

УДК 57.083.184.

**ИЗУЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ ЩЕЛОЧНОЙ ФОСФАТАЗЫ В КЛЕТКАХ
ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ *CHLOROPHYTA*, *BACILLARIOPHYTA*, *CHRYSOPHYTA*
ПРИ РАЗНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЯХ СУЛЬФАТА МЕДИ В СРЕДЕ**

Семенова О.А., Петров С.А.

*Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова, Одесса, Украина
E-mail: masterkristi@rambler.ru*

Изучено влияние сульфата меди на активность щелочной фосфатазы у представителей отделов *Chlorophyta*, *Bacillariophyta*, *Chrysophyta*. В наибольшей степени фермент изменяет свою активность под влиянием сульфата меди у представителей *Chlorophyta*, в меньшей степени этот эффект наблюдается у представителей *Chrysophyta* и минимальным он был у представителей *Bacillariophyta*.
Ключевые слова: водоросли, активность, щелочная фосфатаза, сульфат меди.

ВВЕДЕНИЕ

Загрязнение водной среды солями меди имеет место практически во всех морских водоемах мира. Воздействие этого металла на биохимические показатели более или менее изучено как на представителях беспозвоночных, так и у одноклеточных водорослей, однако исследований, выполненных в сравнительном аспекте известно не много [2]. С другой стороны хорошо известно, что ионы меди оказывают токсикогенное влияние на клеточные процессы нелизосомального расщепления. Наиболее показательной в этом отношении является щелочная фосфатаза [3, 4].

В связи с указанным мы поставили перед собой задачу изучить влияние различных концентраций сульфата меди на активность щелочной фосфатазы в клетках зеленых, диатомовых и золотистых водорослей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Все исследования, приведенные в работе, выполнены на лабораторных монокультурах *Dunaliella salina* Teod, *Chlorella vulgaris* Beijer, *Thalassioira pseudonana* Haise et Heimdal, *Pavlova lutheri* (Droop). Водоросли культивировались на средах Гольдберга (*D. salina*, *Th. pseudonana*, *P. lutheri*) и Прата (*Ch. vulgaris*). В ходе эксперимента указанные культуры помещали в колбы емкостью 50 мл. Для каждой культуры первый вариант - без внесения сульфата меди - служил контролем. Во второй и третий вариант вносили сульфат меди в концентрациях $0.1 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ и $0.25 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$, соответственно [5].

Активность щелочной фосфатазы определяли по Бессею в модификации Левицкого [6]. Для этого брали суспензии клеток водорослей, обрабатывали их Тритоном X-100. Показатель определяли ежедневно в течение трех суток.

Результаты исследования представляли средние величины с их средними ошибками ($M \pm m$). Полученные данные обрабатывали с использованием прикладных статистических программ «STATGRAPHICS» [7–9].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В наших исследованиях оказалось, что внесение культур исследованных водорослей в лабораторные сосуды емкостью 50 мл в течение 1-х трех суток по разному влияло на активность щелочной фосфатазы.

Так, в частности, активность исследуемого фермента в клетках *Th. pseudonana* резко снижалась (в 3 – 3.5 раза) в данный период. У *D. salina* аналогичное, но более выраженное снижение наблюдалось на протяжении первых 2-х суток эксперимента, а затем восстанавливалось почти до исходного уровня. В клетках *Ch. vulgaris* и *P. lutheri* наблюдалась обратная картина. В частности, у *P. lutheri* активность щелочной фосфатазы к 3-м суткам в 5 раз превышала исходный уровень, а у *Ch. vulgaris* ко 2-м суткам наблюдалась даже 10-кратное превышение исходного уровня, сохранявшегося до конца третьих суток. Эффекты можно объяснить различной приспособительной реакцией культур водорослей на изменение условий обитания.

Результаты исследования влияния различных концентраций сульфата меди на активность щелочной фосфатазы в клетках вышеуказанных водорослей приведены на Рис. 2–3.

Как видно из рисунков ферменты разных видов водорослей реагируют принципиально по-разному на присутствие сульфата меди. Так в частности фермент *Th. pseudonana* оказался нечувствительным к обоим исследованным концентрациям сульфата меди (рис. 1).

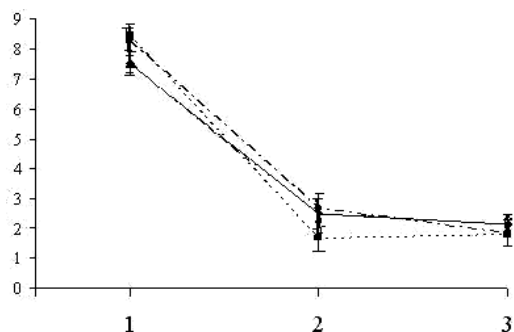


Рис. 1. Влияние сульфата меди на активность щелочной фосфатазы в культуре водоросли *Th. pseudonana*

—●— Контроль —◆— 0.10 мг·л⁻¹ —■— 0.25 мг·л⁻¹

Примечание: отличия экспериментальных вариантов в сравнении с соответствующими контрольными вариантами достоверны при $p < 0.05$

По оси ординат – активность щелочной фосфатазы, $(\mu\text{M} \cdot \text{мл}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}) \cdot 10^{-5}$

По оси абсцисс – длительность эксперимента, сутки

Щелочная фосфатаза *D. salina* оказалась устойчивой к указанному токсиканту в течение 2-х суток. К 3-им суткам активность этого фермента существенно снизилась.

Для фермента *Ch. vulgaris* обнаружено, что уже в первые сутки эксперимента активность щелочной фосфатазы приблизительно на порядок увеличивается по отношению к контролю. Далее, при использовании минимальной концентрации $0,1 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ этот показатель нормализовался, а при использовании концентрации $0,25 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ активность фермента снижалась на 35 – 40 % по отношению к контролю (рис. 2).

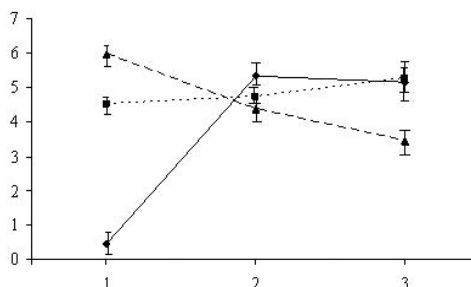


Рис. 2. Влияние сульфата меди на активность щелочной фосфатазы в культуре водоросли *Ch. vulgaris*.

—●— Контроль ···■··· 0.10 мг/л -▲- 0.25 мг/л

Примечание: отличия экспериментальных вариантов в сравнении с соответствующими контрольными вариантами достоверны при $p < 0.05$

По оси ординат – активность щелочной фосфатазы, $(\text{мкМ} \cdot \text{мл}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}) \cdot 10^{-5}$

По оси абсцисс – длительность эксперимента, сутки

При изучении активности щелочной фосфатазы у *P. lutheri* обнаружена в целом аналогичная картина. В течение первых двух суток эксперимента наличие токсикантов в морской воде повышало активность фермента, а к третьим суткам наблюдалось небольшое снижение исследуемого показателя (рис. 3).

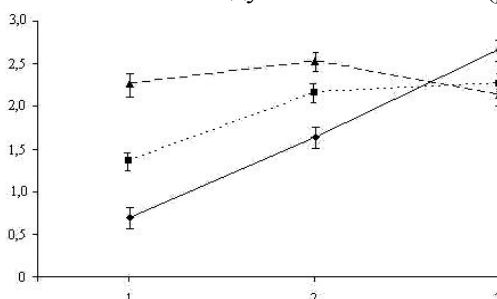


Рис. 3. Влияние сульфата меди на активность щелочной фосфатазы в культуре водоросли *P. lutheri*

—●— Контроль ···■··· 0.1 мг/л -▲- 0.25 мг/л

Примечание: отличия экспериментальных вариантов в сравнении с соответствующими контрольными вариантами достоверны при $p < 0.05$

По оси ординат – активность щелочной фосфатазы, $(\text{мкМ} \cdot \text{мл}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}) \cdot 10^{-5}$

По оси абсцисс – длительность эксперимента, сутки

В ходе эксперимента контролировалось количество клеток водорослей в пределах исследуемого срока.

Выбранные нами концентрации сульфата меди не оказывали существенного действия на количество клеток водорослей, которое колебалось в пределах 5 % от исходного количества.

ВЫВОД

Полученные нами данные свидетельствуют о различной чувствительности щелочной фосфатазы к сульфату меди у представителей разных отделов одноклеточных водорослей, что свидетельствует о разных механизмах регуляции неризосомального расщепления у этих представителей. Наименее чувствителен фермент у представителей диатомовых водорослей – *Th. pseudonana*. Также он мало чувствителен у представителей золотистых водорослей – *P. Lutheri*, а наиболее чувствителен у представителей зеленых водорослей – *D. salina* и *Ch. vulgaris*.

Полученные данные можно использовать при мониторинге черноморских вод на предмет загрязненности солями меди. Различная реакция водорослей на загрязнитель может использоваться для экспресс оценки загрязнения вод.

Список литературы

1. Дмитриева Ф.Г. О роли металлов в жизни клеток водорослей / Ф.Г. Дмитриева., О.Н.Кожанова, Н.Л. Дронина. // Альгология. – 1999. – Т. 9, № 2. – С. 42.
2. Чернавская М.Н. Физиология растительных организмов и роль металлов / Чернавская М.Н. // М.: Мир. – 1989. – 150 с.
3. Филенко О.Ф. Водная токсикология. / Филенко О.Ф. – Черноголовка: МГУ. 1988. – 156 с.
4. Хоминская Н.В. Активность щелочной фосфатазы фитопланктона в Киевском и Кременчугском водохранилищах / Н.В. Хоминская // Гидробиол. журн. – 1984. – Т. 20, № 6. – С. 84–98.
5. Хомяков Т.В. Действие сублетальных доз ионов меди на культуру *Dunaliella viridis* Teod. (Chlorophyta) / Т.В. Хомяков, Т.В. Догадина, В.П. Комаристая // Альгология. – 1994. – Т. 4, № 4. – С. 30–36.
6. Левицкий А.П. Спектрофотометрический метод определения активности по Бессею (1946) в модификации Левицкого / А.П. Левицкий, Л.И. Марченко, Т.Л. Рыбак // Лабораторное дело. – 1973. – № 10. – С. 604.
7. Носов В.Н. Компьютерная биометрика / В.Н. Носов. – М.: Наука, 1990. – 231 с.
8. Лакин Г.Ф. Биометрия / Лакин Г.Ф. – М.: Высшая школа, 1990. – 362 с.
9. Ульянова Е.С. Методы корреляционного и регрессионного анализа в агроэкологии. / Е.С. Ульянова, В.Н. Забелин. – М.: Наука, 1990. – 207 с.

Семенова О.О. Вивчення активності лужної фосфатази у клітинах представників *Chlorophyta*, *Bacillariophyta*, *Chrysophyta* за різних концентрацій сульфату міді у середовищі. / О.А. Семенова, С.А. Петров // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 4. – С. 268-272.

Вивчено вплив сульфату міді на активність лужної фосфатази у представників *Chlorophyta*, *Bacillariophyta*, *Chrysophyta*. Найбільше фермент змінює свою активність під впливом сульфату міді у представників *Chlorophyta*, найменш цей ефект спостерігався у представників *Chrysophyta* та мінімальним він був у представників *Bacillariophyta*.

Ключові слова: водорості, активність, лужна фосфатаза, сульфат міді.

Semenova O.O. The study of alkaline phosphatase in the cells of *Chlorophyta*, *Bacillariophyta*, *Chrysophyta* representatives at the different concentrations of sulfate of copper in an environment / O.O. Semenova, S.A. Petrov // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No 4. – P. 268-272.

Influence of sulfate of copper is studied on alkaline phosphatase activity for the representatives of *Chlorophyta*, *Bacillariophyta*, *Chrysophyta*. Most an enzyme changes the activity under act of sulfate of copper for the representatives of *Chlorophyta*, the least this effect was observed for the representatives of *Chrysophyta* and the representatives of *Bacillariophyta* had him minimum.

Keywords: algae, activity, alkaline phosphatase, sulfate of copper.

Поступила в редакцию 17.09.2011 г.