

На правах рукописи

Галкина Анна Николаевна

**Биофизические и оптические
характеристики спикул морских
глубоководных губок**

03.00.02 - Биофизика

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук



Владивосток
2009

Работа выполнена в Институте автоматике и процессов управления
Дальневосточного отделения РАН.

Научный руководитель: член-корр. РАН, доктор физико-математических наук,
Кульчин Юрий Николаевич

Официальные оппоненты: член-корр. РАН, доктор биологических наук
Булгаков Виктор Павлович
доктор физико-математических наук, профессор
Абакумов Александр Иванович

Ведущая организация: Центр фотохимии РАН, г. Москва

Защита состоится “ 29 ” декабря 2009 г. в 10 часов на заседании
диссертационного совета Д 005.007.02 по адресу: 690041, г. Владивосток, ул. Радио,
5, Институт автоматике и процессов управления Дальневосточного отделения РАН.

С диссертацией можно ознакомиться в читальном зале библиотеки Института
автоматике и процессов управления Дальневосточного отделения РАН по адресу:
690041, г. Владивосток, ул. Радио, 5.

Автореферат разослан 24 ноября 2009 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета Д 005.007.02
кандидат технических наук, доцент



Е.Л. Гамаюнов

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДИССЕРТАЦИИ

Актуальность темы. Структурные компоненты живых систем состоят из упорядоченных массивов белковых и углеводородных молекул, способных к самоорганизации в растворе, что позволяет получать уникальные наноструктуры, обеспечивая высокую производительность на единицу массы без повышенных требований к исходным материалам и энергетике процессов [1, 2]. В природе существует довольно обширная группа организмов, которые могут концентрировать в себе минеральные вещества, которые входят в состав внеклеточных структур, образованных сложными композитными веществами – биоминералами. Биоминералы играют важную роль в жизнедеятельности многих организмов, выполняя опорные и защитные функции [1-3]. Поскольку в их состав входят две компоненты – органическая (белки или полисахариды) и минеральная (соли или окислы химических элементов), такие структуры оказываются устойчивыми к действию многих факторов внешней среды [2-4]. Ярким примером организмов, в основе метаболизма которых лежит процесс биоминерализации, служат губки [5, 6]. У обитающих в морских или пресных водах с небольшим количеством растворенного кремния стеклянных губок существует клеточный механизм избирательного накопления кремния из воды [6]. Элементы скелета таких губок – спикулы, в которых минеральным компонентом является двуокись кремния, представляют значительный интерес для нанотехнологий.

Комплексное изучение процессов природной биоминерализации спикул морских губок дает уникальные сведения об их морфологии [7, 8], структурных, механических [9, 10] и оптических свойствах [11-14]. Оптические свойства спикул морских глубоководных губок привлекают внимание практически всех групп исследователей, занимающихся изучением этих уникальных животных [11, 14-16]. Нерешенной остается проблема функционирования спикул в системе жизнеобеспечения губок, а также и для какой цели спикулы обладают оптической прозрачностью и имеют широкий спектральный диапазон пропускания? В данной работе результаты исследований морфологии, физико-химических и оптических свойств спикул глубоководных губок интерпретируются с точки зрения гипотезы о наличии у них фоторецепторной системы и роли фотосинтетически активных симбионтов глубоководных губок в энергетическом балансе системы жизнеобеспечения их организма.

Обоснование выбора материалов Выбор материала для исследований основан на уникальности структуры и свойств биоминералов морского происхождения – спикул морских глубоководных губок, с целью установления роли спикул в их системе жизнеобеспечения, а также для определения перспектив применения их биомиметических аналогов как компонентов волоконно-оптических систем, телекоммуникационной техники и систем оптической обработки информации.

Цель диссертационной работы – Определение природы спикул и их роли в механизме жизнеобеспечения морских глубоководных губок.

Основные задачи диссертационной работы:

1. Исследовать морфологию, структурную организацию и химический состав морских глубоководных губок и их структурных фрагментов (спикул).
2. Исследовать стабильность физико-химические свойства материала спикул, а именно:
 - Установить влияния воды на структурные и физические свойства спикул.
 - Показать влияние структурной организации спикул морских губок на их оптические свойства
3. Исследовать особенности оптических свойств спикул морских глубоководных губок.
4. Провести моделирование процессов распространения излучения в спикулах глубоководных губок.
5. Обосновать наличие фоторецепторной системы в глубоководных стеклянных губках, понять природу излучения, улавливаемого стеклянной губкой, выявить потребителей фототрофов и их роль в системе жизнеобеспечения губок.

Научная новизна работы

- Впервые исследованы морфология, физико-химические и оптические свойства спикул морских глубоководных губок *Pheronema raphanus*, *Pheronema sp.*, *Sericolophus sp.*, *Coronema sp.* (Amphidiscosida, Hexactinellida) обнаружена корреляция со свойствами спикул губки *Hyalonema sieboldy* (Amphidiscosida, Hexactinellida). Показано, что спикулы губок представляют собой нанокompозитную трехмерную слоистую периодическую структуру, состоящую из органического матрикса и аморфного оксида кремния.
- Впервые исследованы спектрально-селективные характеристики спикул глубоководных губок. Результаты исследований свидетельствуют о стабильности структуры спикул и существенном вкладе воды в спектральные характеристики их материала.
- Впервые исследованы процессы прохождения импульсов лазерного излучения фемтосекундной длительности в спикулах глубоководных губок. Обнаружен фотонно-кристаллический режим распространения светового излучения.
- Впервые обоснована гипотеза об оптическом механизме жизнеобеспечения глубоководной губки *Ph. Raphanus.*, определены функциональные особенности спикул, принципы захвата и передачи светового сигнала, а также определен вклад симбионтов в процесс энергетического обмена губки.

Практическая ценность

- Установлен факт наличия наноструктурной иерархии материала спикул и выявлен иерархический контроль в процессе их формирования.

- Установлено влияние воды на структурные и физические свойства спикул. Выявление различной степени конденсированности оксида кремния в поперечном сечении спикул и его метастабильного состояния позволило предположить возможность модификации наноструктурной организации материала спикул.
- Обоснована волноводная модель спикул глубоководных губок. Показано, что наличие в спикулах морских губок периодических аксиальных цилиндрических слоев приводит к формированию фотонно-кристаллического режима распространения по ним излучения, основанного на образовании запрещенных фотонных энергетических зон. При этом спикулы губок являются аналогами одномерных фотонных кристаллов.
- Полученные результаты исследований используются при создании наноструктурированных оптических материалов для систем фотоники.

Основные защищаемые положения

1. Спикулы морских глубоководных губок и *Pheronema sp.*, *Pheronema raphanus*, *Coronema sp.*, *Sericolophus sp.* и *H. sieboldy* представляют собой нанокompозитную трехмерную слоистую периодическую структуру, состоящую из органического матрикса и аморфного оксида кремния с размером частиц от 40 до 70 нм.
2. Основным компонентом в материале спикул, определяющим стабильность их структуры и свойств, является вода.
3. Спикулы морских глубоководных губок являются природными одномерными фотонными кристаллами.
4. Морская глубоководная губка *Ph. raphanus* имеет хлоропласты и устойчивую симбиотическую ассоциацию с цианобактериями. При этом значительная часть симбионтов в губке фотосинтетически активна и на 10-30% покрывает её энергетические затраты.
5. Спикулы морской глубоководной губки *Ph. raphanus* имеют двойное назначение: обеспечивают прочный каркас тела губки, а также предназначены для улавливания светового излучения и доставки его к фотосинтезирующим симбионтам.

Достоверность полученных результатов заключается в последовательном и корректном применении современных методов анализа морфологии, структуры химического и фазового состава, методов исследования спектральных и волноводных свойств спикул глубоководных губок и их согласованности с результатами работ других исследовательских групп.

Апробация результатов работы. Результаты диссертационной работы были представлены в 4 устных докладах на российских конференциях (XXIII школа «Нелинейные волны, 2006», Нижний Новгород; 7-ой Региональной Научной Конференции «Физика: фундаментальные и прикладные исследования, образование» Владивосток, 15-18 октября, 2007; XII Межрегиональной

конференции молодых ученых по физике полупроводниковых диэлектрических и магнитных материалов (ПДММ-2009), Владивосток, 17-20 июня, 2009), в 2 устных докладах на международных симпозиумах (16th International Symposium “Nanostructures: Physics and Technology”, Vladivostok, Russia, July 14-18, 2008; 17th International Symposium “Nanostructures: Physics and Technology” Minsk, Belarus, June 22-26, 2009) с 2006 по 2009 гг.

Публикации. По материалам диссертации опубликованы 13 статей, в том числе 6 статей в журналах входящих в Перечень изданий ВАК РФ.

Личный вклад автора заключается в сборе, подготовке и консервации, включая криосохранение образцов и препаратов морских глубоководных губок, а также в проведении всех исследований их морфологии, структурной организации и физико-химических свойств. Автор обрабатывал основные экспериментальные данные и интерпретировал их, участвовал в обсуждении и написании статей. Вошедшие в диссертацию результаты отражают итоги исследований, проведенных автором в ИАПУ ДВО РАН совместно с сотрудниками отдела оптоэлектронных методов измерений газообразных и конденсированных сред.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, пяти глав, заключения и списка цитируемой литературы. Общий объем диссертации составляет 152 страницы, включая 63 рисунка, 9 таблиц и список литературы из 144 наименования.

КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении сформулирована цель работы и ее актуальность, определены основные задачи, указаны новизна и практическая ценность работы, изложены основные защищаемые положения и описана структура диссертации.

В первой главе приведен анализ работ по исследованию морфологических, структурных и оптических свойств морских глубоководных губок и их структурных фрагментов (спикул), а также определены перспективные направления исследований в области биологии, биофизики, оптики и технологии. Приведены исследования морфо-функциональных свойств спикул губок классов Hexactinellida и Demospongiae. Показано, что глубоководные губки обитают в условиях повышенной концентрации кремния и могут формировать длинные кремнийорганические моноаксонные спикулы. Такие структуры сочетают прочность, гибкость [4-5, 9-10] и оптическую прозрачность [11-14]. В связи с этим перспективным направлением исследований является комплексное исследование структурных, физико-химических и оптических свойств таких структур с целью создания новых биомиметических материалов для различных отраслей производства. Исследован общий химический состав и светопроводящие свойства спикул. Отмечено, что спикулы глубоководных губок обладают светопроводящими свойствами в широком диапазоне длин волн,

сравнимыми с таковыми для многомодового волоконного световода [13]. При этом в работах не обозначены проблемы влияния воды и наноструктурной организации спикул на спектрально-селективные характеристики и физико-химические свойства спикул. Основной нерешенной проблемой исследований остается объяснение наличия светопроводящих свойств спикул морских глубоководных губок, обитающих на большой глубине в отсутствии дневного света. Не исследован механизм возникновения и потребления светового излучения данными животными. В работах [11, 13-16] результаты исследований напрямую, либо косвенно, свидетельствуют о том, что морские глубоководные губки имеют фоторецепторную систему и активно используют световое излучение для систем жизнеобеспечения. Для подтверждения выдвинутой гипотезы, необходимо понять природу излучения, улавливаемого губкой, в отсутствие солнечного света на глубине их обитания, а также выявить потребителей-фототрофов и их роль в системе жизнеобеспечения губки.

Во второй главе приведено краткое описание методов, использованных в данной работе, а именно – сканирующая электронная микроскопия (СЭМ), рентгеновский энерго-дисперсионный микроанализ (ЭДС), зондовая атомно-силовая микроскопия (АСМ), флуоресцентная конфокальная микроскопия, оптическая спектроскопия твердых тел, рентгенофазовый анализ (РФА), спектроскопия ядерно-магнитного резонанса (ЯМР), дифференциальный термогравиметрический анализ (ДТГА), малоугловое рентгеновское рассеяние (МУРР). Приведены схемы экспериментальных установок, методы подготовки образцов, расчеты структурных единиц спикул из спектров МУРР и оптических параметров из спектров пропускания.

В третьей главе приведены результаты исследования морфо-функциональной организации и физико-химических свойств спикул глубоководных губок *H. sielbody* и *Pheronema sp.*, *Ph. raphanus*, *Coronema sp.*, *Sericolophus sp.* и их структурных фрагментов. Показано, что спикулы представляют собой трехмерную структуру, состоящую из органического матрикса на основе хитина [5] или коллагена [4, 5] и минеральной компоненты, наночастиц двуокиси кремния размером 40-70 нм. Рост спикул представляет собой периодический процесс наращивания слоев оксида кремния на органический матрикс. Формирование спикул происходит вокруг полого центрального канала 2x2 мкм, содержащего аксиальную нить. При формировании спикулы толщина слоев постепенно уменьшается от центра к периферии и варьируется от 2 до 0,3 мкм (рис 1).

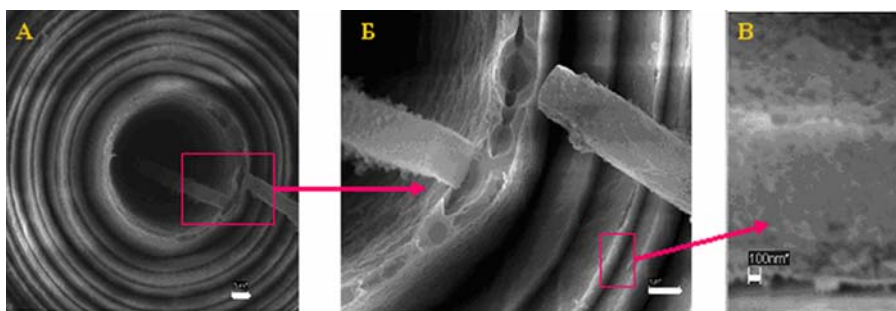


Рис. 1. Морфология спикул глубоководной губки *Ph. garphanus*, СЭМ анализ: а – поверхность поперечного среза спикулы после обработки плавиковой кислотой, шкала 2 мкм; б – фрагмент центрального цилиндра, шкала 1 мкм; в – наночастицы оксида кремния, шкала 100 нм.

О композитном составе и регулярной структуре исследуемых образцов губок свидетельствуют результаты АСМ в режиме фазового контраста, представленные на рис. 2(б). Отчетливо видны переходы одного фазового состава в другой, что отображается в виде топографических неровностей на поверхности исследуемого материала. Для сравнения на рис. 2(в) приведен тот же участок спикулы в режиме топографии поверхности.

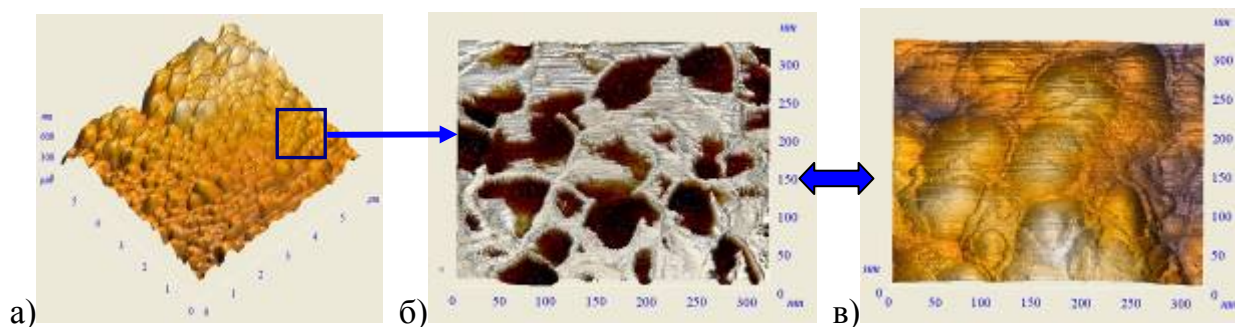


Рис. 2. АСМ изображения фрагментов диактин губки *Pheroneta sp.*: а, - продольный срез спикулы, измерения в режиме топографии поверхности; б – поперечный срез измерения в режиме фазового контраста, в – поперечный срез спикулы, измерения в режиме топографии поверхности.

Результаты СЭМ анализа свидетельствуют о том, что материал спикул имеет различную устойчивость к реактивам травления наблюдаются зоны, где травление плавиковой кислотой происходит намного быстрее, по сравнению с остальными участками спикулы. Так, наибольшая устойчивость материала спикулы к плавиковой кислоте была отмечена для ее центральной части – аксиального канала и центрального цилиндра, тогда как слоистая область спикулы обладает средней устойчивостью к реактивам травления. Самой низкой устойчивостью к раствору плавиковой кислоты обладает участок, отделяющей центральный цилиндр спикулы от ее слоистой области (рис. 3, стрелками указаны зоны с низкой устойчивостью к HF).

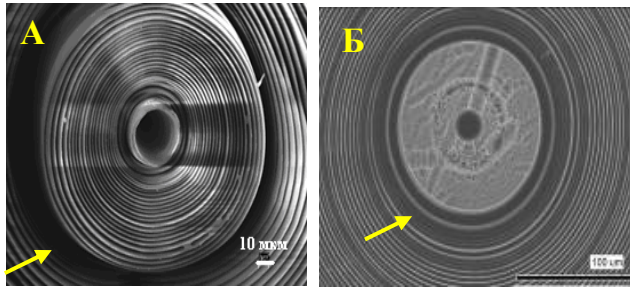


Рис 3. СЭМ фотографии поперечных срезов спикул, показывающие степень устойчивости материала спикул к плавиковой кислоте: а) губки *Ph. raphanus*, шкала 10 мкм; б) губки *Sericolophus sp.* шкала 100 мкм.

Комплексное исследование материала спикул на предмет различной устойчивости к реактивам травления было проведено методами ЯМР и ЭДС. Методом ЯМР ^{29}Si показано, что степень гидратированности оксида кремния для всех исследованных спикул находится в одинаковых пределах: 57 - 67% приходится на оксид кремния (IV) SiO_4 , 30-40% - на моногидратированный $\text{Si}(\text{OSi})_3\text{OH}$ и 3-9% на дигидратированный $\text{Si}(\text{OSi})_2\text{OH}_2$, что свидетельствует о развитой поверхности исследуемых образцов. Методом ЭДС микроанализа исследован химический состав и распределение химических элементов в поперечном сечении спикул. Для всех спикул губок, вне зависимости от их видовой принадлежности и функционального назначения, отмечено наличие кремния (в виде SiO_2), кислорода (в виде оксидов и карбонатов), углерода (предположительно органического происхождения, хотя частично в виде адсорбированного поверхностью CO_2) и катионов K^+ и Na^+ в малых концентрациях. Результаты исследования распределение химических элементов в поперечном сечении спикул, свидетельствуют о наличии связи между степенью конденсированности (гидратированности) оксида кремния в различных участках спикул с эластичными свойствами материала, которые, в свою очередь, связаны с локальной концентрацией катионов Na^+ и K^+ . Полученные результаты также свидетельствуют о наличии механизма, позволяющего формировать композитный материал спикул в зависимости от их функционального назначения в губке.

Результаты рентгенофазового анализа спикул губок *Ph. raphanus*, *H. sielbody*, *Coronema sp.*, *Sericolophus sp.* показали, что все исследуемые образцы

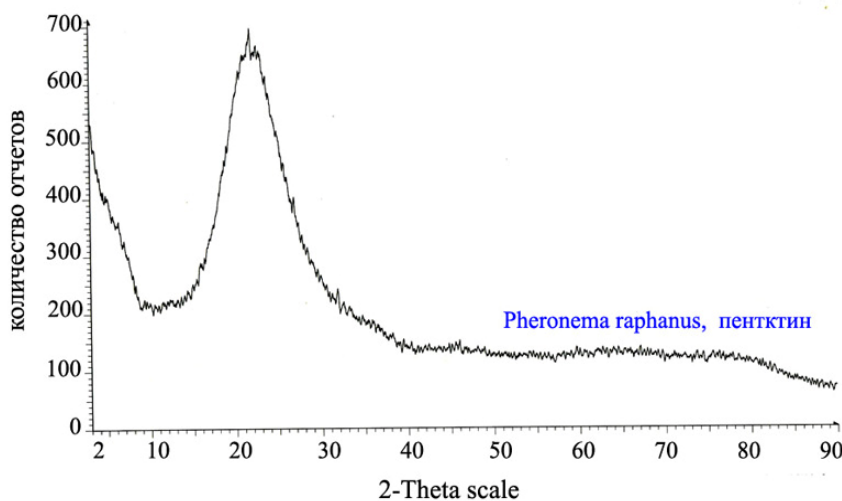


Рис. 4. РФА спикул губки *Ph. raphanus*.

рентгеноаморфны, но имеют структурную упорядоченность (рис. 4). Для всех исследованных образцов спикул наблюдается одинаковая форма рентгеновских кривых: рассеяние при углах 2θ в диапазоне 4-90 $^\circ$, с максимумом рассеяния при 21-25 $^\circ$, соответствующий аморфному оксиду

кремния (IV) [10]. При углах 2θ в диапазоне $27-32^\circ$ наблюдаются слабовыраженные рентгеновские рефлексы кристалличности, что свидетельствует об упорядоченности и наличии периодичности в структуре спикул. Результаты рентгенофазового анализа также показали, что спикулы глубоководных губок - полидисперсные системы т.к. имеют максимум при малых углах рассеяния.

Для исследования влияния воды (структурной и адсорбированной) на физико-химические свойства спикул был проведен их термический анализ в диапазоне температур $40 - 320^\circ\text{C}$. Исследования методом термогравиметрии показали, что наличие адсорбированной воды в спикулах губок находится пределах $10,5-12\%$. При нагревании до температуры 120°C спикулы сохраняют оптическую прозрачность, что свидетельствует о высокой стабильности их физико-химических свойств, обусловленных слоистостью их структуры и содержанием воды, обладающей высокой теплоемкостью. Последующее нагревание спикул до 150°C приводит к старению материала и частичному разрушению структуры спикул. Полное

разрушение структуры спикул наблюдается при температуре от 320°C и выше.

Исследования спикул губки *Ph. raphanus* методом ДТГА (рис. 5) показали существенное качественное различие в процессах, наблюдаемых у нативных спикул и спикул после обработки дистиллированной водой. Различия термоокислительного распада для необработанных и обработанных водой спикул заключаются в количестве экзотермических стадий окисления органического вещества, а также перестройке структуры спикул, что объясняется комбинированным составом материала спикул и слоистостью их структуры. При этом дополнительная гидратация либо удаление адсорбированной воды из материала спикул изменяет

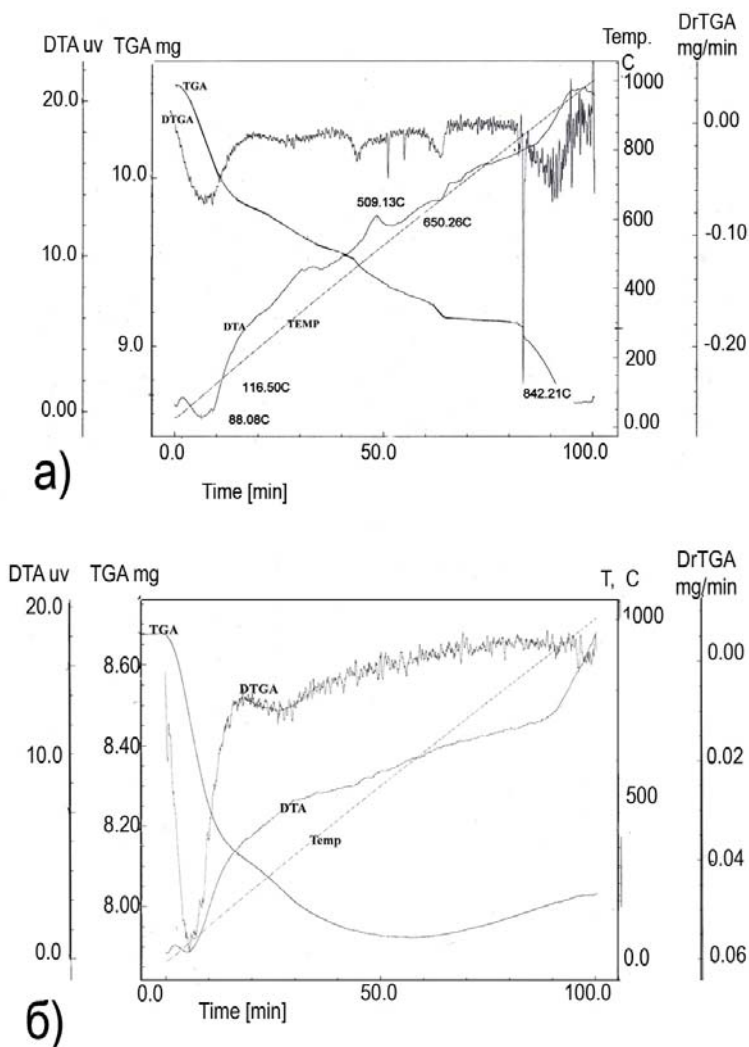
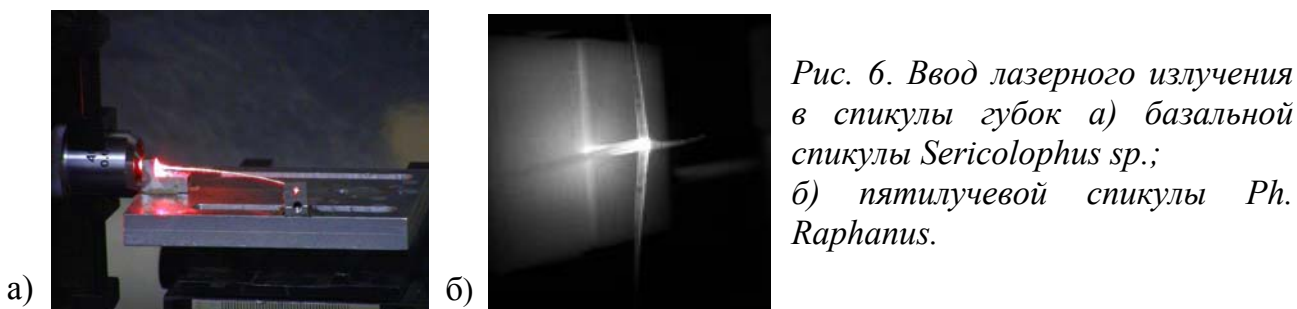


Рис. 5. ДТГА базальных спикул губки *Ph. raphanus*: а) без предварительной обработки, б) после обработки дистиллированной водой

химическую природу их кремнийорганического скелета.

В четвертой главе приведены результаты исследования оптических свойств спикул глубоководных губок. Исследования светопроводящих свойств спикул глубоководных губок показали, что они по своим оптическим характеристикам близки к кварцевым волоконным световодам. Вследствие достаточно большой разности показателя преломления материала спикул ($n=1,41-1,48$) [12] и окружающей среды (воздух, $n=1$ или морская вода, $n=1,3$), спикулы различных видов губок способны поводить световое излучение (рис. 6) в широком диапазоне длин волн.



Методом УФ-ИК спектрофотометрии исследованы спектрально-селективные свойства спикул глубоководных губок в диапазоне длин волн 190-1800 нм. Показано, что для спикул характерен широкий спектральный диапазон пропускания 300 - 1400 нм (рис 7а). Потери проходящего излучения в диапазоне длин волн 530 – 1120 нм составляют $\sim 0,1$ дБ/м. Потери световой мощности в спикулах глубоководных губок обусловлены поглощением света органическим матриксом спикул в диапазоне длин волн 200-280 нм, а также Рэлеевским рассеянием, обусловленным наличием флуктуаций плотности в материале спикул, эффективность которого падает $\sim \lambda^{-4}$ [13]. Наличие воды в материале спикул приводит к поглощению на длинах волн 1410 – 1800 нм.

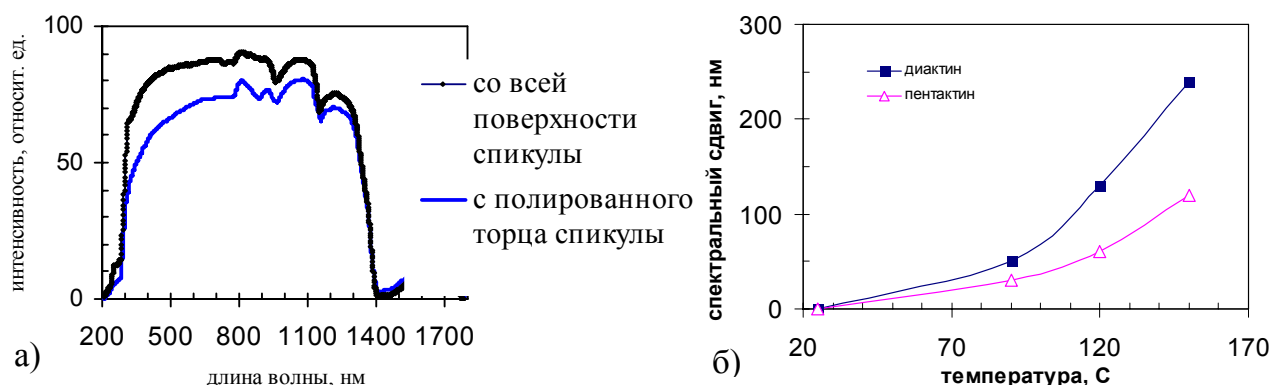


Рис. 7. а) Характеристики спектрального пропускания материала базальной спикулы *Sericolophus sp.*; б) зависимость сдвига коротковолнового края спектра пропускания материала спикул губки *Ph. raphanus* от температурной обработки.

Результаты исследований спектральных характеристик спикул при нагревании свидетельствуют о стабильности структуры и существенном вкладе воды на

спектральные характеристики их материала. Показано, что температурное воздействие на спикулы в диапазоне температур 40-150 °С влияет на характер распространения по ним светового излучения, что проявляется в спектральном сдвиге коротковолнового края спектра пропускания (рис. 7б). Спектральный сдвиг коротковолнового края полосы пропускания определяется изменениями физико-химического состояния спикул при их нагревании: уплотнение слоев оксида кремния, изменение показателя преломления и структурной деградация материала спикул. При этом наблюдаемый спектральный сдвиг также зависит от функционального назначения спикул в губке, которое в свою очередь задает определенное соотношение высоко и низко гидратированных зон оксида кремния в материале спикул.

Разработана и обоснована модель спикулы как аксиального многослойного цилиндрического световода – одномерного фотонного кристалла (рис. 8). Показано, что многослойные аксиальные оболочки спикул с градиентом показателей преломления вокруг полой сердцевины (аксиального канала) образуют одномерный фотонный кристалл (ФК). Это свойство периодических структур позволяет достичь низкого уровня потерь для мод полых волноводов с коаксиальной брэгговской оболочкой [17]. Исходя из сделанных предположений, в случае если $\sin\alpha \geq \sin\alpha_0 = n_i/n_0$, где α_0 – угол полного внутреннего отражения для материала сердцевины по отношению к окружающей среде с показателем преломления n_i , на границе раздела “спикула - окружающая среда” будет происходить полное внутреннее отражение световой волны. Поскольку после каждого отражения вся мощность направляемых волн полностью возвращается в спикулу, то такие волны могут распространяться без затухания на большие расстояния в виде собственных мод световода.

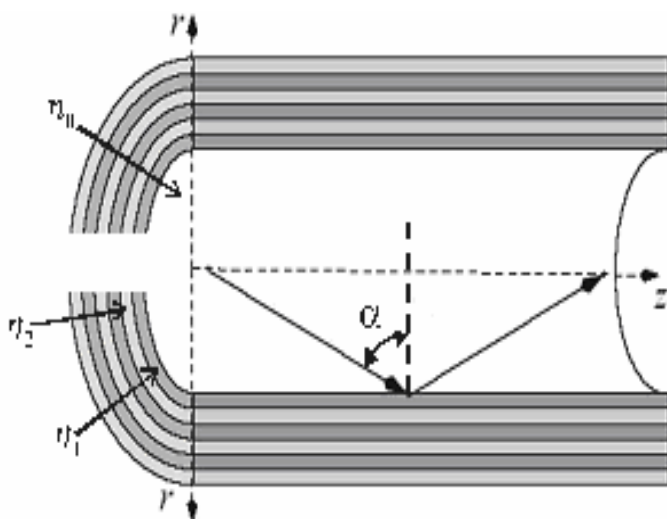


Рис. 8. Модель спикул как аксиального многослойного световода: ($n_1 < n_0, n_2$) n_0 – показатель преломления аксиального канала спикулы; n_1 – показатель преломления слоев SiO_2 ; n_2 – показатель преломления органического матрикса; α – угол падения световой волны; (\vec{r}, z) – цилиндрические координаты.

Для обнаружения направляемых брэгговских мод и оценки по ним возможных значений n_1 и n_2 была проведена серия измерений по пропусканию лазерного излучения с длиной волны $\lambda = 632$ нм через спикулы. Регистрировалась зависимость интенсивности излучения на выходе спикулы с учетом френелевского отражения

излучения на входном торце как функции параметра $x=n_0\sin\alpha$, при которых в сердцевине спикулы может возбудиться брэгговская мода. Экспериментальные исследования показали, что доля брэгговских мод в общей интенсивности прошедшего света невелика (около 1 %), что связано с их плохим возбуждением в квазипериодических слоистых средах.

Для подтверждения наличия фотонно-кристаллических свойств у спикул стеклянных губок изучался процесс прохождения через них импульсов лазерного излучения фемтосекундной длительности. Анализ сравнительного отношения спектров прошедшего и входного импульсов (рис. 9) показал на фотонно-кристаллический характер распространения светового излучения в спикулах [13].

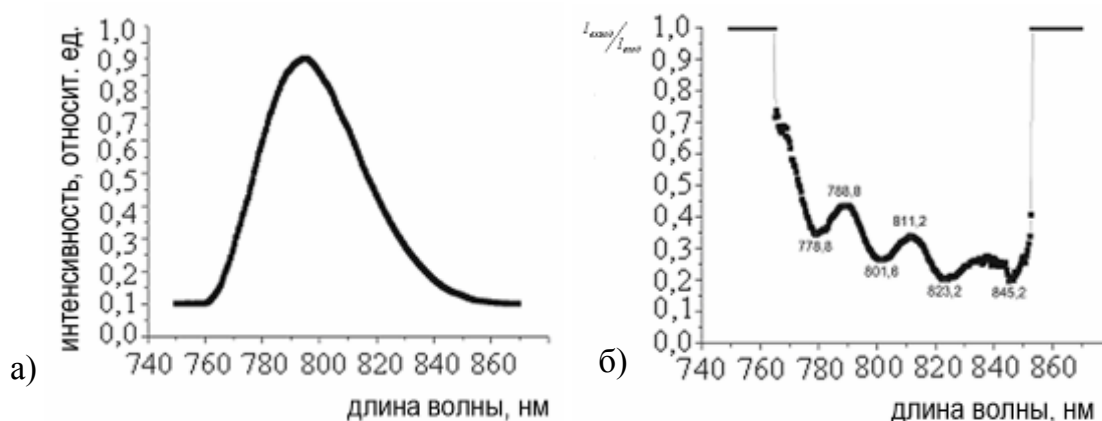


Рис. 9. а) спектр фемтосекундного лазерного импульса, на входе в спикулу; б) спектр пропускания излучения, регистрируемый на выходе из базальной спикулы губки *H. sieboldi*.

В пятой главе приведены результаты исследования пигментного состава и симбиотической ассоциации губки *Ph. raphanus*. Для подтверждения наличия в губке *Ph. raphanus* симбиотической ассоциации с фотосинтезирующими бактериями методом УФ-ИК спектроскопии исследовали ацетоновые экстракты пигментов на присутствие в них хлорофилла и каротиноидов [18]. Исследования показали, что основная доля приходится на функциональный хлорофилл *a* (0.65 мкг/г сырой массы) и только 0.05 мкг/г – на продукты его распада - феофитин *a*. Это свидетельствует, что большая часть симбионтов в губке физиологически активна и участвует в процессе фотосинтеза [19]. При этом концентрации хлорофилла *a* в тканях губки *Ph. raphanus*, значительно меньше, чем у большинства мелководных губок тропических рифов и составляют 1/3 от их среднего значения [16]. Это свидетельствует о том, что процессы фотосинтеза, проходящие в тканях губки за счет симбиотической ассоциации с фотосинтезирующими бактериями, только частично, покрывают ее энергетические затраты. Участки локализации хлоропластов в теле губки, соответствующих участкам локализации фотосинтезирующих симбионтов, исследовали методом лазерной индуцированной флуоресценции (ЛИФ). Исследования показали, что интенсивность флуоресценции спикул из базальной части губки в 30 раз меньше интенсивности флуоресценции ее хоаносоматической

части. Это свидетельствует о том, что хлоропласты и фотосинтетически активные симбионты локализованы в хоаносоматической часть губки на отдельных лучах мегасклерных спикул. Методом сканирующего зонда исследованы оптические характеристики ламинирующих оболочек спикул различной геометрии и функционального назначения (рис 10, диаграммы совмещены с фотографиями спикул таким образом, что точки съема излучения на диаграммах соответствуют областям на фотографиях. Это позволило связать характерные точки диаграмм с геометрическими

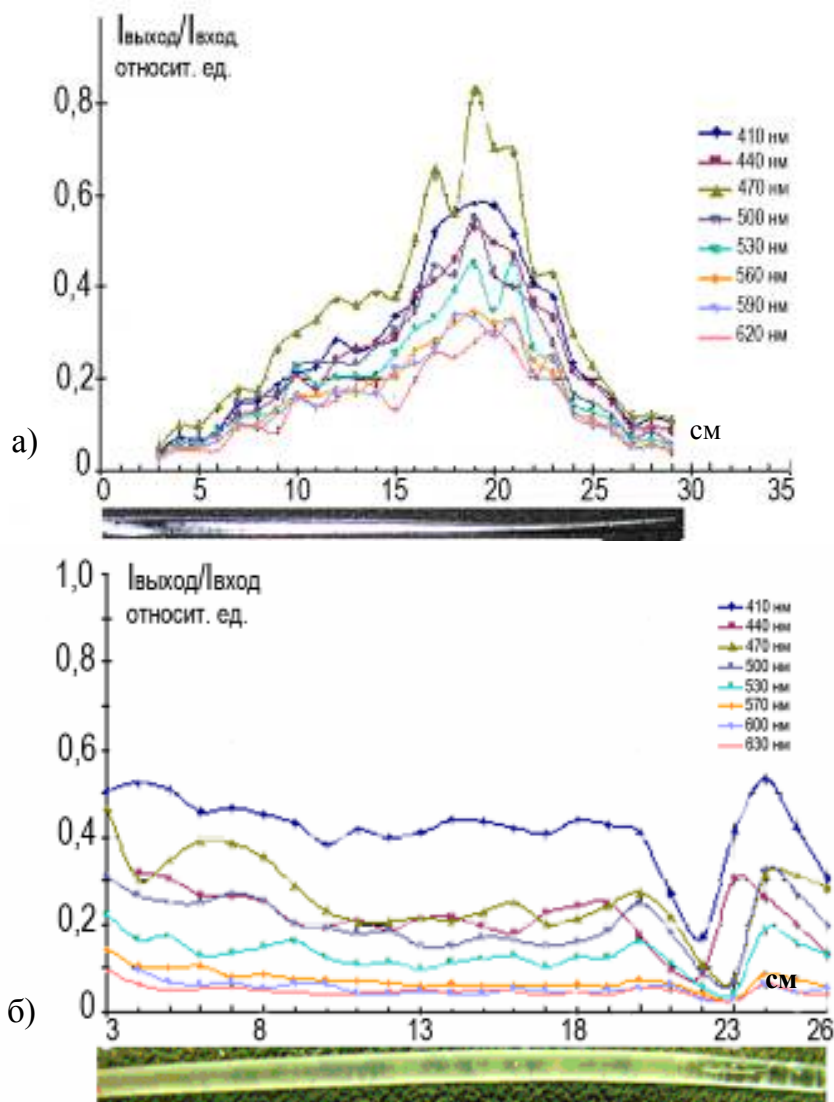


Рис. 10. Интенсивность рассеяния излучения боковой поверхностью спикул губки *Ph. raphanus* от длины спикулы: а, - пентактина; б - диактина.

характеристиками и неоднородностями спикул). Анализ интенсивности рассеяния излучения боковой поверхностью спикул губок, показал, что максимум полосы излучения регистрируемый в диапазоне 440-530 нм, находится в окне прозрачности вод Океана и соответствует одному из максимумов поглощения хлорофилла [18]. Полученные данные демонстрируют возможность работы спикул как световодов в указанном диапазоне длин волн. На основе комплексных исследований морфологии, оптических и структурных характеристик обосновано двойное назначение спикул в губке *Ph. raphanus*: обеспечение механической прочности, а также улавливание и доставка светового излучения к фотосинтезирующим симбионтам, а также выдвинута гипотеза о наличии в морской глубоководной губке *Ph. raphanus* фоторецепторной системы и об оптическом механизме ее жизнеобеспечения.

Основные результаты и выводы

- Спикулы морских глубоководных губок и *Pheronema sp.*, *Ph. raphanus*, *Coronema sp.*, *Sericolophus sp.* и *H. Sieboldy* являются многослойными аксиальными структурами, толщина слоев в которых уменьшается от центра к периферии и изменяется в пределах от 2 до 0,5 мкм. Размеры и геометрия спикул зависят от их функционального назначения и месторасположения в губке.
- Материал спикул состоит из органического матрикса и аморфного оксида кремния с размером частиц от 40 до 70 нм. Основной характеристикой материала является различная степень гидратированности оксида кремния по поперечному сечению, которая определяется локальной концентрацией катионов Na^+ и K^+ .
- Материал спикул глубоководных губок имеет спектрально-селективные характеристики пропускания в области длин волн 190-1900 нм, что определяется функциональными особенностями, а также природой материала спикул. При этом сочетание трехмерной периодической структуры из органического матрикса и наноразмерного аморфного гидратированного оксида кремния способствует пропусканию в области длин волн 300-1410 нм, а также приводит к поглощению излучения в области коротковолнового ультрафиолета. Потери проходящего излучения в диапазоне длин волн 530 – 1120 нм, обусловленные Рэлеевским рассеянием на неоднородностях структуры, составляют ~ 0,1-0,15 дБ/м. Наличие воды в материале спикул приводит к поглощению на длинах волн 1410 – 1900 нм. Результаты исследований спектральных характеристик спикул при нагревании свидетельствуют о стабильности структуры и существенном вкладе воды на спектральные характеристики их материала.
- Наличие в спикулах губок периодических аксиальных цилиндрических слоев размеров, способствует формированию фотонно-кристаллического режима распространения излучения, основанного на образовании запрещенных фотонных энергетических зон, что позволяет отнести спикулы глубоководных губок к аналогам природных одномерных фотонных кристаллов.
- Морская глубоководная губка *Ph. raphanus* имеет хлоропласты и устойчивую симбиотическую ассоциацию с цианобактериями. Значительная часть симбионтов в губке фотосинтетически активна и на 10-30% покрывает её энергетические затраты.
- На основе комплексных исследований функционирования, морфологии и структурной организации губки *Ph. Raphanus* и её спикул выдвинута гипотеза о наличии в морской глубоководной губке фоторецепторной системы и об оптическом механизме ее жизнеобеспечения.

Материалы диссертационной работы полностью отражены в следующих публикациях:

1. Кульчин Ю.Н. Вознесенский С.С., Галкина А.Н., Дроздов А. Л., Гнеденков С.В., Курявый В.Г., Мальцева Т.Л., Чередниченко А.Н. Физико-химические свойства биоминеральных структур кремнийсодержащих морских организмов. // *Вестник ДВО РАН*. 2007. Т. 131, №1. С.27-41. (из перечня ВАК РФ).
2. Дроздов А.Л., Букин О.А., Галкина А.Н., Голик С.С., Жукова Н.В., Кульчин Ю.Н., Нагорный И.Г., Чербаджи И.И. Симбионтные цианобактерии в шестилучевой губке *Hyaloplacoida Echinum* (Lyssacinosida; Hexactinellida) // Сборник научных трудов «Перспективные направления развития нанотехнологий на Дальнем Востоке России». Владивосток, Дальнаука, 2007. С. 64-79.
3. Вознесенский С.С., Галкина А.Н., Мальцева Т.Л. Физико-химические и структурные характеристики кремнийорганических спикул стеклянных морских губок // тезисы 7-ой Региональной Научной Конференции «Физика: фундаментальные и прикладные исследования, образование» Владивосток, 15-18 октября, 2007. С.78.
4. Кульчин Ю.Н., Букин О.А., Вознесенский С.С., Галкина А.Н., Гнеденков С.В., Дроздов А.Л., Курявый В.Г., Мальцева Т.Л., Нагорный И.Г., Синебрюхов С.Л., Чередниченко А.И. Биологический вид волоконных световодов // Сборник научных трудов и материалов лекций, прочитанных на XXIII школе «Нелинейные волны, 2006», Нижний Новгород, ИПФ РАН, 2007. С. 548-559.
5. Кульчин Ю.Н., Букин О.А., Вознесенский С.С., Галкина А.Н., Гнеденков С.В., Дроздов А.Л., Курявый В.Г., Мальцева Т.Л., Нагорный И.Г., Синебрюхов С.Л., А.В. Чередниченко. Волоконные световоды на основе природных биоминералов — спикул морских губок. // *Квантовая электроника*, 2008. Т. 38, №1, С. 51-55. (из перечня ВАК РФ).
6. Дроздов А.Л., Букин О.А., Вознесенский С.С., Галкина А.Н., Голик С.С., Жукова Н.В., Кульчин Ю.Н., Нагорный И.Г., Чербаджи И.И. Симбионтные цианобактерии в шестилучевых губках (Porifera: Hexactinellida) // *Доклады Академии Наук*, 2008. Т. 420, № 4. С. 565-567. (из перечня ВАК РФ).
7. Voznesenskiy S.S., Galkina A.N., Kulchin Yu.N. The features of nanostructured biosilica // Proceeding of 16th International Symposium “Nanostructures: Physics and Technology”. Vladivostok, Russia, July 14-18, 2008. P. 50-51.
8. Kulchin Yu.N., Bezverbny A.V., Bukin O.A., Voznesensky S.S., Galkina A.N., Drozdov A.L. and Nagorny I.G. Optical and Nonlinear Optical Properties of Sea Glass Sponge Spicules. // *Marine Molecular Biotechnology, Ed. by W.E.G Müller. Springer-Verlag: Berlin.*, 2009. P. 315-340. (из перечня ВАК РФ).
9. Кульчин Ю.Н., Вознесенский С.С., Букин О.А., Безвербный А.В., Дроздов А.Л., Нагорный И.Г., Галкина А.Н. Спикулы стеклянных губок как новый тип

самоорганизующихся природных фотонных кристаллов. // Оптика и спектроскопия, 2009. Т. 107, № 3, с. 468-473. (из перечня ВАК РФ).

10. Галкина А.Н., Вознесенский С.С., Кульчин Ю.Н., Сергеев А.А. Наноструктурные особенности биокремния морского происхождения // Химическая физика и мезоскопия, 2009. Т. 11, №3. С. 310-314. (из перечня ВАК РФ).
11. Voznesenskiy S.S., Galkina A.N., Kulchin Yu.N. The natural nanostructured materials as promising material for biomimetic simulation // Proceeding of 17th International Symposium “Nanostructures: Physics and Technology”. Minsk, Belarus, June 22-26, 2009. P. 238-239.
12. Галкина А.Н., Вознесенский С.С., Кульчин Ю.Н., Сергеев А.А. Наноструктурные особенности биокремния морского происхождения // Сборник трудов XII Межрегиональной конференции молодых ученых по физике полупроводниковых диэлектрических и магнитных материалов (ПДММ-2009), г. Владивосток, 17-20 июня 2009. С. 306-310.
13. Вознесенский С.С., Галкина А.Н., Кульчин Ю.Н., Сергеев А.А. Механизм жизнеобеспечения морских стеклянных губок // Сборник трудов XII Межрегиональной конференции молодых ученых по физике полупроводниковых диэлектрических и магнитных материалов (ПДММ-2009), г. Владивосток, 17-20 июня 2009. С. 332-335.

Список цитируемой литературы

- [1] Fratzl P. Biomimetic materials research: what can we really learn from nature’s structural materials. Journal of Royal Society. Interface, 2007. Vol. 4 P. 637-642.
- [2] Mayer G., Sarikaya M. Rigid biological composite materials: structural examples for biomimetic design. Exp Mech., 2002. Vol. 42. P. 395-403.
- [3] Currey, J. D. Hierarchies in biomineral structures. SCIENCE, 2005. Vol. 309. P. 253-254.
- [4] Эрлих Г., Ересковский А. В., Дроздов А. Л., Крылова Д. Д., Ханке Т., Майснер Х., Хайнеман С., Ворх Х. Современный подход к деминерализации спикул стеклянных губок (Porifera: Hexactinellida) с целью извлечения и исследования протеинового матрикса. // Биология моря, 2006. Т. 32, №3. С. 217-224.
- [5] Ehrlich Herman, Hartmut Worch. Sponges as natural composites: from boimimetic potential to development of new biomaterials. // Proceeding of 7th International Sponge Symposium «Porifera Research: biodiversity, innovation and sustainability – 2007», Rio de Janeiro, Brazil. P. 303-312.
- [6] Müller W.E.G., Krasko A., Gael le Pennac, Schröder H. C. Biochemistry and cell biology of silica formation in sponge. Microscopy Research and Technique, 2003. Vol. 62. P. 368-377.

- [7] Aizenberg J., Weaver J. C., Thanawala M. S., Sundar V. C., Morse D. E., Fratzl P. Skeleton of *Euplectella sp.*: Structural Hierarchy from the Nanoscale to the Macroscale. *SCIENCE*, 2005. Vol. 309. P. 275-278.
- [8] Weaver, J.C., Pietrasanta Lia I., Hedin N., Achmelka B. F., Hansma P. K., Morse D. E. Nanostructural features of demosponge biosilica. // *Journal of Structural Biology*. 2003. Vol. 144 P. 271-281.
- [9] Müller W. E.G., Eckert C., Kropf K., Xiaohong Wang, Scholobmacher U., Seckert Ch., Stephan E. Wolf, Tremel W., Schroder H.C. Formation of giant spicules in deep-sea hexactinellid *Monorhaphis chini*: electron-microscopic and biochemical studies. *Cell Tissue Research*. 2007. Vol. 329, P. 363-378.
- [10] Sandford F. Physical and chemical analysis of the siliceous skeletons in six sponges of two groups (Demospongiae and Hexactinellida). *Microscopy Res. and Tech.*, 2003. Vol. 62. pp. 336-355.
- [11] Müller W. E.G., Wendt K., Geppert Ch., Wiens M., Reiber A., Schröder H. C. Novel photoreception system in sponges? Unique transmission properties of the stalk spicules from the hexactinellid *Hyalonema sieboldi*. *Biosensors and Bioelectronics*, 2006. Vol. 21. P. 1149–1155.
- [12] Aizenberg J., Vikram C. Sundar, Yablon A. D., Weaver J. C., Gang Chen. Biological glass fibers: Correlation between optical and structural properties. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the USA*. 2004. Vol. 101, P. 3358–3363.
- [13] Кульчин Ю.Н., Багаев С.Н., Букин, О.А., Вознесенский С.С, Дроздов А.Л., Зинин Ю.А., Нагорный И.Г., Пестряков Е.В., Трунов В.И. Фотонные кристаллы на основе природных биоминералов океанического происхождения. // *Письма ЖТФ.*, 2008. Т. 34, №15. С. 1-7.
- [14] R. Cattaneo-Vietti, G. Bavestrello, C. Cerrano, A. Sarà, U. Benatti, M. Giovine and E. Gaino, Optical fibres in an Antarctic sponge. *Nature*, 1996. Vol. 383. P. 397-398.
- [15] Beaulieu S.E. Life in glass houses: sponge stalk communities in the deep sea // *Mar. Biol*. 2001. V.138. P. 803-817.
- [16] Wilkinson C.R., Trott L.A. Light as a factor in distribution of sponges // *PCRS-5*, 1985. Vol. 5. P. 125-130.
- [17] Желтиков А.М. Микроструктурированные световоды в оптических технологиях. М.: ФИЗМАТЛИТ, 2009. - 192с.
- [18] И.И. Гительзон, Л.А.Левин, Р.А. Утюшев, О.А. Черепанов, Ю.В. Чугунов. Билюминесценция в океане. С.-Петербург: Гидрометеиздат, 1992. - 282 с.
- [19] Lorenzen C. J. Determination of chlorophyll and phaeopigments: spectrophotometric equations. // *Limnology and Oceanogy*, 1967. Vol. 12. №2. P. 343-346.

Галкина Анна Николаевна

Биофизические и оптические характеристики спикул морских
глубоководных губок

Автореферат

Подписано к печати 20.11.2009 г.
Формат 60×84/16

Усл. п. л. 0,8
Тираж 120.

Уч. изд. л. 0,7
Заказ 47

Издано ИАПУ ДВО РАН. 690041, г. Владивосток, ул. Радио , 5.

Отпечатано группой оперативной полиграфии ИАПУ ДВО РАН.
690041, г. Владивосток, ул. Радио, 5

