

УДК 582.26/27

**ОСОБЕННОСТИ ДИНАМИКИ ОСНОВНЫХ
ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ И НАКОПЛЕНИЯ
БИОМАССЫ У МИКРОВОДОРОСЛИ *SCENEDESMUS SP.* –
ПРЕДСТАВИТЕЛЯ МИКРОАЛЬГОФЛОРЫ
ПРЕСНОВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМ**

Отурина И. П., Макарова Е. И., Сидякин А. И.

*Таврический национальный университет им. В. И. Вернадского, Симферополь,
irina.oturina@mail.ru, acid2302@mail.ru*

В статье приведены результаты корреляционного анализа между содержанием фотосинтетических пигментов и биомассой микроводоросли *Scenedesmus* sp. в условиях накопительного культивирования. Показано, что концентрация хлорофиллов и каротиноидов у сценедесмуса при периодическом выращивании изменяется нелинейно.

Ключевые слова: корреляционная зависимость, биомасса, микроводоросли, хлорофиллы, каротиноиды.

ВВЕДЕНИЕ

Хлорококковые водоросли как компоненты многих экосистем, выполняя функцию первичных продуцентов органического вещества и кислорода, принимают участие в процессах самоочищения и формирования качества воды, а некоторые из них, например, представители рода *Scenedesmus*, служат биоиндикаторами трофности и сапробности водоемов [1]. Микроводоросли являются базовым звеном гидросистем благодаря способности поглощать солнечную энергию при участии фотосинтетически активных пигментных молекул. Каждый вид микроводорослей содержит сложный комплекс пигментов, качественное и количественное соотношение которых является строго индивидуальным признаком. Знание закономерностей накопления альгомассы и пигментов позволит предотвратить многие нежелательные явления, например, такие, как загрязнение водоемов и их цветение.

В научной литературе встречаются достаточно противоречивые сведения о характере связи между содержанием в тканях высших растений основных пигментов фотосинтеза и накапливающейся в результате этого процесса биомассой [2]. Данные по изучению корреляционной зависимости между накоплением биомассы и содержанием пигментов у низших растений, в частности, микроводорослей, практически отсутствуют. В связи с этим целью настоящего исследования явился анализ характера связи между показателями биомассы и концентрацией хлорофиллов и каротиноидов в клетках зеленой микроводоросли *Scenedesmus* sp.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом для проведения исследований служила альгологически чистая культура микроскопической водоросли *Scenedesmus* sp. (рис. 1), относящейся к отделу Chlorophyta, классу Chlorophyceae, порядку Chlorococcales, семейству Scenedesmaceae.

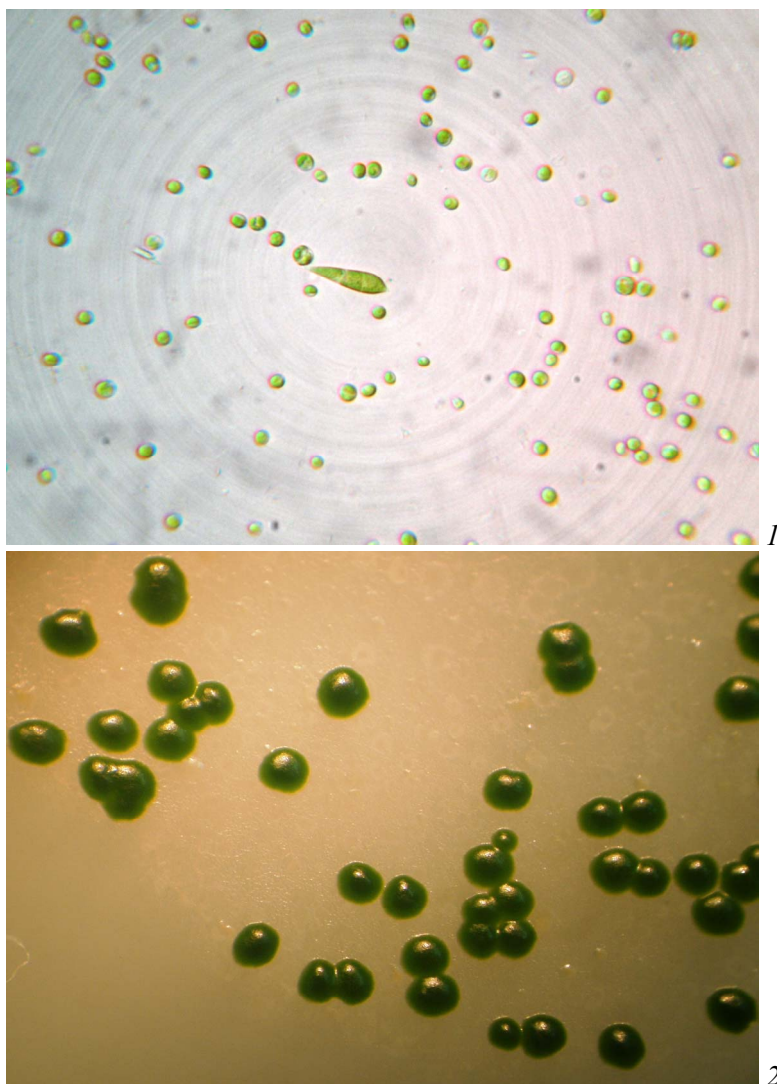


Рис. 1. Морфология *Scenedesmus* sp.

1 – препарат альгокультуры «раздавленная капля» ($\times 480$); 2 – вид колоний на плотной питательной среде Тамия на 18-е сутки культивирования ($\times 32$).

Для жизнеобеспечения и интенсификации развития водорослей их выращивали на минеральной среде Тамия [3] в стандартной установке для культивирования микроводорослей [4].

Содержание пигментов в клетках *Scenedesmus* sp. определяли спектрофотометрически. Экстракцию пигментных комплексов из влажных клеток микроводорослей проводили 100% ацетоном, из сухих – 90% ацетоном.

Концентрацию пигментов в клетках зеленых водорослей рассчитывали согласно общепринятым методикам в пересчете на относительно сухой вес [5, 6, 7, 8]. Для определения корреляционной зависимости между накоплением биомассы и содержанием в ней пигментов у микроводоросли *Scenedesmus* sp. в динамике полученные результаты обрабатывались статистически [9, 10, 11].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Имеющиеся в научной литературе данные [12, 13, 14, 15] свидетельствуют о том, что между концентрацией пигментов и количеством биомассы существует определенная корреляционная зависимость.

Общая динамика накопления основных фотосинтетических пигментов (хлорофиллов *a* и *b*, каротиноидов) и биомассы в цикле периодического культивирования *Scenedesmus* sp. представлена на рис. 2 и 3. Исследование динамики содержания хлорофилла *a* и накопления биомассы *Scenedesmus* sp. при экстракции пигментов из оводненных клеток показало, что концентрация данного фотосинтетического пигмента в цикле культивирования постепенно увеличивается с 13,08 до 23,9 мг/г, что свидетельствует о существовании положительной корреляции ($r=+0,91$) между изучаемыми показателями на протяжении экспоненциального роста и линейной фазы, в конце которой содержание хлорофилла *a* начинает снижаться. Это можно объяснить тем, что при замедлении скорости роста культуры, возможно, происходит смена лимитирующего фактора. К началу фазы отмирания клеток микроводоросли содержание хлорофилла *a* достигает минимального значения (9,59 мг/г). Корреляционная зависимость между накоплением биомассы и содержанием хлорофилла *a* с конца линейной фазы и до фазы отмирания принимает отрицательный характер ($r=-0,85$). Такую динамику пигментов в цикле культивирования можно объяснить тем, что в процессе роста альгологической культуры происходит увеличение числа клеток, а вместе с ним и содержания пигментных молекул. Эта тенденция имеет место до тех пор, пока плотность культуры не достигнет некоторой критической величины, при которой клетки начинают затенять друг друга. Концентрация хлорофиллов с ухудшением световых условий начинает снижаться. При нарастании биомассы также происходит истощение питательной среды, и дефицит некоторых жизненно важных минеральных элементов оказывает негативное влияние на образование пигментных комплексов. Наконец, продукты метаболизма микроводорослей, накапливаясь в питательной среде, могут ингибировать биосинтез пигментов и их предшественников.

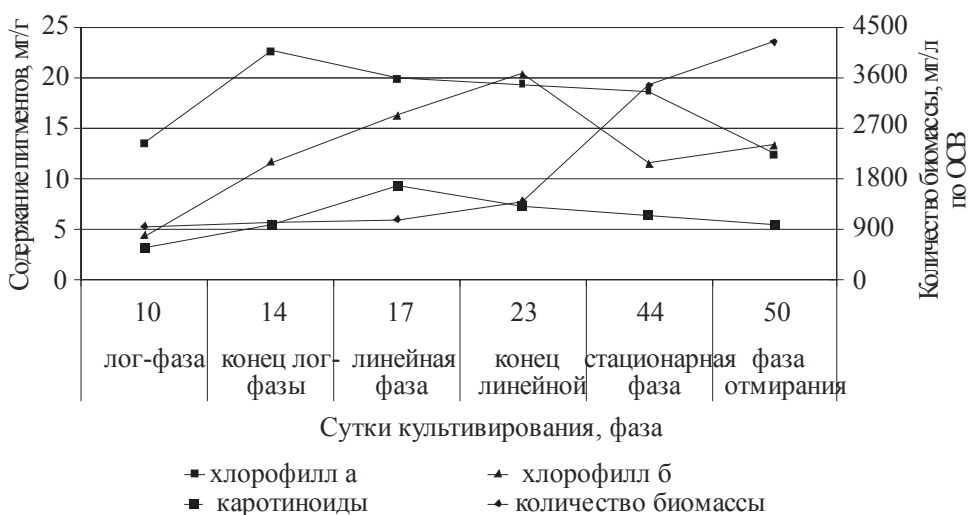


Рис. 2. Динамика накопления пигментов и биомассы в цикле культивирования *Scenedesmus sp.* (при экстракции из высушенной альгомассы)

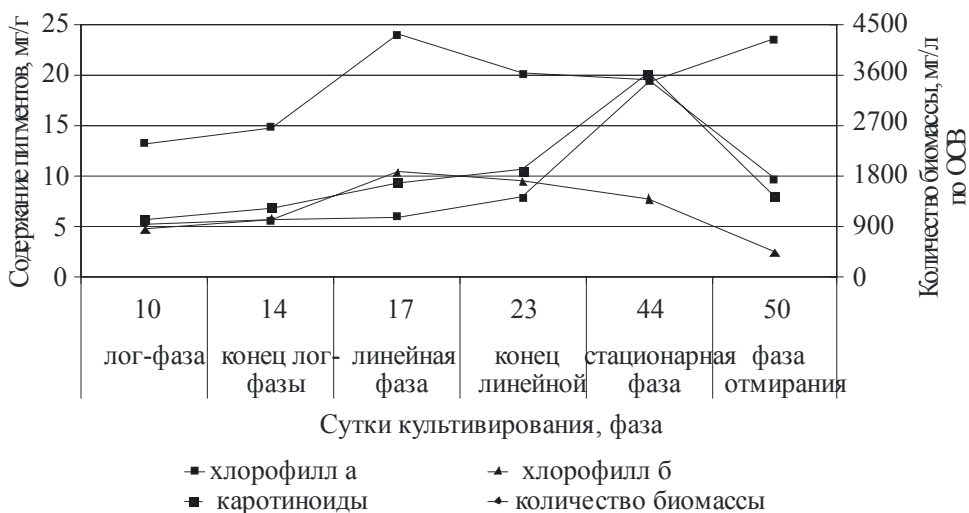


Рис. 3. Динамика накопления пигментов и биомассы в цикле культивирования *Scenedesmus sp.* (при экстракции из сырой альгомассы)

Содержание хлорофилла *b* в альгомассе в процессе культивирования увеличивалось с 4,6 мг/г (в логарифмическую фазу роста) до 10,26 мг/г (в линейную фазу). Корреляционная зависимость между изучаемыми показателями в данный период имела положительный характер ($r=+0,93$). С конца линейной фазы концентрация хлорофилла *b* постепенно снижалась до минимального значения 2,36 мг/г в фазе отмирания. Значение коэффициента корреляции сменилось с

положительного на отрицательное ($r=-0,9$), поскольку количество пигментов уменьшалась на фоне нарастания биомассы.

Содержание каротиноидов при культивировании *Scenedesmus* sp. до стационарной фазы роста возрастало пропорционально увеличению биомассы до 19,99 мг/г, а затем постепенно начинало снижаться. Коэффициент корреляции для данных показателей на начальных этапах культивирования имел высокие положительные ($r=+0,97$), а на заключительных (в фазу отмирания) приобрел низкое отрицательное ($r=-0,9$) значения. Такая закономерность накопления каротиноидов в цикле культивирования может быть характерной особенностью как изучаемого вида, так и водорослей вообще. Выявленная картина изменений концентрации каротиноидов в цикле выращивания микроводорослей согласуется с известными литературными данными [12, 13].

Изучение динамики содержания хлорофилла *a* в биомассе при его экстракции из высушенных клеток показало, что концентрация данного фотосинтетического пигмента увеличивается до конца лог-фазы. При дальнейшем культивировании, начиная с линейной фазы и до фазы отмирания, содержание хлорофилла *a* на фоне роста биомассы снижалось с 19,83 до 12,33 мг/г, что иллюстрируется отрицательной корреляционной зависимостью между накоплением данного фотосинтетического пигмента и количеством альгомассы ($r=-0,85$). Разницу в величинах коэффициентов корреляции между концентрациями пигментов, экстрагированных из высушенных и оводненных клеток биомассы, можно объяснить особенностями структурной организации пигментного аппарата, который связан с белково-липидным комплексом мембран тилакоидов и хроматофоров. Большую роль в упорядочивании компонентов электрон-транспортной цепи играют молекулы воды, входящие также в состав водоокисляющего комплекса фотосистемы II и являющиеся донорами электронов для молекул реакционных центров. Оводненность клеток микроводорослей как обитателей гидросферы очень высока, поэтому потеря даже небольшого количества воды их клетками может привести к необратимым перестройкам как в отдельных компонентах электрон-транспортных цепей, так и в молекулах самих фотосинтетически активных пигментов. В результате этого большинство исследователей рекомендуют извлекать пигменты растительных клеток водными растворами полярных растворителей для сохранения большей части пигментов в нативном состоянии. Таким образом, высушивание клеток микроводорослей неизбежно ведет к потере определенного, а иногда и существенного количества хлорофиллов и других фотосинтетических пигментов, что может быть причиной снижения показателей и нарушения прямой корреляционной зависимости между накоплением биомассы и содержанием пигментов.

Максимальное содержание хлорофилла *b* при его экстракции из высушенной биомассы было отмечено на 23-и сутки культивирования, что соответствует концу фазы линейного роста, динамика его накопления в биомассе в этот период описывается положительной корреляционной зависимостью ($r=+0,86$). В стационарную фазу роста наблюдалось снижение концентрации этого пигмента до 11,41 мг/г ($r=-0,9$).

При корреляционном анализе содержания хлорофиллов *b* и *a* в экстрактах из оводненных и высушенных клеток *Scenedesmus sp.* были выявлены высокий ($r=+0,96$) и средний ($r=+0,47$) положительные показатели корреляции между концентрацией этих двух фотосинтетических пигментов (рис. 4 и 5).

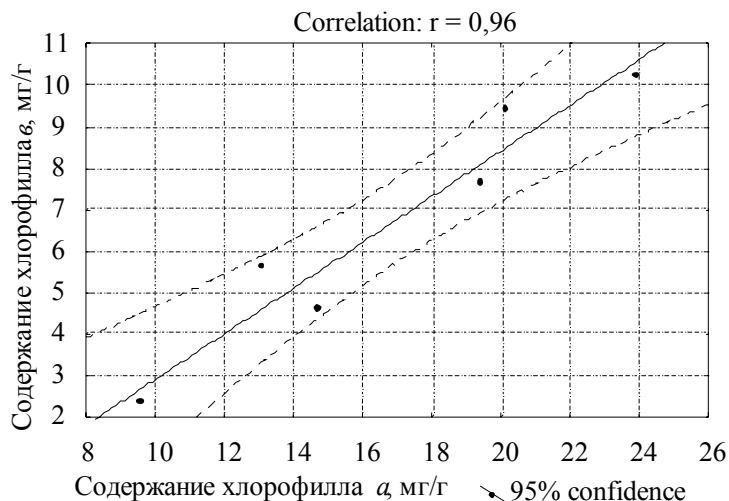


Рис. 4. Корреляционная зависимость между содержанием хлорофиллов *a* и *b* в культуре *Scenedesmus sp.* (при экстракции пигментов из влажных клеток)

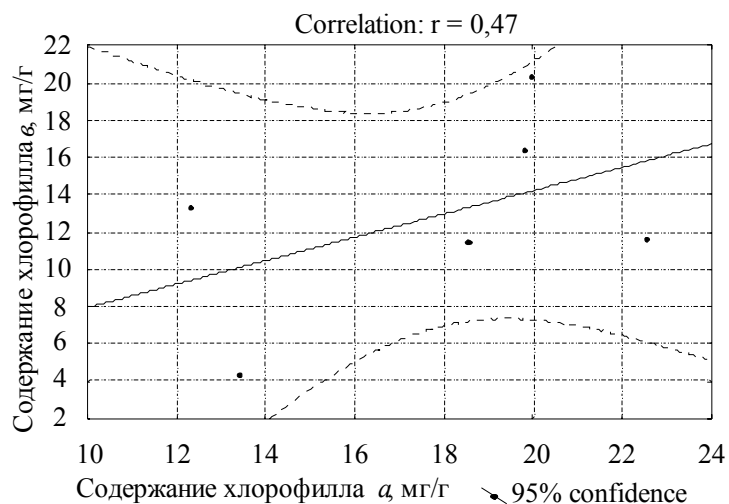


Рис. 5. Корреляционная зависимость между содержанием хлорофиллов *a* и *b* в культуре *Scenedesmus sp.* (при экстракции пигментов из сухих клеток)

Отмеченную нами закономерность можно объяснить с точки зрения гипотезы биосинтеза хлорофиллов, согласно которой хлорофилл *b* может образовываться из хлорофилла *a* в результате темновой реакции окисления [2].

Исследование динамики накопления каротиноидов культурой сценедесмуса показало, что при периодическом культивировании до линейной фазы на фоне прироста биомассы происходит постепенное увеличение содержания этих пигментов. Между исследуемыми показателями выявлена тесная корреляционная зависимость ($r = +0,98$). С конца линейной стадии при продолжающемся нарастании биомассы концентрация каротиноидов в клетках начала постепенно снижаться, достигнув 5,31 мг/г в фазе отмирания ($r = -0,91$).

ВЫВОДЫ

1. Одним из показателей состояния природных экосистем, в том числе и водных, является продуктивность фотосинтеза, выражающаяся в накоплении первичной биомассы.

2. Между содержанием альгомассы и концентрацией основных фотосинтетических пигментов существует определенная корреляционная связь, характер которой зависит от фазы роста культуры и условий культивирования.

3. Максимальное содержание хлорофиллов *a* и *b* в клетках зеленой микроводоросли *Scenedesmus* sp. отмечено в экспоненциальную фазу роста культуры, для которой характерна максимальная интенсивность фотосинтеза.

4. Накопление каротиноидов в биомассе сценедесмуса происходило в конце линейной фазы роста.

5. Высушивание клеток сценедесмуса неизбежно приводит к потере существенного количества фотосинтетических пигментов, что может быть причиной снижения показателей, характеризующих ход фотосинтеза, и нарушения прямой корреляционной зависимости между накоплением альгомассы и содержанием пигментов.

6. Закономерности, установленные в ходе периодического культивирования микроводорослей в лабораторных условиях, позволяют расшифровать механизмы адаптации физиологических функций обитателей альгофлоры пресных водоемов к условиям их существования.

Список литературы

1. Царенко П. М. Краткий определитель хлорококковых водорослей Украинской ССР / [П. М. Царенко, отв. ред. Г. М. Паламарь-Мордвинцева]. – К.: Наукова думка, 1990. – 208 с.
2. Шлык А. А. Метаболизм хлорофилла в зеленом растении / А. А. Шлык. – Минск: Наука и техника, 1965. – 396 с.
3. Кузнецов Е. Д. Железо как фактор, лимитирующий рост хлореллы на среде Тамия / Е. Д. Кузнецов, М. Г. Владимирова // Физиология растений. – 1964. – Т. 1, № 4. – С. 615–619.
4. Владимирова М. Г. Интенсивная культура одноклеточных водорослей / М. Г. Владимирова М. Г., В. Е. Семененко. – М.: Изд-во АН СССР, 1962. – 60 с.
5. Отурина И. П. Фотосинтез растений. Методические указания к большому спецпрактикуму по физиологии растений для студентов специальности 01.09., «Биология» / И. П. Отурина. – Симферополь, 2008. – 29 с.

6. Стадничук И. Н. Фикобилипротеины / И. Н. Стадничук [гл. ред. Р. В. Петров]. – М.: ВИНТИ, 1990. – (Итоги науки и техники, серия биологическая химия) Т. 40. – С. 1–193.
7. Воронова О. К. Методика определения сухой биомассы микроводорослей в условиях интенсивного культивирования / О. К. Воронова // Альгология. 1994. – Т. 4, № 4. – С. 59–62.
8. Крешков А. П. Основы аналитической химии / А. П. Крешков. – М.: Химия, 1976. – С. 371–372.
9. Павленко В. Б. Анализ экспериментальных данных на компьютере / В. Б. Павленко, А. В. Янцев. – Симферополь, 2007. – 43 с.
10. Янцев А. В. Алгоритмы применения статистических критериев. Статистические таблицы и формулы / А. В. Янцев. – Симферополь, 2007. – 76 с.
11. Янцев А. В. Использование программы Statistica для анализа экспериментальных данных / А. В. Янцев. – Симферополь, 2007. – 53 с.
12. Божков А. И. Динамика роста, липидный состав и содержание в-каротина в клетках *Dunaliella viridis* при культивировании в разных типах фотобиореакторов / А. И. Божков, Н. Г. Мензялова // Альгология. – 1997. – Т. 7, № 1. – С. 78–86.
13. Головня Ю. Н. Плотные культуры красной микроводоросли *Porphyridium cruentum* Nag. / Ю. Н. Головня // Экология моря. – 2003. – Вып. 64. – С. 82–85.
14. Урмыч Е. М. Оптимизация фотосинтетической продуктивности светостойчивых штаммов микроводорослей: автореф. дис. на соиск науч степени канд. биол. наук / Е. М. Урмыч. – Ташкент, 1999. – 23 с.
15. Урмыч Е. М. Продуктивность микроводорослей в интенсивных условиях культивирования / Е. М. Урмыч, Х. А. Бердыкулов, М. Б. Эшпулатова // Альгология. – 2008. – Т. 18, № 3. – С. 347–352.

Отуріна І. П., Макарова О. І., Сідякін А. І. Особливості динаміки основних фотосинтетичних пігментів та накопичення біомаси у микроводорості *Scenedesmus* sp. – представника мікроальгофлори прісноводних екосистем // Екосистеми, їх оптимізація та охорона. Сімферополь: ТНУ, 2010. Вип. 2. С. 84–91.

Стаття містить результати кореляційного аналізу між вмістом фотосинтетичних пігментів та біомасою микроводорості *Scenedesmus* sp. в умовах накопичувального культивування. Показано, що концентрація хлорофілів та каротиноїдів у сценедесму змінюється нелінійно при періодичному вирощуванні.

Ключові слова: кореляційна залежність, біомаса, микроводорості, хлорофіли, каротиноїди.

Oturina I. P., Makarova H. I., Sidiyakin A. I. Peculiarities of the dynamics of photosynthetic pigments and biomass accumulation by microalgae *Scenedesmus* sp. – representative of mikroalgotoflora freshwater ecosystems // Optimization and Protection of Ecosystems. Simferopol: TNU, 2010. Iss. 2. P. 84–91.

The article presents the results of correlation analysis between the content of photosynthetic pigments and biomass of microalgae *Scenedesmus* sp. in conditions of accumulation culturing. It was shown that the concentration of chlorophylls and carotenoids in cells of *Scenedesmus* sp. under periodic cultivation varies nonlinearly.

Key words: correlation, biomass, microalgae, chlorophyll, carotenoids.

Поступила в редакцію 09.12.2010 г.