

Биолог. журн. Армении, 4 (55), 2003

УДК 581.573.6

ВЛИЯНИЕ ДИМЕТИЛСУЛЬФОКСИДА НА РОСТ И СОДЕРЖАНИЕ ХЛОРОФИЛЛА КЛЕТОК *CHLORELLA VULGARIS*

А.Н. ЗАКАРЯН, Ш.А. МАРКАРЯН, М.К. ВАРТАНЯН, Г.А. ПАРСАДАНЯН,
К.В. САРКИСЯН

Ереванский государственный университет, кафедра экологии и охраны природы,
кафедра физической химии, 375025

Исследовалось действие диметилсульфоксида (ДМСО) на численность клеток, содержание в них хлорофилла "а" и скорость роста культуры *Chlorella vulgaris* при различной концентрации питательного раствора (100%, 50%). Выявлено, что 0,5- и 0,1%-ные растворы ДМСО стимулировали и повышали скорость роста хлореллы. Характер воздействия ДМСО в этом диапазоне концентраций зависел от уровня фонового раствора. Повышение дозы 5%- и 1%-ных растворов ДМСО подавляли рост хлореллы, ингибировали синтез хлорофилла "а", понижали скорость роста культуры независимо от уровня концентрации питательного раствора. Полученные результаты позволяют сделать предположение о комплексном воздействии ДМСО, включающем усиление эффективности использования питательных элементов при низких концентрациях ДМСО и подавление синтеза хлорофилла "а" вплоть до его деградации при сравнительно высоких концентрациях.

Դետազոտվել է դիմեթիլսուլֆօքսիդի (ԴՄՍՕ) ազդեցությունը բջիջների քանակության վրա, նրանցում քլորոֆիլ "ա"-ի պարունակությունը և *Chlorella vulgaris* կուլտուրայի աճի արագությունը սննդարար լուծույթի տարբեր խտությունների ազդեցության ներքո (100%, 50%): Բացահայտվել է, որ 0,5 և 0,1 % ԴՄՍՕ-ի լուծույթը նպաստում է քլորելայի աճի արագության բարձրացմանը: ԴՄՍՕ-ի ազդեցության բնույթը խտությունների այս միջակայքում կախված է ֆոնային լուծույթի մակարդակից: 5 և 1%-անոց ԴՄՍՕ-ի լուծույթի քանակության ավելացումը ճնշում է քլորելայի աճը, քլորոֆիլ "ա"-ի (5%) սինթեզը, նվազեցնում կուլտուրայի աճի արագությունը, որը կախված չէ սննդարար լուծույթի խտությունից: Ստացված արդյունքները թույլ են տալիս ենթադրել ԴՄՍՕ-ի համալիր ազդեցության մասին, որն ընդգրկում է սննդարար տարրերի կիրառման էֆեկտիվության բարձրացումը՝ ԴՄՍՕ-ի ցածր խտությունների դեպքում, ինչպես նաև քլորոֆիլ "ա"-ի սինթեզի ճնշումը՝ ընդհուպ մինչև նրա քայքայումը՝ համեմատաբար բարձր խտությունների դեպքում:

Effect of dimethylsulfoxide (DMSO) on the growth and content of chlorophyll "a" in the cells of *Chlorella vulgaris* nutrients (100%, 50%). Application of DMSO in low concentrations 0,5—0,1% stimulates growth of chlorellas culture and increase speed of growth. The effect of DMSO in this rate of concentrations depends on the level of nutrient solution. The DMSO in concentration 5 and 1% inhibiting growth of chlorella, formation of chlorophyll "a" (5%) and decreasing the growth speed, independently of concentration level of nutrient solution. The results of our experiments allow to predict complex effect of DMSO, including influence on effective using of nutritions with low concentrations and inhibiting effect of comparatively high concentrations on the content of chlorophyll "a".

Chlorella - диметилсульфоксид - численность клеток — хлорофилл —
скорость роста клеток

Многими авторами установлено влияние ДМСО на обменные процессы в растениях, в частности на белковый обмен [5], формирование хлорофилла [14], уровень эндогенных гормонов [15]. Известно действие ДМСО на транспортные свойства мембран, поглощение микроэлементов, интенсивность окислительных процессов, рост и развитие растений и т.д. [1, 9]. Выявлено, что влияние ДМСО на растения зависит от его концентрации, а также от вида растения, фазы развития [5, 6] .

В некоторых работах представлен механизм действия ДМСО на молекулярном, органном, организменном, а в последние годы и экосистемном уровнях [3, 13]. Многочисленны исследования роли и действия ДМСО в прокариотических организмах: бактериях и цианобактериях [11, 12]. Однако, по нашим данным, литературных сообщений о влиянии ДМСО на рост и развитие культуры одноклеточных зеленых водорослей нет.

В нашей работе объектом исследования являлась одноклеточная зеленая водоросль *Chlorella vulgaris*, выбор которой не случаен и имеет несколько аспектов: исследование влияния ДМСО на одноклеточную хлореллу позволит выявить определенные закономерности его воздействия на растения на клеточно-организменном уровне; в случае положительного эффекта ДМСО определенных концентраций на показатели роста хлореллы, его применение при выращивании хлореллы в больших масштабах будет иметь экономический и экологический эффект.

Материал и методика. В качестве объекта исследования использовали культуру *C. vulgaris*. Суспензию клеток выращивали в стеклянных культиваторах при обычном освещении и температуре 20°-22°, с продуванием воздуха (0,03 СО). В каждом эксперименте во все варианты культуральной среды вносили одинаковое количество посевного материала. Для выращивания водорослей использовали питательную среду Тамия полной и половинной концентрации. ДМСО добавляли в среду перед посевом в концентрациях 5; 1; 0,5; 0,1; 0,05; 0,01 %. Контролем служили водоросли, выращиваемые на среде Тамия полной и половинной концентрации. Об интенсивности роста хлореллы судили по численности клеток, определяемых методом прямого подсчета в камере Горяева. Содержание хлорофилла "а" определяли спектрофотометрически [2]. Статистическую обработку материала проводили с определением стандартной ошибки. Длительность наблюдений составила 20 суток.

Результаты и обсуждение. Исследовалось влияние добавок различных доз ДМСО на численность клеток хлореллы и содержание в них хлорофилла "а", при выращивании на растворе Тамия полной и половинной концентрации. Увеличение дозы ДМСО до 1 и 5%, независимо от концентрации раствора Тамия, ингибировало рост хлореллы, что особо проявилось в фазе экспоненциального и линейного роста (рис.1, 2). При выращивании на полном растворе Тамия отставание в росте при воздействии ДМСО наблюдалось уже на 4-5 сутки при 5%-ной дозе и на 9-10 - при 1%-ной. При уменьшении концентрации солей питательного раствора в два раза наблюдалось отставание увеличения численности клеток хлореллы при вышеотмеченных концентрациях ДМСО в среднем на 2 дня. Снижение концентрации ДМСО до 0,5% стимулировало развитие культуры хлореллы. Стимулирующий эффект

ДМСО раньше проявляется при выращивании хлореллы на полном растворе Тамия. В фазе линейного роста, наоборот, отмечено более интенсивное развитие хлореллы на половинном питательном растворе. Понижение концентрации ДМСО до 0,05 — 0,01% достоверно не влияло на развитие культуры. К концу эксперимента наибольшая численность отмечена при первоначальных добавках ДМСО в дозе 0,5% на полном растворе Тамия и 0,5 и 0,1% - на половинном.

Высокая концентрация ДМСО отрицательно сказывалась и на содержании хлорофилла "а" (рис. 1). При 5%-ной дозе ДМСО на фоне стационарного состояния культуры отмечается понижение содержания хлорофилла "а". При понижении концентрации ДМСО до 0,5% наблюдается временное увеличение содержания хлорофилла "а" в фазе линейного роста. Во всех остальных вариантах содержание хлорофилла под воздействием ДМСО понижается.

Исследование из-

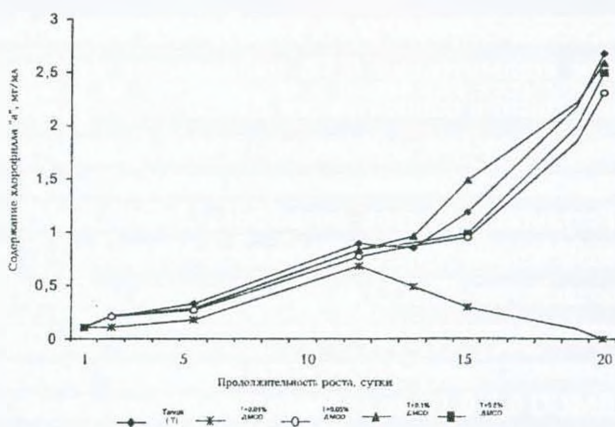


Рис. 1. Влияние ДМСО на содержание хлорофилла а в клетках хлореллы, выращенной на растворе Тамия.

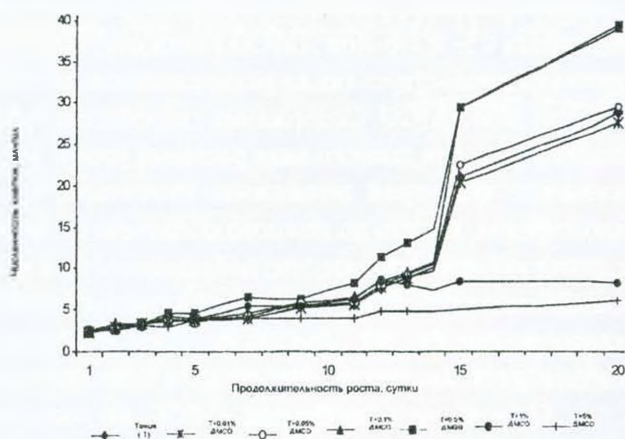


Рис. 2. Влияние ДМСО на динамику численности клеток культуры хлореллы, выращенной на растворе Тамия полной концентрации.

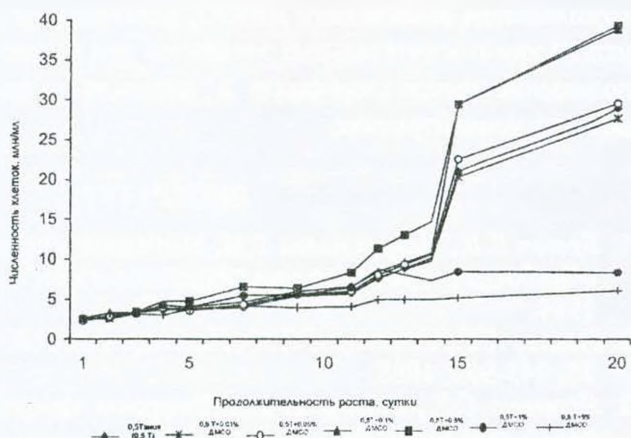


Рис. 3. Влияние ДМСО на динамику численности клеток культуры хлореллы, выращенной на растворе Тамия половинной концентрации.

менения скорости роста культур под воздействием ДМСО выявило, что при концентрации 0,5% наблюдается наибольшая скорость роста. При повышении концентрации ДМСО скорость роста культуры резко убывает, при понижении - убывает медленней. Более высокая скорость роста отмечена при культивировании на полном растворе Тамия по сравнению с половинными. Результаты опытов позволяют предположить о сложности механизма воздействия ДМСО на развитие хлореллы. С одной стороны, возможно воздействие ДМСО на проницаемость мембран и усиление эффективности использования питательных элементов. Об этом косвенно свидетельствует усиление развития культуры и повышение скорости роста при концентрациях ДМСО 0,5-0,1% во всех вариантах и увеличение численности хлореллы при действии ДМСО на варианты с половинной дозой питательного раствора Тамия (рис. 2,3). С другой стороны, ДМСО непосредственно инициирует процессы, останавливающие развитие культуры при высоких концентрациях. Так, в вариантах с 5- и 1%-ной ДМСО почти отсутствует фаза линейного роста. Об этом свидетельствует также резкое понижение содержания хлорофилла при 5%-ной дозе ДМСО. Содержание хлорофилла поддерживается на некотором постоянном для данного вида растения уровне [4]. Однако под воздействием внешних факторов возможны значительные изменения содержания хлорофилла, вплоть до полного обесцвечивания клеток [8]. В большинстве случаев авторы полагают, что наблюдаемое выцветание хлорофилла является следствием нарушения функционирования электронно-транспортной цепи хлоропластов [7, 10]. При 5 %-ной дозе ДМСО, начиная с 12-х суток, наблюдается выцветание культуры на фоне постоянной численности клеток.

Суммарное воздействие ДМСО на рост хлореллы можно отнести к „медленным“ его реакциям, поскольку достоверное различие с контролем проявилось через несколько дней после эксперимента.

Полученные результаты позволяют сделать предположение о комплексном воздействии ДМСО, включающем усиление эффективности использования питательных элементов при низких концентрациях ДМСО и подавление синтеза хлорофилла "а", вплоть до его деградации при сравнительно высоких концентрациях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бульон В.В., Лаврентьева Г.М. Методические рекомендации по сбору и обработке результатов при гидробиологических исследованиях. Л., 32с, 1984.
2. Гуськов А.В., Тихомиров И.А., Поликарпова Ф.Я. Физиология растений, 5, 35, 945-954, 1988.
3. Иоценко С.Е., Войтенко В.С. Вопросы курортологии, физиотерапии и лечеб. физ.культуры, 2, 62-64, 1990.
4. Канделинская О.Л. Автореф. канд. дисс. 23с, М., 1989.

5. Ковтун М.Е., Калитка Б.В. Физиология и биохимия культурных растений, 29, 5, 389-393, 1997.
6. Поповичева Л.А., Градзински Д.М. Физиология и биохимия культурных растений. 17, 6, 601-605, 1985.
7. Чемерис Ю.К., Попова А.В., Шендерова Л.В., Венедиктов П.С. Изменение фотосинтетического аппарата хлореллы в процессе азотного голодания. Рукопись деп. в ВИНТИ. N 6942-83, 1983.
8. Ясюкова Т.Б., Калинкина Л.Г., Куркова Е.Б., Балнокин Ю.В. Физиология растений, 46, 1, 124-131, 1999.
9. Ashwood-Smith M.J. Int. J. Radiat. Biol. 3, 41-48, 1961.
10. Bajaj V., Rathore V., Wittwer S. Amer. J. Bot. 57, 7, 794-799, 1970.
11. Barabas K., Laszko J. Bioenerg. Biomembr. 17, 123-134, 1985.
12. Estes G. Diss. Abstr. Int. B. 30, 5, 1988-1989, 1969.
13. Griebler C. J. Microbiol. Menth. 29, 7, 31-40, 1997.
14. Kolupaev Yu.E. Ann. symp. "Phys-Chem.Basis Plant Physiol". Pushchino, Abstr. 99p, 1996.
15. Rammler D., Zafforony A. Ann. New York Acad. Sci. 141, 11, 1527-1537, 1967.

Поступила 04.IX.2003