

## ИССЛЕДОВАНИЕ ИНДУКЦИИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ НЕКОТОРЫХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ ПРИ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОМ ДЕЙСТВИИ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ТЕМПЕРАТУР И ВИДИМОГО СВЕТА

Дж.М. ДЖАВРШЯН, Л.С. ГАБРИЕЛЯН

*Ереванский государственный университет, кафедра биофизики, 375025*

Исследовали влияние высокоинтенсивного видимого света на микроводоросли, предварительно подвергнутые действию различных температур. Последовательное действие температуры и видимого света вызывали падение показателя фотосинтетической активности Fm/Ft и рост нефотохимического тушения qN, что свидетельствует о нарушении структуры фотосинтетического аппарата. Выявлено, что высокоинтенсивный свет усиливает повреждающий эффект теплового воздействия.

Ուսումնասիրվել է բարձր ինտենսիվությամբ տեսանելի լույսի ազդեցությունը միկրոզոոփիտների վրա, որոնք նախապես ենթարկվել էին տարբեր ջերմաստիճանների ազդեցությանը: Ջերմաստիճանի և տեսանելի լույսի հաջորդական ազդեցությունը բերել է ֆոտոսինթետիկ ակտիվության ցուցանիշի Fm/Ft անկմանը և ոչ ֆոտոքիմիական մարման գործակիցի qN աճին. որոնք վկայում են ֆոտոսինթետիկ ապարատի կառուցվածքի վնասման մասին: Ստացված արդյունքները ցույց են տալիս, որ բարձր ինտենսիվությամբ լույսը ուժեղացնում է ջերմության վնասարար ազդեցությունը:

The action of high-intensity visible light on microalgae preliminary subjected to action of various temperatures has been investigated. Consecutive action of temperature and visible light caused falling of a parameter of photosynthetic activity Fm/Ft and growth nonphotochemical quenching qN, structures of the photosynthetic device testifying to infringing. The received results specify that high-intensity light strengthens damaging effect of thermal influence.

### *Микроводоросли - индукция флуоресценции*

Исследование действия экстремальных температур и света на первичные процессы фотосинтеза представляет теоретический и практический интерес. Это обусловлено тем, что в природных условиях названные физические факторы играют наиболее важную роль в регуляции первичных процессов фотосинтеза [1, 2, 6, 10].

В частности, высокие температуры и свет высокой интенсивности вызывают ингибирование фотосинтеза главным образом за счет влияния на фотофизические и фотохимические процессы фотосинтеза [2, 6, 7, 9, 10]. С этой точки зрения большой интерес представляет последовательное действие повышенных температур и высокоинтенсивного видимого света на водоросли различных таксономических групп, что может быть причиной повреждения как фотосинтетического аппарата, так и объекта в целом. Интерес вызван

возможными взаимодействиями между этими факторами, приводящими к суммированию деструктивных процессов.

Целью настоящей работы было изучение действия видимого света высокой интенсивности на микроводоросли, предварительно подвергнутые действию различных температур, методом индукции флуоресценции хлорофилла.

**Материал и методика.** Эксперименты проводили на одноклеточной зеленой водоросли *Chlorella pyrenoidosa* и цианобактерии *Spirulina platensis*. Хлореллу выращивали на стандартной для нее питательной среде Тамия, а спирулину — на среде Заррука при комнатной температуре (23-27°) и естественном освещении (500-800 лк). Для исследования последоательного действия температуры и видимого света водоросли, предварительно прогретые при определенной температуре (экспозиция - 15 мин), облучали видимым светом интенсивностью 46000 лк в течение 15 мин. Для тепловой обработки их помещали в термостат УТ-1 с водой разной температуры (25-55°). Для предварительного освещения водорослей использовали осветительную систему диапроектора „Связь“. Затем регистрировали медленную индукцию флуоресценции на флуориметре-фосфороскопе, разработанном проф. Джавршияном [5]. Повторность опытов при измерении медленной индукции флуоресценции не менее 5.

**Результаты и обсуждение.** Измерение индукционных кривых флуоресценции хлорофилла широко используется в исследованиях физиологического состояния фотосинтезирующих объектов и эффективности фотосинтеза [1, 3, 4, 8]. Из литературных данных известно, что в основе индукционных изменений флуоресценции лежат 2 механизма: окислительно-восстановительное превращение первичного акцептора электронов фотосистемы II (ФС II) QA и структурные изменения мембран тилакоидов [1].

В настоящей работе было исследовано действие высокоинтенсивного света на прогретые при различных температурах (25-55°) водоросли. При обработке кривых медленной индукции флуоресценции использовали отношение  $F_m/F_t$ , где  $F_m$  и  $F_t$  интенсивности флуоресценции в точках M и T соответственно, отражающее эффективность фотосинтеза [8], и коэффициент нефотохимического тушения ( $q_M$ ), который определяли в соответствии с формулой:  $q_N = (F_p - F_p')/F_p$ , где  $F_p'$  — интенсивность флуоресценции полностью закрытых реакционных центров (РЦ) подвергнутых действию факторов объекта [2].

При действии различных экстремальных факторов в антенном комплексе и РЦ фотосинтетического аппарата происходит целый ряд процессов, вызывающих увеличение вероятности безызлучательной диссипации энергии возбужденных пигментов ФС II, т.е. нефотохимическое тушение возбужденных состояний хлорофилла [2, 9]. Оно может включать: 1) энергизационное тушение, обусловленное высоким значением концентрации протонов на тилакоидной мембране; 2) тушение вследствие перехода части светособирающего комплекса (ССК) от ФС II к ФС I и перераспределения энергии возбуждения между фотосистемами; 3) тушение в результате повреждения (окисления) самого РЦ ФС II [1, 2].

У хлореллы под действием света высокой интенсивности (46000лк) наблюдается постепенное падение интенсивности флуоресценции на всей индукционной кривой (рис. 1а, кривые 2-5), а также суммирование эффектов,

вызываемых каждым из факторов в отдельности, которое выражается в падении первого максимума Р, постепенном исчезновении второго максимума М и росте стационарного уровня Т.

У спирулины действие света высокой интенсивности приводит к резкому падению интенсивности флуоресценции на всем PSMT участке (рис.1б, кривая 2), к исчезновению второго максимума М и замедлению тушения флуоресценции на участке М-Т. Действие света на прогретую при 35° и 45° спирулину приводит к росту интенсивности флуоресценции (по сравнению со спирулиной, подвергнутой действию только видимого света), что отражено в кривых 3 и 4 (рис.1б). При действии света на прогретую при 55° спирулину происходит падение интенсивности флуоресценции (рис.1б, кривая 5). Последовательное действие температуры и света также приводит к исчезновению пика М и замедлению тушения флуоресценции на М-Т участке.

На рис. 2 приведена зависимость отношения  $F_M/F_T$  от последовательного действия температуры и света у хлореллы (кривая 1) и спирулины (кривая 2). Отношение  $F_M/F_T$  у хлореллы падает параллельно действию факторов на 60%, у спирулины оно меняется менее резко - приблизительно на 15%.

Изменения коэффициента нефотохимического тушения  $q_N$  у хлореллы и у спирулины приведены в табл. I. И у хлореллы, и у спирулины наблюдается рост  $q_N$

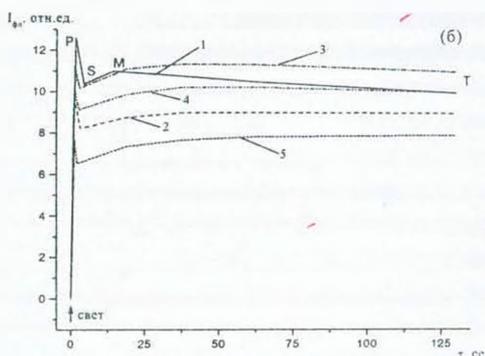
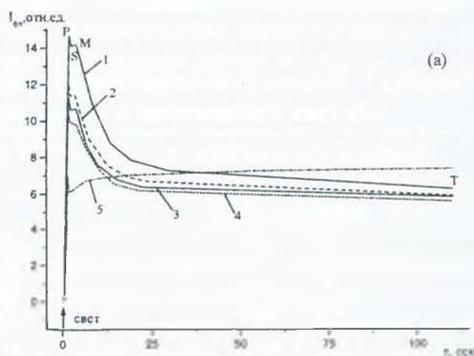


Рис. 1. Кривые индукции флуоресценции хлореллы (а) и спирулины (б) при последовательном действии температуры и видимого света: 1 - контроль (25°); 2 - контроль, подвергнутый действию видимого света интенсивностью 46000 лк; 3-5 - объекты, подвергнутые последовательному действию температур 35, 45 и 55°, соответственно, и света интенсивностью 46000 лк.

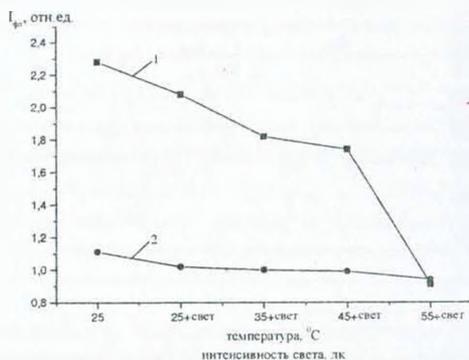


Рис. 2. Зависимость отношений параметров  $F_M/F_T$  от последовательного действия температуры (25-55°) и видимого света (46000 лк) у: 1 - хлореллы; 2 - спирулины.

на 52 и 39 % соответственно.

Таблица 1. Зависимость нефотохимического тушения (qN) от последовательного действия температуры и видимого света у хлореллы и спирулины

Температура прогрева, °C + свет (46000лк)	qN (хлорелла)	qN (спирулина)
Контроль (25°)	0	0
25° + свет	0.18±0.05	0.23±0.06
35° + свет	0.23±0.07	0.11±0.05
45° + свет	0.28±0.08	0.2±0.05
55° + свет	0.52±0.1	0.39±0.09

Последовательное действие температуры и видимого света вызывали падение показателя фотосинтетической активности  $F_m/F_t$  и рост нефотохимического тушения qN, что свидетельствует о нарушении структуры фотосинтетического аппарата. Таким образом, высокоинтенсивный свет усиливает повреждающий эффект теплового воздействия. Из полученных нами ранее данных известно, что температурное воздействие приводит к повреждению мембранных комплексов и, в первую очередь, белков реакционных центров [4]. А при облучении клеток водорослей высокоинтенсивным видимым светом, по-видимому, происходят нарушения фотосинтетического аппарата, включающие повреждения не только белков, но и липидов и пигментов реакционных центров [2, 6]. Эти нарушения, вероятно, и вызывают потерю фотосинтетической активности клеток водорослей.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Веселовский В.А., Веселова Т.В. Люминесценция растений. М.: "Наука", 200 с, 1990.
2. Воронова Е.Н. и др. Физиология растений, 49, 3, 350-358, 2002.
3. Габриелян Л.С., Джавршян Дж.М. Мат-лы 7-й Пушинской конф. молодых ученых: "Биология - наука XXI века". 56-57, Пушино, 2003.
4. Джавршян Дж. М., Габриелян Л. С. Мат-лы III респ. молодежной конф.: "XXI век: экологическая наука в Армении". Ереван, 80-85, 2002.
5. Джавршян Дж.М. Автореф. док. дисс., Минск.
6. Егорова Е.А., Бухов Н.Г. Физиология растений, 49, 5, 645-655, 2002.
7. Кафаров Р. и др. Физиология растений, 35, 3, 458-463, 1988.
8. Москвин О.В. и др. Физиология растений. 45, 3, 413-418, 1998.
9. Hideg E., Murata N. Plant Sci. 130, 151-158, 1997.
10. Inoue N. et al. Plant Cell Physiol. 42 (10), 1140-1148, 2001.

Поступила 11.VIII.2003