

Т. В. ЕФИМОВА, И. А. АКИМОВ

**ВЛИЯНИЕ СПЕКТРАЛЬНОГО СОСТАВА СВЕТА
НА РОСТ И ФОТОСИНТЕЗ ДИАТОМОВОЙ ВОДОРΟΣЛИ *NITZSCHIA SP.***

У морской диатомовой водоросли *Nitzschia sp.*, адаптированной к свету различного спектрального состава (белый, синий, красный), максимальная скорость роста наблюдалась на красном свету, минимальная – на синем. При измерении на белом свету эффективность фотосинтеза, максимальная скорость фотосинтеза и насыщающая фотосинтез интенсивность света не зависели от спектральных условий адаптации.

Фитопланктон поверхностного слоя океана поглощает свет в диапазоне всего видимого спектра (от 400 до 700 нм). При увеличении глубины спектра проникающей солнечной радиации изменяется. В чистой морской воде с увеличением глубины максимум пропускания медленно смещается к 465 нм (синий свет). В менее прозрачных водах коротковолновое излучение из-за селективного поглощения частицами и жёлтым веществом ослабляется сильнее, чем длинноволновое, и максимум пропускания смещается в сторону более длинных волн [2]. В Чёрном море область минимального ослабления облучённости находится в диапазоне 520 – 535 нм [4]. Таким образом, с глубиной происходит не только ослабление интенсивности света, но и изменение его спектрального состава. В ответ на изменение освещённости микроводоросли адаптируются к новым условиям облучения. Большинство исследований в этой области посвящено фотоадаптации микроводорослей к белому свету различной интенсивности, что проявляется в изменениях пигментного состава и фотосинтетических параметров водорослей [7]. Меньше внимания уделено адаптации водорослей к свету различного спектрального состава.

Цель работы – изучить действие света различного спектрального состава на структурные и функциональные характеристики диатомовой водоросли *Nitzschia sp.*

Материал и методы. Объектом исследования служила диатомовая водоросль *Nitzschia sp.* из коллекции отдела экологической физиологии водорослей Института биологии южных морей. В опытах использована среда Гольдберга с добавлением Si. С целью обеспечения постоянства газового состава и pH (~ 8,5) проводили барботаж суспензии микроводорослей микрокомпрессором. Круглосуточный режим освещения обеспечивался люминесцентными лампами белого света Oreol White / 15 W. Красный и синий режимы освещения созданы комбинированием белого света и цветных фильтров. Спектр люминесцентной лампы взят из [6], а спектры пропускания цветных фильтров определены на двухлучевом регистрирующем спектрофотометре Specord UV-VIS (K. Zeiss) (рис. 1).

Кюветы с культурой располагались по обе стороны световой решётки на таких расстояниях, чтобы обеспечить одинаковое количество световых квантов, поглощаемых водорослями на единицу хлорофилла *a*. Эта задача решалась расчётным способом, путём использования спектров пропускания света светофильтрами, спектра поглощения света водорослями и спектрального распределения квантов источника света. Рассчитанное количество поглощаемых квантов составляло $6 \cdot 10^{20}$ квантов / мг Хл *a* в час, что соответствует падающему белому свету $30 \text{ мкЕ м}^{-2} \text{ с}^{-1}$ (лимитирующие условия роста).

Культуру выращивали в плоскопараллельной стеклянной кювете объёмом 1,2 л и толщиной слоя 25 мм. Чтобы исключить влияние плотностного фактора на характеристики водорослей, производили периодическое разбавление водорослей питательной средой. Скорость роста сравнивали в 1 – 3 сутки после каждого разведения. Численность клеток измеряли методом прямого счёта [1]. Скорость деления водорослей рассчитывалась по формуле:

© Т. В. Ефимова, И. А. Акимов, 2009

$$\mu = \frac{\text{Log}_2 N_t - \text{Log}_2 N_0}{t},$$

где N_0 и N_t – концентрации клеток в культуре в начальный момент времени и через t суток соответственно [8]. Для проведения анализов отбирались аликвоты из культиваторов в трёхкратной повторности.

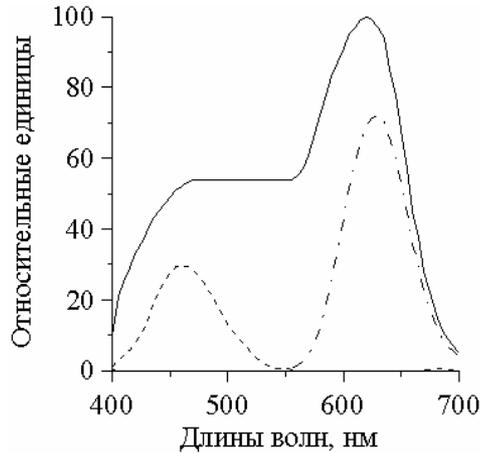


Рисунок 1. Относительные спектры источников освещения (— белый свет, - - - - синий свет, — · — красный свет)
Figure 1. Relative spectra of lighting sources (— white light, - - - - blue light, — · — red light)

Скорость фотосинтеза определяли по изменению концентрации растворённого в среде кислорода в темноте и на свету за определённый промежуток времени. Для этой цели использовали специальную герметичную кювету, в которую были помещены кислородный и температурный датчики, подключённые к лабораторному кислородомеру КЛ-115. Абсолютная погрешность измерения равнялась $\pm 0,05 \text{ мг O}_2 \text{ л}^{-1}$.

Результаты. На рис. 2 изображена динамика изменения концентрации клеток при периодическом разбавлении питательной средой. Соответствующие скорости роста приведены в табл. 1 (T – период времени). В экспоненциальной фазе роста максимальная скорость деления *Nitzschia* sp. была на белом свете, минимальная - на синем. В течение последующих 3 – 7 суток адаптации данное соотношение в скоростях роста сохранилось, но абсолютные значения скоростей уменьшились, что связано с выходом культуры из экспоненциальной фазы. При последующих разведениях скорость роста в течение 15 суток на белом свете закономерно не изменилась. На красном свете она увеличилась после второго разведения и превысила скорость роста водорослей на белом свете. На синем свете она также увеличилась, однако осталась наименьшей из трёх вариантов. После 10 суток адаптации происходит увеличение и стабилизация скорости роста во всей вариантах эксперимента.

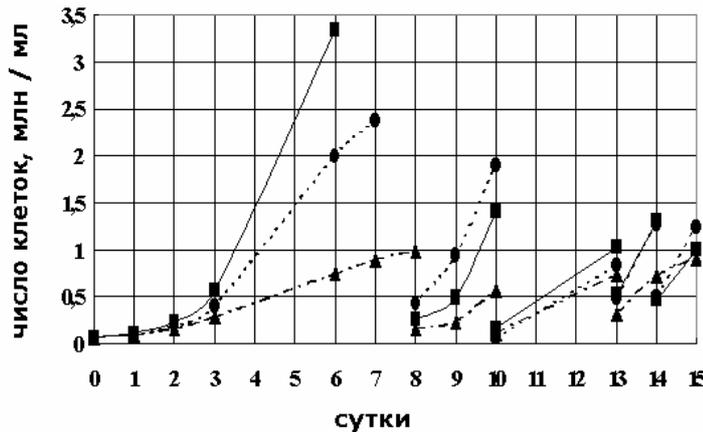


Рисунок 2. Динамика изменения концентрации клеток *Nitzschia* sp. в течение эксперимента (— белый свет, - - - - красный свет, — · — синий свет). Полунепрерывная культура
Figure 2. The Dynamics of *Nitzschia* sp. cells concentration variation during the experiment (— white light, - - - - red light, — · — blue light). The semicontinuous culture

Таблица 1. Скорости роста водорослей *Nitzschia* sp. (число делений в сутки), выращенных при различных световых условиях. Полупрерывная культура

Table 1. Growth rates of algae *Nitzschia* sp. (number of divisions per day) cultivated under different light treatment. The semicontinuous culture

Условия	Т, сутки	Свет			
		белый	красный	синий	
Начало выращивания	1	0,8 ± 0,04	0,5 ± 0,03	0,5 ± 0,03	
	2	1,1 ± 0,06	1,0 ± 0,05	0,8 ± 0,04	
	3	1,3 ± 0,07	1,1 ± 0,06	0,7 ± 0,04	
Разведение: 1-е	8 – 10	1,2 ± 0,06	1,1 ± 0,06	0,8 ± 0,04	
	2-е	10 – 13	1,1 ± 0,06	1,3 ± 0,07	0,9 ± 0,05
	3-е	14	1,3 ± 0,07	1,4 ± 0,07	1,1 ± 0,06
	4-е	15	1,1 ± 0,06	1,3 ± 0,07	1,0 ± 0,05
Средняя скорость деления		1,2 ± 0,06	1,2 ± 0,06	0,9 ± 0,05	

По величинам прироста клеток и поглощенной клетками световой энергии, выраженной в квантах, была определена максимальная квантовая эффективность роста, которая после 13 – 14 суток адаптации составила 0,10 для белого, 0,11 для красного и 0,08 моль С / моль квантов для синего света.

После 15 суток роста водорослей на свету разного спектрального состава культура была переведена в накопительный режим (рис. 3). В начале наблюдались близкие скорости роста на белом и красном свету, и заметно ниже на синем (табл. 2). С 20-х суток скорость роста на красном свету несколько превысила таковую на белом. В конце эксперимента скорости роста на белом, красном и синем свете были одинаковы (0,1 деления в сутки), что связано с увеличением плотности культур и соответствующим уменьшением средней облучённости клеток. На красном свету культура достигла концентрации 33 млн клеток / мл, на белом – 25 млн клеток / мл и на синем – 16 млн клеток / мл. Таким образом, максимальная численность клеток на красном свету на 31 сутки адаптации в два раза превышала численность клеток на синем свету.

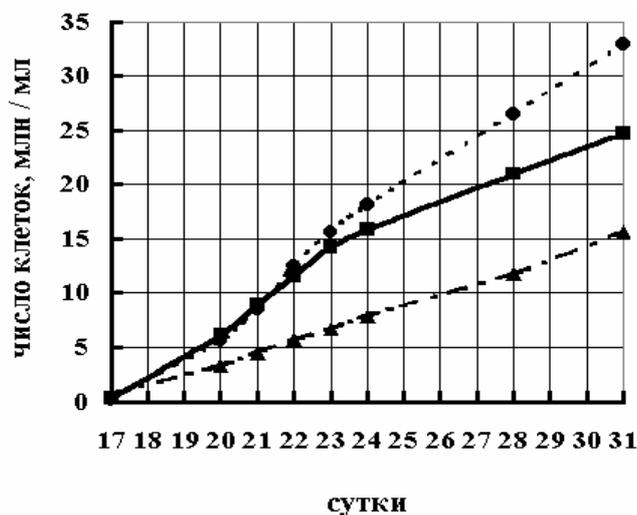


Рисунок 3. Изменения концентрации клеток *Nitzschia* sp. в накопительном режиме роста (— белый свет, - - - - красный свет, — · — синий свет)
Figure 3. The *Nitzschia* sp. cells concentration variation in a batch mode of growth (— white light, - - - - red light, — · — blue light)

Несмотря на наблюдаемые различия скоростей роста водорослей, выращиваемых в различных световых условиях, значения максимальной скорости фотосинтеза ($A_{ч_{\max}}$), квантового выхода (Φ_{\max}) и насыщающей интенсивности света (I_k) достоверно не отличались при адаптации к белому, красному и синему свету (табл. 3).

Т, сутки	Свет		
	белый	красный	синий
17 – 20	1,5 ± 0,08	1,5 ± 0,08	0,8 ± 0,04
20 – 21	0,5 ± 0,03	0,7 ± 0,04	0,4 ± 0,02
21 – 22	0,4 ± 0,02	0,6 ± 0,03	0,3 ± 0,02
22 – 23	0,3 ± 0,02	0,3 ± 0,02	0,2 ± 0,01
23 – 24	0,2 ± 0,01	0,2 ± 0,01	0,2 ± 0,01
24 – 28	0,1 ± 0,005	0,1 ± 0,005	0,1 ± 0,005
28 – 31	0,1 ± 0,005	0,1 ± 0,005	0,1 ± 0,005

Таблица 2. Скорости роста водорослей *Nitzschia* sp. (число делений в сутки), выращенных при различных световых условиях. Накопительная культура
Table 2. Growth rates of algae *Nitzschia* sp. (number of divisions per day) cultivated under different light treatment. The batch culture

Таблица 3. Фотосинтетические характеристики микроводоросли *Nitzschia* sp., адаптированной к свету различного спектрального состава
Table 3. Photosynthetic characteristics of microalgae *Nitzschia* sp. adapted to light of different spectral structure

Свет	Сутки	$\Phi_{\text{макс}}$, молекул O_2 / квант	$A_{\text{ч, макс}}$, мкг O_2 / мкг Хл $a \text{ ч}^{-1}$	α , мкг O_2 / мкг Хл $a \text{ ч}^{-1}$ ($\text{мкЕ} / \text{м}^2 \text{ с}^{-1}$) $^{-1}$	I_k , мкЕ $\text{м}^{-2} \text{ с}^{-1}$
белый	6	0,07	3,6	0,06	57
	13	0,09	6,7	0,11	60
красный	7	0,07	4,0	0,07	57
	14	0,09	5,5	0,09	63
синий	8	0,06	4,7	0,08	59
	15	0,09	5,5	0,09	60

Обсуждение. Наши исследования показали, что минимальная скорость роста у *Nitzschia* sp. наблюдалась на синем свете. Такие же результаты получены для *Pseudonitzschia delicatissima* [3] и *Skeletonema costatum* [14], у которых наблюдалось снижение скорости роста на синем свете по сравнению с белым светом. В то же время, у диатомовых *Thalassiosira gravida*, *Phaeodactylum tricornerutum* [11, 3], *Cyclotella caspia* [9], *Cyclotella nana* [17] отмечено увеличение скорости роста на синем свете относительно скорости, наблюдаемой на белом свете. В исследованиях проведённых с *Thalassiosira rotula* [15], *Chaetoceros protuberans* [10, 13], *Phaeodactylum tricornerutum* и *Thalassiosira pseudonana* [18], *Biddulphia aurita* [12], синий свет не влиял на скорость роста. Таким образом, данные по влиянию спектрального состава света на рост водорослей, как для одного, так и для разных видов, различаются. Эти несоответствия могут быть связаны с различными методическими подходами в культивировании водорослей (хемотратный, квазинепрерывный или же накопительный режим). В такого рода исследованиях важное значение имеет количество поглощённого света, которое в сильной степени зависит от его спектрального состава и селективного характера коэффициента поглощения света пигментами. При одной и той же падающей интенсивности белого света количество квантов, поглощённых в синей области, будет больше, чем в зелёной и красной. В ещё большей степени это имеет значение при использовании цветных источников облучения. Так, например, в работах, где наблюдалось увеличение скоростей роста различного вида водорослей на синем свете, производилось уравнивание именно падающего на клетки водорослей света [3, 9, 11, 17].

В условиях светового лимитирования скорость роста водорослей прямо связана с максимальным квантовым выходом фотосинтеза. Квантовый выход фотосинтеза можно определять по скорости прироста биомассы водорослей и скорости газообмена. В нашем исследовании значения $\Phi_{\text{макс}}$, измеренные на белом свете, по фотосинтезу достоверно не отличались для трёх вариантов освещения, в то время как ростовые характеристики водорослей были различны. Так, квантовый выход фотосинтеза, определённый по росту, на красном свете (0,11 моль С / моль квантов) превосходил таковой на синем

0,08 моль С / моль квантов). Это может указывать на неравнозначность действия света различной длины волны на скорость фотосинтетического восстановления кислорода и рост водорослей. Другим, более вероятным объяснением может быть то, что в синей области значительная часть падающего света поглощается каротиноидами, энергия возбуждения которых доходит до реакционных центров фотосинтеза с меньшей эффективностью [5].

В целом, значения квантового выхода, определённые по фотосинтезу и по росту, на белом свете были близки, несмотря на то, что в первом случае определялся валовый, а во втором – чистый фотосинтез. Это связано с тем, что скорость дыхания при лимитирующих условиях освещения крайне низка.

Имеется немного данных по измерению квантового выхода фотосинтеза для диатомовых, адаптированных к различным спектральным условиям. Так, в работе [13] при адаптации *Chaetoceros protuberans* к белому, синему и зелёному свету не выявлено отличий квантового выхода роста (в среднем 0,04 моль С / моль квантов). В работе [16] у *Chaetoceros gracile*, адаптированной к сине-зелёному свету, квантовый выход фотосинтеза зависел от спектрального состава света. Величины квантового выхода фотосинтеза примерно повторяли спектр поглощения света водорослями: максимальные значения – в красной области спектра (порядка 0,1 моль С / моль квантов), минимальные – в зелёной области (менее 0,02 моль С / моль квантов).

Выводы. 1. При адаптации диатомовой *Nitzschia* sp. к свету различного спектрального состава различия в скоростях роста не превышали 20 – 30 %, максимальная скорость роста наблюдалась на красном свете, минимальная – на синем. **2.** Эффективность фотосинтеза, максимальная скорость фотосинтеза и насыщающая фотосинтез интенсивность света, измеренные на белом свете, не зависели от адаптации к свету различного спектрального состава. **3.** В стационарной фазе скорость роста водорослей не зависела от спектрального состава света.

1. Владимирова М. Г., Семенов В. Е. Интенсивная культура одноклеточных водорослей (инструкция по первичным испытаниям, выделяемых из природы и селекционируемых форм фотоавтотрофных одноклеточных водорослей). – М.: АН СССР, 1962. – 60 с.
2. Ерлов Н. Г. Оптика моря. – Л.: Гидрометеоздат, 1980. – 248 с.
3. Ефимова Т. В., Кожемяка А. Б. Фотобиологические характеристики диатомовых *Phaeodactylum tricornerutum* и *Pseudo-nitzschia delicatissima*, адаптированных к различным спектральным световым условиям // Экология моря. – 2008. – Вып. 75. – С. 31 – 37.
4. Левин И. М., Николаев В. П. Об оценке вертикального ослабления квантовой облучённости в области фотосинтетически активной радиации в Чёрном море // Океанология. – 1992. – 32, Вып. 2. – С. 241 – 245.
5. Нобел П. Физиология растительной клетки (физико-химический подход) / Под ред. проф. И. И. Гунара. – М.: Мир, 1973. – 288 с.
6. Справочная книга по светотехнике / Под ред. Ю.Б. Айзенберга. – М.: Энергоатомиздат, 1983. – 472 с.
7. Чурилова Т. Я. Адаптация морских планктонных водорослей к низким интенсивностям света. – Автореф. дисс. канд. биол. наук. – Севастополь, 1992. – 22 с.
8. Экологическая физиология морских планктонных водорослей (в условиях культур) / Под ред. Хайлова К. М. – К.: Наук. думка, 1971. – 207 с.
9. Aidar E., Ganesella-Galvao S. M. F., Sigaud T. C. S. et al. Effects of light quality on growth biochemical composition and photosynthetic production in *Cyclotella caspia* Grunov and *Tetraselmis gracilis* (Kylin) Butcher // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. – 1994. – 180. – P. 175 – 187.
10. Gostan J., Lechuga-Deveze C., Lazarra L. Does blue light affect the growth of *Chaetoceros protuberans* Bacillariophyceae? // J. Phycol. – 1986. – 22. – P. 63 – 71.
11. Holdsworth E. S. Effect of growth factor and light quality on the growth, pigmentation and photosynthesis of two diatoms, *Thalassiosira gravida* and *Phaeodactylum tricornerutum* // Mar. Biol. – 1985. – 86. – P. 253 – 262.

12. *Humphrey G. F.* The effect of the spectral composition of light on the growth, pigments, and photosynthetic rate of unicellular marine algae // *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* – 1983. – **66**. – P. 49 – 67.
13. *Morel A., Lazzara L., Gostan J.* Growth rate and quantum yield time response for a diatom to changing irradiances (energy and color) // *Limnol. Oceanogr.* – 1987. – **32**. – P. 1066 – 1084.
14. *Nielsen M. V., Sakshaug E.* Photobiological studies of *Skeletonema costatum* adapted to spectrally different light regimes // *Limnol. Oceanogr.* - 1993. – **38**, No. 7. – P. 1576 – 1581.
15. *Rivkin R. B.* Influence of irradiance and spectral quality on the carbon metabolism of phytoplankton. I. Photosynthesis, chemical composition and growth // *Mar. Ecol. Prog. Ser.* – 1989. – **55**. – P. 291 – 304.
16. *Schofield O. R., Bidigare R., Prezelin B.* Spectral photosynthesis, quantum yield and blue-green light enhancement of productivity rates in the diatom *Chaetoceros gracile* and the prymnesiophyte *Emiliania huxleyi* // *Mar. Ecol. Prog. Ser.* – 1990. – **64**. – P. 175 – 186.
17. *Wallen D. G., Geen G. H.* Light quality in relation to growth, photosynthetic rates and carbon metabolism in two species of marine plankton algae // *Mar. Biol.* – 1971. – **10**. – P. 34 – 43.
18. *Wynne D., Rhee G.Y.* Effects of light intensity and quality on the relative N and P requirements (the optimum N : P ratio) of marine algae // *J. Plankton Res.* – 1986. – **8**. – P. 91 – 103.

Институт биологии южных морей НАН Украины,
г. Севастополь

Получено 10 апреля 2009 г.

Т. В. Є Ф І М О В А, А. І. А К І М О В

**ВПЛИВ СПЕКТРАНОГО СКЛАДУ СВІТЛА
НА ЗРОСТАННЯ І ФОТОСИНТЕЗ ДІАТОМОВОЇ ВОДРОСТИ *NITZSCHIA SP.***

Резюме

В морської діатомової водорості *Nitzschia sp.*, адаптованої до світла різноманітного спектрального складу (білий, синій, червоний), максимальна швидкість зростання спостерігалась на червоному світлі, а мінімальна - на синьому. При вимірі на білому світлі ефективність фотосинтезу, максимальна швидкість фотосинтезу та інтенсивність світла, що насичує фотосинтез, не залежали від спектральних умов адаптації.

T. V. IEFIMOVA, A. I. AKIMOV

**THE EFFECT OF SPECTRAL STRUCTURE OF LIGHT
ON GROWTH AND PHOTOSYNTHESIS OF *NITZSCHIA SP.***

Summary

The maximal growth rate of sea marine diatom algae *Nitzschia sp.* adapted to light of different spectral structure (white, blue, red) was observed in red light, and minimal growth rate was observed in blue light. At measurement on white light the photosynthesis efficiency, the maximal photosynthesis rate and sating photosynthesis light intensity did not depend on spectral conditions of adaptation.