

УДК 581.131

## ХАРАКТЕРИСТИКА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО ВЫДЕЛЕНИЯ КИСЛОРОДА *SPIRULINA PLANTENSIS* (GOM) GEITL

Х. А. ШАРЕНКОВА, В. Е. СЕМЕНЕНКО

Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева  
Академии наук СССР, Москва

Изучена зависимость фотосинтетического выделения кислорода и к. п. д. фотосинтетического преобразования световой энергии у *Spirulina platensis* (GOM) Geitl. от интенсивности света и pH среды. Показано, что насыщающие интенсивности света находятся в области  $100-150 \cdot 10^3$  эрг/см<sup>2</sup>·с и плато световой кривой выделения O<sub>2</sub> продолжается без снижения до  $550 \cdot 10^3$  эрг/см<sup>2</sup>·с. Компенсационная точка фотосинтеза находится в области освещенности  $3 \cdot 10^3$  эрг/см<sup>2</sup>·с, а темновое дыхание примерно равно 6% от максимального фотосинтеза. Максимальные значения к. п. д. на линейном участке световой кривой составляют около 10%, снижаясь при  $550 \cdot 10^3$  эрг/см<sup>2</sup>·с до 1,8% от поглощенного света. Оптимальные значения pH для фотосинтетического выделения кислорода — 8,5—9,5. Полученные результаты характеризуют большую потенциальную продуктивность фотосинтетического аппарата изученной культуры. Обсуждаются особенности углекислотного питания *Sp. platensis* при высоких щелочных значениях pH.

*Spirulina platensis* (GOM) Geitl — фотосинтетическое выделение кислорода — к. п. д. фотосинтеза — световые кривые — влияние pH среды.

Синезеленая водоросль *Spirulina* привлекает внимание многих исследователей как объект массовой промышленной культуры [1—3]. Детально изучаются физиология и биохимия этого организма, зависимость роста культуры от напряженности различных внешних факторов и их сочетаний и др. [3—6].

Вместе с тем, если ростовые и продукционные характеристики *Spirulina* изучены достаточно всесторонне и полно [3, 5], то свойства ее фотосинтетического аппарата, в частности фотосинтетическое выделение кислорода, и особенности углеродного питания остаются недостаточно изученными. Единственная работа, в которой эти вопросы изучались, — работа Заррука [4]. Автором были изучены концентрации бикарбоната и pH среды на выделение кислорода культурой *Spirulina*. Однако исследования эти были выполнены на *Spirulina maxima*, в то время как широкое распространение в различных лабораториях получили культуры *Spirulina platensis*. Кроме того, остается неизученным характер световых кривых фотосинтетического выделения кислорода в достаточно широком диапазоне освещенностей, что важно для выяснения потенциальной фотосинтетической продуктивности, энергетической эффективности фотосинтеза спирулины, фотостойчивости ее фотосинтетического аппарата. Особенно интересным представляется изучение указанных характеристик при разных значениях pH, имея в виду специфическую особенность спирулины, как организма, жизнедеятельность которого протекает при высоких щелочных значениях pH, что, естественно, осложняет условия CO<sub>2</sub>-питания фотосинтезирующих клеток.

Целью данной работы было изучение перечисленных вопросов.

### МЕТОДИКА

Объектом исследования служила альгологически чистая культура *Spirulina platensis* (GOM) Geitl. из коллекции водорослей Болгарской АН и ИФР АН СССР.

Выращивание водорослей проводили в условиях накопительной культуры при круглосуточном освещении и непрерывном барботировании газовой смеси с 1,7% CO<sub>2</sub> [7] в стеклянных культуральных сосудах с плоскопараллельными стенками [8] при толщине слоя суспензии 20 мм. Освещенность культуры при выращивании — 50·10<sup>3</sup> эрг/см<sup>2</sup>·с (люминесцентные лампы ЛДЦ-65); температура 35°. В качестве питательной среды использовали среду Заррука [4] следующего состава (г/л): NaHCO<sub>3</sub> — 16,8; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> — 0,5; NaNO<sub>3</sub> — 2,5; K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> — 1,0; NaCl — 1,0; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O — 0,2; CaCl<sub>2</sub> — 0,04; FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O — 0,01; EDTA — 0,08; раствор микроэлементов по Арноу; pH 8,8—9,0.

Скорость роста культуры и ее фотосинтетическую продуктивность учитывали по изменению оптической плотности суспензии и по накоплению сухой биомассы.

Интенсивность фотосинтеза и световые кривые фотосинтетического выделения кислорода определяли амперометрическим методом с помощью платиносеребряного электрода в специальной ячейке по открытой схеме [9] при непрерывном барботировании культуры газовой смесью с 1,7% CO<sub>2</sub> и при температуре 35°, т. е. в тех же условиях, при которых проводилось выращивание культур. Освещение культуры при измерении скорости фотосинтетического выделения кислорода осуществляли с помощью лабораторного спектрального облучателя (ЛОС-2м, производство СКБ БИ АН СССР) с 1000-ваттной ксеноновой лампой. Культуру освещали белым светом (400—700 нм). Интенсивность света изменяли с помощью нейтральных светофильтров. Для измерений интенсивности и световых кривых фотосинтеза использовали культуру на линейной стадии ее роста. Перед измерением фотосинтеза суспензию водорослей разбавляли свежей питательной средой до оптической плотности 0,5 D.

При изучении влияния pH на фотосинтетическое выделение кислорода pH культуры изменяли добавлением KOH или HCl и поддерживали на соответствующих значениях в течение всего периода измерения фотосинтеза.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Общая характеристика фотосинтетического выделения кислорода и к. п. д. фотосинтеза *Sp. platensis*

На рис. 1 представлены результаты измерений зависимости фотосинтетического выделения кислорода *Sp. platensis* от интенсивности света в достаточно широком диапазоне освещенностей: от 10·10<sup>3</sup> до 550·10<sup>3</sup> эрг/см<sup>2</sup>·с. Характер полученной зависимости описывается, как видно из рисунка (кривая 1), типичной световой кривой с насыщением.

Полунасыщающая интенсивность света равна 35·10<sup>3</sup> эрг/см<sup>2</sup>·с, насыщающая находится в области 100—150·10<sup>3</sup> эрг/см<sup>2</sup>·с. Важно отметить при этом, что интенсивность фотосинтетического выделения кислорода остается после выхода на плато на постоянном уровне вплоть до 550·10<sup>3</sup> эрг/см<sup>2</sup>·с. Это свидетельствует о достаточно высокой фотостойчивости фотосинтетического аппарата этой культуры, тем более что оптическая плотность суспензии устанавливалась нами при измерении фотосинтеза на уровне 0,5 D в зеленой области спектра и интегральное поглощение (в диапазоне 400—700 нм) составляло величину порядка 85—90%.

Компенсационная точка фотосинтеза *Sp. platensis* равна, как видно из рис. 1, 3·10<sup>3</sup> эрг/см<sup>2</sup>·с, а темновое дыхание составляет около 6% от максимального фотосинтеза.

Абсолютные значения максимальной интенсивности фотосинтетического выделения кислорода составляют 8 мг/г сухой массы в минуту или 8 л кислорода на 1 г биомассы в сутки, что соответствует приросту примерно 8 г сухой биомассы на 1 г в сутки.

Важной характеристикой фотосинтетического аппарата клетки и популяции водорослей как фотосинтезирующей системы является эффективность (к. п. д.) преобразования световой энергии при фотосинтезе. Расчет к. п. д. ( $\eta$ ) был проведен, исходя из соотношения запасенной ( $Q_s$ ) и поглощенной ( $Q_n$ ) энергии:

$$\eta = \frac{Q_s}{Q_n} \cdot 100\%$$

Поглощенную энергию рассчитывали из значений падающей интенсив-

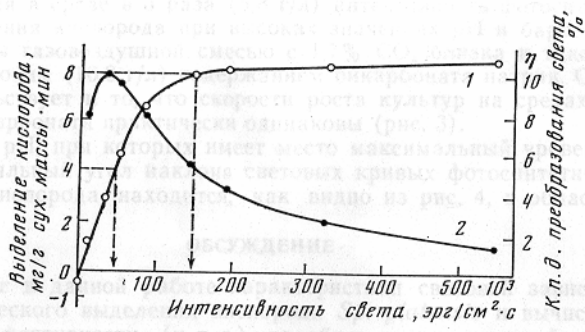


Рис. 1. Характеристика световой зависимости фотосинтетического выделения кислорода и к. п. д. преобразования энергии света у *Spirulina platensis* 1 — выделение кислорода; 2 — к. п. д. преобразования света. Оптическая плотность культуры 0,5 D. Плотность биомассы 0,25 мг/мл абсолютно сухого вещества. Концентрация CO<sub>2</sub> в барботируемой газовой смеси 1,7%

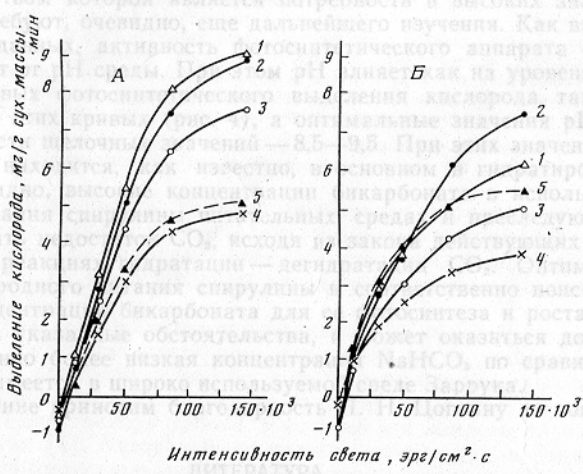


Рис. 2. Зависимость фотосинтетического выделения кислорода *Spirulina platensis* от интенсивности света, pH среды и концентрации бикарбоната  
 А. Концентрация бикарбоната натрия 16,8 г/л, pH среды: 1—8,8; 2—9,8; 3—7,7; 4—6,8; 5—6,8. 1—4 — барботирование газовой смеси с 1,7% CO<sub>2</sub>; 5 — барботирование воздухом с 0,03 CO<sub>2</sub>. В. Концентрация бикарбоната натрия 5,8 г/л, pH среды: 1—8,5; 2—9,5; 3—7,5; 4—6,5; 5—10,5. 1—5 — барботирование газовой смеси с 1,7% CO<sub>2</sub>. Оптическая плотность культур 0,5 D

ности света и оптической плотности суспензии. Запасенную энергию — исходя из полученных значений интенсивности выделения кислорода и суммарного уравнения фотосинтеза  $CO_2 + H_2O \rightarrow (CH_2O) + O_2 + 112 \text{ ккал}$ , учитывая то, что фотосинтетический коэффициент  $K_{\phi} = \Delta O_2 / \Delta CO_2$  был найден Зарруком [4] для *Sp. maxima* равным 1.

Величина к. п. д. фотосинтеза, как видно из рис. 1 (кривая 2), изменяется в зависимости от интенсивности света и описывается типичной кривой с максимумом. Наибольшее значение к. п. д. на линейном участке световой кривой фотосинтеза в области полунасыщающей интенсивности света составляет около 10%. При насыщающей интенсивности света в области выхода световой кривой фотосинтетического выделения кислорода на плато ( $150 \cdot 10^3 \text{ эрг/см}^2 \cdot \text{с}$ ) к. п. д. равен 5—5,5%, а в конце плато световой кривой (при  $550 \cdot 10^3 \text{ эрг/см}^2 \cdot \text{с}$ ) — 1,8%.

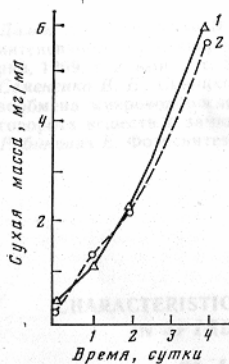


Рис. 3

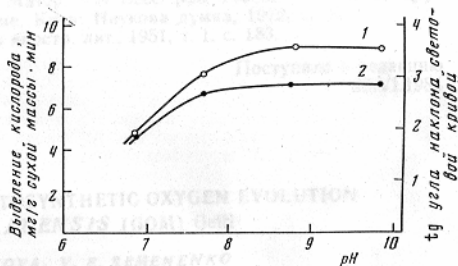


Рис. 4

Рис. 3. Сравнительная характеристика роста *Spirulina platensis* на среде Заррука с разными концентрациями бикарбоната натрия  
Концентрация  $\text{NaHCO}_3$ : 1—16,8 г/л, 2—5,72 г/л

Рис. 4. Зависимость уровня плато и угла наклона световых кривых фотосинтетического выделения кислорода *Spirulina platensis* от pH среды  
1 — уровень плато световых кривых, 2 — угол наклона световых кривых

Полученные параметры фотосинтетического выделения кислорода и к. п. д. преобразования световой энергии характеризуют фотосинтетический аппарат *Sp. platensis* как свойственный достаточно светолюбивым организмам, обладающим высокой активностью и эффективным преобразованием световой энергии.

#### Зависимость фотосинтетического выделения кислорода *Sp. platensis* от pH среды

Представленные выше световые кривые фотосинтеза *Sp. platensis* были получены на полной среде Заррука. В состав этой среды входит (см. Методику) в чрезвычайно высокой концентрации бикарбонат натрия (16,8 г/л), и pH ее равен 9,5. При таком pH доля свободной  $\text{CO}_2$  в растворе составляет, как известно [10], всего лишь 0,02% от суммарного содержания углерода. Однако по абсолютному значению эта доля свободной  $\text{CO}_2$  составляет значительную и достаточную для фотосинтеза величину при той высокой концентрации бикарбоната, которая имеется в среде. Возможно, этим и обусловлены такие концентрации бикарбоната в рекомендованной среде, если экологическим требованием данной культуры является высокое значение pH среды обитания.

В связи с этим представляло интерес изучить зависимость функциональной активности фотосинтетического аппарата *Sp. platensis* от pH среды. Вопрос этот ранее исследовался Зарруком [4], однако на другом виде спирулины (*Sp. maxima*).

Как видно из рис. 2, на котором представлены изменения хода световых кривых выделения кислорода при разных значениях pH, плато и угол наклона этих кривых уменьшается с уменьшением pH. При этом в области pH 6,8 (рис. 2, А) интенсивность фотосинтетического выделения кислорода составляет примерно 50% от максимального значения и не зависит от того, барботируется ли культура газовой смесью с 1,7%  $\text{CO}_2$  или воздухом (0,03%  $\text{CO}_2$ ). Все это, по-видимому, свидетельствует о том, что ведущим экологическим фактором для *Sp. platensis* является именно значение pH, а не концентрация бикарбоната. Действительно, как видно из рис. 2, Б, при снижении концентрации бикар-

боната натрия в среде в 3 раза (5,8 г/л) интенсивность фотосинтетического выделения кислорода при высоких значениях рН и барботирования культуры газовой смесью с 1,7%  $\text{CO}_2$  близка к таковой на средах с высоким (16,8 г/л) содержанием бикарбоната натрия. Об этом же свидетельствует и то, что скорости роста культур на средах с 16,8 и 5,7 г/л бикарбоната практически одинаковы (рис. 3).

Значения рН, при которых имеет место максимальный уровень плато и максимальный угол наклона световых кривых фотосинтетического выделения кислорода, находится, как видно из рис. 4, в области рН 8,5—9,5.

#### ОБСУЖДЕНИЕ

Найденные в данной работе характеристики световой зависимости фотосинтетического выделения кислорода *Sp. platensis* и вычисленные значения эффективности (к.п.д.) преобразования световой энергии близки к таковым для продуктивных культур протококковых водорослей, чем и определяется эффективность использования спирулины, как объекта массовой культуры.

Вместе с тем условия углеродного питания этой культуры, специфическим свойством которой является потребность в высоких значениях рН среды, требуют, очевидно, еще дальнейшего изучения. Как видно из полученных данных, активность фотосинтетического аппарата существенно зависит от рН среды. При этом рН влияет как на уровень плато световых кривых фотосинтетического выделения кислорода, так и на угол наклона этих кривых (рис. 4), а оптимальные значения рН находятся в области щелочных значений — 8,5—9,5. При этих значениях рН углекислота находится, как известно, в основном в гидратированной форме. Очевидно, высокие концентрации бикарбоната в используемых для выращивания спирулины питательных средах и преследуют цель компенсировать недостаток  $\text{CO}_2$ , исходя из закона действующих масс в равновесных реакциях гидратации — дегидратации  $\text{CO}_2$ . Оптимизация условий углеродного питания спирулины и соответственно поиск оптимальных концентраций бикарбоната для ее фотосинтеза и роста должны учитывать указанные обстоятельства, и может оказаться достаточной существенно более низкая концентрация  $\text{NaHCO}_3$  по сравнению с той, которая имеется в широко используемой среде Заррука.

В заключение приносим благодарность Л. Н. Цоглину за помощь в работе.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Glément G. Etude d'une culture d'algues en vue d'une production a grande echelle.— В кн.: Матер. VI координац. совещ. и научн. симп. по теме VI-5.5 СЭВ, 7—11 октября 1968 г. Варна.
2. Пиневиц В. В., Верзилин Н. Н., Михайлов А. А. Изучение *Spirulina platensis* — нового объекта для интенсивного культивирования.— Физиол. растений, 1970, т. 17, вып. 5, с. 1037.
3. Шаренкова Х. А. Физиолого-биохимична характеристика на синьо-зеленото водорасло *Spirulina platensis* (GOM) Geitl. при интензивно культивиране: Автореф. на соискание уч. ст. канд. биол. наук. София: Ин-т микробиол. БАН, 1977. 40 с.
4. Zarrouk C. Contribution à l'étude d'une cyanophycée influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de *Spirulina maxima* (setch et Gardner) Geitler.— In: Theses présentées à la faculté des sciences de l'université de Paris, 1966. 85 p.
5. Михайлов А. А., Верзилин Н. Н., Пиневиц В. В., Шаренкова Х. А. Влияние температурных и световых условий культивирования на продуктивность *Spirulina platensis* (GOM) Gutl.— В кн.: Научн. докл. высшей школы. Биол. науки. М.: Высшая школа, 1972, № 2, с. 67.
6. Шаренкова Х. Влияние температуры на фотосинтетическую продуктивность *Spirulina platensis* (GOM) Geitl.— В кн.: Фотосинтетическая ассимиляция  $\text{CO}_2$  и фотодыхание. София: Изд-во БАН, 1979, с. 171.
7. Владимировна М. Г., Семененко В. Е. Интенсивная культура одноклеточных водорослей. М.: Изд-во АН СССР, 1962. 58 с.

8. Дилов Хр., Семененко В. Е., Георгиев Д., Шаренкова Х., Стаев С. Сооружение для интенсивного культивирования микроводорослей.— Докл. Акад. с.-х. наук в Болгарии, 1969, т. 2, вып. 3, с. 201.
9. Семененко В. Е., Синицкий И. Г., Цоглин Л. Н. Установка для изучения  $\text{CO}_2$ — $\text{O}_2$ -газообмена микроводорослей.— В кн.: Матер. VII Всес. раб. совещ. по вопросу круговорота веществ в замкнутой системе. Киев: Наукова думка, 1972, с. 26.
10. Рабинович Е. Фотосинтез. М.: Изд-во иностр. лит., 1951, т. 1, с. 183.

Поступила в редакцию  
20.VI.1981

## CHARACTERISTICS OF PHOTOSYNTHETIC OXYGEN EVOLUTION IN *SPIRULINA PLATENSIS* (GOM) Geitl

kh. A. SHARENKOVA, V. E. SEMENENKO

K. A. Timiriazev Institute of Plant Physiology,  
Academy of Sciences of the USSR, Moscow

Oxygen evolution and the efficiency of photosynthetic transformation of light energy in *Sp. platensis* was studied in relation to light intensity and pH of the medium. It was demonstrated that saturating light intensities for photosynthesis ranged from 100 to  $150 \cdot 10^3$  erg·cm<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> and the plateau of the light curve of  $\text{O}_2$  evolution extended unchanged up to  $550 \cdot 10^3$  erg·cm<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>. The compensating point of photosynthesis is situated within the illumination of  $3 \cdot 10^3$  erg·cm<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>, and the dark respiration constituted about 6% of maximal photosynthesis. The maximal efficiency of the linear part of the light curve was about 10% of the light absorbed and it declined down to 1.8% at  $550 \cdot 10^3$  erg·cm<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>. The optimum pH for photosynthetic oxygen evolution was 8.5—9.5. The results obtained provide evidence for a high potential productivity of photosynthetic apparatus in the culture studied. Some features of  $\text{CO}_2$  nutrition in *Sp. platensis* at alkaline pH were discussed.

Получены кривые интенсивности выделенного кислорода в зависимости от интенсивности света в области  $10^3$ — $10^5$  эрг·см<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>. Показано, что насыщение фотосинтеза происходит в области  $100$ — $150 \cdot 10^3$  эрг·см<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>. Плато фотосинтеза сохраняется неизменно вплоть до  $550 \cdot 10^3$  эрг·см<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>. Точка компенсации фотосинтеза находится в области интенсивности света  $3 \cdot 10^3$  эрг·см<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>, а темновая дыхание составляет около 6% от максимальной фотосинтеза. Максимальная эффективность линейной части кривой фотосинтеза составляет около 10% от поглощенного света и снижается до 1,8% при  $550 \cdot 10^3$  эрг·см<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>. Оптимальный pH для фотосинтеза кислорода составляет 8,5—9,5. Результаты исследования свидетельствуют о высокой потенциальной продуктивности фотосинтетического аппарата культуры в исследованном состоянии. Обсуждаются некоторые особенности питания  $\text{CO}_2$  в *Sp. platensis* при щелочном pH.

Кривые зависимости интенсивности выделенного кислорода от интенсивности света в области  $10^3$ — $10^5$  эрг·см<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup> получены для культуры *Sp. platensis* Geitl. Показано, что насыщение фотосинтеза происходит в области  $100$ — $150 \cdot 10^3$  эрг·см<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>. Плато фотосинтеза сохраняется неизменно вплоть до  $550 \cdot 10^3$  эрг·см<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>. Точка компенсации фотосинтеза находится в области интенсивности света  $3 \cdot 10^3$  эрг·см<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>, а темновая дыхание составляет около 6% от максимальной фотосинтеза.

Максимальная эффективность линейной части кривой фотосинтеза составляет около 10% от поглощенного света и снижается до 1,8% при  $550 \cdot 10^3$  эрг·см<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>. Оптимальный pH для фотосинтеза кислорода составляет 8,5—9,5. Результаты исследования свидетельствуют о высокой потенциальной продуктивности фотосинтетического аппарата культуры в исследованном состоянии.

Обсуждаются некоторые особенности питания  $\text{CO}_2$  в *Sp. platensis* при щелочном pH. Показано, что насыщение фотосинтеза происходит в области  $100$ — $150 \cdot 10^3$  эрг·см<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>. Плато фотосинтеза сохраняется неизменно вплоть до  $550 \cdot 10^3$  эрг·см<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>. Точка компенсации фотосинтеза находится в области интенсивности света  $3 \cdot 10^3$  эрг·см<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>, а темновая дыхание составляет около 6% от максимальной фотосинтеза.