

УДК 581.1

**ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ КЛЕТОК DUNALIELLA ПРИ СОПРЯЖЕННОМ ДЕЙСТВИИ УФ-В ИЗЛУЧЕНИЯ И ВЫСОКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ**

**Али-заде Г.И., Зейналова Н.М., Магеррамова Х.Х., Алиева Ф.К.**

*Бакинский государственный университет, Баку, e-mail: qalizadeh@mail.ru*

Исследовали последствия теплового шока, УФ-В облучения и последовательного действия этих стрессоров на фотосинтетическое выделение кислорода клетками *Dunaliella*, выращенные в минеральной среде с различными концентрациями NaCl (1,5 М и 3,0 М). Показано, что тепловой шок (50 °С) продолжительностью 60 и 90 с, подавляет функциональную активность клеток до уровня 90 и 51 % (1,5 М NaCl), а в клетках с 3,0 М NaCl 97 и 73 % соответственно. В зависимости от продолжительности воздействия теплового шока и УФ-В излучения выявлено некоторое повышение показателей фотосинтетического выделения кислорода у клеток, выращенных в среде с 3,0 М NaCl, по сравнению с 1,5 М NaCl. Установлено, что сопряженное действие стрессоров стимулирует функцию (3,0 М NaCl) водорослей на 3–5 %, а в случае с (1,5 М NaCl) на 6–16 %, по сравнению с действием каждого стрессора в отдельности. Выявлено, что увеличение солёности среды выращивания повышает функциональную устойчивость водорослей к действию стрессоров, связанных с внутриклеточным метаболизмом.

**Ключевые слова:** зеленые водоросли, УФ-В излучение, тепловой шок, фотосинтетическая активность

**FUNCTIONAL STABILITY OF DUNALIELLA CELLS AGAINST THE ACCOMPANIED ACTIVITY OF UV-B RADIATION AND HIGH TEMPERATURE**

**Ali-zade G.I., Zeynalova N.M., Maharramova H.H., Alieva F.K.**

*Baku State University, Baku, e-mail: qalizadeh@mail.ru*

The consequence of warm stress, UV-B radiation and influence of these stresses on photosynthetic emission of oxygen in *Dunaliella* cells, grown in mineral medium with different concentrations NaCl (1,5 M and 3,0) were investigated. It was shown that, warm stress (50 °C) lasting 60 sec. and 90 sec. reduces the functional activity of cells to the level 90 and 51 % (1,5 M NaCl), and in cells with 3,0 M NaCl 97 and 73 % accordingly. Depending on continuation of influence of warm stress and UV-B radiation, was found out several increase of indications of photosynthetic emission of oxygen in cells, grown in medium with 3,0 M NaCl, compared with 1,5 M NaCl. It was determined that accompanied activity of stresses stimulate the function (3,0 M NaCl) of algae to 3–5 %, but in case of (1,5 M NaCl) to 6–16 %, compared with activities of each stress individual. It was also determined that the increase of the medium salinity of growth increase the functional stability of algae against the activity of stresses, connected with intercellular metabolism.

**Keywords:** green algae, UV-B radiation, warm stress, photosynthetic activity

В связи с истощением озонового слоя наблюдается повышение доз УФ-В излучения с последующим увеличением температуры поверхности Земли и нарушением функции растительного организма. В период роста растения подвергаются нескольким стрессам, и ответные реакции их могут быть синергическими или антагонистическими [5]. В отдельности УФ-В излучение губительно влияет на митохондрии, хлоропласты, мембраны и формирование светособирающего комплекса [4]. Температура как диффузионный процесс сильно подавляет фотосинтетическую активность и биопродуктивность растительных клеток [1, 3]. Известно в литературе также, что оба эти стрессора при совместном действии, в зависимости от природы растительного организма (способность к адаптации), проявляют различные приспособительные реакции, повышая устойчивость к тепловому шоку и УФ-В излучению и наоборот [3, 6, 7]. Для изучения последствий действия УФ-В излучения и теплового шока в основном используют растения на стадиях роста и развития [7, 8].

В задачу исследований входило изучение фотосинтетического выделения кислорода клетками *Dunaliella*, выращенные при различных солёностях среды и при сопряженном действии теплового шока, УФ-В излучения и наоборот.

**Материалы и методы исследования**

Объектом исследования служила зеленая галофильная одноклеточная водоросль *Dunaliella salina* IPPAS D-294.

Водоросли выращивали при 27 °С в стеклянных фотореакторах (250 мл), на установке для выращивания культур одноклеточных водорослей. Минеральная среда Абдуллаева-Семененко содержала (г/л): NaCl – 87,5 (1,5 М); – 175,5 (3,0 М); KNO<sub>3</sub> – 5,0; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 1,25; MgSO<sub>4</sub> – 50; FeSO<sub>4</sub> – 0,009 раствор микроэлементов, 1 мл/л. Суспензию клеток в фотореакторах круглосточно освещали белым светом люминесцентных ламп (16 Вт/м<sup>2</sup>) и непрерывно продували в фотореакторы воздушной смеси (воздух +1,5% CO<sub>2</sub>). Клетки выращивали в течение 24 часов, в интенсивно-накопительном режиме культивирования.

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

Клетки подвергали воздействию высокой температуры (50 °С в течение 60–120 с), облучали УФ-В светом (10 с), либо сначала облучали, затем выдерживали в условиях теплового шока (50 °С, 60–120 с).

Источником УФ-В излучения служила ртутная лампа ПРК-400 без светофильтра. Тепловую обработку проводили в водяной бане, куда помещали цилиндр с суспензией водорослей.

После всех манипуляций суспензию клеток помещали в полярографическую ячейку. Скорость выделения кислорода клетками измеряли на полярографической установке, с применением платинового электрода Кларка, освещающая суспензию в термостатированной ячейке (40 °С), белым светом насыщающей интенсивности (100 Вт/м<sup>2</sup>).

### Результаты исследования и их обсуждение

На рис. 1 представлены результаты зависимости фотосинтетического выделения кислорода клетками *Dunaliella*, выращенными в среде с 1,5 М NaCl (кривая 1) и 3,0 М NaCl (кривая 2) от острой различной дозы УФ-В излучения. Как видно из рисунка, увеличение солености среды выращивания приводит к повышению резистентности к острым дозам УФ-В излучения. Так, фотосинтетическое выделение кислорода клетками, выращенными в 1,5 М NaCl и облученными острой дозой УФ-В света в диапазоне 10–30 с. спонтанно снижается и составляет при 10 с 92%; 20 с 78%; 30 с 40% (кривая 1). Во втором варианте, фотосинтетическая активность клеток проявляет некоторую резистентность к различным дозам УФ-В света, которая составляет соответственно 95; 85; 77% (кривая 2). Из полученных результатов следует, что увеличение солености среды выращивания приводит к значительной устойчивости водорослей к острым различным дозам УФ-В излучения.

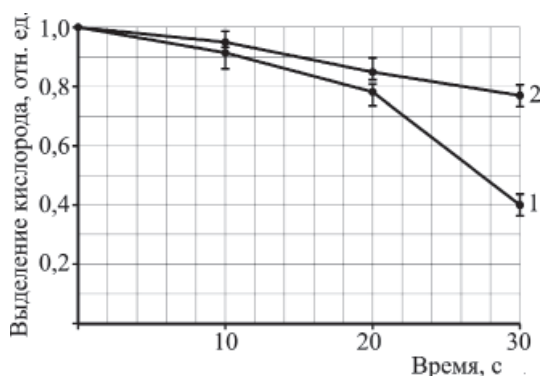


Рис. 1. Зависимость фотосинтетического выделения кислорода клетками *Dunaliella* от различной острой дозы УФ-В излучения: 1 – клетки, выращенные в среде с 1,5 М NaCl; 2 – клетки, выращенные в среде с 3,0 М NaCl

Исследование воздействия высокой температуры на суспензию водорослей по-

казало также различную их устойчивость к кратковременному тепловому шоку. На рис. 2 представлены результаты изучения действия кратковременного теплового шока на фотосинтетическое выделение кислорода клетками *Dunaliella*. Как видно из рисунка, зависимость фотосинтетической активности клеток, выращенных при различных соленостях среды от времени обработки тепловым шоком, описываются кривыми, отличающимися друг от друга. Так, клетки, выращенные в среде с 3,0 М NaCl, проявляют повышенную устойчивость к тепловому шоку. В зависимости от времени обработки разница в показателях устойчивости фотосинтетической активности составляет при (50 °С, 60 с) обработке 6–7,5%, при (50 °С, 90 с) 20–22%, а при (50 °С, 120 с) 3–4%.

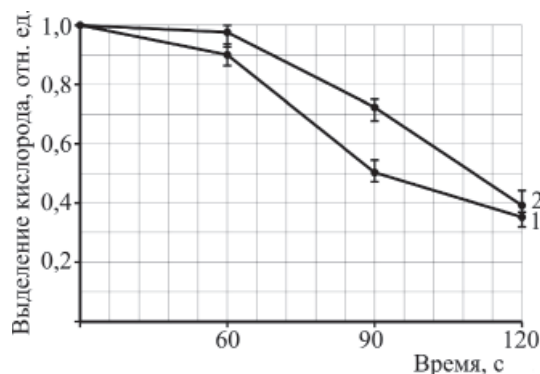


Рис. 2. Зависимость фотосинтетического выделения кислорода клетками *Dunaliella* от времени обработки тепловым шоком (50 °С): 1 – клетки, выращенные в среде с 1,5 М NaCl; 2 – клетки, выращенные в среде с 3,0 М NaCl

Итак, УФ-В излучение и тепловой шок (50 °С) в разной степени подавляют фотосинтетическое выделение кислорода клетками *Dunaliella* и в обоих случаях наблюдается повышенная устойчивость у клеток, выращенных в среде с концентрацией (3,0 М) NaCl. Вероятно, это связано с синтезом внутриклеточного глицерина и значительных количеств каротиноидов при увеличении тоничности среды (3,0 М NaCl). Это подтверждается данными, полученными нами ранее [1], где было убедительно показано, что каротиноиды расширяют диапазон температурного оптимума и защищают водоросли от стресса, вызванного высокой температурой, а синтезированный внутриклеточный глицерин является протектором, при экстремально повышенных температурах [2].

Интересно было исследовать также влияние последовательного воздействия теплового шока, а затем УФ-В излучения и, наоборот, на фотосинтетическое выделение кислорода клетками *Dunaliella*, выращенными при различных соленостях среды.

Как видно из табл. 1, клетки, выращенные в среде с 1,5 М NaCl при последовательном воздействии теплового шока (50 °С, 60 с) и ультрафиолетового излучения (УФ-В, 10 с), проявляют повышенную (6–9%) устойчивость функциональной активности, по сравнению с клетками, обработанными только тепловым шоком. Клетки, выращенные в среде с 3,0 М NaCl, проявляют (100–102%) устойчивость функциональной активности при последовательном действии теплового шока (50 °С, 60 с) и ультрафиолетового излучения (УФ-В, 10 с).

**Таблица 1**

Влияние теплового шока (50 °С) и УФ-В облучения на фотосинтетическое выделение кислорода (%) клетками *Dunaliella*, выращенными при различных соленостях среды

Варианты	1,5 М NaCl	3,0 М NaCl
Контроль	100%	100%
50 °С 60 с	90 ± 1,4	97 ± 0,5
50 °С 90 с	51 ± 2,3	73 ± 1,2
УФ-В 10 с	92 ± 0,5	95 ± 0,6
50 °С, 60 с + УФ-В, 10 с	96 ± 2,9	100 ± 1,5
50 °С, 90 с + УФ-В, 10 с	67 ± 2,6	83 ± 1,5

Примечание. Температура 40 °С, интенсивность света 100 Вт/м<sup>2</sup>.

Увеличение продолжительности действия теплового шока (50 °С, 90 с) и ультрафиолетового излучения (УФ-В, 10 с) на клетки, выращенные в среде с 1,5 М NaCl, приводит к повышению на 16–17%, а в среде с 3,0 М NaCl на 9–10% соответственно их фотосинтетической активности, по сравнению с водорослями, обработанными только тепловым шоком. Исследование последовательного действия УФ-В излучения и теплового шока на фотосинтетическое выделение кислорода клетками, представлено в табл. 2.

Как видно из табл. 1, каждый из стрессоров в отдельности по-разному подавляет функциональную активность клеток, выращенных при двух соленостях среды. Так, при действии ультрафиолетового излучения (УФ-В, 10 с) фотосинтетическое выделение кислорода клетками, выращенными в среде с 1,5 М NaCl, снижается до величины 92%, и при последующем действии теплового шока (50 °С, 60 с) функциональная активность не подвергается какому-либо изменению и остается на прежнем уровне (92%). В случае с клетками, выращенными в среде с 3,0 М NaCl, фотосинтетическое выделение кислорода подавляется (95%), а последовательное действие двух стрессоров (УФ-В, 10 с + 50 °С, 60 с) восстанавливает (100%) функциональную активность клеток до кон-

трольного уровня. При действии постоянной дозы ультрафиолетового излучения (УФ-В, 10 с) и теплового шока (50 °С, 90 с) на клетки, выращенные в среде с 1,5 М NaCl, наблюдается снижение функциональной активности водорослей до уровня 70%, а в случае с 3,0 М NaCl до 95%. Следует отметить, что в этих условиях величина фотосинтетического выделения кислорода клетками превышала активность водорослей, обработанных только тепловым шоком на 18–20%.

**Таблица 2**

Влияние УФ-В облучения и теплового шока (50 °С) на фотосинтетическое выделение кислорода (%) клетками *Dunaliella*, выращенными при различных соленостях среды

Варианты	1,5 М NaCl	3,0 М NaCl
Контроль	100%	100%
УФ-В 10 с	92 ± 0,5	95 ± 0,5
50 °С 60 с	90 ± 1,4	97 ± 0,5
50 °С 90 с	51 ± 2,3	73 ± 1,2
УФ-В 10 с + 50 °С, 60 с	92 ± 0,6	100 ± 2,0
УФ-В 10 с + 50 °С, 50 с	70 ± 1,5	95 ± 1,2

Примечание. Температура 40 °С, интенсивность света 100 Вт/м<sup>2</sup>.

Таким образом, последовательное действие теплового шока и УФ-В излучения на водоросли приводит к увеличению их функциональной устойчивости, по сравнению с действием каждого стрессора в отдельности. Сравнительная функциональная устойчивость клеток к последовательному действию стрессоров выше у водорослей, выращенных в среде с 3,0 М NaCl, связана с их внутриклеточным метаболизмом.

**Список литературы**

1. Али-заде Г.И. // Труды Института ботаники НАН Азербайджана. – 2009. – Т. 29. – С. 649–659.
2. Али-заде Г.И., Алиева Ф.К., Наджафли М.Г., Сидеиф-заде А.Р. // Известия НАН Азербайджана (биологические науки). – 2009. – Т. 64, №3–4. – С. 145–149.
3. Борисова Т.А., Бугадже С.М., Мешкова Н.В., Власов П.В. // Физиология растений. – 2001. – Т. 48, №4. – С. 589–595.
4. Климов С.В. // Известия РАН, серия биологическая. – 2009. – №3. – С. 313–322.
5. Тянь С.Р., Лей Ю.Б. // Физиология растений. – 2007. – Т. 54, №5. – С. 763–769.
6. Allen D.J., Ort D.R. // Trends Plants Sci. – 2001. – Vol. 6. – P. 36–42.
7. Dohler G., Hoffman M., Stappel U. // Bot. Acta. – 1994. – Vol. 108. – P. 93–98.
8. Caldwell C.R. // Plant Physiol. – 1994. – Vol. 104. – P. 395–399.

**Рецензенты:**

Гусейнов Т.М., д.б.н., руководитель лаборатории экологической биофизики Института физики НАН Азербайджана, г. Баку;  
Халилов Р.И., д.ф.-м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории радиоэкологии Института радиационных проблем НАН Азербайджана, г. Баку.

Работа поступила в редакцию 30.09.2011.