

УТВЕРЖДАЮ:

Заместитель директора по науке

ФГБНУ «СахНИРО»

к.б.н., В.В. Лапко

2017 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

«Оценка степени разрушения клеток морской водоросли ламинарии японской после обработки образцов методом заказчика на кавитационно-экстракционном аппарате второго поколения модели КЭА-2-0,5»

по договору между ФГБНУ «СахНИРО» и ООО «Дивия-Фарм Сахалин» от № 04-75/2017 от 22.08.2017 г.

В результате исследований представленных заказчиком двух образцов гелеобразной суспензии сахарины японской (ламинарии японской) технологически обработанного слоевища ламинарии методом заказчика на кавитационно-экстракционном аппарате второго поколения модели КЭА-2-0,5, обнаружено следующее. Образцы водоросли представлены гелеобразной суспензией с включениями мельчайших фрагментов водоросли. Фрагменты слоевища водоросли, сохранившие целостность клеток, представлены кусочками преимущественно наружной коры, а также поврежденными оболочками клеток промежуточной коры, клетками сердцевины таллома и клетками спорангиев. В некоторых фрагментах водоросли нарушена целостность оболочек клеток слоя коры, промежуточного слоя и сердцевины, содержимое внутри большинства этих клеток отсутствует. Доля целостных клеток тканей водоросли составляет 7–23,5% от общего объема образца.

Основной состав образцов ламинарии (сахарины) японской, технологически обработанной на кавитационно-экстракционном аппарате второго поколения модели КЭА-2-0,5, представлен до 76,5–93% гелеобразной суспензии.

Отчет с микрофотографиями прилагается.

Начальник ОИСМАВ, к.б.н.



Е. М. Латковская

Ответственный исполнитель:
научный сотрудник СИМС ОИСМАВ
Могильникова Татьяна Александровна,
каб. 307, тел. 45-67-64

Методика работ

Образцы анализировали под световыми микроскопами Leica DM LS2 и Nikon Eclipse Ni. Просмотр образцов выполнялся на предметном стекле с разлинованной лазером поверхностью на квадраты 1x1 мм (производства фирмы «RIGO», Япония). Подпроба образца водоросли, объемом 0,055 мл, помещалась на предметное стекло, накрывалась покровным стеклом 1,8x1,8 см с нажатием препаровальной иглой до распределения материала тонким слоем. Просматривался материал в 30 полях зрения (30 квадратах 1x1 мм) при увеличении 100 – 400 раз. Фрагменты водоросли измерены с помощью окулярной линейки и микровинта микроскопа, цена деления 5 мкм при увеличении в 100 раз и 1,3 мкм при увеличении в 400 раз. Количество измеренных фрагментов водоросли в каждой пробе – 26–30 шт. Микрофотографии выполнены с помощью насадок на микроскопы цифровой камеры DC 300F и цифровой камеры Nikon DS Ri1.

Анализ результатов и техническое оформление отчета выполнено с помощью ПК и стандартных программ MSOffice.

Результаты.

В образце №1 обнаружена гелеобразная суспензия с мелкими фрагментами слоевища ламинарии, клеточные оболочки без содержимого, сохранившие структуру и без сохранения структуры ткани, одиночные булавовидные клетки спорангий (фото 1). Фрагменты листовидной пластины ламинарии имели небольшие размеры: стороны от 50 до 4500 мкм (в среднем 400 мкм), высоту от 25 до 70 мкм (в среднем 40 мкм). Размеры булавовидных клеток спорангиев – диаметр 5,3 мкм, длина 49 мкм, объем 464 мкм³. Фрагменты слоевища относятся, в основном, к остаткам наружной коры (см. фото 4, 5, 10). Обнаружены остатки клеточных оболочек коры и сердцевины слоевища, не имеющих клеточного содержимого (фото. 3, 6, 9). В гелеобразной суспензии присутствовали булавовидные спорангии, имеющие целые и поврежденные клетки (фото. 7, 8, 10). Объем обнаруженных фрагментов с целостными клетками слоевища ламинарии составляет 17–23% от объема образца и 77–83% гелеобразной суспензии, соответственно..

В образце № 2 обнаружена гелеобразная суспензия с мелкими фрагментами слоевища ламинарии, клеточные оболочки без содержимого, сохранившие

структуру и без сохранения структуры ткани, одиночные булавовидные клетки спорангий (фото 2). Фрагменты листовидной пластины ламинарии имели небольшие размеры: стороны от 25–1250 мкм (в среднем 286 мкм), высоту от 28 до 50 мкм (в среднем 45 мкм). Размеры булавовидных клеток спорангиев – диаметр 5,4 мкм, длина 44 мкм, объем 189 мкм³. Фрагменты слоевища относятся, в основном, к остаткам наружной коры водоросли (фото 12, 14, 15, 17). Обнаружены остатки клеточных оболочек коры и сердцевины слоевища водоросли, не имеющих клеточного содержимого (фото 11, 13, 16). В гелеобразной суспензии присутствовали булавовидные спорангии, имеющие целые и поврежденные клетки (фото 15, 17). Объем обнаруженных фрагментов с целостными клетками слоевища водоросли в образце составляет не более 7–23,5% от объема образца и гелеобразной суспензии 76,5–93, соответственно.

Анализ образцов показал, что, труднее всего разрушается целостность клеток наружной коры и клеток спорангий.

Таким образом, в представленных образцах слоевища сахарины (ламинарии) японской технологически обработанного на кавитационно-экстракционном аппарате второго поколения модели КЭА-2-0,5, нарушена целостность оболочек клеток слоя коры, промежуточного слоя и сердцевины, содержимое внутри большинства этих клеток отсутствует. Фрагменты слоевища, сохранившие целостность клеток, представлены кусочками наружной коры и промежуточной коры и клеток спорангиев. Доля целостных клеток тканей сахарины (ламинарии) японской в образцах составляет от 7 до 23,5% от общего объема образца, соответственно, гелеобразная суспензия составляет 76,5–93%.

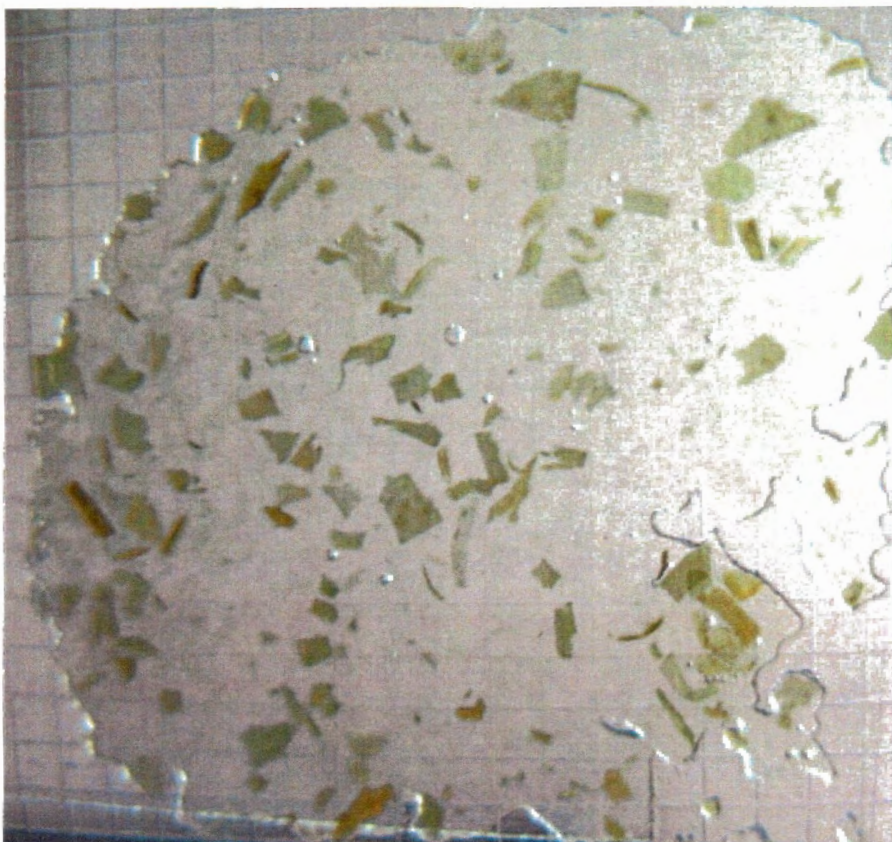


Фото 1. Образец 1. Суспензия геля с фрагментами сахарины (ламинарии) японской. Общий вид препарата на счетном стекле (сетка 1x1 мм). Фотоаппарат Canon (8.0 Mega pixels) макросъемка.

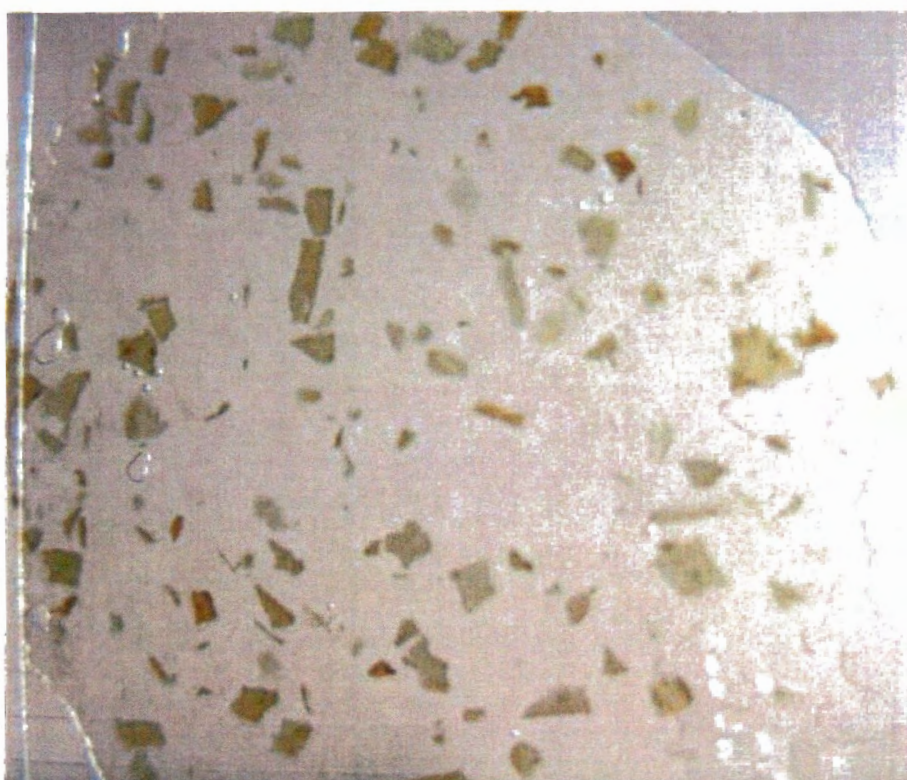


Фото 2. Образец 2. Суспензия геля с фрагментами сахарины (ламинарии) японской. Общий вид препарата на счетном стекле (сетка 1x1 мм). Фотоаппарат Canon (8.0 Mega pixels), макросъемка.

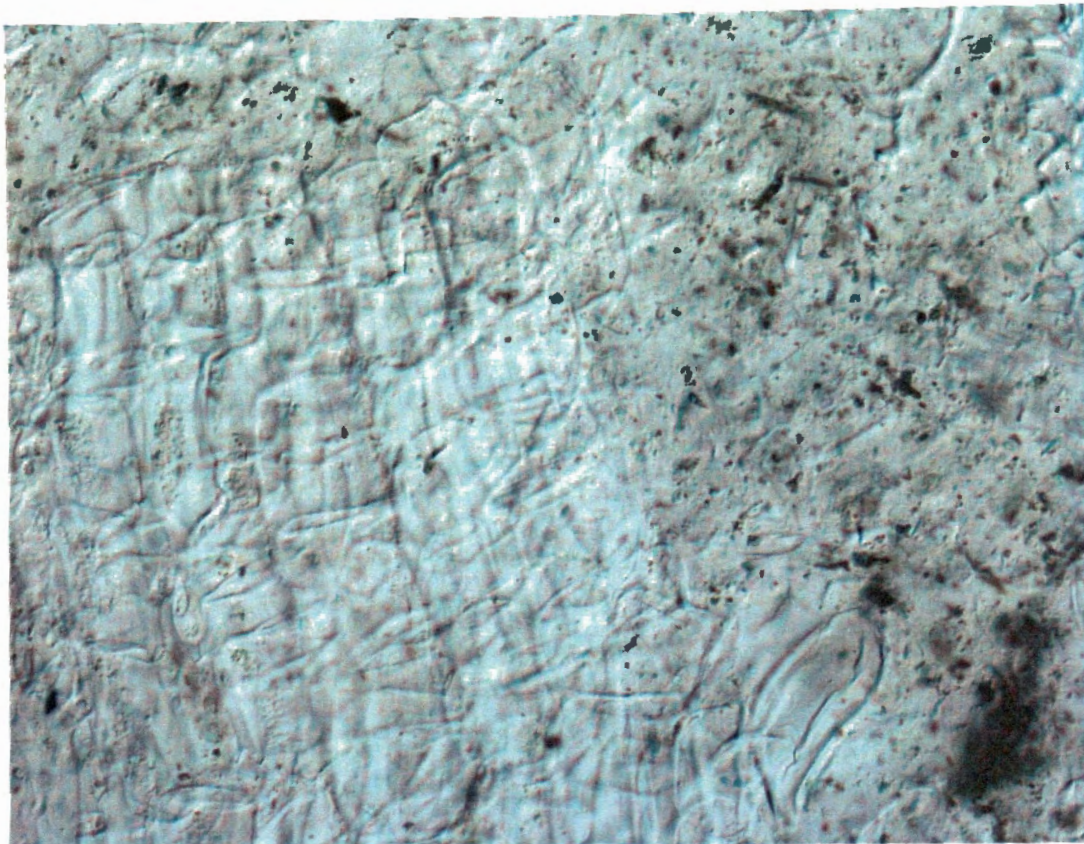


Фото 3. Образец 1. Клетки срединного слоя водоросли с деформированными стенками без содержимого. Увеличение в 100 раз.



Фото 4. Образец 1. Фрагмент наружной и внутренней коры водоросли с целыми клетками, заполненные содержимым и клетки срединного слоя водоросли без содержимого. Увеличение в 200 раз.

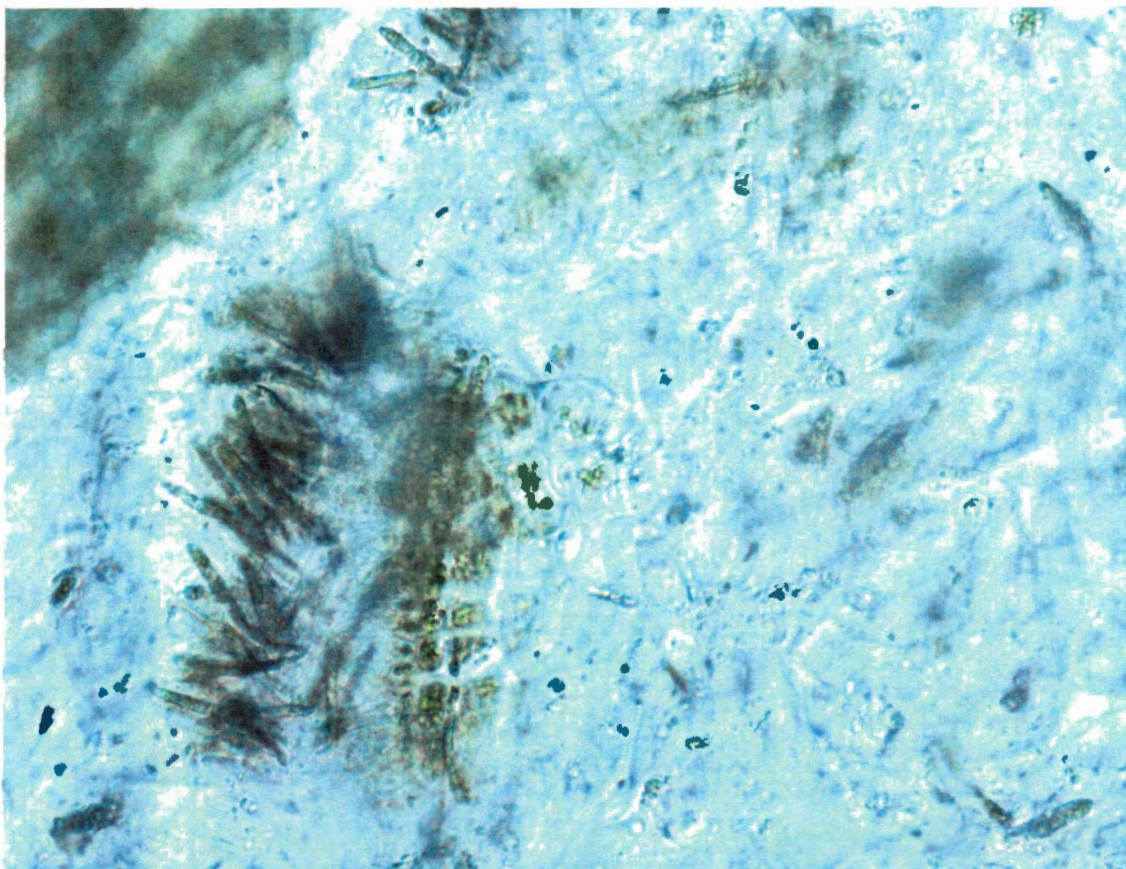


Фото 5. Образец 1. Фрагмент водоросли: клетки коры и спорангий. Микроскоп Nikon Eclipse Ni Увеличение в 200 раз.

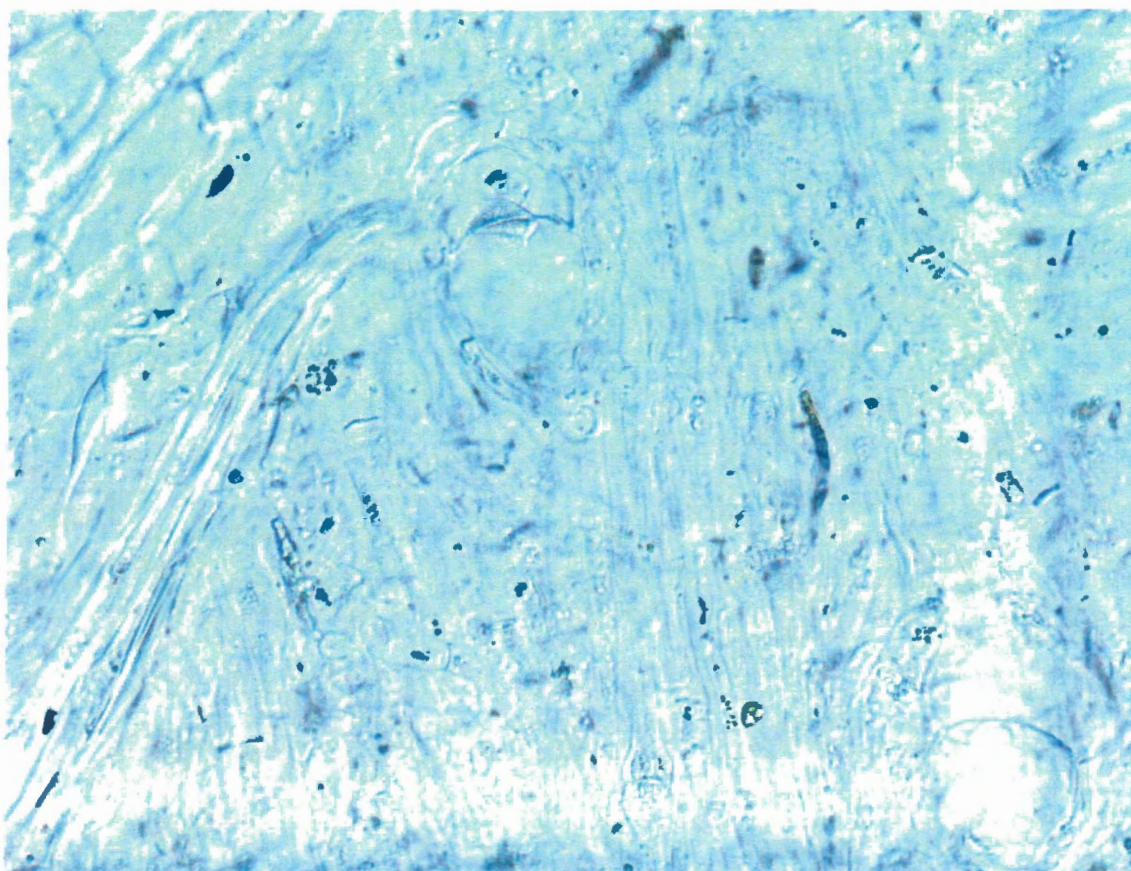


Фото 6. Образец 1. Гель водоросли с остатками стенок клеток и трубок. Микроскоп Nikon Eclipse Ni Увеличение в 200 раз.

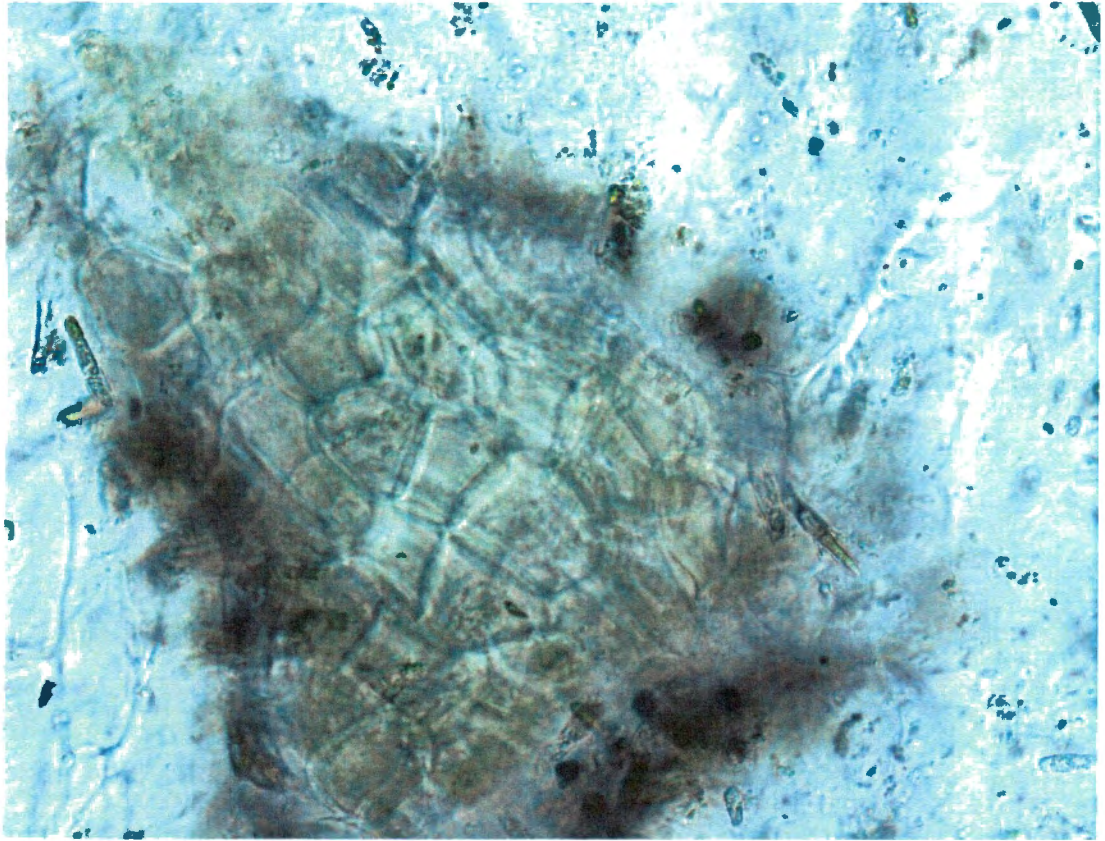


Фото 7. Образец 1. Гель водоросли с остатками содержимого клеток срединного слоя. Микроскоп Nikon Eclipse Ni Увеличение в 200 раз.

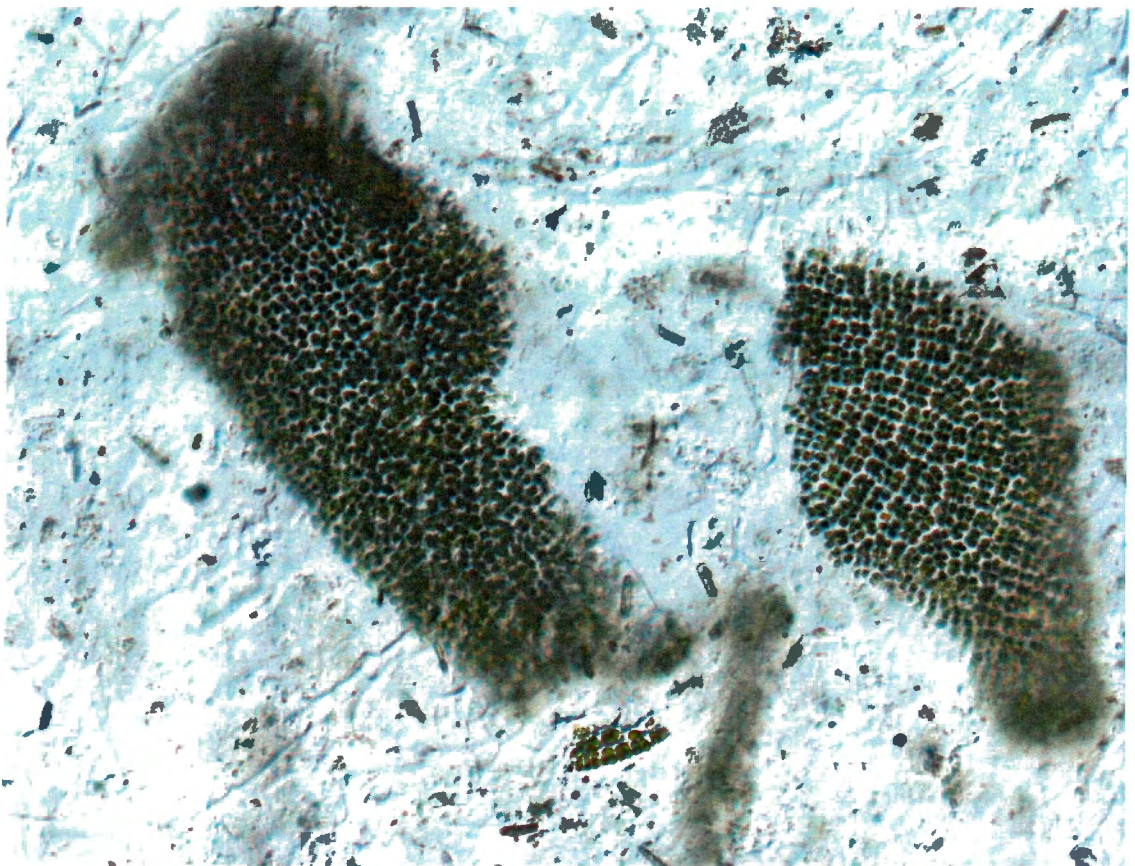


Фото 8. Образец 1. Гель с фрагментами водоросли и целыми клетками, заполненные содержимым. Микроскоп Nikon Eclipse Ni Увеличение в 100 раз.

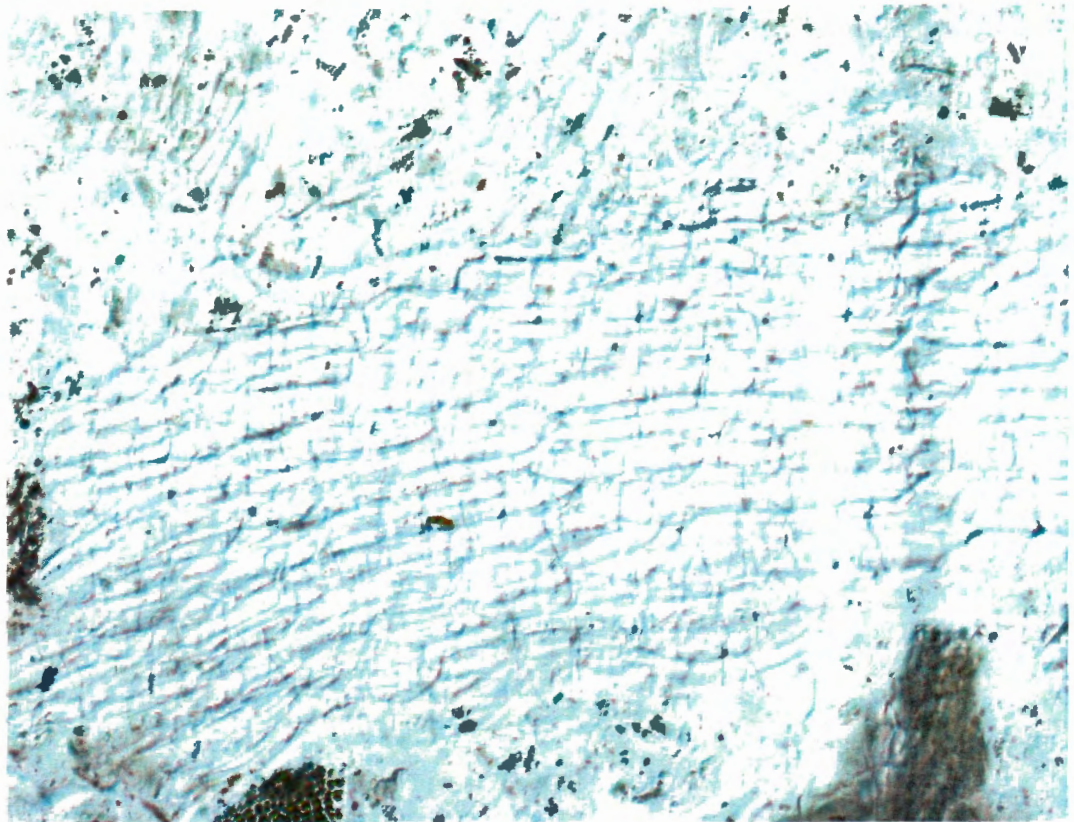


Фото 9. Образец 1. Гель водоросли. Видны стенки клеток, частично сохранена структура расположения клеток, содержимое отсутствует. Микроскоп Nikon Eclipse Ni Увеличение в 100 раз.

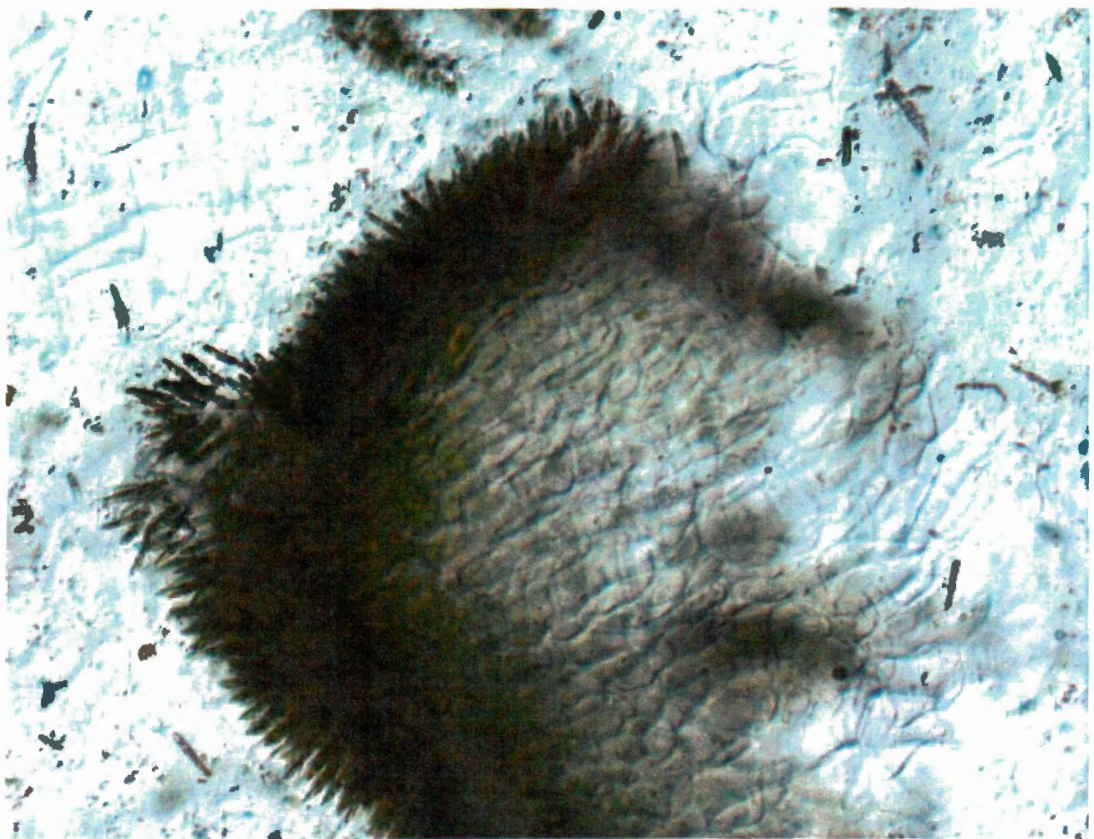


Фото 10. Образец 1. Фрагмент водоросли: клетки коры и с клетками спорангий. Микроскоп Nikon Eclipse Ni Увеличение в 100 раз.

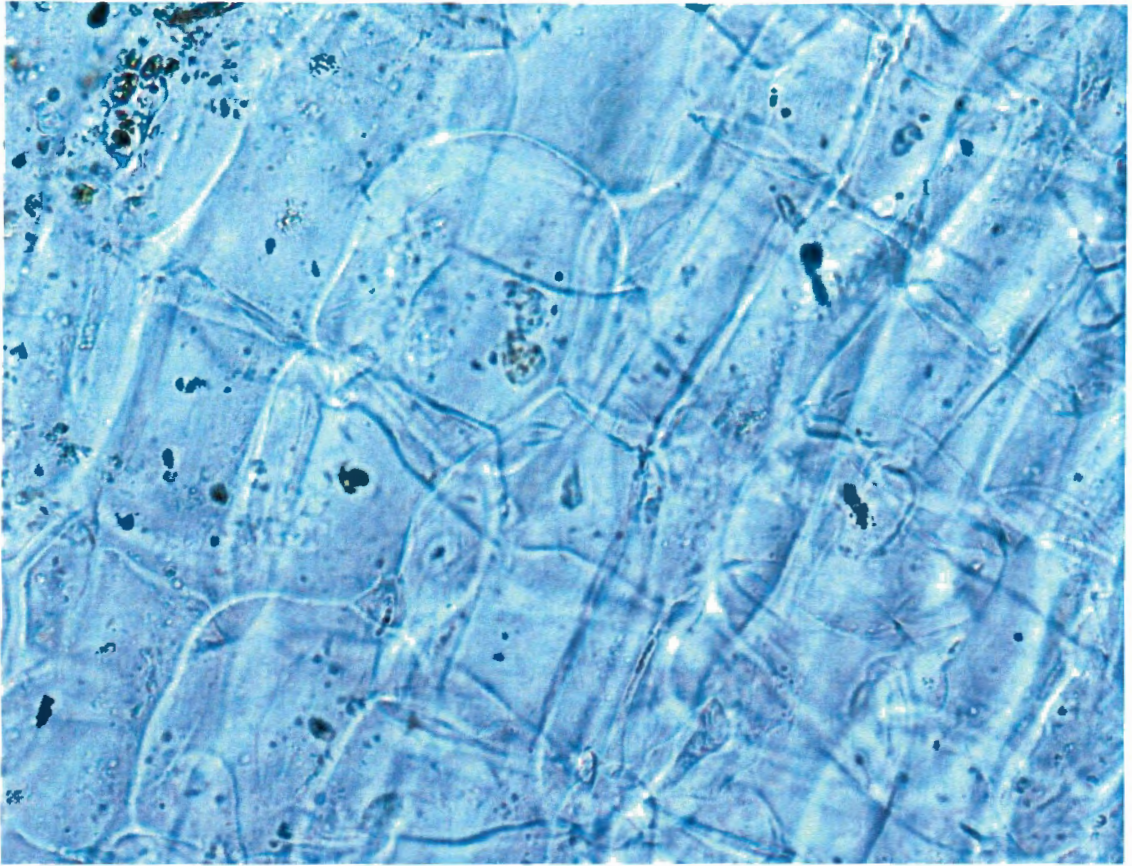


Фото 11. Образец 2. Гель водоросли с клетками срединного слоя без содержимого. Микроскоп Leica DM LS2 Увеличение в 200 раз.

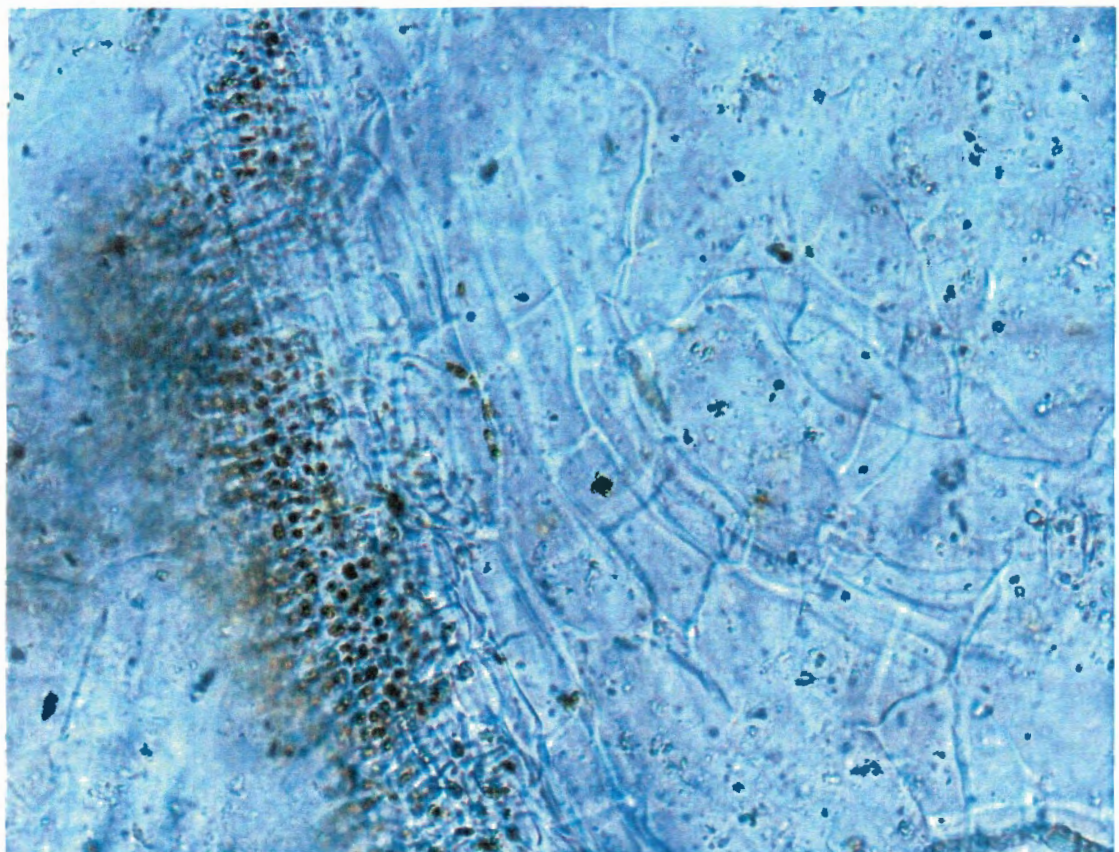


Фото 12. Образец 2. Гель водоросли с клетками коры и срединного слоя. Микроскоп Nikon Eclipse Ni Увеличение в 200 раз.

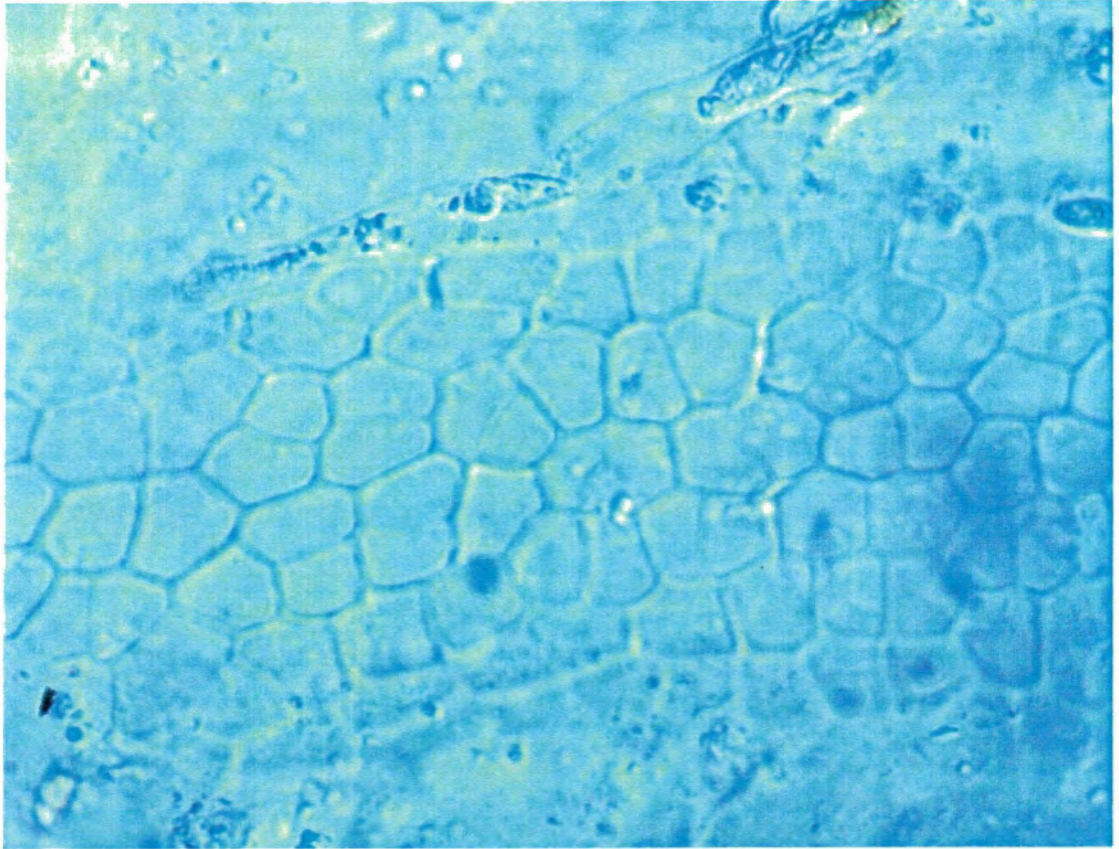


Фото 13. Образец 2. Клетки водоросли без содержимого, сохранившие расположение в ткани. Микроскоп Leica DM LS2. Увеличение в 600 раз.

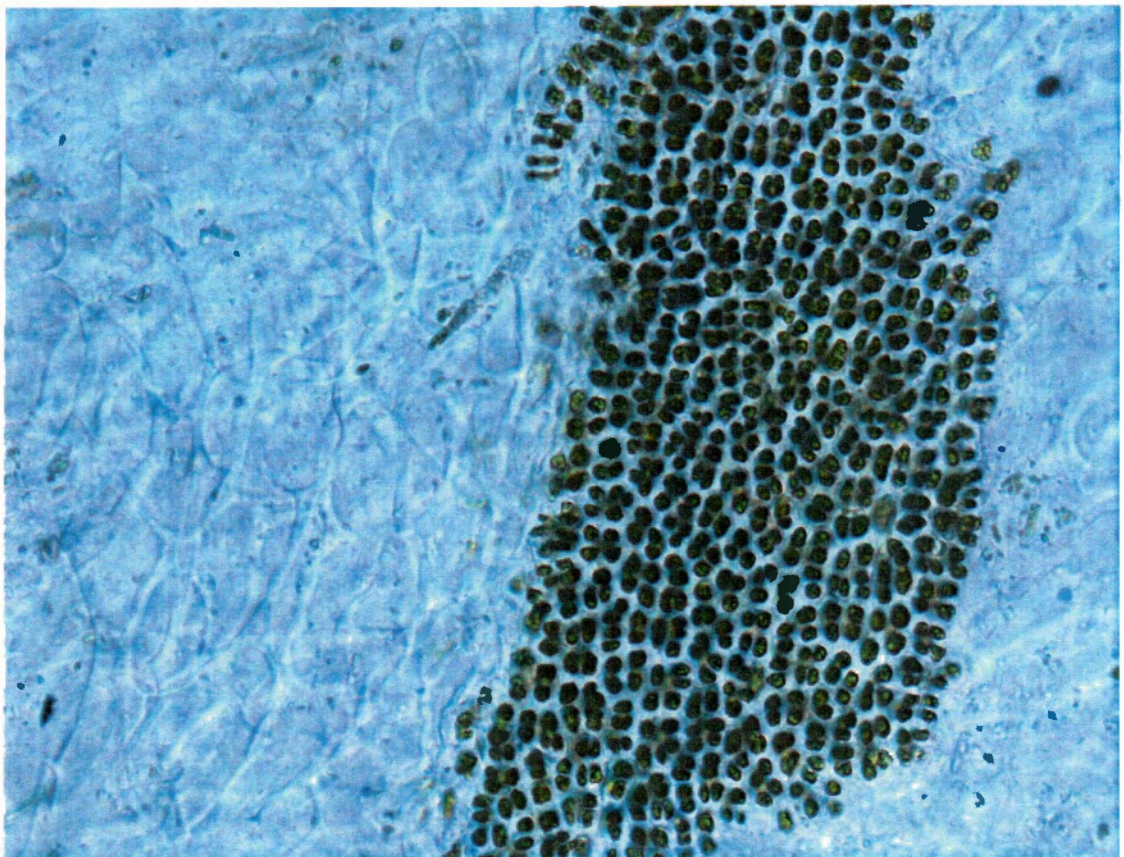


Фото 14. Образец 2. Фрагмент водоросли с клетками, сохранившими целостность и содержимое. Микроскоп Nikon Eclipse Ni. Увеличение в 100 раз

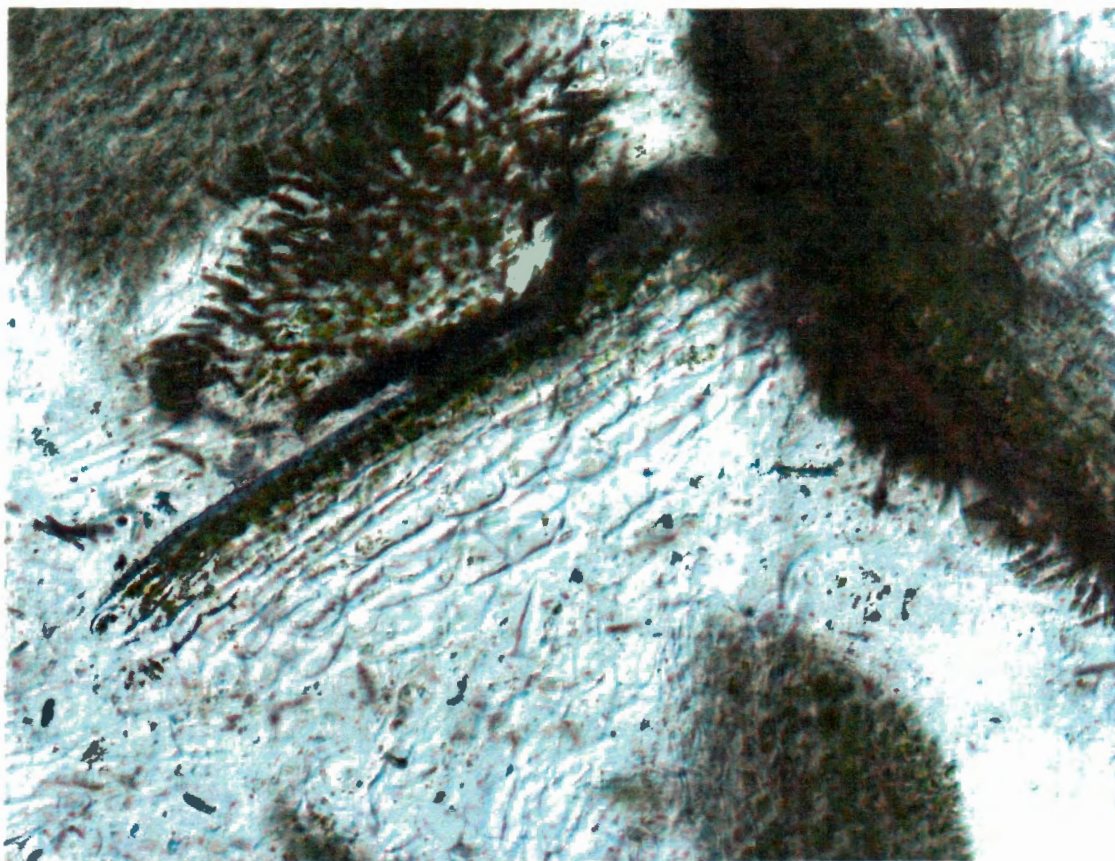


Фото 15. Образец 2. Фрагменты водоросли: ткани коры и клетки спорангий, пустые клетки срединного слоя. Микроскоп Nikon Eclipse Ni Увеличение в 100 раз.

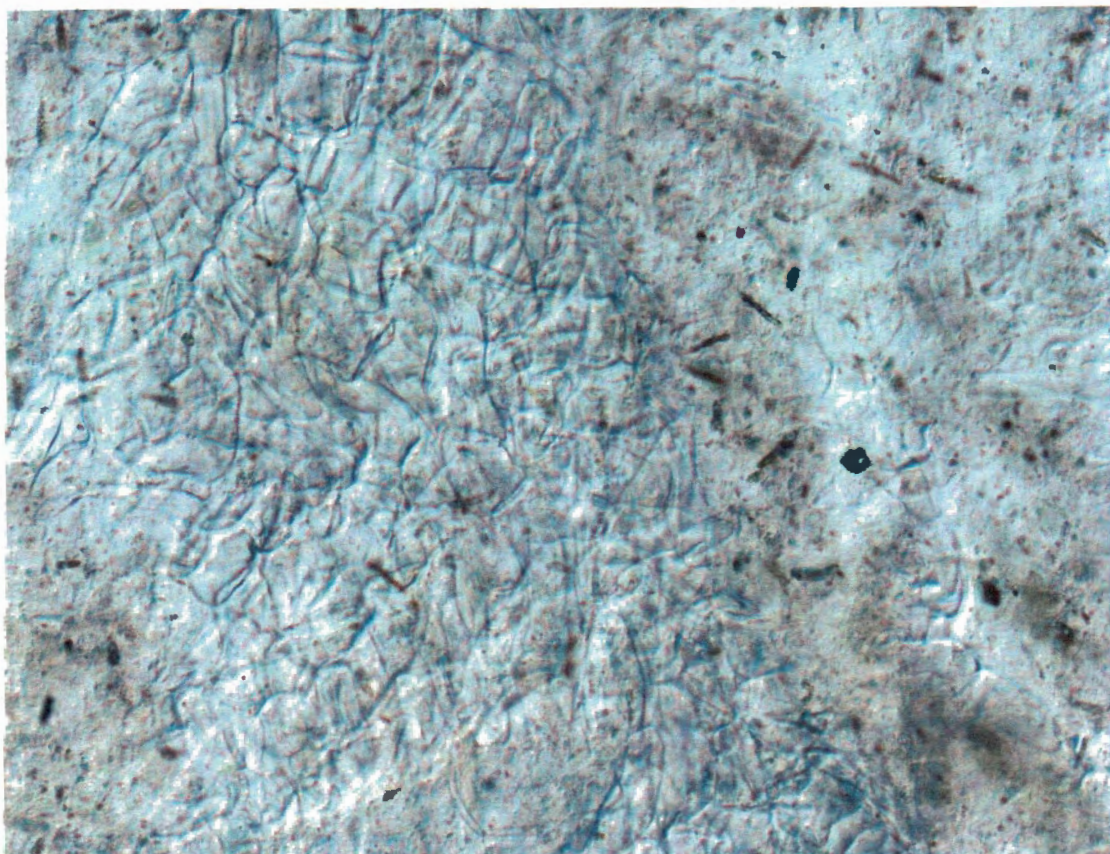


Фото 16. Образец 2. Гель водоросли с остатками стенок клеток. Микроскоп Nikon Eclipse Ni Увеличение в 100 раз.

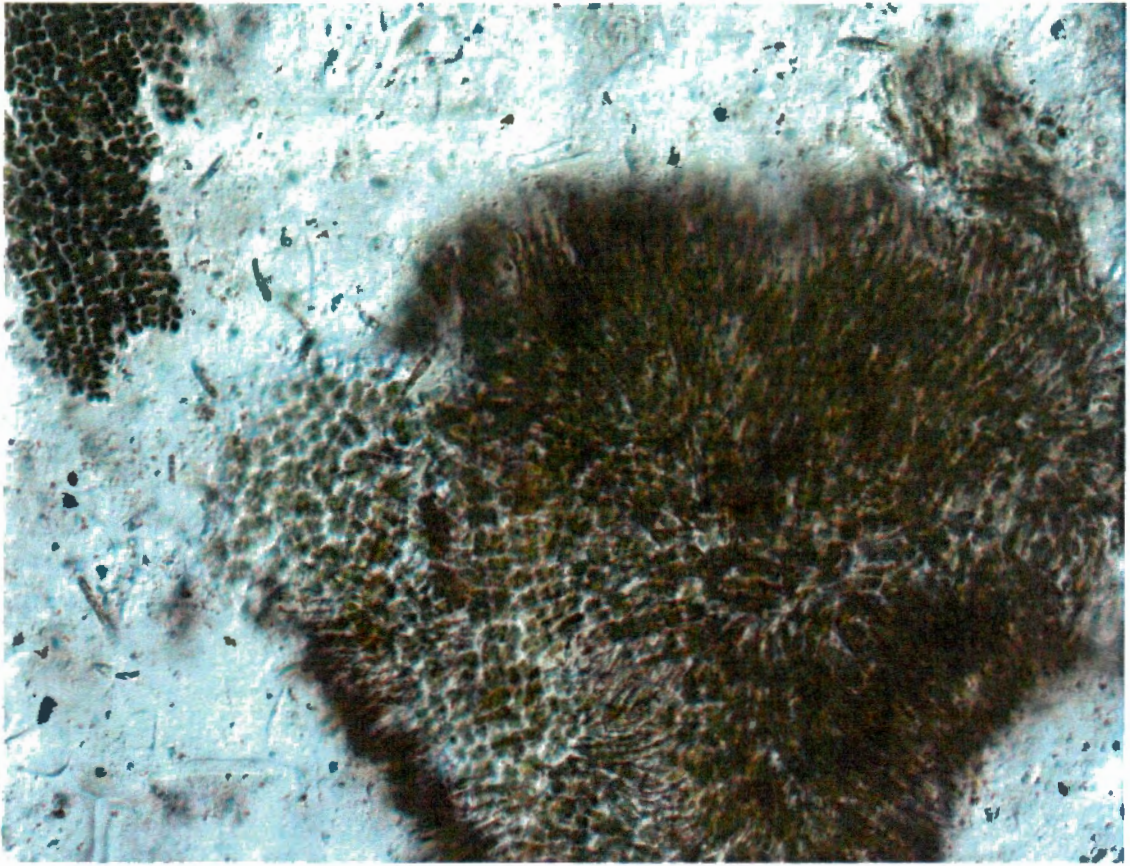


Фото 17. Образец 2. Фрагмент водоросли: клетки ткани и клетки спорангий. Микроскоп Nikon Eclipse Ni Увеличение в 100 раз.