

## WPLYW PROMIENIOWANIA UV-B NA KINETYKĘ ZANIKU DŁUGOTRWAŁEJ OPÓŹNIONEJ LUMINESCENCJI ZAWIESINY GŁONÓW *Scenedesmus quadricauda* TURP. (BRÉB)

Zdzisław Prokowski, Aleksander Brzóstowicz

Zakład Fizyki, Akademia Rolnicza w Szczecinie

### Wstęp

Z powodu sezonowego zmniejszania się warstwy ozonowej zwiększa się udział promieniowania UV-B (280÷320 nm) w świetle słonecznym docierającym do powierzchni Ziemi [SMITH i in. 1995]. Promieniowanie z tego zakresu widma, w dużych dawkach, powoduje nieodwracalne uszkodzenia aparatu fotosyntetycznego [RENGER i in. 1989]. Stąd skutkiem wpływu promieniowania UV-B na aparat fotosyntetyczny glonów i fitoplanktonu poświęca się coraz więcej uwagi.

Jedną z metod badania procesu fotosyntezy oraz wpływu na ten proces różnych czynników biotycznych i abiotycznych, jest metoda wykorzystująca detekcję zaniku natężenia opóźnionej luminescencji (DL) chlorofilu *a* aparatu fotosyntetycznego glonów i roślin [SCHMIDT, SENGER 1987; PROKOWSKI 1996; TERJUNG, MAIER 1998]. Luminescencja ta towarzyszy procesowi fotosyntezy i powstaje głównie w fotosystemie II tego aparatu wskutek rekombinacji promienistej ładunków rozdzielonych w fazie świetlnej fotosyntezy [JURŠINIĆ 1986]. Kinetyka zaniku DL jest na ogół wielofazowa a w odpowiednich warunkach wzbudzenia zaobserwować można wystąpienie na niej przejściowych maksimum [SUNDBLAD i in. 1986; MELLVIG 1987; SCHMIDT, SENGER 1987].

Celem pracy było określenie wpływu promieniowania UV-B na kinetykę zaniku długotrwałej opóźnionej luminescencji zawiesiny glonów w różnych warunkach jej wzbudzania impulsem światła monochromatycznego.

### Materiał i metody

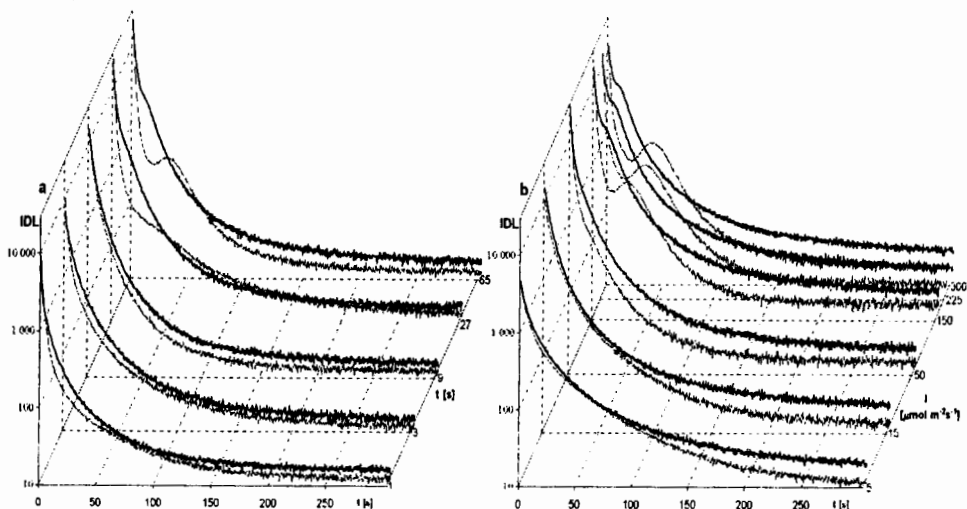
Badania przeprowadzono na monokulturze glonów *Scenedesmus quadricauda* Turp. (Bréb.) szczep B1-76 wyizolowanej przez GĘDZIOROWSKĄ [1983] i otrzymanej z Pracowni Biochemii Instytutu Oceanologii Polskiej Akademii Nauk w Sopocie. Glony wyrastały w temperaturze otoczenia ( $21 \pm 2$ )°C na przewietrzanej pożywce  $L_3m$  (początkowe pH =  $5,1 \pm 0,1$ ) – JANKOWSKI [1964]. Hodowlę glonów prowadzono przy fotoperiodzie: 8 godz. – światło „białe” fluorescencyjne, o gęstości strumienia fotonów  $150 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  promieniowania fotosyntetycznie czynnego (PAR), oraz 16 godz. – ciemność. Glony do badań pobierano pod koniec wykładniczej fazy ich wzrostu (przy pH =  $5,9 \pm 0,2$  i zawartości Chl *a*

( $200 \pm 20$ )  $\text{mg} \cdot \text{m}^{-3}$ ), po czym nalewano po  $25 \text{ cm}^3$  ich zawiesiny do krystalizatorów o pojemności  $90 \text{ cm}^3$ . Krystalizatoriki te stanowiły zarazem kuwety pomiarowe.

Do napromieniowania próbek promieniowaniem UV-B wykorzystano lampę typu VL-115 M (Vilber Lourmat, Francja), pod którą umieszczano krystalizatoriki z zawiesiną glonów. Przed pomiarami luminescencyjnymi wszystkie próbki pozostawiano na około 16 h w ciemności i w temperaturze otoczenia. Kinetykę zaniku DL zawiesin glonów rejestrowano w zakresie od 1 s do 310 s, po jej wzbudzeniu impulsem światła monochromatycznego ( $\lambda_{\text{max}} = 660 \text{ nm}$ ) przy wykorzystaniu zestawu pomiarowego skonstruowanego w Zakładzie Fizyki AR Szczecin [BRZOSTOWICZ i in. 2001]. Gęstość strumienia fotonów światła fotosyntetycznie aktywnej radiacji mierzono fitofotometrem FF01 (Sonopan). Natężenie napromieniowania UV-B – radiometrem IL1400 z czujnikiem SED 240/UV-B1/W (International Light Inc., USA). Wszystkie pomiary wykonywano w pięciu powtórzeniach a na wykresach przedstawiono uśrednione krzywe przebiegu.

## Wyniki

Analizując przebiegi krzywych, zarejestrowanych dla zawiesiny glonów kontrolnych, można zauważyć, że w przypadku krótkich czasów wzbudzenia lub przy niewielkich wartościach natężenia napromieniowania światła wzbudzającego DL (rys. 1), natężenie tego świecenia zanikało monotonicznie w czasie.



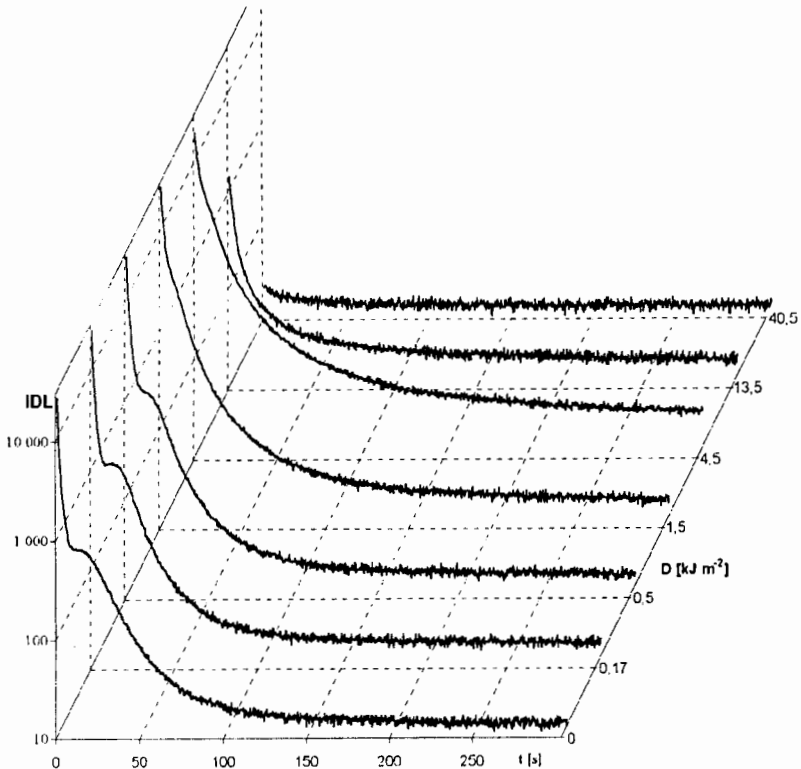
Rys. 1. Wpływ promieniowania UV-B w dawce  $2,5 \text{ kJ na m}^2$  na kinetykę zaniku długotrwałej opóźnionej luminescencji zawiesiny glonów *Scenedesmus quadricauda* rejestrowaną przy różnych: a – czasach trwania impulsu światła wzbudzającego ( $t$ ), b – wartościach natężenia napromieniowania światła wzbudzającego ( $I$ ). Linia cienka – glony kontrolne, linia gruba – glony poddane działaniu promieniowania UV-B. Opóźnioną luminescencję wzbudzano impulsem światła monochromatycznego: a – o gęstości strumienia fotonów  $150 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , b – o czasie trwania 60 s

Fig. 1. Effect of dose of  $2.5 \text{ kJ per m}^2$  UV-B radiation on decay kinetics of long-term

delayed luminescence of *Scenedesmus quadricauda* algae suspension registered at different: a – times of duration of impulse of exciting light (t), b – values of exciting light intensity (I)

Thin line – control algae, fat line – algae subjected to exposure of UV-B radiation. Delayed luminescence was excited with impulse of monochromatic light: a – photon flux density of  $150 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , b – time duration of 60 s

W miarę przedłużania czasu naświetlania zawiesiny glonów kontrolnych, przy odpowiednio dużej wartości natężenia napromieniowania światła wzbudzającego, natężenie DL przejściowo obniżało się, następnie wzrastało, po czym obniżało się ponownie. W rezultacie tych zmian w kinetyce zaniku DL pojawiało się przejściowe maksimum (rys. 1). Wartość natężenia DL rejestrowanego w tym maksimum oraz odstęp czasu, od chwili zakończenia naświetlania zawiesiny glonów do chwili jego wystąpienia, uzależnione były zarówno od czasu trwania wzbudzenia, jak i od natężenia napromieniowania światła wzbudzającego DL. Dla badanych zawiesin glonów kontrolnych maksimum to występowało w przedziale czasu od 10 s do 40 s.



Rys. 2. Wpływ różnych dawek promieniowania UV-B (D) na kinetykę zaniku długotrwałej opóźnionej luminescencji zawiesiny glonów *Scenedesmus quadricauda*. Opóźnioną luminescencję wzbudzano impulsem światła monochromatycznego o gęstości strumienia fotonów  $150 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  i czasie trwania 60 s

Fig. 2. Effect of different doses of UV-B radiation (D) on decay kinetics of long-term delayed luminescence of *Scenedesmus quadricauda*. Delayed luminescence was excited with an impulse of monochromatic light of photon flux density of  $150 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  and time duration of 60 s

W porównaniu do glonów kontrolnych, dla zawiesiny uprzednio poddanej działaniu promieniowania UV-B w dawce  $\leq 4,5$  kJ na m<sup>2</sup>, zmniejszała się szybkość spadku natężenia DL na początku okresu jego rejestracji (rys. 1 i 2). Wyższe było również natężenie DL rejestrowane pod koniec tego okresu.

W warunkach wzbudzenia, w których w kinetyce zaniku DL obserwowano wystąpienie przejściowego maksimum, promieniowanie UV w tej dawce, powodowało stopniowy spadek szybkości obniżania się natężenia DL w okresie poprzedzającym pojawienie się przejściowego maksimum. Efekt ten prowadził do przejściowego zaniku spadku natężenia DL w ciągu kilku pierwszych sekund jego rejestracji, po czym natężenie tego świecenia ponownie obniżało się. Szybkość dalszego obniżania się natężenia DL była jednak mniejsza od analogicznej szybkości rejestrowanej dla glonów kontrolnych. Sugeruje to, że w wyniku działania niewielkich dawek promieniowania UV-B na zawieszinę glonów, przed wystąpieniem przejściowego maksimum w przebiegu zmian natężenia DL, powstaje dodatkowy przejściowy wzrost natężenia tego świecenia.

Wraz ze zwiększaniem dawki promieniowania UV-B powyżej wartości 13,5 kJ/m<sup>2</sup> odnotowano znaczne zmniejszenie się natężenia DL w całym okresie jego rejestracji oraz zanik tego świecenia (rys. 2) po wzroście dawki promieniowania UV-B do 40,5 kJ/m<sup>2</sup>.

## Dyskusja

Jak wykazały rezultaty wcześniejszych badań przeprowadzonych na zawiesinach glonów z rodzaju *Scenedesmus* [MELLVIG 1987; SCHMIDT, SENGER 1987] zarówno przebieg zmian natężenia DL w okresie zaniku, jak i wystąpienie przejściowych maksimum w tym przebiegu uzależnione jest od szeregu czynników. Zaliczyć do nich można: czas trwania wzbudzenia DL, natężenie i skład spektralny światła wzbudzającego, czas adaptacji w ciemności zawiesiny przed pomiarami, fazę rozwoju glonów, temperaturę, stężenie CO<sub>2</sub>. Wystąpienie przejściowego maksimum w kinetyce zaniku DL, po kilkudziesięciu sekundach rejestracji natężenia tego świecenia, przypisuje się zwykle, zachodzącemu w ciemności, efektowi wzrostu gradientu protonów w poprzek błony tylakoidów w wyniku odwrócenia niektórych reakcji cyklu Calvin'a [JURSINIC 1986; MELLVIG 1987]. Natomiast pojawienie się wtórnego maksimum na kinetyce zaniku DL po kilku sekundach rejestracji natężenia tego świecenia, może świadczyć o tym, że promieniowanie UV-B w małych dawkach oddziałuje na łańcuch fotosyntetycznego transportu ładunków przed miejscem działania reakcji prowadzących do wzrostu gradientu protonów w poprzek błony tylakoidów. Obserwowany zanik DL, pod wpływem działania promieniowania UV-B w większych dawkach, może świadczyć o silnym inhibitoryjnym działaniu tego promieniowania na proces fotosyntezy glonów [JURSINIC 1986; RENGER i in. 1989].

## Wnioski

1. Przebieg zmian natężenia opóźnionej luminescencji glonów *Scenedesmus quadricauda*, wzbudzonej światłem monochromatycznym, w okresie jej zani-

ku zależy zarówno od czasu trwania impulsu światła wzbudzającego, jak i natężenia napromieniowania tego światła. Przy odpowiedniej kombinacji wartości obu tych czynników w przedziale czasu od 10 s do 40 s, od chwili zakończenia wzbudzania zawiesiny glonów, w kinetyce zaniku opóźnionej luminescencji pojawia się przejściowe maksimum.

2. Efektem działania dawek promieniowania UV-B o wartości  $\leq 4,5 \text{ kJ/m}^2$  było zmniejszenie się szybkości spadku natężenia opóźnionej luminescencji zawiesiny glonów wraz z czasem jego rejestracji. W warunkach wzbudzania, w których rejestrowano przejściowe maksimum w kinetyce zaniku opóźnionej luminescencji, promieniowanie UV-B w tej dawce, powoduje powstanie nowego, przejściowego maksimum występującego po upływie kilku sekund od chwili zakończenia wzbudzania zawiesiny.
3. Wzrost dawki promieniowania UV-B powyżej  $13,5 \text{ kJ/m}^2$  powoduje zanik opóźnionej luminescencji w całym zakresie jej rejestracji.

### Literatura

- BRZÓSTOWICZ A., MILA A., KRZAK R., JAKUBOWSKI P. 2001. *Stanowisko do pomiaru opóźnionej luminescencji zawiesin glonów*. Mat. XI Międzyn. Konf. Nauk. „Problemy inżynierii rolniczej na progu III tysiąclecia” Technika – Człowiek – Środowisko, Międzyzdroje 30.05–1.06.2001: 305–308.
- GĘDZIOROWSKA D. 1983. *Izolacja bałtyckich glonów jednokomórkowych i uzyskanie kultur aksenicznych dla badań fizjologiczno-biochemicznych*. Studia i Mater. Oceanolog. 41: 209–226.
- JANKOWSKI A. 1964. *Badania nad selekcją glonów dla potrzeb kultur masowych*. Instyt. Zootech. Kraków 176: 1–83.
- JURSNIC P.A. 1986. *Delayed fluorescence: current concepts and status*, in: *Light Emission by Plants and Bacteria*. Govindjee J., Ames D.C. Fork (Eds). Academic Press. Orlando – San Diego – New York – Austin – Boston – Sydney – Tokyo – Toronto: 291–328.
- MELLVIG S. 1987. *Diurnal variations in the kinetics of delayed luminescence from Scenedesmus obtusiusculus after exposure to various light and CO<sub>2</sub> regimes*. Physiol. Plant. 70: 412–418.
- PROKOWSKI Z. 1996. *Zastosowanie opóźnionej luminescencji do badania wpływu niektórych związków chemicznych na pierwotne reakcje fotosyntezy*, w: *Ekofizjologiczne aspekty reakcji roślin na działanie abiotycznych czynników stresowych*. ZFR PAN Kraków: 461–466.
- RENGER G.R., VOLKER M., ECKERT H.J., FROMME R., HOHM-VEIT S., GRABER P. 1989. *On the mechanism of photosystem II deterioration by UV-B irradiation*. Photochem. Photobiol. 49: 97–105.
- SCHMIDT W., SENGER H. 1987. *Long-term delayed luminescence in Scenedesmus obliquus*. I. *Spectral and kinetic properties*. Biochim. Biophys. Acta 890: 15–22.

SMITH R.C., PRÉZELIN B.B., BAKER K.S., BIDIGARE R.R., BOUCHER N.P., COLEY T., KARENTZ D., MACINTYRE S., MATLICK H.A., MENZIES D., ONDRUSEK M., WAN Z., WATERS K.J. 1995. *Ozone depletion: ultraviolet radiation and phytoplankton biology in Antarctic waters*. *Science* 255: 952–959.

SUNDBLAD L.G., PALMQVIST K., SAMUELSSON G. 1986. *An energy-dependent, transient peak in minute range decay of luminescence, present in CO<sub>2</sub>-accumulating cells of *Scenedesmus obliquus**. *FEBS Lett.* 199: 75–79.

TERJUNG F., MAIER K. 1998. *Non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in higher plant leaves studied by delayed fluorescence decay measurements*. *Z. Naturforsch.* 53c: 27–32.

**Słowa kluczowe:** opóźniona luminescencja, glony, UV-B

### Streszczenie

Badano wpływ promieniowania UV-B na kinetykę zaniku długotrwałej opóźnionej luminescencji zawiesiny glonów *Scenedesmus quadricauda* TURP. (BRÉB.) w różnych warunkach jej wzbudzenia. Wyniki wykazały, że promieniowanie UV-B, w niewielkich dawkach powoduje spadek szybkości zaniku natężenia opóźnionej luminescencji, natomiast w większych – zanik tego świecenia. W warunkach wzbudzenia, w których obserwowano pojawienie się przejściowego maksimum w kinetyce zaniku opóźnionej luminescencji glonów kontrolnych, po kilkudziesięciu sekundach jej rejestracji, promieniowanie UV-B w niewielkiej dawce prowadziło do powstania nowego przejściowego maksimum, które pojawiało się po kilku sekundach rejestracji natężenia tego świecenia.

### EFFECT OF UV-B RADIATION ON DECAY KINETICS OF LONG-TERM DELAYED LUMINESCENCE OF GREEN ALGAE *Scenedesmus quadricauda* TURP. (BRÉB.)

Zdzisław Prokowski, Aleksander Brzóstowicz  
Department of Physics,  
Agricultural University, Szczecin

**Key words:** delayed luminescence, algae, UV-B

### Summary

Influence of UV-B radiation on decay kinetics of long-term delayed luminescence of algae suspension of *Scenedesmus quadricauda* TURP. (BRÉB.) in different exciting conditions was studied. The results showed that low doses of UV-B radiation slows down decay of delayed luminescence intensity; greater ones caused disappearance of delayed light. In exciting conditions, in which appearance transient maximum peak in decay kinetics delayed luminescence was

observed, after several tens of seconds of registration radiation UV-B in a low dose lead to formation of a new transient peak, which appeared several seconds after registration of intensity of this light.

**Dr Zdzisław Prokowski**  
Zakład Fizyki  
Akademia Rolnicza  
ul. Papieża Pawła VI Nr 3  
71-459 SZCZECIN