

УДК 547 (963.4+979.7) 582.232

С.И. ЛОСЬ, Р.Н. ФОМИШИНА, С.Н. ВАСИЛЬЧЕНКО,

Т.О. ЗАХАРОВА, А.А. СИВАШ

Ин-т ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины,

01001 Киев, ул. Терещенковская, 2, Украина

ДЕЙСТВИЕ КРАСНОГО СВЕТА НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ АППАРАТ ПРИ АВТО- И ФОТОГЕТЕРОТРОФНОМ РОСТЕ *SPIRULINA PLATENSIS* (NORDST.) GEITL. (CYANOPHYTA)

Исследовано влияние красной подсветки светодиодов ($\lambda_{\text{max}} = 630 \text{ нм}$, $\Delta\lambda = 20 \text{ нм}$) на фоне белого излучения люминесцентных ламп на фотосинтетический аппарат *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl. и рост культуры при ее автотрофном и фотогетеротрофном режиме питания. Показано, что в условиях красного излучения светодиодов содержание всех пигментов уменьшается примерно на треть, тогда как соотношение пигментов почти не изменяется. Внесение глюкозы в культуральную среду вызывает еще большее снижение содержания всех пигментов и изменение их соотношения как на белом, так и на красном свете. Красный свет способствовал значительному накоплению биомассы водоросли, максимальное значение которой наблюдалось в условиях фотогетеротрофного роста (в 3,6 раза). На основании биохимических и флуоресцентных показателей сделан вывод об эффективности использования красного света фотосинтетическим аппаратом *S. platensis*. Применение монохроматических красных светодиодов позволяет целенаправленно изменять спектральный состав искусственных источников света, исследовать видовые особенности адаптации культур к световому режиму и обеспечивать экономию электроэнергии.

Ключевые слова: *Spirulina platensis*, хлорофилл, фикоцианин, красный свет, глюкоза, хроматическая адаптация.

Введение

Многие синезеленые водоросли обладают способностью к комплементарной хроматической адаптации (КХА), выражающейся в изменении состава и содержания пигментов (Bennett, Bogorad, 1973; Campbell, 1996). КХА существенно повышает эффективность использования света, что очень важно в условиях значительного изменения спектрального состава и сниженной интенсивности солнечного излучения в воде. Свет воздействует на клеточный метаболизм как непосредственно через фотосинтез, так и опосредованно через целый ряд фоторегуляторных механизмов.

Главными светособирающими антеннами цианобактерий (*Cyanophyta*) являются фикобилисомы, которые поглощают и передают энергию на реакционные центры фотосистем (Glazer, 1989; Mauzerall, Greenbaum, 1989). Для поддержания гомеостаза в динамичных световых условиях цианобактериям необходимы гибкие механизмы прежде всего быстрого рассеяния избытка солнечного излучения или увеличения сечения захвата лучистой энергии (Grossman et al., 2001).

© С.И. Лось, Р.Н. Фомишина, С.Н. Васильченко, Т.О. Захарова, А.А. Сиваш, 2007

Известна также роль растворимых углеводов (глюкозы, сахарозы и др.) в регуляции клеточного метаболизма высших растений и водорослей (Семененко, 1978; Сиваш и др., 2004; Gibson, 2005). Действие сахаров на генную экспрессию осуществляется непосредственно через специфические сахарочувствительные сигнальные пути, а также связано с регуляцией посредством редокс, активных форм кислорода, света, сигналов фотосинтетического электронного транспорта (Coe et al., 2006). Взаимодействие сигналов может происходить как на уровне целевых генов, в частности фотосинтетических, так и модулироваться в путях передачи сигналов. Механизм влияния света на синтез пигментов и функциональные характеристики фотосинтетического аппарата требует дальнейших исследований. Актуальность таких исследований связана с углублением общих представлений о хроматической адаптации водорослей, ее специфике у различных видов, а также с практическим значением, связанным с улучшением условий культивирования и повышением продуктивности. Применение монохроматических источников излучения светодиодов позволяет осуществлять концентрированное воздействие в спектральных областях максимального поглощения водорослями и проводить целенаправленную коррекцию состава искусственного освещения.

Цель работы – дать характеристику реакции фотосинтетического аппарата *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl. на воздействие красного света светодиодов при автотрофном и фотогетеротрофном росте культуры.

Материалы и методы

Spirulina platensis выращивали на среде Заррука при освещении люминесцентными лампами (ЛБ-40) с интенсивностью белого света $75 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ и фотопериодом 12 ч в течение недели (Сиваш и др., 2004). Затем водоросли адаптировали на протяжении недели к низкой интенсивности белого света ($25 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$). На 15-е сутки роста водорослей включалась подсветка красным светом светодиодов ($\lambda_{\text{макс}} = 630 \text{ нм}$, $\Delta\lambda = 20 \text{ нм}$) интенсивностью $75 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$.

В вариантах с глюкозой (фотогетеротрофный рост) к культурам на 15-е сут их роста добавляли глюкозу до концентрации 50 ммоль. Пробы для анализа отбирали через 72 ч после внесения добавки и подсветки красным светом. Содержание пигментов определяли спектрофотометрически с помощью спектрометра (СФ 46) так, как описано в нашей предыдущей работе (Фомишина, Лось, 2001). Функциональное состояние фотосинтетического аппарата исследовали методом индукции флуоресценции хлорофилла на флуориметре ХЕ-РАМ (Heinz Waltz GmbH, Германия).

Фотохимическое (qP) и нефотохимическое (qN) тушение флуоресценции хлорофилла определяли путем активизации фотохимических реакций активным светом различной плотности потока фотонов (20 и $90 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$). Проведено три серии экспериментов, повторность определения параметров 9-10-кратная. Из полученных данных выводили средние показатели. Данные обрабатывали статистически, стандартные отклонения находились в пределах 5 %.

Результаты и обсуждение

Результаты исследований показывают значительное уменьшение содержания всех пигментов под влиянием красного света (табл. 1, 2). Так, количество фикоцианина (ФЦ) и аллофикоцианина (АФЦ) снижалось на 33,5 и 30,5 % соответственно. Уменьшалось содержание хлорофилла (на 32,1 %) и каротиноидов (на 17,4 %). Соотношение фикоцианина к аллофикоцианину (ФЦ : АФЦ), фикоцианина и аллофикоцианина к хлорофиллу (ФЦ : Хл, АФЦ : Хл) почти не изменялось, тогда как отношение каротиноидов к хлорофиллу (Кар : Хл) повышалось под влиянием красного света. Внесение глюкозы в культуральную среду при выращивании *S. platensis* вызывало еще большее снижение содержания всех исследуемых пигментов. Так, на белом свете при добавлении глюкозы количество фикоцианина уменьшалось более чем в два раза, аллофикоцианина – в 1,6 раза, хлорофилла – в 2,3 раза, каротиноидов – в 1,9 раза по сравнению с ростом культуры в контроле (на белом свете).

Таблица 1. Содержание (мг/г сух массы) и соотношение пигментов у *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl. под влиянием красного света и глюкозы (концентрация 50 ммоль)

Вариант опыта	ФЦ	АФЦ	ХЛ	КАР	ФЦ / АФЦ	ФЦ / ХЛ	АФЦ / ХЛ	КАР / ХЛ
БС	141,15 ± 7,05	58,09 ± 3,48	16,04 ± 6,42	3,84 ± 0,15	2,43	8,79	3,62	0,24
БС + Гл	62,24 ± 3,11	35,40 ± 2,12	6,95 ± 0,27	1,94 0,08	1,76	8,95	5,09	0,28
КС	93,78 ± 4,68	40,36 ± 2,42	10,88 ± 0,48	3,17 ± 0,14	2,32	8,62	3,70	0,29
КС + Гл	38,70 ± 2,10	25,14 ± 1,55	6,12 ± 0,28	1,99 ± 0,07	1,54	6,32	4,10	0,33

Обозначения: ФЦ – фикоцианин; АФЦ – аллофикоцианин; ХЛ – хлорофилл; КАР – каротиноиды; БС – белый свет; Гл – глюкоза; КС – красный свет.

Таблица 2. Содержание пигментов у *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl. (% контроля – БС)

Вариант опыта	ФЦ	АФЦ	ХЛ	КАР
БС	100	100	100	100
КС	66,4	69,5	67,8	82,5
БС + Гл	44,1	60,9	43,3	50,5
КС + Гл	27,4	43,3	38,2	51,8

Обозначения те же, что и в табл. 1.

Добавление глюкозы в условиях красной подсветки по отношению к действию только красного света почти в такой же степени снижало содержание всех пигментов, как и глюкоза на белом свете. Действие глюкозы на фоне красной подсветки по отношению к белому свету вызывало наибольшее падение содержания всех пигментов (см. табл. 2). У цианобактерий фотосинтетический и дыхательный электронный транспорт происходит в одних и тех же мембранах, используя совместно многие интермедиаты, иногда одновременно (Campbell et al., 1998, Peschek et al., 2004). Резервные соединения в таком случае могут выступать как электронное депо, которое балансирует поток электронов в тилакоидной мембране в процессе фотосинтеза и имеет важное регуляторное значение.

Глюкоза заметно способствовала снижению соотношения Фц : Афц на белом (с 2,4 до 1,7) и красном свете (с 2,3 до 1,5). Величина соотношения Фц : Хл резко понижалась на красном свете с глюкозой (с 8,6 до 6,3), тогда как в этих же условиях отношение Кар : Хл возрастало. Каротиноиды выполняют двоякую роль в фотосинтетическом превращении света – светособирающую и фотопротекторную (Demmig-Adams, Adams, 1992, 1996).

Таким образом, подавление глюкозой синтеза всех пигментов значительно доминировало над репрессивным действием красного света. *Spirulina platensis* переключается на фотогетеротрофный тип питания, что приводит к существенному уменьшению синтеза фотосинтетических пигментов. Полученные нами результаты по репрессивному действию красного света на содержание пигментов соответствуют литературным данным (Hattori, Fujita, 1959; Ley, Butler, 1980). Авторы предполагают, что во время хроматической адаптации на красном свете происходит увеличение сечения поглощения фотосистемы II (ФСII), что играет доминирующую роль в увеличении поступления энергии в фотосистему II. Свет и глюкоза влияют на синтез фикобилиновых пигментов главным образом через модуляцию уровня мРНК этих белков (Steinmuller, Zetsche, 1984; Oelmuller et al., 1989).

Используемые условия опытов заметно влияли на биомассу *S. platensis*. Добавление глюкозы приводило к увеличению биомассы в 1,6 раза (см. рисунок); красный свет еще больше стимулировал рост биомассы (2,78 раза), тогда как красный свет в сочетании с глюкозой способствовал наибольшему росту культуры (в 3,6 раза).

Таким образом, энергия красного света утилизируется более эффективно фотосинтетическим аппаратом *S. platensis*, что проявлялось в уменьшении содержания всех пигментов и в накоплении биомассы.

Красный свет вызывал незначительное снижение коэффициента фотохимического тушения флуоресценции хлорофилла (qP) на низком свете и более заметное снижение на высоком актиничном свете относительно контрольного варианта водорослей, которые росли в условиях низкоинтенсивного белого света (табл. 3). Добавление глюкозы в культуру *S. platensis* на белом свете и с подсветкой красным светом приводило к уменьшению величины qP (на 6,5-8 %), что уже заметно и на низком актиничном свете. Подсветка красным светом светодиодов, добавление глюкозы и их комбинированное воздействие снижало qP относительно контрольного варианта и при переходе от низкой к более высокой интенсивности актиничного света.

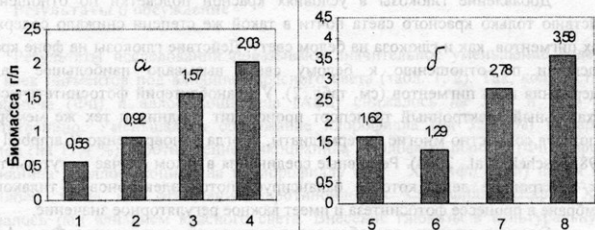


Рисунок. Содержание биомассы у *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl. (а) в зависимости от условий освещения и содержания глюкозы: 1 – БС (белый свет), 2 – БС + Гл (глюкоза); 3 – КС (красный свет); 4 – КС и соотношение биомассы (б) между вариантами опытов: 5 – БС + Гл / БС, 6 – КС + Гл / КС, 7 – КС / БС; 8 – КС + Гл / БС.

Таблица 3. Флуоресцентные параметры *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl. в зависимости от условий освещения и содержания глюкозы

Вариант опыта	qP		qN	
	Плотность потока фотонов актиночного света, мкмоль · м ⁻² · с ⁻¹			
	20	90	20	90
БС	0,937± 0,046	0,910± 0,047	0,316± 0,017	0,252± 0,014
БС + Гл	0,862± 0,049	0,890± 0,049	0,484± 0,030	0,389± 0,012
КС	0,930± 0,050	0,862± 0,048	0,457± 0,022	0,498± 0,027
КС + Гл	0,875± 0,041	0,833± 0,045	0,591± 0,032	0,478± 0,026

Примечания. qP – фотохимическое тушение флуоресценции хлорофилла; qN – нефотохимическое тушение флуоресценции хлорофилла. Обозначения те же, что и в табл. 1.

В отличие от растений, где qP (характеризующее долю открытых реакционных центров ФСII) монотонно снижается при увеличении интенсивности действующего света, цианобактерии способны поддерживать практически на постоянном уровне значительную долю открытых РЦ ФСII в широком диапазоне избыточного освещения. Последнее осуществляется за счет гибких механизмов регулирования электронного транспорта (Shyam et al., 1993) и высокого соотношения ФСI/ФСII (Campbell et al., 1996). Более низкие значения qP (большая доля закрытых реакционных центров) в условиях добавки красного света, глюкозы (особенно при их совместном действии) могут свидетельствовать о более высокой восстановленности редокс-переносчиков в электронтранспортной цепи и снижении

возможности отводить электроны от ФСII, особенно при фотогетеротрофии в условиях досветки красным светом.

Уровень нефотохимического тушения флуоресценции (qN) повышался в условиях подсветки светодиодами особенно на высоком актиничном свете (в 2 раза) относительно контрольного варианта водорослей, которые выращивали на низкоинтенсивном белом свете под люминесцентными лампами. Внесение глюкозы на белом и красном свете вызывало повышение qN (на 23-35 %) на низком актиничном свете. У цианобактерий нефотохимическое тушение флуоресценции уменьшалось от высокого темнового уровня до минимального при интенсивности действующего света, близкого к уровню интенсивности, на которой выращивали водоросли (Campbell et. al., 1998). Нефотохимическое тушение флуоресценции ФСII цианобактерий коррелирует с потоком возбуждения от ФСII до ФСI, который изменяется в процессе перехода состояния 1 – состояние 2. В состоянии 2 компоненты электронтранспортной цепи находятся в восстановленном состоянии, что характеризуется низким уровнем флуоресценции ФСII, высоким уровнем переноса энергии электронного возбуждения до ФСI и высоким значением qN. Отмеченные нами более высокие значения qN в условиях красной подсветки и добавки глюкозы связаны с повышенным уровнем восстановленности компонентов электронтранспортной цепи водорослей (состояние 2) как следствие совместного использования многих интермедиатов электронного транспорта при фотосинтезе и дыхании. Собственно снижение qP, как отмечалось выше, под влиянием красного света и глюкозы (закрытие части реакционных центров) также свидетельствует о росте уровня восстановленности компонентов электронтранспортной цепи. В условиях наших опытов это может свидетельствовать как об эффективности красного света, так и о высокой интенсивности излучения светодиодов, т.е. плотности потока фотонов в узком спектральном диапазоне, сравнимой с интенсивностью белого света.

Таким образом, исследованные флуоресцентные параметры наряду с изменениями в количестве и соотношении пигментов, увеличении биомассы *S. platensis* свидетельствуют о значительной адаптивной перестройке фотосинтетического аппарата в условиях подсветки красным излучением светодиодов и фотогетеротрофии.

Выводы

Значительный прирост биомассы (~ 3 раза) у *S. platensis* с небольшим снижением содержания пигментов (до 30 %) достигается в случае досветки культуры красным светом светодиодов на фоне низкоинтенсивного белого излучения люминесцентных ламп.

Внесение глюкозы переводит *S. platensis* на фотогетеротрофное питание, что проявляется в двукратном уменьшении содержания пигментов и двукратном росте биомассы.

Наибольшее снижение содержания всех пигментов и наибольший прирост биомассы вызывает совместное действие досветки красными светодиодами и глюкозы.

Высокую эффективность утилизации энергии красного света фотосинтетическим аппаратом *S. platensis* подтверждают флуоресцентные характе-

ристики, свидетельствующие о высоком уровне восстановленности компонентов электронтранспортной цепи.

Применение монохроматического излучения красных светодиодов на фоне низкоинтенсивного белого света при культивировании синезеленых водорослей позволяет целенаправленно изменять (конструировать) спектральный состав излучения, накапливать биомассу водорослей и экономить электроэнергию.

S.I. Los, R.N. Fomishina, S.N. Vasilchenko, T.O. Zakharova, A.A. Sivash

N.G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine,
2, Tereshchenkovskaya St., 01001 Kiev, Ukraine

THE EFFECT OF RED LIGHT ON THE PHOTOSYNTHETIC APPARATUS UNDER
AUTO- AND PHOTOHETEROTROPHIC GROWTH OF *SPIRULINA PLATENSIS* (NORDST.)
GEITL. (CYANOPHYTA)

The effect of red light-emitting diodes (LED) ($\lambda_{\max} = 630 \text{ nm}$, $\Delta\lambda = 20 \text{ nm}$) on photosynthetic apparatus and growth of *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl. under auto- and photoheterotrophic conditions has been studied. It was shown, that the addition of red light to the background illumination of luminescent lamps leads to the decrease of pigment content, but the pigment ratio does not change. Addition of glucose in cultural medium caused more high decrease of all pigment content both under white and red-enriched white light. Red-enriched white light led to enhancing of biomass accumulation algae, maximum value of which was achieved under photoheterotrophic growth condition (3.6 fold). Biochemical and fluorescence data show higher effectivity the using of red light by photosynthetic apparatus of *S. platensis*. The using of monochromatic red LEDs permits to change spectral composition of artificial light sources, study peculiarities of adaptation of algal cultures to light regimes and provide of electric energy saving.

Keywords: *Spirulina platensis*, chlorophyll, phykocyanin, red light, glucose, chromatic adaptation.

Семенов В.Е. Молекулярно-биологические аспекты эндогенной регуляции фотосинтеза // Физиол. раст. – 1978. – 25, № 5. – С. 903-921.

Сиваш А.А., Лось С.И., Фомишина Р.Н., Золотарева Е.К. Регуляторная роль глюкозы в метаболизме некоторых представителей *Cyanophyta* // Альгология. – 2004. – 14, № 1. – С. 39-47.

Фомишина Р.Н., Лось С.И. Адаптационная изменчивость пигментов представителей рода *Nostoc* Vauch. (*Cyanophyta*) в различных условиях освещения // Там же. – 2001. – 11, № 3. – С. 327-333.

Bennett A., Bogorad L. Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green Alga // J. Cell Biol. – 1973. – 58, N 2. – P. 419-435.

Campbell D. Complementary chromatic adaptation alters photosynthetic strategies in the cyanobacterium *Calothrix* // Microbiology. – 1996. – 142, N 5. – P. 1255-1263.

Campbell D., Bruce D., Carpenter C., Gustafsson P., Oquist G. Two forms of the photosystem II D1 protein alter energy dissipation and state transitions in the cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC 7942 // Photosynth. Res. – 1996. – 47, N 1. – P. 131-144.

Campbell D., Hurry V., Clarke A.K., Gustafsson P., Oquist G. Chlorophyll fluorescence analysis of cyanobacterial photosynthesis and acclimation // Microbiol. Mol. Biol. Rev. – 1998. – 62, N 3. – P. 667-683.

Cowie I., Sulmon C., Gouesbet G., El Amrani A. Involvement of soluble sugars in reactive oxygen species balance and responses to oxidative stress in plant // J. Exp. Bot. – 2006. – 57, N 3. – P. 449-459.

- Demmig-Adams B., Adams W.W. Photoprotection and other responses of plants to high light stress // *An. Rev. Plant Physiol., Plant Mol. Biol.* – 1992. – **43**. – P. 599-626.
- Demmig-Adams B., Adams W.W. The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis // *Trends Plant Sci.* – 1996. – **1**, N 1. – P. 21-26.
- Gibson S.I. Control plant development and gene expression by sugar signalling // *Cur. Opinon Plant Biol.* – 2005. – **8**. – P. 93-102.
- Glazer A. Light guides // *J. Biol. Chem.* – 1989. – **264**, N 1. – P. 1-4.
- Grossman A.R., Bhaya D., He Q. Tracking the light environment by cyanobacteria and dinamic light harvesting // *J. Biol. Chem.* – 2001. – **276**. – P. 11449-11452.
- Hattori A., Fujita Y. Formation of Phycobilin pigments in a blue-green algae *Tolypothrix tenuis* as induced by illumination with colored lights // *Biochem. J.* – 1959. – **46**, N 4. – P. 521-524.
- Ley A.C., Butler W.L. Effects of chromatic adaptation on the photochemical apparatus of photosynthesis in *Porphyridium cruentum* // *Plant Physiol.* – 1980. – **65**, N 4. – P. 714-722.
- Mauzerall D., Greenbaum N.L. The absolute size of a photosynthetic unit // *Biochem. Biophys. Acta.* – 1989. – **974**. – P. 119-140.
- Oelmuller R., Grossman A.R., Briggs W.R. Role of protein synthesis in regulation of phycobiliprotein mRNA abundance by light quality in *fremyella diplosiphon* // *Plant Physiol.* – 1989. – **90**, N 4. – P. 1486-1491.
- Peschek G.A., Obinger C., Paumann M. The respiratory chain of blue gree-algae (Cyanobacteria) // *Physiol. Plant.* – 2004. – **120**. – P. 358-369.
- Shyam R., Raghavendra A.S., Sane P.V. Role of dark respiration in photoinhibition of photosynthesis and its reactivation in the cyanobacterium *Anacystis nidulans* // *Ibid.* – 1993. – **88**. – P. 446-452.
- Steinmueller K., Zetsche K. Photo- and metabolite regulation of the synthesis of ribulose bisphosphate carboxylase / oxygenase and the PBP in the alga *Cyanidium caldarium* // *Plant Physiol.* – 1984. – **76**, N 4. – P. 935-939.

Получена 10.08.06

Подписал в печать А.И. Божков