

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНЫ
ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ЮЖНЫХ МОРЕЙ
им. А. О. КОВАЛЕВСКОГО

ГЕВОРГИЗ
Руслан Георгиевич

УДК 519.2 : 579 : 582.26/27

**МОДЕЛЬ СВЕТОЗАВИСИМОГО СОДЕРЖАНИЯ ПИГМЕНТОВ В
МИКРОВОДОРОСЛЯХ**

03.00.17 — гидробиология

Автореферат диссертации на соискание
ученой степени кандидата биологических наук

Севастополь - 1998

На правах рукописи

Работа выполнена в институте биологии южных морей
им. А. О. Ковалевского НАН Украины, г. Севастополь

Научный руководитель доктор биологических наук
старший научный сотрудник
Владимир Арсентьевич Силкин
Институт биологии южных морей НАН Украины,
ведущий научный сотрудник

Научный консультант кандидат биологических наук
Рудольф Павлович Тренкеншу
и. о. заведующего отделом

Официальные оппоненты доктор биологических наук, профессор
Лидия Акимовна Сиренко
Институт гидробиологии НАН Украины,
заведующая отделом

кандидат биологических наук,
Евгений Борисович Гольдин
Крымский медицинский университет
старший научный сотрудник

Ведущее учреждение Днепропетровский государственный универси-
тет, биологический факультет, кафедра гидро-
биологии, г. Днепропетровск

Защита состоится «___» _____ 1998 г. в _____ часов на заседании
специализированного ученого совета Д50.214.01 при Институте биологии
южных морей им. А. О. Ковалевского по адресу:
335011, г. Севастополь, пр. Нахимова, 2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института биологии юж-
ных морей НАН Украины.

Автореферат разослан «___» _____ 1998 г.

Ученый секретарь
специализированного ученого совета,
кандидат биологических наук

Е. Л. Неврова

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы. В многочисленных наблюдениях и экспе-
риментах показано, что с уменьшением интенсивности света содержание
пигментов в микроводорослях увеличивается, а увеличение светового обес-
печения растительных клеток сопровождается уменьшением их способности
к поглощению светового потока. Это достигается снижением относительного
содержания пигментов в клетках. Таким образом, поглощение световой
энергии регулируется через изменение концентрации пигментов в клетках.
Поглощаемый клетками свет выполняет двойную роль. Во-первых, свет
служит источником энергии для фотосинтеза и является основным факто-
ром регулирующим биосинтез органического вещества фитопланктона. Во-
вторых, свет способен повреждать пигментную систему (чисто фотохимиче-
ский процесс). Конкретный механизм, объясняющий изменение concentra-
ции пигментов практически не изучен, в этом направлении существуют лишь
отдельные попытки (Рабинович, 1951; Тренкеншу и др., 1981; Тренкеншу,
Вопилова, 1984; Заворуева, 1985; Вопилова, 1985; Geider, et al. 1996).

Таким образом, имеются предпосылки для объяснения путей и меха-
низмов адаптации микроводорослей к свету с помощью физиологического
механизма, основанного на представлении о двух противоположных процес-
сах: синтеза и фотодеструкции пигментов (Рабинович, 1951; Nelson, 1993;
Мерзляк и др., 1996).

Связь работы с научными программами, планами, темами. Прове-
денная работа является частью комплексной программы исследований от-
дела фитобентоса и культивирования водорослей Института биологии юж-
ных морей НАН Украины, которая выполнялась по госбюджетной теме:
"Изучение общих эколого-продукционных процессов мелиорации среды и
марикультуры в прибрежных районах Черного моря." (1996-1999 гг.)

Цель и задачи исследования. Основная цель настоящей работы —
построение модели, объясняющей зависимость содержания пигментов в
растительных клетках от влияния факторов внешней среды, с помощью ко-
торой можно прогнозировать поведение пигментной системы при изменении
интенсивности света, концентрации биогенных элементов и т.д.

В связи с поставленной целью решали следующие задачи:

1. Предложить общий механизм, позволяющий объяснить изменение
концентрации пигментов в клетках.
2. Построить математическую модель на основе предлагаемого об-
щего механизма и получить уравнения для стационарного и неста-
ционарного процессов культивирования микроводорослей.

3. Исследовать влияние интенсивности света на содержание пигментов в клетках микроводорослей различных систематических групп.
4. Изучить динамику фотодеструктивных процессов в условиях лимитирования минеральными компонентами на примере красных и сине-зеленых микроводорослей.
5. Показать непротиворечивость предложенной модели экспериментальным результатам.

Научная новизна. На основе литературных данных предлагается общий механизм, включающий фотофизические, фотохимические и физиологические процессы адаптивного изменения концентрации пигментов в клетках растений в зависимости от световых условий, температурного режима и т.д. Впервые, с помощью методов теории массового обслуживания¹ разработана математическая модель, описывающая форму зависимости относительного содержания пигментов от интенсивности света и динамику фотодеструктивных процессов. Получены уравнения светозависимого содержания пигментов для одно-, двух- и многоквантовых механизмов фотодеструкции пигментов. Коэффициенты уравнений несут биологический смысл и могут быть видовой характеристикой. Доказано, что уравнения описывающие изменение относительного содержания пигментов должны содержать минимум три коэффициента. Используя экспериментальные данные, рассчитаны коэффициенты полученных уравнений для различных систематических групп микроводорослей.

На примере культур красных и сине-зеленых микроводорослей показано, что при полном отсутствии азота в питательной среде разрушение пигментов в клетках водорослей происходит только на свету и скорость разрушения зависит от интенсивности света.

Получены уравнения, описывающие динамику фотодеструктивного окисления пигментов и рассчитаны коэффициенты уравнений для красных и сине-зеленых микроводорослей.

Используемый подход к изучению адаптивных явлений предлагается впервые и не имеет аналогов в литературе.

Практическая ценность. Разработанная нами математическая модель может быть использована для расшифровки данных, полученных дистанционными аэрокосмическими методами о распространении фитопланктона, а также для построения математических моделей, прогнозирующих первичную продукцию в мировом океане (Бадаев, 1991; Behrenfeld, 1997).

¹ Теория массового обслуживания — раздел теории вероятностей, изучающий системы предназначенные для обслуживания массового потока требований случайного характера. В данной работе используются методы теории массового обслуживания, при этом пигментная система рассматривается как система, которая обслуживает случайный поток квантов света.

Кроме того, математическая модель, предложенная в этой работе, может быть использована для оптимизации условий роста микроводорослей при проектировании производственных процессов массового выращивания водорослей в Крыму и на Украине.

Личный вклад автора. Данная работа является продолжением развития идей о применении теории массового обслуживания в биологии (Тренкеншу 1982, 1984, 1992; Рубин, Шинкарев, 1984 и др.). Автором диссертации разработаны модели зависимости содержания пигментов в клетках растений от влияния различных факторов окружающей среды (в частности света) и проведены эксперименты для проверки полученных уравнений светозависимого содержания пигментов в клетках микроводорослей.

Апробация результатов диссертации. Материалы диссертации были представлены на семинарах в отделе фитобентоса и культивирования водорослей (1993-1997 гг.), на семинаре кафедры физиологии растений (г. Днепропетровск, 1995), на 31 Европейском Симпозиуме по морской биологии (г. С. Петербург, 9-13 сентября 1996 г.).

По материалам диссертации опубликовано 6 научных работ.

Структура и объем работы. Диссертация изложена на 132 страницах машинописного текста, состоит из введения, четырех разделов, выводов, приложения, списка литературы (167 наименований). Текст иллюстрирован 9 таблицами и 23 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

РАЗДЕЛ 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В этом разделе изложены основные представления о классификации пигментов, их содержании в клетках микроводорослей, влиянии спектрального состава и интенсивности света на величину относительного содержания пигментов. Рассмотрены данные по механизму фотодеструктивного окисления пигментов микроводорослей. Значительное внимание уделено существующим математическим моделям пигментных характеристик растений. Проведен анализ моделей, которые на сегодняшний день являются наиболее разработанными.

РАЗДЕЛ 2. ОБЩАЯ МОДЕЛЬ

Данный раздел посвящен определению основных понятий: концентрация пигментов (π) и биомассы (X), выход пигментов (наблюдаемая скорость синтеза V_{π}), продуктивность по биомассе (P), удельная скорость выхода

пигментов (μ_n) и биомассы (μ_x). Получено соотношение для величины относительного содержания пигмента в биомассе клеток (β):

$$\beta = \pi / x = V_\pi / P$$

На основе представления о двух противоположных процессах — синтез и разрушение пигментов, разработан общий механизм, включающий следующие понятия: максимально возможное значение β ,

$$\beta_{\max} = V_S / P,$$

где V_S — скорость синтеза пигментов, $V_\pi = V_S - V_d$, V_d — скорость разрушения пигментов.

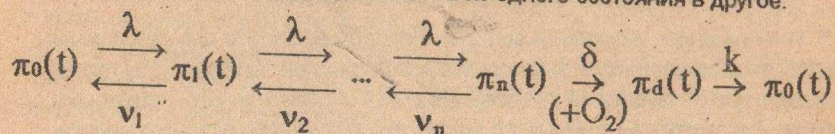
Приведем к безразмерному виду:

$$\beta' = \beta / \beta_{\max}, \quad \beta' = \pi / \pi_S$$

где $\pi_S = \pi + \pi_d$ — общая концентрация пигмента, π_d — концентрация разрушенного пигмента.

Модель фотодеструкции

В данном параграфе, используя методы теории массового обслуживания, получена схема перехода пигмента из одного состояния в другое:



где $\pi_0(t)$ — текущее значение поверхностной концентрации пигментов в основном состоянии; $\pi_1(t)$ — текущее значение поверхностной концентрации пигментов в одновозбужденном состоянии; $\pi_n(t)$ — текущее значение поверхностной концентрации пигментов в n -возбужденном состоянии; $\pi_d(t)$ — текущее значение поверхностной концентрации разрушенного пигмента; λ — интенсивность потоков квантов, поглощаемых одной молекулой пигмента; $v_1, v_2, \dots, v_n$ — интенсивность перехода пигмента из возбужденного состояния в основное, из дважды возбужденного состояния в одновозбужденное и т.д.; δ — интенсивность перехода пигмента в разрушенное состояние в

присутствии кислорода; k — интенсивность перехода пигмента из разрушенного состояния в основное (восстановление).

Уравнения для стационарного состояния

На основе полученной схемы, учитывая все состояния, в которых может находиться пигмент, и величины, которые характеризуют каждый переход из одного состояния в другое, была получена система дифференциальных уравнений, которая полностью описывает процесс фотодеструктивного окисления пигментов в любой момент времени. Решив систему для стационарного состояния, мы определили зависимость содержания пигментов от интенсивности света при различном количестве квантов, приводящих к фотодеструкции пигментов. Уравнение имеет вид:

$$\beta_n = \beta_{\max} \frac{1 + \frac{\delta \sum_{i=1}^{m+1} \prod_{j=i}^{n+i-(m+2)} v_j + \prod_{i=m+1}^n v_i}{(v_n + \delta) \prod_{i=1}^{n-1} v_i} \lambda^m + \frac{(n \delta + v_n)}{(v_n + \delta) \prod_{i=1}^{n-1} v_i} \lambda^{n-1} + \frac{1}{(v_n + \delta) \prod_{i=1}^{n-1} v_i} \lambda^n}{1 + \frac{\delta \sum_{i=1}^{m+1} \prod_{j=i}^{n+i-(m+2)} v_j + \prod_{i=m+1}^n v_i}{(v_n + \delta) \prod_{i=1}^{n-1} v_i} \lambda^m + \frac{(n \delta + v_n)}{(v_n + \delta) \prod_{i=1}^{n-1} v_i} \lambda^{n-1} + \frac{(k + \delta)}{k (v_n + \delta) \prod_{i=1}^{n-1} v_i} \lambda^n}$$

где n — количество квантов, одновременно поглощенных молекулой пигмента и приводящих его к разрушению. Объединяя коэффициенты стоящие перед λ получаем:

$$\beta_n = \beta_{\max} \frac{1 + Q_1 \lambda + \dots + Q_n \lambda^n}{1 + Q_1 \lambda + \dots + q \lambda^n} \quad (2.1)$$

Анализ уравнения. Анализ выражения для β (при любых n) показывает, что при $\lambda \rightarrow 0$, $\beta = \beta_{\max}$. Значит, при низких значениях потока квантов, близких к нулевым, содержание пигмента максимально и близко к величине $\beta_{\max}$, т.е. $\beta \rightarrow \beta_{\max}$. Величина $\beta_{\max}$ является видоспецифической величиной, может служить важнейшей физиологической характеристикой данного вида водорослей и показывает максимально возможное содержание пигментов в клетке. В кинетическом смысле эта величина есть отношение скорости синтеза пигмента к суммарной скорости синтеза всех клеточных структур. Вероятно, это соотношение генетически заложено в клетке, на что указывает

подробное изучение механизмов биосинтеза пигментов, перехода форм хлорофилла и его естественного обновления (Биогенез ..., 1988).

Реально $\beta_{\max}$ достичь и измерить невозможно, т.к. синтез пигментов происходит на свету, который является одновременно деструктантом пигментов. Полученные уравнения справедливы лишь для потока квантов света, превышающих компенсационный пункт фотосинтеза, так как они выведены для стационарных условий, которые не выполняются для облученностей ниже компенсационного пункта.

При $\lambda \rightarrow \infty$, $\beta \rightarrow \beta_{\max} K / (K + \delta)$. Таким образом, с ростом значения потока квантов света содержание пигментов в биомассе клеток падает до минимальной величины $\beta_{\min} = \beta_{\max} K / (K + \delta)$. Это справедливо для любых значений λ , так как из общего уравнения видно, что при высоких интенсивностях света ($\lambda \rightarrow \infty$) β определяется отношением коэффициентов, стоящих перед λ . Минимальное содержание пигментов ($\beta_{\min}$) определяется постоянными K и δ , которые по сути отражают процессы разрушения и восстановления пигментов при фотодеструктивном окислении.

Уравнения для нестационарного состояния.

Проанализировав случай, когда синтез пигментов не происходит, получили уравнение для одноквантового механизма фотодеструкции пигментов, которое имеет вид:

$$\beta = A \exp(r_1 t) + B \exp(r_2 t) + C \quad (2.2)$$

где β — относительное содержание пигмента в биомассе клеток; A , B , C , r_1 , r_2 — объединенные коэффициенты, содержащие светозависимые, температурозависимые и т. п. коэффициенты; t — время.

Рассмотрение двух-, трех- и т. д. квантовых механизмов показало, что конечные уравнения отличаются количеством экспонент и кривые имеют одинаковый характер, поэтому эти уравнения не рассматриваются.

Анализ уравнений. Анализ выражения для β нестационарного процесса показывает, что: при $t \rightarrow \infty$ $\beta = C$, т.е. концентрация пигментов снижается до некоторой величины $\beta = C$. При $t \rightarrow 0$, $\beta = A + B + C$, т.е. в условиях блокирования синтеза пигментов при временных отрезках облучения культуры близких к нулевым, концентрация пигментов остается на прежнем уровне.

РАЗДЕЛ 3. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Характеристика объектов исследований. В настоящей работе объектом исследования послужили сине-зеленые (*Oscillatoria sp.*) и красные

(*Porphyridium cruentum* (Ag.) Näg.) водоросли. *Oscillatoria sp.* выделена в альгологически чистую культуру лабораторией эколого-физиологических и гидрхимических исследований института биологии южных морей (ИНБИОМ). Красные водоросли были получены из коллекции культур Ланской Л.А., ИНБИОМ. Обоснованием такого выбора послужил тот факт, что водоросли относятся к различным систематическим группам и имеют различный набор фотосинтетических пигментов.

Альгологически чистые культуры выращивались на среде Громова при ослабленном естественном освещении. Основой для питательной среды служила предварительно стерилизованная по методу Ланской вода из открытой части Черного моря (Ланская 1971). Водоросли поддерживали в экспоненциальной фазе роста периодическим разбавлением питательной среды.

Экспериментальные установки, источник света, питательные среды. Сине-зеленые водоросли выращивали на среде Зарроука (Пиневиц, 1970), красные — на среде Тренкеншу (Тренкеншу, 1981). Для выращивания микроводорослей использовали культиватор с реакторами плоскопараллельного типа с рабочей толщиной слоя суспензии 1 см, в условиях круглосуточного освещения лампой ДРЛ-400. Интенсивность света (эксперимент №1 с *Oscillatoria sp.*) в разных точках на поверхности реактора (50x60 см) колебалась от 10 до 15 клк, в среднем составляя 12 клк для реактора 1 и 13.5 клк — для реактора 2. В эксперименте №2 с *P. cruentum* и №3 с *Oscillatoria sp.* интенсивность света была равна 12 клк. Измерение интенсивности света проводили по методике, описанной в работе (Чурилова, 1992). Равномерное перемешивание суспензии водорослей в реакторе осуществлялось посредством барбатирувания воздуха с помощью компрессорной установки (0.5 л воздуха на 1 л культуры в 1 мин). Для *P. cruentum* осуществлялась подача CO_2 (3 % от объема подаваемого воздуха).

Методы постановки экспериментов. Водоросли выращивали, используя метод непрерывного культивирования (Терсков, Гительзон, 1967). После стабилизации оптической плотности суспензии водоросли были переведены на безазотную среду. Для этого 1,2 литра суспензии *Oscillatoria sp.* были отцентрифугированы (20 мин. при 3000 об./мин.) и полученная паста залита предварительно приготовленной средой Зарроука без источника азота (NaNO_3) того же объема. Водоросли на безазотной среде были разлиты в два реактора по 600 мл. Этот объем поддерживался дистиллированной водой в течение всего эксперимента. Во втором эксперименте водоросли были переведены на среду без источника фосфора (KH_2PO_4) точно таким же образом, как и в первом опыте.

Аналогично и красные водоросли (объем 2.5 л) были переведены на среду Тренкеншу без NaNO_3 . Суспензия *P. cruentum* на безазотной среде

была разделена на три части. Две части объемом по 1 л были разлиты в два реактора, освещаемых круглосуточно. Третья часть объемом 0.5 л помещена в темноту.

В эксперименте № 1 с *Oscillatoria sp* на двадцать первый день опыта в каждый реактор была внесена порция NaNO_3 (1.25 г), из расчета 2.5 г на литр культуры.

Методика проведения анализов. Каждый день проводилось измерение pH с помощью универсального ионметра ЭВ-74, температуры. Содержание пигментов в клетках определяли по оптической плотности культуры, делая поправку на неспецифическое поглощение при длине волны 750 нм. Оптическая плотность определялась с помощью спектрофотометра "Specord UV-VIS" (Karl Zeiss, Германия). Сырую биомассу водорослей в суспензии определяли по величине плотного осадка клеток после центрифугирования. Для этого в специально изготовленные пробирки с мерным капилляром заливали определенный объем суспензии водорослей, и центрифугировали (10 мин. при 2000 об/мин), затем измеряли объем осадка в капиллярном участке пробирки и рассчитывали содержание сырой биомассы (г/л) суспензии, принимая плотность водорослей равной плотности воды. Оптическая плотность культуры при длине волны 750 нм находится в прямой зависимости от плотности клеток в суспензии. С помощью программы в которой реализован метод по координатного спуска на ПЭВМ были определены коэффициенты зависимости для *Oscillatoria sp.* (0.098) и для *P. cruentum* (0.0275).

Во всех трех опытах постоянными оставались температура и pH ($t=18\pm 1$ °C, $\text{pH}=7.5\pm 0.5$ для *P. cruentum* и $t=28\pm 2$ °C, $\text{pH}=10\pm 0.5$ для *Oscillatoria sp.*).

РАЗДЕЛ 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Описание экспериментальных кривых

Стационарный процесс

В данном параграфе был сделан переход от зависимости β от λ к зависимости β от поверхностной освещенности (E_0) в уравнении для стационарного состояния:

$$\beta_1 = \beta_{\max} \frac{1 + a_1 E_0}{1 + a_2 E_0} \quad (4.1)$$

$$\beta_2 = \beta_{\max} \frac{1 + b_1 E_0 + b_2 E_0^2}{1 + b_1 E_0 + b_3 E_0^2} \quad (4.2)$$

$$\beta_3 = \beta_{\max} \frac{1 + c_1 E_0 + c_2 E_0^2 + c_3 E_0^3}{1 + c_1 E_0 + c_2 E_0^2 + c_4 E_0^3} \quad (4.3)$$

где a_1 a_2 b_1 b_2 b_3 c_1 c_2 c_3 c_4 — объединенные постоянные коэффициенты.

Таким образом, получены уравнения (4.1) — (4.3), в которых определена зависимость содержания пигментов от интенсивности света для одно- двух- и трехквантового механизма фотодеструкции.

Вероятность одновременного поглощения четырех, пяти и т.д. квантов света молекулой пигмента ничтожно мала. Поэтому эти случаи мы не рассматриваем.

Полученные уравнения (4.1) — (4.3) справедливы для процесса, который протекает при стационарных условиях, поэтому мы воспользовались экспериментальными данными, полученными в непрерывном режиме выращивания клеток, при котором стабилизировалась оптическая плотность суспензии микроводорослей. Данные были взяты из работы (Тренкеншу и др. 1981) для морской микроводоросли *Platymonas viridis* Rouch. В эксперименте применяли плотностатный метод культивирования (Терсков, Гительзон, 1967). Прирост водорослей измеряли по величине оптической плотности в красной области спектра (D_{680}), характеризующей поглощение хлорофилла a . Запись спектра производили через 1-2 часа на регистрирующем спектрофотометре. Затем часть суспензии сливали и доливали соответствующий объем питательной среды, чем обеспечивалась стабилизация оптической плотности. После достижения стационарного роста определяли концентрацию сухой биомассы в суспензии. Содержание хлорофилла рассчитывали по методике, описанной в работе (Финенко и др., 1971). Подробное описание методов культивирования микроводорослей можно найти в работе (Тренкеншу и др. 1981).

Следующие экспериментальные данные, которыми мы воспользуемся, были предоставлены лично авторами работ (Заворуева, Белянин, 1984; Белянин и др., 1980; Болсуновский, Дегерменджи, 1982). В исследованиях использовались сине-зеленые и зеленые водоросли: *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl., *Synechococcus elongatus* Nag и *Chlorella vulgaris* Beijer. Для непрерывного выращивания этих микроводорослей в стационарных условиях использовалась методика, аналогичная описанной выше для *Platymonas viridis*.

Таблица 4.1

Коэффициенты рассчитанные по уравнению (4.1).

Видовая принадлежность	Коэффициенты			Ошибка E_1
	$\beta_{\max}, \%$	a_1	a_2	
<i>Chlorella</i>	4.94	1.5×10^{-3}	3.32×10^{-2}	0.063
<i>Platymonas</i>	1.99	7.1×10^{-3}	2.11×10^{-2}	0.063
<i>Synechococcus</i>	1.82	4.63×10^{-3}	2.14×10^{-2}	0.8×10^{-2}
<i>Spirulina</i>	2.6	9.6×10^{-3}	3.1×10^{-2}	2.4×10^{-3}

Таблица 4.2

Коэффициенты рассчитанные по уравнению (4.2).

Видовая принадлежность	Коэффициенты				Ошибка E_2
	$\beta_{\max}, \%$	b_1	b_2	b_3	
<i>Chlorella</i>	3.27	1.97×10^{-3}	4.18×10^{-5}	3.16×10^{-4}	3.1×10^{-2}
<i>Platymonas</i>	2	1.5×10^{-2}	4.4×10^{-4}	1.1×10^{-3}	3.1×10^{-2}
<i>Synechococcus</i>	1.08	6.7×10^{-4}	2.7×10^{-5}	6.3×10^{-5}	5.9×10^{-3}
<i>Spirulina</i>	1.93	3.99×10^{-3}	134×10^{-4}	2.87×10^{-4}	1.02×10^{-2}

Таблица 4.3

Коэффициенты рассчитанные по уравнению (4.3).

Видовая принадлежность	Коэффициенты					Ошибка E_3
	$\beta_{\max}, \%$	c_1	c_2	c_3	c_4	
<i>Chlorella</i>	2.8	1.73×10^{-3}	1.4×10^{-5}	7.1×10^{-7}	3.73×10^{-6}	0.3×10^{-1}
<i>Platymonas</i>	1.86	9.15×10^{-2}	8.12×10^{-4}	3.2×10^{-5}	7.44×10^{-5}	0.3×10^{-1}
<i>Synechococcus</i>	0.93	1.77×10^{-4}	2.3×10^{-9}	1.12×10^{-7}	2.11×10^{-7}	0.01
<i>Spirulina</i>	1.78	4.45×10^{-4}	1.96×10^{-8}	1.32×10^{-6}	2.51×10^{-6}	3.2×10^{-2}

В цитированных работах приведены экспериментальные данные зависимости β от поверхностной облученности клеток. На основе этих данных

были получены коэффициенты уравнений (4.1) -- (4.3) для каждого вида водорослей, которые представлены в таблицах 4.1-4.3.

Коэффициенты определялись из условий минимума средней квадратической ошибки. Для этого использовалась программа, в которой реализован метод покоординатного спуска.

Из расчетов коэффициентов уравнений зависимости относительного содержания хлорофилла a от облученности и из сопоставления экспериментальных данных с теоретическими кривыми видно, что моделью, наиболее точно описывающей экспериментальные данные, является модель, в основе которой лежит механизм фотодеструктивного окисления пигментов при поглощении двух квантов света (рис. 4.1).

Нестационарный процесс

В условиях глубокого лимитирования по азоту показано, что разрушение пигментов происходит только на свету и скорость разрушения зависит от интенсивности света.

Анализ кинетики выцветания пигментов позволяет заключить, что недостаток минеральных компонентов в питательной среде вызывает структурно-функциональную перестройку фотосинтетического аппарата как у красных водорослей, так и у сине-зеленых. При глубоком лимитировании по азоту в клетках цианобактерий наблюдается почти полное разрушение азотсодержащих пигментов. Причем скорость разрушения фикобилинов выше, чем хлорофиллов (Рис. 4.2,4.3). Возможно, это связано с тем, что фикобилины могут выполнять роль запасных веществ (Boussiba, 1980; Kana, 1987; Durgé, 1994) и при недостатках минеральных компонентов в среде использование недостающих элементов, входящих в состав фикобилинов, влечет за собой ресинтез фикобилинов.

На основе экспериментальных данных были получены коэффициенты уравнений для каждого вида водорослей, которые приведены в таблице 4.4. На рисунке 4.2. показано соответствие теоретических и экспериментальных кривых. Коэффициенты для всех расчетов определялись из условий минимума средней квадратической ошибки.

Недостаток фосфора также приводит к снижению концентрации пигментов (Финенко 1971), но, в отличие от случая с азотом, разрушение пигментов происходит гораздо медленнее. Показано, что разрушение пигментов при глубоком лимитировании по азоту происходит почти в три раза быстрее, чем при лимитах по фосфору. Возможно, такая реакция пигментной системы связана с тем, что фосфор, как известно, не является пластическим материалом для синтеза пигментов. Водоросли способны запасать фосфаты в виде лифосфатных гранул и запасенный фосфор обеспечивает водо-

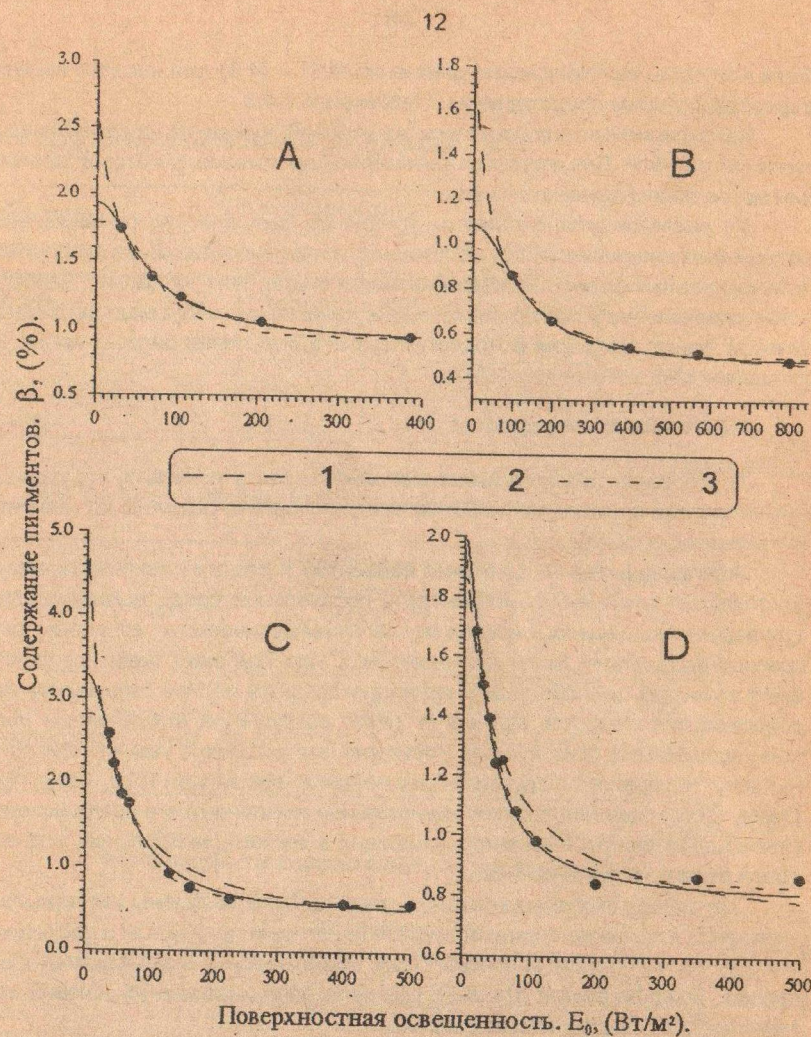


Рис.4.1. Зависимость относительного содержания хлорофилла а в сухой биомассе а) *Spirulina platensis*, б) *Synechococcus*; в) *Chlorella vulgaris*, д) *Platymonas viridis* от поверхностной освещенности. Кривая 1 - расчет по уравнению (4.1), 2 - по уравнению (4.2), 3 - по уравнению (4.3).

Таблица 4.4

Коэффициенты рассчитанные по уравнению (2.2)

Видовая принадлежность	Коэффициенты					Ошибка
	A	r_1	B	r_2	C	
<i>Oscillatoria</i> sp.	Реактор 1, фикоцианины (D_{620})					0.4×10^{-4}
	0.17	0.186	3.143	0.194	0.11	
	хлорофиллы (D_{680})					0.023
	2.19	0.192	0.5	0.98	0.123	
	Реактор 2, фикоцианины (D_{620})					0.3×10^{-4}
	0.179	0.221	3.09	0.27	0.15	
<i>P. cruentum</i>	хлорофиллы (D_{680})					0.11×10^{-2}
	0.62	0.21	2.35	0.1	0.09	
	Реактор 1, фиксеритрины (D_{570})					0.1
	1.5	-2.68	1.065	-0.066	0.6	
	хлорофиллы (D_{680})					0.1
	1.2	-1.69	0.69	-0.066	0.8	
	Реактор 2, фиксеритрины (D_{570})					0.3
	1.755	-2.37	1.09	-0.068	0.7	
	хлорофиллы (D_{680})					0.1
	0.53	-2.853	0.85	-0.064	0.7	

росли на тот период когда его внешняя концентрация становится недостаточной (Саут, Уиттик, 1990). Очевидно, что при недостатке фосфора будет снижаться эффективность метаболизма любых соединений, требующих больших количеств АТФ, например, синтез каротиноидов.

Таким образом, в условиях недостатка в питательной среде минеральных компонентов наблюдается снижение концентрации пигментов в клетках любых микроводорослей за счет снижения скорости синтеза пигментов и разрушения пигментов под действием света, причем скорость разрушения зависит от интенсивности света. В темноте разрушения пигментов не происходит, т. к. именно свет является основным деструктантом растительных пигментов.

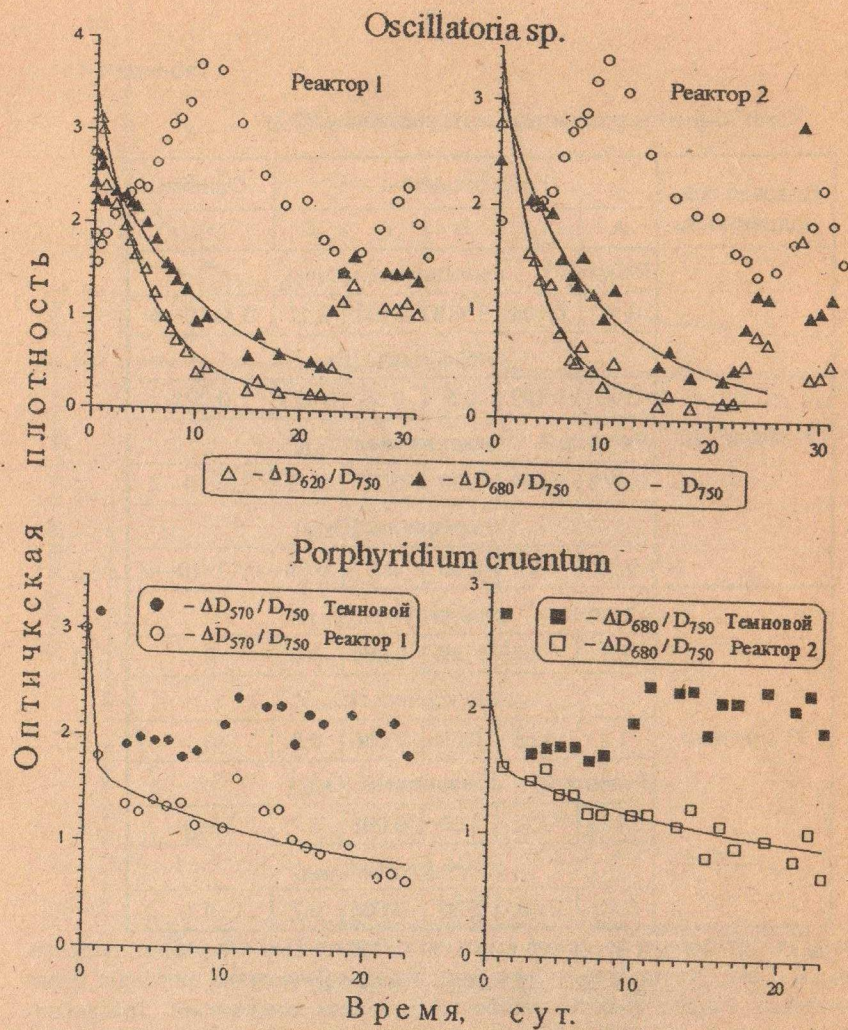


Рис. 4.2. Изменение оптической плотности суспензии микроводорослей после перенесения клеток в среду без азота. Для *Oscillatoria* sp. на 21-й день в питательную среду была внесена порция NaNO_3 (2.5 г/л). Показано восстановление пигментов. Теоретические кривые — расчет по уравнению (2.2). Коэффициенты уравнения представлены в таблице 4.4.

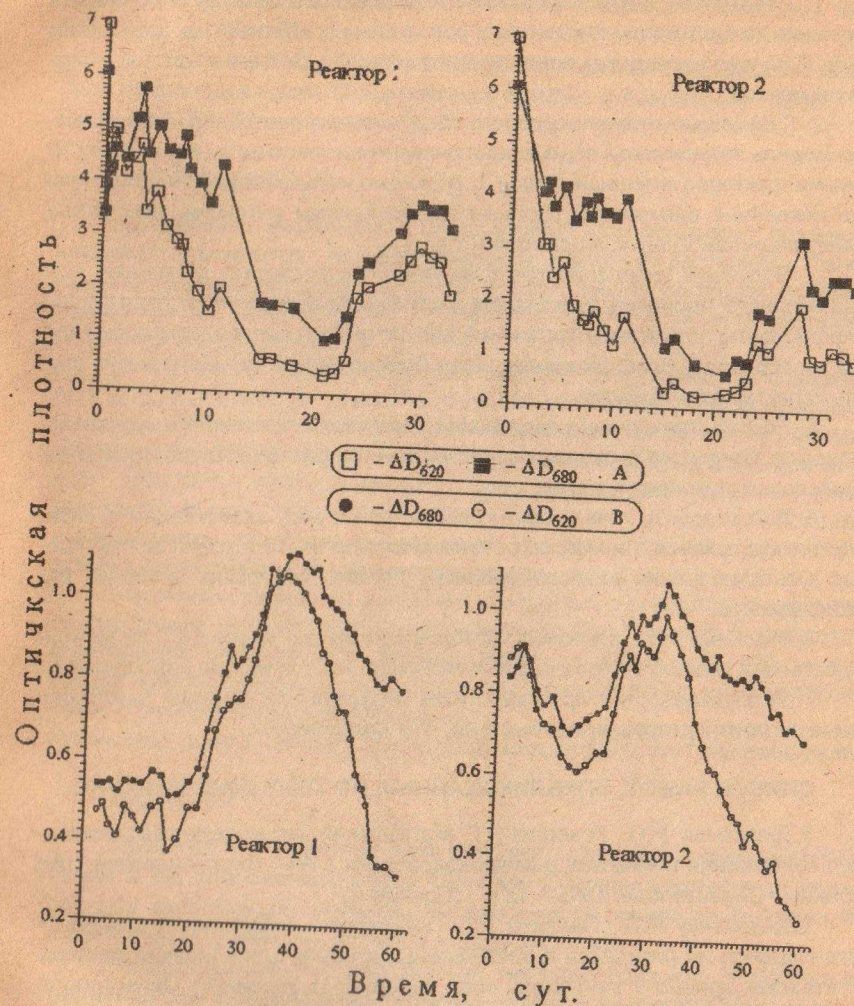


Рис. 4.3. Изменение оптической плотности (абсолютные единицы) суспензии *Oscillatoria* sp. после перенесения клеток в среду без азота (А) и фосфора (В).

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

1. Предложен физиологический механизм, позволяющий объяснить изменение концентрации пигментов в растительных клетках под действием света. В основе механизма лежит представление о синтезе и фотодеструкции пигментов.
2. С помощью теории массового обслуживания построена математическая модель зависимости содержания пигментов в растительных клетках от влияния факторов внешней среды, с помощью которой можно прогнозировать поведение пигментной системы при изменении интенсивности света, концентрации биогенных элементов и т.д.
3. Получены уравнения светозависимого содержания пигментов для стационарного процесса культивирования микроводорослей и рассчитаны коэффициенты полученных уравнений для различных систематических групп микроводорослей. Коэффициенты несут биологический смысл и могут служить характеристикой вида.
4. Разработана динамическая модель фотодеструктивного окисления пигментов. Получены уравнения и рассчитаны коэффициенты для красных и синезеленых микроводорослей.
5. Доказано, что уравнения, описывающие форму зависимости относительного содержания пигментов от интенсивности света (стационарный процесс культивирования микроводорослей), должны содержать минимум три коэффициента.
6. Показано, что динамика фотодеструктивного окисления пигментов существенно зависит от уровня обеспеченности клеток азотом и фосфором.
7. Установлено, что при недостатке минерального питания фикобилиновые пигменты разрушаются быстрее, чем хлорофиллы.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

- 1.Тренкеншу Р.П., Геворгиз Р.Г. Математическая модель светозависимого содержания пигментов в микроводорослях / Ин-т биол.океан.морей НАН Украины.- Севастополь, 1995. - 12 с. - (Препринт)
- 2.Тренкеншу Р.П., Геворгиз Р.Г. Применение уравнений светозависимого содержания пигментов в растительных клетках для описания экспериментальных кривых / Ин-т биол. океан. морей НАН Украины.- Севастополь, 1996.- 12с.- (Препринт)
- 3.Gevorgiz R.G. Light-dependent pigment concentration in plants // 31 European Marine Biology Symp.: Progr. and Abstr. - St.Peterburg, 1996. - P. 52.
- 4.Геворгиз Р.Г. Светозависимое содержание пигментов в микроводорослях. Нестационарный процесс // Альгология. - 1998. - Т. 8, No. 1. - С. 69-74.

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

6.Тренкеншу Р.П., Геворгиз Р.Г. Светозависимое содержание пигментов в микроводорослях. Стационарный процесс // Альгология. - 1998. - Т. 8, No. 3. - С. 273-277.

АННОТАЦИЯ

Предложен механизм, объясняющий зависимость содержания клеточных пигментов от интенсивности света в растениях. Основой механизма является представление о двух противоположных процессах, определяющих концентрацию пигментов в клетке: синтез и разрушение пигментов под действием света.

Разработана математическая модель, описывающая содержание пигментов в растительных клетках с учетом фотодеструктивных процессов. Получены уравнения зависимости содержания пигментов в биомассе микроводорослей от поверхностной освещенности. Уравнения применены для описания светозависимого содержания пигментов в клетках микроводорослей различных систематических групп. Определены коэффициенты полученных уравнений. Показано хорошее соответствие экспериментальных и теоретических данных.

Получены уравнения, описывающие динамику содержания пигментов в растительных клетках при блокировании синтеза пигментов недостатком компонентов минерального питания. Уравнения применены для описания содержания пигментов в клетках красных и сине-зеленых микроводорослей при глубоком азотном лимитировании.

Ключевые слова: пигмент, фотодеструкция, модель, азот, микроводоросли.

АНОТАЦІЯ

Пропонується механізм який пояснює залежність кількості клітинних пігментів від інтенсивності світла у рослин. Основою механізму є уявлення про два протилежних процеси, які визначають концентрацію пігментів в клітині: синтез і руйнування пігментів під дією світла.

Розроблено математичну модель, яка описує кількість пігментів в рослинних клітках з урахуванням фотодеструктивних процесів. Отримані рівняння залежності кількості пігментів в біомасі микроводоростей від поверхневої освітленості. Рівняння застосовано для опису світлозалежного вмісту пігментів в клітинах микроводоростей різноманітних систематичних груп. Отримані коефіцієнти рівнянь. Показано гарне співвідношення експериментальних і теоретичних даних.

Отримані рівняння, які описують динаміку кількості пігментів в рослинних клітинах при блокуванні синтезу пігментів нестачею компонентів мінерального харчування. Рівняння застосовано для опису концентрації пігментів в клітинах червоних і синьо-зелених мікроводоростей при глибокому азотному лімітуванні.

Ключеві слова: пігмент, фотодеструкція, модель, азот, мікроводорості.

SUMMARY

Pigments cellular concentration on light intensity dependence mechanism in plants is proposed. The basis of this mechanism is theory of interaction of 2 opposite processes determining concentration of pigments in the cell that are: synthesis and destruction of pigments under light influence.

Mathematic model describing pigments concentration in plant cells taking into account photodestructive processes is developed. Equations for pigments microalgae biomass concentrations dependence from surface illumination intensity are obtained. They were used for description of photodependent pigment concentration kinetics in microalgae cells of various taxonomic origin. Coefficients were determined for obtained equations. Perfect coincidence of experimental and theoretical data were shown.

Equations were obtained for description of pigments concentration kinetics in algae cells under pigments synthesis inhibition by the lack of mineral nutrients. Equations were used for description of pigments concentration kinetics in cells of red and blue-green microalgae under severe nitrogen limitation.

Keywords: pigment, photodestruction, model, nitrogen, microalgae