,52 % сухої маси відповідно (6-та доба вирощування) (табл. 2).

Таким чином, за нашими даними, додавання цукрози і фруктози в живильне середовище сприяє значному приросту біомаси досліджених синьо-зелених водоростей, причому під дією цукрози ріст водоростей, а відтак, і нагромадження білків є інтенсивнішим, ніж під впливом фруктози. Це пояснюється, мабуть, їх різною пристосованістю до екзогенного використання вуглеводів.

Ми досліджували також залежність нагромадження глікопротеїнів синьо-зеленими водоростями від наявності в живильному середовищі вуглеводів,

Таблиця 2. Вміст білка в клітинах синьо-зелених водоростей на світлі під впливом цукрів, % сухої маси

Доба вирощування	Цукроза, 0,5 %		Фруктоза, 0,5 %	
	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід
	<i>Spirulina platensis</i> (Nordts.) Geitl., 26			
Вихідна культура	28,14	—	30,32	—
3	30,21	33,71	32,43	34,55
6	33,14	39,76	34,55	38,75
	<i>Nostoc linckia</i> (Roth.) Born. et Flah., 102			
Вихідна культура	14,70	—	15,05	—
3	16,82	19,54	16,18	18,32
6	18,15	23,98	18,52	21,74

Таблиця 3. Амінокислотний склад білкового компонента глікопротеїнів синьо-зеленої водорості *Nostoc linckia* (Roth.) Born et Flah., 102, % сухої маси

Аспарагінова кислота	7,18	Метіонін	1,04
Треонін	2,38	Ізолейцин	3,43
Серин	3,77	Лейцин	5,83
Глутамінова кислота	7,03	Тирозин	3,16
Пролін	2,42	Фенілаланін	3,93
Гліцин	3,90	Гістидин	2,08
Аланін	4,76	Триптофан	—
Цистеїн	—	Лізин	2,00
Валін	3,81	Аргінін	4,78

Примітка: «—» — амінокислота відсутня.

що стимулюють їх ріст. Раніше ми встановили [7], що *Nostoc punctiforme* (Kuetz.) Hariot., штам 55 та *Anabaena hassalii* (Kuetz.) Wittr. і *Microcystis aeruginosa* (Kuetz.) emend. Elenk. містять значну кількість фракцій глікопротеїнів, набір яких певною мірою змінюється залежно від умов вирощування культур. Зазначимо, що вміст глікопротеїнів у біомасі *S. platensis* становив понад 30 %, а в біомасі *N. muscorum* — 27 % від загальної кількості білка. Культивування водоростей на живильному середовищі з додаванням цукрози і фруктози значно збільшує вміст глікопротеїнів — відповідно, на 4,0—3,0 % від загальної кількості білка.

Наші дослідження показали, що максимальна кількість глікопротеїнів нагромаджувалася у логарифмічній фазі росту культур водоростей, у стаціонарній фазі їх вміст зменшувався. Ми вперше використали *Nostoc linckia*, тому вважали за доцільне вивчити амінокислотний склад білкового компонента глікопротеїну. Ми встановили, що до його складу входять 16 амінокислот: аспарагінова і глютамінова кислоти, треонін, серин, пролін, гліцин, аланін, валін, метіонін, ізолейцин, лейцин, тирозин, фенілаланін, гістидин, лізин, аргінін. Найбільшою є кількість аспарагінової і глютамінової кислот, аланіну, лейцину, аргініну, а найменшою — метіоніну, гістидину, лізину. У складі білкового компонента відсутні цистеїн і триптофан (табл. 3).

Отже, наші дослідження засвідчують доцільність використання вуглеводів з метою підвищення продуктивності водоростей, а відтак, і нагромадження глікопротеїнів, причому цукроза більшою мірою стимулює зазначені процеси, ніж фруктоза.

1. Лось С.И. Влияние диурона на фикобилиновый комплекс представителей рода *Nostoc* Vauch. ex Born. et Flah. // Альгология. — 1998. — 8, № 1. — С. 63—68.
2. Медведева Е.И., Селич Е.Ф. О щелочерастворимом белке красной черноморской водоросли *Phyllophora nervosa* // Биохимия. — 1968. — 33, вып. 3. — С. 635—642.
3. Михайлов А.А., Верзилін В.В., Шаренкова А.А. Влияние температурных и световых условий культивирования на продуктивность *Spirulina platensis* (Gom.) Geitl. // Науч. докл. высш. шк. Биол. науки. — 1972. — Вып. 2. — С. 67—73.
4. Мушак П.О. Фракційний склад білків і гетеротрофний ріст синьозелених водоростей // Укр. ботан. журн. — 1989. — 46, № 5. — С. 68—71.
5. Мушак П.А. Биомасса синезеленых водорослей (*Cyanophyta*) — сырье для получения биологически активных веществ // Альгология. — 1999. — 9, № 2. — С. 98—99.
6. Мушак П.О. Глікопротеїни деяких представників нитчатих синьозелених водоростей // Укр. ботан. журн. — 2001. — 58, № 2. — С. 216—219.
7. Мушак П.О., Суховій М.В. Электрофоретичні спектри глікопротеїнів синьозелених водоростей // Укр. ботан. журн. — 1991. — 48, № 2. — С. 56—59.
8. Плешков В.П. Практикум по биохимии растений. — М.: Колос, 1968. — С. 45—53.
9. Сиваш О.О., Михайленко Н.Ф., Золотарьова О.К. Цукри як ключова ланка в регуляції метаболізму фотосинтезуючих клітин // Укр. ботан. журн. — 2001. — 58, № 1. — С. 121—127.
10. Судына Е.Г., Шнюкова Е.И. IBASU-B — коллекция культур водорослей отдела биохимии Института ботаники им. Н.Г.Холодного АН УССР // Каталог культур микроводорослей в коллекциях СССР. — М.: ИФР, 1991. — С. 141—151.
11. Шнюкова Е.И. Фотоорганотрофний і гетеротрофний ріст гормонічних синьозелених водоростей // Укр. ботан. журн. — 1984. — 41, № 4. — С. 49—54.

12. *Kamija Akio*. Effects of light on growth and glucose consumption in colorless *Chlorella mutant* cells // *Plant and Cell Physiol.* — 1985. — 26, N 1. — P. 151—160.
13. *Lowry O.H., Rosenbrough H.I., Farr A.L., Randall R.I.* Protein measurement with the Folin phenol reagent // *Journ. Biol. Chem.* — 1951. — 193. — P. 265.
14. *Nicolas Paul, Freyssinet Georges, Nigon Victor*. Effect of light on glucose utilisation by *Euglena gracilis* // *Plant Physiol.* — 1980. — 65, N 4. — P. 631—634.
15. *Pachpande R.R., David S.B.* Autotrophic, mixotrophic and heterotrophic growth of *Chorococcus infosionum* (Schrank) Meneghini // *Phykos.* — 1983. — 22, N 1/2. — P. 94—100.
16. *Zender A., Gorham P.R.* Factors influencing the growth of *Microcystis aeruginosa* Kuetz. emend. Elenk. // *Can. J. Microbiol.* — 1960. — 6, N 6. — P. 645—660.

Рекомендує до друку
А.С. Бухало

Надійшла 25.02.2004

П.А. Мушак

Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины, г. Киев

ВЛИЯНИЕ УГЛЕВОДОВ НА РОСТ И БИОХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ СИНЕЗЕЛЕННЫХ ВОДОРОСЛЕЙ

Изложены результаты изучения влияния углеводов на рост синезеленых водорослей, биосинтез белка и гликопротеинов. Установлено, что в присутствии 0,5 %-й сахарозы и фруктозы в 1,6—2,0 раза (6-е сутки выращивания) увеличивается прирост биомассы *Spirulina platensis* (Nordts.) Geitl., 26, и *Nostoc linckia* (Roth.) Born. et Flah., 102, а также количество общего белка и гликопротеинов по сравнению с контролем.

P.A. Mushak

M.G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Science of Ukraine, Kyiv

THE EFFECT OF CARBOHYDRATES ON GROWTH AND BIOCHEMICAL COMPOSITION OF BLUE-GREEN ALGAE

The results of the influence of carbohydrates on growth of blue-green algae, protein and glycoproteins biosynthesis have been presented in this article. 1,6—2,0 fold increase in the biomass was found in the *Spirulina platensis* (Nordts.) Geitl., 26, and *Nostoc linckia* (Roth.) Born. et Flah., 102 grown in the presence of 0,5 % saccharose and fructose compared to control (6-day old culture). In algae, grown in the nutrient medium containing saccharose and fructose, the amount of proteins and glycoproteins is elevated compared to control.