**XXХ МЕЖДУНАРОДНАЯ НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ ШКОЛЬНИКОВ**

**«САХАРОВСКИЕ ЧТЕНИЯ»**

**МОРСКАЯ МИСТЕРИЯ**

Олейникова П.Е., Статьева Т.В., Харичева А.Н., Жигайло Ю.А.

*АНОО “Физтех-лицей” им. П.Л. Капицы, Долгопрудный, Россия*

*oleynikovap@bk.ru*

Область исследования: способность *Pyrocystis fusiformis* к биолюминесценции в условиях Москвариума.

Цель работы: разработать способ демонстрации *P. fusiformis* в аквапространстве Москвариума.

*Pyrocystis fusformis* - динофитовые водоросли, способные демонстрировать биолюминесценцию, которая происходит в результате реакции люциферин-люциферазы в тысячах органелл сферической формы, называемых сцинтиллонами. Это производит ярко-синий цвет.

Сцинтиллоны - отдельные цитоплазматические тела (около 0,5 мкм в диаметре), распространенные в основном в корковой области клетки. Они содержат динофлагеллат-люциферазу, основной фермент, участвующий в биолюминесценции динофлагеллятов, и люциферин, производное хлорофилла, тетрапиррольное кольцо, которое действует как субстрат для световой реакции. Свечение происходит в виде короткой (0,1 с) синей вспышки (максимум 476 нм) при стимуляции, обычно из-за механического напряжения. Поэтому при механическом воздействии - например, на лодке, плавании или волнах - вы можете видеть синий сверкающий свет, исходящий с поверхности моря.

Биолюминесценция *Pyrocystis fusiformis* контролируется циркадными часами и происходит только ночью. Это обусловлено более чем десятикратным увеличением количества люциферазы и LBP (люциферин-связывающего белка) в ходе ночной фазы [2]. То есть, количество сцинтиллонов больше ночью, чем днем, и начинает уменьшаться в конце ночи, во время максимальной биолюминесценции.

Реакция люциферин-люциферазы, ответственная за биолюминесценцию, чувствительна к рН. Люцифераза полной длины и каждый из отдельных доменов наиболее активны при рН 6,3, а при рН 8,0 активность очень мала. LBP связывает люциферин при рН 8,0, но не при рН 6,3. Другими словами, когда pH падает, люцифераза меняет свою форму, что позволяет люциферину, конкретнее, тетрапирролу, связываться. Люциферин активируется и испускает фотон сине-зелёного света [1].

Итак, мы поставили себе задачу исследовать биолюминесценцию *P. fusiformis* для того, чтобы выяснить, как эффективно, а также, конечно, безопасно для самих водорослей продемонстрировать её в условиях Москвариума.

Условия, при которых мы поддерживали культуру *P. fusiformis:* 23 С, круглосуточное освещение светильникамиEasyGrow Panel 125W Pro **"Smart Spectral". При этих условиях мы культивировали водоросли в течение 6 месяцев.**

**Результаты: Изучена динамика роста популяции водорослей при культивировании с частичной заменой воды или разбавлением культуры водорослей в концентрациях 50%, 25% и 12.5%. Оптимальной является частичная замена воды, когда мы удаляем умершие водоросли и концентрация внесенных водорослей составляет 50%. При меньшей концентрации нарастание водорослей идет медленнее.**

**Время «условной зарядки» (отношение времени отдыха** *P. fusiformis* **к времени их работы) для водорослей составило 30 - 60 минут, если ранее водоросли не были подвержены механическому воздействию, в ином случае - время зарядки составляет более 6 часов.**

Изучение разных способов активации биолюминесценции показало, что использование ультразвука не вызывает биолюминесценцию. Последствием данного ультразвукового воздействия стало то, что эта часть культуры, при намеченной проверке через 2 недели, оказалась полностью мертвой. Все внешние факторы после проведения эксперимента оставались неизменными (такими же, как и до самого эксперимента), а значит, они не могли повлиять на жизнеспособность водорослей. Таким образом, мы обнаружили, что частота ультразвука летальна для *P. fusiformis*. (Эксперимент №1)

При моделировании использования насоса для перекачивания водорослей установлено, что свечение возникает только в зоне действия поршня и не распространяется на всю толщу воды. Более того, в условиях недостатка кислорода, культура *P. fusiformis* не смогла более оставаться жизнеспособной. (Эксперимент №2)

Самым эффективным оказалась вибрация погруженного в толщу воды медного провода на частоте 75 Гц. При данной частоте *Pyrocystis* f*usiformis* демонстрировали биолюминесценцию диффузного типа со слабым голубоватым нехарактерным оттенком. Мы назвали данный феномен “эффектом звёздного неба”. Если же подвергнуть водоросли треку, состоящему сразу из нескольких частот (от 72 до 80 Гц), то возникает совершенно другой паттерн биолюминесценции - цельный глубокого голубого цвета. Другие частоты (от 200Гц до 50Гц) оказались неэффективными. (Эксперимент №3)

Спроектирована 3D-модель «подвесной потолок» как один из возможных способов демонстрации водорослей в условиях Москвариума. Данный механизм выгоден с точки зрения его очистки. Работая с *P. fusiformis* на протяжении почти полугода, мы заметили, что сосуды становятся грязными в конце каждой недели. Это находится в прямой корреляции с жизненным циклом водорослей - 5-7 дней. Таким образом, изобретённая система фильтра, необходимых пластин, конусовидного потолка и труб сводит к минимуму образование биомассы на поверхности подвесного потолка. Реальная необходимость в очистке поверхности наступает в соответствии с официальным днём чистки «Москвариума» - последнего понедельника каждого месяца.

1. L. Wayne Shultz, Liyun Liu, Margaret Cegielski, J. Woodland Hastings. *Proceedings of the* *National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005.

2. B.M. Sweene. *International Cell Biology*, 1981, 807-814.

3. Eddith A.Widder, James F. Case. *Journal of comparative physiology*, 1981, 43-52.