

САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

На правах рукописи

ТАРАХОВСКАЯ Елена Роллановна

**Влияние гормональных и метаболических факторов на  
фотосинтетический аппарат *Fucus vesiculosus* L. в сравнении с  
представителями других таксономических групп водорослей**

03.00.12 – физиология и биохимия растений

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Санкт-Петербург - 2006

Работа выполнена в лаборатории фотосинтеза Биологического научно-исследовательского института Федерального государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский государственный университет» Федерального агентства по образованию.

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор  
Шишова Мария Федоровна

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор  
Быков Олег Дмитриевич

доктор биологических наук, профессор  
Никитина Валентина Николаевна

Ведущая организация: Российский государственный  
педагогический университет имени  
А. И. Герцена

Защита состоится «6» марта 2006 г. в 18 часов на заседании диссертационного совета Д 212.232.07 по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора биологических наук при Санкт-Петербургском государственном университете по адресу: 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб. 7/9, Биолого-почвенный факультет СПбГУ, аудитория 133.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке имени А. М. Горького Санкт-Петербургского государственного университета.

Автореферат разослан «26» января 2006 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета



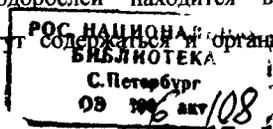
Е. И. Шарова

2006A  
2681

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Изучение процессов формирования и регуляции фотосинтетического аппарата является одним из важнейших направлений физиологии растений. Фотосинтез для растительных организмов является практически единственным источником энергии, и с этим процессом связаны важнейшие метаболические пути в вегетативных частях растения. Формирование ассимиляционного аппарата и эффективность фотосинтеза высших наземных растений зависит от влияния таких факторов окружающей среды, как световой и температурный режим, концентрация  $\text{CO}_2$  и  $\text{O}_2$ . К эндогенным системам регуляции фотосинтеза можно отнести характеристики фотосинтетического аппарата, запрограммированные в ядерном и хлоропластном геномах растительной клетки, систему метаболической регуляции, использующую органические продукты фотосинтеза (сахара, спирты, органические кислоты и т. д.) и гормональную систему растений (Полевой, 1982; Мокронос, Гавриленко, 1992). В настоящее время эти факторы исследованы далеко не в равной степени. Особенно много нерешенных проблем в сфере исследования гормональной и метаболической систем регуляции фотосинтетического аппарата растений.

Представители разных таксономических групп водорослей являются удобными объектами для изучения регуляции ассимиляционных систем вследствие большого разнообразия состава, строения и функционирования их фотосинтетического аппарата и не столь четкого, как у высших растений, разделения факторов, регулирующих фотосинтез, на экзо- и эндогенные. Наземные зеленые растения, за немногими исключениями, являются преимущественно автотрофными организмами – усваиваемые ими органические соединения отсутствуют в воздушной среде, в минимальном количестве присутствуют в почве и, таким образом, для растений практически недоступны. То же можно сказать и о фитогормонах, лишь немногие из которых летучи и могут присутствовать в окружающем растению воздухе. Подавляющее большинство водорослей находится в ином положении. В окружающей их среде могут содержаться и органические



субстраты, которые водоросли включают в метаболизм с помощью соответствующих ферментных систем, и фитогормоны (Раймонт, 1983; Горбенко, 1990; Mazur et al., 2001 и др.).

Бурые, зеленые и эвгленовые водоросли существенно различаются по составу и функционированию ассимиляционных систем, что предоставляет широкие возможности для сравнительного анализа. Зеленые водоросли по характеристикам фотосинтетического аппарата наиболее близки к высшим растениям. Это делает возможным сравнение данных, полученных с использованием водорослей и высших растений.

**Цель и задачи исследования.** Цель настоящего исследования состоит в сравнительном изучении роли фитогормонов и метаболических факторов в формировании ассимиляционного аппарата представителей разных систематических групп водорослей. В связи с этим поставлены следующие задачи:

1. Освоить методику получения и длительного поддержания синхронных культур эмбрионов *Fucus vesiculosus*;
2. Исследовать динамику формирования и развития ассимиляционного аппарата в ходе эмбриогенеза *F. vesiculosus*;
3. Изучить возможную роль фитогормонов, в частности – индолил-3-уксусной кислоты (ИУК), в регуляции морфогенеза зигот и эмбрионов *F. vesiculosus*;
4. Исследовать влияние экзогенных фитогормонов и органических субстратов на содержание фотосинтетических пигментов, Рубиско, интенсивность газообмена и активности Фотосистем (ФС) I и II эмбрионов *F. vesiculosus* в сравнении с клетками *E. gracilis* и *D. primolecta*.

**Научная новизна работы.** Исследовано содержание фотосинтетических пигментов, Рубиско, интенсивность газообмена и активности I и II Фотосистем гамет и зигот *F. vesiculosus*. Подробно изучена динамика формирования и развития ассимиляционного аппарата этой водоросли в течение первых 15 суток эмбриогенеза. Показано выделение в окружающую среду фитогормона индолил-3-уксусной кислоты 2,5-часовыми зиготами

фукуса и исследована роль этого процесса в поляризации зигот. Изучено влияние гормональных и метаболических факторов на фотосинтетический аппарат эмбрионов *F. vesiculosus* в сравнении с клетками *E. gracilis* и *D. primolecia*. Предложена возможная схема взаимодействия гормональной и метаболической систем регуляции формирования и эффективности ассимиляционного аппарата водорослей.

**Практическая ценность работы.** Результаты, полученные в данном исследовании, дополняют существующие знания о регуляции формирования и эффективности фотосинтетического аппарата, представляющего собой основу продуктивности растений. Синхронная культура эмбрионов *F. vesiculosus* является удобной моделью для исследования биообращения судов и подводных конструкций. Ряд данных может быть использован в учебном процессе на кафедре Физиологии и биохимии растений СПбГУ.

**Апробация работы.** Материалы диссертационной работы докладывались на Совместном заседании секции Экологии и физиологии растений и секции Альгологии Русского Ботанического общества (Санкт-Петербург, 21 марта 2002), на международной школе-конференции «Developmental adaptive responses of plants to climate change» (Петрозаводск, 2003), на V съезде Общества физиологов растений России и международной конференции «Физиология растений – основа фитобиотехнологии» (Пенза, 2003), на международной конференции «Проблемы физиологии растений Севера» (Петрозаводск, 2004).

**Положения, выносимые на защиту.**

- Динамика интенсивности фотосинтетических процессов в раннем эмбриогенезе *F. vesiculosus* отражает основные события морфогенеза водоросли.
- Зиготы *F. vesiculosus* выделяют в окружающую среду индолил-3-уксусную кислоту, и этот процесс имеет решающее значение для поляризации и прорастания зигот.
- Фитогормоны действуют на фотосинтетический аппарат бурых, зеленых и эвгленовых водорослей сходным образом, тогда как влияние трофических

факторов специфично и определяется биохимическими особенностями метаболизма водорослей.

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 11 печатных работ, в том числе 4 статьи и 7 тезисов докладов на международных и всероссийских конференциях.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, изложения результатов, обсуждения, выводов, списка цитируемой литературы и приложений. Работа изложена на 163 страницах и содержит 6 таблиц и 43 рисунка. Список литературы включает 246 источников, в том числе 38 на русском и 208 на иностранных языках.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектами исследования служили гаметы, зиготы и эмбрионы *Fucus vesiculosus* L. (Phaeophyta) и культуры микроводорослей *Euglena gracilis* Klebs. штамм Z и *Dunaliella primolecta* Butch. *F. vesiculosus* собирали в районе Морской биологической станции СПбГУ (Белое море). Культуры *E. gracilis* и *D. primolecta* были получены из коллекции лаборатории микробиологии Биологического НИИ СПбГУ (CALU-520 и CALU-1009).

Сбор материала и получение гамет *F. vesiculosus* осуществляли по стандартной методике (Jaffe, Neuscheler, 1969; Quatrano, 1974) с некоторыми модификациями. Суспензии яйцеклеток и антерозоидов сливали вместе, через 30 минут антерозоиды удаляли декантацией. Точку в середине этого интервала времени считали за момент оплодотворения. В дальнейшем развивающиеся зиготы и эмбрионы содержали в фильтрованной морской воде в 3,5-см чашках Петри на свету при температуре 12-16 °С в течение 30 суток.

Микроводоросли выращивали в автотрофной культуре при температуре 23-25°C и освещении 25 Вт·м<sup>2</sup> (Владимирова, Семененко, 1962). Для эвлены использовали минеральную среду следующего состава: (NH<sub>4</sub>)HPO<sub>4</sub> – 0,3%, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 0,1%, MgSO<sub>4</sub>×7H<sub>2</sub>O – 0,02%, CaCl<sub>2</sub> – 0,002%, с добавлением микроэлементов (1 мл/л) и витаминов В<sub>1</sub> (0,06%) и В<sub>12</sub> (0,5%),

pH 4,6-4,8. Среда для *D. primolecta*: NaCl – 2,9%, MgSO<sub>4</sub> – 1,25%, KNO<sub>3</sub> – 0,0625%, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 0,003%, микроэлементы (1 мл/л).

В зависимости от целей эксперимента водоросли обрабатывали следующими веществами: фитогормоны (индолил-3-уксусная кислота, ИУК; α-нафтилуксусная кислота, α-НУК; β-нафтилуксусная кислота, β-НУК; индолилмасляная кислота (ИМК); 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота, 2,4-Д; кинетин; гибберелловая кислота, ГК; абсцизовая кислота, АБК) в концентрации 10<sup>-6</sup>-10<sup>-4</sup> М, трийодбензойная кислота (ТИБК, 5·10<sup>-5</sup> М), этанол (150 мМ), глюкоза (25 мМ), маннит (25 мМ), глицерин (50 мМ). Период экспозиции в разных экспериментах составлял от 3 ч до 3 суток.

Для количественной характеристики динамики прорастания зигот *F. vesiculosus* применена следующая математическая модель:  $p = 1 - e^{-k(t-t_0)}$ , где  $p$  — доля проросших зигот,  $t$  — время после оплодотворения,  $t_0$  — момент начала прорастания, коэффициент  $k$  — скорость прорастания в момент  $t_0$ . Для морфометрических определений использовали бинокулярную лупу МБС-9.

В качестве характеристик роста эмбрионов *F. vesiculosus* рассматривали динамику изменения объема и площади поверхности яйцеклеток и отдельно талломической и ризоидальной части эмбрионов. Расчет производили исходя из данных измерений диаметра яйцеклеток и трех размерных характеристик эмбрионов.

Содержание фотосинтетических пигментов рассчитывали после спектрофотометрирования (СФ-26) 90%-ных ацетоновых экстрактов по описанным в литературе формулам (Jeffrey, Humphrey, 1975; Kato et al., 1989). Содержание Рубиско определяли путем нативного электрофореза растворимых белков с последующей окраской гелей, сканированием и расчетом количества связанного с белком красителя (Бусова, Иванова, 1978; Gilbert, Buetow, 1981; Романова, 1991). Количество красителя в полосках рассчитывали с помощью комплексов компьютерных программ Adobe Photoshop, Matlab и Microcal Origin. Общее содержание белка в пробах

определяли по методу Лоури-Фолина (Lowry et al, 1951; Бусова, Иванова, 1978).

Интенсивность фотосинтеза, дыхания и работы ФС I и II определяли с помощью кислородного электрода Кларка по скорости выделения или поглощения кислорода в среде (Андреев, 1986). Все измерения проводили в камере объемом от 7 до 13 мл при температуре 16°C (*F. vesiculosus*) или 23°C (*E. gracilis*, *D. primolecta*). Активность фотосинтеза, дыхания и ФС II измеряли в суспензии интактных клеток или эмбрионов. При определении потенциальной активности ФС II в суспензию водорослей добавляли 1 мМ 1,4-*n*-бензохинона в качестве акцептора электронов (Allakhverdiev et al, 2000). Активность ФС I определяли на препарате тилакоидных мембран по светозависимому восстановлению O<sub>2</sub> в реакции с аскорбиновой кислотой (5 мМ) и дихлорфенолиндофенолом (0,1 мМ) в качестве донора и метилвиологеном (0,1 мМ) в качестве акцептора электронов (Андреев, 1986; Allakhverdiev et al., 2000).

Содержание фитогормонов в яйцеклетках, зиготах и эмбрионах *F. vesiculosus* и содержание ИУК в воде, окружающей водоросли, определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (Кудоярова и др., 1986; Полевой, Полевой, 1992).

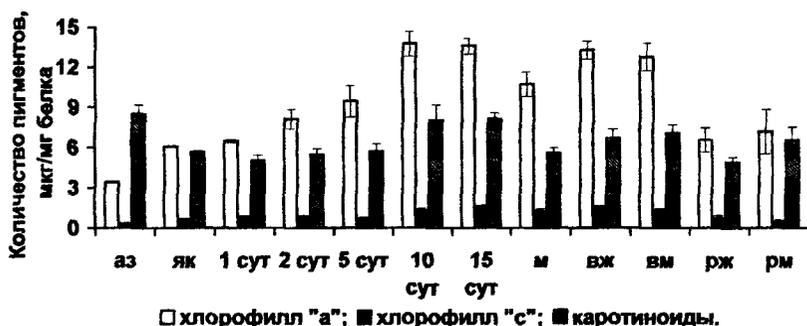
Данные обработаны статистически. На рисунках и в таблицах приводятся средние значения величин и доверительные интервалы для 95% вероятности.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

**Динамика прорастания зигот и роста эмбрионов *F. vesiculosus*.** По используемой нами математической модели динамика прорастания зигот в нормальных условиях описывается следующими параметрами.  $t_0=12$  ч и  $k=0,129\pm 0,015$ . Это согласуется с литературными данными о том, что к моменту 12 ч ПО зигота прикрепляется к субстрату, на ризоидальном полюсе концентрируются Ca<sup>2+</sup>-каналы и кортикальный F-актина, ориентирующий везикулярный транспорт, синтезируются белки, необходимые для индукции деления зиготы и ризоидообразования и т. д. (Quatrano, 1968; Shaw, Quatrano,

1996a; Kropf, 1997; Hable, Kropf, 1998; Corellou et al., 2000). Вследствие этих процессов местоположение ризоидального полюса зиготы фиксируется необратимо, и она становится компетентной для прорастания. По нашим данным около 40% популяции зигот прорастает через 16 ч ПО, через 48 ч ПО доля зигот, образовавших ризоид, практически достигает максимума. Рост эмбрионов в течение первого месяца после развития описывается экспоненциальной кривой ( $r^2=0,99$ ) Основной вклад в увеличение объема эмбрионов вносит рост талломической части. В течение всего исследованного периода талломическая часть эмбрионов растет, в основном, в длину, все больше отклоняясь от шарообразной формы. Площадь поверхности фотосинтезирующей части эмбрионов начиная с 2 суток ПО увеличивается практически линейно.

Рис. 1. Содержание фотосинтетических пигментов в тканях *F. vesiculosus* на разных стадиях развития водоросли

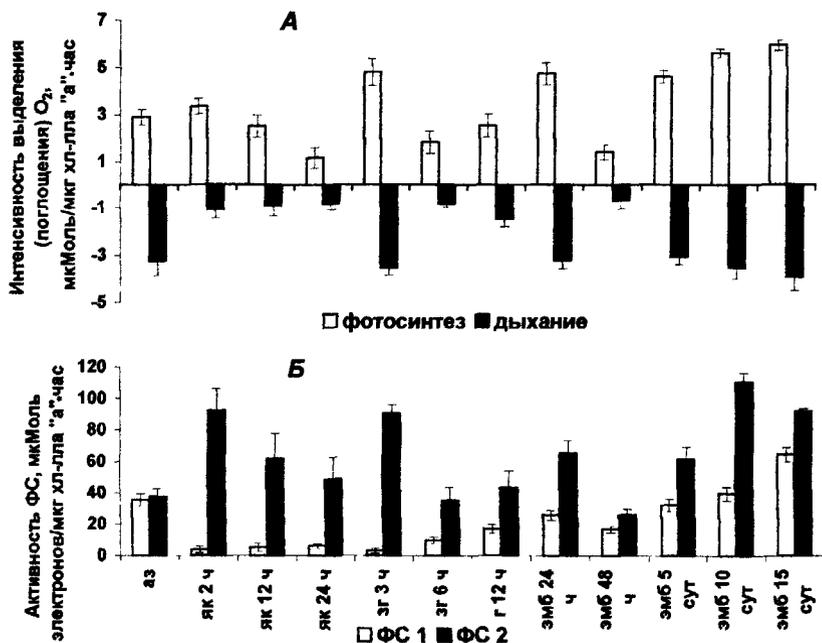


аз – антерозоиды, як – яйцеклетки, 1-15 сут – эмбрионы, время с момента оплодотворения, м – молодые растения, не достигшие репродуктивного возраста, вж – вегетативные ткани женских растений, вж – вегетативные ткани мужских растений, рж – зрелые женские рецептакулы, рж - зрелые мужские рецептакулы

**Динамика фотосинтетических характеристик в эмбриогенезе *F. vesiculosus*** Как женские, так и мужские гаметы *F. vesiculosus* фотосинтезируют. Содержание пигментов (Рис. 1), Рубиско и интенсивность фотосинтеза (Рис. 2) яйцеклеток сравнима с характеристиками молодых эмбрионов. Фотосинтетический аппарат антерозоидов развит слабее. Активность газообмена яйцеклеток максимальна в течение первых 2 ч после

выхода из оогониев (Рис. 2А). В неоплодотворенных яйцеклетках интенсивность фотосинтетических процессов постепенно снижается. После оплодотворения содержание пигментов (Рис. 1) и Рубиско в водорослях начинает расти, выходя к 10-15 суткам ПО на плато. По содержанию пигментов 10-15-суточные эмбрионы сравнимы с молодыми 1-2-годовалыми растениями и вегетативными тканями взрослых водорослей (Рис. 1).

Рис. 2. Динамика интенсивности фотосинтеза и дыхания (А) и активности Фотосистем (Б) у гамет, зигот и эмбрионов *F. vesiculosus*



С возрастом у эмбрионов постепенно уменьшается доля каротиноидов в сумме пигментов (Рис. 1). Вероятно, это связано с проявлением эффекта внутреннего самозатенения (Raven, Kübler, 2002), вызванного тем, что через 15 суток ПО объем фотосинтезирующей части эмбриона увеличивается почти на порядок. Представляется интересным, что относительное содержание хлорофиллов и каротиноидов в генеративных тканях взрослых растений почти такое же, как в уже освободившихся гаметах (Рис. 1).

Оогонии с будущими яйцеклетками формируются в материнских тканях уже заранее с тем набором пигментов, который обеспечит гаметам оптимальные возможности для поглощения световой энергии в период самостоятельного существования. Интенсивность фотосинтеза и активности ФС изменяются в колебательном режиме с максимумами через 3 и 24 ч ПО (Рис. 2). Примерно в это же время происходят первые решающие события в эмбриогенезе фукуса: восприятие поляризующего фактора и первое деление зиготы (Quatranò, 1974; Nable, Kropf, 1998). Вероятно, периодическое повышение активности ассимиляционных систем служит для дополнительного обеспечения клеток энергией и субстратами для биосинтезов во время важнейших событий эмбриогенеза. Начиная с 5 суток ПО, интенсивность работы ассимиляционного аппарата возрастает, постепенно выходя на плато (Рис. 2). В этот период начинается формирование апикальной меристемы водоросли (Galun, Toppey, 1969).

**Влияние фитогормонов на динамику прорастания зигот *F. vesiculosus*.** Один из важнейших факторов, определяющих поляризацию и направление роста ризоида *F. vesiculosus* - ИУК (Jaffe, 1968). В нашей работе показано (Табл. 1), что повышенное содержание ИУК в воде, окружающей развивающиеся зиготы, способствует более быстрому формированию ризоидального выступа (т.е. оси полярности) и снимает ингибирующий эффект ТИБК (Табл. 1). Таким образом, для индукции поляризации зигот фукуса важна наружная концентрация ауксина. Поскольку концентрация ИУК в воде, окружающей зиготы, существенно увеличивается в первые 2,5 ч ПО (Рис. 3), можно сделать вывод о том, что после оплодотворения зиготы как минимум в течение 2,5 ч выделяют этот гормон в окружающую среду, обеспечивая себе оптимальные условия для поляризации. Вероятно, транспорт ИУК из клетки осуществляется с помощью белкового переносчика, чувствительного к ингибиторам полярного транспорта ауксина в тканях высших растений, поскольку, по нашим данным, ТИБК полностью подавляет выделение ИУК зиготами фукуса. Специфичность действия ИУК на ризоидообразование проверена использованием активных и неактивных

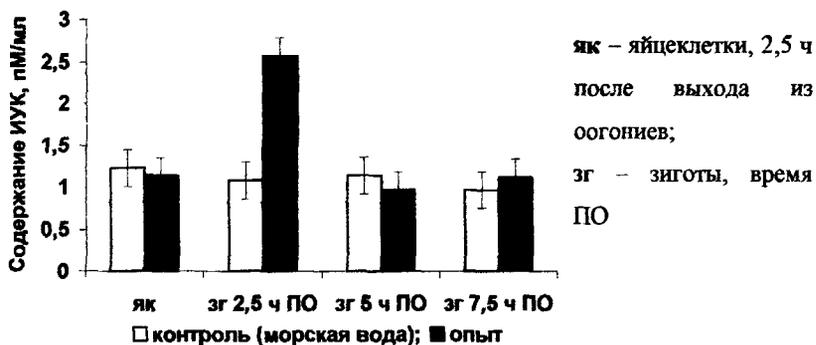
аналогов гормона. Ускорение формирования ризоидального выступа у зигот фукуса вызывают только физиологически активные ауксины, такие как  $\alpha$ -НУК и ИМК (Табл. 1).

Таблица 1. Влияние экзогенных фитогормонов на ризоидообразование у зигот *F. vesiculosus*

№	Вариант	$k$	$t_0$
1	Контроль	$0,129 \pm 0,015$	12
2	ИУК, $10^{-3}M$	$0,215 \pm 0,018$	12
3	$\alpha$ -НУК, $10^{-5}M$	$0,242 \pm 0,071$	12
4	$\beta$ -НУК, $10^{-5}M$	$0,146 \pm 0,042$	12
5	ИМК, $10^{-5}M$	$0,211 \pm 0,017$	12
6	Кинетин, $10^{-5}M$	$0,021 \pm 0,003$	12
7	ИУК, $10^{-5}M$ +Кинетин, $10^{-5}M$	$0,162 \pm 0,031$	13
10	ТИБК, $5 \cdot 10^{-5}M$	$0,045 \pm 0,007$	13
11	ТИБК+ИУК, $10^{-5}M$	$0,072 \pm 0,006$	12

$t_0$  – момент начала прорастания, ч ПО,  $k$  – коэффициент, характеризующий скорость прорастания в момент  $t_0$

Рис. 3. Содержание ИУК в воде, окружающей яйцеклетки и зиготы *F. vesiculosus*



Экзогенная обработка кинетином замедляет прорастание зигот (Табл. 1). В культурах тканей высших растений и некоторых красных водорослей цитокинины подавляют дифференцировку клеток, стимулируют деление и образование каллуса (Бутенко, 1964; Полевой, 1982; Муромцев и др., 1990,

García-Jiménez et al, 1998, Yokooya et al, 1999). Полученные в нашей работе результаты позволяют предположить, что аналогичные функции эти гормоны выполняют и в культуре зигот и эмбрионов *F. vesiculosus*. При внесении в среду культивирования зигот и эмбрионов *F. vesiculosus* одновременно ИУК и кинетин оба гормона, по-видимому, регулируют динамику прорастания зигот независимо, вызывая как увеличение скорости прорастания зигот (эффект ИУК), так и задержку начала дифференцировки (эффект цитокинина) (Табл. 1) Содержание этих гормонов в тканях *F. vesiculosus* (Табл. 2) сравнимо с концентрациями ИУК и цитокининов в высших растениях (от 2,5-5 нг/г сыр. веса) и соответствует литературным данным по содержанию гормонов в представителях разных отделов водорослей (Zhang et al, 1993; Jacobs, 1993; Zhao et al., 2001; Basu et al., 2002).

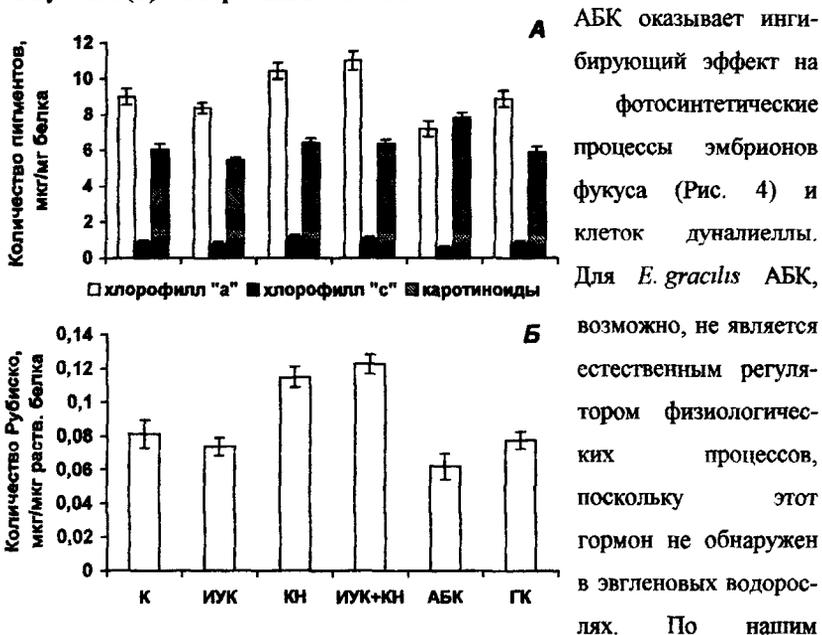
Таблица. 2. Содержание свободных ИУК и зеатина/зеатин-рибозид (З/ЗР) в яйцеклетках, зиготах и эмбрионах *F. vesiculosus*

	Содержание ИУК, нг / г сыр. веса	Содержание З/ЗР, нг / г сыр. веса
Яйцеклетки	1,717±0,245	1,119±0,199
Зиготы, 2,5 ч ПО	1,682±0,300	1,714±0,216
Эмбрионы, 24 ч ПО	2,451±0,317	2,542±0,308

**Влияние гормональных и трофических факторов на состав и функционирование фотосинтетического аппарата *F. vesiculosus*, *E. gracilis* и *D. primolecia*.** Из исследованных нами фитогормонов наиболее значительное действие на пигментный состав клеток водорослей, содержание Рубиско и интенсивность фотосинтетических процессов оказывают кинетин и АБК. В присутствии кинетина в эмбрионах фукуса повышается содержание хлорофиллов (Рис. 4, А), Рубиско (Рис. 4, Б), интенсивность выделения кислорода и активность ФС I, возрастает степень сопряжения ФС. Аналогичное действие этот гормон оказывает на клетки *E. gracilis* и *D. primolecia*. Цитокинины оказывают стимулирующее действие на фотосинтетический аппарат (Parthier, 1979; Flores, Tobin, 1988; Binns, 1994; Pyke, 1999; Nakano et al., 2001) и способствуют интенсификации делений

клеток высших растений (Полевой, 1982; Binns, 1994). В наших экспериментах кинетин также стимулировал деления в культурах эвглены и дуналиеллы. В эмбрионах *F. vesiculosus* обнаружены эндогенные зеатин и зеатин-рибозид (Табл. 2), многочисленны цитокинины найдены и в других группах водорослей (Benkova et al, 1999; Stirk et al., 2003; Ördög et al., 2004) Все эти данные позволяют сделать вывод о том, что функция цитокининов, как активаторов фотосинтетических процессов столь же характерна для представителей бурых, зеленых и эвгленовых водорослей, как и для высших растений.

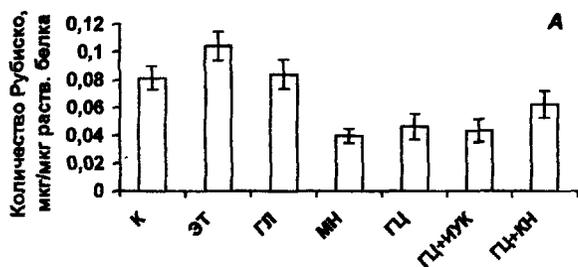
**Рис. 4. Влияние экзогенных фитогормонов ( $10^{-5}M$ ) на содержание фотосинтетических пигментов (А) и Рубиско (Б) в эмбрионах *F. vesiculosus***



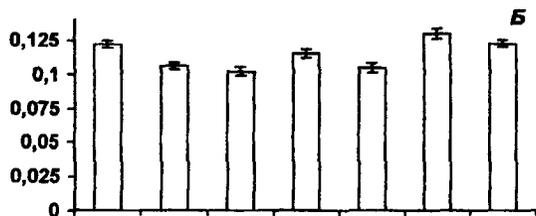
данным экзогенная АБК оказывает на *E. gracilis* слабое и неоднозначное действие. Результаты, полученные нами на эмбрионах *F. vesiculosus* и клетках *D. primolecta*, соответствуют литературным данным, описывающим действие АБК на ткани высших растений (Prasad et al, 1988; Popova, 1989; Kusnetsov et al., 1998).

Исследования роли метаболических факторов показали, что у *E. gracilis* значительное ингибирование фотосинтетических процессов вызывают глюкоза и этанол, у *D. primolecta* – все субстраты, кроме маннита, у *F. vesiculosus* – только маннит и глицерин (Рис. 5). При этом усиливается темновое дыхание клеток водорослей, и ускоряется рост культур эвглены и дуналиеллы. Следовательно, физиологическое действие оказывают только субстраты, метаболизируемые данным видом водорослей.

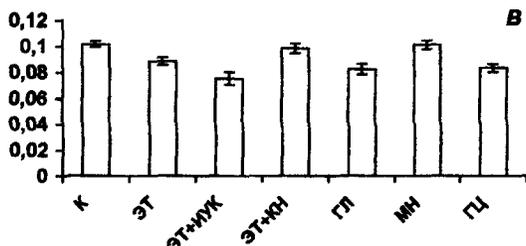
**Рис. 5.** Влияние экзогенных органических субстратов на содержание Рубиско в эмбрионах *F. vesiculosus* (А), клетках *E. gracilis* (Б) и *D. primolecta* (В)



**А** Сходный эффект показан на высших растениях и некоторых микроводорослях и носит название анаболической ре-



**Б** прессии (Monroy, Schwartzbach, 1984; Jang et al, 1997).



**В** Известно, что все использованные в нашей работе органические субстраты способны вызывать анаболическую ре- прессию, за исключением маннита. Это может объясняться тем, что анаболичес-

К – контроль; ЭТ – этанол (150 мМ); ГЛ – глюкоза (25 мМ), МН – маннит (25 мМ), ГЦ – глицерин (50 мМ), Концентрация фитогормонов –  $10^{-3}$  М

кая репрессия, в основном, изучалась на объектах, в метаболизме которых

маннит не принимает активного участия. В нашей работе было показано наличие анаболической репрессии на примере *F. vesiculosus* - растения, у которого маннит является доминирующим растворимым углеводом, основным стабильным продуктом фотосинтеза и субстратом дыхания (Bidwell, 1967, McLachlan, 1978)

Нами показано, что фотосинтетические процессы в клетках водорослей регулируются фитогормонами и органическими субстратами. Однако пути передачи биорегуляторных сигналов различного происхождения невозможно рассматривать как параллельные, не связанные между собой процессы: для обеспечения баланса различных воздействий, необходимо наличие связей и точек пересечения путей трансдукции сигналов (Moller, Chua Nam-Hai, 1999). В нашей работе исследовано совместное действие органических субстратов и фитогормонов ИУК и кинетина. Добавка ИУК либо никак не модифицирует действие метаболических агентов (Рис. 5, А-Б), либо наблюдается синергический эффект (Рис. 5, В). Кинетин действует как антагонист трофических факторов: репрессия фотосинтетических процессов в присутствии этого гормона существенно снижается (Рис. 5, А-Б) или полностью отсутствует (Рис. 5, В). Примеры совместного синергического и антагонистического действия гормональной и метаболической систем регуляции в растительных организмах пока очень немногочисленны и касаются только высших растений. Полученные нами данные позволяют предположить, что при контроле состава и функционирования фотосинтетического аппарата клеток водорослей также возможны пересечения и взаимодействия различных систем регуляции и путей передачи сигнала. Этот вопрос представляется очень интересным и, безусловно, заслуживает дальнейших исследований.

## ВЫВОДЫ

1. В течение первых 15 суток развития в эмбрионах *F. vesiculosus* происходит увеличение содержания фотосинтетических пигментов и рибулозобисфосфаткарбоксилазы/оксигеназы. Увеличение интенсивности фотосинтеза и дыхания происходит в колебательном

- режиме, усиливаясь в моменты протекания важнейших морфогенетических процессов эмбриогенеза.
2. Активные природные и синтетические ауксины – индолил-3-уксусная кислота, индолилмасляная кислота и  $\alpha$ -нафтилуксусная кислота ( $10^{-5}$  М) – ускоряют, а кинетин ( $10^{-6}$ - $10^{-4}$  М) замедляет образование ризоидального выступа у зигот *F. vesiculosus*.
  3. Зиготы *F. vesiculosus* в течение первых 2,5 ч после оплодотворения выделяют ИУК в окружающую среду. Предполагается, что содержание ИУК в окружающей среде имеет решающее значение для поляризации зигот *F. vesiculosus*.
  4. Кинетин ( $10^{-5}$  М) и комбинация кинетин + ИУК ( $10^{-5}$  М) стимулируют, а АБК ( $10^{-5}$  М) и, в меньшей степени, ИУК ингибируют формирование и активность фотосинтетического аппарата эмбрионов *F. vesiculosus* и клеток *E. gracilis* и *D. primolecta*.
  5. Метаболизируемые органические субстраты (0,5%) подавляют формирование и активность фотосинтетического аппарата эмбрионов *F. vesiculosus* и клеток *E. gracilis* и *D. primolecta*. Кинетин ( $10^{-5}$  М) снимает ингибирующий эффект органических субстратов.
  6. Фитогормоны (ИУК, кинетин, АБК) действуют на фотосинтетический аппарат представителей бурых, зеленых и эвгленовых водорослей сходным образом, тогда как влияние трофических факторов специфично и определяется биохимическими особенностями метаболизма водорослей.
  7. На основании экспериментальных данных предложена рабочая гипотеза, согласно которой в клетках исследованных водорослей существует взаимосвязь гормональной и метаболической систем регуляции деятельности фотосинтетического аппарата.

#### БЛАГОДАРНОСТЬ

Автор глубоко признателен в. н. с. лаб Фотосинтеза БИНИИ СПбГУ к. б. н. Ю. И. Маслову за неоценимую помощь в проведении данной работы

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Тараховская Е.Р., [Полевой В.В.], Маслов Ю.И. Культура зигот и эмбрионов *Fucus vesiculosus* L. как модельная системы для изучения индукции полярности, выделения адгезивных биоматериалов и биообрастания // Тезисы докладов III научной сессии Морской биологической станции СПбГУ. - СПб. 2002. С. 82-83.
2. Тараховская Е.Р., Маслов Ю.И., [Полевой В.В.] Влияние некоторых физиологически активных веществ на прорастание зигот *F. vesiculosus* L. // Вестн. С.-Петербург. ун-та. Сер. 3. 2002. Вып. 4 (№ 27). С. 125-129.
3. Тараховская Е.Р., Маслов Ю.И., [Полевой В.В.] К вопросу о регуляции прорастания зигот *Fucus vesiculosus* L. // Тезисы докладов IV научной сессии Морской биологической станции СПбГУ. - СПб. 2003. С. 78-79.
4. [Полевой В.В.], Тараховская Е.Р., Маслов Ю.И., Полевой А.В. Роль ауксина в индукции полярности у зигот *F. vesiculosus* L. // Онтогенез. 2003. Т. 34, № 6. С. 432-437
5. Тараховская Е.Р., Маслов Ю.И. Гормональная регуляция ассимиляционного аппарата микроводорослей // V съезд Общества физиологов растений России и Международная конференция «Физиология растений – основа фитобиотехнологии». – Пенза. 2003. С. 79-80.
6. [Полевой В.В.], Тараховская Е.Р., Полевой А.В., Маслов Ю.И. Выделение индолил-3-уксусной кислоты зиготами *Fucus vesiculosus* L. // V съезд Общества физиологов растений России и Международная конференция «Физиология растений – основа фитобиотехнологии». – Пенза 2003. С. 422-423.
7. Тараховская Е.Р., Маслов Ю.И., [Полевой В.В.] К вопросу о регуляции прорастания зигот *Fucus vesiculosus* L. // Вестн. С.-Петербург. ун-та. Сер. 3. 2003. Вып. 4 (№ 27). С. 73-77.
8. Тараховская Е.Р., Маслов Ю.И. Гормональная регуляция развития ассимиляционного аппарата водорослей // Проблемы физиологии растений Севера. Тезисы докладов Международной конференции (15-18 июня 2004 г., Петрозаводск). – Петрозаводск, 2004. С. 177.
9. Тараховская Е.Р., Маслов Ю.И. Влияние ряда физиологически активных веществ на развитие ассимиляционного аппарата у эмбрионов *Fucus vesiculosus* L. // Вестн. С.-Петербург. ун-та. Сер. 3. 2004. Вып. 4. С. 81-87.
10. Тараховская Е.Р., Маслов Ю.И., Раилкин А.И. Рост эмбрионов *Fucus vesiculosus* L. в разных гидродинамических условиях // Тезисы докладов VI научной сессии Морской биологической станции СПбГУ - СПб. 2005. С. 72-73.
11. Тараховская Е.Р., Маслов Ю.И. Динамика ряда характеристик фотосинтетического аппарата в ходе эмбриогенеза *F. vesiculosus* L. // Физиологические и молекулярно-генетические аспекты сохранения биоразнообразия: Тез. докл. Междунар. конф. (19-23 сентября 2005 г., Вологда). – Вологда, 2005. С. 167.

Лицензия ПЛД № 69-217 от 22 10 1997г

---

Подписано в печать 12.01.2006 г.  
Тираж 100экз. Заказ № 2-01

---

Отпечатано с готового оригинал-макета  
в типографии ООО «Политон»  
198096, Санкт-Петербург, пр. Стачек, 82  
784-13-35

2006A  
2681

№ - 2681