

УДК 582.232—119

ХАРАКТЕРИСТИКА ПОЛИСАХАРИДНОГО КОМПЛЕКСА ФИТОПЛАНКТОНА В ПЕРИОД «ЦВЕТЕНИЯ» В ВОДОЕМЕ

Е. И. ШНЮКОВА, С. У. ПИРОЖЕНКО

(Институт ботаники АН УССР, Киев)

Фитопланктон в период «цветения» воды представлен следующими фракциями углеводов: спирто- и водорастворимые, запасные и две группы структурных. Основную массу углеводов естественных популяций *Microcystis aeruginosa* составляют структурные полисахариды типа гемицеллюлоз и пектиновых веществ. Фитопланктон Кременчугского водохранилища в период «цветения» характеризуется большим набором моносахаров в гидролизате полисахаридов: выявлено 11 компонентов, в том числе редко встречающиеся в природе. Установлена некоторая разнокачественность по полисахаридам отдельных форм существования колоний *M. aeruginosa*.

Синезеленые водоросли обладают способностью развиваться в большом количестве, вызывая «цветение» воды в водоемах. Это приносит большие убытки, в связи с чем возникает необходимость разработки мер борьбы с ними. С другой стороны, биомасса синезеленых водорослей может быть использована в качестве возможного продуцента ценных веществ. В том и другом случаях требуется знание их химического состава. К сожалению, сведения по этому вопросу весьма ограничены, что в полной мере относится и к углеводам данных организмов. Настоящее исследование посвящено выяснению качественного состава и количественных изменений углеводных фракций в период «цветения» водоемов.

Методика. Использован фитопланктон Кременчугского водохранилища и прудов рыбного хозяйства в Пуше-Водице (г. Киев), где в летний период наблюдалось «цветение» воды, обусловленное бурным развитием синезеленых водорослей.

Качественную оценку углеводов проводили с помощью описанных ранее [12] гистохимических методов. Содержание углеводов по фракциям определяли антроновым методом [1]. Моносахаридный состав полисахаридов исследовали методом хроматографии на бумаге. Материал для хроматографирования готовили по методу Г. Н. Зайцевой и Т. П. Афанасьевой [4]. Разгонку хроматограмм проводили четырехкратно по 24—48 час в системе растворителей — бутанол: ледяная уксусная кислота: вода — в соотношении 4:1:1. Проявителем служил анилиндифениламинфосфат [3]. Для идентификации углеводов в качестве свидетелей применены чистые сахара.

Первые опыты проведены на материале водоемов рыбного хозяйства в Пуше-Водице в августе—сентябре 1968 г. Наблюдалась монокультура *Microcystis aeruginosa*. Выясняли наличие и количественное содержание отдельных углеводных фракций.

Результаты исследования

Из приведенных данных (табл. 1) видно, что в состав материала естественных популяций *M. aeruginosa* входят спирторастворимые углеводы, в том числе монозы (открытый участок водоема), углеводы типа сахарозы и типа мальтозы. Здесь присутствуют также водорастворимые, запасные и две группы структурных полисахаридов — типа клет-

чатки и типа гемицеллюлоз и пектиновых веществ. Аналогичный качественный состав фракций обнаружен в культуре этого вида [11]. Интересно, что водорастворимые полисахариды, в состав которых входили коллоидальные углеводы (декстрины, слизь, часть пектиновых веществ и др.), имели больший удельный вес в общем объеме полисахаридов по сравнению с культурой. Это можно объяснить тем, что в условиях водоема *M. aeruginosa* образует колонии, окруженные слизистыми чехлами. Структура и химический состав колониальной слизи *Microcystis* еще не изучен, однако для некоторых других синезеленых водорослей (*Anabaena*, *Nostoc*) известно, что их слизистые чехлы состоят из пектинового слоя и целлюлозных микрофибрилл. Видимо, благодаря наличию пектиновых и слизеподобных веществ в слизи *Microcystis* происходит увеличение содержания водорастворимых углеводов. Имеющаяся здесь целлюлоза несколько увеличивает содержание фракции трудногидролизуемых структурных полисахаридов типа клетчатки. Однако в данном случае, как и в культуре, основными структурными полисахаридами явились углеводы типа гемицеллюлоз и пектиновых веществ (см. рисунок). Последние составляли основную массу полисахаридного комплекса естественных популяций *M. aeruginosa*.

Таблица 1
Содержание углеводов в клетках естественных популяций
Microcystis aeruginosa (пруд в Пуше-Водице, 2.IX 1968 г.)

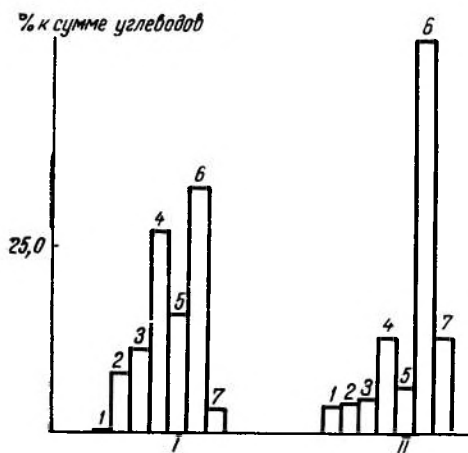
Фракции углеводов	I		II	
	% к сухому веществу	% к сумме углеводов	% к сухому веществу	% к сумме углеводов
Спирторастворимые:				
монозы	0	0	0,23	3,99
типа сахарозы	0,61	8,37	0,27	4,17
типа мальтозы	0,85	11,62	0,30	4,76
Водорастворимые	2,01	27,53	0,96	13,87
Гидролизуемые α-амилазой	1,17	16,07	0,41	6,48
Типа гемицеллюлоз и пектиновых веществ	2,42	33,26	3,41	53,39
Типа клетчатки	0,23	3,15	0,85	13,34
Сумма углеводов	7,29	100,00	6,43	100,00

Примечание. I — материал собран в месте сгона водорослей, II — в открытой части водоема.

Следует отметить, что в месте сгона водорослей *M. aeruginosa* не содержал свободных несвязанных моносахаров в противоположность водорослям открытой части водоема. В накоплении запасных углеводов здесь наблюдалась противоположная зависимость: согнанные к берегу водоросли отличались более высоким содержанием углеводов, гидролизуемых α-амилазой. Этим водорослям было свойственно также более высокое содержание коллоидальных углеводов. Однако обе фракции структурных полисахаридов преобладали у свободноплавающих колоний *M. aeruginosa*.

Помимо исследования монокультуры водорослей, определялся также состав углеводных фракций совокупного материала «цветущего» водоема. С этой целью было проведено фракционирование углеводов биомассы водорослей Кременчугского водохранилища (порт Адамов-

ка). Так, например, 10 сентября 1969 г. доминирующим видом здесь был *M. aeruginosa*. Встречались также единичные особи *Anabaena* sp. и *Arhanizomenon flos-aquae*. Как видно из табл. 2, биомасса водорослей не содержала несвязанных моноз; в ней были обнаружены из спирторастворимых углеводов сахара типа сахарозы и мальтозы. Запасные полимеры присутствовали в небольшом количестве. Характеристика структурных полимеров показала, что основной формой были углеводы типа гемицеллюлоз и пектиновых веществ. Они составляли 14% сухого вещества водорослей. Углеводы типа клетчатки представлены в небольшом количестве — до 1% сухого вещества. При исследовании куль-



углеводы типа гемицеллюлоз и пектиновых веществ. Они составляли 14% сухого вещества водорослей. Углеводы типа клетчатки представлены в небольшом количестве — до 1% сухого вещества. При исследовании куль-

Содержание углеводов в клетках естественных популяций *Microcystis aeruginosa*:

1 — монозы, 2 — типа сахарозы, 3 — типа мальтозы, 4 — водорастворимые, 5 — гидролизуемые α -амилазой, 6 — типа гемицеллюлоз и пектиновых веществ, 7 — типа клетчатки (I — материал собран в месте стгона водорослей, II — в открытой части водоема).

туры *M. aeruginosa* [11] и монокультуры этого вида из водоема рыбхоза, как показано выше, было обнаружено, что его основными структурными полимерами являются углеводы типа гемицеллюлоз и пектиновых веществ. Содержатся клетчатки незначительно. В проанализированной пробе из Кременчугского водохранилища доминирующим был также *M. aeruginosa*. Видимо, благодаря такому соотношению двух полисахаридных фракций структурного назначения именно у данного вида и происходит количественное распределение этих углеводов в биомассе данной пробы водорослей в пользу гемицеллюлоз и пектиновых веществ. Интересно, что данная проба водорослей характеризовалась высоким общим содержанием углеводов — 32,17% к сухому веществу.

В гидролизате полисахаридов биомассы водорослей Кременчугского водохранилища обнаружен большой набор моносахаридов. Они представлены 11 компонентами. Здесь выявлены гексозы (галактоза, глюкоза, фруктоза), пентозы (арабиноза, ксилоза), дезокси-пентозы (фукоза, рамноза), галактуроновая кислота, три быстрондущих сахара со следующими значениями отношения их R_f к R_f рамнозы: 1,2, 1,4 и

Таблица 2

Содержание углеводов в фитопланктоне Кременчугского водохранилища (10.IX 1969 г., порт Адамовка)

	Углеводы							сумма
	спирторастворимые			водорастворимые	гидролизуемые α -амилазой	типа гемицеллюлоз и пектиновых веществ	типа клетчатки	
	монозы	типа сахарозы	типа мальтозы					
% к сухому веществу	0	3,99	9,74	3,40	0,06	14,02	0,96	32,17
% к сумме	0	12,6	30,3	10,5	0,2	43,5	2,9	100,0

1,5. Следовательно, биомасса водорослей Кременчугского водохранилища в период «цветения» характеризуется богатым составом моносахаров. В ней присутствуют такие редко встречающиеся в природе углеводы, как фукоза, быстрорастворимые сахара.

Гистохимические методы оценки качественного состава полисахаридов позволили проследить в природе химические особенности форм существования колоний (status) *M. aeruginosa* [5]. Оказалось, что у форм *aeruginosa* status *simplex* и *viridis* status *aeruginosus* наблюдается некоторое преобладание ШИК-положительных веществ. Интересно, что ранее нами отмечалось преобладание у *M. aeruginosa* (формы *aeruginosa* status *simplex*) гликогенподобных веществ [7]. Возможно, за счет этого у них и происходит нарастание количества ШИК-положительных веществ.

Содержание свободных альдегидов варьировало у всех форм.

При изучении распределения сульфополисахаридов выявлено их преобладание у формы *aeruginosa* status *ochraceo-sphaeroidis* тироидеус. Клетки, в оболочках которых содержатся сульфополисахариды, в центре колоний отличаются более слабой реакцией метакромазии, чем на периферии. Кроме того, при исследовании характера изменчивости полисахаридного комплекса *M. aeruginosa* в процессе вегетации замечена тенденция водорослей к общему усиленному накоплению ими сульфополисахаридов и всей суммы кислых полимеров к концу вегетационного периода. Увеличение содержания кислых мукополисахаридов, которые входят в состав клеточных стенок и слизистых чехлов *M. aeruginosa*, видимо, обеспечивают их жесткость на период миграции в илы и в зимний период. Существует мнение о том, что в осенний период увеличивается количество слизи синезеленых водорослей [10]. Наши данные дополняют это представление, характеризуя те химические изменения, которые происходят с водорослями и их слизистыми чехлами в осенний период.

Таким образом, показано, что общее содержание углеводов в материале фитопланктона Кременчугского водохранилища достигает значительной величины — 32% к сухому веществу водорослей. Основную его массу при преобладании в водоеме *M. aeruginosa*, а также при наличии монокультуры вида составляют структурные полисахариды типа гемицеллюлоз и пектиновых веществ. Эти углеводы выполняют роль цементирующего материала клеточных стенок водорослей и составляют структурную основу их слизистых чехлов. Изложенные выше данные и результаты исследования культуры *M. aeruginosa* [11] позволяют заключить, что основными структурными компонентами рассматриваемой водоросли являются углеводы типа гемицеллюлоз и пектиновых веществ.

Выяснение наличия и количественного содержания фракций углеводов, извлеченных из синезеленых водорослей, показало, что содержание свободных редуцирующих веществ весьма незначительно или их не было вовсе. Это находится в соответствии с выводами из исследований, предпринятых с целью обнаружить свободные сахара в клетках синезеленых водорослей и оказавшихся безрезультатными. Не обнаружены они у *Calothrix scopulorum* [14], *Oscillatoria splendida* [2], *Anabaena flos-aquae* и *Aphanizomenon flos-aquae* [8, 9]. Л. В. Косенко [6], исследуя ряд азотфиксирующих синезеленых водорослей, не обнаружила свободных моносахаридов, в отдельных случаях их было очень мало. В состав свободных сахаров, если они имеются, чаще всего входят глюкоза и фруктоза [15].

Из других низкомолекулярных углеводов в исследуемом материале синезеленых водорослей нами обнаружены спирторастворимые

олигосахариды типа мальтозы и сахарозы. Наличие сахарозы в клетках водорослей некоторые исследователи [15] связывают с ее активной ролью в углеводном обмене.

Своеобразной является форма запасных углеводов синезеленых водорослей. По нашим данным, крахмал у *Microcystis*, *Anabaena* и *Aphanizomenon* отсутствует [7]. У этих водорослей имеется вещество, напоминающее гликогенподобный продукт, выявляющийся реактивом Люголя. Количественное определение фракции запасных углеводов, гидролизующихся при действии α -амилазы, показали, что ее содержание варьирует в зависимости от места сбора водорослей и несколько различается у отдельных форм существования (status) колоний *M. aeruginosa*.

При рассмотрении набора моносахаров в гидролизате полисахаридов прежде всего обращает на себя внимание его многокомпонентность. Это свидетельствует, с одной стороны, о возможно большом наборе полисахаридов, с другой — о том, что они являются, видимо, гетерополисахаридами. Кроме того, присутствие в биомассе синезеленых водорослей ряда ценных редко встречающихся моноз говорит о биологической ценности биомассы этих водорослей.

Выводы

1. Монокультура естественных популяций *M. aeruginosa* и совокупный материал фитопланктона в период «цветения» водоема характеризуются наличием следующих фракций углеводов: спирторастворимых, водорастворимых, запасных и двух фракций структурных полисахаридов. Сумма углеводов в биомассе водорослей Кременчугского водохранилища в период «цветения» достигает 32% сухой массы водорослей.

2. Свободные моносахариды либо отсутствуют либо представлены в небольшом количестве.

3. Основными структурными полисахаридами естественных популяций *M. aeruginosa*, как и культуры этого вида, являются углеводы типа гемицеллюлоз и пектиновых веществ; содержание клетчатки незначительно, что является, видимо, специфической особенностью данного вида.

4. Содержание отдельных углеводных фракций варьирует в зависимости от места сбора синезеленых водорослей в водоеме.

5. Выявлена химическая разнокачественность отдельных форм существования колоний (status) *M. aeruginosa* по содержанию кислотных мукополисахаридов и ШИК-положительных веществ.

6. Материал фитопланктона Кременчугского водохранилища в период «цветения» характеризуется большим набором разнообразных моносахаров в гидролизате полисахаридов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Борш З. Т., Степанова Г. М. 1966. Применение антронового реактива для микроопределения углеводов в водорослях. «Изв. АН МолдССР», 1.
2. Горюнова С. В. 1950. Химический состав и прижизненные выделения синезеленой водоросли *Oscillatoria splendida* Grew. Изд. АН СССР, М.—Л.
3. Завадская И. Г., Горбачева Г. И., Мамушина Н. С. 1962. Количественное определение углеводов резорциновым и аналитфалатным методами с помощью бумажной хроматографии. В сб.: «Метод. колич. бумажн. хроматогр. сах., орган. кислот и аминокислот у раст.», Изд-во АН СССР, М.—Л.
4. Зайцева Г. Н., Афанасьева Т. П. 1957. Количественное определение углеводов методом нисходящей хроматографии на бумаге. «Биохимия», 22, 6.

5. Кондратьева Н. В. 1968. Вопросы морфологии и систематики *Microcystis aeruginosa* Kuetz. emend. Elenk. и близких к нему видов. В сб.: «Цветение» воды, 1, изд-во «Наукова думка», К.
6. Косенко Л. В. 1969. Изучение полисахаридсодержащих комплексов некоторых азотфиксирующих синезеленых водорослей. Автореф. дисс., К.
7. Осетров В. И., Шнюкова Е. И., Власишин В. Ф. 1969. Гистохимическое изучение полисахаридного комплекса *Microcystis aeruginosa* Kuetz. emend. Elenk. «Гидробиол. ж.», 5, 1.
8. Серенков Г. П., Пахомова М. В. 1961. Изучение углеводов некоторых видов водорослей. «Науч. докл. высш. шк.», биол. н., 1.
9. Их же. 1965. К биохимии синезеленых водорослей. В сб.: «Экол. и физиол. синезел. водор.», изд-во «Наука», М.—Л.
10. Черноусова В. М., Сиренко Л. А., Арендарчук В. В. 1968. Локализация и физиологическое состояние массовых видов синезеленых водорослей в позднеосенний и весенний периоды. В сб.: «Цветение» воды, 1, изд-во «Наукова думка», К.
11. Шнюкова Е. И., Пироженко С. У. 1969. Дослідження кількісного вмісту полісахаридів у культурі синьозеленої водорості *Microcystis aeruginosa* Kuetz. emend. Elenk. «Укр. бот. ж.», 26, 6.
12. Их же. 1969. Качественная характеристика полисахаридного комплекса культуры синезеленой водоросли *Microcystis aeruginosa* Kuetz. emend. Elenk. В сб.: «Цветение» воды, 11, изд-во «Наукова думка», К.
13. Их же. 1969. Полісахариди синьозелених водоростей. «Укр. бот. ж.», 26, 3.
14. Kylin H. 1943. Zur Biochemie der Cyanophyceen. Kugellager fisiograf. Sällskap. Lund. Forhandl., 13.
15. Norris L., Norris K. S., Calvin N. 1955. A survey of the rates and products of shortterm photosynthesis. «J. experim. Bot.», 6, 16.

Поступила 6.IV 1971 г.

CHARACTERISTIC OF PHYTOPLANKTON POLYSACCHARIDE COMPLEX DURING THE BLOOM PERIOD OF WATER BODY

E. I. SHNYUKOVA, S. U. PIROZHENKO

(Institute of Botany, Academy of Sciences, Ukrainian SSR, Kiev)

Summary

Phytoplankton during the period of water bloom caused by abundant development of blue-green algae is presented by the following fractions of carbohydrates; alcohol- and water soluble, reserve and two groups of structural carbohydrates. Structural polysaccharides of hemicellulose and pectine substance type compose the bulk of carbohydrates in natural populations of *Microcystis aeruginosa* cellulose content is insignificant. The Kremenchug reservoir phytoplankton during the bloom period is characterized by a great set of monosugars in the polysaccharide hydralizate; 11 components, including those rarely occurring in nature, are detected. Some difference in quality relative to polysaccharides was found in different forms of existense of *M. aeruginosa* colonies (status).