

**ФОТОСИНТЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК
DUNALIELLA ПРИ ДЕЙСТВИИ ОЗОНА****Г.И.АЛИ-ЗАДЕ, И.И.АЛИЕВ, Х.Х.МАГЕРРАМОВА,
А.Р.СИДЕЙФ-ЗАДЕ
qalizadeh@mail.ru**

В работе представлены результаты изучения влияния озона на кинетику индукции замедленной флуоресценции хлорофилла и скорость фотосинтетического выделения кислорода контрольными и обработанными хроническими дозами УФ-В излучения клетками *Dunaliella*. Показано, что клетки, выращенные в интенсивной культуре с хронической дозой УФ-В излучения, проявляют повышенную функциональную устойчивость к действию озона. Сделан вывод, что повышенная устойчивость клеток связана с синтезом каротиноидов.

Среди многочисленных вредных для растений загрязнителей воздушной среды все чаще упоминается озон. Содержание этого сильного окислителя живых клеток в приземном слое воздуха в последние десятилетия постепенно возрастает. Типичными первичными реакциями являются разрушение хлоропластов и уменьшение фотосинтеза /4,5/. При более длительных воздействиях характерными признаками являются ухудшение углеродного баланса растения, замедление роста, увеличение его чувствительности к другим стрессам и в конечном счете к потерям биологической продуктивности и качества урожая /3, 6, 7/.

Целью настоящей работы являлось изучение влияния озона на кинетику индукции замедленной флуоресценции хлорофилла и скорость фотосинтетического выделения кислорода контрольных и обработанных хронической дозой УФ-В излучения клеток *Dunaliella*.

Объект и методы исследования

Объектом исследования служила зеленая одноклеточная водоросль *Dunaliella salina* IPPAS D-294. Водоросли выращивали при 27°C в фотореакторах, из обычного (контрольные суспензии) и кварцевого (опытные суспензии) стекла, на установке для выращивания культур одноклеточных водорослей «УВКВ». Минеральная среда содержала (г/л): NaCl - 87,5; KNO₃ - 5,0; KH₂PO₄ - 1,25; MgSO₄ - 50; FeSO₄ - 0,009 раствор микроэлементов, 1 мл/л. Суспензию клеток в фотореакторах круглосуточно освещали белым светом (16 Вт/м²), и непрерывно продували смесью (воздух + 1,5% CO₂).

Источником УФ-В излучения служила ртутная лампа СВД-120, снабженная

светофильтром УФС-2. Хроническое УФ-В облучение клеток проводили круглосуточно.

Темп роста культуры определяли периодическим подсчетом числа клеток в камере Горяева под микроскопом или нефелометрическим измерением оптической плотности суспензии на КФК-2.

Для измерения фотосинтетической активности и замедленной флуоресценции хлорофилла клеток, выращенные водоросли осаждали центрифугированием и переносили на свежеприготовленную минеральную среду. Плотность суспензии клеток доводили до 10^6 кл/мл (оптическая плотность $D=1,0$). Перед измерением суспензию клеток продували в течение 10-30 минут озоном с помощью компрессора, соединенного с озонатором.

Скорость выделения кислорода клетками измеряли на полярографической установке, с применением платинового электрода Кларка, освещающая суспензию в термостатированной ячейке (40°C) белым светом насыщающей интенсивности (100 Вт/м^2).

Регистрацию индукционных кривых замедленной флуоресценции (ЗФ) в миллисекундном диапазоне проводили на квантометрической установке с фосфороскопом. Приемником света в установке служил фотоумножитель ФЭУ-51, регистрация фототока производилась на самописце КСП-4, подключенного через усилитель ЛПУ-01. Суспензию клеток в установке освещали лампой накаливания (500 Вт) с водяным теплофильтром.

Результаты и обсуждение

При регистрации кинетик миллисекундной замедленной флуоресценции хлорофилла контрольных и обработанных озоном клеток получены довольно сложные индукционные кривые, которые включали быструю фазу (A_m) и медленную фазу, состоящую из второго максимума с последующим спадом до стационарного уровня ($I_{ст}$). В контрольных клетках максимум амплитуды быстрой компоненты (A_m) при увеличении продолжительности озонирования 10; 20; 30 минут снижались, соответственно, до 80%; 77,5%; 95% (рис.1,1А). В отличие от амплитуды индукционного максимума стационарный уровень замедленной флуоресценции ($I_{ст}$) не изменяется (рис.1,1В). Только при 30 минутном озонировании наблюдается увеличение величины ($I_{ст}$).

Опытными клетками являлись водоросли, выращенные при хронической дозе 15 сек/час УФ-В излучения в интенсивной культуре и подвергнутые последующему озонированию. Как видно из рисунка, амплитуда быстрой компоненты (A_m) индукционной кривой замедленной флуоресценции хлорофилла опытных клеток при 10 минутном озонировании снижается до 95% (рис.1,2 А). Увеличение продолжительности озонирования приводит к возрастанию компоненты (A_m) до 110% и 130% при 20 и 30 минутной обработке суспензии клеток. Стационарный уровень замедленной флуоресценции ($I_{ст}$), начиная с 20 минутной обработки повышается и составляет 130%, а при 30 минутном озонировании 150% от контроля (рис.1,2 В).

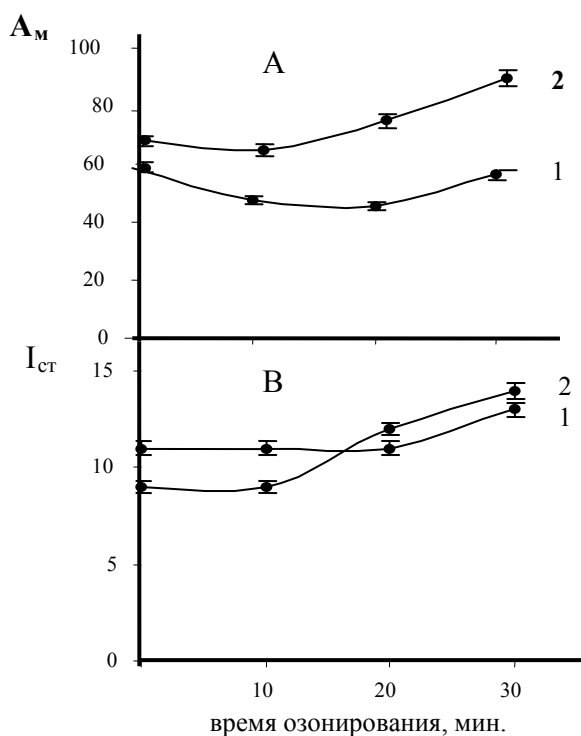


Рис. 1. Зависимость амплитуды индукционного максимума (A_M) и стационарного уровня ($I_{ст}$) замедленной флуоресценции хлорофиллов клеток *Dunaliella* от продолжительности озонирования. 1- контрольные клетки; 2- клетки, выращенные при хронической дозе УФ-В излучения.

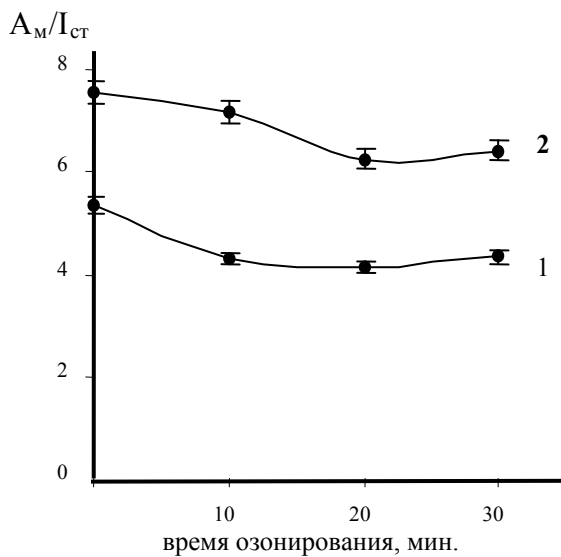


Рис. 2. Зависимость параметра ($A_M/I_{ст}$) фотосинтетической мембраны клеток *Dunaliella* от продолжительности озонирования. 1- контрольные клетки; 2- клетки, выращенные при хронической дозе УФ-В излучения.

Параметр, характеризующий фотохимическую активность фотосистемы 11 (A_m/I_{ct}) у контрольных клеток, составляет величину 5,36. Эта величина с увеличением продолжительности (10 и 20 минутном озонировании) уменьшается на 20-25%, а затем вырастает на 5% при 30 минутном воздействии (рис.2,1). В случае с опытными клетками параметр (A_m/I_{ct}) составляет перед действием озона величину порядка 7,5, которая уменьшается при озонировании (10 и 20 минут) и составляет 5-15% от начальной величины. При 30 минутном озонировании наблюдается некоторое (4-5%) увеличение параметра (A_m/I_{ct}) (рис.2,2). Относительные изменения индукционного максимума замедленной флуоресценции A_m/I_{ct} контрольных и опытных клеток уменьшается, а затем вырастает, что указывает на снижение и дальнейший рост энергизации тилакоидных мембран. В данном рисунке, устойчивость опытных клеток при озонировании четко прослеживается, и разница по отношению к контрольным суспензиям составляет 12-15% при 10 минутном, и 5-6% при 20 и 30 минутном действии озона.

Принято считать, озон токсичен для зеленых водорослей и растений, его действие связывают с влиянием на состояние мембран клеток. Действительно, как видно из результатов, приведенных на рисунках 1и 2, наблюдается ингибирование первичных световых реакций фотосинтеза одноклеточной водоросли *Dunaliella* в 10-30 минутном интервале воздействия озоном. Однако, даже при более кратковременном озонировании 3-5 минут мы наблюдали ингибирующий эффект, хотя и не очень сильный. Поскольку стабильные органические вещества, образующиеся в световых реакциях фотосинтеза, лежат в основе всей сложной системы метаболизма водоросли, даже такое незначительное ингибирование может играть существенную роль в изменении физиологического состояния клетки. Ингибирование фотосинтеза, очевидно также связано с изменением эффективности использования поглощенной световой энергии в реакционных центрах фотосистемы 11. На это указывает тот факт, что скорость выделения кислорода клетками при озонировании также подавляется.

При оптимальных условиях скорость выделения кислорода контрольных клеток имеет достаточно высокие показатели фотосинтетической активности. Озонирование контрольных клеток показали, что в зависимости от продолжительности озонирования скорость выделения кислорода клетками снижается. Так, при 10 минутном продувании суспензии озоном фотосинтетическая активность снижается на 40-45% (рис.3,1).

Увеличение продолжительности озонирования до 20 минут подавляет скорость выделения кислорода на 50%. 60% подавление фотосинтетической активности было обнаружено при озонировании клеток в течение 30 минут. Исследование влияния хронических доз УФ-В облучения на клетки *Dunaliella* в интенсивной культуре показали, что водоросли выращенные в этих условиях проявляют повышенную резистентность к УФ-С излучению /1/ и высокой температуре /2/. Клетки, выращенные при хронической дозе 15 сек/час, проявляют высокий уровень устойчивости фотосинтетической активности к последующему действию озона продолжительностью 10; 20; 30 минут. Так, при 10 минутном озонировании суспензии фотосинтетическое выделение кислорода клетками подавляется на 20-25% (рис3,2). В данном случае клетки проявляют устойчивость к озону и сравнение с фотосинтетической активностью контрольных суспензий можно видеть разницу, которая составляет 15%. Увеличение продолжи-

тельности озонирования (20 и 30 минут) сохраняет повышенную устойчивость опытных суспензий, соответственно, на 7-8% и 3-5% от контрольных клеток.

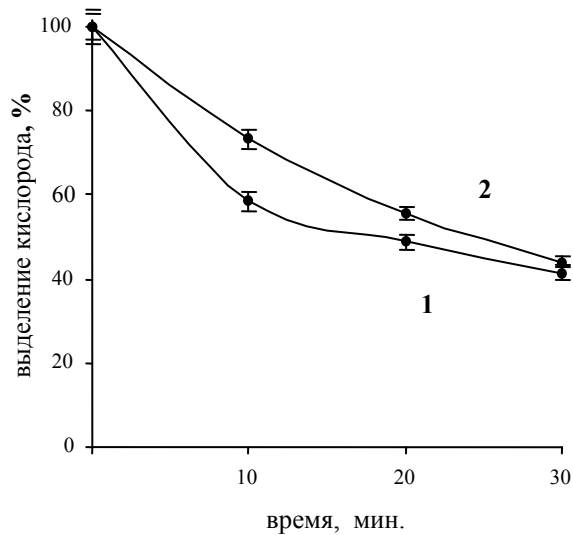


Рис. 3. Зависимость фотосинтетического выделения кислорода контрольными и клетками, предварительно выращенными в условиях хронического УФ-В излучения, от продолжительности озонирования. 1 - контрольные клетки; 2 - опытные клетки.

На основании полученных данных можно заключить следующее, выращивание водорослей при хронической дозе 15 сек/час УФ-В света в интенсивной культуре позволили нам получить клетки, обогащенные каротиноидами. Исследование индукционных кривых замедленной флуоресценции хлорофилла и скорости фотосинтетического выделения кислорода, с помощью полярографического метода таких клеток, показало, что каротиноиды позволяют водоросли расширить диапазон функциональной устойчивости от стресса, вызванного озоном.

ЛИТЕРАТУРА

1. Али-заде Г.И., Сидеиф-заде А.Р., Наджафли М.Г., Алиева Ф.К. // Труды Института Ботаники НАН Азербайджана. Баку: 2008, 18, с. 338-341.
2. Сидеиф-заде А.Р., Али-заде Г.И., Наджафли М.Г. // Материалы Республиканской научной конференции «Biologiyanın müasir problemləri», Баку: 2008, с. 29-30.
3. Ariyaphanphitak W., Chidthaisong A., Sarobol E., Bashkin V., Towprayson S. // Water, Air and Soil Pollut. 2005, 167, №1-4, p. 179-200.
4. Barbel Z. // Environ. Pollut. 2002, 119, №1, p. 55-68.
5. Gravanno E., Bussotti F., Strasser R. // Physiol. plant. 2004, 121, №4, p 620-633.
6. Santarelli S., Petruziella S., Nali C., Pauletti E., Lorenzini G. // J. Plant. Pathol. 2004, 86, №4, p. 332-340.
7. Morgan P., Airsworth E., Cong S. // Cell and Environ. 2003, 26, №8, p. 1317-1328.

DUNALIELLA HÜCEYRƏLƏRİNİN FOTOSİNTETİK AKTİVLİYİNƏ OZONUN TƏSİRİ

**Q.İ.ƏLİ-ZADƏ, İ.İ.ƏLİYEV,
X.X.MƏHƏRRƏMOVA, A.R.SİDEİF-ZADƏ**

XÜLASƏ

Bu işdə ozonun təsirinə məruz qalmış kontrol və UB-B şüalarının xroniki dozaları ilə işlənmiş *Dunaliella* hüceyrələrdə xlorofilin gecikmiş flüoressensiyasının induksiya əyriləri və fotosintez zamanı oksigenin ayrılma sürətinin nəticələri verilmişdir. Müəyyən edilmişdir ki, UB-B şüalarının xroniki dozaları şəraitində becərilmiş hüceyrələr ozonun təsirinə qarşı yüksək funksional davamlılıq göstərilir. Hüceyrələrin yüksək davamlılığı karotinoidlərin sintezi ilə əlaqələndirilir.

PHOTOSYNTHETIC ACTIVITY OF *Dunaliella* CELLS UPON OZONE

**G.I.ALIZADEH, I.I.ALIYEV,
Kh.Kh.MAHARRAMOVA, A.R.SIDEIFZADEH**

SUMMARY

The effects of ozone on the chlorophyll delayed fluorescence induction kinetics and on the photosynthetic production of oxygen upon chronic UV-B irradiation of *Dunaliella* cells have been studied. The cells grown in the intensive culture at chronic UV-B irradiation show elevated functional resistance to ozone. We conclude that this elevated resistance of the cells is associated with carotenoid synthesis.