

ISSN 0868-854 (Print)

ISSN 2413-5984 (Online). Algologia. 2018, 28(2): 182–201

<https://doi.org/10.15407/alg28.02.182>АМИРЛАТИФИ Х.С., ШОКРАВИ Ш., САТЕЙ А., ГОЛЬСЕФИДИ М.А.,  
МАХМУДДЖАНЛО М.Кафедра биологии, филиал Горган,  
Исламский университет Азад, Горган, Иран  
[shshokravi@gorgan.iau.ac.ir](mailto:shshokravi@gorgan.iau.ac.ir)**РЕАКЦИЯ ЦИАНОБАКТЕРИИ *CALOTHRIX* SP. ISC 65 ИЗ  
ЗАГРЯЗНЕННЫХ НЕФТЬЮ РЕГИОНОВ НА КОМПЛЕКСНОЕ  
ВОЗДЕЙСТВИЕ СОЛЕННОСТИ, ДЕФИЦИТА УГЛЕРОДА И  
НИЗКОЙ ОСВЕЩЕННОСТИ**

Изучены физиологические реакции цианобактерии *Calothrix* sp. ISC 65, выделенной из почвы вблизи Персидского залива, на комбинированное воздействие разной солености среды (0; 0,5 и 1,0%), слабой освещенности ( $2 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{c}^{-1}$ ) и низких концентраций углекислого газа (при отсутствии аэрации и дополнительной подачи  $\text{CO}_2$ ). Наземные и почвенные цианобактерии, обитающие на загрязненных нефтью территориях южного Ирана, учитывая напряженную экологическую обстановку в регионе, должны быть адаптированы к низкой освещенности, ограниченной концентрации двуокси углерода и повышенной солености. Штамм *Calothrix* sp. ISC 65 ранее не был изучен с точки зрения его базовых характеристик и прикладного значения. Спектроскопия показала, что после 96 ч пребывания культуры в 1%-ной соленой среде заметно увеличивалась скорость роста и содержание хлорофилла, а также продукция фикобилисом. Снижение солености уже через 24 ч приводило к уменьшению образования фикобилисом. Такая концентрация солености вызывала возбуждение светособирающего комплекса и динамизм реакционного центра. Фикоцианин составлял основную часть фикобилисомы, но 1%-ная соленость способствовала образованию фикоэритрина и аллофикоцианина, а также возбуждению внешней части фотосинтетической антенны. Отмечено ее влияние на долговременное продуцирование кислорода. С повышением солености до 0,5 и 1,0% значительно увеличивалась фотосинтетическая активность, причем значительного отличия в воздействии этих концентраций не выявлено. Увеличение солености также влияло на механизм концентрации  $\text{CO}_2$ , повышая его активность. Активация механизма концентрации  $\text{CO}_2$ , очевидно, была основной стратегией, поддерживающей высокую скорость фотосинтеза, обеспечивала достаточное количество компонентов, необходимых для процессов фотосинтеза. Результаты спектрофлуорометрического анализа свидетельствуют о том, что величина соотношения фотосистем ФС I : ФС II увеличивается с повышением концентрации соли в среде, достигая максимальных значений через 96 ч. RSp-анализ показал, что

© Амирлатифи Х.С., Шокрави Ш., Сатей А., Гольсефиди М.А.,  
Махмудджанло М., 2018

низкая соленость среды способствует увеличению такого соотношения, но лишь в течение очень короткого времени после инокуляции. Соленость на уровне 0,5% вызывает рост нитрогеназной активности и стимулирует продукцию гетероцистов, а при 1%-ной солености последняя немного уменьшается. Анализ инфракрасной спектроскопии с преобразованием Фурье (ИК-Фурье) показал, что наиболее заметные изменения конфигурации функциональных групп вызывает 1%-ная соленость. Отмечены различия в паттернах функциональных групп клеток, выращиваемых в бессолевой и 1%-ной средах. Они касались асимметричной вибрации углерода, растяжения липидов и сгибания ОН у полисахаридов. В целом, в условиях 0,5–1% солености в среде при крайне низких показателях освещенности и концентрации углекислого газа штамм *Calothrix* sp. ISC 65 проявлял наибольшую физиологическую активность.

Ключевые слова: *Calothrix*, цианобактерии, растворенный неорганический углерод, ограниченная облученность, загрязненные нефтью области, соленость

## Введение

В экономике Ирана большую роль играет выращивание риса на севере и добыча нефти на юге. Исследование обитающих здесь водорослей и цианобактерий интересует ученых с точки зрения их прикладного значения, в том числе как биотехнологических объектов для сельского хозяйства и нефтедобычи. Предстоит изучить местные штаммы и дать им морфологическую, таксономическую, экологическую и экофизиологическую характеристику.

Очевидно, природные условия на севере и юге Ирана различны, но есть и общие черты, например, колебания освещенности, солености и концентрации углекислого газа в окружающей среде. Рисовые поля представляют собой специфические местообитания, которым свойственны флуктуации значений солености, освещенности и концентрации углекислого газа (Poza-Carion et al., 2001; Soltani et al., 2012). В течение цикла культивирования риса интенсивность освещения под водой и соленость среды подвержены существенным суточным и сезонным колебаниям (Boussiba, 1988; Soltani et al., 2006). Заболачивание ограничивает диффузионную способность углекислого газа, а щелочные почвы, наоборот, высокий его выход (Shokravi et al., 2011). В такой ситуации важное значение имеет индукция механизма концентрации углекислого газа цианобактериями (Müller et al., 1993). При низких значениях внешнего неорганического углерода (НУ) большинство пресноводных цианобактерий индуцируют белковые комплексы, связанные с механизмами концентрации диоксида углерода (МКДУ), для активного увеличения внутренней концентрации НУ и выделения растворенного  $\text{CO}_2$  в непосредственной близости от их первичного карбоксилирующего фермента, Рубиско (Burns et al., 2005). В ходе экспериментов со штаммами *Hapalosiphon* sp. FS 56 (Shokravi, Soltani 2011), *Hapalosiphon* sp. FS 44 (Shokravi, Soltani, 2011) и *Nostoc* sp. JAH 109 (Shokravi et al., 2006) было показано значение углекислого газа

при влиянии рН и освещенности на цианобактерии. Приблизительно такие же результаты о роли концентрации диоксида углерода получены при изучении штаммов *Nostoc* sp. UAM 205 (Fernandez-Valiente, Leganes, 1989) и *Nostoc* sp. UAM 206 (Poza-Carion et al., 2001). С другой стороны, на рисовых полях, особенно в период созревания риса, в условиях затененности (более 98% по сравнению с открытой почвой) освещенность крайне низкая (Shokravi, Soltani, 2011). Изучению акклиматизации цианобактерий к интенсивности освещения посвящены многочисленные физиологические, ультраструктурные и биохимические исследования различных штаммов (Soltani et al., 2006). Как и другие фотосинтезирующие организмы, цианобактерии способны адаптироваться к изменениям интенсивности света, перестраивая свой фотосинтетический аппарат, а также такие физиологические процессы, как азотфиксация и фотосинтез (Soltani et al., 2006). Кроме того, в каждом из этих местообитаний параметры окружающей среды, включая уровень и качество освещенности, температуру и доступность минеральных питательных веществ, колеблются в широких пределах. Для защиты от комплексного влияния колебаний этих параметров на рост, распределение молекулярных ресурсов и фотосинтез цианобактерий они выработали сложные механизмы стратегии акклиматизации (Burns et al., 2005). Хорошим примером адаптации цианобактерий к крайне низким уровням освещенности являются гиполиты, способные фотосинтезировать при освещении менее 0,1% дневного света (Thomas, 2005). Следовательно, во избежание экологических стрессов цианобактерии рисовых полей также должны обладать необходимыми физиологическими механизмами.

В загрязненных нефтью почвах юга Ирана экологические условия по своей напряженности более или менее сходны с таковыми рисовых полей севера. Усиление загрязнения почв нефтью и расширение таких территорий, особенно в последние годы, вызывают серьезные биоэкологические проблемы на юге. Нефтедобывающая промышленность наносит серьезный ущерб почвам (Soltani et al., 2012). Это, например, загрязнение микробных матов слоем воды, смешанным с нефтью. Условия, возникающие в таких матах в результате ограниченного доступа углекислого газа, колебаний солености и резкого снижения освещенности аналогичны наблюдаемым на рисовых полях северного Ирана. Микробный слой вынужден акклиматизироваться к комплексному воздействию стрессовых факторов (Safaie et al., 2015).

Засоление почв, вызванное аккумуляцией больших количеств соли в результате нефтедобычи на юге Ирана, является важной экологической проблемой, которая должна быть решена в следующем десятилетии. Одним из перспективных направлений ее решения может стать привлечение биотехнологических подходов, например биомелиорации с использованием микроводорослей. Однако несмотря на существование проблемы засоления на севере и юге Ирана наши знания об обитающих в регионе цианобактериях и других микроводорослях крайне

ограничены, нет данных о комбинированном воздействии освещенности и солености. При культивировании штамма *Fischerella* sp. FS 18 в диапазоне солености от 0 до 1% (культуральная среда без дополнительного внесения NaCl, а также с внесением разных ее количеств от 17 мМ до почти 180 мМ) самые высокие показатели роста, фотосинтезирующей и азотфиксирующей активности у этой цианобактерии были зафиксированы при 0,5%-ной солености среды (80–90 мМ) (Soltani et al., 2011). Установлено (Iranshahi et al., 2014), что соленость среды более 160 мМ вызывает заметное снижение показателей роста и фотосинтеза у четырех местных штаммов почвенных цианобактерий. Было высказано предположение (Kiaei et al., 2013; Amirlatifi et al., 2013), что состав липидов и потенциал деградации нефти у штаммов некоторых ностокальных и стигонематальных цианобактерий могут зависеть от некоторых факторов окружающей среды, включая соленость. Она вызывает значительные изменения морфологии и ультраструктуры у цианобактерий, обитающих на юге Ирана (Safaei et al., 2015).

Недавно (Soltani et al., 2015) были опубликованы результаты исследований нескольких цианобактерий, отобранных на о-ве Харк в Персидском заливе на юге Ирана. В их числе был штамм *Calothrix* sp. ISC 65, физиологические характеристики которого ранее не исследовались. Ряд работ был посвящен изучению представителей рода *Calothrix*, выделенных из рисовых полей севера и регионов, прилегающих к Каспийскому морю (Soltani et al., 2005; Soltani et al., 2008; Soltani et al., 2011). Исследование влияния солености на физиологию *Calothrix* проведено пока лишь с использованием «северного» штамма *Calothrix* sp. FS 37 (Safaei et al., 2015).

Цель данной работы — экофизиологическое изучение штамма *Calothrix* sp. ISC 65, выделенного из местообитаний на юге Ирана, и его реакция на комбинированное воздействие низкой освещенности, лимитированного поступления диоксида углерода и колебаний солености среды в пределах, характерных для загрязненных нефтью почв южных регионов. Мы учитывали основные экофизиологические характеристики — скорость роста, фикобилисомы, светособирающий комплекс, фотосинтез, соотношение фотосистем и азотфиксирующую активность.

## Материалы и методы

### *Выделение штаммов*

Штаммы *Calothrix* были выделены из почвенных и эпилитных альгосообществ в провинции Хузестан (о. Харк, южные регионы Ирана и побережье Персидского залива). Полное описание станций отбора проб, включая их географические и экологические характеристики, приведено в наших предыдущих публикациях (Soltani et al., 2012; Safaei et al., 2015). Образцы эпилитона отбирали с поверхности кирпичей и

цементных блоков, погруженных в загрязненные нефтью воды. Их культивировали согласно общепринятым методам, включая очистку и получение аксенического штамма *Calothrix* sp. ISC 65 (Kaushik, 1987). Для идентификации выделенных цианобактерий по морфологическим признакам использовали ряд источников: Desikachary, 1959; Prescott, 1962; Tiffany, Britton, 1971; Komárek, Anagnostidis, 1989; John et al., 2003. Молекулярную идентификацию проводили по 16S рДНК согласно ранее описанной методике (Dezfulian et al., 2010).

Накопительные культуры выращивали на твердой безазотистой среде BG110 следующего состава:  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0,3 мМ;  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ , 0,25 мМ;  $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ , 0,18 мМ;  $Na_2MgEDTA$ , 0,003 мМ; цитрат железа 0,02 мМ; лимонная кислота, 0,029 мМ;  $Na_2CO_3$ , 0,188 мМ; микроэлементы 1 мл·л<sup>-1</sup>. Водородный показатель повышали до 7,2, добавляя NaOH, затем раствор автоклавировали. Аксеничность штаммов контролировали с помощью микроскопа (Shokravi, Soltani, 2011).

#### *Условия культивирования и манипуляции с культурами*

Накопительные культуры выращивали при 30 °С и постоянной интенсивности света 60  $\mu\text{моль фотон} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ , поддерживаемой тремя флуоресцентными лампами (Soltani et al., 2011). Клетки в логарифмической фазе роста отбирали из накопительных культур и использовали для экспериментов. Инокулят вносили в колбы Эрленмейера объемом 500 мл, содержащие 300 мл среды BG110, и закупоривали хлопковыми пробками. Культуры освещали флуоресцентными лампами 40 Вт дневного света для получения низкой освещенности (2  $\mu\text{моль фотон} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ ), через разное количество сеток между источником света и колбами. Освещенность измеряли регистратором данных Licor LI-1000, оснащенный квантовым датчиком. Аликвоты отбирали после адаптации клеток к световому режиму в логарифмической фазе. Для сравнения использовали культуры без дополнительной аэрации или перемешивания (постоянное состояние, предельное ограничение растворенного НУ) (Shokravi et al., 2014). Для изучения воздействия солености использовали культуральные среды без дополнительного внесения NaCl (0, 0,5 и 1,0%), которые готовили в отдельных колбах.

#### *Аналитические методы*

Ростовые характеристики культур, состав пигментов и состояние фикобилисом определяли с помощью микроскопов спектроскопически после 24, 48, 72 и 96 ч воздействия NaCl (культуральная среда без дополнительного внесения соли, содержащая около 17, 160 мМ и изредка 80 мМ) по методике Fraser et al. (2013). Соотношение фотосистем и их характеристики определяли спектрофлуориметром (Inoue-Kashino et al., 2005; Zorz et al., 2015). Для получения спектров поглощения интактных клеток осадок суспендировали в 3 мл реакционного буфера. Полученную клеточную суспензию изучали в двухлучевом спектрофотометре Hitachi-557, отбирая спектры

поглощения в диапазоне 360–800 нм. При 750 нм поглощение клеточной суспензии регулировали для получения примерно такого же значения. Спектры флуоресцентной эмиссии клеток регистрировали при комнатной температуре на спектрофлуориметре Perkin-Elmer LS-5 (Tiwari, Mohanty, 1996). Фотосистемы (ФС) I и II анализировали с использованием спектрофлуориметрии (Gan et al., 2014; Amirlatify et al., неопубл. данные). Для анализа методом инфракрасной спектроскопии с преобразованием Фурье (ИК-Фурье) 1,5 мл суспензии центрифугировали при 10000 об/мин в течение 10 мин. Осадок высушивали методом лиофилизации, затем 100 мг смешивали с 1000 мг KBr. После приготовления диска содержание общих жирных кислот определяли с использованием ИК-Фурье (Kiaei et al., 2013). Морфологические наблюдения проводили на культурах цианобактерий, выращиваемых на жидкой и твердой средах. Форму и вариации вегетативных клеток регистрировали с использованием флуоресцентной и фазово-контрастной микроскопии (Gugger, Hoffmann, 2004; Shokravi et al., 2007; Soltani et al., 2011).

Кислородный обмен измеряли с помощью электрода Hansatech O<sub>2</sub>. Аликвоту 2 мл клеточной суспензии помещали в кювету с водяной рубашкой и контролируемой температурой, которую экспонировали в темноте или освещали флуоресцентными лампами с плотностью квантового потока 2 мкмоль фотонов м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>. Активность нитрогеназы определяли путем восстановления ацетилена в 15 мл аликвоты клеточной суспензии, помещенной в пробирку объемом 25 мл. Перед инкубацией 10% воздуха внутри пробирки заменяли тем же объемом ацетилена. Клетки инкубировали в течение 1 ч при тех же условиях культивирования. После инкубации из пробирки отбирали 0,5 мл газа и определяли концентрацию этилена с помощью газового хроматографа Shimadzu GC-8 (Soltani et al., 2007).

#### Статистический анализ

Для статистического анализа использовали средние значения со стандартным отклонением измерений не менее чем в 4 повторностях. Статистический анализ проведен с использованием Designs-Expert Ver.7 и 10. Был осуществлен также одно- и многофакторный RSp-анализ с использованием непараметрического критерия Спирмена (Ghobadian et al., 2015).

#### Результаты и обсуждение

Рост большинства растений находится в отрицательной зависимости от концентрации NaCl более 50 мМ (Bhadauriya et al., 2007). В ряде работ, посвященных изучению воздействия засоления на цианобактерии южных регионов Ирана (Boussiba, 1988; Soltani et al., 2011; Iranshahi et al., 2014; Safaie et al., 2015), использовали диапазон солености от 0 до 1% (приблизительно около 17 мМ, 0%, 160 мМ и 1%). Подобно *Anabaena cylindrica*, скорость роста *Calothrix* sp. ISC 65 при внесении

NaCl в среду возрастала, но, очевидно, для увеличения темпов роста штамму *Calothrix* sp. ISC 65 необходимо 100–160 мМ NaCl, тогда как штамму *A. cylindrica* – 50 мМ (Bhadauriya et al., 2007). Установлено, что повышенные концентрации NaCl в среде (250 и 500 мМ) усиливают рост культуры *Arthrospira (Spirulina) platensis* (Dehiab et al., 2007). Исследование ростовых характеристик штамма *Fischerella* sp. FS 18, выделенного из загрязненных нефтью местообитаний юга Ирана (Soltani et al., 2007; Safaie et al., 2015), показало, что при культивировании на среде с соленостью 0,5% у штамма наблюдается наивысшая скорость роста (по сравнению со средами, в которых концентрация NaCl 0 и 1%). В работе Н. Солтани (Soltani et al., 2007) повышение скорости роста культуры отмечено при солености 0,5%, а фотосинтезирующая активность (ФА) достигала своего пика при 1%-ной солености. Однако для первого эксперимента выбранный диапазон солености кажется логичным.

Из двух вариантов культуральной среды (17 и 160 мМ) рост штамма *Calothrix* sp. ISC 65 продолжался на среде с концентрацией NaCl 160 мМ (1%) в логарифмической фазе до 96 ч (табл. 1). Влияние солености на скорость роста биомассы было отмечено в обоих вариантах, но вектор этого воздействия был разнонаправленным, скорость выхода хлорофилла сопоставима со скоростью роста в экстремальных условиях. Однако содержание хлорофилла в клетке и пики абсорбции хлорофилла не соответствовали этому параметру. Несмотря на это, воздействие на фикобилисомы оказалось более значимым. Более низкая соленость показала почти 40%-ное снижение роста после 96 ч. При 1%-ной солености отмечено почти равное увеличение роста биомассы в течение этого времени.

Таблица 1

**Спектральные характеристики штамма *Calothrix* sp. ISC 65 после 24 и 96 ч воздействия солености**

Спектральная характеристика	Время, ч	Концентрация NaCl в среде, мМ	
		17	160
Ln (A 750)	24	-1,46	-1,78
	96	-1,90	-1,35
Ln (A680-A750)	24	-3,78	-3,25
	96	-3,69	-2,24
(A680-A750)/A750	24	0,10	0,23
	96	0,167	0,19
Chl ( $\lambda_{max}$ )	24	685	675
	96	686	688
(A630-A750)/(A680-A750)	24	1,21	1,28
	96	0,85	2,25

В табл. 2 и 3 приведены коэффициенты поглощения ряда пигментов фотосинтеза *Calothrix sp.* ISC 65 после 96-часового воздействия солености. Полученные результаты свидетельствуют о том, что среда с 1%-ной соленостью вызывает возбуждение светособирающего комплекса и динамизм фикобилисомы. Это справедливо для хлорофилла, особенно в красном сегменте, который образует важные части основного центра реакции фотосинтеза и светособирающей системы. Фикоцианин является основным компонентом фикобилисомы, однако при 1%-ной солености также отмечено увеличение выхода фикоэритрина и аллофикоцианина в качестве внешней части фотосинтетической антенны. Соленость увеличивала выход фикобилипротеинов и каротиноидов. Из составляющих фикобилисомы элементов, фикоцианин сильнее реагировал на воздействие солености (по сравнению с фикоэритрином и аллофикоцианином). Самые высокие показатели солености, особенно при длительном воздействии, вызвали наибольшее увеличение скорости выхода фикоцианина (рис. 1). Сравнение различных частей спектра показало, что при кратковременном воздействии солености фикобилисомы являются наиболее стабильными компонентами светособирающего комплекса.

Таблица 2

**Коэффициенты поглощения *Calothrix sp.* ISC 65 после 24 и 96 ч воздействия солености**

Концентрация NaCl, mM	Коэффициент поглощения <i>Calothrix sp.</i>					
	440/680 нм		470/680 нм		621/680 нм	
	24	96	24	96	24	96
17	1,308	1,370	1,367	1,160	1,031	1,943
160	1,379	1,395	1,122	1,315	1,054	1,945

Таблица 3

**Коэффициенты поглощения движущихся и основных частей фикобилисомы *Calothrix sp.* ISC 65 после 24 и 96 ч воздействия солености (PC – фикоцианин; PE – фикоэритрин; APC – аллофикоцианин)**

Концентрация NaCl, mM	Время, ч	Коэффициент поглощения <i>Calothrix sp.</i>		
		PC/PE	PC/APC	(PC+PE)/APC
17	24	0,87	1,06	2,28
	96	0,78	0,92	2,11
160	24	0,99	1,04	2,10
	96	0,84	1,04	2,27

Низкая освещенность заметно влияет на продуцирование пигментов и фотосинтетический аппарат цианобактерий. Изучение физиологических и биохимических реакций *Anabaena cylindrica* на солевой стресс выявило адаптационные морфологические, физиоло-

гические и биохимические изменения, включая колебания пигментного состава (Bhadauriya et al., 2007). По данным Н. Солтани (Soltani et al., 2007), продукция хлорофилла при относительно лимитированном растворенном НУ (условия аэрации) составляла около  $11,99 \text{ мкг} \cdot \text{мг}^{-1} \text{ с.в.}$  (при  $3 \text{ мЕ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ ) и  $8,32 \text{ мкг} \cdot \text{мг}^{-1} \text{ с.в.}$  (при  $300 \text{ мЕ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ ). С уменьшением освещенности от 3 до  $2 \text{ мЕ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$  и дефиците растворенного неорганического углерода (РНУ) в неаэрированных условиях получали различное количество хлорофилла (особенно при pH 9). Для того, чтобы лучше понять механизм реакции цианобактерии, мы использовали также освещенность  $24 \text{ мЕ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ , но не обнаружили заметной разницы при использовании интенсивности 2 и  $24 \text{ мЕ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ . Таким образом, чувствительность к солености среды при дефиците РНУ и освещенности была более выраженной, чем к интенсивности света. Кроме того, продукция хлорофилла была иной, чем в нелимитированных или относительно лимитированных условиях (Soltani et al., 2006). Это же наблюдалось при ограниченных освещенности и pH (Deblois et al., 2013).

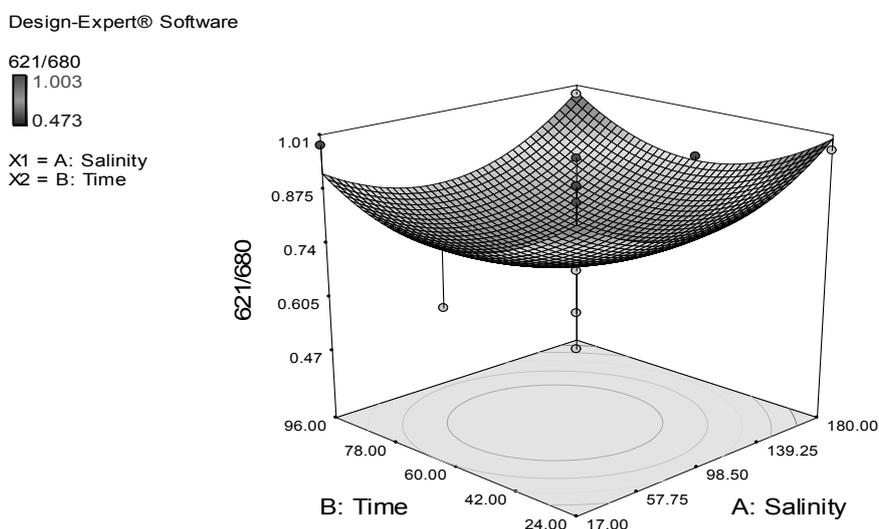


Рис. 1. RSp-анализ солености, времени воздействия и фикобилисомы штамма *Calothrix* sp. ISC 65

Показано (Tyler et al., 2004), что клетки *Synechococcus elongatus*, которые культивировали с барботированием воздухом ( $\sim 370 \text{ ммоль CO}_2 \text{ моль}$ ), индуцировали МКДУ с высоким средством с КМ 14 ммоль неорганического углерода, которые поддерживали почти такие же темпы роста, как у клеток *S. elongatus*, выращиваемых с барботированием воздухом с  $50\,000 \text{ ммоль CO}_2 \text{ моль}^{-1}$ , и имеющих КМ 281 ммоль неорганического углерода.

Таким образом, синтез и поддержание МКДУ требуют значительных функциональных перестроек для клеток, растущих в средах с низким уровнем НУ, но, тем не менее, при стабильной освещенности и питательных веществах клетки с низким содержанием НУ могут поддерживать фотосинтез и рост на уровнях, сравнимых с клетками с высоким уровнем НУ, без энергетических и метаболических ограничений индуцированного МКДУ. Индуцированный МКДУ в клетках с низким НУ, однако, сдерживает скорость и амплитуду акклиматизации света (Tayler et al., 2004).

Результаты длительного процесса выхода кислорода подтверждены приведенными выше данными (рис. 2). Мы представили результаты, полученные на среде с соленостью 0,25% (около 40 мМ) и сравнили их с полученными при солености ниже и выше 0,5% (~ 80 мМ). Повышение солености до 0,5%, а затем до 1,0% вызвало значительное увеличение фотосинтетической активности. Разница в величине этого показателя при солености 0,5 и 1,0% была незначительной.

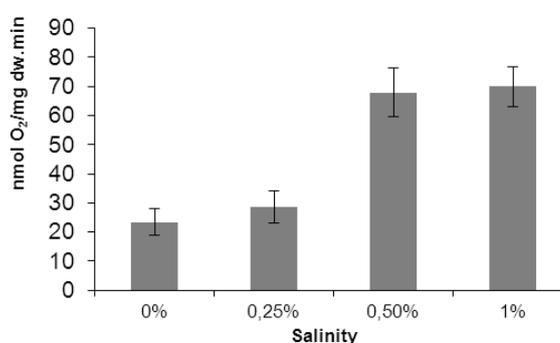


Рис. 2. Фотосинтез сухой биомассы штамма *Calothrix sp.* ISC 65 при воздействии различных концентраций NaCl

Таким образом, можем предположить, что фотосинтетический аппарат этого штамма не очень чувствителен к солености более 0,5%, хотя измерение ФА клеток *Calothrix* при солености среды более 1% не показало четких результатов. Как видно из рис. 2, сравнение ФА при низкой солености (0 и 0,25%) с установленной при солености более 0,5% косвенно свидетельствует о том, что увеличение солености значительно активизирует механизм концентрации CO<sub>2</sub>. Учитывая то, что мы использовали чрезвычайно ограниченную концентрацию углекислого газа в среде, активация МКДУ, очевидно, была основной стратегией, поддерживающей высокую скорость фотосинтеза и обеспечивающей достаточное количество составляющих, необходимых для процессов фотосинтеза. Кроме того, мы использовали крайне низкую освещенность. Очевидно исследуемый штамм, чтобы приспособиться к таким условиям, должен иметь фотосинтетический аппарат очень высокой эффективности.

В табл. 4 представлены параметры кривых фотосинтез – освещенность. При солености до 1% отмечены максимальный фотосинтез, больший квантовый выход и способность к теневой адаптации, что доказывает увеличение активности механизма фотосинтеза и концентрации углекислого газа. При 0,5–1,0%-ной солености высвобождается большое количество кислорода, что положительно сказывается на устойчивости к фотоингибированию (не показано), что наблюдалось при более низких концентрациях соли, особенно в бессолевой среде. Очевидно, соленость повышает устойчивость фотосинтетического аппарата к повреждениям, вызванным высокой освещенностью, и это не зависит от концентрации углекислого газа в среде. Кроме того, воздействие солености способствует увеличению устойчивости к другим абиотическим стрессам.

Скорость фотосинтеза у штамма *Calothrix* sp. ISC 65 была выше, чем у *Fischerella* sp. FS 18 с юга Ирана. Для последнего штамма максимальная скорость выделения кислорода отмечена на 3-и сут после инокуляции и составляла около 40 нмоль · мг с.в.<sup>-1</sup> · мин<sup>-1</sup> при культивировании на среде без дополнительного внесения NaCl (Soltani et al., 2011), тогда как у *Calothrix* sp. ISC 65 она достигала 70 нмоль · мг с.в.<sup>-1</sup> · мин<sup>-1</sup> или даже больше на средах с соленостью 0,5%, и особенно 1%. Следовательно, фотосинтетический аппарат *Calothrix* sp. ISC 65 более активен, чем у штамма *Fischerella* sp. FS 18.

В работе мы использовали освещенность интенсивностью 2 μмоль фотон · м<sup>-2</sup> · с<sup>-1</sup>, что ниже, чем у других авторов (Lu, Vonshak, 1999, 2002; Poza-Carion et al., 2001; Soltani et al., 2005, 2007; Dehiab et al., 2007; и др.). Штаммы *Nostoc* sp. UAM 205 и 206 изучали при крайне низкой концентрации диоксида углерода и освещенности 60 μмоль фотон · м<sup>-2</sup> · с<sup>-1</sup> (Zeng, Vonshak, 1998). Было показано, что при культивировании в условиях высокой интенсивности света клетки после фотоингибирования вследствие солевого стресса имели более низкую ФА по сравнению с клетками, выращиваемыми в условиях низкой освещенности (Dehiab et al., 2007). Однако в этом исследовании не учитывали уровень CO<sub>2</sub>.

Устойчивость фикобилисом играет главную роль по сравнению с другими составляющими фотосинтетических пигментов и светособирающего комплекса. Это особенно актуально в отношении флуктуаций спектра поглощения за короткий промежуток времени. Еще одним важным моментом являются более высокие показатели хлорофиллов и каротиноидов. Похоже, у штамма *Calothrix* sp. ISC 65 гибкость фотосинтетического аппарата наряду с устойчивостью фикобилисом при более высоких концентрациях NaCl обеспечивает более высокую продукцию светособирающей системы, которая увеличивается при больших показателях солености даже в условиях с крайне низкими показателями содержания диоксида углерода и освещенности. Такое преимущество *Calothrix* sp. ISC 65 следует учитывать при отборе штаммов для будущих программ долгосрочных исследований.

Таблица 4

Влияние разных концентраций солености при низких показателях освещенности (2  $\mu\text{моль фотон} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ ) и концентрации углекислого газа (без обогащения и аэрации) на параметры фотосинтеза штамма *Calothrix sp.* ISC 65

Соленость, %	$P_{\text{max}}$ ( $\mu\text{моль O}_2 \text{ мг хл}^{-1}\text{ч}^{-1}$ )	$\alpha$	$I_k$ ( $\mu\text{моль O}_2 \text{ мг хл}^{-1}\text{ч}^{-1}$ )
0	89 $\pm$ 8,23	1,3 $\pm$ 0,39	139 $\pm$ 8,23
0,5	327,99 $\pm$ 37,33	3,85 $\pm$ 0,18	69 $\pm$ 6,21
1,0	334,99 $\pm$ 27,39	3,45 $\pm$ 0,38	72 $\pm$ 5,11

Примечание. Здесь и в табл. 5 приведены средние значения трех экспериментов;  $\pm$  – стандартное отклонение.

Более высокие значения соотношения фотосистем ФСИ : ФСII у цианобактерий свидетельствуют о большей эффективности переноса энергии от ФСII к пластохинону, а затем к ФСИ. У цианобактерий, обычно доля ФСИ выше для каждой ФСII. Например, у штаммов *Synechococcus sp.* и *Synechocystis sp.* до начала голодания по железу показатель ФСИ : ФСII составлял 2,3 и 2,5 соответственно. После истощения железа этот показатель снижается до 0,4 у *Synechococcus sp.* и до 1,1 у *Synechocystis sp.* (Gan et al., 2014). Напротив, при изучении соотношения фотосистем у штамма *Synechocystis sp.* PCC 6803 при дефиците азота (Ogawa, Sonoike, 2016) выявлено, что стехиометрия фотосистем была более-менее постоянной независимо от состава культуральной среды. Соотношение ФСИ : ФСII у этого штамма колебалось от 3,5 до 4,5.

На рис. 3 показан характер распределения величин соотношения фотосистем в зависимости от концентрации соли в среде и времени воздействия. При бессолевых условиях, особенно через короткое время после инокуляции, показатель ФСИ : ФСII был довольно высоким, но со временем он изменялся. Наряду с другими факторами окружающей среды на него повлияло увеличение концентрации NaCl до 0,5% и выше. Еще один участок с высокими значениями ФСИ : ФСII соответствует самой высокой солености (1%) и максимальному времени воздействия (96 ч). В целом, величины соотношения фотосистем у этого штамма составляли 1,2–1,5, что почти соответствует показателям штаммов *Fischerella sp.* FS 18 (Amirlatify et al., неопубл. данные) и *Halosiphon sp.* (Shokravi et al., 2014), но отличается от полученных для штаммов *Nostoc sp.* и *Phormidium sp.* (Kiaie et al., 2013) из того же региона.

Итак, увеличение продолжительности воздействия и концентрации соли в среде привело к повышению эффективности обеих фотосистем. В ФСИ естественное производство восстановителя и циклический поток электронов могут значительно увеличиться. В особых ситуациях для увеличения активности циклического потока или восстановительного пула штамма можно увеличить время воздействия (до 96 ч) при

концентрации соли в среде 0,5–1,0%. Это обеспечит процесс фотолиза воды и перенос электрона (помимо энергии) от ФСII к цитохрому Б6Ф, что согласуется с данными других исследователей (Zorz et al., 2015), которые предположили, что обилие цитохрома Б6Ф и ФСI (при относительно низком уровне ФСII и РубисКО) связано с увеличением циклического потока электронов вокруг ФСI у *Prochlorococcus* sp. MIT 9313.

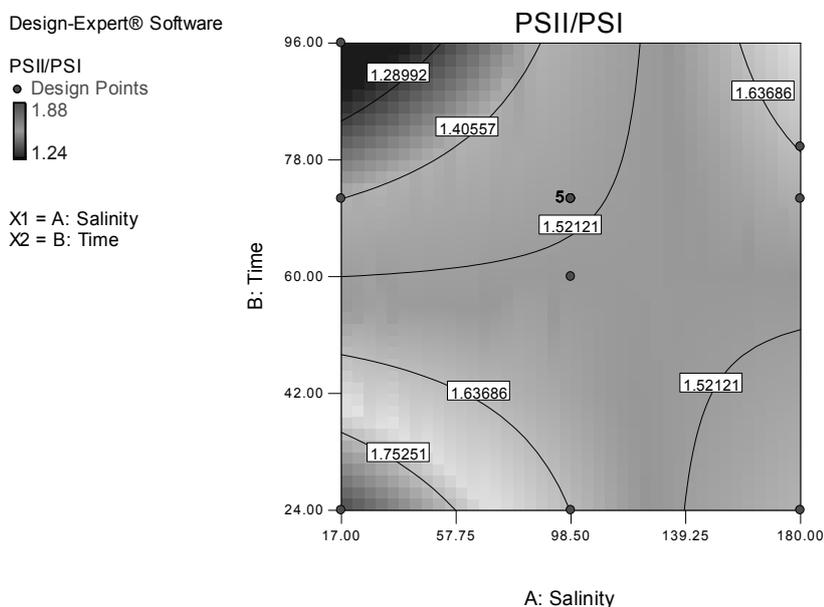


Рис. 3. RSp-анализ соотношения фотосистем, солености и времени воздействия у штамма *Calothrix* sp. ISC 65

Как известно, азотфиксирующая активность гетероцитных цианобактерий требует много энергии и редуцтантов, которые вырабатываются в процессе фотосинтеза. Логично предположить, что более высокие уровни солености обеспечивают более высокие показатели диазотрофии в результате увеличения ФА. Это подтверждают также результаты измерения прямой нитрогеназной активности (табл. 5). Концентрация солености 0,5–1,0% способствует повышению азотфиксации. Отмечен высокий уровень продуцирования аммония, также выявлено, что у штамма нет проблем с производством энергии и восстановителя (данные не показаны). Под влиянием солености морфология и естественная топология вегетативных клеток *Calothrix* менялись от цилиндрических до овально-цилиндрических или даже овальных форм.

Паттерн нитрогеназной активности, особенно при более высоких показателях солености, был аналогичен отмеченному для фотосинтеза. Вероятно, 4-й день после инокуляции можно считать особым периодом:

в условиях 1%-ной солености среды в этот день возрастала и нитрогеназная, и фотосинтезирующая активность. Это можно объяснить с физиологической точки зрения. Как упоминалось ранее, для нитрогеназной активности требуются предпосылки и компартменты, которые должны обеспечиваться путем фотосинтеза. Значительное увеличение фотосинтетической активности можно рассматривать как огромный источник энергии и продукции восстановителя для процесса азотфиксации. Показатели фотосинтеза и нитрогеназной активности возросли на второй день, снизились на третий день, а затем снова существенно увеличились на четвертый день эксперимента (данные не показаны).

Таблица 5

**Влияние разных концентраций солености при низких показателях освещенности ( $2 \mu\text{моль фотон} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ ) и концентрации углекислого газа (без обогащения, без аэрации) на нитрогеназную активность и морфологию вегетативных клеток штамма *Calothrix sp.* ISC 65**

Соленость, %	Содержание, нмоль этилена $\text{мг}^{-1}\text{ч}^{-1}$ с.в.)	Форма вегетативной клетки
0	$128 \pm 14$	Субцилиндрическая
0,5	$276 \pm 34$	Субцилиндрическая, овально-цилиндрическая
1	$289 \pm 23$	Субцилиндрическая, овально-цилиндрическая

Акклиматизация нитрогеназной активности на второй день после инокуляции проходила значительно сложнее. Возможно, это связано с большей скоростью образования в процессе азотфиксации различных молекул при ограниченной освещенности. Однако с прикладной точки зрения высокая нитрогеназная активность в условиях засоления, крайне ограниченного поступления  $\text{CO}_2$  и низкой освещенности может рассматриваться как преимущество данного штамма. Учитывая, что выработка большого количества азотистых соединений обеспечивается за счет получения аммония из атмосферного азота, а также учитывая важность соединений азота для поддержания равновесия в экосистеме, логично предположить, что выделенные из экологически напряженных районов цианобактерии адаптированы к местообитаниям с низкой освещенностью, ограниченным количеством растворенного  $\text{NH}_4$  и колебаниями солености. В дальнейших исследованиях при решении прикладных задач следует использовать фиторемедиацию и новые технологии биоудобрений (Subashchandrabose et al., 2013).

Как видно на рис. 4, ИК-Фурье спектр показывает пики разной высоты, что свидетельствует о том, что изменения в химических функциональных группах вызваны комбинированным воздействием солености и крайне низкой освещенности. Полосы относятся к группе

Амид II, а  $\text{OH}^-$  растяжение для белков и углеводов демонстрирует совершенно разную высоту пиков. Наиболее существенные изменения конфигурации отмечены при солености 1%. Мы показали различия в асимметричной вибрации углерода, растяжении липидов и  $\text{OH}^-$ -изгибе полисахаридов при различной солености. В большинстве случаев эффект 1%-ной солености был относительно большим. В настоящее время мы не можем обсуждать изменения на границах отпечатков, хотя влияние солености и на этот регион тоже важно. Сочетание чрезвычайно низкой освещенности и концентрации углекислого газа при колебаниях солености обусловило появление различных паттернов функциональных групп исследованного штамма, особенно в областях углеводов, белков и отпечатков.

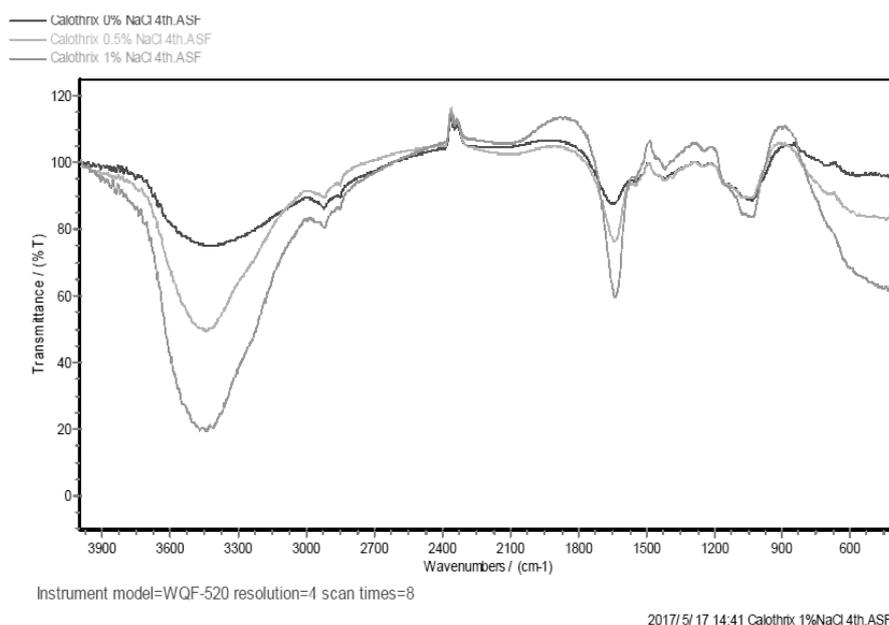


Рис. 4. Анализ инфракрасной спектроскопии с преобразованием Фурье штамма *Calothrix* sp. ISC 65 при разных концентрациях соли в среде после 96 ч воздействия

Нам не удалось найти публикаций, в которых бы непосредственно использовали ИК-Фурье при изучении физиологии стресса. Большинство работ посвящено использованию этого анализа в биохимии липидов и профилировании, особенно для использования биотоплива, хотя уже давно известна важность этого метода для таксономии водорослей (Ratledge, Wilkinson, 1988; Cohen et al., 1995; Kenne, Van der Merwe, 2013; Borah et al., 2016). Для того, чтобы он стал диагностическим инструментом при идентификации цианобактерий, требуется время и усилия большого числа исследователей. Некоторые ученые считают (Borah et al., 2016), что спектроскопия ATR-FTIR не является достаточно надежным инструментом в хемотаксономии цианобактерий. Изучение влияния солености на перепроизводство

липидов у *Chlorella pyrenoidosa* методом ИК-Фурье показало, что при солености от 5 до 25 мМ NaCl повышается уровень липидов от 10 до 45% (Bajwa, Bishnoi, 2015). Авторы предполагают, что результаты ИК-Фурье отражают высокое содержание липидов, углеводов и нуклеиновых кислот конкретного штамма, однако, несмотря на разные штаммы и величины солености, наши результаты согласуются. Недавно метод ИК-Фурье был впервые использован для оценки липидов у нативных иранских цианобактерий (Kiaei et al., 2013). Изучали влияние органического и неорганического азотного питания на производство липидов (особенно жирных кислот) у четырех штаммов цианобактерий, из которых в качестве модельного был избран штамм *Synechococcus*. Авторы пришли к выводу, что воздействие различных концентраций нитратов на клетки *Synechococcus* меняет профиль жирных кислот и аминокислот. Пики ИК-Фурье смещались и меняли свою длину при различной концентрации источников азота, особенно в форме нитратов.

*Авторы благодарны профессору Неду Солтани (Университет Шахида Бехешти – Иран), д-ру Али Эбади, г-ну Мохаммада Айниха, д-ру Давуда Бег-Недждада и г-же Маллих Расаи (Исламский университет Азад в Горгане) за сотрудничество.*

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Amirlatifi F., Soltani N., Saadatmand S., Shokravi Sh., Dezfulian M. Crude oil-induced morphological and physiological responses in cyanobacterium *Microchaete tenera* ISC13. *Intern. Journ. Envir. Res.* 2013. 7(4): 1007–1014.
- Bajwa K., Bishnoi N. R. Osmotic stress induced by salinity for lipid overproduction in batch culture of *Chlorella pyrenoidosa* and effect on others physiological as well as physicochemical attributes. *J. Algal Biomass Utiln.* 2015. 6: 26–34.
- Bhadauriya P., Gupta R., Singh S., Bisen P.S. Physiological and biochemical alterations in a diazotrophic cyanobacterium *Anabaena cylindrica* under NaCl stress. *Curr. Microbiol.* 2007. 55(4): 334–8.
- Borah D., Vimala N., Thajuddin N. Biochemical composition and chemotaxonomy of cyanobacteria isolated from Assam, North-East India. *Phykos.* 2016. 46 (2): 33–41.
- Boussiba S., Sandbank E., Shelef G., Cohen Z., Vonshak A., Ben-Amotz A., Richmond A. Outdoor cultivation of the marine microalga *Isochrysis galbana* in open reactors. *Aquaculture.* 1988. 72(3-4): 247–253.
- Burns R., Danielle J., MacDonald C., Mc Ginn J.P., Campbell D.A. Inorganic carbon repletion disrupts photosynthetic acclimation low temperature in the cyanobacteria *Synechococcus elongatus*. *J. Phycol.* 2005. 41: 322–334.
- Cohen Z., Margheri M. C., Tomaselli L. Chemotaxonomy of cyanobacteria. *Phytochemistry.* 1995. 40(4): 1155–1158.
- Deblois C.P., Marchand A., Juneau P. Comparison of photoacclimation in twelve freshwater photoautotrophs (chlorophyte, bacillariophyte, cryptophyte and cyanophyte) isolated from a natural community. *PLoS ONE.* 2013. 8(3): e57139.
- Dehiab R.B., Hatem Ben Quada, Hamadi Boussseta, Fabrice Franck, Amor Elbed, Michel Brouuers. Growth, fluorescence, photosynthesis O<sub>2</sub> production and pigment content of

- salt adapted cultures of *Arthrospira (Spirulina) platensis*. *J. Appl. Phycol.* 2007. 19: 293–301.
- Dezfulian M., Soltani N., Shokravi Sh., Baftehchi L., Alnajjar N., Ehsan S., Abolhasani Soorki A. Ecophysiological characters and PCR-identification of *Calothrix* sp. ISC 65 isolated from south of Iran. *NCBI*. 2010: GU591756.
- Desikachary T.V. *Cyanophyta*. Indian council of agricultural research, New Delhi, 1959.
- Fernandez-Valiente E., Leganys F. Regulatory effect of pH and incident irradiance on the levels of nitrogenase activity in the cyanobacterium *Nostoc* UAM 205. *Journ. Plant Physiol.* 1989.135: 623–627.
- Fraser J.M., Tulk S.E., Jeans J.A., Campbell D.A., Bibby T.S., Cockshutt A.M. Photophysiological and photosynthetic complex changes during iron starvation in *Synechocystis* sp. PCC 6803 and *Synechococcus elongatus* PCC 7942. *PLoS ONE*. 2013. 8(3): e59861.
- Gan F., Shen G., Bryant D.A. Occurrence of far-red light photoacclimation (FaRLiP) in diverse cyanobacteria. *Life*. 2014. 5(1): 4–24.
- Ghobadian S., Ganjidoost H., Ayati B., Soltani N. Evaluation of the effects of aeration cycle and culture medium concentration on biomass qualitative and quantitative indices in microalga *Spirulina* as candidate for wastewater treatment. *J. Aquat. Ecol.* 2015. 5(2): 87–99.
- Gugger M.F., Hoffmann L. Polyphyly of true branching cyanobacteria (*Stigonematales*). *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2004. 54: 349–357.
- Inoue-Kashino N., Kashino Y., Satoh K., Terashima I., Pakrasi H.B. PsbU provides a stable architecture for the oxygen-evolving system in cyanobacterial photosystem II. *Biochemistry*. 2005. 44(36): 12214–12228.
- Iranshahi S., Nejadstari T., Soltani N., Shokravi Sh., Dezfulian M. The effect of salinity on morphological and molecular characters and physiological responses of *Nostoc* sp. ISC 101. *Iran. J. Fish. Sci.* 2014. 13(4): 907–917.
- John D.M., Whitton B.W., Brook A.J. *The Freshwater Algal Flora of The British Isles*. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 2003.
- Kaushik B. D. *Laboratory methods for blue-green algae*. New Delhi: Assoc. Publ. Company, 1987.
- Kenne G., Van der Merwe D. Classification of toxic cyanobacterial blooms by Fourier-transform infrared technology (FTIR). *Adv. Microbiol.* 2013. 3: 1–8.
- Kiaei E., Soltani N., Mazaheri Assadi M., Khavarinegad R., Dezfulian M. Study of optimal conditions in order to the use of the cyanobacteria *Synechococcus* sp. ISC106 as a candidate for biodiesel production. *J. Aquat. Ecol.* 2013. 2(4): 40–51.
- Komarek J., Anagnostidis K. Modern approach to the classification system of *Cyanophytes*. 4 – *Nostocales*. *Archiv Hydrobiol. Suppl.* 1989. 82(3): 247–345.
- Lu C., Vonshak A. Photoinhibition in outdoor *Spirulina platensis* cultures assessed by polyphasic chlorophyll fluorescence transients. *J. Appl. Phycol.* 1999. 11(4): 355–359.
- Lu C., Vonshak A. Effects of salinity stress on photosystem II function in cyanobacteria *Spirulina platensis* cells. *Physiol. Plant.* 2002. 114(3): 405–413.
- Müller C., Reuter W., Wehrmeyer W., Dau H., Senger H. Adaptation of the photosynthetic apparatus of *Anacystis nidulans* to irradiance and CO<sub>2</sub> concentration. *Bot. Acta*. 1993. 106: 480–487.

- Ogawa T., Sonoike K. Effects of bleaching by nitrogen deficiency on the quantum yield of photosystem II in *Synechocystis* sp. PCC 6803 revealed by Chl fluorescence measurements. *Plant and Cell Physiol.* 2016. 57(3): 558–567.
- Poza-Cariayn C., Fernández-Valiente E., Picas F.F., Leganés F. Acclimation to photosynthetic pigments and photosynthesis of the cyanobacterium *Nostoc* sp. strain UAM206 to combined fluctuations of irradiance, pH, and inorganic carbon availability. *J. Plant Physiol.* 2001. 158: 1455–1461.
- Prescott G.W. *Algae of the western great lake area*. W.M.C. Brown Company Publ., 1962.
- Ratlidge C., Wilkinson S.G. An overview of microbial lipids. In: *Microbial lipids*. Vol. 1. Eds C. Ratlidge, S.G. Wilkinson. London: Acad. Press. 1988. Pp. 3–22.
- Safaie Katoli M., Nejad-Sattari T., Majd A., Shokravi Sh. Physiological, morphological and ultrastructural responses of cyanobacterium *Fischerella* sp. FS 18 to combination effects of extreme conditions. *J. Appl. Environ. Biol. Sci.* 2015. 5(1): 135–149.
- Shokravi Sh., Amirlatifi F., Safaie M., Ghasemi Y., Soltani N. Some physiological responses of *Nostoc* sp. JAH 109 to the combination effects of limited irradiance, pH and DIC availability. *Quart. J. Plant Sci. Res.* 2006. 1(3): 55–63.
- Shokravi Sh., Soltani N., Baftechi L. *Cyanobacteriology*. Tehran: Islamic Azad. Univ. Publ., 2007.
- Shokravi Sh., Soltani N. Acclimation of the *Hapalosiphon* sp. FS 56 (*Cyanoprokaryota*) to combination effects of dissolved inorganic carbon and pH at extremely limited irradiance. *Int. J. Algae.* 2011. 13 (4): 379–391.
- Shokravi Sh., Amirlatifi H.S., Pakzad A., Abbasi B., Soltani N. Physiological and morphological responses of unexplored *Cyanoprokaryota Anabaena* sp. FS 77 collected from oil polluted soils under a combination of extreme conditions. *Int. J. Algae.* 2014, 16(2): 164–180.
- Soltani N., Khavari-Nejad R.A., Tabatabaei Yazdi M., Shokravi Sh., Fernández-Valiente E. *Physiological and antimicrobial characterizations of some cyanobacteria in extreme environments*. Abstr. Ph.D. (Biol.) Thesis, 2005.
- Soltani N., Khavari-Nejad R., Tabatabaie M., Shokravi Sh., Fernandez Valiente E.F. Variation of nitrogenase activity, photosynthesis and pigmentation of cyanobacteria *Fischerella ambigua* strain FS18 under different irradiance and pH. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2006. 22 (6): 571–577.
- Soltani N., Khavarinejad R.A., Shokravi Sh. The effect of ammonium on growth and metabolism of soil cyanobacteria *Fischerella* sp. FS18 *Quart. J. Plant Sci. Res.* 2006. 1 (1): 48–53.
- Soltani N., Khavarinejad R.A., Tabatabaei Yazdi M., Shokravi Sh. Growth and metabolic feature of cyanobacteria *Fischerella* sp. FS18 in different combined nitrogen sources. *Iran. J. Sci.* 2007. 18(2): 123–128.
- Soltani N., Zarrini G., Ghasemi Y., Shokravi Sh., Baftechi L. Characterization of soil cyanobacterium *Fischerella* sp. FS18 under NaCl stress. *J. Biol. Sci.* 2008. 7(6): 931–936.
- Soltani N., Siahbalaie R., Shokravi Sh. Taxonomical characterization of *Fischerella* sp. FS18. A multidisciplinary approach. *Int. J. Algae.* 2011. 21 (9): 48–55.
- Soltani N., Baftechi L., Dezfulian M., Shokravi Sh., Alnajjar N. Molecular and morphological characterization of oil polluted microalgae. *Int. J. Environ. Res.* 2012. 6(2): 481–492.

- Soltani N., Iranshahi S., Nazari F., Bolffon M., Rahmani M., Ebrahimi B. The effect of different light intensities on physiological and biochemical responses in cyanobacterium *Schizothrix vaginata* under naphthalene treatment. *J. Aquat. Ecol.* 2015. 4(4): 32–25.
- Subashchandrabose S. R., Ramakrishnan B., Megharaj M., Venkateswarlu K., Naidu R. Mixotrophic cyanobacteria and microalgae as distinctive biological agents for organic pollutant degradation. *Environ. Int.* 2013. 51: 59–72.
- Thomas D. N. Photosynthetic microbes in freezing deserts. *Trends in Microbiol.* 2005. 13 (3): 87–88.
- Tiffany L., Britton M. *The Algae of Illinois*. New York: Hafner Publ. Co., 1971.
- Tiwari S., Mchanty P. Cobalt induced changes in photosystem activity in *Synechocystis* PCC 6803: Alterations in energy distribution and stoichiometry. *Photosynt. Res.* 1996. 50(3): 243–256.
- Tyler D.B., MacKenzie R., Burns A., Campbell D. A. Carbon Status Constrains Light Acclimation in the Cyanobacterium *Synechococcus elongatus*. *Plant Physiol.* 2004. 136: 3301–3312.
- Zeng M.-T., Vonshak A. Adaptation of *Spirulina platensis* to salinity-stress. Comparative biochemistry and physiology. Pt A. *Mol. Integr. Physiol.* 1998. 120(1): 113–118.
- Zorz J.K., Allanach J.R., Murphy C.D., Roodvoets MS., Campbell D.A., Cockshutt A.M. The RUBISCO to photosystem II ratio limits the maximum photosynthetic rate in picocyanobacteria. *Life.* 2015. 5(1): 403–417.

Поступила 25.10.2017 г.

Подписала в печать Е.К. Золотарева

ISSN 0868-854 (Print)

ISSN 2413-5984 (Online). *Algologia*. 2018, 28(2): 182–201

<https://doi.org/10.15407/alg28.02.182>

*Amirlatifi H.S., Shokravi S., Sateei A., Golsefidi M.A., Mahmoudjanlo M.*

Department of Biology, Gorgan Branch, Islamic Azad University, Gorgan, Iran

SAMPLES OF CYANOBACTERIUM *CALOTHRIX* SP. ISC 65 COLLECTED FROM OIL POLLUTED REGIONS RESPOND TO COMBINED EFFECTS OF SALINITY, EXTREMELY LOW-CARBON DIOXIDE CONCENTRATION AND IRRADIANCE

Epidaphic and endaphic cyanobacteria of oil polluted regions of southern Iran live under extreme environmental conditions including extremely low irradiance, limited carbon dioxide concentration and high degrees of salinity. *Calothrix* sp. ISC 65 is an unexplored strain which seems common in southern Iran and near the Persian-Gulf. Until now, we have no report about the basic and applied aspects of such a strain. In this research *Calothrix* sp. ISC 65 has been characterized physiologically by the combination of extremely low irradiance ( $2 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ), different salinities (0%, 0.5%, and 1%), and extremely limited carbon dioxide concentration (no aeration, no carbon dioxide enrichment). Spectroscopically, an analysis showed that 1% salinity after 96 hours caused a significant increase in growth rate, chlorophyll, and phycobilisome production. Lower salinity caused about a 40% decrease of phycobilisome production even after 24 hours. Phycocyanin seemed the main part of phycobilisome but salinity at 1% caused phycoerythrin and

allophycocyanin production excitation as the outer part of the photosynthetic antenna as well. Results of long-time oxygen production supported the above. Increasing salinity to 0.5% and 1% caused a significant increase of photosynthetic long time activity. Differences between 0.5% and 1% were not significant. Increasing salinity affected the CO<sub>2</sub> concentration mechanism and caused more activation. Activation of the CO<sub>2</sub> concentration mechanism appeared as the basic strategy supporting the high rate of photosynthesis providing enough material necessary for photosynthetic processes. Results of a spectrofluorometric analysis showed that the PSI : PSII ratio increased by increasing salinity and reached the highest level after 96 hours. A surface response plot analysis showed that low salinity was able to increased the ratio even more but only for a very short time after inoculation. Salinity at the level of 0.5% caused increases in nitrogenase activity and the excitation of heterocyst production. This was also true for salinity levels of 1% though the heterocyst production declined only a little. Fourier transform infrared analysis (FTIR) analysis showed that 1% salinity caused the most outstanding configuration changes of the functional groups. The differences in functional group patterns between culture media with no additional salinity and 1% were completely obvious. Differences around asymmetric carbon vibration, lipid stretching and OH bending of the polysaccharides occurred at 1% salinity treatments. Collectively, 0.5 to 1% salinity caused the most physiological activities in *Calothrix* sp. ISC 65 at extremely limited irradiance and carbon dioxide concentration.

**Key words:** *Calothrix*, cyanobacteria, dissolved inorganic carbon, limited irradiance, oil polluted, regions, salinity