

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. М.В.ЛОМОНОСОВА
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

ПРОБЛЕМЫ СОВРЕМЕННОЙ БИОЛОГИИ

Л 6662-А86

УДК 582.265.1:546.56:551.464.7(262.5)

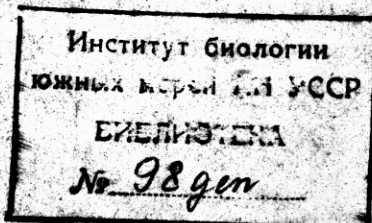
В.Б.Владимиров 15.08.86

ИНДУКЦИЯ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ КАК ИНДИКАТОР ПОВРЕЖДЕНИЯ
ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ЧЕРНОМОРСКОЙ МАКРОВО-
ДОРΟΣЛИ *ULVA RIGIDA* (AG.) ПРИ ДЕЙСТВИИ ИОНОВ
МЕДИ.

Необходимость изучения механизма действия тяжелых металлов на макрофиты определяется проявлением некоторых из них в последнее время как фактора загрязнения водной среды и возможностью использования их в качестве организмов-мониторов /Бурдин, Савельев, 1980/.

Для исследования альгицидности тяжелых металлов важно избирать показатели метаболизма, определяющие первичные реакции организма на яды до наложения вторичных явлений, вызванных более длительными контактами. По-видимому, ухудшение состояния фотосинтетического аппарата может относиться к одному из наиболее ранних нарушений, вследствие его высокой чувствительности к токсическим воздействиям /Полищук, Степанченко, 1973/. Удобным методом для исследования состояния фотосинтетического аппарата является регистрация фотоиндуцированных изменений выхода флуоресценции. Кинетика переменной флуоресценции дает информацию об окислительно-восстановительных превращениях первичного акцептора электронов первой фотосистемы.

В настоящей работе исследовали функционирование электронтранспортной цепи хлоропластов у водоросли *Ulva rigida* при действии ионов меди.



Методика

Объектом исследования служили дисковые высечки из водоросли *U. rigida* диаметром 1,5 см адаптированные к условиям аквариальной с температурой 15°C, освещенностью 3 кл и 12 часо - вым периодом освещения.

В эксперименте водоросли инкубировали в растворе CuSO_4 в концентрации 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} м.л.⁻¹. Измерения проводили через 0,25; 1; 3; 6; 24 часов.

Методика измерения индукции флуоресценции, измеренной однолучевым методом, заключалась в следующем. Диск водоросли помещался на 10 мин. в темноту. После этого с помощью люминесцентного микроскопа с фотометрической приставкой измеряли кинетику флуоресценции, помещая водоросль на предметное стекло в фокус объектива $10\times$. Диаметр экспонируемого участка водоросли 2 мм. После этого водоросль сдвигалась в фокальной плоскости и вновь регистрировали кинетику флуоресценции на неэкспонированном участке. После 3-х кратной повторности, водоросль накрывали сверху вторым предметным стеклом, имитируя тем самым анаэробные условия /Карапетян и др., 1971/. Затем по описанной методике измеряли кинетику флуоресценции неэкспонированных участков через 0,5; 1; 2; 3 мин. Для возбуждения флуоресценции использовали лампу КГМ-6 со светофильтрами СЭС-21, СС-15. Интенсивность возбуждающего света $5 \cdot 10^{-4}$ эрг.см⁻².с⁻¹. При регистрации использовали отсекающий интерференционный светофильтр с длиной волны максимального светопропускания 680 нм.

Результаты и обсуждение

Кинетика флуоресценции в секундном диапазоне обнаруживает некоторые отличия контроля и водорослей инкубируемых с медью. На рис. 1 представлены полученные кривые в случае контроля и при инкубации с ионами меди. Измерение соответствует времени инкубации 15 минут. В контроле кривая в секундном диапазоне носит четкий двувершинный характер с последующим снижением до стационарного уровня. При действии меди в различных концентрациях обнаруживается характерное замедление светового спада переменной флуоресценции. При этом второй пик становится практически незаметен на фоне медленного уменьшения интенсивности флуоресценции после первого максимума.

Начальный участок фотоиндуцированного спада флуоресценции после достижения максимума отражает, вероятно, процесс активации переноса электронов на акцепторной стороне первой фотосистемы, а замедление спада связано, по-видимому, с закислением внутритилакоидного пространства (Prevot, Soyer, 1979).

Кинетика флуоресценции указывает на ослабление активности акцепторной части первой фотосистемы при действии ионов меди. Интересно, что столь быстрый отклик на ионы меди возникает лишь в случае регистрации в анаэробных условиях. При обычной регистрации кинетика флуоресценции сохраняет характер аналогичный контролю с незначительными изменениями. По-видимому, в анаэробных условиях происходит переключение фотосинтеза таким образом, что медьзависимые ферменты начинают играть значительную роль.

Для выяснения количественных закономерностей обычно привлекают различные параметры, характеризующие фазы кривой фотоиндукции, наиболее характерны в рассматриваемых экспериментах (Smillie, Netherington, 1983). Поскольку в наших опытах основным отличием явилось замедление спада флуоресценции, то в соответствии с этим был выбран параметр P , определяющийся как время от максимума до падения до 80% максимальной величины (Рис. 1).

Рис. 2 показывает, как изменяется параметр P при различном времени анаэробных условий. Как видно из рисунка, достаточно 30 секунд для частичного переключения фотосинтеза на анаэробные условия. Причем с увеличением времени различия контроля и опытных вариантов увеличиваются. В случае контроля длительное выдерживание в анаэробных условиях /до 5 минут/ не приводит к значительным изменениям. В случае инкубации с медью в анаэробных условиях продолжительностью 5 минут и более происходит увеличение параметра P до 10-15 секунд и более.

На рис. 3 показана зависимость параметра P от времени инкубации при различных концентрациях. Приведены значения, соответствующие 1 мин. в анаэробных условиях. На рисунке отсутствуют измерения, соответствующие 6 и 24 часам для концентрации меди 10^{-4} м.л $^{-1}$ и 24 часам для концентрации 10^{-5} м.л $^{-1}$, поскольку интенсивность флуоресценции снизилась при этом на 90% и измерение кинетики не имеет смысла.

Можно заключить, что наибольшие изменения параметра P происходят уже в течение первого часа, т.е., по-видимому, отражают

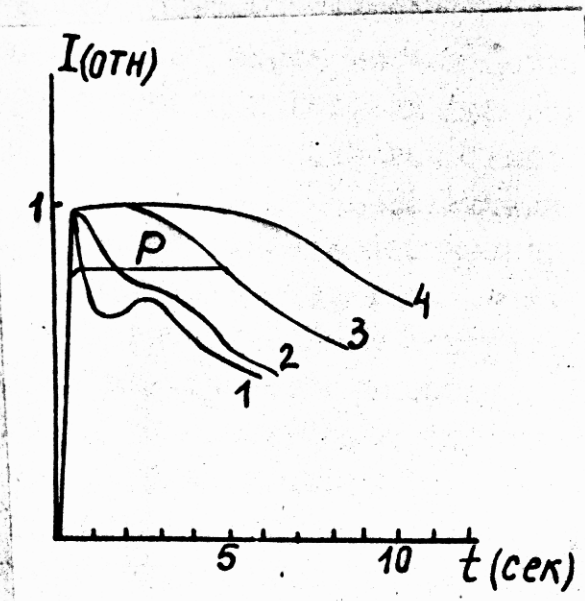


Рис. I Кинетика флуоресценции в анаэробных условиях через 15 минут после начала инкубации с ионами меди
 1 - контроль, 2 - 10^{-6} м.л. $^{-1}$,
 3 - 10^{-5} м.л. $^{-1}$, 4 - 10^{-4} м.л. $^{-1}$,
 P - параметр характерный для повреждения ионами меди.

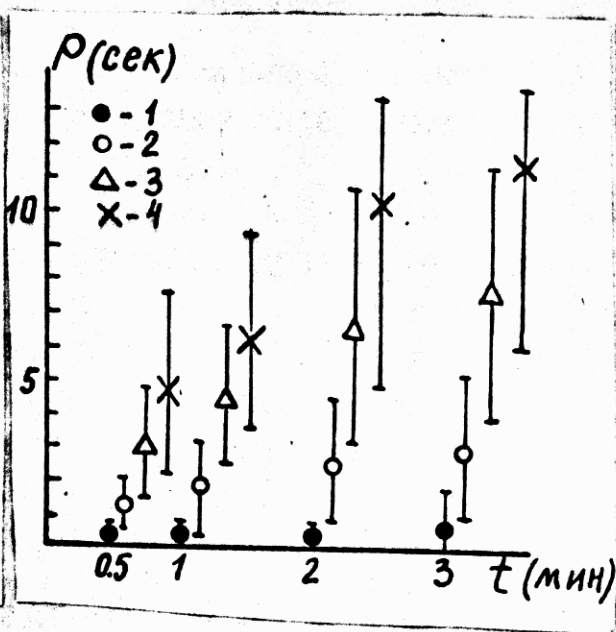


Рис. II Изменение параметра P при разном времени пребывания в анаэробных условиях при действии ионов меди в течение 1 часа.
 1 - контроль, 2 - 10^{-6} м.л. $^{-1}$,
 3 - 10^{-5} м.л. $^{-1}$, 4 - 10^{-4} м.л. $^{-1}$.

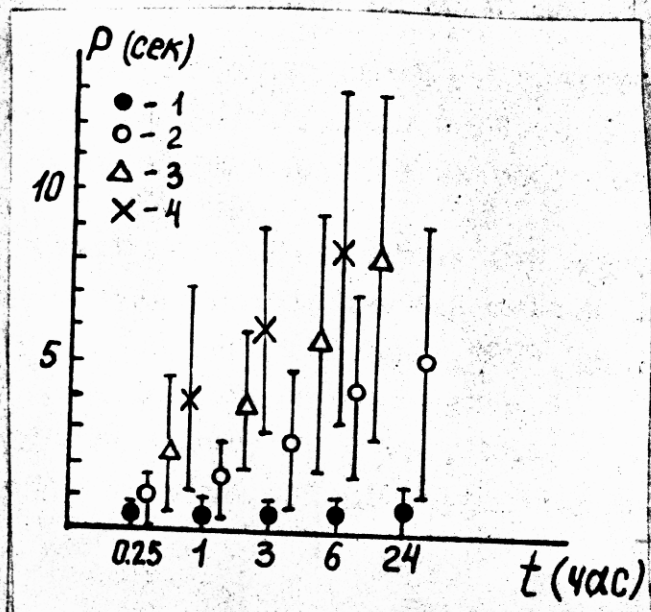


Рис. III Зависимость параметра P от времени инкубации с ионами меди.
 1 - контроль, 2 - 10^{-6} м.л. $^{-1}$,
 3 - 10^{-5} м.л. $^{-1}$, 4 - 10^{-4} м.л. $^{-1}$.

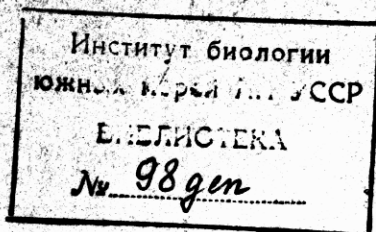
первичные процессы повреждения. Кроме того, из сравнения рис. 2 и 3 можно заметить некоторое сходство в нарастании параметра P , что отражает, вероятно, тот факт, что повреждение фотосинтетического аппарата водоросли при действии меди и анаэробных условий аналогичны и взаимно дополняют друг друга.

Заключение.

Исследование кинетической кривой фотоиндукции флуоресценции в секундном диапазоне дает информацию не только о структуре фотосинтетического аппарата/Бухов и др., 1983/, но и о повреждении электрон-транспортной цепи фотосинтеза. Измерение в анаэробных условиях может служить некоторой стандартной функциональной нагрузкой, требующей от фотосинтетического аппарата значительной перестройки и выявляющей повреждения. Ионы меди являются специфическим повреждающим агентом для фотосинтетического аппарата.

Литература.

1. Бурдин К.С., Савельев И.Б. Программа исследований загрязнения морского макробентоса тяжелыми металлами и ее место в системе мониторинга окружающей среды. - В сб.: "Человек и биосфера", вып. 5, 1980, М., изд. Моск. ун-та, с. 95-109.
2. Бухов Н.Г., Карапетян Я.В., Воскресенская Н.П. Различия в индукции флуоресценции листьев ячменя, выращенного на синем или красном свете. - Физиол. растений, 1983, 30, 5, 938-943.
3. Карапетян Н.В., Климов В.В., Ланг Ф., Красновский А.А. Исследование индукции флуоресценции листьев кукурузы в анаэробных условиях. - Физиол. растений, 1971, 18, 3, 507-517.
4. Полищю Р.А., Степанченко В.И. Повреждающее действие тяжелых металлов на черноморские и средиземноморские водоросли. - В кн.: Материалы Всесоюз. симп. по изучению Черного и Средиземного морей, использованию и охране их ресурсов. Ч. IV. Киев, "Наукова думка", 1973, 103-106.
5. Prevot, Soyer M.O. Etude des mecanismes toxicologiques au au niveau cellulaire des metaux lourds. - Laboratoire, Arago, Banyuls-sur-mer (France), 1979, 7pp.
6. Smillie R.M., Hetherington S. Stress tolerance and stress induced injury in crop plants measured by chlorophyll fluorescence in vivo. - Plant Physiology, 1983, v72, 1043-1050.



в печать

Ипр.

Цена 60 коп.

Зак.

Производственно-издательский комбинат ВИНТИ
Люберцы, Октябрьский пр., 403