

УДК 582.232:275-11

Е.М. УРМЫЧ, Х.А. БЕРДЫКУЛОВ, Н.К. КОЗИРАХИМОВА

Научно-производственный центр «Ботаника» АН Республики Узбекистан,
Узбекистан, 700143 Ташкент, ул. Ф. Ходжаева, 32**СУТОЧНАЯ ДИНАМИКА ГАЗООБМЕНА И СОДЕРЖАНИЯ
ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ *CHLAMYDOMONAS
PARIETARIA DILL (CHLOROPHYTA)***

Исследована суточная динамика интенсивности фотосинтеза, дыхания и содержания пигментов *Chlamydomonas parietaria* Dill (*Chlorophyta*). Показано, что в течение суток интенсивность фотосинтеза превышает или находится на одном уровне с темновым дыханием. Суточная динамика газообмена и содержания пигментов зависит от физиологического состояния клеток и биологического ритма.

Ключевые слова: фотосинтез, дыхание, пигменты, *Chlorophyta*.

Введение

Для достижения высокой продуктивности водорослей применяется их интенсивное культивирование в лабораторных условиях. Продуктивные штаммы характеризуются высокой интенсивностью фотосинтеза и лабильностью фотосинтетического аппарата, что способствует увеличению биомассы микроводорослей. Соотношение содержания фотосинтетических пигментов характеризует физиологическое состояние культуры клеток и связано с функционированием I и II фотосистем (Тренкеншу, Геворгиз, 1998).

Физиологические свойства некоторых *Chlorophyta* и *Cyanophyta* изучали многие авторы (Гапочка, 1989; Негруцкий, 1990; Бердыкулов, 1991; Kanarawa, 1992). Такие исследования необходимы для выявления адаптационных механизмов к изменению внешних условий, а также для определения количественных характеристик светозависимости фотосинтетического аппарата. Известно, что при культивировании микроводорослей наибольший прирост биомассы и высокая интенсивность фотосинтеза наблюдается в условиях круглосуточного освещения (Гапочка, 1989). В природе биологические ритмы световой и темновой фазы подчинены продолжительности светового и темнового периода суток. Возникает вопрос, как изменяются процессы газообмена и количества пигментов в течение суток у водорослей, относящихся к продуктивным штаммам.

Цель данной работы – изучение суточной динамики интенсивности фотосинтеза и темнового дыхания, количества пигментов (хлорофилла *a*, *b* и суммы каротиноидов) продуктивной зеленой водоросли *Chlamydomonas parietaria* Dill во время фазы активного роста клеток (экспоненциальной фазы).

© Е.М. Урмыч, Х.А. Бердыкулов, Н.К. Козирахимова, 2005

Материалы и методы

Изучаемая водоросль *Chlamydomonas parietaria* – новый выделенный штамм из сточных вод Наманганской обл. (штамм УА-5-22) культивировалась в интенсивных условиях на лабораторной установке в стеклянных сосудах с барботажным перемешиванием смесью воздуха и CO_2 (1-1,5%). Водоросль выращивали на минеральной среде Тамия, освещение круглосуточное лампами ДРЛ-400 (1-70 Вт/м² ФАР). Фотосинтетическое выделение и поглощение кислорода определяли титрометрическим методом Винклера (Вознесенский и др., 1965). Продуктивность учитывали по изменению абсолютно сухой массы, а также путем подсчета клеток в камере Горяева. Интенсивность фотосинтеза и дыхания выражали в мг $\text{O}_2/\text{г}\cdot\text{ч}$ на 1 г абсолютно сухой массы (а.с.м.). Пигменты определяли в мг/г а.с.м. и рассчитывали по формулам, приведенным в статье Д.И. Сапожникова с соавт. (1961). Материалы обрабатывали методами вариационной статистики с оценкой показателей по критерию Стьюдента (Доспехов, 1973).

Результаты и обсуждение

В табл. 1 и 2 представлены данные суточной динамики интенсивности фотосинтеза и темнового дыхания культуры *Ch. parietaria* в различные фазы активного роста (4-е и 6-е сутки). Опыты показали, что в начале экспоненциальной фазы наблюдается наибольшая активность процессов газообмена и накопления биомассы. Известно, что клетки зеленых водорослей, в основном, делятся в ночное время (Негруцкий, 1990).

За ночные часы количество клеток увеличилось почти в 2 раза (см. табл. 1). Вегетативное их размножение автоспорами, к тому же в короткие сроки, указывает на благоприятные условия культивирования. В экспоненциальную фазу (4-е сутки) роста 80-85% клеток находятся в состоянии деления. В стационарную фазу (6-е сутки) деление клеток существенно замедляется. В состоянии деления находятся 15-20% клеток. Такие данные позволяют сократить сроки выращивания культуры до 5-6 суток и использовать штамм в непрерывной проточной культуре.

На 4-е сутки максимальная интенсивность видимого фотосинтеза наблюдалась в течение 6 ч дневного времени (с 12 до 15 ч она составляла 261,9 и 271,5 мг $\text{O}_2/\text{г}\cdot\text{ч}$, а в ночные часы уменьшалась более чем в 2 раза. Однако благодаря тому, что скорость темнового дыхания существенно не изменялась, значения истинного фотосинтеза не опускались ниже 100 ед., что свидетельствует о высокой активности фотосинтетического аппарата в течение суток.

При переходе в стационарную фазу (6-е сутки) максимальная интенсивность фотосинтеза наблюдалась в утренние часы (9-12 ч), а дальнейшее снижение видимого и истинного фотосинтеза согласуется с циклом развития клеток в стационарную фазу, которые характеризуются укрупнением размеров, преобладанием взрослых клеток с понижением физиологической активности. В этот период, по сравнению с 4-дневной культурой, уровень максимальной интенсивности фотосинтеза снизился в 2,5 раза и составлял 103,2 мг $\text{O}_2/\text{г}\cdot\text{ч}$ (см. табл. 2).

Слабое темновое дыхание в наблюдаемый период указывает на низкие энергетические затраты клеток. Но если на 4-е сутки слабая активность дыхания и высокий фотосинтез сопровождались активным накоплением биомассы, то на 6-е

Таблица 1. Физиологические показатели в течение суток (4-е сутки)

Время, ч	Температура, °С	Сухой вес, г/л а.с.м.	Кол-во клеток, млн/мл	мг O ₂ /г ч а.с.м.			мг/г ч а.с.м.				хл. а / хл. б	Σхл. / Σ кар.
				ИФвид	ИФист	ИД	хл. а	хл. б	Σ кар	хл. а+б		
9	23	0,29±0,01	4,0±0,04	220,7±5,1	264,8	44,1±3,2	24,2±0,2	8,75±0,3	15,3±0,3	32,9	2,76	1,56
12	24	0,31±0,01	4,2±0,08	261,9±7,0	306,5	44,6±3,0	41,6±0,4	30,9±0,4	25,6±0,4	72,5	1,34	2,83
15	24,5	0,33±0,01	4,4±0,08	271,5±5,3	326,7	55,2±4,8	33,5±0,1	21,1±0,2	16,8±0,2	54,6	1,58	3,25
18	24,5	0,35±0,01	4,7±0,07	111,8±4,3	201,2	82,9±6,1	25,9±0,1	14,5±0,1	14,3±0,2	40,4	1,78	1,81
21	25	0,40±0,02	5,4±0,08	116,0±2,8	188,0	72,0±5,3	20,1±0,1	20,0±0,1	13,9±0,4	40,1	1,00	2,88
24	26	0,64±0,01	8,7±0,1	110,0±2,6	160,2	50,2±4,5	20,3±0,2	17,0±0,2	9,5±0,1	37,6	1,17	2,13
3	26	0,68±0,02	9,2±0,1	60,6±5,0	118,2	57,6±4,4	15,4±0,2	13,5±0,2	8,76±0,1	28,9	1,14	3,29
6	26	0,72±0,03	9,7±0,9	67,8±5,2	103,4	35,6±2,9	15,4±0,2	13,2±0,2	7,52±0,2	28,6	1,16	3,8

сутки опыта наблюдался спад процессов газообмена в целом, который в дальнейшем сказывался на биологическом состоянии клеток. Полученные данные коррелируют с ранее проводившимися исследованиями по изучению дневной динамики газообмена продуктивных штаммов *Ch. globosa*, УА-5-16, *Ch. reinhardtii*, 449 (с 6 до 18 ч). Эти штаммы также характеризуются быстрым накоплением биомассы в благоприятных условиях. В экспоненциальную фазу наиболее активный газообмен культур наблюдался в дневное время – с 8 до 16 ч. Так, несмотря на непрерывное освещение, основное накопление пигментов происходит в дневные часы и сопровождается, видимо, активным поглощением световой энергии в это время, искажения биологических ритмов не наблюдается, т.е. этот механизм заложен генетически и не подвергается быстрым изменениям, вызванным внешними условиями.

Таблица 2. Суточная динамика интенсивности фотосинтеза (ИФ) и дыхания (ИД) *Chlamydomonas parietaria* Dill (6-е сутки)

Время, ч	Температура, °С	ИФ _{взд} , мг О ₂ /г·ч а.с.м.	ИФ _{вст} , мг О ₂ /г·ч а.с.м.	ИД, мг О ₂ /г·ч а.с.м.
9	21,5	70,3±4,2	101,2	30,9±0,3
12	21,5	103,2±6,1	113,6	10,3±0,07
15	22,5	61,6±4,0	71,9	10,3±0,07
18	23	51,6±2,5	61,9	10,3±0,07
21	23	36,7±3,3	52,2	15,5±0,1
24	23	51,6±2,5	72,2	20,6±0,1
3	23	46,5±4,1	82,6	36,1±0,3
6	23	30,9±3,1	46,4	15,5±0,1

Наблюдения за интенсивностью дыхания показали, что в течение суток его уровень значительно ниже интенсивности фотосинтеза. Наибольшая скорость дыхания отмечалась в вечерние часы (18-21 ч), но отношение Ф/Д при этом остается выше 1. В ночные часы происходит общий спад активности физиологических процессов, при этом значения скорости фотосинтеза и дыхания почти выравниваются (60,6 и 57,6 мг О₂/г·ч соответственно). На 6-е сутки динамика фотосинтеза и дыхания не меняется, но активность обоих процессов значительно снижается. Наименьшая активность дыхания составила 10,3 и фотосинтеза – 30,9 мг О₂/г·ч. Видимо, такой уровень газообмена для клеток в этот период достаточен для поддержания жизненных процессов, т.е. мы наблюдаем период «покоя» клеток после активного размножения.

Несмотря на то, что активность фотосинтеза в ночные часы снижается, круглосуточное освещение наряду с оптимизацией других факторов (температурного, питательного режима, обеспечения СО₂) в конечном счете способствует получению более высокой продуктивности микроводорослей.

Суточная динамика пигментов *Ch. parietaria*, как и для других водорослей, находится в тесном сопряжении с активностью фотосинтеза и очень чувствительна к изменению условий культивирования. Опыт показал, что максимальное содержание пигментов и наиболее активный фотосинтез наблюдались в 12 ч дня (хло-

рофилл *a* 41,6; хлорофилл *b* 30,9; сумма каротиноидов составляет 25,6 мг/г а.с.м.) (см. табл. 1). В вечерние и ночные часы, несмотря на освещение, наблюдается снижение содержания всех исследованных пигментов. Наименьшим их количество было к 6 ч утра. Однако соотношение пигментов хлорофилл *a* / хлорофилл *b* и Σ хлорофиллов / Σ каротиноидов в течение суток изменялось менее значительно, чем их содержание. Изменения содержания пигментов в течение суток можно разделить на периоды незначительной и более быстрой динамики. Резкое увеличение количества пигментов происходит в утренние часы, несмотря на то, что режим освещения в течение суток не меняется. Одноклеточные организмы с коротким циклом развития характеризуются высокой лабильностью содержания пигментов (Гусев, 1969; Белянин, 1984). Совокупность пигментных систем делает фотосинтетический аппарат живой системой, самонастраивающейся на оптимальное соответствие условиям освещения.

В целом динамика активности физиологических процессов клеток *Ch. parietaria* зависит от биологических ритмов. Следует отметить сохранение баланса общего содержания пигментов в течение суток: во сколько раз увеличилось содержание, например, хлорофилла *a* за утренние часы, во столько же раз оно уменьшилось за остальное время суток.

Выводы

1. Выделенный продуктивный штамм *Chlamydomonas parietaria* в экспоненциальную фазу характеризуется активным фотосинтезом в течение 6 дневных часов. При этом уровень интенсивности фотосинтеза не уступает продуктивным штаммам рода *Chlamydomonas*.

2. Максимальное содержание хлорофилла *a*, *b* и суммы каротиноидов отмечается в дневные часы и соответствует максимальной активности фотосинтеза.

3. Суточная динамика интенсивности фотосинтеза и содержания пигментов свидетельствует о спаде физиологических процессов в ночные часы, несмотря на круглосуточное освещение. Вместе с тем, процессы световой фазы фотосинтеза ночью не прекращаются, и в целом круглосуточное освещение способствует повышению продуктивности водорослей.

4. При круглосуточном освещении в оптимальных условиях суточная динамика газообмена и содержания пигментов зависит от физиологического состояния клеток водорослей и подчиняется свойственным им ритмам.

E.M. Urmich, H.A. Berdikulov, N.K. Kozyrakhymova

Scientific Production Centre of Botany, Academy of Sciences of Uzbekistan,
32, F. Khodjaev St., 700143 Tashkent, Uzbekistan

THE CHANGE OF GASEOUS EXCHANGE AND PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS OF GREEN ALGA *CHLAMYDOMONAS PARIETARIA* DILL (*Chlorophyta*) IN A DAY

In the article the change of the intensity of photosynthesis, respiration and photosynthetic pigments contents in a day of green alga *Chlamydomonas parietaria* Dill (*Chlorophyta*) are studied. The intensity of dark respiration in a day is not increased with intensity of photosynthesis. The change of gaseous exchange and photosynthetic pigments in a day are depend on physiology state of cells and biology rhythm.

Keywords: photosynthesis, respiration, pigments, *Chlorophyta*.

Бердыкулов Х.А. Биологические особенности перспективных фототрофных микроводорослей и методы их массового культивирования: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – Ташкент, 1991. – С. 37.

Белянин В.Н. Светозависимый рост низших фототрофов. – Новосибирск: Наука, 1984. – С. 37.

Вознесенский В.Л., Зеленский О.В., Семихатова О.А. Методы исследования фотосинтеза и дыхания растений. – М.; Л.: Наука, 1965. – С. 35-41.

Гапочка Л.Д. Об адаптации водорослей. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1989. – С. 40.

Гусев М.В. Пигменты синезеленых водорослей // Биология синезеленых водорослей / Под ред. В.Д. Федорова. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1969. – С. 88.

Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. – М., 1973. – С. 30-35.

Негрукчий С.Ф. Физиология и биохимия низких растений. – Киев: Высш. шк., 1990. – С. 94.

Сапожников Д.И., Важанова И.В., Массова Т.Г., Попова И.А. Об извлечении пигментов из одноклеточной зеленой водоросли // Бот. журн. – 1961. – 46, № 10. – С. 15.

Тренкину Р.П., Геворгиз Р.Г. Светозависимое содержание пигментов в микроводорослях. Модель. Теоретическая часть // Альгология. – 1998. – 8, № 2. – С. 170-177.

Kanazawa Zhuko, Mitsui Okira. Photosynthetic activities as a synchronously grown aerobic N₂-fixing unicellular cyanobacterium, *Synechococcus* sp. // Gen. Microbiol. – 1992. – N 3. – P. 467-472.

Получена 06.06.03

Подписала в печать Л.И. Мусатенко