



УДК 582.261.1:581.57

Т. В. Ефимова, аспирант, **А. И. Акимов**, м. н. с.

Институт биологии южных морей им. А.О.Ковалевского Национальной академии наук Украины, Севастополь, Украина

ВЛИЯНИЕ СПЕКТРАЛЬНОГО СОСТАВА СВЕТА НА РОСТ И СОДЕРЖАНИЕ ПИГМЕНТОВ В *SYNECHOCOCCUS ELONGATUS* NÄGELI

У *Synechococcus elongatus*, адаптированной к свету различного спектрального состава (белый, синий, зелёный, красный), максимальная скорость роста наблюдалась на красном свете, а минимальная – на синем. На белом и зелёном свете скорости роста были примерно равны. Достоверных изменений внутриклеточного содержания пигментов и соотношения пигментов в клетках не наблюдалось, в связи с чем можно заключить, что у *S. elongatus* отсутствует комплиментарная хроматическая адаптация.

Ключевые слова: Адаптация, *Synechococcus elongatus*, спектральный состав света, скорость роста, пигменты

Одним из наиболее значимых факторов для роста сине-зелёных водорослей является свет. Поскольку фотосинтетически активная радиация (ФАР) с глубиной уменьшается [14] и спектрально изменяется [2], клетки оказываются в различных условиях по интенсивности и спектральному составу света. Сине-зелёные водоросли адаптируются к различным световым условиям путём оптимизации поглощения света фикобилипротеинами и хлорофиллом *a* (Хл *a*) [10, 22]. Поглощение света каротиноидами менее значимо для фотосинтеза, так как они прежде всего обеспечивают защиту от повреждающего действия ультрафиолетового излучения.

Большинство исследований в области световой адаптации посвящено влиянию белого света различной интенсивности на пигментный состав и фотосинтетические параметры водорослей [6, 9, 16, 20]. Меньше внимания уделено адаптации водорослей к свету различного спектрального состава. В связи с этим целью настоящей работы было изучение влияния различного спектрального состава света на

рост и пигментный состав сине-зелёной микроводоросли *Synechococcus elongatus* Nägeli.

Материал и методы. Объектом исследования служила сине-зелёная водоросль *Synechococcus elongatus* из коллекции отдела биотехнологии и фиторесурсов Института биологии южных морей (штамм IBSS-80).

Для выращивания *S. elongatus* использовали среду Заррука, приготовленную на дистиллированной воде [25]. Для предотвращения избыточного подщелачивания среды в процессе фотосинтеза производился барботаж суспензии микроводорослей микрокомпрессором. Круглосуточный режим освещения обеспечивался лампой дневного света LIGHTSKY spiral 60 W. Красный, зелёный и синий режимы освещения создавали комбинированием белого света и цветных светофильтров. Спектр люминесцентной лампы взят из справочных данных [5], а спектры пропускания цветных фильтров определены на двухлучевом регистрирующем спектрофотометре Specord UV-VIS (Karl Zeiss, ГДР) (рис. 1).

Кюветы с культурой располагали по сторонам лампы.

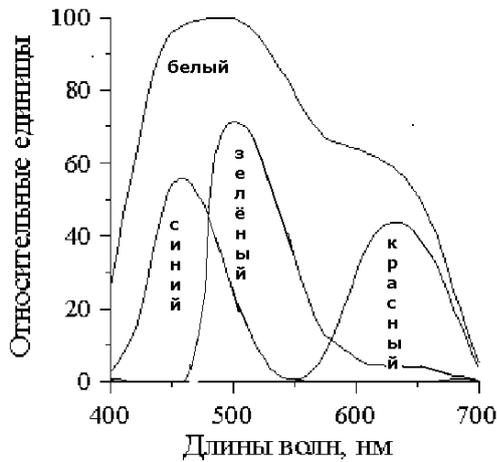


Рис. 1 Относительные спектры белого, синего, зелёного и красного источников освещения

Fig. 1 Relative spectra of white, blue and red lighting sources

Кювета с культурой, адаптируемой к синему свету, была расположена на расстоянии 16 см от источника освещения, к зелёному свету – 18 см, к красному свету – 20 см и к белому свету – 44 см от источника освещения. Расстояния были рассчитаны таким образом, чтобы обеспечить одинаковое количество световых квантов, поглощаемых водорослями на единицу Хл *a*. Количество поглощаемых квантов составляло 10^{21} квантов / мг Хл *a* в час, что соответствует падающему белому свету $18 \text{ мкЕ м}^{-2} \text{ с}^{-1}$ (лимитирующие условия роста). Культуру выращивали в плоскопараллельной стеклянной кювете объёмом 1.2 л и толщиной слоя 25 мм. Численность клеток измеряли методом прямого счёта [1]. Скорость деления водорослей рассчитывали по стандартной методике [7]. Для проведения анализов отбирали аликвоты из культиваторов в трёхкратной повторности.

Спектры поглощения квантов света водорослями определяли, как описано ранее [3]. Концентрацию Хл *a* определяли по стандартному уравнению [12]:

$$\text{Хл } a = (11,85D_{664} - 1,54D_{647} - 0,08D_{630}) \frac{V_{\text{экс}}}{V_{\text{пр}} L_k}$$

где D – оптическая плотность экстрактов при указанной длине волны с учётом поправки на неспецифическое поглощение при 750 нм, ед. опт. пл.; $V_{\text{экс}}$ – объём ацетонового экстракта, мл; $V_{\text{пр}}$ – объём профильтрованной культуры, л; L_k – толщина оптического слоя, см.

Сумму каротиноидов (КР) определяли по стандартному уравнению [21]:

$$\text{КР} = (7,6(D_{480} - 1,49D_{510})) \frac{V_{\text{экс}}}{V_{\text{пр}} L_k}$$

Результаты. Скорость роста и концентрация клеток в культуре *S. elongatus* приведены в табл. 1. Во всех вариантах опыта временной ход увеличения концентрации клеток описывается типичной S-образной кривой. На красном свету лаг-фаза была минимальной, и на вторые сутки эксперимента скорость роста водорослей достигла максимальных значений, оставаясь в экспоненциальной фазе с 3-х по 6-е сутки. На синем свету показатели скорости роста были наименьшими. Экспоненциальная фаза наблюдалась на 6 – 7-е сутки. В этот период значения скорости роста и концентрации были примерно в два раза ниже, чем на красном свету. Культуры, адаптируемые к белому и зелёному свету, имели сходную динамику ростовых характеристик клеток, а абсолютные значения скорости роста и численности клеток были выше, чем на синем, и меньше, чем на красном свету (табл. 1).

Начальная концентрация клеток в четырёх культиваторах была одинакова. На 14-й день эксперимента культура водорослей, адаптированная к красному свету, была наибольшей по концентрации. Культуры, адаптированные к зелёному и белому свету, были менее плотными. Наименьшая концентрация наблюдалась у культуры, адаптированной к синему свету. Количество клеток на красном, зелёном, белом и синем свету соотносились соответственно как 14.5 : 7 : 3.5 : 1.

Спектры поглощения света культурами водорослей и их ацетоновыми экстрактами представлены на рис. 2 и 3.

Табл. 1 Скорости роста (μ , число делений в сутки) и соответствующие концентрации (N, млн. клеток / мл) *S. elongatus*, выращенных при различных световых условиях

Table 1 Growth rates (μ , number of divisions per day) and the appropriate concentration (N, mln cell / mL) of *S. elongatus* cultivated under different light treatment

Свет Сутки	Белый		Зелёный		Красный		Синий	
	μ	N	μ	N	μ	N	μ	N
1	0.1 ± 0.005	0.5	0.2 ± 0.01	0.6	0.4 ± 0.02	0.6	0.1 ± 0.005	0.5
2, 3	0.4 ± 0.02	1.2	0.6 ± 0.03	0.9	1.1 ± 0.06	6.6	0.3 ± 0.02	1.0
4, 5	0.8 ± 0.04	2.1	0.8 ± 0.04	3.4	1.1 ± 0.06	14.5	0.4 ± 0.03	1.4
6	0.8 ± 0.04	3.5	0.9 ± 0.05	6.2	1.0 ± 0.05	28.8	0.5 ± 0.03	2.2
7, 8	0.7 ± 0.04	6.2	0.7 ± 0.04	10.3	0.6 ± 0.03	43.5	0.6 ± 0.03	3.3
9, 10	0.5 ± 0.03	9.7	0.5 ± 0.03	16.3	0.4 ± 0.02	57.5	0.4 ± 0.02	4.0
11, 12	0.4 ± 0.02	39.4	0.4 ± 0.02	64.4	0.3 ± 0.02	144.4	0.2 ± 0.01	11.0
13	0.3 ± 0.02	48.8	0.4 ± 0.02	83.5	0.3 ± 0.02	172.7	0.3 ± 0.02	13.9
14	0.1 ± 0.005	53.3	0.2 ± 0.01	96.8	0.3 ± 0.02	207.5	0	13.9

Формы спектров практически совпадают, за исключением культуры, адаптированной к синему свету, в форме спектра которой отмечается увеличение поглощения в спектральной области, связанной с фикоцианином и алло-

фикоцианином. Значение такого изменения неясно, так как в этом варианте опыта не было световых квантов в данном спектральном диапазоне.

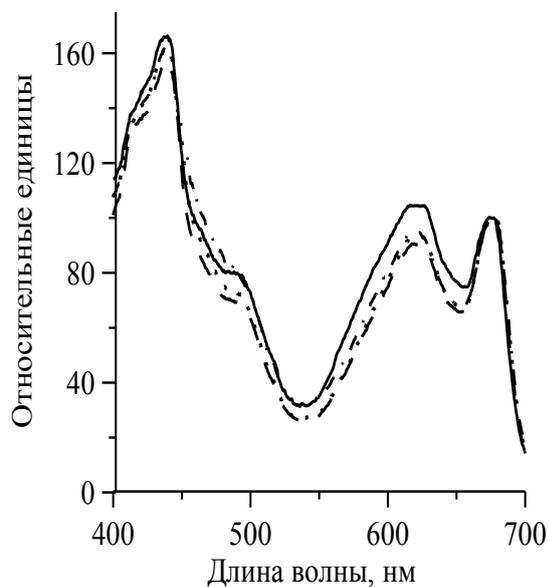


Рис. 2 Нормированные спектры поглощения квантов света культурами, адаптированными к различному спектральному составу света (— синий, ···· зелёный, - · - · - белый, - - - - красный)

Fig. 2 The normalized spectra of light quanta absorption of cultures adapted to the different light qualities (— blue, ···· green, - · - · - white, - - - - red)

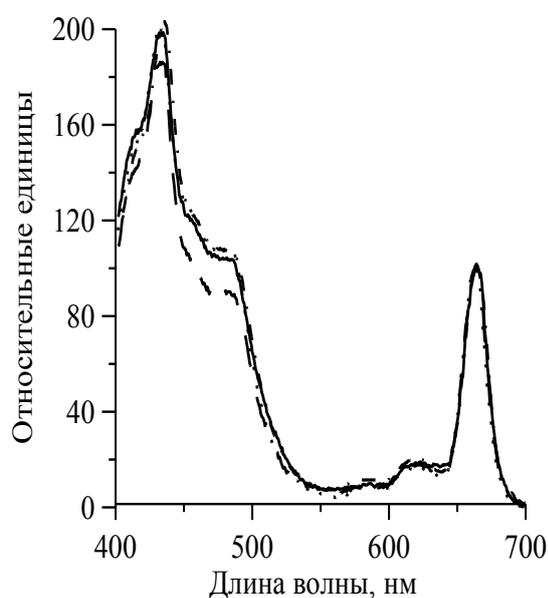


Рис. 3 Нормированные спектры поглощения квантов света пигментами в ацетоновом экстракте при адаптации к различному спектральному составу света (— синий, ···· зелёный, - · - · - белый, - - - - красный)

Fig. 3 The normalized spectra of light quanta absorption with pigments in the acetone extracts at the adaptation to the different light qualities (— blue, ···· green, - · - · - white, - - - - red)

Проведённый комплекс исследований показал, что внутриклеточное содержание пигментов Хл *a* и сумма каротиноидов (пикограмм / клетка) не зависели от спектрального состава света (табл. 2).

Табл. 2 Внутриклеточное содержание пигментов *S. elongatus*

Table 2 Cell pigment content of *S. elongatus*

Свет	Хл <i>a</i> , пг / клетка	Суммарные каротиноиды, пг / клетка
Белый	0.068 ± 0.006	0.021 ± 0.002
Красный	0.065 ± 0.006	0.022 ± 0.002
Синий	0.060 ± 0.006	0.023 ± 0.002
Зелёный	0.065 ± 0.006	0.021 ± 0.002

Обсуждение. Понятие комплиментарной хроматической адаптации было введено при изучении влияния света различного спектрального состава на рост и размножение планктонных сине-зелёных водорослей в 1902 г. Энгельманом и Гайдуковым. Ими было обнаружено, что у различных видов сине-зелёных водорослей содержание пигментов меняется в зависимости от спектрального состава света. В ходе дальнейших исследований было отмечено, что не все виды сине-зелёных водорослей одинаково проявляют хроматическую адаптацию, а у некоторых видов таковой вообще отмечено не было [14]. В 1977 г. Маршак исследовал 44 штамма сине-зелёных водорослей (цианобактерий) и разделил их на три группы. I группа – штаммы, у которых хроматическая адаптация отсутствует; II группа – штаммы, изменяющие синтез фикоэритрина; III – штаммы, изменяющие синтез фикоэритрина и фикоцианина [23]. Процесс хроматической адаптации в цианобактериях могут также контролировать фоторецепторы, сходные с фитохромами высших растений [13]. Известно, что морские штаммы *Synechococcus* эволюционно адаптировались к синему свету, доминирующему в открытых океанах, за счёт широкого использования фикоуробилина как светопоглощающего хромофора в фикоэритрине. В связи с этим, отношение фикоуробилина к

хромофору фикоэритробилину (найденному в основном в фикоэритрине, но свойственному и для фикоцианина) должно быть постоянно у морских штаммов *Synechococcus*, что и было описано ранее [8, 24]. В работе по изучению фитопланктонных популяций мезотрофных и олиготрофных районов тропической Северной Атлантики было обнаружено, что в синих водах присутствуют в основном богатые фикоуробилином штаммы *Synechococcus*, а в сине-зелёных водах – штаммы, содержащие в основном фикоэритробилин [15]. В дальнейшем обнаружено, что одни штаммы *Synechococcus* увеличивают отношение хромофоров фикоуробилин / фикоэритробилин на синем свете (CC9311, CC9617, WH8020), у других оно остаётся постоянным (CC9317, CC9318, CC9305-3) [19].

Как видно из приведённых данных (рис. 2 и 3), у *S. elongatus* количество пигментов в клетках при различных условиях освещения не менялось. Так же не изменялись внутриклеточное содержание Хл *a* и суммарная концентрация каротиноидов (табл. 2). Аналогичные результаты были получены и для *Oscillatoria agardhii* [17]. Отмечаемое увеличение пика поглощения света фикоцианином при выращивании на синем свете (рис. 2) нельзя рассматривать как признак комплиментарной хроматической адаптации, так как полосы поглощения фикоцианина (610 – 635 нм) и условия освещения (400 – 550 нм) не пересекаются, и это не приводит к увеличению поглощения световой энергии. Таким образом, по классификации Маршака *S. elongatus* можно отнести к I группе водорослей, то есть к видам, у которых отсутствует хроматическая адаптация [23].

Наши исследования показали, что в экспоненциальной фазе скорость роста у *S. elongatus*, адаптированной к белому и зелёному свету, практически не различалась (~ 0.8 сут.⁻¹), в то время как у культуры, адаптированной к красному свету (~ 1.1 сут.⁻¹), она в два раза превысила значения для синего света (~ 0.4 сут.⁻¹). Малая скорость роста на синем свету,

по отношению к белому, зелёному и красному, была отмечена и у *O. agardhii*, которую выращивали в хемостате с заданной скоростью роста 0.3 сутки^{-1} , на синем свету *O. agardhii* не смогла поддерживать заданную скорость деления [17]. *Oscillatoria bourrellyi*, адаптированная к белому, синему, зелёному и красному свету, росла с одинаковой скоростью (0.5 сутки^{-1}) [18]. Морской же штамм *Synechococcus* WH5701, как и в нашем исследовании, на красном свету рос быстрее ($0.9 - 1.1 \text{ сутки}^{-1}$), чем на белом свету ($0.7 - 0.9 \text{ сутки}^{-1}$), в то время как на зелёном свету скорость роста составила всего 0.3 деления в сутки. Скорость роста пресноводной микроводоросли *Synechocystis* sp. не зависела от спектрального состава света и составляла $0.5 - 0.6 \text{ сутки}^{-1}$; скорость роста *Synechococcus leopoliensis* на зелёном свету составляла 0.5 сутки^{-1} , а на красном и белом свету – 1 сутки^{-1} [11]. Таким образом, данные по влиянию спектрального состава света на рост различных сине-зелёных водорослей различаются. Эти несоответствия могут быть связаны как с особенностями самих видов, так и с различными методическими подходами в освещении культивируемых водорослей (используемые лампы и светофильтры, интенсивности падающего света). Известно, что на рост водорослей влияет количество поглощённых клетками квантов света, которое зависит как от его спектрального состава, так и от селективного характера поглощения квантов света пиг-

ментами. Так, при одинаковой интенсивности белого света количество квантов, поглощаемых в синей области, больше, чем в красной, что особенно актуально при использовании цветных источников излучения. В данном исследовании культуры уравнивались по количеству поглощённых квантов света на мг Хл *a* в час, в отличие от более ранних работ, где культуры адаптировались к одинаковым интенсивностям излучения [11, 17, 18].

Несмотря на заметное уменьшение скорости роста *S. elongatus* на синем свету, у данной популяции оставалась высокой потенциальная фотосинтетическая активность на белом свету, как было отмечено и для диатомовых водорослей в предыдущем исследовании [3]. Малая скорость деления в этом случае может быть обусловлена тем, что в синей области спектра значительная часть падающего света поглощается каротиноидами, энергия возбуждения которых доходит до реакционных центров фотосинтеза с меньшей эффективностью [4].

Выводы. 1. У *Synechococcus elongatus* нет выраженной комплиментарной хроматической адаптации, которая приводила бы к увеличению поглощения света пигментами. **2.** При адаптации *S. elongatus* к свету различного спектрального состава максимальная скорость роста наблюдалась на красном свету, минимальная – на синем. Скорости роста на белом и зелёном свету примерно равны.

1. Владимирова М. Г., Семенов В. Е. Интенсивная культура одноклеточных водорослей (инструкция по первичным испытаниям, выделяемых из природы и селекционируемых форм фотоавтотрофных одноклеточных водорослей). – М.: АН СССР, 1962. – 60 с.
2. Ерлов Н. Г. Оптика моря. – Л.: Гидрометеиздат, 1980. – 248 с.
3. Ефимова Т. В., Акимов А. И. Влияние спектрального состава света на рост и фотосинтез диатомовой водоросли *Nitzschia* sp. // Экология моря. – 2009. – Вып. 77. – С. 11 – 16.
4. Нобел П. Физиология растительной клетки (физико-химический подход) / Под ред. проф. И. И. Гунара. – М.: Мир, 1973. – 288 с.
5. Справочная книга по светотехнике / Под ред. Ю.Б. Айзенберга. – М.: Энергоатомиздат, 1983. – 472 с.
6. Чурилова Т. Я. Адаптация морских планктонных водорослей к низким интенсивностям света: Автореф. дисс. канд. биол. наук. – Севастополь, 1992. – 22 с.
7. Экологическая физиология морских планктонных водорослей (в условиях культур) / Под ред. Хайлова К. М. – К.: Наук. думка, 1971. – 207 с.
8. Alberte R. S., Wood A. M. et al. Novel phycoerythrins in marine *Synechococcus* spp. // Plant Physiol. – 1984. – 75. – P. 732 – 739.

9. Falkowski P. G. Light-shade adaptation in marine phytoplankton. / Primary productivity in the Sea. Ed. P. G. Falkowski – New-York, London, Plenum Press, 1980. – P. 99 – 119.
10. Glover H. E., Keller M. D. et al. The effects of light quality and intensity on photosynthesis and growth of marine eukaryotic and prokaryotic phytoplankton clones // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. – 1987. – **105**. – P. 137 – 159.
11. Hauschild C. A., McMurter H. G. et al Effects of spectral quality on growth and pigmentation of picocyanobacteria // J. Phycol. – 1991. – **27**. – P. 698 – 702.
12. Jeffrey S.W., Humphrey G.F. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c₁ and c₂ in higher plants, algae and phytoplankton // Biochem. Physiol. Pflanzen. BPP. – 1975. – **167**, No. 2. – P. 191 – 197.
13. Kehoe D. M., Grossman A. R. Similarity of a chromatic adaptation sensor to phytochrome and ethylene receptors // Science. – 1996. – **273**. – P. 1409 – 1412.
14. Kirk J. T. O. Light and photosynthesis in aquatic ecosystems. Second edition. – Cambridge Univ. Press, Cambridge, 1993. – 509 p.
15. Lazarra L., Bricaud A. et al. Spectral absorption and fluorescence excitation properties of phytoplanktonic populations at a mesotrophic and an oligotrophic site in the tropical North Atlantic (EUMELI program) // Deep-sea Research. – 1996. – **43**, 8. – P. 1215 – 1240.
16. MacIntyre H. L., Kana T. M. et al. Photoacclimation of photosynthesis irradiance response curves and photosynthetic pigments in microalgae and cyanobacteria // J. Phycol. – 2002. – **38**. – P.17 – 38.
17. Millie D. F., Ingram D. A. et al Pigment and photosynthetic responses of *Oscillatoria agardhii* (cyanophyta) to photon flux density and spectral quality // J. Phycol. – 1990. – **26**. – P. 660 – 666.
18. Ojala A. The influence of light quality on growth and phycobiliprotein/chlorophyll a fluorescence quotients of some species of freshwater algae in culture // Phycologia. – 1993. – **32**. – P. 22 – 28.
19. Palenik B. Chromatic adaptation in marine *Synechococcus* strains // Appl. Environ. Microbiol. – 2001. – **67**, 2. – P. 991 – 994.
20. Richardson K., Beardall J. et al. Adaptation of unicellular algae to irradiance: an analysis of strategies // New Phytologist. – 1983. – **93**. – P.157 – 191.
21. Strickland J. D., Parsons T.R. Pigment analysis: spectrophotometric determination of chlorophylls and total carotenoids. Section IV.3.I. In: A practical handbook of seawater analysis // 2nd ed. - Bulletin **167**. Fish. Res. Bd. Can. – 1972.
22. Takahashi M., Ichimura S. et al. Shade and chromatic adaptation of phytoplankton photosynthesis in a thermally stratified sea // Mar. Biol. – 1989. – **100**, 3. – P. 401 – 409.
23. Tandeau de Marsac N. Occurrence and nature of chromatic adaptation in cyanobacteria // J. Bacteriol. – 1977. – **130**, No. 1. – P. 82 – 91.
24. Waterbury J. B., Watson F. W. et al. Biological and ecological characterization of the marine unicellular cyanobacterium *Synechococcus*. / T. Platt and W. K. W. Li (ed), Photosynthetic picoplankton. – Canadian Department of Fisheries and Oceans, Ottawa, 1986. – P. 71 – 120.
25. Zarrouk C. Contribution à l'étude d'une cyanophycée. Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de *Spirulina maxima* (Stech. et Gardner) Geitler / Ph.D. thesis. – Paris, 1966. – 138 p.

Поступила 23 июля 2009 г.

Вплив спектрального складу світла на зростання і вміст пігментів у *Synechococcus elongatus* Nägeli. Т. В. Єфімова, А. І. Акімов. В *Synechococcus elongatus*, адаптованою до світла різного спектрального складу (білий, синій, зелений, червоний), максимальна швидкість зростання спостерігалася на червоному світлі, а мінімальна - на синьому. На білому і зеленому світлі швидкість зростання була приблизно однакова. Достовірних змін кількості пігментів і їх співвідношення в клітинах не спостерігалось, у зв'язку з чим можна зробити висновок, що в *S. elongatus* відсутня компліментарна хроматична адаптація.

Ключові слова: Адаптація, *Synechococcus elongatus*, спектральний склад світла, швидкість зростання, пігменти

The effect of spectral light composition on growth and pigment content in *Synechococcus elongatus* Nägeli. T. V. Iefimova, A. I. Akimov. The maximal growth rate of *Synechococcus elongatus*, adapted to different spectral composition of light (white, blue, green, red), was observed on the red light, and the minimal growth rate was observed on the blue light. The growth rates were approximately equal on the white and green light. Reliable changes of cell pigment contents and cell pigment ratios was not observed, it is in this connection possible to conclude that at *S. elongatus* absents complementary chromatic adaptation.

Key words: Adaptation, *Synechococcus elongatus*, spectral light composition, growth rate, pigments