

БИОФИЗИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ О ВЛИЯНИИ ПОЛИХРОМАТИЧЕСКОГО СВЕТА НА РОСТ, ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ И БЕЛКОВЫЙ МЕТАБОЛИЗМ МИКРОВОДОРОСЛИ *CHLORELLA VULGARIS* IBCE C-19

И. Д. КЛИМОВИЧ¹⁾, О. В. НЕДЗЬВЕДЬ¹⁾

¹⁾Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

Аннотация. Исследовано влияние полихроматического света на рост, фенотипические изменения и белковый метаболизм микроводоросли *Chlorella vulgaris* IBCE C-19. Впервые систематически изучены спектрозависимые биофизические эффекты в условиях, приближенных к солнечному освещению. Установлено, что синий (400–500 нм) и желто-зеленый (500–600 нм) диапазоны спектра стимулируют синтез белка, тогда как красный (600–700 нм) диапазон оказывает на него ингибирующее действие. Отмечен стимулирующий эффект ближнего ультрафиолетового излучения (380–400 нм), проявляющийся в увеличении количества клеток и удельной скорости роста микроводорослей. Увеличение доли дальнего красного света (700–780 нм) в спектре коррелирует со снижением интенсивности RGB-каналов, что может свидетельствовать об изменении относительного состава пигментов. Результаты работы имеют практическое значение для оптимизации световых режимов в биотехнологии микроводорослей.

Ключевые слова: *Chlorella vulgaris*; полихроматический свет; фоторецептор; белковый метаболизм; биофизика микроводорослей; феном.

Благодарность. Авторы выражают признательность Е. М. Кабачевской, кандидату биологических наук, заведующему лабораторией биофизики и биохимии растительной клетки Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, за предоставление штаммов микроводорослей, фитоламп, а также ценные советы и идеи, способствовавшие успешному выполнению исследования.

BIOPHYSICAL DATA ON THE INFLUENCE OF POLYCHROMATIC LIGHT ON THE GROWTH, PHENOTYPIC CHANGES AND PROTEIN METABOLISM OF MICROALGAE *CHLORELLA VULGARIS* IBCE C-19

I. D. KLIMOVICH^a, O. V. NEDZVEDZ^a

^aBelarusian State University, 4 Niezaliezhnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus

Corresponding author: I. D. Klimovich (posket.klimovich@gmail.com)

Abstract. The effect of polychromatic light on the growth, phenotypic changes and protein metabolism of microalgae *Chlorella vulgaris* IBCE C-19 has been studied. For the first time, spectrum-dependent biophysical effects have been

Образец цитирования:

Климович ИД, Недзьведзь ОВ. Биофизические данные о влиянии полихроматического света на рост, фенотипические изменения и белковый метаболизм микроводоросли *Chlorella vulgaris* IBCE C-19. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2026;1:24–32.
EDN: PFJPQS

For citation:

Klimovich ID, Nedzvedz OV. Biophysical data on the influence of polychromatic light on the growth, phenotypic changes and protein metabolism of microalgae *Chlorella vulgaris* IBCE C-19. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2026;1:24–32. Russian. EDN: PFJPQS

Авторы:

Иван Дмитриевич Климович – студент биологического факультета. Научный руководитель – О. В. Недзьведзь.
Ольга Валерьевна Недзьведзь – кандидат технических наук, доцент; доцент кафедры клеточной биологии и биотехнологии растений биологического факультета.

Authors:

Ivan D. Klimovich, student at the faculty of biology.
posket.klimovich@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-6156-7604>
Olga V. Nedzvedz, PhD (engineering), docent; associate professor at the department of cell biology and plant bioengineering, faculty of biology.
nedzved@bsu.by

systematically studied under conditions close to sunlight. It has been established that the blue (400–500 nm) and yellow-green (500–600 nm) spectral ranges stimulate protein synthesis, while red (600–700 nm) range has an inhibitory effect on it. The stimulative effect of near ultraviolet radiation (380–400 nm) was revealed, manifested in an increase in the number of cells and the specific growth rate of microalgae. An increase in the proportion of far-red light in the light spectrum (700–780 nm) correlates with a decrease in the intensity of RGB channels, which may indicate a change in the relative composition of pigments. The results of the work are of practical importance for optimising light modes in microalgae biotechnology.

Keywords: *Chlorella vulgaris*; polychromatic light; photoreceptor; protein metabolism; microalgae biophysics; phenom.

Acknowledgements. The authors express their gratitude to E. M. Kabachevskaya, PhD (biology), head of the laboratory of biophysics and biochemistry of plant cell of the Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus, for providing the algae strains and phytolamps, as well as for valuable advice and ideas that contributed to the successful completion of this study.

Введение

Современная биотехнология микроводорослей, в частности вида *Chlorella vulgaris* Beijerinck, активно развивается в контексте устойчивого производства биомассы, биотоплива, функциональных пищевых добавок и фармацевтических соединений. Одним из ключевых факторов, определяющих продуктивность и метаболическую направленность культивирования, является световой режим. Традиционно исследования фокусируются на монохроматическом освещении, тогда как потенциал полихроматических спектров изучен недостаточно, несмотря на их очевидное преимущество – приближенность к естественным солнечным условиям.

С биофизической точки зрения взаимодействие полихроматического света с фотосинтетическим аппаратом микроводорослей представляет собой сложный динамический процесс, включающий не только активацию различных фоторецепторов, но и каскад метаболических перестроек [1; 2]. Однако до настоящего времени отсутствуют достаточные систематические данные о том, как комбинации волн разной длины влияют на ростовые параметры, фенотипические изменения и, что особенно важно, на белковый метаболизм, определяющий выход целевых биотехнологических продуктов.

В исследованиях микроводорослей *Chlorella* чаще используются монохроматические источники света. Для типичной культуры микроводоросли *C. pyrenoidosa* H. Chick показано, что красный свет обеспечивает оптимальный прирост количества клеток, тогда как синий свет вызывает увеличение средних размеров клетки [3]. Кроме того, необходимо отметить, что согласно экспериментальным данным синий монохроматический свет стимулирует синтез пигментов, липидов и белков в культуре микроводорослей *Chlorella*, а красный монохроматический свет – синтез углеводов и липидов с увеличением выхода на сухую массу в сравнении с выходом на сухую массу белков [2]. Однако более оптимальными являются смешанные спектры: комплексное светодиодное освещение (красный свет : синий свет = 1 : 2) способствует росту концентрации белков, простых сахаров и углеводов в сравнении с таковой при монохроматическом освещении [4], а в случае увеличения доли синего света в спектре (красный свет : синий свет = 1 : 4) также стимулирует синтез аминокислот [2]. Обладает потенциалом и двухстадийное освещение, при котором культура сначала освещается красным, а затем синим светом. При таких условиях в суспензии микроводоросли *C. vulgaris* значительно увеличивается биомасса и повышается образование липидов [5]. Интерес представляют данные о том, что на экспоненциальной фазе роста микроводоросли *C. vulgaris* при интенсивности освещения 50 мкмоль · квант/(м² · с) (ниже средней рекомендуемой интенсивности) в случае использования белого и зеленого света содержание белка оказывается выше, чем в случае использования сине-зеленого и желтого света [6].

Для понимания биофизических основ спектрспецифичных перестроек метаболизма важно упомянуть разнообразие фоторецепторов. Сведения о фоторецепторных комплексах микроводоросли *C. vulgaris* являются малочисленными и чаще ограничиваются экстраполяцией данных модельных объектов (например, *Chlamydomonas reinhardtii* Dangeard), на которых эти белки изучены подробно [7]. Известно, что в качестве акцепторов света различной длины у водорослей присутствуют фототропины, ауреохромы, неохромы, криптохромы, фитохромы и родопсины. Для микроводоросли *C. kessleri* Fott & Nováková явно показано наличие фоторецептора, поглощающего в ультрафиолетовой и синей областях спектра, а также фоторецептора, поглощающего в красном диапазоне спектра и подобного по действию фитохрому [8]. У микроводоросли *Chlorella* sp. выявлен рецептор волн ультрафиолета В (280–315 нм) – UVR8 [9]. Кроме того, высказывалось предположение, что нитратредуктаза микроводоросли *C. saccharophila* (Krüger) Migula является мембранным фоторецептором синего света [10].

Таким образом, несмотря на обширные эмпирические данные о влиянии света на метаболизм микроводорослей *Chlorella*, эти сведения, как и данные об их фоторецепторных комплексах, остаются крайне фрагментарными и несистематизированными, что препятствует созданию целостной биофизической модели спектрзависимой регуляции физиологии рассматриваемых организмов.

Целью настоящего исследования было изучение влияния полихроматического света и выявление обусловленных им спектральнозависимых эффектов в метаболизме белка, росте и фенотипических изменениях микроводоросли *C. vulgaris* IBCE C-19.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования выступал штамм микроводоросли *C. vulgaris* IBCE C-19, полученный из коллекции водорослей Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси.

Культивирование объекта. В качестве питательной среды для культивирования использовали среду Тамия (pH 7,0), которая была приготовлена согласно методике, изложенной в работе [11], и имела следующий состав: KNO_3 – 5,0 г/л, K_2HPO_4 – 0,9 г/л, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 2,5 г/л, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,05 г/л, Na_2CO_3 – 0,02 г/л, EDTA – 0,002 г/л, FeSO_4 – 0,003 г/л, раствор микроэлементов по Арнону – 1,0 мл/л. Готовую среду стерилизовали автоклавированием. Уровень pH контролировали на протяжении всего культивирования с помощью pH-метра HI 2211-02 (*Hanna Instruments*, Германия).

Воздухообмен и перемешивание осуществлялись вручную дважды в сутки. Следует отметить, что данный протокол культивирования не обеспечивает постоянной гомогенности среды и может создавать временные диффузионные ограничения по газам, особенно в фазу активного роста при высокой плотности клеток.

Микроводоросль культивировали в течение 14 сут при интенсивности освещения $200 \text{ мкмоль} \cdot \text{квант}/(\text{м}^2 \cdot \text{с})$, фотопериоде 16 ч света и 8 ч темноты и температуре $(23 \pm 1)^\circ\text{C}$. Использовались пять фитоламп с различным спектральным составом света (табл. 1), приближенным к солнечному освещению. Под каждой фитолампой находилось по три колбы с суспензией (т. е. три биологические повторности).

Необходимо уточнить, что в данном исследовании отсутствовал контроль (монохроматический белый свет), ввиду чего приведенные в статье выводы носят сравнительный характер относительно фитоламп. По этой причине необходимо проведение дальнейших исследований для подтверждения спектральной специфичности выявленных эффектов относительно монохроматического контроля.

Таблица 1

Основные характеристики используемых фитоламп

Table 1

Main characteristics of the phytolamps used

Номер фитолампы	Спектральный состав света, %					Цветовая температура, К	Индекс цветопередачи (R_a)
	$\lambda = 380\text{--}400 \text{ нм}$	$\lambda = 400\text{--}500 \text{ нм}$	$\lambda = 500\text{--}600 \text{ нм}$	$\lambda = 600\text{--}700 \text{ нм}$	$\lambda = 700\text{--}780 \text{ нм}$		
1	0,10	14,4	27,3	39,5	19,0	4550	91
2	0,10	10,7	31,8	39,9	17,6	4050	89
3	0,20	23,4	35,2	33,9	6,8	5260	98
4	0,26	9,9	31,5	48,7	9,1	2990	97
5	0,64	17,8	34,9	39,3	7,0	4090	97

Примечание. Символ λ – длина волны.

Оценка ростовых параметров. Оптическую плотность суспензий определяли на 0, 7 и 14-е сутки культивирования с помощью УФ-видимого спектрофотометра PB2201 (*SOLAR*, Беларусь) при длине волны 560 нм. Удельную скорость роста культуры ($v_{\text{уд}}$) оценивали относительно 0-х и 7-х суток культивирования по формуле

$$v_{\text{уд}} = \frac{\ln\left(\frac{OD_{\text{кон}}}{OD_{\text{нач}}}\right)}{7},$$

где $OD_{\text{кон}}$ – оптическая плотность суспензии на 7-е сутки культивирования; $OD_{\text{нач}}$ – оптическая плотность суспензии на 0-е сутки культивирования.

Время удвоения культуры ($t_{\text{удв}}$) рассчитывали по формуле

$$t_{\text{удв}} = \frac{\lg 2}{v_{\text{уд}}}.$$

Выделение белка и определение его концентрации. Для выделения белка использовали 5 мл суспензии 14-дневной культуры, клетки из которой осаждали центрифугированием при 4000 об/мин

в течение 10 мин на центрифуге 3-18KS (*Sigma*, Германия). Супернатант сливали, а к осадку добавляли 2 мл 1 моль/л NaOH и ресуспендировали. Далее для разрушения клеточных стенок и выделения белка в раствор образец вносили в ультразвуковую ванночку ZX-010S 2L (*Skymen*, Китай) на 10 мин при температуре 45 °C, частоте 40 кГц и мощности 60 Вт. Затем образец центрифугировали при 10 000 об/мин в течение 10 мин и отбирали супернатант для дальнейшего анализа.

Для определения концентрации белка к 100 мкл изучаемого раствора прибавляли 1,9 мл реактива Бредфорда (приготовлен согласно методике, изложенной в работе [12]), после чего оставляли смесь инкубироваться на 10 мин при комнатной температуре и постоянном перемешивании. Измерения проводили посредством спектрофотометра Cary-50 (*Variant Inc.*, Австралия) при длине волны 595 нм в трех аналитических повторностях. В качестве контрольного образца выступал 1 моль/л NaOH. Калибровочную кривую строили, используя серию разведений бычьего сывороточного альбумина в диапазоне концентраций 10–600 мкг/мл.

Получение изображений клеток. Изображения 7-дневных культур для фенотипирования получали с помощью инвертированного микроскопа Nikon Eclipse TS100F (*Nikon*, Япония), оборудованного автоматизированным 3D-столиком H138A (*Prior Scientific*, Япония) и цифровой камерой Infinity X-32 (*DeltaPix*, Дания), при увеличении $\times 20$. Для каждой биологической повторности было сделано по 10 снимков.

Фенотипирование клеток. Феномные исследования включали в себя анализ площади клеток и цветовых характеристик изображений. Для количественного описания цвета клеток выполнялась декомпозиция изображений на три цветовых канала стандартной модели RGB – красный (R), зеленый (G) и синий (B). Анализ средней интенсивности каждого канала позволял получить дескрипторы, которые использовались как объективные численные оценки визуальных характеристик клеток. Для этого был разработан и реализован программный код на языке программирования Python с применением библиотек OpenCV, Pandas, NumPy и Matplotlib, а также функций настройки окружения (`setup_folders`, `get_image_files`), предобработки изображения (`preprocess_image`), включая гауссово размытие и бинаризацию по Оцу, сегментации методом водораздела (`segment_cells`), оценки размера клеток (`count_and_filter`) и RGB-анализа (`analyze_colors`). Код доступен в репозитории GitHub (github.com/ivanklimovich19/chlorella_phenomics.git).

Статистический анализ данных. Статистическая обработка включала оценку следующих параметров: среднего арифметического ($\bar{X}$), стандартного отклонения, стандартной ошибки среднего арифметического (S_x), коэффициента корреляции Пирсона (r). Расчет статистических показателей и визуализация данных были реализованы в программе *Excel 2022* (*Microsoft*), а также на языках программирования Python и R. Нормальность распределения данных проверяли с помощью теста Шапиро – Уилка. Статистическую достоверность различий оценивали, используя метод дисперсионного анализа (*analysis of variance*, ANOVA) с постхок-тестом Тьюки при уровне значимости $p < 0,05$. Для интерпретации силы корреляции использовали шкалу Чеддока [13].

Результаты и их обсуждение

На первом этапе исследования были оценены физиологические (оптическая плотность суспензий, удельная скорость роста и время удвоения культуры) и биохимические (концентрация белка) показатели культур микроводоросли *C. vulgaris* IBCE C-19, выращенных при различных условиях освещения. В начале эксперимента различий в оптической плотности суспензий не наблюдалось. На 7-е сутки культивирования по оптической плотности статистически значимо отличались суспензии, выращенные под фитолампами 2–5, при этом максимальное значение данного показателя ($0,91 \pm 0,01$) выявлено у суспензии, выращенной под фитолампой 5, а минимальное значение ($0,79 \pm 0,04$) – у суспензии, выращенной под фитолампой 2 (табл. 2).

Таблица 2

Оптическая плотность суспензий
и концентрация белка в культурах микроводоросли *C. vulgaris* IBCE C-19,
выращенных при различных условиях освещения

Table 2

Optical density of suspensions
and protein concentration in *C. vulgaris* IBCE C-19 cultures
grown under various lighting conditions

Номер фитолампы	Оптическая плотность суспензий			Концентрация белка, мкг/мл
	0-е сутки культивирования	7-е сутки культивирования	14-е сутки культивирования	
1	$0,69 \pm 0,01$	$0,80 \pm 0,02$	$1,00 \pm 0,07$	$191,71 \pm 14,15$
2	$0,69 \pm 0,01$	$0,79 \pm 0,04^*$	$0,99 \pm 0,05$	$184,72 \pm 4,39^*$

Окончание табл. 2
Ending of the table 2

Номер фитоламп	Оптическая плотность суспензий			Концентрация белка, мкг/мл
	0-е сутки культивирования	7-е сутки культивирования	14-е сутки культивирования	
3	0,69 ± 0,02	0,82 ± 0,03*	0,99 ± 0,02	227,97 ± 2,07*
4	0,69 ± 0,01	0,87 ± 0,01*	1,01 ± 0,06	171,47 ± 7,54*
5	0,69 ± 0,01	0,91 ± 0,01*	0,99 ± 0,05	197,80 ± 13,08

Примечания: 1. Данные представлены в виде $X \pm S_x$. 2. Знаком * отмечены достоверные различия относительно других выборок в попарных тестах ($p < 0,05$; $n = 3$) и данные, используемые для дальнейшего анализа.

Удельная скорость роста культуры оценивалась относительно 0-х и 7-х суток культивирования, поскольку статистически значимых различий в оптической плотности суспензий на 14-е сутки культивирования не выявлено. Наибольшая удельная скорость роста культуры ($(0,04 \pm 0,01) \text{ сут}^{-1}$) отмечена при культивировании микроводорослей с использованием фитолампы 5, наименьшая ($(0,020 \pm 0,008) \text{ сут}^{-1}$) – при культивировании микроводорослей с использованием фитолампы 2. Время удвоения культуры обратно зависит от удельной скорости ее роста, поэтому минимальное значение рассматриваемого показателя ($(7,74 \pm 2,19) \text{ сут}$) выявлено у культур, выращенных под фитолампой 5, а максимальное значение ($(15,05 \pm 5,31) \text{ сут}$) – у культур, выращенных под фитолампой 2. Соответствующие данные представлены в виде диаграмм на рис. 1.

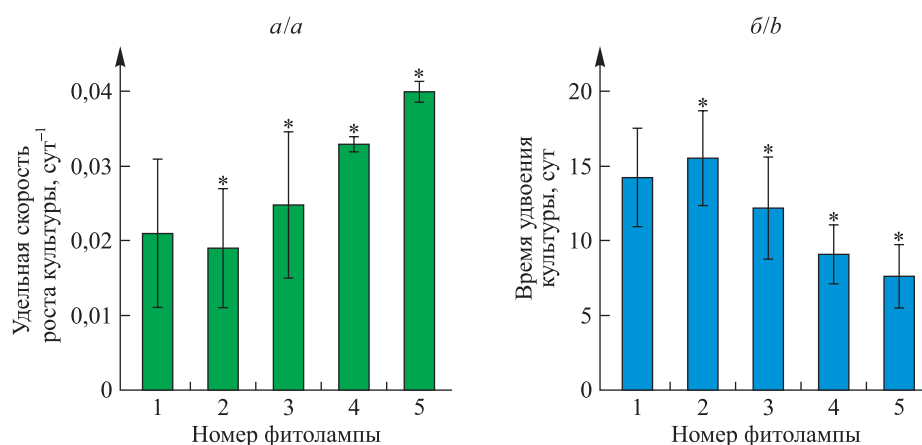


Рис. 1. Удельная скорость роста (а) и время удвоения (б) культур микроводоросли *C. vulgaris* IBCE C-19, выращенных при различных условиях освещения. Знаком * отмечены достоверные различия относительно других выборок в попарных тестах ($p < 0,05$; $n = 3$) и данные, используемые для дальнейшего анализа

Fig. 1. Specific growth rate (a) and doubling time (b) of *C. vulgaris* IBCE C-19 cultures grown under various lighting conditions. Sign * indicates significant differences relative to other samples in pairwise tests ($p < 0.05$; $n = 3$) and data used for further analysis

Из результатов, представленных в табл. 2, видно, что достоверные различия в концентрации белка выявлены у суспензий, выращенных под фитолампами 2–4. Максимальное значение данного показателя ($(227,97 \pm 2,07) \text{ мкг/мл}$) зарегистрировано у образцов, выращенных под фитолампой 3, минимальное значение ($(171,47 \pm 7,54) \text{ мкг/мл}$) – у образцов, выращенных под фитолампой 4, что соответствует размаху значений 25 %. Важно отметить, что отсутствие различий в количестве клеток на 14-е сутки культивирования позволяет напрямую связать наблюдаемые различия в накоплении белка с изменением активности его синтеза, а не с количеством клеток.

На рис. 2 представлены изображения 7-дневных культур микроводоросли *C. vulgaris* IBCE C-19, выращенных при различных условиях освещения.

Результаты феноменного анализа (табл. 3) позволили обнаружить статистически значимые различия в площади клеток между культурами, выращенными под фитолампами 1–4. Максимальная площадь клеток ($(216,59 \pm 35,87) \text{ пк}$) отмечена при культивировании микроводорослей с использованием фитолампы 1, минимальная ($(121,53 \pm 26,47) \text{ пк}$) – при культивировании микроводорослей с использованием фитолампы 4, т. е. размах значений составил 44 %.

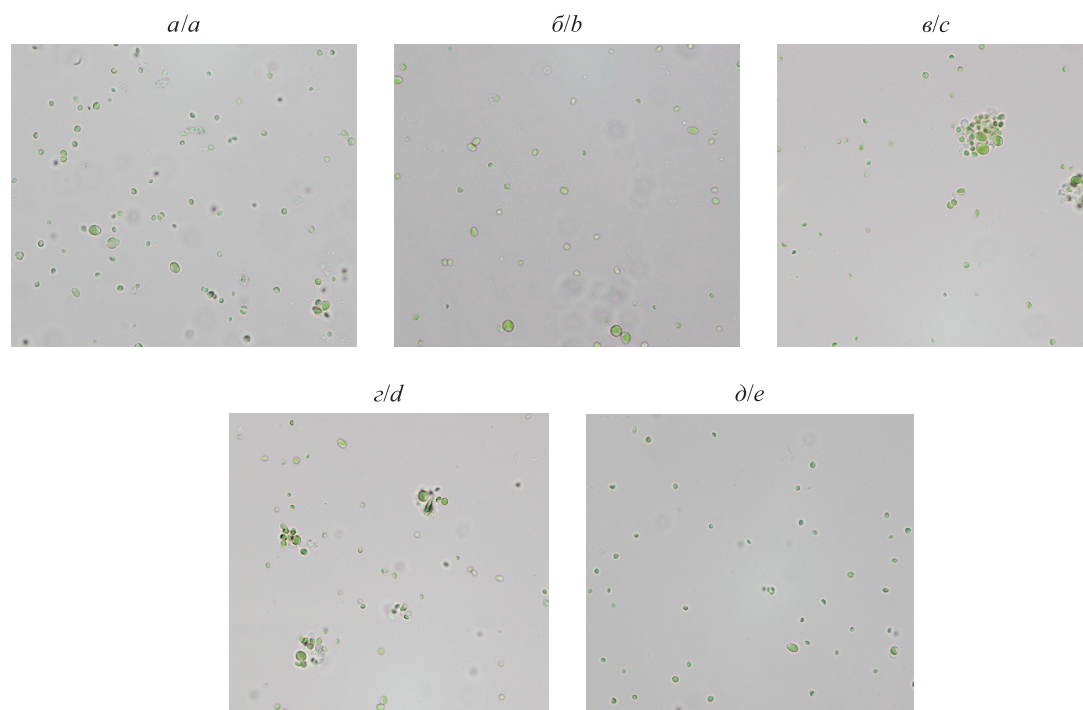


Рис. 2. Изображения 7-дневных культур микроводоросли *C. vulgaris* IBCE C-19, выращенных при различных условиях освещения (увеличение $\times 20$):
а – фитолампа 1; б – фитолампа 2; в – фитолампа 3; г – фитолампа 4; д – фитолампа 5

Fig. 2. Images of 7-day-old cultures of *C. vulgaris* IBCE C-19 grown under various lighting conditions (magnification $\times 20$):
а – phytolamp 1; б – phytolamp 2; в – phytolamp 3; г – phytolamp 4; д – phytolamp 5

Таблица 3

Результаты феномного анализа изображений 7-дневных культур микроводоросли *C. vulgaris* IBCE C-19, выращенных при различных условиях освещения

Table 3

Results of phenomic analysis of images of 7-day-old cultures of *C. vulgaris* IBCE C-19 grown under various lighting conditions

Номер фитолампы	Средняя площадь клеток, пк	RGB-показатели		
		Средняя интенсивность R-канала	Средняя интенсивность G-канала	Средняя интенсивность В-канала
1	$216,59 \pm 35,87^*$	$187,59 \pm 0,09^*$	$185,52 \pm 0,09^*$	$184,99 \pm 0,13^*$
2	$136,43 \pm 24,87^*$	$188,27 \pm 0,05^*$	$186,20 \pm 0,05^*$	$185,94 \pm 0,06^*$
3	$198,75 \pm 33,10^*$	$189,06 \pm 0,11^*$	$186,81 \pm 0,08^*$	$186,47 \pm 0,10^*$
4	$121,53 \pm 26,47^*$	$189,46 \pm 0,02^*$	$187,03 \pm 0,02^*$	$186,76 \pm 0,02^*$
5	$137,89 \pm 33,86$	$189,48 \pm 0,02$	$187,06 \pm 0,02$	$186,81 \pm 0,03$

Примечания: 1. Данные представлены в виде $X + S_x$. 2. Знаком * отмечены достоверные различия относительно других выборок в попарных тестах ($p < 0,05$; $n = 3$) и данные, используемые для дальнейшего анализа.

Результаты анализа RGB-показателей свидетельствуют, что во всех выборках средние интенсивности каждого канала соизмеримо отличаются друг от друга. Статистически значимыми оказались различия в RGB-характеристиках изображений микроводорослей, выращенных под фитолампами 1–4. Среди них максимальные средние интенсивности R-, G- и В-каналов ($189,46 \pm 0,02$, $187,03 \pm 0,02$ и $186,76 \pm 0,02$ соответственно) отмечены у образцов, культивируемых под фитолампой 4, а минимальные средние интенсивности R-, G- и В-каналов ($187,59 \pm 0,09$, $185,52 \pm 0,09$ и $184,99 \pm 0,13$ соответственно) – у культур, выращенных под фитолампой 1. Размах значений для трех каналов составил около 1 %, т. е. при кажущемся статистически значимом различии интенсивность цветочных каналов, вероятно, является мало-вариабельной величиной, что подтверждают также морфологически сходные кривые распределения интенсивностей (рис. 3).

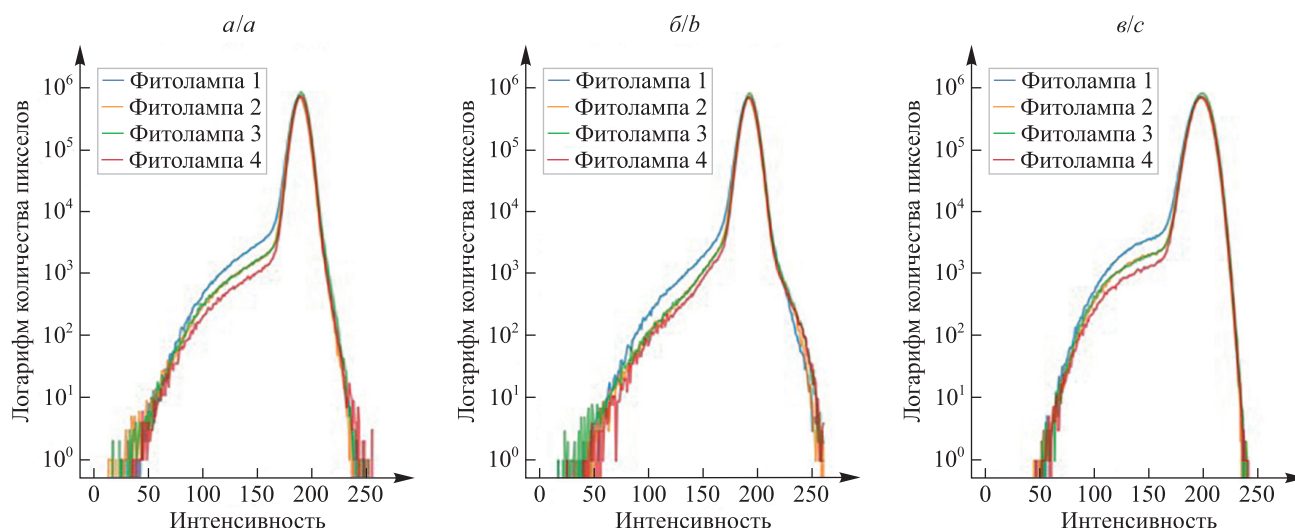


Рис. 3. Кривые распределения интенсивностей пикселей изображений культур микроводоросли *C. vulgaris* IBCE C-19, выращенных при различных условиях освещения: а – R-канал; б – G-канал; в – B-канал
Fig. 3. Pixel intensity distribution curves of images of *C. vulgaris* IBCE C-19 cultures grown under various lighting conditions: а – R channel; б – G channel; в – B channel

Ключевой частью настоящего исследования было изучение взаимосвязей между спектральным составом света и биохимическими характеристиками микроводоросли *C. vulgaris* IBCE C-19. Проведенный корреляционный анализ (табл. 4) выявил очень сильную положительную линейную связь между концентрацией белка в культуре микроводоросли *C. vulgaris* IBCE C-19 и долей волн длиной 400–500 и 500–600 нм в спектре ($r = 0,969$ и $r = 0,976$ соответственно). Кроме того, отмечена сильная ($r = 0,844$) отрицательная линейная корреляция между количеством накопленного белка и долей волн длиной 600–700 нм в спектре. Полученные зависимости в целом соответствуют известным из литературы данным о том, что синий свет (400–500 нм) стимулирует накопление белка в клетке, в отличие от красного света (600–700 нм), перенаправляющего стимуляцию синтеза с белков на углеводы и липиды [2]. Вероятно, это обусловлено активацией фототропинов (phot1, phot2) и (или) криптохромов (cry1, cry2) либо сходных с ними рецепторов, акцептирующих синий свет [14]. Кроме того, интерес представляют данные, полученные относительно желто-зеленого света (500–600 нм), так как ранее было показано, что зеленое монохроматическое освещение оказывает сравнительно меньшее влияние на накопление белка [3]. Продемонстрированная высокая чувствительность к зеленому свету требует проведения дополнительных исследований. Данный эффект может быть обусловлен синергией с синим диапазоном спектра или спецификой штамма IBCE C-19.

Таблица 4

Результаты корреляционного анализа влияния спектрального состава света на физиологические, биохимические и феномные характеристики микроводоросли *C. vulgaris* IBCE C-19

Table 4

Data from the correlation analysis of the effect of the spectral composition of light on the physiological, biochemical and phenomic characteristics of *C. vulgaris* IBCE C-19

Тип взаимосвязи	Коэффициент корреляции Пирсона	Характер связи	Уровень значимости (p)	Количество повторностей (n)
Концентрация белка и доля волн длиной 400–500 нм в спектре	0,969 (+)	Очень высокая	<0,05	3
Концентрация белка и доля волн длиной 500–600 нм в спектре	0,976 (+)	Очень высокая	<0,05	3
Концентрация белка и доля волн длиной 600–700 нм в спектре	0,844 (–)	Высокая	<0,05	3

Окончание табл. 4
Ending of the table 4

Тип взаимосвязи	Коэффициент корреляции Пирсона	Характер связи	Уровень значимости (p)	Количество повторностей (n)
Оптическая плотность суспензий и доля волн длиной 380–400 нм в спектре	0,889 (+)	Высокая	<0,05	3
Удельная скорость роста культуры и доля волн длиной 380–400 нм в спектре	0,862 (+)	Высокая	<0,05	3
Средняя интенсивность R-канала и доля волн длиной 700–780 нм в спектре	0,861 (–)	Высокая	<0,05	3
Средняя интенсивность G-канала и доля волн длиной 700–780 нм в спектре	0,856 (–)	Высокая	<0,05	3
Средняя интенсивность G-канала и доля волн длиной 500–600 нм в спектре	0,601 (+)	Заметная	<0,05	3

Примечание. В скобках знак «плюс» соответствует положительной корреляции, знак «минус» – отрицательной.

Спектральный состав фитоламп также оказал влияние на физиологические показатели микроводоросли *C. vulgaris* IBCE C-19, что проявилось в виде сильной положительной линейной зависимости между оптической плотностью суспензий на 7-й день культивирования ($r = 0,889$), удельной скоростью роста культуры ($r = 0,862$) и долей волн длиной 380–400 нм в спектре. Данный диапазон соответствует ближнему ультрафиолетовому излучению, которое, как известно, способно индуцировать окислительный стресс у фототрофных организмов, включая микроводоросли. Однако при доле $\leq 0,64\%$ в общем спектре и в сочетании с компенсирующим действием фотосинтетически активной радиации (400–700 нм) ультрафиолет может вызывать повышение уровня активных форм кислорода, приводящее к запуску сигнальных систем и активации механизмов антиоксидантной защиты (например, синтезу каротиноидов), усилению репарации ДНК, накоплению защитных вторичных метаболитов (в частности, фенолов) [15; 16]. Кроме того, ближнее ультрафиолетовое излучение активирует криптохромы, участвующие в том числе в регуляции клеточного цикла микроводорослей [17]. Это обстоятельство может дополнительно способствовать наблюдаемому активному росту культуры. Выявление данных механизмов также требует проведения дополнительных исследований.

Анализ корреляций спектрального состава фитоламп с RGB-характеристиками изображений микроводорослей выявил сильные отрицательные связи между дальним красным светом (700–780 нм) и средними интенсивностями R- и G-каналов ($r = 0,856$ и $r = 0,861$ соответственно), а также заметную положительную корреляцию между желто-зеленым диапазоном спектра (500–600 нм) и средней интенсивностью G-канала ($r = 0,601$).

Хотя представленные данные согласуются с известными оптическими свойствами хлорофилла (отражение зеленого света и ингибирование синтеза хлорофилла дальним красным светом), следует подчеркнуть ограничения RGB-анализа как косвенного метода оценки пигментного состава. В частности, наблюдаемая отрицательная корреляция между средней интенсивностью G-канала и долей красного света в спектральном составе фитоламп может отражать не только изменения содержания хлорофилла, но и другие физиологические адаптации, например морфологические преобразования клеток. Особенно осторожного подхода требует интерпретация поведения R-канала, демонстрирующего отрицательную корреляцию с дальним красным светом. Важно учитывать, что выявленные закономерности требуют подтверждения с использованием прямых методов анализа пигментов (спектрофотометрия, высокоэффективная жидкостная хроматография).

Иных значимых корреляций между исследованными параметрами и спектральным составом фитоламп не обнаружено.

Заключение

Проведенное исследование позволило выявить ключевые биофизические закономерности взаимодействия полихроматического света с культурами микроводоросли *C. vulgaris* IBCE C-19. Полученные результаты демонстрируют выраженную спектральную специфичность физиологических ответов: синий (400–500 нм) и желто-зеленый (500–600 нм) диапазоны спектра статистически значимо стимулировали накопление белка, что может быть связано с активацией фоторецепторных систем, чувствительных к синему свету. В то же время красный свет (600–700 нм) оказывал ингибирующее действие на синтез белка, вероятно, за счет перераспределения метаболических потоков. Кроме того, выявлен стимулирующий эффект ближнего ультрафиолетового излучения (380–400 нм), которое при вкладе $\leq 0,64\%$ в общий спектр повышало скорость роста культуры, возможно, через активацию защитных систем и (или) рецепторопосредованные сигнальные пути. Впервые для микроводорослей *Chlorella* были изучены корреляции между интенсивностями цветовых каналов и спектральным составом света. Особый интерес представляет выявленное сильное влияние дальнего красного света (700–780 нм), проявляющееся в согласованном снижении средних интенсивностей R- и G-каналов, что может отражать комплексную перестройку пигментного аппарата и фотосинтетических систем, но ввиду ограниченности RGB-анализа этот механизм является предположительным и требует прямой биохимической проверки.

Библиографические ссылки

1. Tamoi M, Shigeoka S. Diversity of regulatory mechanisms of photosynthetic carbon metabolism in plants and algae. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2015;79(6):870–876. DOI: 10.1080/09168451.2015.1020754.
2. Shi R, Dong G, Wang H, Chen F, Bi Y. A review on the optimization of light conditions in *Chlorella* culture. *BIO Web of Conferences*. 2024;142:02011. DOI: 10.1051/bioconf/202414202011.
3. Zhu T, Guan G, Huang L, Wen L, Li L, Ren M. Transcriptomic and metabolomic analysis reveal the effects of light quality on the growth and lipid biosynthesis in *Chlorella pyrenoidosa*. *Biomolecules*. 2024;14(9):1144. DOI: 10.3390/biom14091144.
4. Liu X, Hong Y, Gu W. Influence of light quality on *Chlorella* growth, photosynthetic pigments and high-valued products accumulation in coastal saline-alkali leachate. *Water Reuse*. 2021;11(2):301–311. DOI: 10.2166/wrd.2021.088.
5. Kim DG, Lee C, Park S-M, Choi Y-E. Manipulation of light wavelength at appropriate growth stage to enhance biomass productivity and fatty acid methyl ester yield using *Chlorella vulgaris*. *Bioresource Technology*. 2014;159:240–248. DOI: 10.1016/j.biortech.2014.02.078.
6. del Pilar Sánchez-Saavedra M, Saucedo-Carvajal D, Castro-Ochoa FY, Molina-Cárdenas CA. The use of light spectra to improve the growth and lipid content of *Chlorella vulgaris* for biofuels production. *Bioenergy Research*. 2020;13(2):487–498. DOI: 10.1007/s12155-019-10070-1.
7. Kianianmomeni A, Hallmann A. Algal photoreceptors: *in vivo* functions and potential applications. *Planta*. 2014;239(1):1–26. DOI: 10.1007/s00425-013-1962-5.
8. Meya G, Kowallik W. Involvement of two different photoreceptors in the light regulation of glutamine synthetase activity in a chlorophyll-free *Chlorella* mutant. *Zeitschrift für Naturforschung C*. 1994;49(11–12):757–762. DOI: 10.1515/znc-1994-11-1210.
9. Fernández MB, Tossi V, Lamattina L, Cassia R. A comprehensive phylogeny reveals functional conservation of the UV-B photoreceptor UVR8 from green algae to higher plants. *Frontiers in Plant Science*. 2016;7:1698. DOI: 10.3389/fpls.2016.01698.
10. Stöhr C, Glogau U, Mätschke M, Tischner R. Evidence for the involvement of plasma-membrane-bound nitrate reductase in signal transduction during blue-light stimulation of nitrate uptake in *Chlorella saccharophila*. *Planta*. 1995;197(4):613–618. DOI: 10.1007/BF00191568.
11. Moriyama T, Terasawa K, Sekine K, Toyoshima M, Koike M, Fujiwara M, et al. Characterization of cell-cycle-driven and light-driven gene expression in a synchronous culture system in the unicellular rhodophyte *Cyanidioschyzon merolae*. *Microbiology*. 2010;156(6):1730–1737. DOI: 10.1099/mic.0.037754-0.
12. Olson BJSC. Assays for determination of protein concentration. *Current Protocols in Pharmacology*. 2016;73:A.3A.1–A.3A.32. DOI: 10.1002/cpph.3.
13. Котеров АН, Ушенкова ЛН, Зубенкова ЭС, Калинина МВ, Бирюков АП, Ласточкина ЕМ и др. Сила связи. Сообщение 2. Градации величины корреляции. *Медицинская радиология и радиационная безопасность*. 2019;64(6):12–24. DOI: 10.12737/1024-6177-2019-64-6-12-24.
14. Baidya A, Akter T, Islam MR, Shah AKMA, Hossain MA, Salam MA, et al. Effect of different wavelengths of LED light on the growth, chlorophyll, β -carotene content and proximate composition of *Chlorella ellipsoidea*. *Heliyon*. 2021;7(12):e08525. DOI: 10.1016/j.heliyon.2021.e08525.
15. Holzinger A, Lütz C. Algae and UV irradiation: effects on ultrastructure and related metabolic functions. *Micron*. 2006;37(3):190–207. DOI: 10.1016/j.micron.2005.10.015.
16. Erofeeva EA. Plant hormesis: the energy aspect of low and high-dose stresses. *Plant Stress*. 2024;14:100628. DOI: 10.1016/j.stress.2024.100628.
17. Beel B, Prager K, Spexard M, Sasso S, Weiss D, Müller N, et al. A flavin binding cryptochrome photoreceptor responds to both blue and red light in *Chlamydomonas reinhardtii*. *The Plant Cell*. 2012;24(7):2992–3008. DOI: 10.1105/tpc.112.098947.