

ОЦЕНКА ЧИСЛЕННОСТИ КРИПТОФИТОВЫХ ЖГУТИКОНОСЦЕВ *RHODOMONAS SP.* ПО СОДЕРЖАНИЮ ФИКОЭРИТРИНА В ПРОБАХ ВОДЫ МЕТОДОМ СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ

Наумова Ю.О.¹, Кан М.П.¹, Краснова Е.Д.², Лапашина А.С.¹, Фенюк Б.А.¹

1 – Факультет биоинженерии и биоинформатики МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва;

2 – Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва.

На промежуточной стадии изоляции водоемов, отделяющихся от Белого моря, на границе аэробной и анаэробной зон в теплые периоды года в течение одного – пяти месяцев можно наблюдать феномен красного слоя воды из-за массового развития криптофитовых водорослей *Rhodomonas sp.* Для мониторинга их развития с применением дистанционных методов требуются простые, поддающиеся автоматизации методы оценки численности. Один из методов, потенциально пригодных для дифференцированного определения количественных параметров криптофитовых водорослей – спектрофотометрическое определение количества фикоэритрина с последующим пересчетом на численность или биомассу. Целью данной работы была проверка применимости этого метода на примере лагуны на Зеленом мысе.

Материалы и методы

Работа выполнена на Беломорской биологической станции им. Перцова Н.А. МГУ им. М.В. Ломоносова в период студенческой практики Факультета биоинженерии и биоинформатики МГУ им. М.В. Ломоносова в августе 2019 г. В лагуне на Зеленом мысе были отобраны пробы красноватой воды на глубине около 5,2 м с помощью погружного насоса с силиконовой трубкой и размеченным кабелем.

Температура и соленость воды была измерена зондом YSI PRO 1030, содержание кислорода – зондом YSI ProODO, pH и окислительно-восстановительный потенциал – портативными измерительными приборами WaterLiner. Освещенность на разной глубине определялась с помощью бытового люксметра Metronx WindLiner, модифицированного для погружения под воду.

Численность клеток *Rhodomonas sp.* была подсчитана в камере Ножотта глубиной 0,5 мм. Для вычисления объема клеток *Rhodomonas sp.*, форму клетки принимали за эллипсоид вращения, как рекомендовано в Практическом руководстве по сбору и анализу проб морского фитопланктона (Радченко и др., 2010). Объем клеток вычисляли по формуле $\frac{\pi d^2 l}{6}$, где d – диаметр (ширина) клетки, l – длина клетки. Измерения размеров клеток проводили по фотографиям, сделанным на флуоресцентном микроскопе “Leica” в программе “LAS”.

Методика выделения фикоэритрина из клеток *Rhodomonas sp.*

45 мл пробы осаждали центрифугированием в течение 10 мин при 3000 об/мин, отбিরали супернатант, добавляли ещё 45 мл пробы и повторно осаждали клетки центрифугированием в течение 10 мин при 3000 об/мин. Суммарный объём пробы составил 90 мл.

Клетки ресуспендировали в 5 мл фосфатного буфера (50 мМ PO₄³⁻, pH = 6,7). Полученную суспензию замораживали при -20°C на 12 ч. Образцы размораживали при комнатной температуре и центрифугировали в течение 10 мин при 3000 об/мин. Впоследствии супернатант был отобран для анализа на спектрофотометре.

Методика выделения хлорофилла из клеток *Rhodomonas* sp.

Осаждение клеток происходило так же, как и при выделении фикоэритрина. Клетки ресуспендировали в 5 мл ацетона и далее центрифугировали в течение 5 мин при 3000 об/мин. Впоследствии супернатант был отобран для анализа на спектрофотометре.

Спектры поглощения снимали на спектрофотометре СФ-2000. При изменении спектров поглощения фикоэритрина использовались пластиковые кюветы. При измерении спектров поглощения хлорофилла использовались кварцевые кюветы.

Расчет концентрации хлорофилла А, хлорофилла С2 и фикоэритрина осуществлялся по следующей формуле:

$C = \frac{A}{\epsilon \cdot l}$, где с – концентрация, А – оптическая плотность, ϵ – коэффициент молярной экстинкции, l – длина оптического пути.

Результаты и обсуждение

В течение августа 2019 года четыре группы студентов еженедельно (01.08.19, 05.08.19, 12.08.19, 19.08.19) проводили сбор материала и исследование количественного состава полученных проб (данные представлены в Таблице 1).

Таблица 1. Итоговые данные по содержанию фикоэритрина и хлорофиллов в клетках *Rhodomonas* sp.

	01.08.2019		05.08.2019		12.08.2019		19.08.2019	
	Ср. знач.	SD	Ср. знач.	SD	Ср. знач.	SD	Ср. знач.	SD
Плотность клеток, ед/мл	141440	0	177200	3946,31	158665,2	8911,06	85364,5	2452,39
Фикоэритрин в пробе, мкг/мл	7,131	0,706	7,274	0,368	6,674	0,433	2,772	0,261
Фикоэритрин на клетку, пг	0,05	0,005	0,041	0,002	0,042	0,003	0,032	0,003
Хлорофилл А в пробе, мкг/мл	0,96	0,497	0,875	0,049	1,644	0,143	0,366	0,026
Хлорофилл А на клетку, пг	6,789	3,514	4,938	0,275	10,364	0,901	4,29	0,301
Хлорофилл С2 в пробе, мкг/мл	0,172	0,112	0,17	0,021	0,42	0,093	0,11	0,016
Хлорофилл С2 на клетку, пг	1,217	0,792	0,959	0,118	2,646	0,586	1,288	0,191

Также были измерены освещенность, соленость и насыщенность кислородом на различных глубинах. При увеличении глубины освещенность и насыщенность кислородом уменьшается, а соленость, наоборот, возрастает. Результаты представлены ниже (Рис. 1, Рис. 2, Рис. 3).

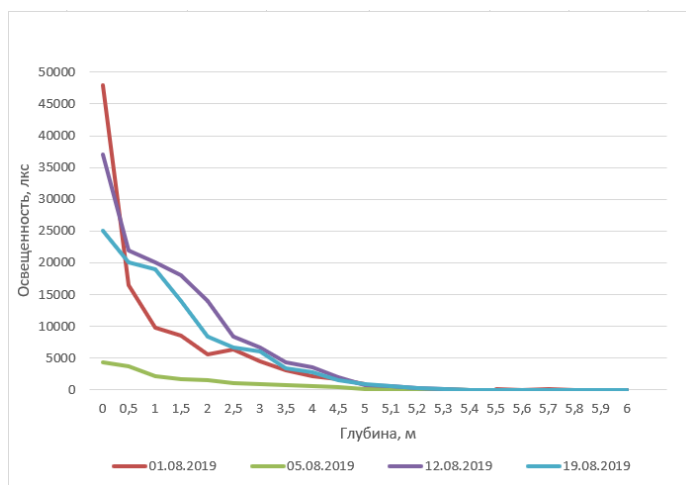


Рис. 1. График зависимости освещенности (лк) от глубины (м).

До глубины 5,2 м, где криптофитовые жгутиконосцы образуют плотную популяцию, доходит очень мало света. Возможность эффективного фотосинтеза в условиях сильного затенения у криптофитовых обеспечивается фикобиллинами, входящими в состав светособирающей антенны; у *Rhodomonas* sp. это фикоэритрин с максимумом поглощения света с длиной волны 546 нм.

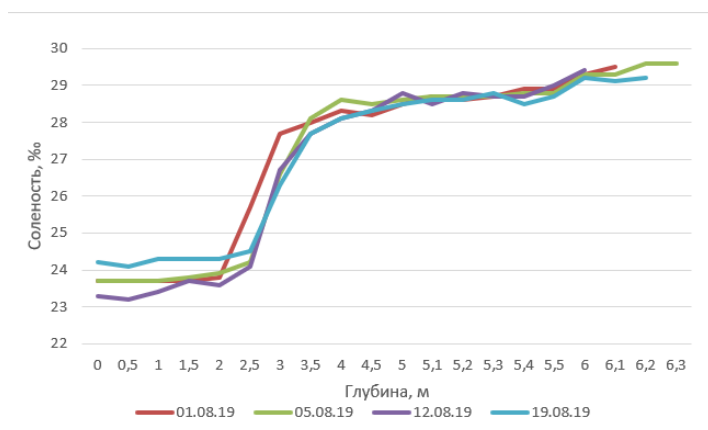


Рис. 2. График зависимости солености (‰) от глубины (м).

Зона обитания *Rhodomonas* sp. находится в гипolimнии водоема с соленостью около 29‰, что на несколько единиц больше, чем соленость в соседней морской акватории.

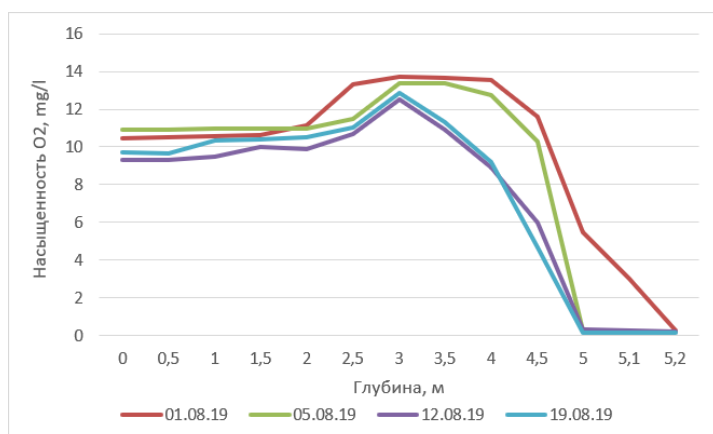


Рис. 3. График зависимости насыщенности O₂ (мг/л) от глубины (м).

Зона обитания *Rhodomonas* sp. находится в анаэробной зоне. Эти криптофитовые обладают способностью к миксотрофии типу питания – чередованию автотрофного типа жизнедеятельности путем фотосинтеза и гетеротрофии – усвоению готовых органических веществ.

Заключение

Концентрация фикоэритрина в клетках криптофитовых водорослей *Rhodomonas* sp. была относительно постоянной, поэтому мы считаем перспективным опробованный нами метод определения количественных характеристик популяции этих микроорганизмов. Количество хлорофиллов А и С2, варьировала сильнее, поскольку эти пигменты содержатся не только в криптофитовых, но и в других водорослях, которые, хоть и в незначительных количествах, но тоже присутствовали в пробах воды. В течение августа численность криптофитовых водорослей менялась. С уменьшением светового дня она падала, а, кроме того, немного уменьшилось содержание фикоэритрина в единичной клетке. При этом для хлорофилла данной зависимости не выявлено.

Благодарности

Авторы крайне признательны студентам Факультета Биотехнологии и Биотехнологии, которые внесли вклад в выполнение данной работы: Агаева З.Ф., Андреев Г.О., Антоненкова Ю.С., Бартыш Е.А., Безуглов В.С., Белоусова Е.А., Беляева Ю.Д., Бердникович Е.А., Бруман С.М., Бушмакин И.М., Буянова М.Ф., Быкова Д.И., Власов А.В., Волобуева М.Е., Воробьева М.А., Гладнева Е.Е., Григорьева М.В., Гумеров Р.И., Денисов К.А., Игумнов Д.С., Иззи А.Р., Кирпичиков Р.Ю., Кондратенко Н.Д., Коннов С.И., Коркунова Е.М., Макарикова О.Л., Макиевская К.И., Машковская А.В., Минина Е.П., Ненартович М.И., Нестеренко Е.А., Нефедова А.А., Перевощикова К.Ю., Петрова Ю.И., Поддъяков И.Д., Потапенко Е.Ю., Пушкарев С.В., Раздобарин З.Е., Ралдугина В.Н., Розина А.А., Сафронов В.В., Смородина Е.Г., Тихонов С.А., Третьяков Д.О., Трифонова С.А., Цветков Р.И., Цыганов К.О., Эрмидис А.П.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант №19-05-00377).

Список литературы

Е. Д. Краснова, Д. А. Воронов, Н. А. Демиденко, Н. М. Кокрятская, А. Н. Пантюлин, Т. А. Рогатых, Т. Е. Самсонов, Н. Л. Фролова и С. И. Шапоренко. К инвентаризации реликтовых водоемов, отделяющихся от Белого моря // *Комплексные исследования Бабьего моря, полу-изолированной беломорской лагуны: геология, гидрология, биота — изменения на фоне трансгрессии берегов. Труды Беломорской биостанции МГУ, т. 12.* – М.: Т-во научных изданий КМК, 2016. – Стр. 211–241.



**VIII Международная научно-практическая конференция
«Морские исследования и образование»
Москва, 28-31 октября 2019**

**VIII International conference
«Marine Research and Education»
Moscow, 28-31 October 2019**

MARESEDU-2019

**ТРУДЫ КОНФЕРЕНЦИИ / CONFERENCE PROCEEDINGS
Том II (III) / Volume II (III)**

УДК [551.46+574.5](063)

ББК 26.221я431+26.38я431+28.082.40я431

Т78

Труды VIII Международной научно-практической конференции «Морские исследования и образование (MARESEDU-2019)» Том II (III): [сборник]. Тверь: ООО «ПолиПРЕСС», 2020, 518 с.: ISBN 978-5-6042986-0-2.

Сборник «Труды VIII Международной научно-практической конференции «Морские исследования и образование (MARESEDU-2019)» представляет собой книгу тезисов докладов участников конференции, состоящую из трех томов. Сборник включает в себя главы, соответствующие основным секциям технической программы конференции: океанология, гидрология, морская геология и геофизические исследования на акваториях, рациональное природопользование, подводное культурное наследие. Специальной темой конференции 2019 года стала секция, приуроченная к Десятилетию ООН, посвященному науке об Океане в интересах устойчивого развития (2021-2030 гг.)

Все тезисы представлены в редакции авторов.

В рамках конференции участники обсудили состояние и перспективы развития комплексных исследований Мирового океана, шельфовых морей и крупнейших озер, актуальные проблемы рационального природопользования и сохранения биоразнообразия в водных пространствах, проблемы освоения ресурсов континентального шельфа, достижения науки в области морской геологии, современные подходы к исследованиям обширных акваторий дистанционными методами, проблемы устойчивого развития экосистем моря и прибрежной зоны, организацию и проведение комплексных экспедиционных исследований, преподавание «морских дисциплин», вопросы организации полевых практик студентов.

Подготовлено к выпуску издательством ООО «ПолиПРЕСС» по заказу ООО «Центр морских исследований МГУ имени М.В. Ломоносова».

ООО «ПолиПРЕСС»

170041, Россия, г. Тверь, Комсомольский
пр-т, д. 7, пом. II polypress@yandex.ru

ООО «Центр морских исследований МГУ
имени М.В. Ломоносова».

РФ, 119234, г. Москва, ул. Ленинские
Горы, д. 1, стр. 77

(495) 648-65-58/ 930-80-58

Все права на издание принадлежат
ООО «Центр морских исследований
МГУ имени М.В. Ломоносова».

© ООО «Центр морских исследований
МГУ имени М.В. Ломоносова», 2020
© ООО «ПолиПРЕСС»