

ВЛИЯНИЕ ДЕФИЦИТА АЗОТА НА РОСТ И СОСТОЯНИЕ

фотосинтетического аппарата зелёной водоросли *Chlamydomonas reinhardtii*

Рассмотрено влияние дефицита азота на ультраструктуру клеток, прирост численности и биомассы, пигментный состав и эффективность первичных процессов фотосинтеза *Chlamydomonas reinhardtii*. Обсуждаются возможные механизмы влияния дефицита азота на состояние фотосинтетического аппарата *Chlamydomonas reinhardtii*: изменение относительного квантового выхода флуоресценции, нефотохимического тушения и эффективного сечения поглощения фотосистемы II. Результаты могут быть полезны для интерпретации данных биомониторинга природной воды и в биотехнологии.

Введение

В природных условиях фитопланктон часто испытывает дефицит азота, успешная адаптация к которому определяет исход конкуренции между видами микроводорослей. Определение влияния дефицита азота на фотосинтез и рост микроводорослей позволит контролировать состояние фитопланктонного сообщества и прогнозировать его развитие, что имеет важное прикладное значение для интерпретации данных экологического мониторинга природных вод, процессов водоподготовки и водоочистки на производстве и получения целевого продукта из биомассы микроводорослей в биотехнологии.

Выделяют общие признаки дефицита азота для разных по систематическому положению фотосинтезирующих организмов: снижение количества хлорофилла [1-8]; нарушение синтеза белка [9-12]; переключение метаболизма на накопление запасных веществ в форме углеводов или липидов [13-15]; редукция фотосинтетического аппарата (ФСА) до некоторого минимума, способного обеспечить клетку необходимыми количествами АТФ и восстановительных эквивален-

тов [4, 7, 15-22]. Важно отметить, что специфической реакцией растительного организма в ответ на дефицит азота является хлороз – процесс снижения содержания хлорофилла клеткой за счёт его использования в качестве источника азота [23]. Остальные вышеуказанные изменения наблюдаются также в культурах водорослей в условиях дефицита других важных элементов питания, таких как сера или фосфор [24]. Хлорофилл «а» является компонентом как коровых комплексов реакционных центров (РЦ), так и периферической антенны обеих фотосистем (ФС), тогда как хлорофилл «b» – компонент преимущественно светособирающей антенны [5].

Деление и рост останавливается у голодающих клеток водорослей *Synechococcus* PCC 7942 [3], *Galdieria sulphuraria* [6], *Euglena gracilis* [9]. Однако у некоторых штаммов *Chlorella* интенсивность деления голодающих клеток увеличивается [14]. Обнаружена корреляция между ростом, размерами и структурной организацией голодающих клеток *Chlorella* [12-14]. Так, у некоторых штаммов *Chlorella* при культивировании в среде без азота метаболизм переключается на накопление липидов; вместе с тем, деление клеток либо замедляется, либо прекращается, размеры клеток увеличиваются, в структуре клеток появляется контрастная грануляция их содержимого [13]. С другой стороны, у *Thalassiosira weissflogii* и *Dunaliella tertiolecta* [16] и ряда штаммов *Chlorella* [13] при культивировании в среде без азота метаболизм переключается на накопление углеводов, вместе с тем, деление клеток ускоряется, клетки уменьшаются в размерах, в их структуре возникают включения в виде отдельных глобул. Найденные изменения

А.В. Кузнецова*,
аспирант кафедры
биофизики
биологического
факультета, ФГОУ
ВПО Московский
государственный
университет
им. М.В. Ломоносова

С.И. Погосян,
доктор биологических
наук, профессор
кафедры биофизики,
ФГОУ ВПО
Московский
государственный
университет
им. М.В. Ломоносова

* Адрес для корреспонденции: alya_kuznetsova@mail.ru

не коррелируют ни с таксономией, ни с продуктивностью культур микроводорослей в нормальных условиях.

Потребности в продуктах фотосинтеза в голодающей растительной клетке уменьшаются, и тилакоидные мембраны хлоропластов подвергаются разборке [7, 11, 15, 19]. По мнению некоторых авторов, разборка ФСА связана с метаболической репрессией синтеза белков в хлоропласте, вызванной избыточным накоплением продуктов фиксации углерода при дефиците азота. Этому предшествует снижение квантового выхода фотосинтеза и накопление неактивных РЦ ФС II [21]. Доля функционирующих РЦ значительно снижена, что проявляется в уменьшении скорости фотоиндуцированного транспорта электронов [21, 22] и в возрастании квантового выхода флуоресценции [17-22].

Следует отметить, что активность ферментных систем, обеспечивающих метаболизм азота, меняется в зависимости от условий культивирования водорослей. Вследствие этого изменения состава среды культивирования могут приводить к значительным адаптационным перестройкам ферментных систем метаболизма азота.

Несмотря на большое количество исследований по влиянию дефицита азота на ФСА в настоящее время остаётся неясным, какие функциональные изменения ФСА происходят в процессе адаптации микроводорослей к условиям дефицита азота и как влияет содержание азота в исходной среде культивирования на рост клеток водорослей и состояние их ФСА при наступлении дефицита. В связи с этим в данной работе были проведены исследования влияния дефицита азота на рост и состояние ФСА зелёных водорослей *Chlamydomonas reinhardtii*.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования являлись альгологически чистые культуры пресноводной одноклеточной зелёной водоросли *Chlamydomonas reinhardtii*, выращенные при 25 °С в питательной среде «Sueoka's high salt» [25] с различным содержанием азота. Культуры сначала выращивали в полной питательной среде, содержащей 100 мг/л аммонийного азота, затем пересаживали в среды с концентрациями азота 50, 25 и 10 мг/л. Культивирование осуществляли при интенсивности света 100 мкмоль·квантов·м⁻²·с⁻¹ в режиме 12/12. Интенсивность света измеряли с помощью радиометра Newport 1815C (Newport, США).

Микрофотографии клеток водорослей *C.*

Е.Н. Воронова,
кандидат биологических наук, доцент кафедры биофизики, ФГОУ ВПО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

И.В. Конохов,
кандидат биологических наук, научный сотрудник кафедры биофизики, ФГОУ ВПО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

А.Б. Рубин,
член-корреспондент РАН, доктор биологических наук, заведующий кафедрой биофизики биологического факультета, ФГОУ ВПО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

reinhardtii делали на микроскопе AxioPlan 2 imaging (Carl Zeiss Микроскопия, Германия). Размер клетки определяли в программе Axiovision 3. Количество клеток определяли методом прямого счёта в камере Горяева. Биомассу рассчитывали по формуле: $V = N \cdot V$, где N – численность клеток, V – объём клетки.

Поглощательную способность клетки оценивали по изменению соотношения S/V , где S – площадь поверхности клетки, V – объём клетки.

Спектры поглощения экстрактов клеточных пигментов измеряли в 96 % спиртовом растворе в диапазоне длин волн от 350 нм до 850 нм на однолучевом спектрофотометре с интегрирующей сферой на базе спектрометра USB2000 (Ocean Optics, США). Стандартная ошибка спектрофотометрического определения при оптической плотности $OD=1$ и с длиной оптического пути $l=1$ составляет не более 0,005 единиц.

Содержание хлорофиллов «a» и «b» рассчитывали по формулам [26]:

$$C_{ХЛ_{«a»}} \text{ (мг/л)} = 13,7 \cdot OD_{665} - 5,76 \cdot OD_{649};$$

$C_{ХЛ_{«b»}} \text{ (мг/л)} = 25,8 \cdot OD_{649} - 7,6 \cdot OD_{665}$, где OD_{649} и OD_{665} – оптическая плотность экстрактов клеточных пигментов на длине волны $\lambda=649$ нм и $\lambda=665$ нм, соответственно. Содержание каротиноидов рассчитывали по формуле [27]:

$$C_{CAR} \text{ (мг/л)} = 4,695 \cdot OD_{440,5} - 0,268(C_{ХЛ_{«a+b»}}),$$
 где $OD_{440,5}$ – оптическая плотность экстрактов клеточных пигментов на длине волны $\lambda=440,5$ нм.

Концентрацию аммонийного азота рассчитывали по уравнению калибровочной кривой: $CN = (OD_{648} - 0,0015)/0,1898$, где OD_{648} – оптическая плотность индофенольного раствора в пробе на длине волны $\lambda=648$ нм. В щелочной среде аммиак при взаимодействии с фенолом в присутствии окислителя – гипохлорита натрия – образует продукт синего цвета, называемый «индофенольная синь» [28].



Параметры флуоресценции хлорофилла регистрировали с помощью флуориметра, разработанного на кафедре биофизики биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова [29] в соответствии с методикой [30]. Статистическая обработка результатов измерений проводилась автоматически в специальной компьютерной программе «МЕГА-25».

Фотохимический квантовый выход ФС II ϕ , или относительную переменную флуоресценцию F_v/F_m , рассчитывали по формуле:

$\phi = F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$, где F_o – интенсивность флуоресценции при открытых РЦ ФС II, F_m – интенсивность флуоресценции при закрытых реакционных центрах фотосистемы II (РЦ ФС II) в максимуме кривой индукции флуоресценции хлорофилла, измеряемой при интенсивности возбуждающего света $4000 \text{ мкмоль} \cdot \text{квантов} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ на длине волны 455 нм после адаптации пробы в темноте. Относительные квантовые выходы флуоресценции в условиях открытых и закрытых РЦ ФС II рассчитывали по соотношениям F_o/OD_{677} и F_m/OD_{677} , соответственно, где OD_{677} – оптическая плотность суспензии водорослей на длине волны $\lambda=677$.

Нефотохимическое тушение определяли по параметру:

$NPQ = F_m/F_m' - 1$, где F_m' – интенсивность флуоресценции в максимуме индукционной кривой, измеренной при $4000 \text{ мкмоль} \cdot \text{кв} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ ($\lambda=455 \text{ нм}$) после 10-ти минутной адаптации к постоянному свету ($40 \text{ мкмоль} \cdot \text{кв} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$).

Эффективность первичных процессов фотосинтеза (ППФ) оценивали по величине F_v/F_m . Снижение этого параметра обычно связывают с повреждением комплексов ФС II в результате действия различных стрессов, таких как недостаток минеральных веществ [15, 24, 31], температурный [32, 33] и световой шок [34], действие токсикантов [35-38]. Из зарегистрированной кривой индукции флуоресценции рассчитывали функцию $X_{\text{эксII}}(t)$:

$$X_{\text{эксII}}(t) = \frac{F_{\text{эксII}}(t) - F_o}{F_{\text{эксII}}(t)} \cdot \frac{F_m}{F_m - F_o},$$

Ключевые слова:

хлорофилл, фотосинтетический аппарат, эффективность фотосинтеза, дефицит азота, хламидомонас

которая в приближении многоцентровых фотосинтетических единиц дает долю закрытых к моменту времени t реакционных центров ФС II [39]. Функцию $X_{\text{эксII}}(t)$ анализировали путем аппроксимации суммой 3-х экспоненциальных компонент, обозначенной $X(t)$. Каждая из этих компонент характеризуется вкладом в кинетику перехода РЦ в закрытое состояние A_i и характеристическим временем τ_i :

$$X(t) = 1 - \left(A_1 \cdot e^{-\frac{t}{\tau_1}} + A_2 \cdot e^{-\frac{t}{\tau_2}} + A_3 \cdot e^{-\frac{t}{\tau_3}} \right)$$

где $A_1, A_2, A_3 = 1$ и $0 < \tau_1 < \tau_2 < \tau_3$.

Эффективное сечение поглощения пигментов светособирающей антенны, приходящейся на один РЦ ФС II (σ_{PSII}), рассчитывали по формуле [40]:

$$\sigma_{\text{PSII}} = \frac{1/\tau_1}{\phi \cdot I_0 \cdot N_A}$$

где I_0 – интенсивность возбуждающего света при измерении индукционной кривой; N_A – число Авогадро.

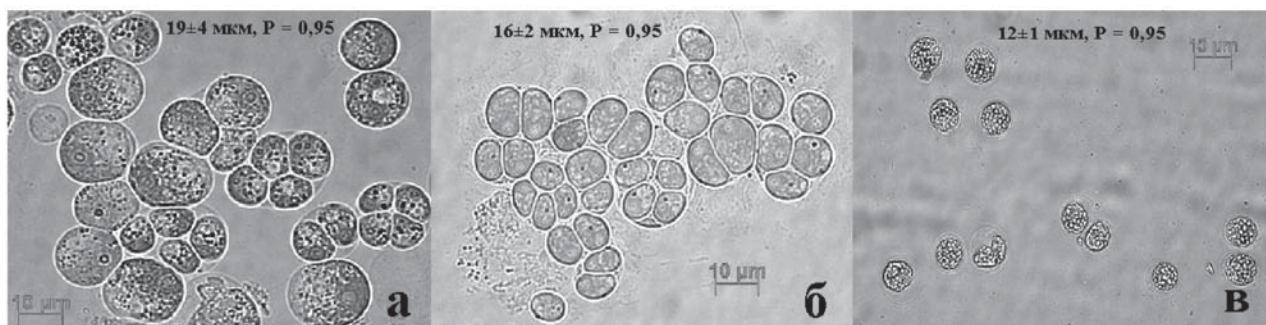
Все опыты выполнены с не менее чем трёхкратной повторностью для каждого измерения.

Результаты и их обсуждение

Дефицит азота возникает в процессе роста водорослей *C. reinhardtii* после исчерпания этого субстрата из среды культивирования. Визуально наступление дефицита азота в клетках *C. reinhardtii* можно обнаружить по изменению зелёной окраски суспензии водорослей на жёлтую. При изучении клеток под микроскопом оказалось, что дефицит азота вызывает определённые морфологические изменения. На *рис. 1* приведены микрофотографии клеток водорослей *C. reinhardtii*, которые куль-

↓ **Рис. 1.** Микрофотографии клеток *C. reinhardtii*, которые культивировали в питательных средах с разной концентрацией азота: а – 50 мг/л; б – 25 мг/л; в – 10 мг/л.

Примечание: размеры клеток приведены со стандартными отклонениями.



тивировали в питательных средах с разными концентрациями азота. В суспензии водорослей, которые испытывают дефицит азота, часто встречались разрушенные клеточные оболочки. Клетки *C. reinhardtii*, сохранившие целостную структуру в условиях дефицита азота, как правило, теряли зелёный цвет, уменьшались в размерах, их структура становилась зернистой (рис. 1 в) по сравнению с клетками, растущими в условиях с достаточным количеством азота (рис. 1 а, б). Размеры клеток *C. reinhardtii* в условиях дефицита азота уменьшились с 19 до 12 мкм, а биомасса снизилась с $3 \cdot 10^{-2}$ до $0,35 \cdot 10^{-2}$ г·см⁻³. Рассчитанное соотношение S/V отличалось в культурах, выращенных в средах с разными исходными концентрациями азота: при $C_N = 50$ мг/л – 0,15; $C_N = 25$ мг/л – 0,2; $C_N = 10$ мг/л – 0,25.

Из рис.2 видно, что относительно высокий прирост численности наблюдался при культивировании *C. reinhardtii* в среде с исходной концентрацией азота 10 мг/л, относительно низкий – с концентрациями азота 25 и 50 мг/л.

На рис. 3 видно, как изменялись спектры поглощения экстрактов клеточных пигментов на 6, 12 и 38 сут культивирования водорослей *C. reinhardtii* в среде с исходной концентрацией азота 10 мг/л.

Азот был полностью поглощён из среды клетками *C. reinhardtii* за 12 сут от начала

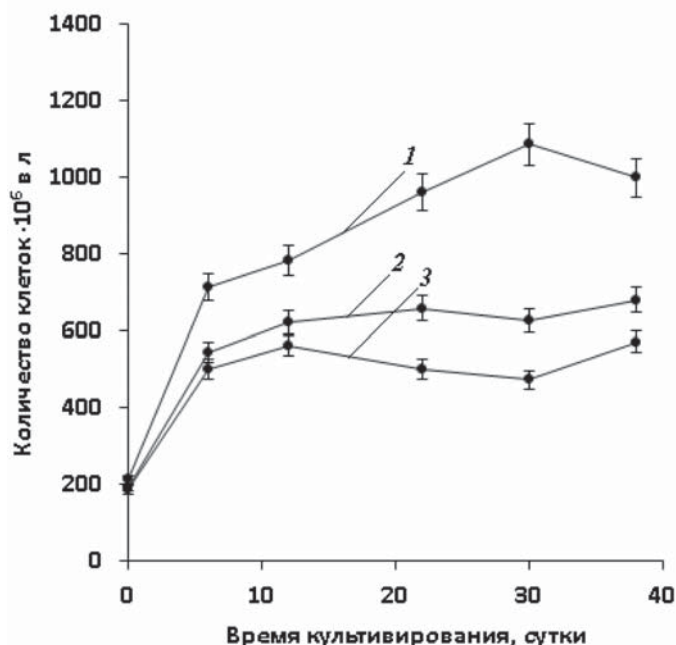


Рис. 2. Изменение численности клеток *C. reinhardtii* в процессе культивирования водорослей в питательных средах с разной концентрацией аммонийного азота: 1 – 10 мг/л; 2 – 25 мг/л; 3 – 50 мг/л.

Примечание: на кривых обозначены планки погрешностей с относительными ошибками.

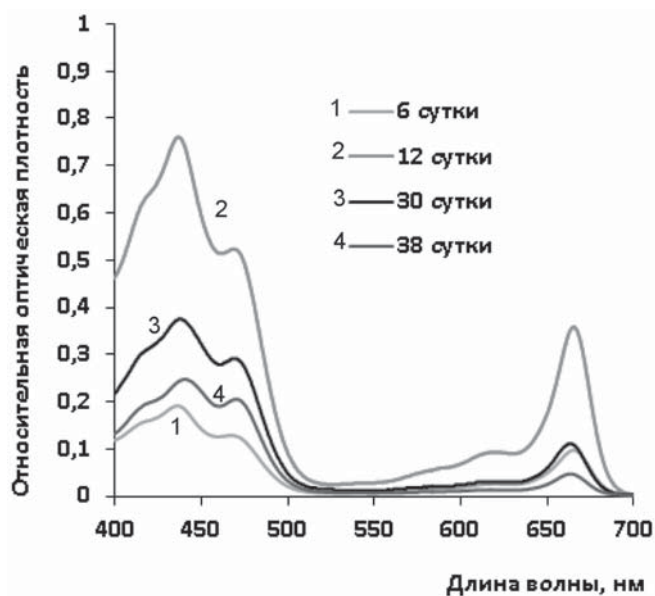


Рис. 3. Изменение спектров поглощения экстрактов клеточных пигментов по ходу культивирования водорослей *C. reinhardtii* в среде с исходной концентрацией азота 10 мг/л.

культивирования (табл. 1). С 6 по 12 сут содержание хлорофиллов и каротиноидов в клетках *C. reinhardtii* увеличилось. С 12 по 38 сут содержание хлорофиллов и каротиноидов снижалось, но соотношение КАР/ХЛ«а» увеличивалось. Соотношение ХЛ«а»/ХЛ«б» практически не менялось в течение 38 сут культивирования (табл. 1).

Fv/Fm в клетках *C. reinhardtii* снизилось с 0,7 до 0,46 в условиях дефицита азота в период с 12 по 38 сут культивирования (рис. 4). В этих условиях также снизилось NPQ. При культивировании в средах с концентрациями азота 25 и 50 мг/л значения Fv/Fm в клетках водорослей поддерживались высокие ($\approx 0,7$) в течение 38 сут (Данные не приведены).

Время нарастания начальной стадии ОJ кинетики кривой индукции флуоресценции в условиях дефицита азота сокращалось (рис. 5).

Эффективное сечение поглощения пигментов светособирающей антенны ФС II увеличивалось (рис. 6) на фоне снижения их количества (табл. 1).

Итак, в условиях дефицита азота в культуре водорослей *C. reinhardtii* изменяются размеры клеток, численность и биомасса, пигментный состав и эффективность ППФ.

Микроскопические исследования позволяют констатировать образование в условиях дефицита азота внутриклеточных включений неизвестного состава, а также уменьшение размеров клеток *C. reinhardtii*. Для определения природы запасных веществ, аккумулируемых в клетках *C. reinhardtii* в условиях дефицита азота, необходимо про-

Таблица 1

Изменение концентрации азота и клеточных пигментов по ходу культивирования водорослей *C. reinhardtii* в среде с исходной концентрацией азота 10 мг/л

Время культивирования, сутки	Концентрация азота, мг/л	Содержание хлорофилла "а", мг/л	Содержание Хлорофилла "b", мг/л	Содержание каротиноидов, мг/л	КАР/ХЛ"а"	ХЛ"а"/ХЛ"б"
0	8	-	-	-	-	-
6	2	1,0	0,5	0,4	0,4	2,2
12	н/о	4,0	1,6	2,0	0,5	2,4
30	н/о	1,0	0,7	1,3	1,1	1,8
38	н/о	0,5	0,3	1,0	1,9	1,8

Примечание: «Н/О» значит «не обнаружено»; «-» значит «данные не приведены».

водить дополнительные исследования. Очевидно, уменьшение размера клетки в условиях дефицита азота влияет на соотношение S/V, с помощью которого можно оценить поглощательную способность клетки. Соотношение S/V в результате дефицита азота увеличивается и становится выше, чем в условиях с достаточным количеством азота. Поглощательная способность клеток исследуемой культуры в условиях дефицита азота, следовательно, тоже должна увеличиваться по сравнению с нормальными условиями. Из ростовых кривых на рис. 2 следует, что водоросли *C. reinhardtii* растут лучше в питательной среде с концентрацией азота 10 мг/л, нежели в средах с концентрациями

азота 25 мг/л и 50 мг/л. Ранее было замечено, что аммонийный азот эффективен для роста цианобактерий *Spirulina platensis* [41] и *Synechococcus* [42], диатомовых водорослей *Skeletonema costatum* [43] и зелёных водорослей *Scenedesmus* [42] при низких концентрациях, в то время как в больших количествах он вызывает ингибирование. Заметили, что водоросли *Chlamydomonas sp.* поддерживают высокие темпы роста в условиях лимитирования питательных веществ и, наоборот, замедляют рост в оптимальных условиях, по сравнению с *Chlorella* [43]. Эта особенность позволяет *Chlamydomonas sp.* вызывать цветение в условиях менее благоприятных для других видов микроводорослей [43]. Возможно, именно изменение поглощательной способности клеток позволяет *C. reinhardtii* увеличивать численность в условиях дефицита азота, что определяет исход конкуренции с другими видами микроводорослей.

Поглощая азот извне, клетки *C. reinhardtii* синтезируют хлорофиллы активнее, чем каротиноиды. В условиях дефицита азота хлорофиллы и каротиноиды в клетках *C. reinhardtii* разрушаются. Доля каротиноидов в пигментном составе клеток в этих условиях возрастает, видимо, за счёт более интенсивного распада хлорофиллов. Можно предположить, что существует некоторая пороговая внутриклеточная концентрация азота, ниже которой синтез хлорофиллов в клетке *C. reinhardtii* прекращается и наступает дефицит азота. В условиях дефицита азота количество хлорофиллов сильно сокращается, видимо, клетки используют их в качестве источника азота. В соответствии с [5] равномерное изменение соотношения ХЛ «а»/ХЛ «б» в условиях дефицита азота может означать, что соотношение между комплексами реакционных центров и периферических антенн не изменяется.

Эффективность ППФ снижается незначительно при культивировании водорослей *C.*

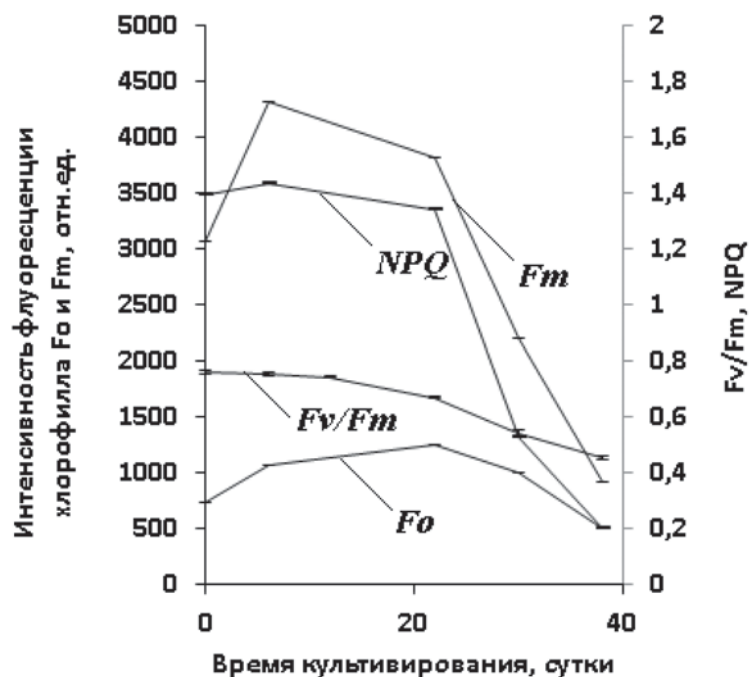


Рис. 4. Изменение параметров флуоресценции хлорофилла в процессе культивирования водорослей *C. reinhardtii* в среде с исходной концентрацией азота 10 мг/л.

Примечание: на кривых обозначены планки погрешностей со стандартными ошибками.

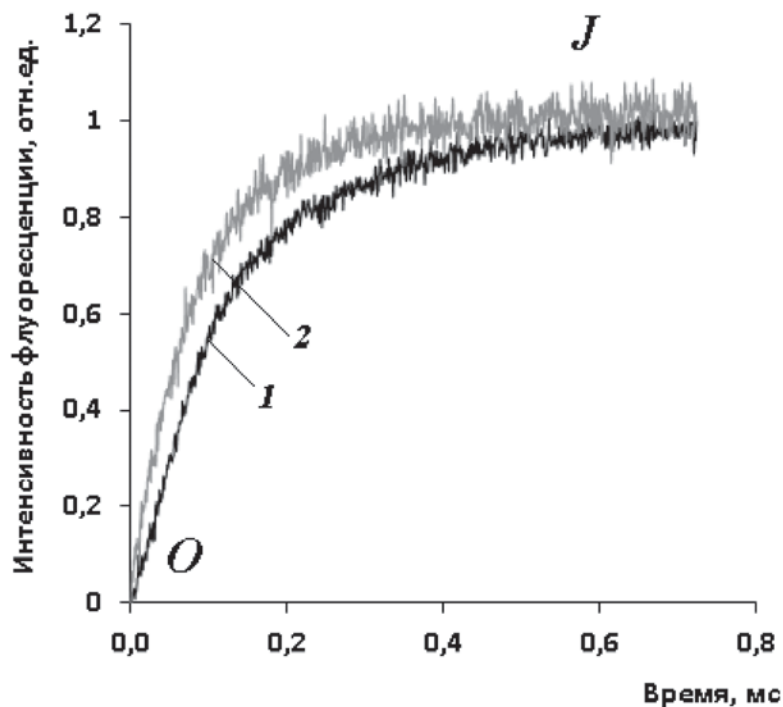


Рис. 5. Изменение времени нарастания начальной стадии OJ кинетики кривой индукции флуоресценции в процессе культивирования водорослей *C. reinhardtii* в среде с исходной концентрацией азота 10 мг/л.: 1 – 0 сут; 2 – 30 сут.

reinhardtii в условиях дефицита азота с 12 по 38 сут. Снижение эффективности ППФ в голодающих клетках обусловлено увеличением относительного квантового выхода флуоресценции, в результате накопления закрытых РЦ ФС II (Данные не приведены). Снижение нефотохимического тушения в условиях дефицита азота может быть связано с разрушением защитных каротиноидов и тушителей пула хинонов PQ.

Быстрый подъем начальной фазы OJ кривой индукции флуоресценции может быть вызван увеличением поперечного сечения поглощения пигментов ФС II в голодающих клетках *C. reinhardtii*. В качестве механизма, объясняющего это явление, можно предположить следующее. Светособирающий комплекс (ССК) передает энергию электронного возбуждения сразу на несколько РЦ с определенной вероятностью для каждого, между которыми в димерной структуре ФС II существует энергообмен [44]; в условиях дефицита азота часть РЦ ФС II закрывается, энергия электронного возбуждения, по-видимому, возвращается обратно в ССК, откуда перераспределяется между оставшимися активными РЦ; в результате доля ССК относительно оставшихся активных РЦ ФС II и вероятность их возбуждения возрастает, сокращая время нарастания начальной фазы OJ кривой индукции флуоресценции.

Заключение

Происходящие в клетках водорослей *C. reinhardtii* адаптационные перестройки позволяют предположить, как реализуется их стратегия выживания в условиях дефицита азота. Клетки увеличивают свою поглощательную способность, если количество доступного азота уменьшилось. Если изначально азота мало, клетки расходуют его, в первую очередь, на деление и синтез хлорофилльных пигментов. При истощении внешнего источника и внутренних запасов они получают азот за счёт катаболизма молекул хлорофилла и тратят его на увеличение численности своей популяции и на поддержание высокой эффективности фотосинтеза. Когда и этого азота уже недостаточно, численность популяции *C. reinhardtii* начинает снижаться и происходит переключение клеточного метаболизма. Продукты фотосинтеза, идут на синтез безазотистых органических соединений, которые накапливаются в клетке в виде углеводов или липидов и изменяют её ультраструктуру. Клетки водорослей *C. reinhardtii* приспособляются к дефициту азота таким образом, чтобы обеспечить эффективное функционирование их фотосинтетического аппарата как можно дольше. Дефицит азота в нашем случае не приводит к глубоким функциональным нарушениям фотосинтетического аппарата

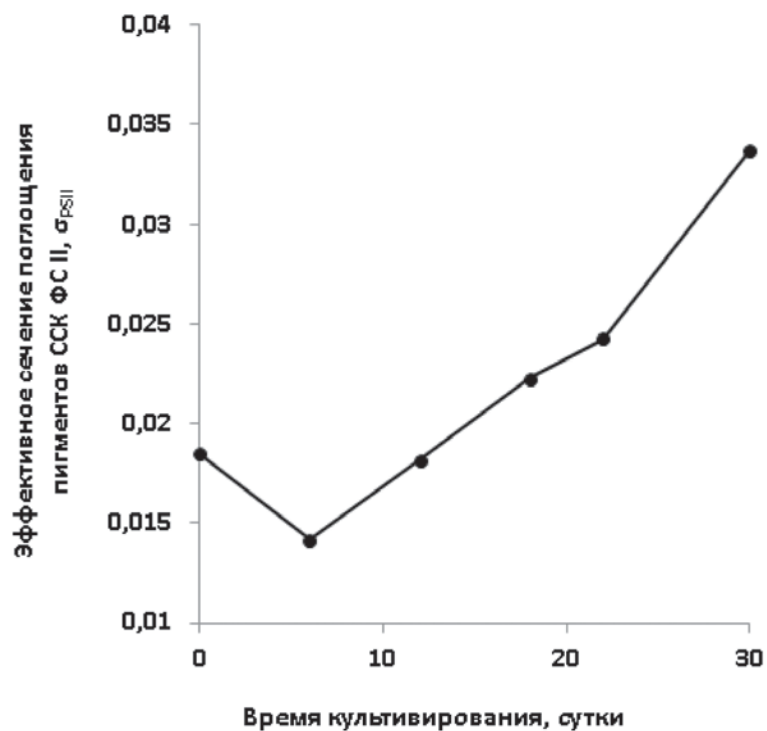


Рис. 6. Изменение эффективного сечения поглощения пигментов ССК ФС II в процессе культивирования водорослей *C. reinhardtii* в среде с исходной концентрацией азота 10 мг/л.

водорослей *C. reinhardtii*, но оказывает сильное влияние на пигментный состав, ультраструктуру и рост клеток.

Литература

1. Allen M.M. Nitrogen chlorosis in blue-green algae / Allen M.M., Smith A.J. // Arch. Microbiol. 1969. V. 69. P. 114-120.
2. Antal T.K. Acclimation of photosynthesis to nitrogen deficiency in *Phaseolus vulgaris* / Antal T.K., Mattila H., Hakala-Yatkin M., Tyystjärvi T., Tyystjärvi E. // Planta. 2010. V. 232, № 4. P. 887-898.
3. Gorl M. Nitrogen-starvation-induced chlorosis in *Synechococcus* PCC 7942: adaptation to long-term survival / Gorl M., Sauer J., Baier T., Forchhammer K. // Microbiology. 1998. V. 144. P. 2449-2458.
4. Sauer J. Nitrogen starvation-induced chlorosis in *Synechococcus* PCC 7942. Low-level photosynthesis as a mechanism of long-term survival / Sauer J., Schreiber U., Schmid R., Volker U., Forchhammer K. // Plant Physiol. 2001. V. 126. P. 233-243.
5. Dekker J.P. Supramolecular organization of thylakoid membrane proteins in green plants / Dekker J.P., Boekema E.J. // BBA. 2005. V. 1706. P. 12-39.
6. Синетова М.П. Влияние азотного голодания на ультраструктуру и пигментный состав хлоропластов ацидотермофильной водоросли *G. sulphuraria* / М.П. Синетова, А.Г. Маркелова, Д.А. Лось // Физиология растений. 2006. Т.53. № 2. С. 172-181.
7. Шендерова Л.В. Разрушение хлорофиллов у *Chlorella vulgaris* Beijer в условиях азотного голодания и последующее восстановление на среде с нитратом / Л.В. Шендерова, Ю.К. Чемерис, П.С. Венедиктов // Физиология растений. 1983. Т. 30. № 2. С. 355-359.
8. Шендерова Л.В. Дегградация пигментов у *Synechocystis aquatilis* в условиях азотного голодания при различной освещенности / Л.В. Шендерова, П.С. Венедиктов // Микробиология. 1980. Т. 49. № 6. С. 906-910.
9. Garciaferris C. Correlated Biochemical and Ultrastructural Changes in Nitrogen Starved *Euglena gracilis* / Garciaferris C., Delosrios A., Ascaso C., Moreno // J. Phycol. 1996. V. 32. P. 953-963.
10. Sakshaug E. Chemical composition of *Skeletonema costatum* and Pavlova (Monochrysis) lutheri as function of nitrate, phosphate and iron-limited grown / Sakshaug E., Holm-Hansen G. // J. Exptl. Marine Biol. Ecol. 1977. № 29. P. 1.
11. Thornber J.P. Chlorophyll – proteins: light-harvesting and reaction center components of plants // Annual Review of Plant Physiology. V. 26. P. 127.
12. Владимирова М.Г. Изменение ультраструктурной организации при функциональных перестройках клетки *Chlorella sp.* К // Физиология растений. 1976. Т. 23. С. 1180-1187.
13. Жукова Т.С. Сравнительная характеристика роста и направленности биосинтеза различных штаммов хлореллы в условиях азотного голодания. 2. Образование углеводов и липидов / Т.С. Жукова, Г.Л. Клячко-Гурвич, М.Г. Владимирова, Т.А. Курносова // Физиология растений. 1969. Т. 16. С. 96-101.
14. Владимирова М.Г. Сравнительная характеристика роста и направленности биосинтеза различных штаммов хлореллы в условиях азотного голодания. 1. Изучение роста и продуктивности / М.Г. Владимирова, Г.Л. Клячко-Гурвич, Т.А. Курносова, Т.С. Жукова // Физиология растений. 1968. Т. 15. С. 993-1001.
15. Чемерис Ю.К. Связь между инактивацией ФС2 и накоплением продуктов фотосинтетического метаболизма углерода при азотном голодании клеток хлореллы / Ю.К. Чемерис, Л.В. Шендерова, В.В. Лядский, П.С. Вене-



диктов // Физиология растений. 1990. Т. 37. № 2. С. 241.

16. Berges J.A. Differential Effects of Nitrogen Limitation on Photosynthetic Efficiency of Photosystem I and II in Microalgae / Berges J.A., Charlebois D.O., Mauzerall D.C., Falkowski P.G. // Plant Physiol. 1996. V. 110. P. 689-696.

17. Kiefer D.A. Chlorophyll a fluorescence of marine centric diatoms: responses of chloroplasts to light and nutrient stresses // Marine Biol. 1973. V. 23. P. 39-46.

18. Botrill D.E. The effects of nutrient deficiencies on photosynthesis and respiration in spinach / Botrill D.E., Possingham J.M., Kriedemann P.E. // Plant Soil. 1970. V. 32. № 2. P. 424.

19. Spencer D. The effect of nutrient deficiencies on the Hill reaction of isolated chloroplast of tomato / Spencer D., Possingham J.V. // Austr. J. Biol. Sci. 1960. V. 13. P. 441.

20. Рубин А.Б. Регуляция первичных процессов фотосинтеза / А.Б. Рубин, Т.Е. Кренделева // Биофизика. 2004. Т. 49. № 2. С. 239-253.

21. Чемерис Ю.К. Влияние недостатка минерального питания на фотосинтетический аппарат хлореллы / Ю.К. Чемерис, А.В. Попова, А.А. Арутюнян // Физиология растений. 1989. Т. 36. С. 49-56.

22. Васильев С.С. Кинетика затухания пикосекундной флуоресценции хлорофилла при недостатке минерального питания хлореллы / С.С. Васильев, А.А. Арутюнян, Ю.К. Чемерис и др. // Васильев С.С. Кинетика затухания пикосекундной флуоресценции хлорофилла при недостатке минерального питания хлореллы / С.С. Васильев, А.А. Арутюнян, Ю.К. Чемерис и др. // Биофизика. 1986. Т. 31. № 1. С. 27-30.

23. Antal, T.K. Acclimation of green algae to sulfur deficiency: underlying mechanisms and application for hydrogen production / Antal, T.K., Krendeleva, T.E., Rubin, A.B. // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2010. V. 89. P. 3-15.

24. Wykoff D.D. The effects of phosphorus and sulfur deprivation on photosynthetic electron transport in *Chlamydomonas reinhardtii* / Wykoff D.D., Davies J.P., Melis A., Grossman A. // Plant Physiol. 1998. V. 117. P. 129-139.

25. Sueoka N. Proc. Natl. Acad. Sci., USA. Электронный ресурс: <http://www.chlamy.org/Sueoka.html>.

26. Wintermans J.F.G.M.. Spectrophotometric characteristics of chlorophylls a and b and their pheophytins in ethanol / J.F.G.M. Wintermans, A. De Mots // BBA. 1965. V. 109. № 2. P. 448-453.

27. Wettstein D. Chlorophyll letale und der submikroskopische Formwechsel der Plastiden



// Experimental Cell Research. 1957. V. 12. P. 427-434 [non-English].

28. Данилина Е.Н. Определение обменного и водорастворимого аммония в почвах модифицированными индофенольными методами / Е.Н. Данилина, В.В. Рогулин, Е.А. Бабичева // Вестник Челябинского университета. Серия 4 «Химия». 1996. № 1. С. 28-39.

29. Погосян С.И. Применение флуориметра «МЕГА-25» для определения количества фитопланктона и оценки состояния его фотосинтетического аппарата / С.И. Погосян, С.В. Гальчук, Ю.В. Казимирко, И.В. Конюхов, А.Б. Рубин // Вода: химия и экология. 2009. № 6. С. 34-40.

30. Маторин Д.Н. Определение состояния растений и водорослей по флуоресценции хлорофилла / Д.Н. Маторин, В.А. Осипов, О.В. Яковлева, С.И. Погосян Учеб.-метод. пособие. М.: МАКС Пресс, 2010. 116 с.

31. Codde D. Photoinhibition and light-dependent turnover of the D1 reaction centre polypeptide of photosystem II are enhanced by mineral-stress conditions / Codde D., Hefer M. // Planta. 1994. V. 193. P. 290-299.

32. Бухов Н.Г. Механизмы и функции альтернативных путей переноса электронов в хлоропласте, связанных с фотосистемой I / Н.Г. Бухов, Е.А. Егорова // Физиология растений. 2006. Т. 53. № 5. С. 645-657.

33. Вавилин Д.В. Изменения фотосинтетического аппарата хлореллы при адаптации к низким температурам / Д.В. Вавилин, Д.Н. Маторин, П.С. Венедиктов // Физиология Растений. 1994. Т. 41. № 2. С. 197-202.

34. Воронова Е.Н. Изменения фотосинтетического аппарата клеток диатомовой водоросли *Thalassiosira weissflogii* в ответ на действие света высокой интенсивности / Е.Н. Воронова, Э.В. Волкова, Ю.В. Казимирко, О.Б. Чивкунова, М.Н. Мерзляк, С.И. Погосян, А.Б. Рубин // Физиология Растений. 2002. Т. 49. № 3. С. 350-359.

35. Кукарских Г.П. Влияние митилртути на первичные процессы фотосинтеза у зеленой микроводоросли *Chlamydomonas reinhardtii* /

Г.П. Кукарских, Е.Э. Граевская, Т.Е. Кренделева, К.Н. Имофеев, А.Б. Рубин // Биофизика. 2003. Т. 48. № 5. С. 853-859.

36. Полюнов В.А. Действие низких концентраций меди на фотоингибирование фотосистемы II у *Chlorella vulgaris* (Beijer) / В.А. Полюнов, Д.Н. Маторин, Д.В. Вавилин, П.С. енедиктов // Физиология растений. 1993. Т. 40. № 5. С. 754-759.

37. Vavilin D.V. Membrane lipid peroxidation, cell viability and Photosystem II activity in the green alga *Chlorella pyrenoidosa* subjected to various stress conditions / Vavilin D.V., Ducruet J.-M., Matorin D.N., Venediktov P.S., Rubin A.B // Photochemistry and Photobiology. 1998. V. 42. P. 233-239.

38. Vavilin D.V. Sublethal concentrations of copper stimulate photosystem II photoinhibition in *Chlorella pyrenoidosa* / Vavilin D.V., Polynov V.A., Matorin D.N., Venediktov P.S. // Plant Physiology. 1995. V. 146. P. 609-614.

39. Antal T.K. In vivo analysis of chlorophyll a fluorescence induction / Antal T.K., Rubin A.B. // Photosynthesis Research. 2008. V. 96. P. 217-226.

40. Конюхов И.В. Изменение параметров флуоресценции диатомовой водоросли

Thalassiosira weissflogii в процессе роста при разных условиях облучения и минерального питания. Автореф. дисс. канд. биол. наук. М., 2009. 26 с.

41. Converti A. Ammonium and urea removal by *Spirulina platensis* / Converti A., Scapazzon S.i, Lodi A., Carvalho J. C. M. // Ind. Microbiol. Biotechnol. 2006. V. 33. P. 8-16.

42. Hyenstrand P. Competition between the green alga *Scenedesmus* and the cyanobacterium *Synechococcus* under different modes of inorganic nitrogen supply / Hyenstrand P., Burkert U., Pettersson A., Blomqvist P. // Hydrobiologia. 2000. V. 435. P. 91-98.

43. Kruskopf M. Induction of both acid and alkaline phosphatase activity in two green algae (*Chlorophyceae*) in low N and P concentrations / Kruskopf M., Du Plessis S. // Hydrobiologia. 2004. V. 513. P. 9-70.

43. Minagawa J. State transition – The molecular remodeling of photosynthetic supercomplexes that control energy flow in the chloroplast // BBA. 2011. P. 897-905.



A.V. Kuznetsova, S.I. Pogosyan, E.N. Voronova, I.V. Konyukhov, A.B. Rubin

NITROGEN DEFICIT IMPACT ON GROWTH AND CONDITION OF PHOTOSYNTHETIC APPARATUS OF GREEN ALGAE

Chlamydomonas reinhardtii

Nitrogen deficit impact on cells ultra structure, the biomass increase, pigment composition and efficiency of primary photosynthetic process of *Chlamydomonas reinhardtii* was studied. The probable mechanism of nitrogen deficit impact on photosynthetic process of

Chlamydomonas reinhardtii that is relative fluorescence quantum yield, nonphotochemical quenching, and the effective absorption of photosystem II. The results could be applied in biomonitoring data interpretation of natural water and in biotechnology.

Key words: chlorophyll, photosynthetic apparatus, efficiency of photosynthesis, nitrogen deficiency, green algae *Chlamydomonas reinhardtii*

