

3. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 / U.K. Laemmli // Nature. – 1970. – Vol. 227(5259). – P. 680-685.
4. Viazau Y.V. Spectral changes of cucumber leaf during adaptation of the photosynthetic apparatus to LED lighting / Y.V. Viazau [et al.] // Journal of Applied Spectroscopy. 2015. – Vol. 81, № 6. – P. 1019-1024.

ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ И ФОТОВЫДЕЛЕНИЕ H_2 *RHODOBACTER SPHAEROIDES*: ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРА НИТРОГЕНАЗНОЙ АКТИВНОСТИ

Габриелян Л.С.

*Биологический факультет, Ереванский государственный
университет, Ереван, Армения*

В настоящее время из-за ограничения запасов ископаемого топлива возрос интерес к альтернативным источникам энергии, таким как водород (H_2), являющийся наиболее экологически чистым энергоносителем. Три группы фотосинтезирующих организмов способны к светозависимому выделению H_2 : зеленые микроводоросли и цианобактерии – в процессе “прямого” и “непрямого биофотолиза воды”, и пурпурные бактерии – в процессе “фотоброжения” органических соединений [1-3]. Среди изученных фототрофов в наибольшем количестве H_2 выделяют пурпурные бактерии, к которым относится *Rhodobacter sphaeroides* [1-3]. Данный процесс катализируется ферментом нитрогеназой с использованием АТФ. Разные ингибиторы ингибируют метаболизм H_2 в фототрофных организмах. Было показано ингибирующее действие метронидазола, акцептора электронов с низким значением окислительно-восстановительного потенциала (ОВП), на нитрогеназную активность цианобактерий [4]. Нами было исследовано действие метронидазола на рост и выделение H_2 *R. sphaeroides* MDC 6522, выделенной из минеральных источников Джермука в Армении [3]. Избирательная токсичность метронидазола для этих бактерий может быть связана с ОВП компонентов их электрон-транспортных цепей.

Целью настоящей работы было изучение влияния метронидазола на ОВП и производство H_2 другой пурпурной бактерией *R. sphaeroides* MDC 6521, выделенной из минеральных источников Арзни в Армении. Мине-

ральные источники Арзни и Джермука отличаются по физико-химическим характеристикам: вода источников Арзни натриево-хлоридного типа с температурой 13.3–22.5 °C и pH 6.3–6.6, тогда как вода источников Джермука – сульфатно-хлоридного типа с температурой 11–58 °C и pH 5.9–7.6 [5]. Физико-химические параметры этих источников обуславливают некоторые различия в метаболизме выделенных штаммов. Исследование фотовыделения H₂ в присутствии метронидазола имеет важное значение для выявления механизмов выделения H₂ *R. sphaeroides*.

Данный штамм был предоставлен Центром депонирования микроорганизмов НАН Армении, WDCM803. Бактерию выращивали на среде Ормерада при pH 7.0 и температуре 30±0.2 °C в анаэробных условиях и освещении 2000 люкс [6]. Величину ОВП определяли с помощью цифровых иономеров И-160МП (Гомельский завод измерительных приборов, г. Гомель, Беларусь) с использованием платинового (ЭПВ-01) и титан-силикатного (ЭО-21) электродов [3, 6]. Выделение H₂ рассчитывали по изменению величины ОВП [3, 6] и выражали в ммоль H₂/л культуры.

Так как метронидазол является акцептором электронов, обладающим низким значением ОВП, то его воздействие на бактерию может быть связано с изменением ОВП ростовой среды. ОВП является важным параметром, определяющим анаэробный рост бактерий [6, 7]. Рост контрольных клеток *R. sphaeroides* MDC 6521 сопровождался падением величины ОВП от положительных (+110 мВ) в начале лаг-фазы роста до низких отрицательных значений (–640 мВ) при переходе в стационарную фазу (Рис. 1А). Такое падение ОВП свидетельствует об усилении восстановительных процессов, что характерно для бактериального метаболизма в анаэробных условиях, а также о выделении H₂ [6, 7]. Присутствие метронидазола в ростовой среде приводило к замедлению падения ОВП: при добавлении 0.1 и 0.5 мМ метронидазола ОВП понижался до –510 и –340 мВ, соответственно; а при 1 мМ метронидазола – до –200 мВ. Таким образом, при воздействии метронидазола на ОВП наблюдалась концентрационная зависимость (рис. 1А).

Связь между падением ОВП и фотовыделением H₂ была показана для *R. sphaeroides* [3, 6]. Через 48 ч (начало стационарной фазы роста) выделение H₂ контрольными клетками *R. sphaeroides* MDC 6521 составляло 5.41 ммоль/л, причем фотовыделение H₂ продолжалось в течение 120 ч роста (Рис. 1Б). Выход H₂ при этом составлял 8.00 ммоль/л, что в 1.3 раза превышало производство H₂ *R. sphaeroides* MDC 6522. В присутствии 0.1 мМ метронидазола выход H₂ через 48 ч роста был в 2.65 раз ниже, чем у контрольных образцов (Рис. 1Б). При добавлении в ростовую среду 0.5 мМ

метронидазола в течение 48 часов не наблюдалось синтеза H_2 , свидетельствующее о подавлении выделения H_2 . Фотовыделение H_2 начиналось через 72 ч роста: выход H_2 при этом составлял 1.33 ммоль/л, а затем понижался до 0.78 ммоль/л (120 ч) (Рис. 1Б). Таким образом, выход H_2 подавлялся в 10 раз, по сравнению с контрольным образцом. При этом данный штамм оказался более чувствительным к действию ингибитора, чем штамм MDC 6522 [3]. В присутствии 1 мМ метронидазола не наблюдалось выделения H_2 , свидетельствующее о полном ингибировании данного процесса (Рис. 1Б).

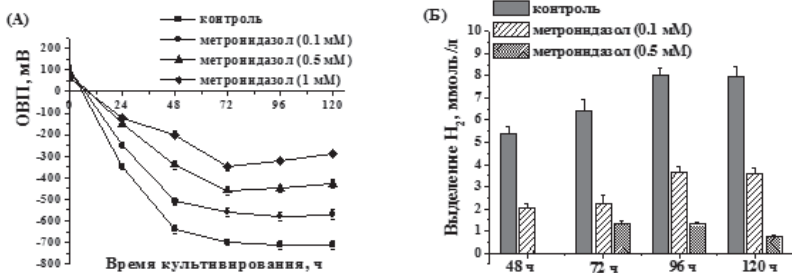


Рисунок 1 – Влияние метронидазола на: (А) изменение ОВП среды и (Б) фотовыделение H_2 бактерией *R. sphaeroides* MDC 6521

Ингибирующее действие метронидазола на фотовыделение H_2 *R. sphaeroides* может быть связано с нарушением работы фотосинтетической электрон-транспортной цепи. Предполагается, что метронидазол подавляет ферредоксин-связанные реакции, выступая в качестве альтернативного акцептора электронов вместо нитрогеназы.

Литература

1. Цыганков А.А., Хуснутдинова А.Н. Микробиол., 2015, Т. 84, С. 3–26.
2. Trchounian A. // Crit. Rev. Biotechnol., 2015, V. 35, P. 103–113.
3. Gabrielyan L., Sargsyan H., Trchounian A. Microb. Cell Fact., 2015, V. 14, P. 131–140.
4. Bhattacharya J., Singh A.K., Singh R.K.S., Rai A.N. Ind. J. Microbiol., 2005, V. 45, P. 115–120.
5. Паронян А.Х. // Биол. журн. Армении, 2002, Т. 1–2 (54), С. 91–98.
6. Gabrielyan L., Sargsyan H., Hakobyan L., Trchounian A. // Appl. Energy, 2014, V. 131, P. 20–25.
7. Василян А., Трчунян А. // Биофизика, 2008, Т. 53, С. 281–293.