

ДЛИННОВОЛНОВЫЕ ХЛОРОФИЛЛЫ В СЕСТОНЕ ВОДОЕМОВ БАСЕЙНА СРЕДНЕЙ ВОЛГИ

© 2015 М.Ю. Горбунов

Институт экологии Волжского бассейна РАН, Тольятти

Статья поступила в редакцию 01.04.2015

Проведен анализ >350 пигментных проб сестона аэробных и микроаэробных слоев озер и водохранилищ бассейна Средней Волги и Камы. Полученные данные однозначно указывают на присутствие во многих пробах липофильных пигментов, вызывающих повышенное поглощение в области спектра 690-700 нм. В части проб это аномальное поглощение может быть обусловлено продуктами деструкции растительных пигментов, например, производными пурпурина. Однако в ряде проб из верхней, микроаэробной части хемоклина стратифицированных озер, оно, наиболее вероятно, обусловлено присутствием «длинноволновых хлорофиллов» - хлорофиллов «d» и «f». С учетом экологических особенностей этой зоны, а также почти повсеместного распространения хлорофилл-«d» содержащих цианобактерий в океанах, развитие фототрофных организмов (предположительно, цианобактерий), облигатно или факультативно синтезирующих эти хлорофиллы, представляется одним из вероятных объяснений этого явления.

Ключевые слова: фотосинтетические пигменты, «длинноволновые» хлорофиллы, продукты деструкции, пресные водоемы, спектрофотометрический пигментный анализ, ИК-адаптированные цианобактерии.

ВВЕДЕНИЕ

Хлорофилл (Хл) «d», четвертый из растительных хлорофиллов, был обнаружен еще в 1940-х годах в экстрактах красных водорослей [18]. Его особенностью является аномально длинноволновое положение «красного» максимума поглощения (Q_y), который расположен при 690-696 нм, т.е. более чем на 20 нм сдвинут в сторону ИК-области спектра по сравнению с максимумом Хл «a», и еще более – в сравнении с другими известными на то время фотосинтетическими пигментами с «фитохлороиновым» кольцом (рис.1). К началу 1960-х г. была определена его химическая структура, однако одновременно возникли сомнения в том, что он является облигатным фотосинтетическим пигментом всех Rhodophyta или даже отдельных красных водорослей [8]. Только в 1990-х гг. был обнаружен действительно синтезирующий этот пигмент организм, симбиотическая морская цианобактерия *Acaryochloris marina* Miyashita et Chihara 2003, нативный максимум поглощения которой расположен при длине волны 710-720 нм [19]. К настоящему времени из морских и океанических проб выделено еще несколько штаммов этого вида, в том числе свободноживущих [17]. Недавно были обнаружены организмы, синтезирующие еще один «длинноволновой» хлорофилл, Хл «f», красный максимум которого расположен при еще больших длинах волн, при 707 нм в метанольном растворе [4]. Вместе эти два пигмента принято называть «long-wavelength»

или «red-shifted chlorophylls», или, в русском переводе, «длинноволновые» хлорофиллы.

В 2008 г. Кашияма с соавторами показали, что Хл «d» обнаруживается почти повсеместно, и, в том числе, в донных отложениях пресных озер [10]. Однако до последнего времени никакой информации о пресноводных фототрофных организмах, синтезирующих этот хлорофилл, не было. В связи с этим, и поскольку ранее мы неоднократно обнаруживали признаки присутствия длинноволновых хлороиновых пигментов в сестоне некоторых озер бассейна Средней Волги [1], представлялось оправданным проанализировать в плане их наличия все имеющиеся данные о спектрах пигментных экстрактов сестона озер и водохранилищ бассейна средней Волги, полученные за 2006-2013 гг.

К моменту написания этой статьи было анонсировано выделение в культуру первого пресноводного штамма *Acaryochloris* [20]; появились также новые данные, которые существенно меняют общие представления о таксономической и экологической распространенности «длинноволновых» хлорофиллов [6,7]. Как оказалось, многие цианобактерии способны синтезировать эти пигменты в условиях недостатка видимого света. Одновременно, однако, появились и данные о возможности окислительной конверсии хлорофилла «a» и его производных в соответствующие производные хлорофиллов «d», «f» и других формильных производных хлорофилла «a» в результате неферментативных процессов в мягких условиях, сходных с природными [16]. Представляется, что результаты, представленные в настоящей статье, отражают как геохимические

Горбунов Михаил Юрьевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник. E-mail: myugor@pochta.ru

процессы трансформации хлорофилла “а”, так и экологическую пластичность цианобактерий при адаптации к световым условиям с доминированием света ближнего ИК-диапазона.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Пробы сестона отбирались в 2006-2013 гг. из различных станций и горизонтов озер бассейна Средней Волги на территории Самарской обл., респ. Башкортостан, Татарстан и Марий-Эл, а также в Саратовском и Куйбышевском водохранилищах и каскаде водохранилищ Камы. В зависимости от водоема для отбора проб использовали батометр Руттнера или тонкослойный отборник. Пробы фильтровали через фильтры с порогом удержания 0,5-1,2 мкм. В разные годы использовались ядерные фильтры производства ИЯИ (Дубна), нитрат/ацетат-целлюлозные фильтры производства фирм Vladipor и Vladisart (Владимир, Россия) и стеклянные фильтры производства Vladisart. Фильтры высушивали на воздухе в темноте и хранили до экстракции при -30°C до 6 месяцев, но как правило, не более 1 месяца. Осадки на фильтрах экстрагировали в течение суток в 90% ацетоне в темноте при 4°C. Спектры поглощения экстрактов регистрировали на спектрофотометре Spekord M-40 в диапазоне длин волн 350-900 нм. Затем экстракты подкисляли 1% (v/v) 6M HCl для феофитинизации хлорофиллов, и через 5 мин повторно регистрировали спектры поглощения. По этим данным рассчитывали спектры снижения поглощения при подкислении (далее – “спектры феофитинизации”).

При анализе спектров использовали расчеты по многоволновым формулам, предложенным Ritchie в [26] и метод “спектральной реконститу-

ции” [21], т.е. разложение спектра исследуемого экстракта в линейную комбинацию спектров индивидуальных пигментов (рис. 1) с помощью многомерной регрессии.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Ранее нами было обнаружено, что в пигментных экстрактах сестона нескольких высокогумозных озер Самарской области наблюдается повышенное поглощение света в области 690-595 нм [1], указывающее на возможное присутствие Хл «d». В спектрах пигментных экстрактов это избыточное поглощение проявлялось в виде небольшого плеча при 690-695 нм (рис. 2). Расчет концентраций хлорофиллов по формулам Ritchie [26] показал присутствие в этих пробах Хл “d”, относительное количество которого варьировало от 1,3 до 9,9% от содержания Хл “а”.

В июле 2013 г. при исследовании предположительно меромиктического озера Паленое (респ. Марий-Эл) мы обнаружили еще большую аномальную оптическую плотность при 690-700 нм в пробах из всей аэробной зоны, причем в эпилимнионе озера отношение оптической плотности при 692 нм (максимум Хл “d” в 90% ацетоне) к таковой при 664 (максимум Хл “а”) составляло ~0,2, затем снижалось до 0,04-0,1, но в верхней аэробной части хемоклина вновь увеличивалось, достигая 0,44 (рис.3). Высокое аномальное поглощение в максимуме Хл “d” было обнаружено в других меромиктических озерах респ. Марий-Эл, Кузнечиха и Зеленое (не показ.).

В течение 2006-2010 и 2013 гг. при пигментном анализе мы, как правило, регистрировали полные спектры пигментных экстрактов. Всего было получено более таких 1000 спектров. Из это-

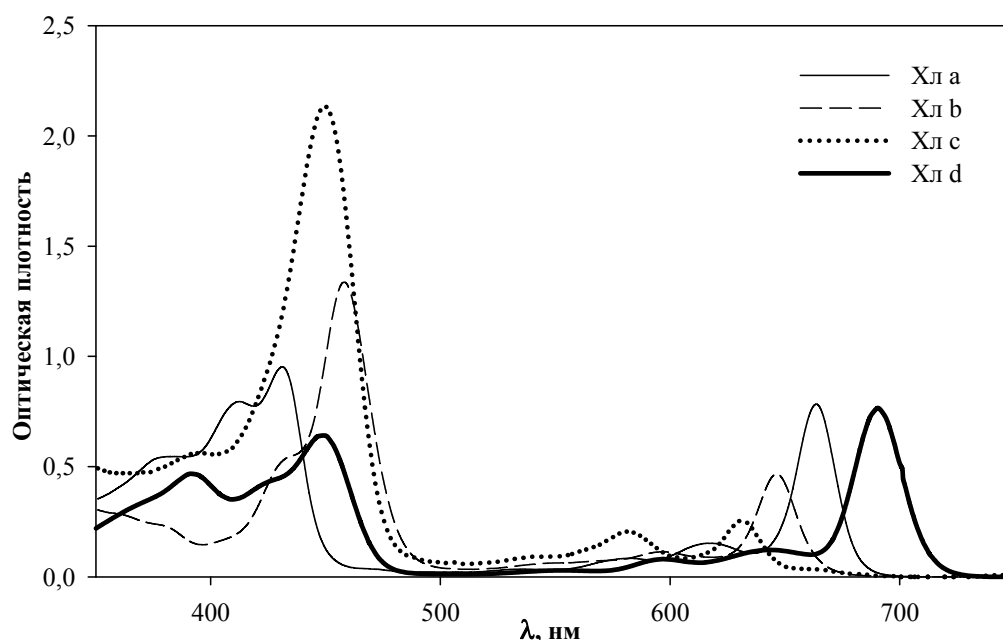


Рис. 1. Спектры хлорофиллов (пересчитанные к концентрации 10^{-5} М/л в 90% ацетоне): Хл «а»-«с» – собственные данные, Хл «d» – по [13], с изменениями

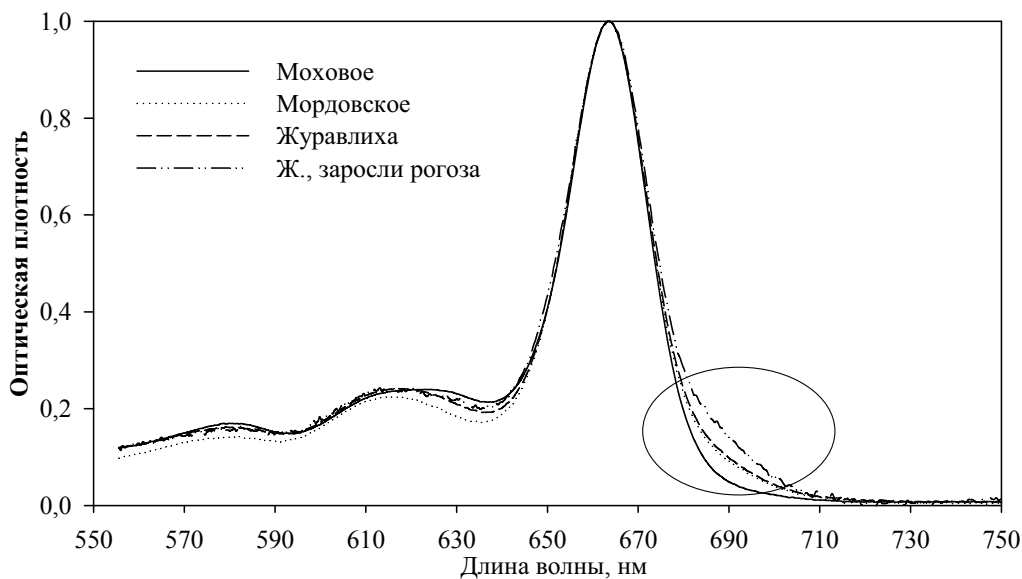


Рис. 2. Нормированные на величину красного максимума (663–665 нм) спектры ацетоновых экстрактов из высокогумозных озер (болотных «окон») в окрестностях с. Рачейка (Сызранский р-н, Самарская обл)

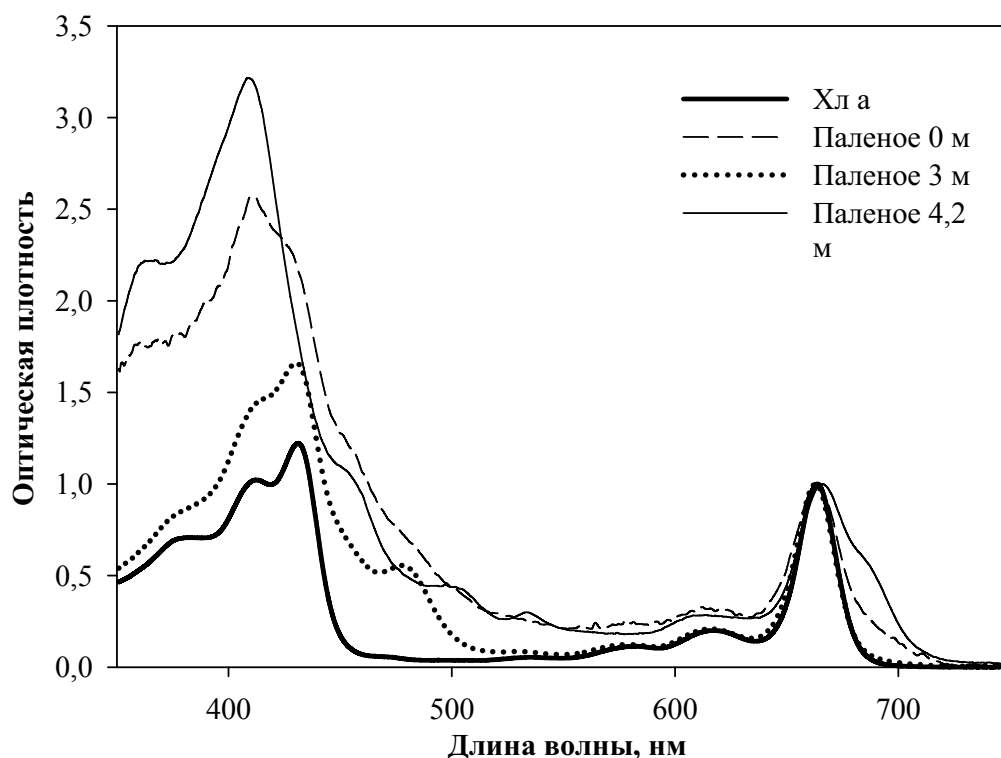


Рис. 3. Нормированные на величину красного максимума спектры ацетоновых экстрактов из оз. Паленое (респ. Марий Эл) и чистого хлорофилла «а»

го массива данных были исключены спектры а) из анаэробных слоев, с преобладанием бактериохлорофиллов, б) с величиной красного максимума поглощения менее 0,05, которые характеризовались низким отношением сигнал/шум и в) пробы с высоким линейным трендом в области 750-850 нм, т.е. с высоким зависимым от длины волны светорассеянием. В оставшихся 367 пробах были рассчитаны концентрации хлорофиллов по формулам [26]. Абсолютные и относительные (в долях

от содержания Хл «а») расчетные концентрации Хл «d» показаны на рис. 4.

Провести статистический анализ связи расчетных концентраций Хл «d» с ключевыми экологическими факторами оказалось невозможно, поскольку далеко не во всех случаях имелись сведения о физико-химических характеристиках среды в точках отбора проб, в частности, рН, концентрация биогенных элементов и цветности воды. Однако, повышенная частота проб

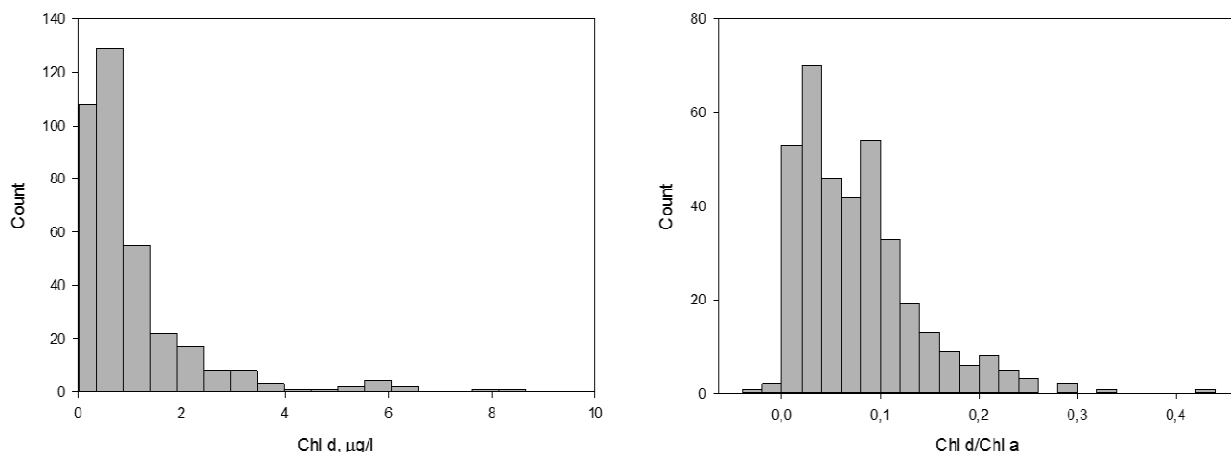


Рис. 4. Гистограммы распределения проб по абсолютной концентрации хлорофилла «d» (а) и отношению концентраций Хл «d»/Хл «a» (б)

с высоким относительным содержанием Хл «d» обнаруживалась в: а) высокогумозных водоемах; б) зоне хемоклина стратифицированных озер с анаэробным гипolimнионом/монимолимнионом; в) зимних подледных пробах и г) в пробах, отобранных в период весенне-летнего паводка на водохранилищах и в некоторых озерах.

При анализе трофической приуроченности Хл «d» было обнаружено, что его наибольшее относительное содержание характерно для проб с низкой концентрацией Хл «a», т.е. в олигомезотрофных-мезотрофных условиях. В высоко-

эвтрофных и гипертрофных условиях этот показатель был существенно ниже (табл. 1). Однако, сама концентрация Хл «d» имела тенденцию к увеличению с увеличением трофности.

При корреляционном анализе с другими пигментными характеристиками выяснилось, что относительное содержание Хл «d» тесно коррелирует со рассчитанной по Lorenzen [14] степенью феофитинизации Хл «a» (рис. 5 а, б). Нужно отметить, что в присутствии Хл «d», поглощающего в области максимума Хл «a», применение формул Лорензена не вполне корректно. Тем не менее,

Таблица 1. Абсолютное и относительное содержание хлорофилла «d» в различных трофических условиях (оцененных по содержанию хлорофилла «a» (S – стандартное отклонение)

Зона трофности (Хл "a", мкг/л)	Число проб N	Содержание хлорофилла "d"					
		Абсолютное			Относительное, Хл d/Хл a		
		Среднее	S	Медиана	Среднее	S	Медиана
Олигомезотрофная (1-5)	29	0,359	0,203	0,365	0,103	0,045	0,091
Мезотрофная (5-10)	45	0,636	0,322	0,610	0,089	0,044	0,088
Эвтрофная (10-30)	83	1,111	1,261	0,867	0,064	0,051	0,055
Высокоэвтрофная (30-100)	60	1,801	1,288	1,409	0,033	0,026	0,028
Гипертрофная (>100)	35	5,604	9,520	3,177	0,024	0,022	0,018

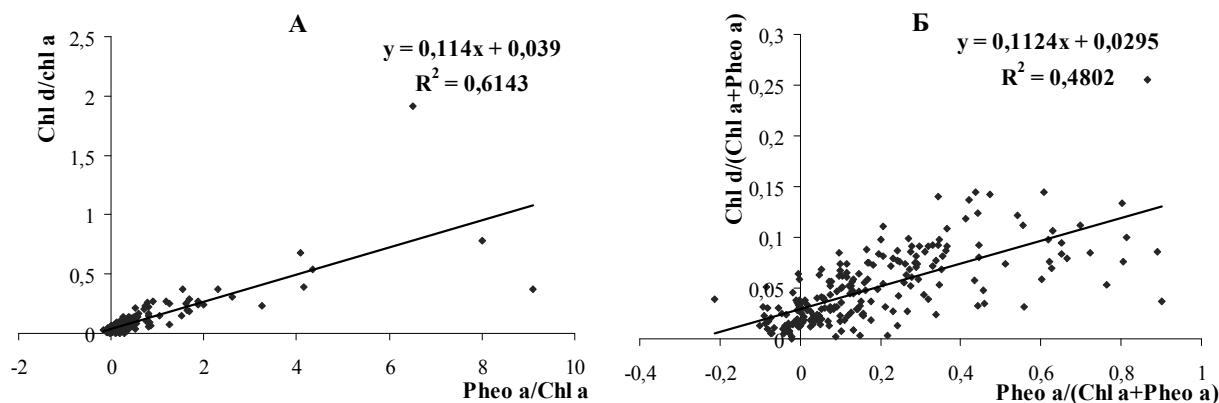


Рис. 5. Зависимость относительной концентрации хлорофилла «d» от относительной концентрации феофитина «a»

поскольку удельный коэффициент поглощения Хл "d" при 663-665 нм невелик (исходя из формул [26] он составляет 13,4 л/г см, т.е. 15,4% коэффициента экстинкции Хл "a"), обусловленная его присутствием ошибка в определении феофитина (Фео) "a" вряд ли может превышать содержание самого Хл "d". В то же время, в большинстве проб, оно значительно выше (рис.5б).

Наряду с использованием многоволновых формул, для определения концентраций фотосинтетических пигментов в смеси применяется другой метод, названный К.Р. Naqvi [21] методом "спектральной реконституции". Этот метод заключается в разложении спектра экстракта в линейную комбинацию спектров индивидуальных соединений с использованием тех или иных статистических методов. Пример применения этого метода к спектрам экстракта одной из исследованных проб показан на рис. 6А. В целом, реконституция показывает удовлетворительное соответствие исходному спектру, однако имеются значительные необъясненные отклонения при ~650 и 680 нм. В других случаях отклонение реконституций от фактических спектров было еще больше, что заставляет думать о присутствии других, не учтенных при реконституции, пигментов. Возможно, впрочем, это отклонение связано с тем, что для реконституции был использован (после оцифровки и дальнейшей обработки), график спектра Хл "d", опубликованный в [13], а не спектр, полученный на использованном мной приборе в используемых условиях.

Как все остальные хлорофиллы, Хл "d" при подкислении подвергается феофитинизации,

т.е. утрачивает центральный атом Mg. При этом происходит изменение спектра поглощения, в частности, снижается и смещается красный (Qy) максимум поглощения [9].

При анализе спектральных изменений при подкислении проб (далее - "дифференциальных спектров феофитинизации") оказалось, что снижение поглощения в области 690-700 нм в них довольно вариабельно. В пробах из оз. Паленое, такое снижение поглощения при 692 нм было зарегистрировано, и оно вполне соответствует предположению о феофитинизации Хл "d" (рис.6 Б). Он был особенно выражен в пробе с глубины 4,2 м, однако был обнаружен и в пробах из поверхностного слоя (0-1 м), и с глубины 4 м. Аналогичный максимум наблюдался в пробах из металимниона оз. Зеленое (респ. Марий Эл). Во многих других пробах, однако, признаки присутствия Хл "d" в спектрах феофитинизации не были обнаружены.

ОБСУЖДЕНИЕ

Доказательство присутствия минорного фотосинтетического пигмента по данным рутинного спектрофотометрического пигментного анализа – сложная задача, обусловленная присутствием в экстрактах сестона, наряду с хлорофиллами, многочисленных продуктов их распада, и также липофильных пигментов, возможно, не имеющих отношения к фототрофным организмам и фотосинтезу [23]. Поэтому повышенное поглощение ацетоновых экстрактов проб в области максимума ожидаемого пигмента (в

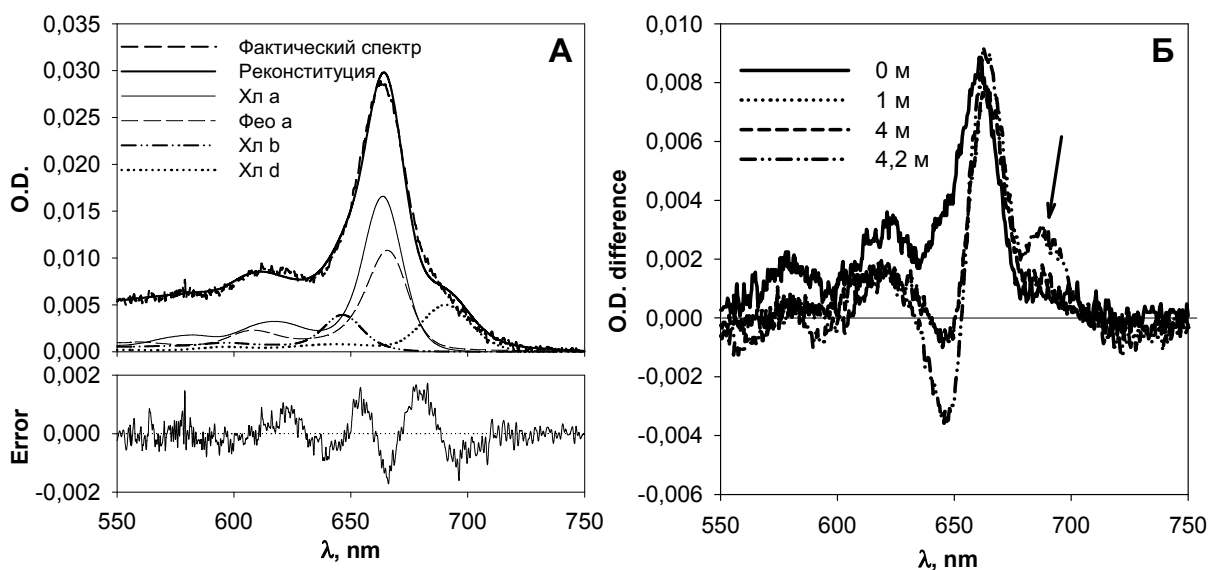


Рис. 6. А – реконституция спектра экстракта пробы из оз. Паленое, горизонт 0 м (9.9.2013 г.) в спектры индивидуальных пигментов; внизу – разность между фактическим и «реконструированным» спектрами.
Б – спектр изменения оптической плотности экстрактов проб из разных горизонтов оз. Паленое при подкислении (феофитинизации). Стрелкой показан максимум изменения оптической плотности при 690 нм, предположительно соответствующий феофитинизации хлорофилла «d». Главный максимум соответствует феофитинизации хлорофилла «a»

данном случае, Хл «d») само по себе не является доказательством его присутствия.

Экологическими условиями, определяющими развитие цианобактерий, синтезирующих «длинноволновые» хлорофиллы в морских местообитаниях, является высокое отношение интенсивности ближнего ИК-излучения к излучению в области максимума Хл «а» [11, 12]. То же относится и к хлорофиллу «f» [6, 7]. Оказалось, что подобная адаптация обнаруживается и у фототрофных эукариот, у которых, она, однако, связана не с изменением пигментного состава, а с синтезом специфических пигмент-белковых комплексов (см., например, [8]). Спектральный оптимум фототрофов, синтезирующих длинноволновые хлорофиллы, во многом аналогичен таковому зеленым бактериям. Последние также используют свет ближнего ИК-диапазона, не поглощаемый окислительными фототрофами [24]. Очевидно, что условия в водных экосистемах, благоприятствующие адаптациям в сторону использования света ближней ИК области, не являются исключительно морскими и связанными исключительно с существованием в симбиотических или прикрепленных сообществах, а могут формироваться и в пресных водоемах, в т.ч. в их водной толще.

Представленные здесь результаты показывают, что аномальное поглощение в области максимумов длинноволновых хлорофиллов действительно обнаруживается в ряде местообитаний, в которых это соотношение повышено из-за сильного поглощения или рассеяния видимого света: высокогумозных озер, верхней границы металимниона/хемоклина и зимних подледных проб. Это является косвенным подтверждением присутствием в этих местообитаниях фототрофных организмов, синтезирующих эти хлорофиллы.

С другой стороны, корреляция расчетного относительного содержания Хл «d» со степенью феофитинизации, а также частое обнаружение повышенного поглощения в области 690-700 нм в пробах, отобранных в период весенне-летнего паводка, т.е. в условиях поступления большого количества терригенного материала и интенсивного взмучивания донных осадков, не вполне соответствует этому предположению. Это заставляет предполагать, что в ряде случаев аномальное поглощение связано не с Хл «d», синтезированным какими-либо фототрофами, а с присутствием каких-либо продуктов деструкции хлорофиллов. Известно, что при длительном старении культур некоторых видов водорослей образуется заметное количество фитилового эфира пурпурина-18, продукта окисления феофитина «а», имеющего максимум поглощения при 696-698 нм [15, 22]. Кроме того, и сам Хл «d», и его феофитин могут образовываться при неферментативном окислении Хл «а» в ацетоновых экстрактах [3], в водной фазе в присутствии пе-

роксидов и/или пероксидазы [5] и, более важно, при соокислении с сероводородом и тиолами в условиях, близких к реально существующим в хемоклине озер [16, 25].

Наличие максимума или плеча при 690-692 нм в «дифференциальных спектрах феофитинизации» свидетельствует о присутствии в пробах хлорофилл-подобного пигмента с максимумом в этой области спектра, т.е., предположительно, Хл «d» или Хл «f». В ряде проб с высоким расчетным содержанием Хл «d» его сигнал в дифференциальных спектрах феофитинизации не обнаруживается. Однако при большом относительном содержании Хл «а» это может быть связано не только с его действительным отсутствием, но и с маскировкой высоким сигналом преобладающего пигмента. Относительно успешная «спектральная реконституция» с использованием спектра Хл «d» также указывает на то, что аномальное поглощение, по крайней мере, в части исследованных проб, действительно обусловлено его присутствием. Однако с учетом возможного неферментативного образования [5, 16, 25], этот факт еще не доказывает присутствия в пробах цианобактерий, синтезирующих этот хлорофилл.

Окончательным доказательством было бы выделение чистых или накопительных культур, в которых синтезировались бы длинноволновые хлорофиллы. В 2013 г. мы предприняли попытку их выделения из озер Паленое и Кузнечиха, однако она не привела к успеху. К сожалению, в июле 2014 г. в оз. Паленое Хл «d» не был обнаружен, поэтому повторить выделение не удалось. Следует отметить, что методика выделения была ориентирована на виды, облигатно синтезирующие длинноволновые хлорофиллы, т.е. подобные *Acarochloris marina*. Недавно, однако, было обнаружено, что факультативно, в качестве адаптации к высокому отношению освещенности в ближнем ИК-диапазоне к освещенности в видимой области спектра эти пигменты способны синтезировать давно известные и поддерживаемые в коллекциях виды цианобактерий. [2, 6, 7]. Это касается, в особенности, Хл «f», для которого облигатно синтезирующие виды вообще неизвестны. Видимо, с учетом этого факта, стратегию поиска видов, синтезирующих длинноволновые хлорофиллы, в дальнейшем следует несколько изменить.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные данные однозначно свидетельствуют, что во многих исследованных нами пробах сестона из аэробных и микроаэробных слоев озер присутствуют липофильные пигменты, обуславливающие аномально высокое поглощение в области 690-700 нм в органических экстрактах сестона. В значительной части проб из исследованных озер и водохранилищ это аномальное поглощение может быть обусловлено

продуктами деструкции растительных пигментов, подобными пурпурин-18-фитильному эфиру; однако в отдельных пробах, в особенности их микроаэробной части зон хемоклина стратифицированных озер, это поглощение несомненно, обусловлено присутствием длинноволновых хлорофиллов, в частности, Хл «d». Нельзя исключить, что эти пигменты образуются в зоне хемоклина в ходе неферментативных реакций, например, в результате соокисления с сероводородом и тиолами [16]. Однако с учетом почти повсеместного распространения Хл «d» содержащих цианобактерий в океанах, представляется вполне возможным присутствие в этих слоях воды фототрофных организмов (предположительно, цианобактерий), облигатно или факультативно синтезирующих эти пигменты.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Горбунов М.Ю. Перспективы поиска новых видов прохлорофит в пресных водоемах // Любичевские чтения–2011. Современные проблемы эволюции. Сб. матер. междунар. конф. Ульяновск: УлГПУ, 2011. С. 117-122.
2. *Airs R.L., Temperton B., Sambles C., Farnham G., Skill S.C., Llewellyn C.A.* Chlorophyll f and chlorophyll d are produced in the cyanobacterium *Chlorogloeopsis fritschii* when cultured under natural light and near-infrared radiation // *FEBS Lett.*, 2014. V. 588. P. 3770–3777.
3. *Akutsu S., Itoh S., Aoki K., Furukawa H., Miyashita H., Iwamoto K., Yoshihiro Shiraiwa Y., Masaaki Okuda M., Kobayashi M.* Chlorophyll d production in crushed algae in aqueous acetone // *Photosynthesis Research for Food, Fuel and the Future: Adv. Topics in Sci. and Technol. in China.* Springer Berlin Heidelberg, 2013. P. 794–798.
4. *Chen M., Schliep M., Willows R. D., Cai Z. L., Neilan B. A., & Scheer H.* A red-shifted chlorophyll // *Science*, 2010. V. 329, No.5997. P.1318-1319.
5. *Furukawa H., Aoki K., Itoh S., Abe Y., Nakazato M., Iwamoto K., Shiraiwa Y., Miyashita H., Okuda M., Kobayashi M.* Conversion of Chl a into Chl d by Horseradish Peroxidase // *Photosynthesis Research for Food, Fuel and the Future: Adv. Topics in Sci. and Technol. in China.* Springer Berlin Heidelberg, 2013. P. 799-803
6. *Gan F., Shen G., Bryant D. A.* Occurrence of Far-Red Light Photoacclimation (FaRLiP) in Diverse Cyanobacteria // *Life*, 2014. V. 5, No. 1. P. 4-24.
7. *Gan F., Zhang S., Rockwell N.C., Martin S.S., Lagarias J.C., Bryant D.A.* Extensive remodeling of a cyanobacterial photosynthetic apparatus in far-red light // *Science*, 2014. V.345, No.6202. P.1312-1317.
8. *Herbstová M., Bína D., Koník P., Gardian Z., Vácha F., Litvín R.* Molecular basis of chromatic adaptation in pennate diatom *Phaeodactylum tricorutum* // *BBA-Bioenergetics*, 2015. V.1847, No.6. P. 534-543.
9. *Holt A.S.* Further evidence of the relation between 2-desvinyl-2-formyl-chlorophyll-a and chlorophyll-d // *Can. J. Botany*, 1961. V.39. P. 327-331.
10. *Kashiyama Y., Miyashita H., Ohkubo S., Ogawa N.O., Chikaraishi Y., Takano Y., Suga H., Toyofuku T., Nomaki H., Kitazato H., Nagata T., Ohkouchi N.* Evidence of global chlorophyll d // *Science*, 2008. V.321, No. 5889 P. 658.
11. *Kühl M., Chen M., Ralph P.J., Schreiber U., Larkum A.W.* A niche for cyanobacteria containing chlorophyll d // *Nature*, 2005. V. 433, No. 7028. P. 820-820.
12. *Larkum A.W.D., Kuhl M.* Chlorophyll d: the puzzle resolved // *Trends in Plant Sci.*, 2005. V.10 No.8. P. 355-357.
13. *Li Y., Scales N., Blankenship R.E., Willows R.D., Chen M.* Extinction coefficient for red-shifted chlorophylls: Chlorophyll d and chlorophyll f // *BBA-Bioenergetics*, 2012, V. 1817, No.8. P. 1292-1298.
14. *Lorenzen C. J.* Determination of chlorophyll and pheopigments: spectrophotometric equations // *Limnol. Oceanogr.*, 1967. V.12, No.2. P. 343-346.
15. *Louda J.W., Li J., Liu L., Winfree M.N., Baker E.W.* Chlorophyll-a degradation during cellular senescence and death // *Org. Geochem.*, 1998. V.29, No.5-7. P. 1233–1251.
16. *Loughlin P. C., Willows R. D., Chen M.* In vitro Conversion of Vinyl to Formyl Groups in Naturally Occurring Chlorophylls // *Scientific reports*, 2014. V.4. DOI: 10.1038/srep06069
17. *Loughlin P., Lin Y., Chen M.* Chlorophyll d and *Acaryochloris marina*: current status // *Photosynth. Res.*, 2013. V.116, No. 2-3. P. 277-293.
18. *Manning W.M., Strain H.H.* Chlorophyll d: a green pigment in red algae // *J. Biol. Chem.*, 1943. V. 151. P. 1-19.
19. *Miyashita H., Ikemoto H., Kurano N., Adachi K., Chihara M., Miyachi S.* Chlorophyll d as a major pigment // *Nature*, 1996. V. 383, No.6599. P. 402.
20. *Miyashita H., Ohkubo S., Komatsu H., Sorimachi Y., Fukayama D., Fujinuma D., Akutsu S., Kobayashi M.* Discovery of chlorophyll d in *Acaryochloris marina* and chlorophyll f in a unicellular cyanobacterium strain KC1, isolated from Lake Biwa // *J. Phys. Chem. Biophys.*, 2014. V.4. P. 2161-0398.
21. *Naqvi K.R., Hassan T.H., Naqvi Y.A.* Expedient implementation of two new methods for analysing the pigment composition of photosynthetic specimens // *Spectrochim. Acta Pt. A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2004. V. 60, No.12. P. 2783-2791.
22. *Naylor C.C., Keely B.J.* Sedimentary purpurins: oxidative transformation products of chlorophylls. // *Org. Geochem.*, 1998. V.28, No.7. P. 417-422.
23. *Neveux J., Seppala J., Dandonneau Y.* Multivariate analysis of extracted pigments using spectrophotometric and spectrofluorometric methods // *Phytoplankton Pigments: Characterization, Chemotaxonomy and Applications in Oceanography* (S.Roy et al., eds.). Oxford Univ.Press., 2012. P. 343-365.
24. *Overmann J., Garcia-Pichel F.* The phototrophic way of life // *The Prokaryotes.* Springer Berlin Heidelberg, 2013. P. 203-257.

25. *Pikering M.D., Keely B.J.* Origins of enigmatic C-3 methyl and C-3 H porphyrins in ancient sediments revealed from formation of pyropheophorbide d in simulation experiments // *Geochim. Cosmochim. Acta*, 2013. V. 104. P. 111–122.
26. *Ritchie R.J.* Universal chlorophyll equations for estimating chlorophylls *a*, *b*, *c*, and *d* and total chlorophylls in natural assemblages of photosynthetic organisms using acetone, methanol, or ethanol solvents. // *Photosynthetica*, 2008. V.46, No.1. P.115-126.

RED-SHIFTED CHLOROPHYLLS IN THE SESTON OF WATER BODIES OF MIDDLE VOLGA BASIN

© 2015 M.Yu. Gorbunov

Institute of Ecology of Volga Basin, Russian Academy of Sciences, Togliatti.

Pigment analysis of >350 seston samples from aerobic and microaerobic layers of lakes and reservoirs in the basin of the Middle Volga and Kama had been performed. The resulting data explicitly indicate the presence of lipophilic pigments causing abnormally high absorption in the wavelength range 690-700 nm in significant fraction of studied samples. In some samples this anomalous absorption may be explained by degradation products of plant pigments (e.g. of purpurine derivatives). However in some samples from upper microaerobic part of the chemocline of stratified lakes, it is most likely caused by the presence of “red-shifted chlorophylls” - chlorophylls d and f. Taking into account the environmental characteristics of these layers and widespread distribution of chlorophyll-d containing cyanobacteria in the oceans, the development of phototrophic organisms (presumably, cyanobacteria) obligately or facultatively synthesizing these chlorophylls is one of the possible explanation for this phenomenon.

Keywords: photosynthetic pigments, “red-shifted” chlorophylls, degradation products, freshwater, spectrophotometric pigment analysis, IR light-adapted cyanobacteria.