

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  $\text{CO}_2$  (1-1,5%). Водоросль выращивали на минеральной среде Тамия, освещении круглосуточные лампами ДРЛ-400 (1-70 Вт/м<sup>2</sup> 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 О <sub>2</sub> /г ч а.с.м.			мг / г ч а.с.м.			Σ хл. а+б	Σ хл. а+б	Σ хл. / Σ пер.
				ИФвнд	ИФист	ИД	хл. а	хл. б	Σ пер			
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 <sub>взд</sub> , мг О <sub>2</sub> /г ч а.с.м.	ИФ <sub>вст</sub> , мг О <sub>2</sub> /г ч а.с.м.	ИД, мг О <sub>2</sub> /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 О<sub>2</sub>/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 О<sub>2</sub>/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 СО<sub>2</sub>) 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  $\Sigma$  хлорофиллов /  $\Sigma$  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.

Е.М. Урмыч, Н.А. Бердикюлов, Н.К. Козырашымова

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.

Ключевые слова: фотосинтез, дыхание, пигменты, *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.
- Негрозный 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 N<sub>2</sub>-fixing unicellular cyanobacterium, *Synechococcus* sp. // Gen. Microbiol. – 1992. – N 3. – P. 467-472.

Получена 06.06.03

Подписала в печать Л.И. Мусатенко