

**ПРОДУКЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАКОПИТЕЛЬНОЙ КУЛЬТУРЫ
PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM ВОHLIN ПРИ ФОТОАДАПТАЦИИ****Лелеков А.С.¹, Ключкова В.С.², Поплавская А.Ю.²**¹ ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН»
пр. Нахимова, 2, г. Севастополь, 299011, РФ; e-mail: a.lelekov@yandex.ru² Севастопольский государственный университет
ул. Университетская, 33, г. Севастополь, 299053, РФ; e-mail: viki-iki@mail.ru

Поступила в редакцию 02.08.2023. DOI: 10.29039/rusjbc.2023.0634

Аннотация. Проведено исследование светозависимого роста накопительной культуры *Phaeodactylum tricornutum*. На основе разработанной математической модели истинного спектра поглощения предложен экспресс-метод определения концентрации фотосинтетических пигментов без вмешательства в процесс роста культуры. В экспоненциальной фазе при облучённости $120 \text{ мкЕ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ определены максимальные удельные скорости синтеза хлорофиллов *a* и *c*, которые были в 1,4 раза выше удельной скорости роста культуры и составляли $0,3 \text{ сут}^{-1}$. На восьмые сутки эксперимента наблюдался излом кривой роста, который выражался в снижении как скорости роста, так и продукции хлорофилла. При переходе в линейную фазу роста максимальная продуктивность феодактилума составила $0,15 \text{ г СВ} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$, а продукция хлорофиллов – $3,44$ и $2,85 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$ *a* и *c* соответственно. Получена зависимость интегрального коэффициента поглощения света от концентрации хлорофилла *a*, которая с достаточной степенью точности описывается законом Бугера-Ламберта-Бера, удельный коэффициент поглощения света составил $0,10 \text{ м}^2 \cdot \text{г}^{-1}$ сухого вещества и $0,008 \text{ м}^2 \cdot \text{мг}^{-1}$ хлорофилла *a*. Сравнение полученных результатов с литературными данными показало, что при облучённости $120 \text{ мкЕ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ и $602 \text{ мкЕ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ удельные скорости синтеза хлорофилла *a* одинаковые, а максимальная удельная скорость роста культуры *Ph. tricornutum* пропорционально увеличивается с ростом интенсивности света с $0,23$ до $0,91 \text{ сут}^{-1}$. Полученные результаты свидетельствуют о том, что синтез хлорофилла *a* определяется не действующей интенсивностью света, а количеством резервной биомассы, накопленной за предыдущий световой период.

Ключевые слова: моделирование, удельная скорость роста, продуктивность, облучённость, хлорофилл *a*, коэффициент поглощения света.

ВВЕДЕНИЕ

Phaeodactylum tricornutum – морская диатомовая водоросль, которая широко используется в качестве модельного объекта в области экологии, биохимии, молекулярной биологии. Известно, что данный вид синтезирует широко востребованные соединения, такие как фукоксантин, эйкозапентаеновую и докозагексаеновую кислоты, и считается коммерчески целесообразным штаммом с потенциалом крупномасштабного производства [1].

Ключевым фактором, определяющим скорость синтеза того или иного клеточного компонента, является свет. При запуске накопительной культуры обычно клетки микроводорослей переносят с низкой на высокую освещённость. Известно, что в таких условиях происходят значительные изменения биохимического состава биомассы и содержания фотосинтетических пигментов [2]. Для исследуемого вида показано, что при переносе клеток *Ph. tricornutum* с низкой $17 \text{ мкЕ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ на высокую $602 \text{ мкЕ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ интенсивность света синтез хлорофилла *a* отсутствовал в течение 24 часов при этом происходило увеличение плотности культуры [3]. Похожие результаты получены и в работе [4], где при переносе клеток *S. costatum* с низкой $50 \text{ мкЕ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ на высокую $1200 \text{ мкЕ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ облучённость рост концентрации хлорофилла *a* в течение 12 часов не отмечался. На сегодняшний день не установлена количественная взаимосвязь между удельной скоростью синтеза хлорофилла и количеством приходящей на освещаемую поверхность фотобиореактора световой энергией.

Диатомовые водоросли имеют специфический набор пигментов: хлорофилл *a* и *c*, фукоксантин, диациноксантин, диатоксантин и диацинохром. *Ph. tricornutum* осуществляет сбор света в основном с помощью комплексов фукоксантин-хлорофилл-белок, которые содержат три светоулавливающих пигмента, включая фукоксантин, хлорофилл *a* и хлорофилл *c* [5]. Как правило, большинство методов экстракции пигментов подразумевают под собой разрушение клеток, что является вмешательством в процессы роста культуры. Одним из способов вычисления концентрации пигментов в нативном состоянии является анализ спектров поглощения культуры микроводорослей с помощью математического моделирования [6].

Цель данной работы – на основе разработанной математической модели истинного спектра поглощения накопительной культуры *Ph. tricornutum*, определить скорости синтеза хлорофиллов *a* и *c* при переносе клеток *Ph. tricornutum* с низкой на высокую освещённость.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнялась на базе кафедры «Физика» СевГУ. Объектом исследования являлась диатомовая микроводоросль *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin 1898 из коллекции Научно-образовательного центра коллективного пользования ФИЦ ИнБЮМ «Коллекция гидробионтов Мирового океана». Выращивание культуры *Ph. tricornutum* проводили в накопительном режиме в культиваторах плоскопараллельного типа объёмом 1 л и толщиной слоя 2 см [7], используя среду для морских водорослей [8]. В качестве источника освещения использовали световую решётку из светодиодных ламп LCD Feron LB-213 мощностью 10 Вт. Освещённость поверхности фотобиореактора составляла 5 клк, что составляет 24 Вт м² или 120 мкЕ·м⁻²·с⁻¹ с учётом спектра излучения лампы. Температуру культуры стабилизировали на уровне 22±1 °С. Барботаж осуществляли аквариумным компрессором Nailea АСО-308 воздухом через аквариумный распылитель, представляющий собой пластиковую трубку длиной 5 см, диаметром 5 мм, у которой диаметр пор не превышает 0,1 мм. Скорость барботажа – 1 л воздуха на литр культуры в минуту. Дополнительного введения углекислого газа не производилось.

Отбор проб для определения оптической плотности проводили с помощью дозатора Biohit 1 – 5 мл с разных точек внутри фотобиореактора: отбирали по 5 мл суспензии клеток водорослей, получая таким образом «среднюю пробу» объёмом 30 мл. В средней пробе после перемешивания определяли коэффициент пропускания. Оптическую плотность определяли на фотометре КФК-2 при длине волны 750 нм. Измерения проводили относительно дистиллированной воды. Кюветы (1 см) располагали максимально близко к фотоприёмнику, что позволяло снизить погрешность измерения оптической плотности культуры, связанную с светорассеянием. При выходе показаний прибора за границы рабочего диапазона (от 30 до 70 % пропускания), пробу разбавляли дистиллированной водой. Для определения сухого веса 5 – 10 мл суспензии центрифугировали в течение 10 минут при 3000 об·мин⁻¹, сливали надосадочную жидкость, осадок промывали дистиллированной водой, повторно центрифугировали и сушили в течение суток при 55 °С. В результате получена линейная зависимость сухого веса от оптической плотности D_{750} , а коэффициент пропорциональности составил $k = 0,4$ г СВ·л⁻¹·ед. опт. пл⁻¹.

Пробы для определения содержания хлорофилла *a* отбирали на различных фазах роста накопительной культуры после тщательного перемешивания. Концентрацию хлорофилла *a* определяли согласно стандартной методике [3]. После отбора проб из фотобиореактора проводили центрифугирование при 3000 об./мин, надосадочную жидкость сливали. Затем добавляли 5 мл 100% ацетона. После экстракции хлорофилла в течение 18 ч при 8 °С экстракты центрифугировали и проводили измерения на спектрофотометре Unicо в кварцевых 1 см кюветках в диапазоне длин волн 400 – 800 нм с шагом 0,5 нм. Регистрировали оптическую плотность полученных экстрактов в области характеристических максимумов поглощения хлорофиллов *a* (664 нм) и *c* (630 нм) Концентрацию хлорофилла *a* определяли по формуле (1) с учётом объёмов экстрактов и массы навесок:

$$C_{\text{хл } a} = \frac{D_{664}}{\varepsilon_{\text{хл } a}} - \frac{D_{630}}{\varepsilon_{\text{хл } c}}, \quad (1)$$

где $C_{\text{хл } a}$ – концентрация хлорофилла *a*, мг·л⁻¹; D_{664} , D_{630} – значения оптических плотностей в соответствующей длине волны; $\varepsilon_{\text{хл } a}$ – экстинкция хлорофилла *a* 88,15 л·г⁻¹·см⁻¹; $\varepsilon_{\text{хл } c}$ – экстинкция хлорофилла *c* 39,2 л·г⁻¹·см⁻¹ [9].

Спектры поглощения культуры регистрировались в диапазоне от 400 до 800 нм с шагом 0,5 нм на двухлучевом спектрофотометре Lambda 365 Double Beam UV-Visible (производитель: Perkin Elmer, Индия), который оснащён интегрирующей сферой (ИС) диаметром 60 мм (внешнее покрытие – BaSO₄). Истинный спектр поглощения культуры, компенсированный на рассеяние, определяли согласно методике [10, 11]. По истинным спектрам рассчитывали коэффициент поглощения света. Так как для разных длин волн величина коэффициента поглощения α_{sp} изменяется, то находили сумму всех значений α_{sp} в области ФАР [12]:

$$\alpha = \sum_{400}^{800} \alpha_{sp}(\lambda) d\lambda \quad (2)$$

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

В ходе эксперимента получена накопительная кривая роста культуры *Ph. tricornutum*, представленная на рисунке 1 А. Для каждой точки рассчитан истинный спектр поглощения (рис. 1б). Биомасса *Ph. tricornutum* за двенадцать дней эксперимента увеличилась почти в 9 раз и достигла 1,73 г СВ·л⁻¹, что с учётом толщины фотобиореактора (2 см) составляет 34,67 г СВ·м⁻². На экспоненциальном участке накопительной кривой определено значение максимальной удельной скорости роста, на линейной фазе – максимальной продуктивности по формулам (3) [13]:

$$B = B_0 \cdot e^{\mu_m \cdot t}, \quad B = B_l + P_m \cdot (t - t_l), \quad (3)$$

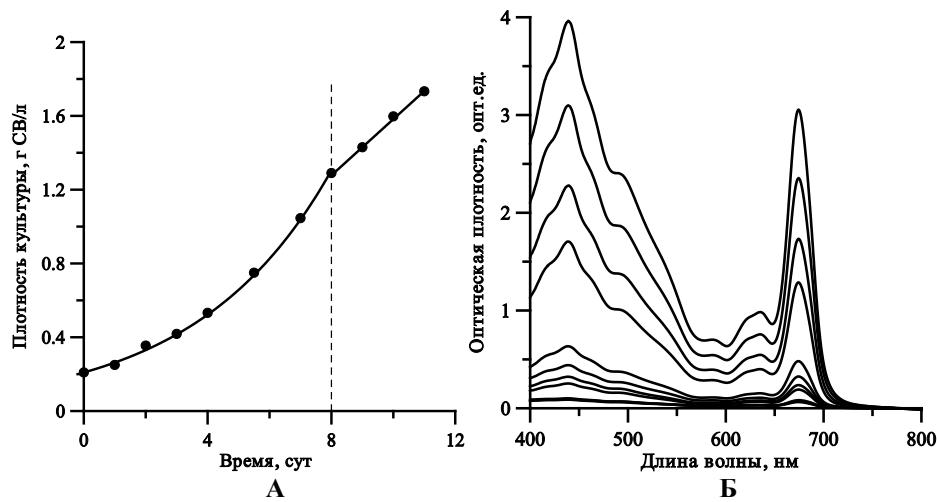


Рисунок 1. А – Накопительная кривая роста культуры *Ph. tricorutum*. Пунктирная линия показывает точку переключения лимитирующего фактора. Б – истинные спектры поглощения

где B_0 – начальная биомасса, г СВ·л⁻¹; $\mu_m = 0,23$ сут⁻¹ – максимальная удельная скорость роста; B_l – плотность культуры момент начала линейного роста t_l ; $P_m = 0,15$ г СВ·л⁻¹·сут⁻¹ – максимальная продуктивность.

Отметим, что на восьмые сутки эксперимента наблюдалось изменение как продуктивности, так и продукции пигментов (рис. 4а). Вероятно, в этот момент рост культуры был лимитирован потоком углекислого газа, подаваемого посредством барботаж, потому что используемая питательная среда рассчитана на 4 г СВ·л⁻¹, что исключает влияние биогенных элементов при достигнутых плотностях. В экспоненциальной фазе единственным ограничивающим рост фактором может являться только интенсивность света [13], поэтому продукционные характеристики феодактилума при фотоадаптации определяли именно на этом участке.

Для исследования механизмов фотоадаптации культуры микроводорослей к изменяющимся световым условиям необходимо рассматривать динамику концентраций или содержания в биомассе фотосинтетических пигментов. Следует отметить, что определение концентраций пигментов с помощью экстракции их из клеток является вмешательством в процессы роста накопительной культуры. В связи с этим нами разработана математическая модель спектра поглощения культуры *Ph. tricorutum*, которая представляет собой сумму кривых Гаусса и базируется на подходе, предложенном в [14].

На первом этапе удобно рассматривать только красную область спектра, в которую не вносят вклад каротиноиды, что существенно облегчает задачу по определению концентраций хлорофиллов *a* и *c*. Модель представляет собой сумму двух кривых Гаусса:

$$D(\lambda) = D_{chlc}(\lambda) + D_{chla}(\lambda) = C_{chlc} \cdot \varepsilon_{chlc} \cdot e^{-\ln 2 \left(\frac{\lambda - 631}{36} \right)^2} + C_{chla} \cdot \varepsilon_{chla} \cdot e^{-\ln 2 \left(\frac{\lambda - 675}{12,80} \right)^2}, \quad (4)$$

где $D(\lambda)$ – общая оптическая плотность, опт. ед; $D_{chlc}(\lambda)$ – оптическая плотность хлорофилла *c*; $D_{chla}(\lambda)$ – оптическая плотность хлорофилла *a*; C_{chlc} – концентрация хлорофилла *c*, г л⁻¹; ε_{chlc} – экстинкция хлорофилла *c* 39,2 л·г⁻¹·см⁻¹; C_{chla} – концентрация хлорофилла *a*, г л⁻¹; ε_{chla} – экстинкция хлорофилла *a* 88,15 л·г⁻¹·см⁻¹.

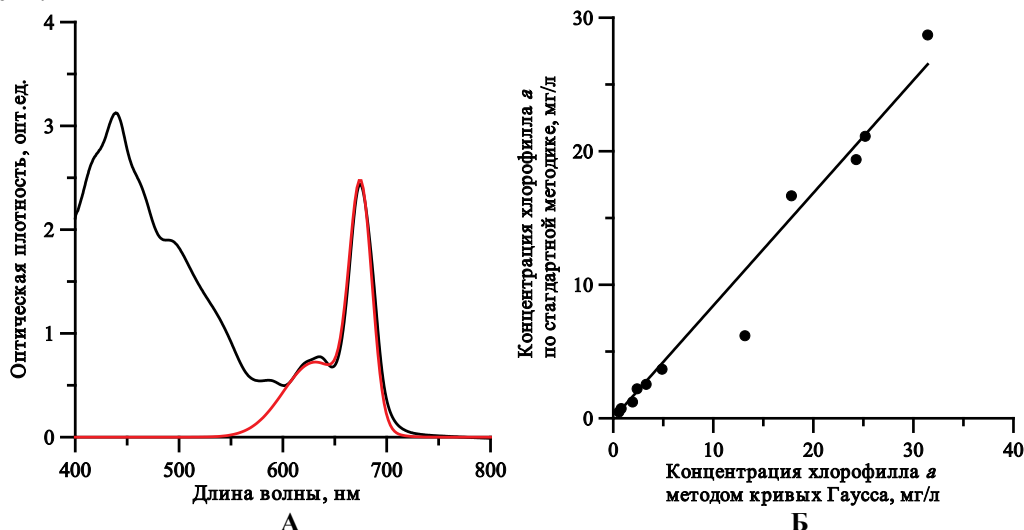


Рисунок 2. А – пример аппроксимации истинного спектра поглощения моделью (4). Б – концентрация хлорофилла *a*, определённая по стандартной методике и при помощи предлагаемой модели (4)

Для определения концентраций хлорофиллов a и c проводили аппроксимацию выражением (4) истинных спектров поглощения. Пример аппроксимации показан на рисунке 2а. Для верификации полученных результатов была проведена серия параллельных измерений концентрации хлорофилла a по стандартной биохимической методике и предлагаемой модели (4). Сравнение полученных результатов представлено на рисунке 2б. Значения концентраций хлорофилла a , полученные с помощью стандартного метода, а также концентрации, определённые методом разложения истинных спектров поглощения на кривые Гаусса, коррелируют между собой с высокой точностью ($R^2 = 0,95$).

Одним из ключевых параметров, определяющих обеспеченность клеток микроводорослей световой энергией, является интегральный (по всему диапазону ФАР) коэффициент поглощения света α . Известно, что α увеличивается с ростом плотности культуры. В простейшем случае зависимость коэффициента поглощения от плотности культуры или концентрации хлорофилла a может быть описана законом Бугера-Ламберта-Бера:

$$\alpha = 1 - e^{-k_B \cdot B}, \quad \alpha = 1 - e^{-k_\pi \cdot \pi}, \quad (5)$$

где k_B – коэффициент удельного поглощения биомассы, $\text{м}^2 \text{мг}^{-1}$; k_π – коэффициент удельного поглощения хлорофилла a , $\text{м}^2 \text{мг}^{-1}$; π – концентрация хлорофилла a , мг м^{-2} .

Результаты проведённых расчётов (рис. 3) показывают, что для *Ph. tricornutum* $k_B = 0,10 \text{ м}^2 \cdot \text{г}^{-1}$ и $k_\pi = 0,008 \text{ м}^2 \cdot \text{мг}^{-1}$. Это означает, что при поверхностной концентрации 1 г биомассы на 1 м^2 культура поглощает 10 % света, а при поверхностной концентрации хлорофилла a 1 $\text{мг} \cdot \text{м}^{-2}$ культура поглощает около 1 % света. Аналогичные расчёты для цианопрокариаты *Arthrospira platensis* показали, что удельный коэффициент поглощения хлорофилла a составляет $0,017 \text{ м}^2 \cdot \text{мг}^{-1}$ [15]. По литературным данным известно, что данный параметр определяется спектральным составом света, сечением поглощения хлорофилла a и варьирует от 0,005 до $0,03 \text{ м}^2 \cdot \text{мг}^{-1}$ для различных систематических групп низших фотоавтотрофов [16].

На рисунке 4а представлена динамика концентраций хлорофиллов a и c . Как и для биомассы в целом, здесь присутствуют экспоненциальная и линейная фазы, которые описываются аналогичными (3) выражениями. Концентрация обоих пигментов увеличилась примерно в 18 раз, максимальные удельные скорости синтеза хлорофиллов a и c составили $0,32 \text{ сут}^{-1}$ и $0,31 \text{ сут}^{-1}$ соответственно. На линейном участке рассчитаны максимальная продукция: хлорофилла a – $3,44 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$, хлорофилла c – $2,85 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$. Отметим, что максимальная удельная скорость синтеза хлорофиллов в 1,4 раза выше максимальной удельной скорости роста культуры, что выражается в увеличении относительного содержания пигментов в биомассе (рис. 4б). Из-за того, что полученные значения скоростей синтеза хлорофиллов a и c почти одинаковы, соотношение этих пигментов в ходе всего эксперимента не изменялось и составляло 1,35, что соответствует литературным данным для данного вида [17].

Для сравнения полученных результатов были рассчитаны удельные скорости роста и синтеза хлорофилла a по данным [3]: на рисунке 4в, 4г представлены накопительная кривая роста феодактилума и динамика концентрации хлорофилла при переносе клеток с низкой $17 \text{ мкЕ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ на высокую $602 \text{ мкЕ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ освещённость. Отметим, что при адаптации культуры к низкой освещённости концентрация хлорофилла первые сутки эксперимента уменьшалась, поэтому расчёт удельной скорости синтеза хлорофилла проводили на участке роста его концентрации. Полученные результаты сведены в таблице 1, согласно которой при облучённостях $120 \text{ мкЕ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ и $602 \text{ мкЕ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ удельные скорости синтеза хлорофилла a примерно одинаковые и составляют около $0,3 \text{ сут}^{-1}$. При этом максимальная удельная скорость роста феодактилума пропорционально увеличивается

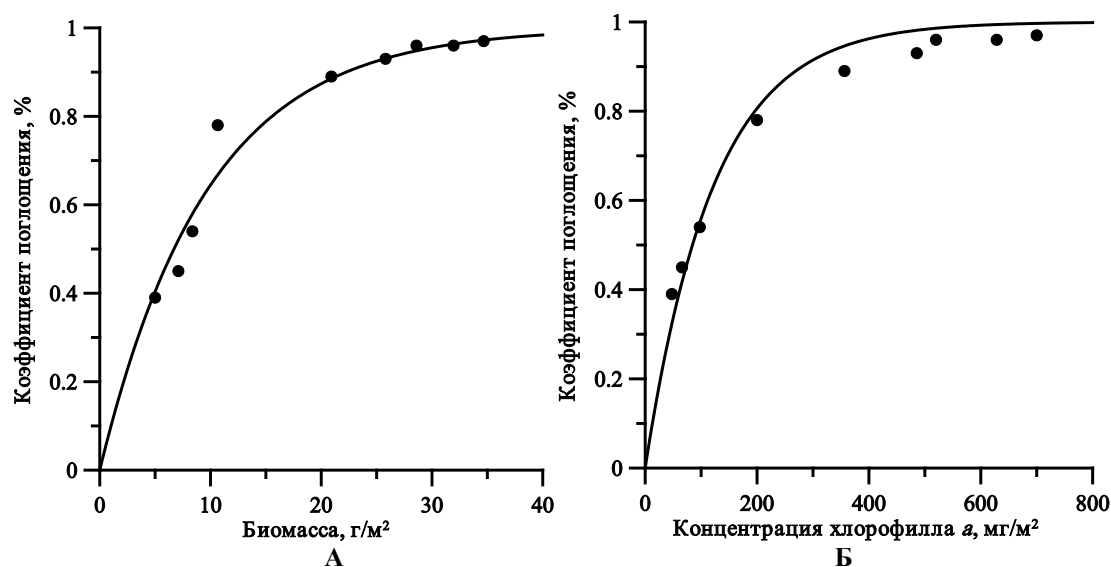


Рисунок 3. А – зависимость коэффициента поглощения света от биомассы. Б – зависимость коэффициента поглощения света от концентрации хлорофилла a . Чёрная линия – аппроксимация выражением (6)

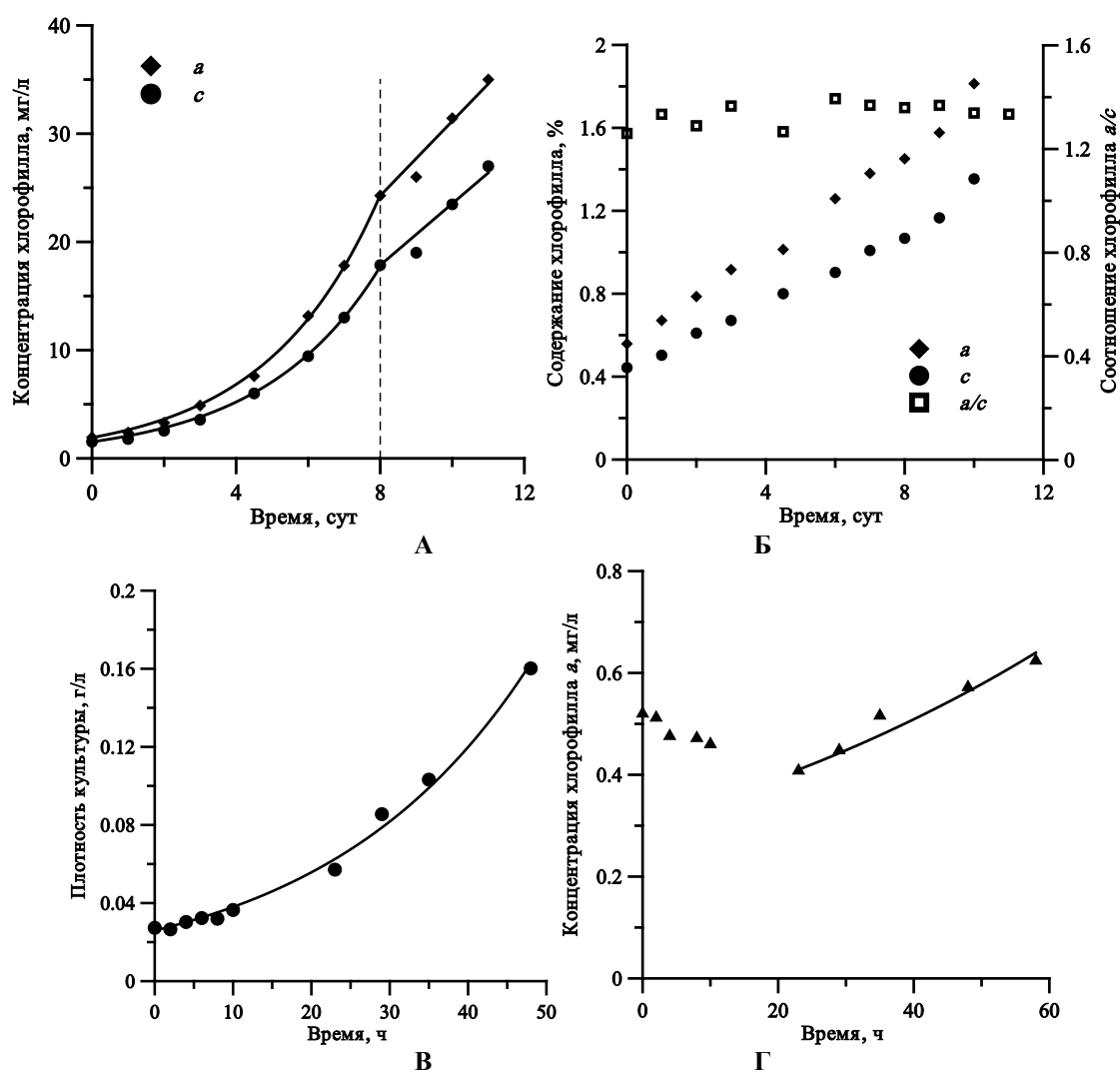


Рисунок 4. А – динамика концентраций хлорофиллов *a* и *c* в эксперименте. Пунктирная линия показывает точку переключения лимитирующего фактора. Б – динамика содержания в биомассе хлорофиллов *a* и *c* и их соотношения. В – динамика плотности культуры *Ph. tricornutum* и концентрации хлорофилла *a* (Г) по данным [3]. Аппроксимация экспоненциального роста. *Значения коэффициентов в тексте

с ростом интенсивности света. Таким образом, удельная скорость синтеза хлорофилла *a* не зависит от действующей интенсивности света, а определяется другим лимитирующим фактором. Согласно современным модельным представлениям, биомассу микроводорослей нельзя рассматривать как единое целое [18]. Исходя из двухстадийности фотоавтотрофного роста микроводорослей, ранее предложена модель [19], представляющая биомассу в виде суммы двух макромолекулярных форм – структурной и резервной. Первой стадией является собственно фотосинтез, в результате которого за счёт световой энергии происходит ассимиляция углекислоты и образуются простейшие углеводы. Эти углеводы не являются структурными компонентами клеток, а представляют собой энергетический и углеродный резерв для всех последующих метаболических реакций, в том числе для синтеза хлорофилла. На второй стадии происходит биосинтез клеточных структур за счёт энергии, выделяющейся при окислении фотосинтетических углеводов. Комплекс хлорофилл-белок представляет собой структурный компонент хлоропластов. В условиях нормального роста популяции клеток соотношение хлорофилл *a* / белок остаётся постоянным. То есть, зная концентрацию хлорофилла *a* в культуре микроводорослей возможно определить и количество белка или любого другого структурного компонента. В подтверждение таких заключений на рисунке 5 представлена прямо пропорциональная зависимость между концентрацией хлорофилла *a* и белка для накопительной культуры *Ph. tricornutum* по данным [20]. Коэффициент пропорциональности составил 0,026 мкг хлорофилла на мкг белка ($R^2 = 0,99$). Также отметим постоянство соотношения хлорофиллов *a* и *c* (рис. 4б).

Таким образом, скорость синтеза хлорофилла *a* (структурных форм биомассы) определяется количеством резервной биомассы, накопленной за предыдущий световой период. Согласно данным [3], рост концентрации хлорофилла начался только после 23 часов эксперимента, когда культура накопила необходимое количество резервов. Это позволяет объяснить равенство удельных скоростей синтеза хлорофилла *a* (табл. 1) при культивировании *Ph. tricornutum* при различной интенсивности света.

Таблица 1. Сравнительная характеристика продукционных характеристик культуры *Ph. tricornutum* при фотоадаптации

	μ_m , сут ⁻¹	μ^{π}_m , сут ⁻¹	Облучённость в эксперименте, мкЕ·м ⁻² ·с ⁻¹
Данная работа	0,23	0,32	120
По данным [3]	0,91	0,3	602

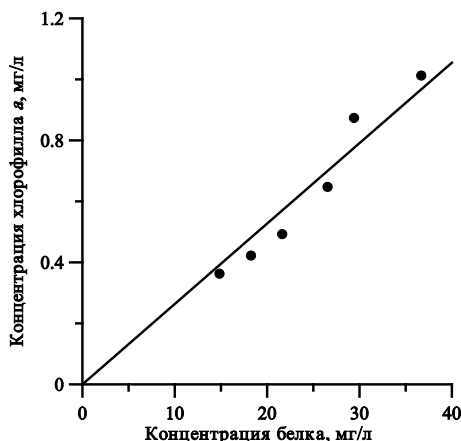


Рисунок 5. Соотношение хлорофилл *a* / белок в культуре *Ph. tricornutum* по данным работы [20]

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В литературе приводятся различные механизмы фотоадаптации микроводорослей. Наиболее широко принятой является гипотеза об обратимом фотодеструктивном окислении пигментов, которая позволяет объяснить резкое снижение относительного содержания хлорофилла при переносе клеток с низкой на высокую освещённость. В данной работе фотоадаптация феодактилума рассмотрена с позиции изменения биохимического состава биомассы, определены продукционные характеристики роста накопительной культуры, указана их взаимосвязь с действующей облучённостью и световыми условиями, в которых находились клетки ранее. Такой подход, не отрицая возможной фотодеструкции пигментов, позволяет объяснить изменение содержания белков, углеводов и липидов при изменении световых условий.

Работа выполнена в рамках госзадания ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН», № гос. регистрации 121030300149-0.

Список литературы / References:

1. Yang R., Wei D., Xie J. Diatoms as cell factories for high-value products: chrysolaminarin, eicosapentaenoic acid, and fucoxanthin. *Crit Rev Biotechnol*, 2020, vol. 40, no. 7, pp. 993-1009.
2. Тренкеншу Р.П. Рост микроводорослей при переходе от темноты к постоянному освещению. *Вопросы современной альгологии*, 2018, № 2(17) [Trenkenshu R.P. Growth of microalgae during the transition from darkness to constant illumination. *Questions of modern algology*, 2018, no. 2(17) (In Russ.)].
3. Паламодова О.С. Динамика фотоадаптации некоторых видов диатомовых водорослей. *Экология моря*, 2009, вып. 78, с. 70-74 [Palamodova O.S. Dynamics of photoadaptation of some species of diatom algae. *Marine Ecology*, 2009, iss. 78, pp. 70-74 (In Russ.)].
4. Anning T., MacIntyre H.L., Pratt S.M., Sammes P.J., Gibb S., Geider R.J. Photoacclimation in the marine diatom *Skeletonema costatum*. *Limnol. Oceanogr.*, 2000, vol. 45, no. 8, pp 1807-1817, doi: 10.4319/lo.2000.45.8.1807.
5. Wang W., Yu L.J., Xu C., Tomizaki T., Zhao S., Umena Y., Chen X., Qin X., Xin Y., Suga M., Han G., Kuang T., Shen J.R. Structural basis for blue-green light harvesting and energy dissipation in diatoms. *Science*, 2019, vol. 363, no. 6427, 598 p.
6. Kupper H., Seibert S., Parameswaran A. Fast, sensitive, and inexpensive alternative to analytical pigment HPLC: quantification of chlorophylls and carotenoids in crude extracts by fitting with Gauss peak spectra. *Analyt. Chem*, 2007, vol. 79, no. 20, pp. 7611-7627.
7. Тренкеншу Р.П., Лелеков А.С., Боровков А.Б., Новикова Т. М Унифицированная установка для лабораторных исследований микроводорослей. *Вопросы современной альгологии*, 2017, № 1(13) [Trenkenshu R.P., Lelekov A.S., Borovkov A. B., Novikova T. M Unified installation for laboratory research of microalgae. *Questions of modern algology*, 2017, no. 1(13) (In Russ.)].
8. Тренкеншу Р.П., Терсков И.А., Сидько Ф.Я. Плотные культуры морских микроводорослей. *Известия Сибирского отделения Академии наук СССР. Серия биологических наук*, 1981, т. 5, № 1, с. 75-82 [Trenkenshu R.P.,

Terskov I.A., Sidko F.Ya. Dense cultures of marine microalgae. *Bulletin of the Siberian Branch of the USSR Academy of Sciences. A series of biological sciences*, 1981, vol. 5, no. 1, pp.75-82 (In Russ.).

9. Jeffrey S.W., Mantoura R.F.C., Wright S.W. Phytoplankton pigments in oceanography: guidelines to modern methods. *UNESCO*, 1997, 661 p.

10. Merzlyak M.N., Naqvi K.R. On recording the true absorption and scattering spectrum of a turbid sample: application to cell suspensions of the cyanobacterium *Anabaena variabilis*. *J. Photochem. Photobiol. B: Biology*, 2000, vol. 58, pp. 123-129, doi: 10.1016/s1011-1344(00)00114-7.

11. Клочкова В.С., Лелеков А.С., Геворгиз Р.Г., Ширяев А.В., Бучельников А.С., Шупова Е.В. Изменение спектра оптической плотности накопительной культуры *Arthrospira (Spirulina) platensis*. *Актуальные вопросы биологической физики и химии*, 2021, т. 6, № 4, с. 543-547 [Klochkova V.S., Lelekov A.S., Gevorgiz R.G., Shiryayev A.V., Buchelnikov A.S., Shupova E.V. Changes in the optical density spectrum of the accumulation culture of *Arthrospira (Spirulina) platensis*. *Actual questions of biological physics and chemistry*, 2021, vol. 6, no. 4, pp. 543-547 (In Russ.)]

12. Геворгиз Р.Г., Шматок М.Г. Лелеков А.С. Расчёт КПД фотобиосинтеза у низших фототрофов. Непрерывная культура. *Экология моря*, 2005, вып. 70, с. 31-36 [Gevorgiz R.G., Shmatok M.G. Lelekov A.S. Calculation of the efficiency of photobiosynthesis in lower phototrophs. Continuous culture. *Marine Ecology*, 2005, vol. 70, pp. 31-36 (In Russ.)].

13. Тренкеншу Р.П., Лелеков А.С. *Моделирование роста микроводорослей*. Белгород: ООО «КОНСТАНТА», 2017, 152 с. [Trenkenshu R.P., Lelekov A.S. *Modeling of microalgae growth*. Belgorod: CONSTANTA LLC, 2017, 152 p. (In Russ.)].

14. Чернышев Д.Н., Клочкова В.С., Лелеков А.С. Моделирование спектра поглощения культуры *Phaeodactylum tricornerutum* Bohlin в красной области. *Вопросы современной альгологии*, 2023 [Chernyshev D.N., Klochkova V.S., Lelekov A.S. Modeling of the absorption spectrum of *Phaeodactylum tricornerutum* Bohlin culture in the red region. *Questions of modern algology*, 2023 (In Russ.)].

15. Лелеков А.С., Чернышев Д.Н., Клочкова В.С. Количественные закономерности роста накопительной культуры *Arthrospira platensis*. *Математическая биология и биоинформатика*, 2022, т. 17, № 1, с. 156-170, doi: 10.17537/2022.17.156 [Lelekov A.S., Chernyshev D.N., Klochkova V.S. Quantitative regularities of growth of the accumulative culture of *Arthrospira platensis*. *Mathematical Biology and Bioinformatics*, 2022, vol. 17, no. 1, pp. 156-170 (In Russ.)].

16. Ефимова Т.В. *Действие спектрального состава света на структурные и функциональные характеристики микроводорослей*: автореф. дис. канд. биол. наук. Севастополь, 2021, 28 с. [Efimova T.V. *Action of the spectral composition of light on structural and functional characteristics of microalgae*: Cand. of Biological Sciences. Sevastopol, 2021, 28 p. (In Russ.)].

17. Nymark M., Valle K.C., Brembu T., Hancke K, Winge P., Andresen K. et al. An Integrated Analysis of Molecular Acclimation to High Light in the Marine Diatom *Phaeodactylum tricornerutum*. *PLoS ONE*, 2009, vol. 4, no. 11, p. e7743, doi: 10.1371/journal.pone.0007743.

18. Flynn K.J. A mechanistic model for describing dynamic multi-nutrient, light, temperature interaction in phytoplankton. *J. Plan. Res*, 2001, vol. 23, pp. 977-997, doi: 10.1093/PLANKT/23.9.977.

19. Лелеков А.С., Тренкеншу Р.П. Моделирование динамики макромолекулярного состава микроводорослей в накопительной культуре. *Компьютерные исследования и моделирование*, 2023, т. 15, № 3, с. 739-756, doi: 10.20537/2076-7633-2023-15-3-739-756 [Lelekov A.S., Trenkenshu R.P. Modeling of dynamics of macromolecular composition of microalgae in accumulation culture. *Computer Research and Modeling*, 2023, vol. 15, no. 3, pp. 739-756 (In Russ.)].

20. Jallet D., Caballero M.A., Gallina A.A., Youngblood M., Peers G. Photosynthetic physiology and biomass partitioning in the model diatom *Phaeodactylum tricornerutum* grown in a sinusoidal light regime. *Algal Research*, 2016, vol. 18, pp. 51-60, doi: 10.1016/j.algal.2016.05.014.

PRODUCTION CHARACTERISTICS OF BATCH CULTURE *PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM* BOHLIN DURING PHOTOADAPTATION**Lelekov A.S.¹, Klochkova V.S.², Poplavskaya A.Yu.²**¹ A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS

Nakhimov Ave. Nakhimova, 2, Sevastopol, 299011, Russia; e-mail: viki-iki@mail.ru

² Sevastopol State University

Universitetskaya str. 33, Sevastopol, 299053, Russia; e-mail: a.lelekov@yandex.ru

Received 02.08.2023. DOI: 10.29039/rusjbp.2023.0634

Abstract. The study of light-dependent growth of batch culture *Phaeodactylum tricorutum* has been carried out. Based on the developed mathematical model of the true absorption spectrum, an express method for determining the concentration of photosynthetic pigments without interfering with the growth process of the culture was proposed. In the exponential phase at an irradiance of $120 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, the maximum specific synthesis rates of chlorophylls *a* and *c* were determined, which were 1,4 times higher than the specific growth rate of the culture and amounted to $0,3 \text{ day}^{-1}$. On the eighth day of the experiment, a kink in the growth curve was observed, which was expressed as a decrease in both growth rate and chlorophyll production. At the transition to the linear growth phase, the maximum productivity of *Phaeodactylum* was $0,15 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{day}^{-1}$, and chlorophyll production was $3,44$ and $2,85 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{day}^{-1}$ *a* and *c*, respectively. The dependence of the integral light absorption coefficient on chlorophyll *a* concentration was obtained, which is described by the Bouguer-Lambert-Bera law with a sufficient degree of accuracy; the specific light absorption coefficient was $0,10 \text{ m}^2\cdot\text{g}^{-1}$ dry matter and $0,008 \text{ m}^2\cdot\text{mg}^{-1}$ chlorophyll *a*. Comparison of the results obtained with literature data showed that at irradiances of $120 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ and $602 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ the specific rates of chlorophyll *a* synthesis are the same, and the maximum specific growth rate of *Ph. tricorutum* culture increases proportionally with increasing light intensity from $0,23$ to $0,91 \text{ day}^{-1}$. The results obtained indicate that chlorophyll *a* synthesis is determined not by the effective light intensity, but by the amount of reserve biomass accumulated during the previous light period.

Key words: modeling, specific growth rate, productivity, irradiation, chlorophyll *a*, light absorption coefficient.