

О. С. ПАЛАМОВА

**ДИНАМИКА ФОТОАДАПТАЦИИ
НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ДИАТОМОВЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ**

Определена динамика концентрации хлорофилла у морских диатомовых водорослей *Nitzschia* sp. №3 и *Phaeodactylum tricornutum* (Bohlin, 1897) при переносе культуры с низкого света на высокий и с высокого света на низкий. Показано, что данные виды диатомей адаптировались к высокой интенсивности света путём уменьшения синтеза хлорофилла и повышения скорости роста клеток, тогда как адаптация к низкой интенсивности света сопровождалась интенсивным синтезом хлорофилла *a*, который превышал скорость деления клеток.

В океане постоянно происходит турбулентное перемешивание вод, обуславливающее перемещение клеток микроводорослей на различные глубины. Вследствие этого водоросли находятся при различных условиях, в том числе и световых. Ответной реакцией клеток на изменение светового режима является фотоадаптация [8], обычно сопровождаемая изменением внутриклеточного содержания хлорофилла *a*, пигментного состава, числа и размера фотосинтетических единиц и спектральных характеристик поглощения света водорослями [3]. Хотя процессы фотоадаптации хорошо изучены, сведений о том, с какой скоростью протекают приспособительные реакции, в литературе очень мало. Тем не менее, данные о скорости адаптации микроводорослей к световым условиям являются необходимыми для понимания процесса фотосинтеза в море.

Цель исследования – определить скорость адаптации диатомовых водорослей *Nitzschia* sp. №3 и *Phaeodactylum tricornutum* (Bohlin, 1897) к высокой и низкой интенсивности света.

Материал и методы. Опыты проведены с морскими диатомовыми водорослями *Nitzschia* sp. №3 и *Phaeodactylum tricornutum*, полученными из коллекции отдела экологической физиологии водорослей Института биологии южных морей НАН Украины. Культуры выращивали на среде *f/2* с добавлением 50 мкмоль Si при естественном освещении и температуре 19°C. Затем их адаптировали в течение 5 суток к низкой (17,2 мкмоль фотонов*м⁻²*с⁻¹) и высокой (602 мкмоль фотонов*м⁻²*с⁻¹) интенсивности света, создаваемой люминесцентными лампами PHILIPS TL RS 20W/54-765. При низкой интенсивности света адаптация проходила при температуре 17°C, при высокой – 25°C. Культуры освещались непрерывно, а интенсивность света изменяли путём увеличения расстояния культуры от ламп. Во время наращивания водорослей поддерживалась постоянная численность клеток, соответствующая логарифмической фазе роста (~1,5*10⁶ кл/мл), путём ежедневного разбавления культур питательной средой. В опыте культура, адаптированная к низкой освещённости, переносилась на высокую освещённость, и наоборот. В течение первых часов эксперимента пробы отбирались через каждые 2 – 4 ч, затем – через 6 ч.

В течение опыта проводили определения численности клеток, скорости роста водорослей, сухого веса и содержания хлорофилла *a*. Численность клеток определяли в камере Горяева с использованием светового микроскопа МБИ-3 с общим увеличением системы 105. Подсчёт клеток проводили в трёх повторностях, относительная ошибка определения численности клеток не превышала 7 %. Скорость роста рассчитывали по формуле: $\mu = \ln(Nt/No)/t$, где *No* – число клеток в начальный момент времени; *Nt* – число клеток в момент времени *t*; *t* – время, ч.

Для определения сухого веса на предварительно высушенные и взвешенные мембранные фильтры SYNPOR с диаметром пор 1,5 мкм фильтровали 20 мл культуры. После фильтрации их промывали дистиллированной водой и высушивали при температуре 100°C до постоянного веса. Взвешивание проводили на весах ВЛМ-1. Сухой вес

© О. С. Паламодова, 2009

определяли как разницу веса между фильтром с навеской водорослей и фильтром без навески. Измерения проводили в трёх повторностях, относительная ошибка определения сухого веса водорослей была менее 10 %.

Определения хлорофилла *a* проведены в трёх повторностях. 10 мл культуры водорослей фильтровали через мембранные фильтры SYNPOR с диаметром пор 1,5 мкм. Затем фильтры с суспензией водорослей помещали в пробирки и добавляли 5 мл 90% ацетона. После экстракции хлорофилла в течение 18 ч при 8°C экстракты центрифугировали и проводили измерения на спектрофотометре SPECORD UV VIS. Концентрацию хлорофилла *a* определяли по формуле [9, 10]: $X_{л\ a} = (11,43 \cdot E_{664} - 0,4 \cdot E_{630}) \cdot v/V$, где $X_{л\ a}$ – концентрация хлорофилла *a*, мкг/мл; E_{630} и E_{664} – поглощение света при длине волн 630 нм и 664 нм, соответственно; V – объём профильтрованной культуры, мл; v – объём экстракта, мл. Относительная ошибка измерений не превышала 15%. На основании проведённых определений рассчитывали относительную концентрацию хлорофилла *a* в клетке и в сухом весе.

Результаты. В культурах *Nitzschia* sp. №3 и *Ph. tricornutum*, предварительно адаптированных к низкой освещённости и перенесённых на высокую интенсивность света, численность клеток в течение 50 и 60 ч увеличилась в 3,5 и 4 раза (рис. 1.1), а средняя удельная скорость их роста составила 0,66 и 0,4 сут⁻¹, соответственно.

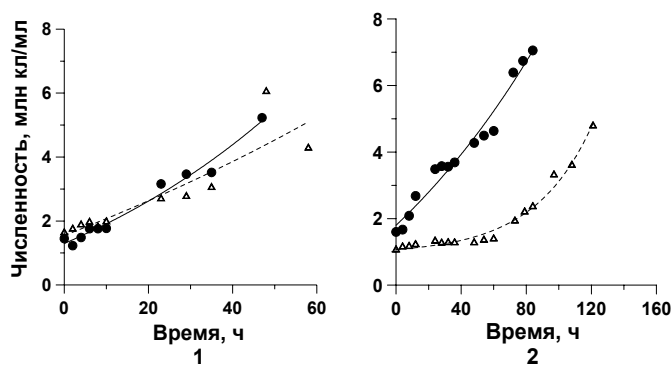


Рисунок 1. Динамика численности *Nitzschia* sp. №3 (—●—) и *Phaeodactylum tricornutum* (---Δ---) при адаптации к высокому и низкому освещению: 1 – к высокому освещению; 2 – к низкому
Figure 1. Dynamics of *Nitzschia* sp. №3 (—●—) and *Phaeodactylum tricornutum* (---Δ---) cells number at adaptation to high and low light: 1 – high light; 2 – low light

В то же время содержание хлорофилла *a* в единице объёма суспензии водорослей во время опытов было практически постоянным (рис. 2.1). Вследствие различий в динамике численности и концентрации хлорофилла у *N. sp. №3* наблюдалось трёхкратное снижение хлорофилла *a* в клетке и шестикратное – в сухом весе, у *Ph. tricornutum* внутриклеточная концентрация хлорофилла *a* снизилась в четыре раза, а в сухом весе водорослей – в 5 раз (рис. 2.3, 2.5). Средняя скорость уменьшения внутриклеточной концентрации хлорофилла *a* у *Nitzschia* sp. №3 составила 0,54 сут⁻¹, у *Ph. tricornutum* – 0,32 сут⁻¹, что близко к средним скоростям роста этих водорослей при высокой интенсивности света. Из приведённых данных следует, что у *N. sp. №3* и *Ph. tricornutum* с относительно высоким содержанием хлорофилла в клетке адаптация к высокой интенсивности света сопровождается резким замедлением синтеза хлорофилла *a*, и увеличением скорости деления водорослей, в результате чего внутриклеточное содержание хлорофилла, *a* в течение суток быстро уменьшается и достигает постоянного уровня через 40 ч.

В культурах, предварительно адаптированных к высокой интенсивности света и перенесённых на низкую освещённость, удельная скорость роста *Nitzschia* sp. №3 и *Ph. tricornutum* была равна 0,4 и 0,3 сут⁻¹, соответственно. В течение 84 ч численность клеток *Nitzschia* sp. №3 выросла в 4 раза (рис. 1.2). В культуре *Nitzschia* sp. №3 содержание хлорофилла *a* в суспензии водорослей увеличилось в 13 раз, в клетках – в 3 раза, в сухом весе – в 3,5 раза (рис. 2.2, 2.4, 2.6). Адаптация к низкому освещению у *Ph. tricornutum*

сопровождалась увеличением численности клеток в 5 раз (рис. 1.2), а концентрации хлорофилла *a* в суспензии водорослей в 120 раз (рис. 2.2). В результате содержание хлорофилла в клетках и сухом весе водорослей повысилось в 20 и 30 раз, соответственно (рис. 2.4, 2.6). Скорость увеличения внутриклеточной концентрации хлорофилла *a* в среднем составила $0,65 \text{ сут}^{-1}$, что в два раза выше скорости роста водорослей. Как видно, при адаптации двух диатомей к низкой интенсивности света скорость синтеза хлорофилла в клетках была выше, чем скорость их деления.

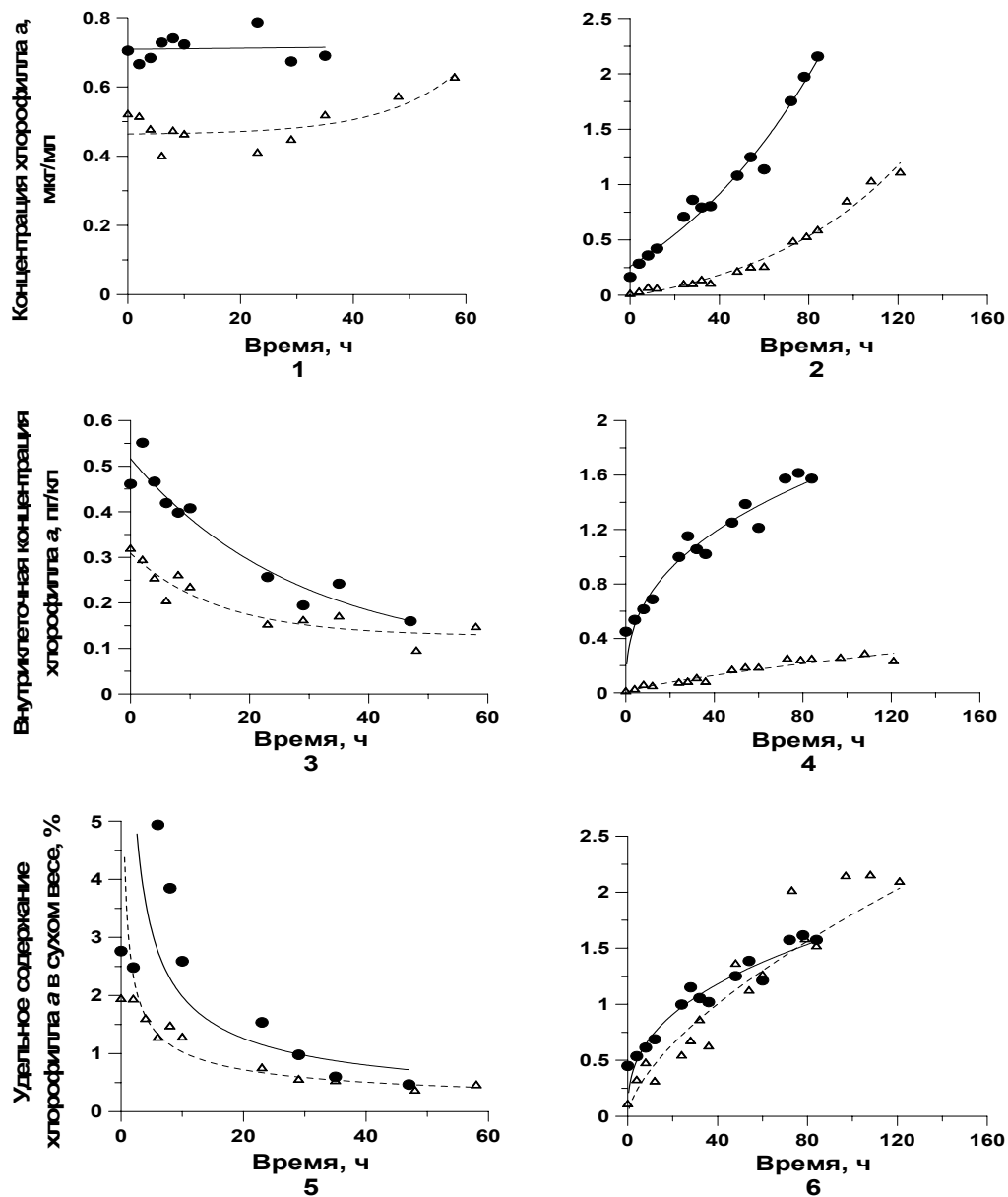


Рисунок 2. Динамики хлорофилла *a* для *Nitzschia* sp. №3 (—●—) и *Phaeodactylum tricornutum* (---Δ---) при адаптации к высокому и низкому свету: 1, 3, 5 – высокий свет; 2, 4, 6 – низкий
Figure 2. Dynamics of chlorophyll *a* for *Nitzschia* sp. №3 (—●—) and *Phaeodactylum tricornutum* (---Δ---) at adaptation to high and low light: 1, 3, 5 – high light; 2, 4, 6 – low light

Обсуждение. Как известно, многие виды одноклеточных водорослей, приспосабливаясь к различным световым условиям, изменяют содержание пигментов в клетке. У водорослей, адаптированных к низкой интенсивности света, концентрация хлорофилла в клетке в несколько раз выше, чем при высокой освещённости [6]. Число молекул хлорофилла, связанных с каждым реакционным центром ФС II, у водорослей, произрастающих на низком свете, часто выше, чем на ярком [6]. Благодаря этим различиям, уменьшение световой энергии компенсируется количеством возбуждённых реакционных центров ФС II. В результате водоросли способны поддерживать оптимальную скорость роста в широком интервале облучённости. Механизм изменения концентрации хлорофиллов в клетке в зависимости от плотности светового потока изучен слабо. Было высказано несколько предположений о механизмах, регулирующих динамику хлорофилла в клетке при разных интенсивностях света. Одни исследователи полагают, что уменьшение пигментов обусловлено их разрушением под влиянием света [2]. Позже была предложена математическая модель для расчёта количества энергии, необходимого для деструкции одной молекулы хлорофилла. Данная модель основана на предположении, что молекула хлорофилла поглощает определённое количество квантов света, после чего разрушается. Это количество энергии было обозначено как летальная доза [1]. Другая группа исследователей полагает, что скорость синтеза хлорофилла пропорциональна скорости фотосинтеза, а скорость деградации хлорофилла – скорости дыхания [7].

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что уменьшение количества хлорофилла в клетке под действием света высоких интенсивностей происходит вследствие замедления его синтеза и деления клеток. Для *N. sp. №3* показатели скорости роста и снижения содержания хлорофилла в клетке составляли $0,54 \text{ сут}^{-1}$ и $0,66 \text{ сут}^{-1}$, для *Ph. tricornutum* – $0,32 \text{ сут}^{-1}$ и $0,4 \text{ сут}^{-1}$, соответственно. Внутриклеточная концентрация хлорофилла *a* для этих культур снизилась в 3 и 4 раза, соответственно. Исследования фотоадаптации морской диатомовой водоросли *Skeletonema costatum* ((Greville) P. T. Cleve, 1878) показали, что при адаптации к $1200 \text{ мкмоль фотонов} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сек}^{-1}$ происходит снижение внутриклеточной концентрации хлорофилла *a* в 2,5 раза со скоростью $0,25 \text{ сут}^{-1}$ [4]. Подобные изменения наблюдались и при адаптации морской хлорофитовой водоросли *Dunaliella tertiolecta* (Bucher) к $500 \text{ мкмоль фотонов} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сек}^{-1}$. Так, за 80 ч внутриклеточная концентрация хлорофилла *a* уменьшилась в 2,5 раза [5]. Константа скорости снижения внутриклеточной концентрации хлорофилла *a* для данной культуры соответствовала средней скорости роста, равной $0,02 \text{ сут}^{-1}$ [5].

У водорослей, адаптируемых к низким интенсивностям света, синтез хлорофилла *a* протекает со скоростью в несколько раз выше удельной скорости роста клеток. У диатомовых *N. sp. №3* и *Ph. tricornutum* константы скорости увеличения хлорофилла *a* практически в два раза превышали скорости роста. Другими исследователями было показано, что при адаптации к низкому освещению ($10 \text{ мкмоль фотонов} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сек}^{-1}$) концентрация хлорофилла *a* в расчёте на клетку увеличивается для *Nitzschia delicatissima* (P. T. Cleve, 1897) в 3 раза, для *Thalassiosira antarctica* (Comber, 1896) – в 7 раз, для *Chaetoceros furcellatus* (J. W. Bailey, 1856) значительных изменений концентрации хлорофилла *a* в клетке обнаружено не было [8]. Константа скорости для *Th. antarctica* составила $0,33 \text{ сут}^{-1}$ [8]. У морской хлорофитовой водоросли *D. tertiolecta* отмечалось увеличение внутриклеточного хлорофилла *a* в три раза [5]. Также для этой культуры при переносе с $500 \text{ мкмоль фотонов} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сек}^{-1}$ на $45 \text{ мкмоль фотонов} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сек}^{-1}$ скорость увеличения внутриклеточной концентрации хлорофилла *a* была равна $0,02 \text{ сут}^{-1}$, средняя удельная скорость роста численности данной культуры составляла $0,06 \text{ сут}^{-1}$ [4].

Выводы. 1. Адаптация диатомовых микроводорослей к высокой интенсивности света происходит за счёт приостановления синтеза хлорофилла *a*, снижение удельного содержания хлорофилла *a* осуществляется в результате деления клеток. **2.** При адаптации водорослей к низкой интенсивности света происходит увеличение скорости синтеза хлорофилла *a* и снижение скорости роста клеток.

1. Тренкениу Р. П., Боровков А. Б., Ширяев А. В. Математическая модель светозависимого содержания пигментов в клетках морских микроводорослей в хемостате // Экология моря. – 2005. – Вып. 69. – С. 58 – 63.
2. Тренкениу Р. П., Геворгиз Р. Г. Светозависимое содержание пигментов в микроводорослях. Модель. Теоретическая часть. // Альгология. – 1998. – 8, № 1. – С. 170 – 177.
3. Финенко З. З., Чурилова Т. Я., Сосик Х. М. Вертикальное распределение фотосинтетических характеристик фитопланктона в Черном море // Океанология. – 2004. – 44, № 2. – С. 222 – 237.
4. Anning T., MacIntyre H. L., Pratt S. M., Sammes P. J., Gibb S., Geider R. J. Photoacclimation in the marine diatom *Skeletonema costatum* // Limnol. Oceanogr. – 2000. – 45 (8). – P. 1807 – 1817.
5. Falkowski P. G. Kinetics of adaptation to irradiance in *Dunaliella tertiolecta* // Photosynthetica. – 1984. – 18 (1). – P. 62 – 68.
6. Finenko Z. Z., Hoepffner N., Williams R., Piontkovski S. A. Phytoplankton carbon to chlorophyll *a* ratio: Response to light, temperature and nutrient limitation // Морс. еколог. журн. – 2003. – 2, № 2. – С. 40 – 64.
7. Geider R. J., MacIntyre H. L., Kana T. M. A dynamic model of photoadaptation in phytoplankton // Limnol. Oceanogr. – 1996. – 41 (1). – P. 1 – 15.
8. Hedseth E. N. Photoadaptation in marine arctic diatoms // Polar Biol. – 1989. – 9. – P. 479 – 486.
9. Humphrey G. F. Photosynthetic characteristics of algae grown under constant illumination and dark-light regimes // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. – 1979. – 40. – P. 63 – 70.
10. Jeffrey S. W., Humphrey G. F. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls *a*, *b*, *c*₁ and *c*₂ in higher plants, algae and natural phytoplankton // Biochem. Physiol. Pflanzen. – 1975. – 167. – P. 191 – 194.

Институт биологии южных морей НАН Украины,
Севастополь, Украина

Получено 12 октября 2009 г.

О. С. ПАЛАМОВА

ДИНАМІКА ФОТОАДАПТАЦІЇ ДЛЯ ДЕЯКИХ ВИДІВ МОРСЬКИХ ДІАТОМОВИХ ВОДОРОСТЕЙ

Резюме

Визначена динаміка концентрації хлорофілу морських діатомових водоростей *Nitzschia* sp. №3 і *Phaeodactylum tricornutum* при перенесенні культури з низького світла на високе і з високого світла на низьке. Показано, що досліджувані види діатомей адаптувалися до високої інтенсивності світла шляхом зменшення синтезу хлорофілу і підвищення швидкості росту кліток, тоді як адаптація до низької інтенсивності світла супроводжувалася інтенсивним синтезом хлорофілу, який перевищував швидкість ділення клітин.

O. S. PALAMODOVA

DYNAMIC OF PHOTOADAPTATION IN SOME MARINE DIATOM ALGAE

Summary

Dynamic of chlorophyll concentration in the marine diatom algae *Nitzschia* sp. №3 and *Phaeodactylum tricornutum* at transition culture from low to high and from high to low irradiances has been defined. This diatoms species adapted to high light intensity by reduction of chlorophyll synthesis and increase of growth rate of cells whereas adaptation to low light intensity was accompanied by intensive synthesis chlorophyll, exceeding rate of cell division.