

*Биология*

УДК 58.03+ 581.174.1

Л. С. ГАБРИЕЛЯН

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПИГМЕНТОВ ВОДОРОСЛИ  
*CHLORELLA PYRENOIDOSA*, ПОДВЕРГНУТОЙ ДЕЙСТВИЮ  
ПОВЫШЕННЫХ ТЕМПЕРАТУР

Для оценки функционального состояния фотосинтетического аппарата исследовали влияние высоких температур на пигментную систему хлореллы. Установлено, что под действием температур уменьшается содержание пигментов. Причем наиболее чувствительны хлорофилл *a* и каротиноиды. Концентрация хлорофилла *b* изменяется незначительно, что свидетельствует об устойчивости светособирающего комплекса (поскольку в нем практически находится весь хлорофилл *b*).

Температура выступает как регулятор скорости фотосинтеза в физиологическом диапазоне температур, а также в качестве стресс-фактора. Повышенные температуры оказывают многостороннее действие на функционирование фотосинтетического аппарата (ФСА) и первичные реакции фотосинтеза [1–5].

Исследования показали, что изменения фотосинтетической активности коррелируют со специфическими повреждениями мембран хлоропластов и подавлением активности ферментов при некоторой пороговой температуре, причем при температурах выше пороговой эти повреждения необратимы [1, 2, 4].

Ряд авторов пытается раскрыть природу теплового повреждения фотосинтетических мембран [2, 4]. На основании результатов этих работ можно заключить, что нагревание существенно влияет на организацию мембранных белков, входящих в состав фотосинтетического аппарата, в частности, на пигмент-белковый комплекс (ПБК), белки реакционного центра (РЦ) и кислородвыделяющую систему фотосистемы 2 (ФС2) [1, 3, 4]. При действии субоптимальных температур также происходят изменение жирнокислотного состава мембран и перераспределение липидов при фракционировании, что и свидетельствует о нарушении структуры мембран, в том числе липид-белковых взаимодействий [3, 6].

Содержание хлорофиллов и каротиноидов является чувствительным показателем физиологического состояния объекта, отражающим интенсивность фотосинтеза при стрессовых воздействиях, изменениях в онтогенезе и адаптивных перестройках [6–8].

Целью настоящей работы является исследование изменения содержания пигментов (хлорофиллов и каротиноидов) зеленой водоросли *Chlorella* при действии высоких температур.

**Объект и методы исследования.** В качестве объекта исследования использовалась одноклеточная зеленая водоросль *Chlorella pyrenoidosa*. Хлорелла культивировалась в 500мл колбах на питательной среде Тамия при 25°C и естественном освещении (500–800лк). Суспензия хлореллы одинаковой плотности и одинакового объема подвергалась тепловому воздействию (45 и 50°C) в течение 15мин в ультратермостате ТУ–1. Затем объект адаптировали к комнатной температуре. Определение содержания хлорофиллов *a* и *b* в хлорелле проводили путем экстрагирования 80% раствором ацетона с последующим измерением оптической плотности экстракта на спектрофотометре СФ–10. Концентрации хлорофиллов рассчитывали по уравнениям Вернона (см. [9], стр. 130). При определении концентрации каротиноидов в суммарной вытяжке пигментов использовалась формула Ветштейна (см. [9], стр. 132). Количество пигментов приведено в отношении сухого веса хлореллы. Полученные данные подвергались статистической обработке [10]. Биологическая повторность опытов 3-кратная.

**Результаты и обсуждение.** Согласно существующим представлениям, непосредственное участие в первичных процессах преобразования энергии в фотосинтезе принимает только 1% хлорофилла, а остальная масса пигментов служит для поглощения энергии и передачи ее соответствующим РЦ. Известно, что весь хлорофилл тилакоидов локализован в трех мембранных структурах – в комплексах ФС2, ФС1, а также светособирающем комплексе (ССК) [11]. В состав РЦ обеих фотосистем входит главным образом хлорофилл *a*, а в состав ССК, функционально сопряженного с ФС2, в основном хлорофилл *b*.

Пигментная система является критерием взаимодействия фотосинтезирующего объекта с окружающей средой [2, 6, 8]. В данной работе определяли содержание хлорофиллов *a* и *b*, а также содержание каротиноидов для оценки степени повреждения тилакоидных мембран при действии повышенных температур. Результаты приведены в таблице.

*Изменение содержания пигментов при различных температурах*

Температура, °C	Хлорофилл <i>a</i> , мг/г сух. веса	Хлорофилл <i>b</i> , мг/г сух. веса	<i>a/b</i>	Каротиноиды, мг/г сух. веса
25 (контроль)	3,13±0,11	1,81±0,05	1,73±0,11	1,06±0,04
45	2,71±0,16	1,69±0,02	1,59±0,08	0,85±0,07
50	2,41±0,15	1,56±0,02	1,53±0,07	0,71±0,02

Исследование пигментного состава ФСА хлореллы показало, что с повышением температуры наблюдается падение содержания хлорофиллов.

При этом изменения в пигментном комплексе под влиянием температуры происходят главным образом за счет снижения содержания хлорофилла *a*, количество же хлорофилла *b* понижается в меньшей степени. Так, концентрация хлорофилла *a* уменьшается на 13 и 23%, хлорофилла *b* – на 7 и 14% (при 45 и 50<sup>0</sup>C соответственно) по сравнению с контролем. Это свидетельствует о том, что РЦ более подвержены действию высоких температур, чем ССК.

Что же касается содержания каротиноидов, то данный пигмент оказался более чувствительным к действию повышенных температур. Его концентрация уменьшается на 20 и 33% по сравнению с контролем.

Таким образом, повышенные температуры снижают общее количество пигментов. Эти изменения в пигментном комплексе отражают подавление фотосинтетической активности хлореллы, что подтверждает полученные нами ранее данные [12, 13].

Кафедра биофизики

Поступила 25.11.2003

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Hiik P. et al. – J. Photochem. Photobiol. B: Biol., 2000, v. 59, p. 103–114.
2. Mobanty P. et al. – Z. Naturforsch., 2002, 57 с, p. 836–842.
3. Morgan-Kiss R. et al. – Biochim. Biophys. Acta, 2002, v. 1561, p. 251–265.
4. Yamane Y. et al. – Photosynth. Res., 1997, v. 52, p. 57–64.
5. Yamane Y. et al. – Photosynth. Res., 1998, v. 57, p. 51–59.
6. Клячко-Гурвич Г.Л. и др. – Физиология растений, 1997, т. 44, № 2, с. 212–221.
7. Мерзляк М.Н. и др. – Там же, 1996, т. 43, № 6, с. 926–936.
8. Фомин В.В. и др. – Там же, 2001, т. 48, № 5, с. 760–765.
9. Гавриленко В.Ф. и др. Большой практикум по физиологии растений. М.: Высшая школа, 1975, 392 с.
10. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990, 352 с.
11. Фотосинтез. Под ред. Говинджи. М.: Мир, 1987, т. 1, 728 с.
12. Габриелян Л.С., Джавршян Дж.М. – Материалы 7-й Пушкинской школы-конференции молодых ученых: Биология – наука XXI века. Пушкино, 2003, с. 56–57.
13. Джавршян Дж.М., Габриелян Л.С. – Ученые записки ЕГУ. 2004, № 1, с. 86–93.

#### Լ. Ս. ԳԱՐՐԻԵԼՅԱՆ

#### ԲԱՐՁՐ ՋԵՐՄԱՍՏԻՃԱՆՆԵՐԻ ԱԶԴԵՅՈՒԹՅԱՆԸ ԵՆԹԱՐԿՎԱԾ CHLORELLA PYRENOIDOSA ՋՐԻՄՈՒՌԻ ՊԻԳՄԵՆՏՆԵՐԻ ՍՊԵԿՏՐԱԼՈՒԲԱՉԱՓԱԿԱՆ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ

#### Ամփոփում

Ֆոտոսինթետիկ ապարատի ֆունկցիոնալ վիճակի գնահատման համար ուսումնասիրվել է բարձր ջերմաստիճանների ազդեցությունը քլորելայի պիգմենտային համակարգի վրա: Այդ ազդեցությունը հանգեցնում է

պիգմենտների քանակության նվազման: Քլորոֆիլ  $a$ -ն և կարոտինոիդները առավել զգայուն են: Իսկ գրեթե անբողջությամբ լույս հավաքող համալիրում գտնվող քլորոֆիլ  $b$  -ի կոնցենտրացիայի աննշան փոփոխությունը վկայում է այդ համալիրի կայունության մասին:

L. S. GABRIELIAN

THE SPECTROPHOTOMETRIC ANALYSIS OF PIGMENTS OF ALGA  
*CHLORELLA PYRENOIDOSA*, SUBJECTED TO ACTION OF INCREASED  
TEMPERATURES

Summary

For an evaluation of a functional state of the photosynthetic apparatus investigated the effect of high temperatures on pigments system *Chlorella pyrenoidosa*. It is established, that under action of temperatures the contents of pigments decreases. Chlorophyll  $a$  and carotenoids are more sensitive. Concentration of chlorophyll  $b$  changes insignificantly, that testifies the stability of light-harvesting complex LHC (in fact all chlorophyll  $b$  is in LHC).