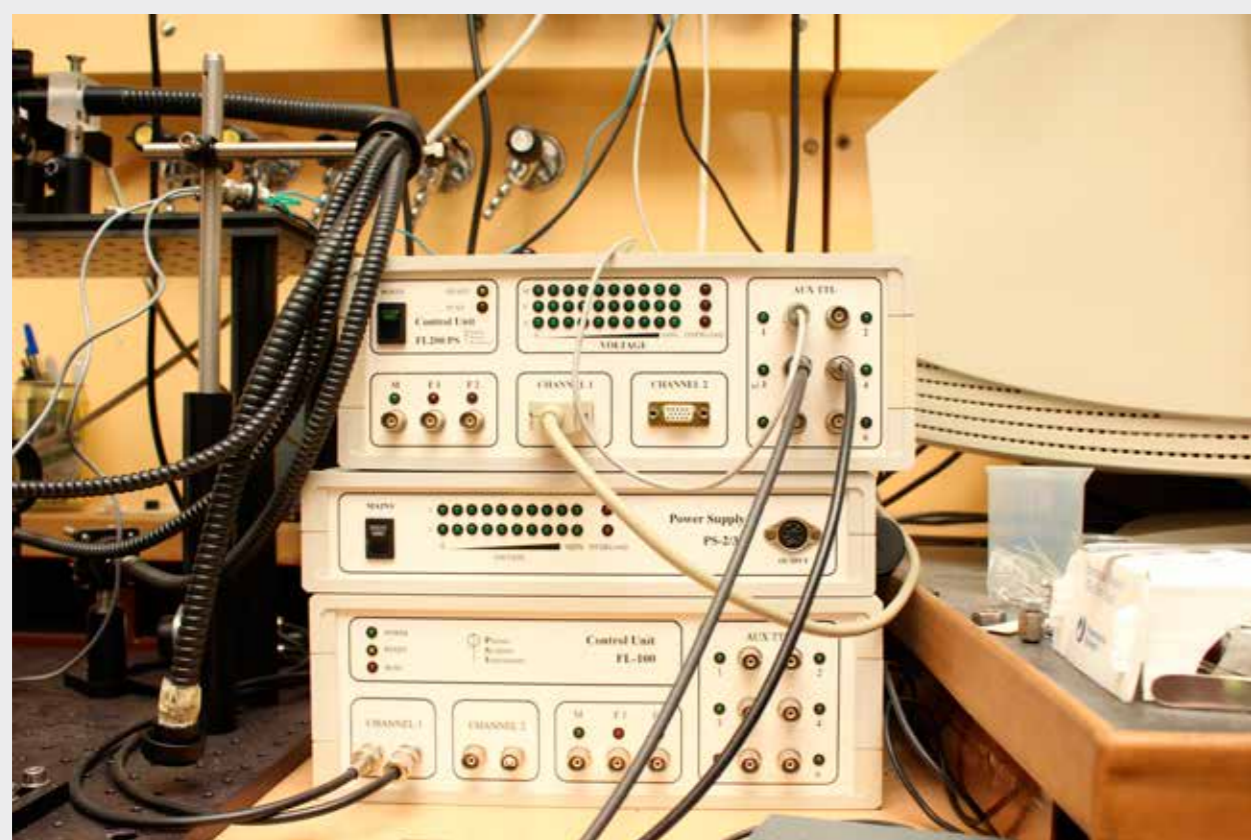




# Sledování fotoochranných mechanismů vybraných jednobuněčných řas pomocí fluorescence chlorofylu

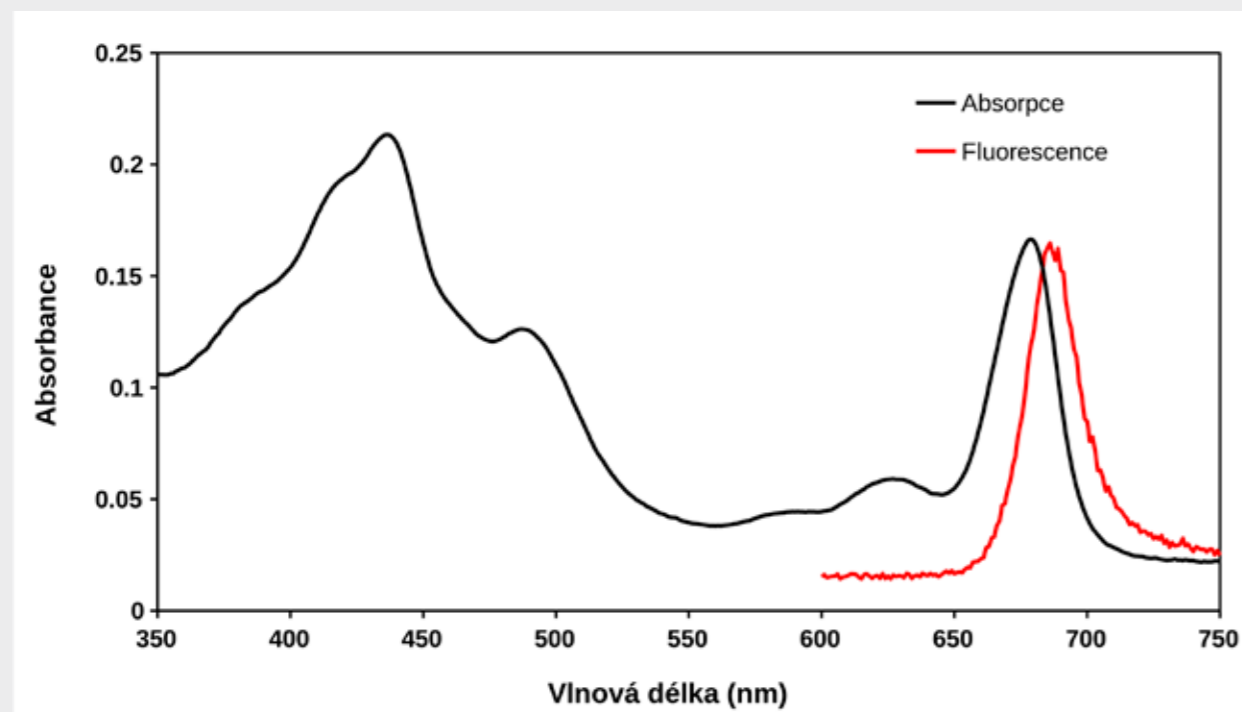
Cílem práce bylo prozkoumat fotoochranné mechanismy vybraných druhů autotrofních prvoků (řas) ze skupiny Chromalveolata. Proces fotosyntézy využívá energii fotonů viditelného světla k syntéze organických sloučenin. Pochody na světle závislé fáze fotosyntézy musí být schopny rychle reagovat na změny v ozáření způsobené např. přechodem oblaků zakrývajících slunce na obloze. V případě nadměrného ozáření světlem fotosyntetická membrána aktivuje fotoochranné mechanismy. S pomocí záznamu variabilní fluorescence chlorofylu je možné tyto mechanismy snadno sledovat v živých buňkách. V této práci jsme sledovali průběh tzv. nefotochemického zhášení (NPQ) v buňkách řas v závislosti na intenzitě ozáření a dalších parametrech.



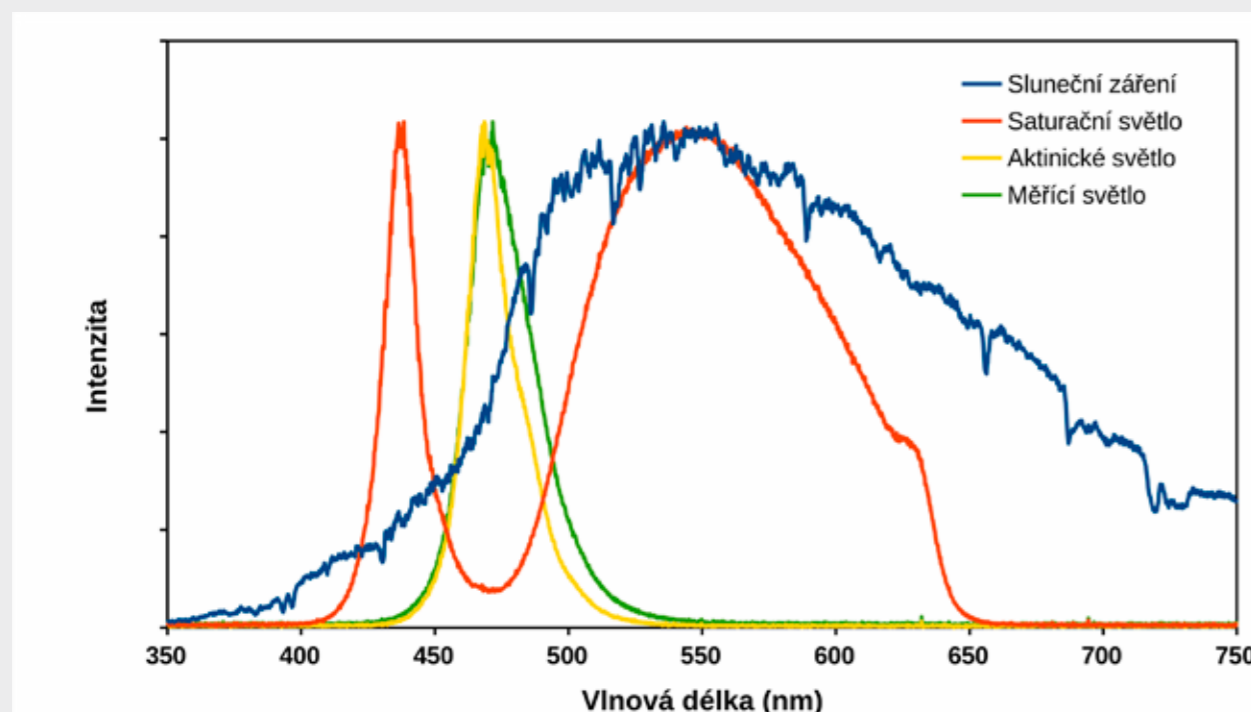
**Foto 1:** Řídicí jednotka PSI FL200/PS, která měla na starosti řízení světelných zdrojů, čtení detekované fluorescence a přenos dat do počítače.



**Foto 2:** Vzorkovací prostor. Vlevo saturační světlo s nasazeným filtrem. Vpravo světlovodič vedoucí aktinické a měřící světlo. V pozadí dva za sebou nasazené filtry, za nimiž byl umístěn detektor. Uprostřed se nachází prostor pro květu se vzorkem ke kterému vede kabel pro magnetické míchadlo. Použité zařízení bylo sestaveno z individuálně zakoupených zdrojů světla.



**Graf 1a:** Absorpční a fluorescenční spektra buněk řasy *Nannochloropsis oceanica*. Absorpční pásy odpovídají absorpci chlorofylu a karotenoidů ve světlosběrném aparátu. Spektrum fluorescence chlorofylu má maximum v červené oblasti nad cca 660 nm.



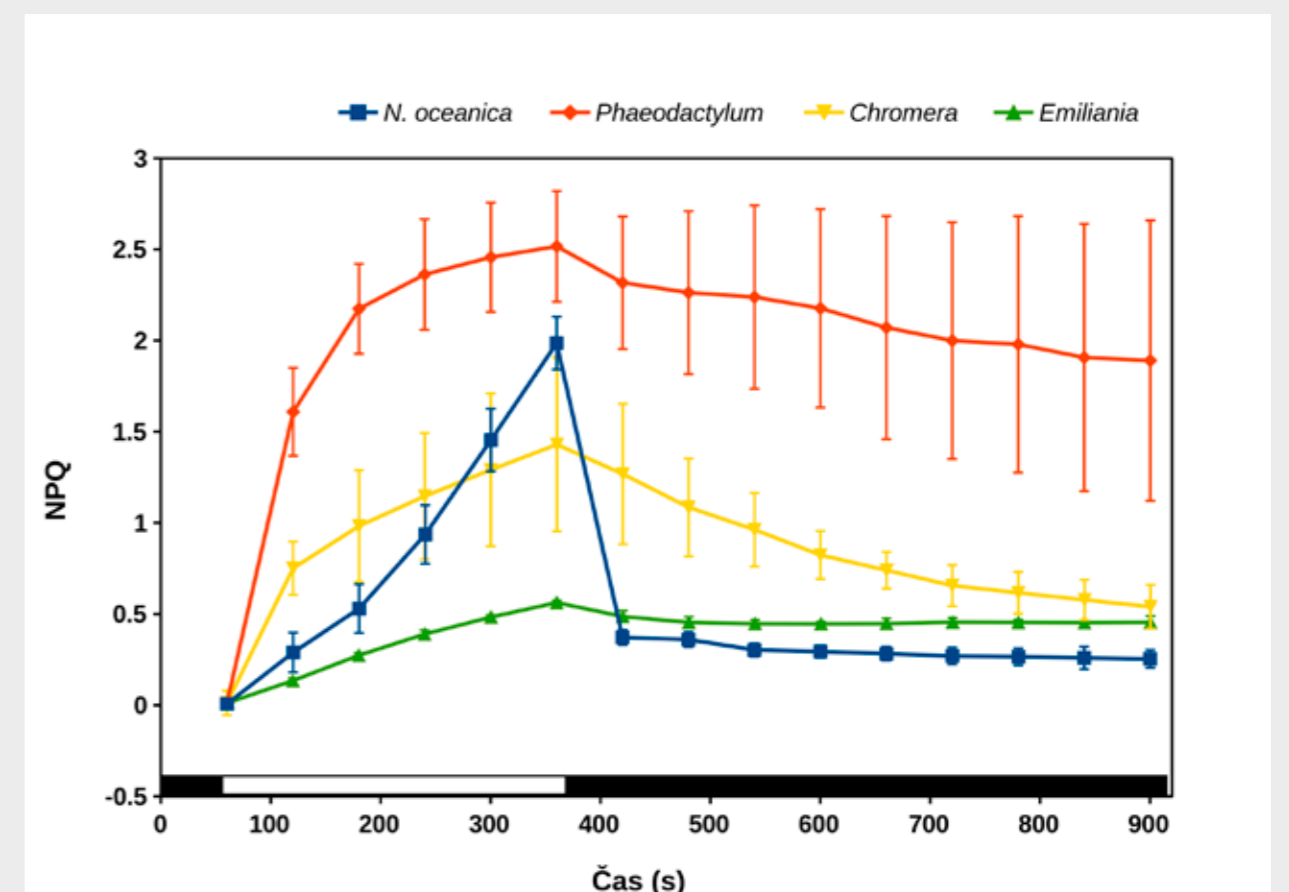
**Graf 1b:** Srovnání spektra slunečního světla a použitých světel: saturačního, aktinického a měřícího světla. Při srovnání s grafem 1a je patrné, že v místech kde je absorbance buněk nejvyšší mají použitá světla svá emisní maxima.

## Závěry:

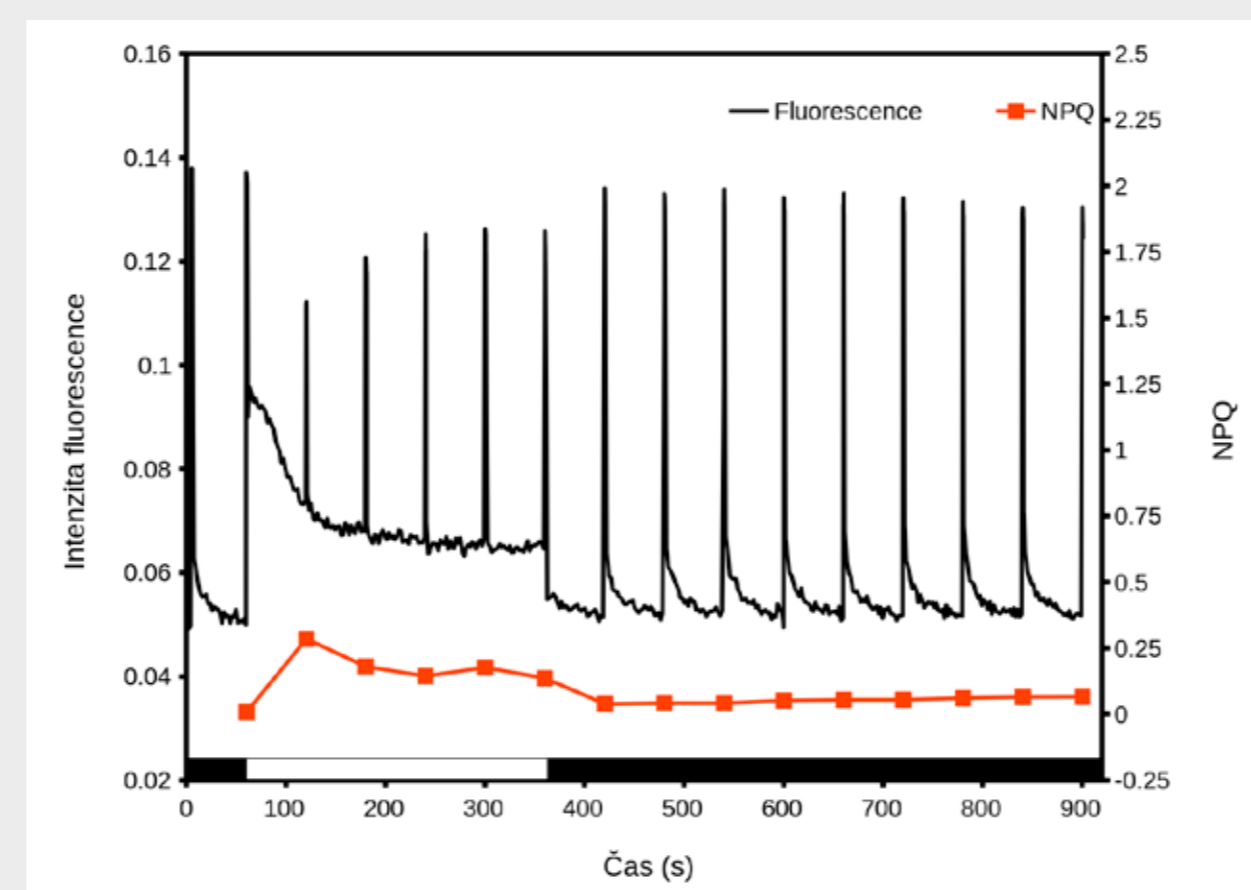
Pozorovali jsme diverzitu mechanismů zhášení fluorescence chlorofylu v jednobuněčných řasách.

Druh *Nannochloropsis oceanica* se významně odlišuje od ostatních zkoumaných druhů řas.

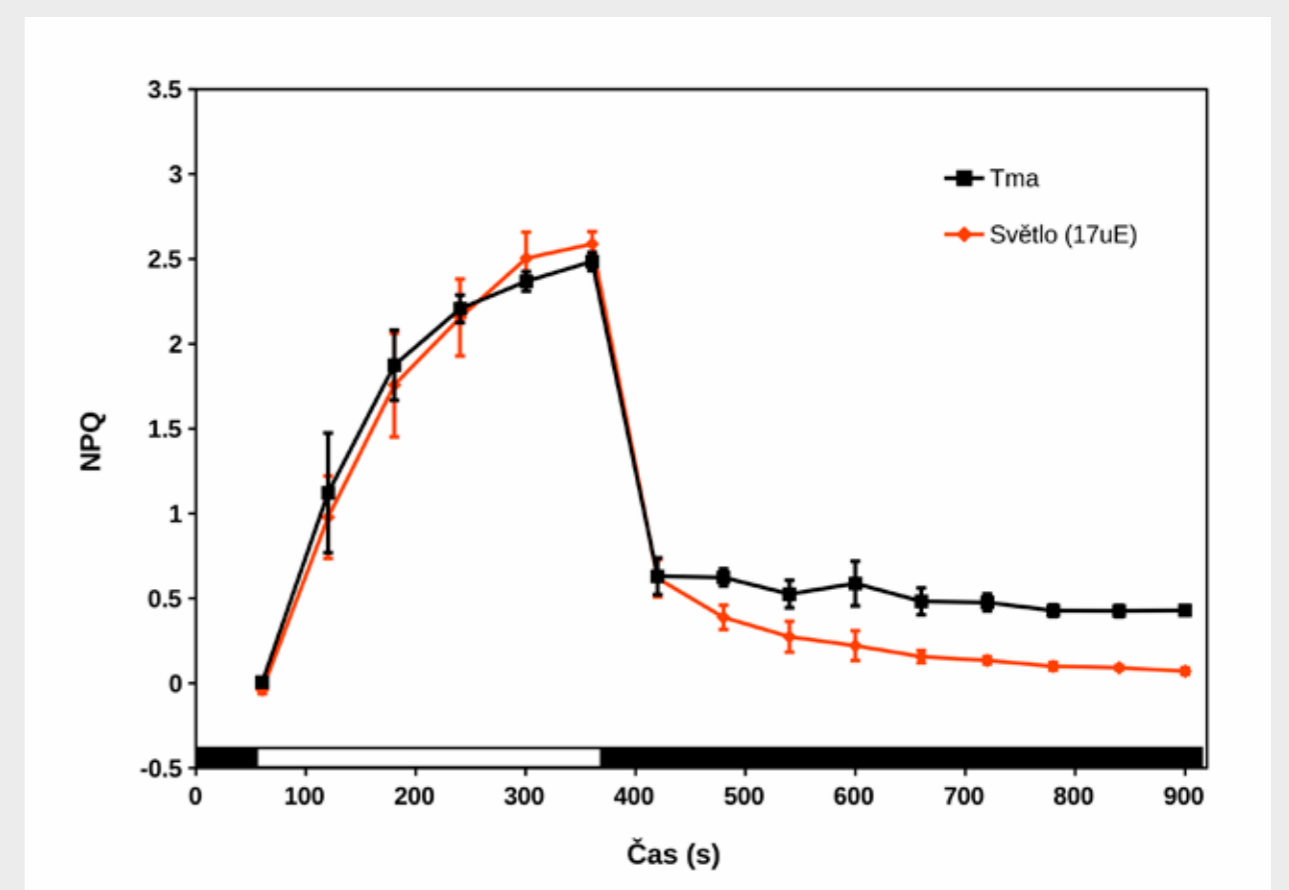
Nefotochemické zhášení *N. oceanica* má ve srovnání s ostatními druhy pomalejší náběh. Relaxace NPQ *N. oceanica* je naproti tomu z větší části velmi rychlá a naznačuje odlišný mechanismus oproti ostatním zkoumaným druhům.



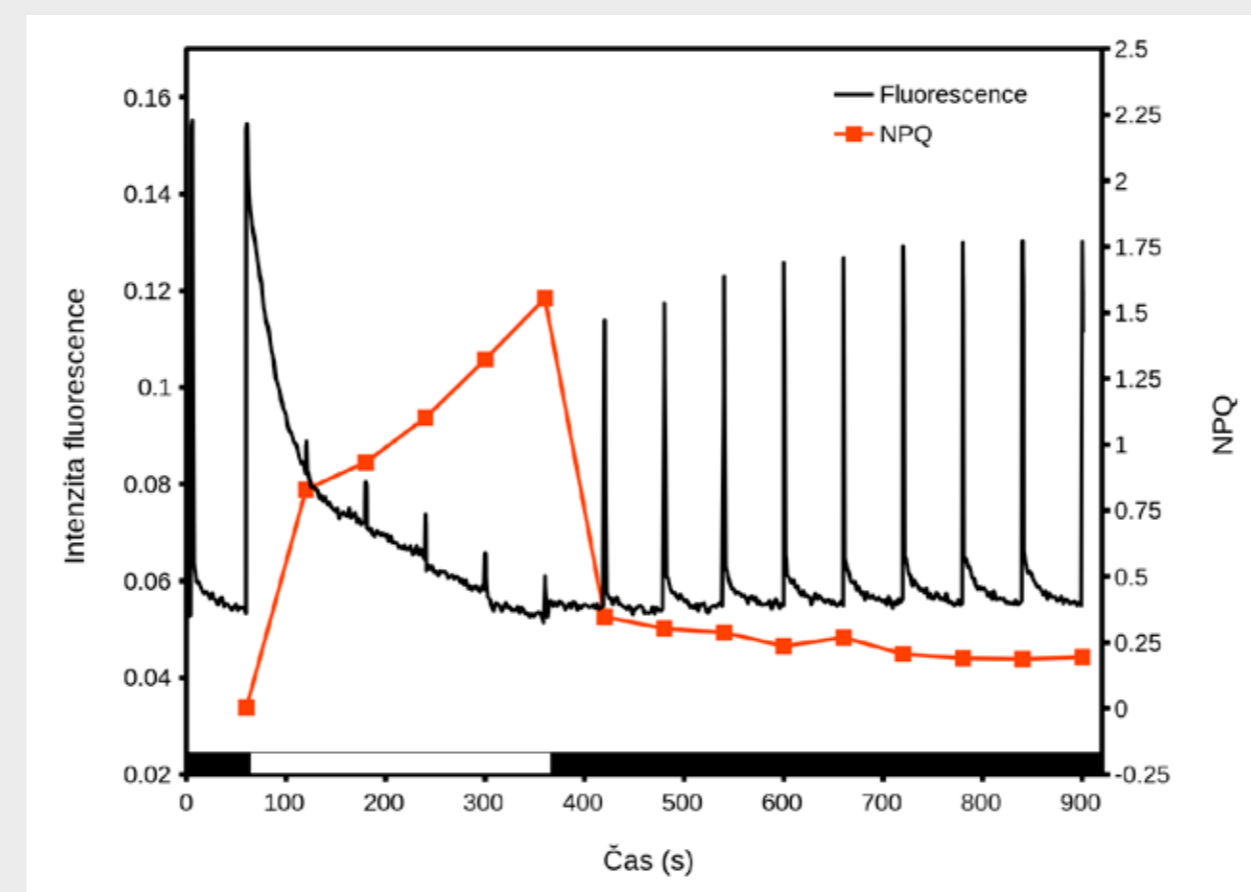
**Graf 3:** Srovnání kapacity nefotochemického zhášení (NPQ) u čtyř druhů řas. Na horizontální ose je vyneseno čas od začátku experimentu. Pruh pod grafem zobrazuje, kdy bylo rozsvíceno aktinické světlo (bílá) a kdy byla tma (černá). Stejný experiment probíhal i u ostatních prezentovaných dat. Rozsívka *Phaeodactylum* má velmi vysokou kapacitu zhášení, ale po zhasnutí světla NPQ nerelaxuje (nevrací se zpět). Podobně se chovají i řasy *Chromera* a *Emiliana*. Naproti tomu druh *Nannochloropsis oceanica* relaxuje NPQ po zhasnutí světla velmi rychle. To naznačuje odlišný mechanismus zhášení v tomto druhu. Data s chybovými úsečkami jsou vždy průměry ze tří měření.



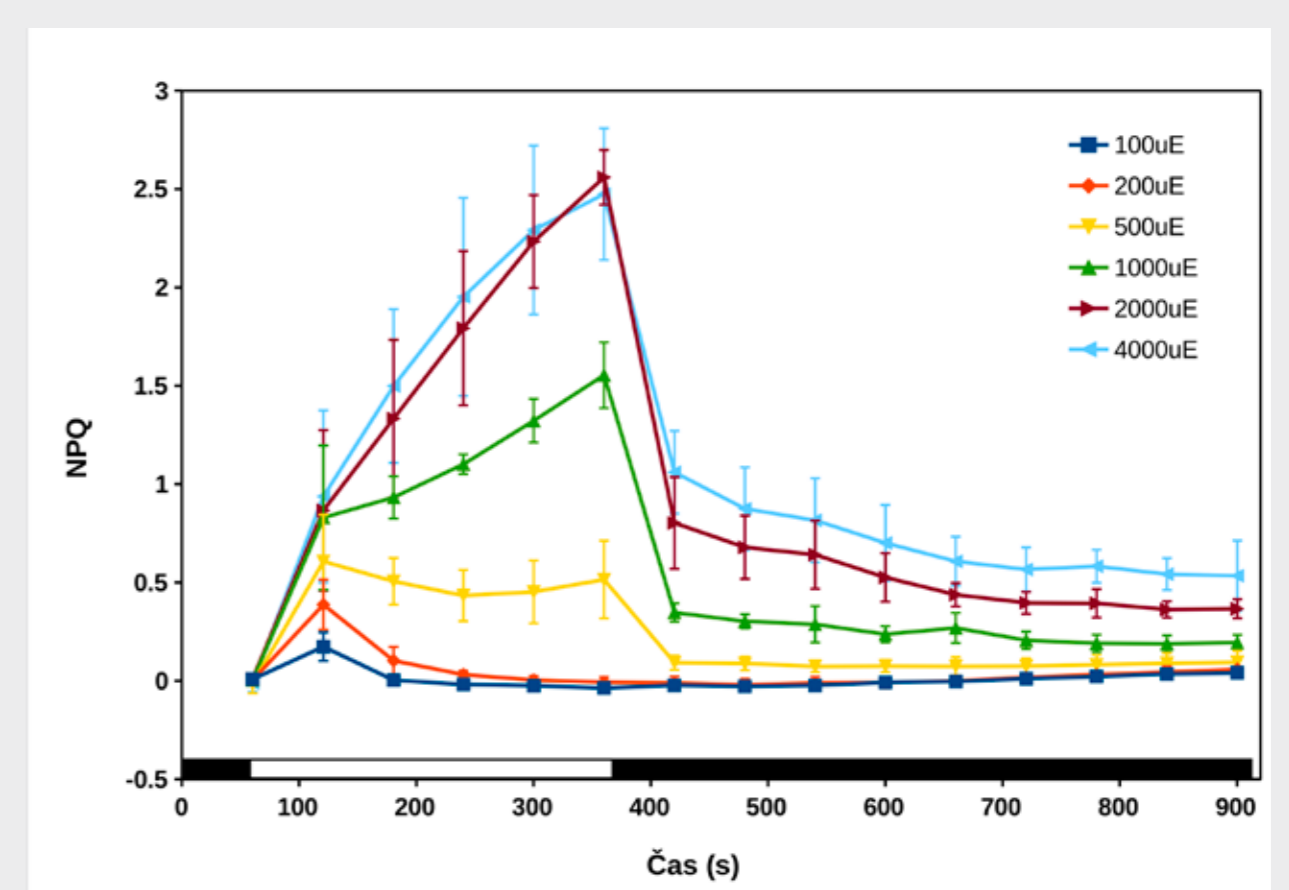
**Graf 2a:** Ukázka naměřených hodnot výtěžku fluorescence chlorofylu a z nich spočtených hodnot NPQ při osvětlení aktinickým světlem o intenzitě  $100 \mu\text{mol fotonů.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . Pruh pod grafem zobrazuje, kdy bylo rozsvíceno aktinické světlo (bílá) a kdy byla tma (černá). V první minutě od počátku osvětlení se aktivují nefotochemické zhášecí mechanismy, ale protože je intenzita světla poměrně nízká, je i hodnota NPQ (oranžová čára, svíslá osa vpravo) nízká.



**Graf 4:** Průběh nefotochemického zhášení fluorescence u *N. oceanica* v závislosti na slabém ozáření při „temnostní“ relaxaci. Při slabém světle relaxuje NPQ rychleji než při úplné tmě. Procesy deaktivace NPQ pravděpodobně potřebují slabou intenzitu osvětlení pro optimální chod.



**Graf 2b:** Ukázka naměřených hodnot výtěžku fluorescence chlorofylu a z nich spočtených hodnot NPQ při osvětlení aktinickým světlem o intenzitě  $1000 \mu\text{mol fotonů.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . Pruh pod grafem zobrazuje, kdy bylo rozsvíceno aktinické světlo (bílá) a kdy byla tma (černá). Hodnoty variabilní fluorescence jsou zprvu vysoké, ale rychle začnou klesat v souvislosti s aktivací ochranných mechanismů. Adekvátně k tomu spočtené hodnoty NPQ rychle rostou až do okamžiku zhasnutí světla. Použitá intenzita aktinického světla zde přesahuje intenzitu, kterou jsou buňky schopny bezzbytku zpracovat procesy fotosyntézy (pěstovací intenzita buněk byla  $300 \mu\text{mol fotonů.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ).



**Graf 5:** Závislost nefotochemického zhášení na intenzitě aktinického světla. Buňky byly pěstované při intenzitě  $300 \mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . Při nízkých ozářenínostech ( $100$  a  $200 \mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) nejsou ochranné mechanismy potřeba a NPQ má nízkou hodnotu. S rostoucí ozářeností NPQ roste, nad  $2000 \mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$  již ale NPQ dále neroste, tato hodnota je maximální ozáření poskytovaná v přírodě sluncem. Ačkoliv NPQ po zhasnutí světla vždy rychle relaxuje, s rostoucí intenzitou ozáření přibývá pomalejší složky NPQ.