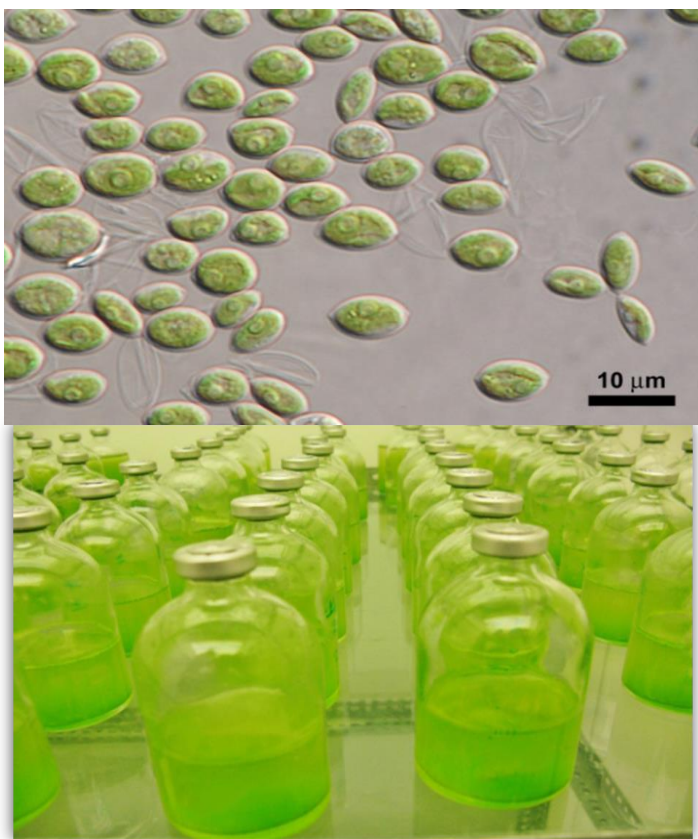


Περίληψη

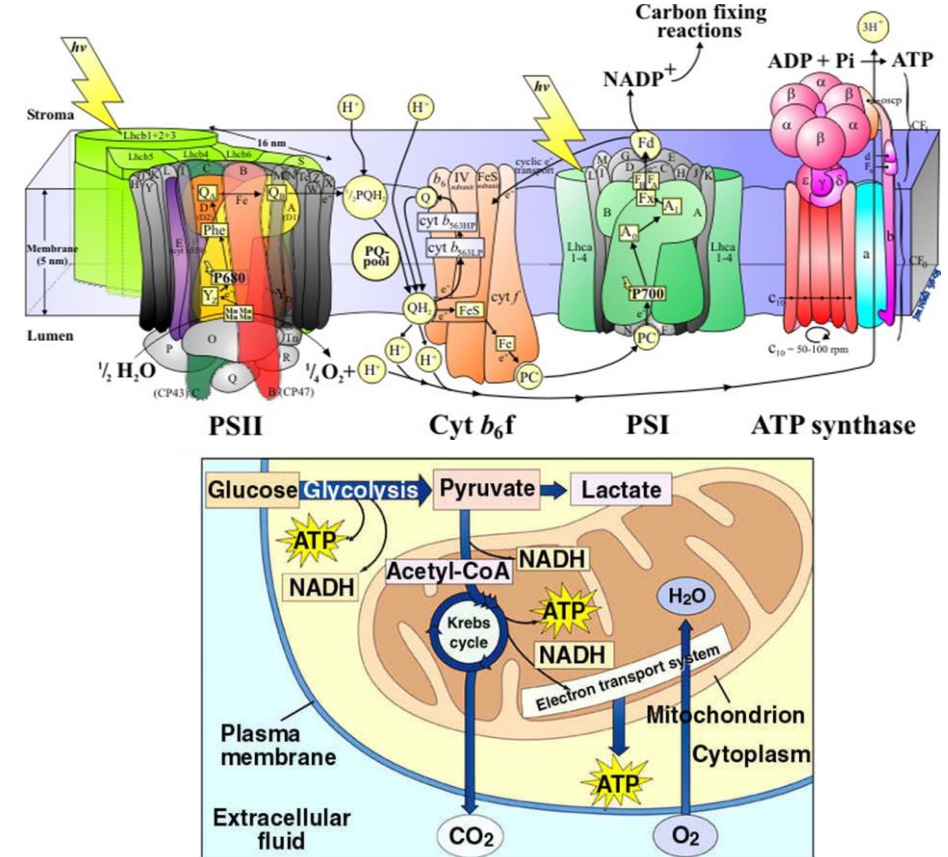
Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η δυνατότητα επιβίωσης ενός φωτοσυνθετικού μικροφύκου (*Scenedesmus obliquus*) (Εικόνα 1), που στηρίζεται στην οξυγονική φωτοσύνθεση, σε κλειστά συστήματα με ατμόσφαιρες χωρίς O₂ και CO₂, διαφορετικής σύστασης (ατμόσφαιρες N₂, He, H₂+5%He, H₂+15%He, κ.α.), και ο τρόπος διαμόρφωσης της ατμόσφαιρας ενός κλειστού συστήματος προς όφελος του οργανισμού, μέσω της φωτοσυνθετικής διαχείρισης της ηλιακής ακτινοβολίας. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα μονοκύτταρα χλωροφύκη που θα εκτεθούν σε μία ανοξική ατμόσφαιρα (χωρίς O₂ και CO₂) σε συνθήκες επαρκούς φωτισμού, θα την αντιμετωπίσουν με ορθολογικό τρόπο. Η παντελής έλλειψη CO₂ φαίνεται να αντιμετωπίζεται με τον καταβολισμό οργανικής ύλης (από τα υπάρχοντα κυτταρικά αποθέματα, π.χ. άμυλο) μέσω της αναπνευστικής διαδικασίας για να παραχθεί CO₂ που θα υποστηρίξει την φωτοσυνθετική διαδικασία η οποία με τη σειρά της θα παράγει O₂, μέρος του οποίου στη συνέχεια θα χρησιμοποιηθεί για την αναπνευστική διαδικασία, κ.ο.κ. Αυτή η ανατροφοδότηση αναπνοής – φωτοσύνθεσης, επιτρέπει την επιβίωση, αλλά περιορίζει σε ένα αυτότροφο περιβάλλον την περίσσεια CO₂ που θα μπορούσε να επενδυθεί για την παραγωγή οργανικής ύλης και ως εκ τούτου και βιομάζας. Εάν εμπλουτίσουμε την ανοξική ατμόσφαιρα με CO₂ (ή γλυκόζη που θα χρησιμοποιηθεί από την αναπνευστική διαδικασία για την παραγωγή CO₂) [χειρισμοί: N₂+10%CO₂, N₂+glc, N₂+10%CO₂+glc], τότε το μικροφύκος φαίνεται να ξεπερνά και αυτό τον περιορισμό, και έχει τη δυνατότητα ένα μεγάλο μέρος του ανόργανου άνθρακα (CO₂) να τον επενδύσει για την φωτοσυνθετική μετατροπή του σε οργανικό άνθρακα και βιομάζα, αυξάνοντας ταυτόχρονα την φωτοσυνθετική δραστηριότητα και την παραγωγή O₂. Ο ρυθμός αύξησης του επιπέδου O₂ στην ατμόσφαιρα, κάτω από αυτές τις συνθήκες, φαίνεται να εξαρτάται απλώς από την ένταση του φωτός και τείνει να δημιουργήσει μία ατμόσφαιρα που προσεγγίζει τη σύσταση της γήινης ατμόσφαιρας, τουλάχιστον όσον αφορά το επίπεδο του O₂.

Εισαγωγή

Η φωτοσύνθεση είναι η μοναδική βιολογική διαδικασία που μετατρέπει την ηλιακή ενέργεια σε εκμεταλλεύσιμη χημική ενέργεια, που με τη σειρά της επενδύεται για την μετατροπή της ανόργανης ύλης σε οργανική. Στους φωτοσυνθετικούς οργανισμούς η φωτοσύνθεση πραγματοποιείται στο οργανίδιο τον χλωροπλάστη, στις μεμβράνες των θυλακοειδών. Ο φωτοσυνθετικός μηχανισμός αποτελείται από τέσσερα σύμπλοκα, το Φωτοσύστημα II (PSII), το Φωτοσύστημα I (PSI), το cyt b₆/f, και την ATP–συνθάση. Η φωτοσυνθετική ροή ηλεκτρονίων ξεκινά από το H₂O στην ατμόσφαιρα, κάτω από αυτές τις συνθήκες, φαίνεται να εξαρτάται απλώς από την ένταση του φωτός και τείνει να δημιουργήσει μία ατμόσφαιρα που προσεγγίζει τη σύσταση της γήινης ατμόσφαιρας, τουλάχιστον όσον αφορά το επίπεδο του O₂.



Εικόνα 1. Κύτταρα του μονοκύτταρου χλωροφύκου *Scenedesmus obliquus* (επάνω) και κλειστές καλλιέργειες του (κάτω).



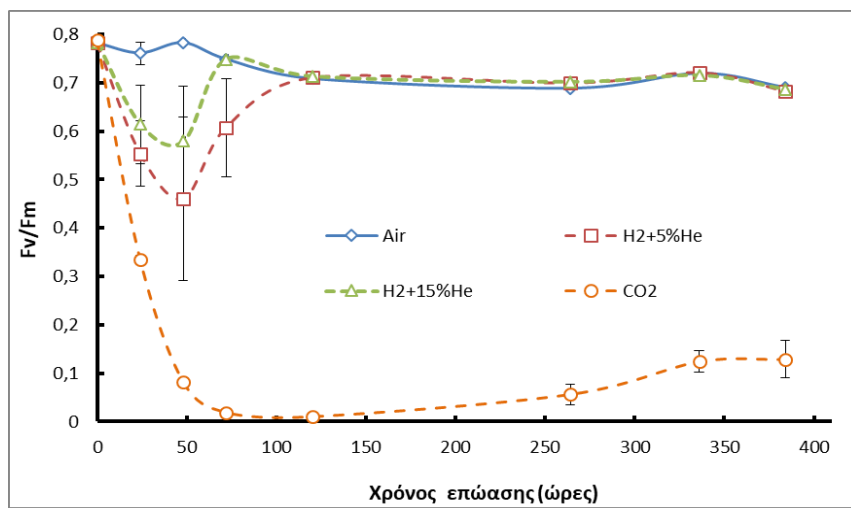
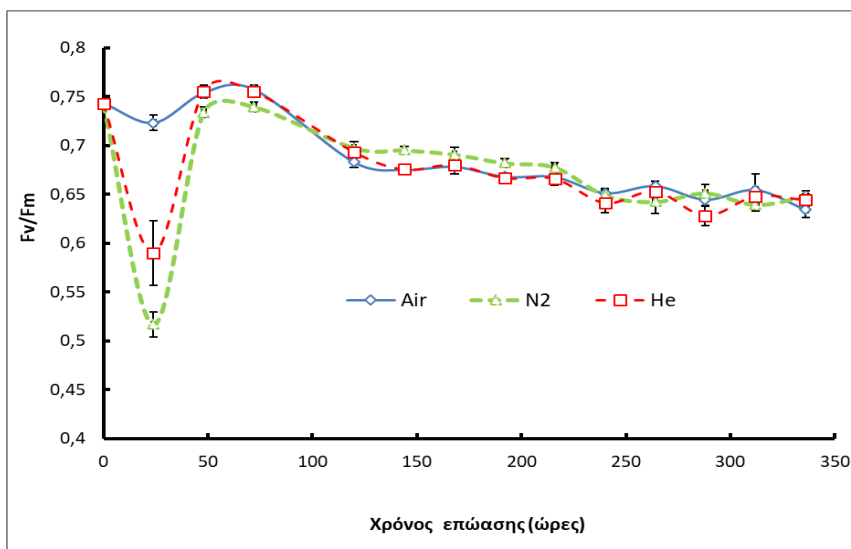
Εικόνα 2. Φωτοσυνθετικός μηχανισμός (επάνω) και μηχανισμός της αναπνευστικής διαδικασίας (κάτω).

Υλικά και Μέθοδοι

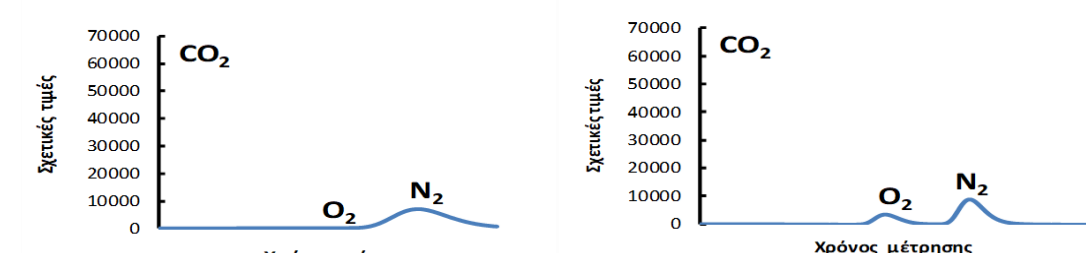
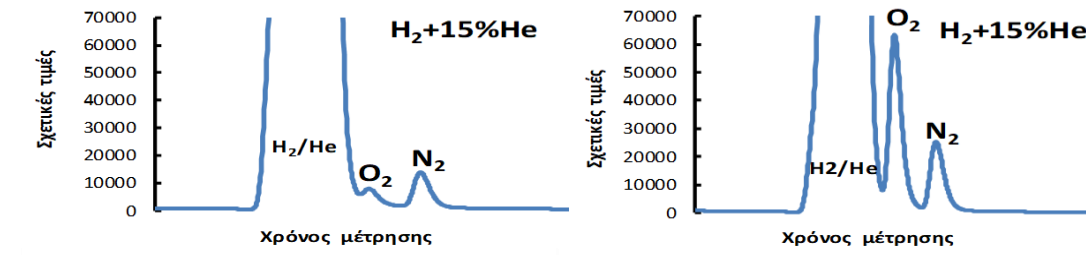
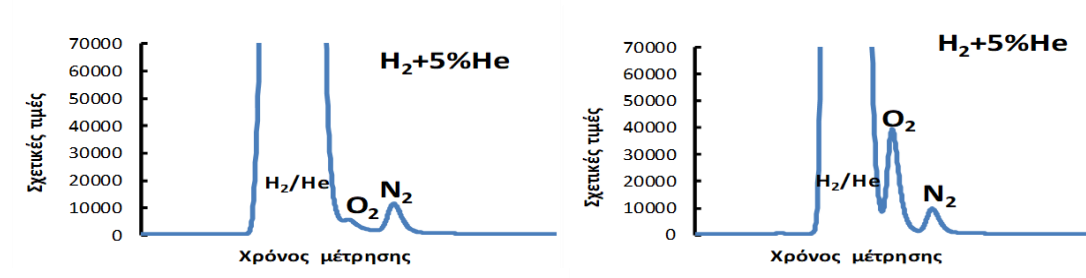
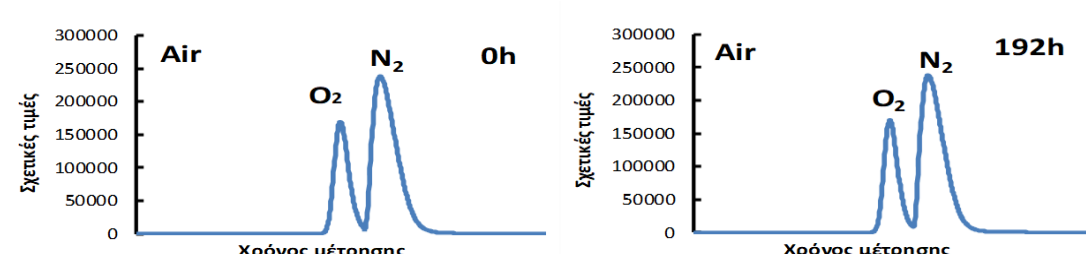
Στην συγκεκριμένη εργασία χρησιμοποιήσαμε το μονοκύτταρο χλωροφύκος *Scenedesmus obliquus* wild type D3 (Gaffron, 1939). Οι πειραματικές διαδικασίες πραγματοποιήθηκαν σε κλειστά συστήματα (Εικόνα 1). Πιο συγκεκριμένα σε γυάλινα μπουκαλάκια 125 mL, με αεροστεγές κλείσιμο με septum. Η καλλιέργεια των μικροφυκών καταλάμβανε όγκο 50mL. Η ένταση της ακτινοβολίας σε όλες τις πειραματικές διαδικασίες ήταν σταθερή στα 60 μmol.m⁻².s⁻¹ και η θερμοκρασία σταθερή στους 28°C. Η καλλιέργεια έγινε σε κατάλληλο θρεπτικό μέσο (Bishop and Senger, 1971). Η πλήρωση με τα κατάλληλα αέρια γινόταν από ειδικές μπουκάλες για τρία τουλάχιστον λεπτά. Η καταγραφή της διαφοροποίησης της μοριακής δομής και λειτουργίας του φωτοσυνθετικού μηχανισμού και κατά επέκταση της λειτουργικής κατάσταση του κυττάρου πραγματοποιήθηκε με τεχνικές επαγωγικού φθορισμού (OJIP-test – Strasser and Strasser 1995). Η μελέτη της καμπύλης του επαγωγικού φθορισμού – ιδιαίτερα της ταχείας χρησιμοποιείται για την μέτρηση της απόδοσης και της λειτουργίας του φωτοσυνθετικού μηχανισμού. Για την ποιοτική και ποσοτική ανάλυση των αερίων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της αέριας χρωματογραφίας θερμικής αγωγιμότητα (GC-TCD).

Αποτελέσματα

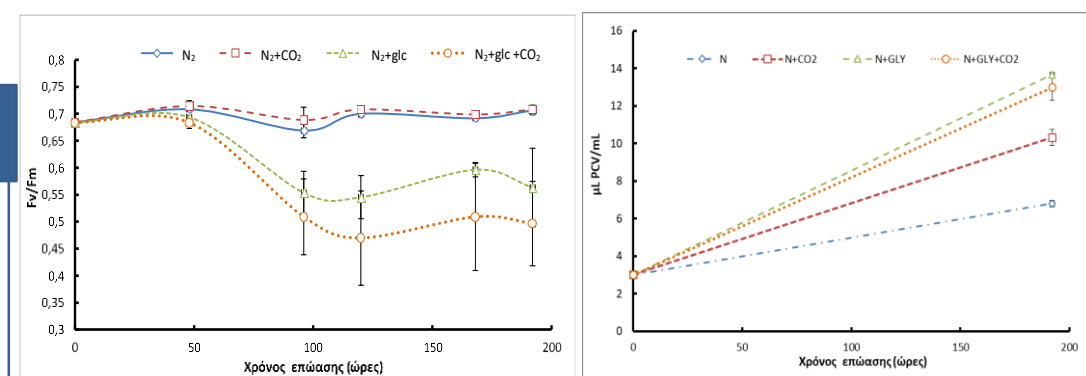
Αρχικά εξετάσαμε την φωτοσυνθετική λειτουργικότητα και κατ' επέκταση την επιβίωση του χλωροφύκου *Scenedesmus obliquus* σε κλειστά συστήματα με ανοξικές ατμόσφαιρες 100% N₂ και He. Στις τεχνητές ανοξικές, αλλά και χωρίς CO₂, ατμόσφαιρες που εξετάσαμε το χλωροφύκος σε επιλεγμένες συνθήκες φωτισμού (60μmol.m⁻².s⁻¹) καταφέρνει να συντηρήσει τον φωτοσυνθετικό του μηχανισμό που λειτουργεί με την ίδια ουσιαστικά φωτοσυνθετική απόδοση όπως και στην ατμόσφαιρα αέρα (Εικόνα 3), συντηρώντας όλο τον κυτταρικό μεταβολισμό περιορίζοντας την ανάπτυξη όμως εξαιτίας της απουσίας χρήσιμου CO₂. Επίσης προσεγγίσαμε (τουλάχιστον όσον αφορά τη σύσταση των κυρίων αερίων, όχι την πυκνότητα) ατμόσφαιρες πλανητών του ηλιακού μας συστήματος. Οι χειρισμοί ήταν 100% CO₂ (προσέγγιση της ατμόσφαιρας του Άρη), 85%H₂+15%He (προσέγγιση του Ουρανού), 95%H₂+5%He (προσέγγιση του Κρόνου). Όπως και στο προηγούμενο πείραμα, αυτή η ανατροφοδότηση αναπνοής – φωτοσύνθεσης, επιτρέπει την λειτουργική επιβίωση της καλλιέργειας (Εικόνα 3) διαφοροποιώντας παράλληλα την ατμόσφαιρα τους (Εικόνα 4). Οι χειρισμοί του τελευταίου πειράματος (100% N₂, N₂+10% CO₂, N₂+5g/L glc, N₂+10%CO₂+5g/L glc) έδειξαν ότι η ενίσχυση της ατμόσφαιρας με CO₂ ή/και υδατάνθρακες, ελέγχει την φωτοσυνθετική δραστηριότητα με αποτέλεσμα την αύξηση της βιομάζας (Εικόνα 5) και την παραγωγή O₂ διαμορφώνοντας μία ατμόσφαιρα που προσεγγίζει αυτή της Γης (Εικόνα 6 & 7).



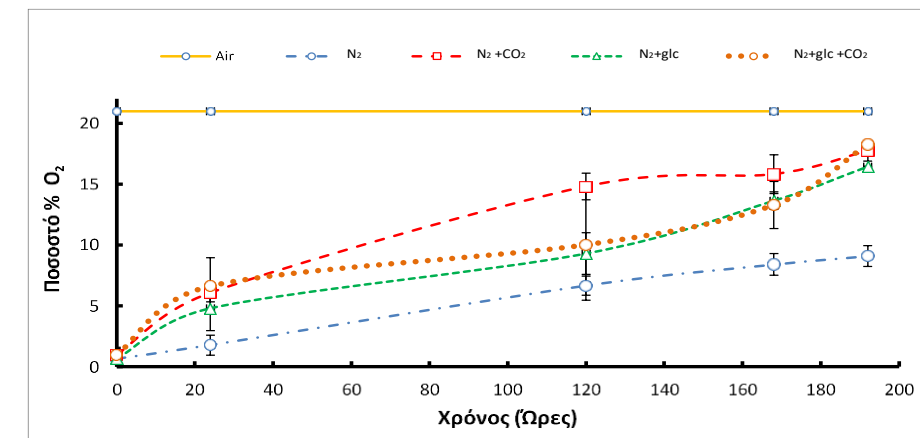
Εικόνα 3. Κινητικές διαφοροποιήσεις της φωτοσυνθετικής απόδοσης του χλωροφύκου σε ατμόσφαιρες διαφορετικής σύστασης: αέρας, N₂ και He (επάνω), αέρας, H₂+5%He, H₂+15%He και CO₂ (κάτω).



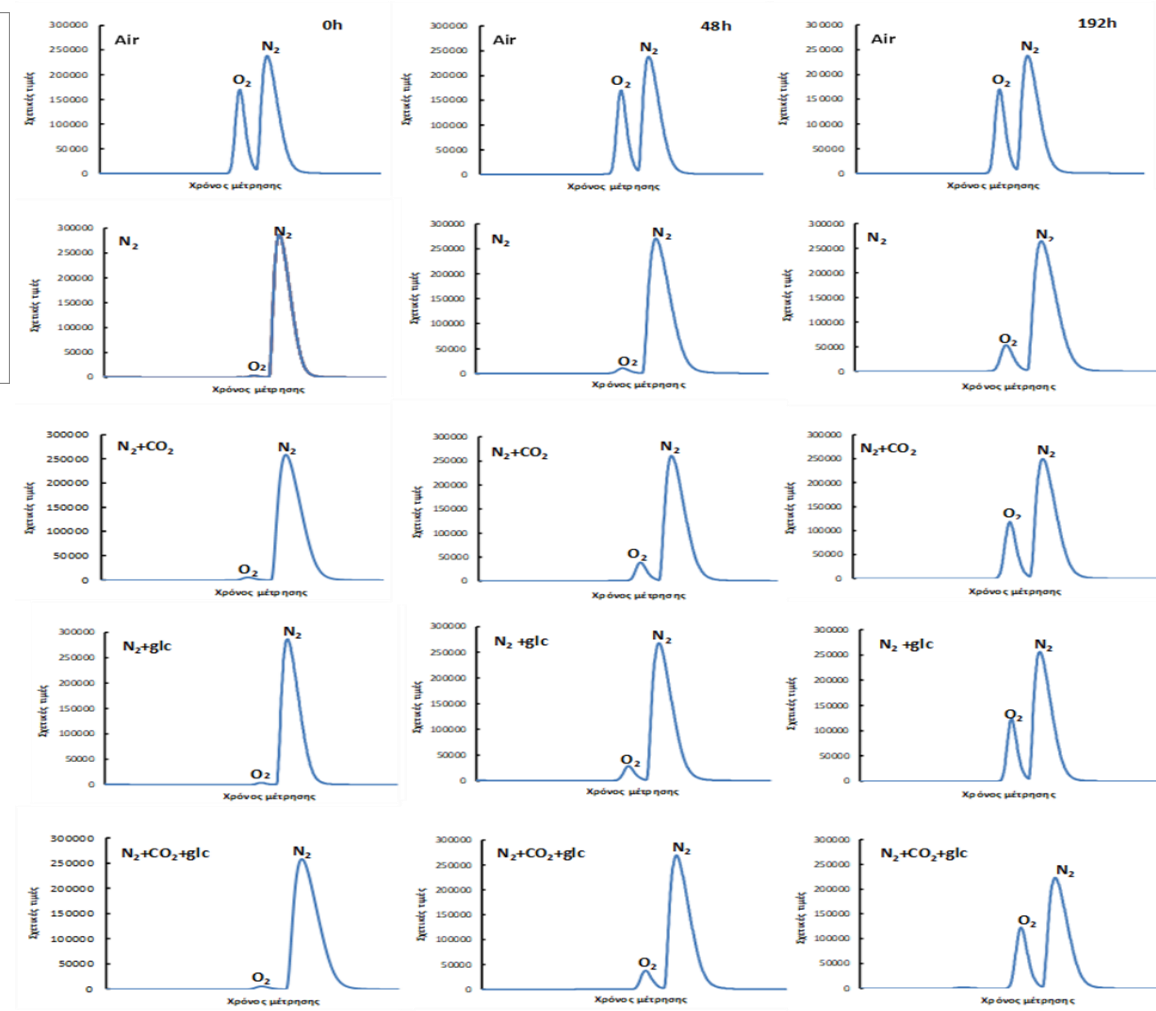
Εικόνα 4. Διαφοροποίηση της σύστασης της ατμόσφαιρας των τεσσάρων χειρισμών (αέρας, H₂+5%He, H₂+15%He και CO₂) στην πορεία του χρόνου.



Εικόνα 5. Διαφοροποίηση της φωτοσυνθετικής απόδοσης (αριστερά) και βιομάζας (δεξιά) για τους χειρισμούς N₂, N₂+CO₂, N₂+glc και N₂+CO₂+glc.



Εικόνα 6. Διαφοροποίηση της συγκέντρωσης του O₂ στους χειρισμούς air, N₂, N₂+CO₂, N₂+glc, N₂+CO₂+glc.



Εικόνα 7. Διαφοροποίηση της σύστασης της ατμόσφαιρας των τεσσάρων χειρισμών (air, N₂, N₂+CO₂, N₂+glc, N₂+CO₂+glc) στην πορεία του χρόνου.

Συζήτηση

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα μονοκύτταρα χλωροφύκη που θα εκτεθούν σε μία ανοξική ατμόσφαιρα (χωρίς O₂ και CO₂), θα την αντιμετωπίσουν με ορθολογικό τρόπο. Η παντελής έλλειψη CO₂ θα αντιμετωπιστεί με τον καταβολισμό οργανικής ύλης (από τα υπάρχοντα κυτταρικά αποθέματα, π.χ. άμυλο) μέσω της αναπνευστικής διαδικασίας (σε πρώτη φάση χρησιμοποιώντας πιθανόν NOx αντί O₂ – Gupta and Igamberdiev, 2011; Igamberdiev and Hill 2009) για να παραχθεί CO₂ που θα υποστηρίξει την φωτοσυνθετική διαδικασία η οποία θα παράγει O₂, μέρος του οποίου στη συνέχεια θα χρησιμοποιηθεί για την αναπνευστική διαδικασία. Αυτή η ανατροφοδότηση αναπνοής – φωτοσύνθεσης, επιτρέπει την επιβίωση, αλλά περιορίζει σε ένα αυτότροφο περιβάλλον την περίσσεια CO₂ που θα μπορούσε να επενδυθεί για την παραγωγή οργανικής ύλης και ως εκ τούτου και βιομάζας. Όταν εμπλουτίσουμε την ανοξική ατμόσφαιρα με CO₂ (ή γλυκόζη που θα χρησιμοποιηθεί από την αναπνευστική διαδικασία για την παραγωγή CO₂), τότε το μικροφύκος ξεπέρασε και αυτό τον περιορισμό, και έχει κάτω από αυτές τις συνθήκες τη δυνατότητα ένα μεγάλο μέρος του ανόργανου άνθρακα (CO₂) να το επενδύσει για την φωτοσυνθετική μετατροπή του σε οργανικό άνθρακα και βιομάζα αυξάνοντας ταυτόχρονα την φωτοσυνθετική δραστηριότητα και την παραγωγή O₂ (Εικόνα 6 & 7).

Συμπεράσματα

- Σε όλες τις τεχνητές ανοξικές, αλλά και χωρίς CO₂, ατμόσφαιρες που εξετάσαμε το χλωροφύκος *Scenedesmus obliquus* σε επιλεγμένες συνθήκες φωτισμού (60μmol.m⁻².s⁻¹) καταφέρνει να συντηρήσει τον φωτοσυνθετικό του μηχανισμό που λειτουργεί με την ίδια ουσιαστικά φωτοσυνθετική απόδοση όπως και στην ατμόσφαιρα αέρα, συντηρώντας όλο τον κυτταρικό μεταβολισμό.
- Σε αυτές τις συνθήκες (επίωση σε ατμόσφαιρες χωρίς O₂ και CO₂) μέσω της φωτοσύνθεσης φωτολύεται το νερό παράγεται O₂ και φαίνεται αυτό το ελάχιστο O₂ να συντηρεί την αναπνευστική αλυσίδα, η οποία πιθανόν παράγει με τη σειρά της CO₂ που συντηρεί με τη σειρά του την φωτοσύνθεση. Η ανακύκλωση προϊόντων και υποστρωμάτων μεταξύ των δύο αυτών κύριων μεταβολικών διαδικασιών συντηρεί το μικροφύκος σε αυτές κατά τα άλλα ακραίες (για τα δεδομένα της γης) ατμόσφαιρες, περιορίζοντας την ανάπτυξη.
- Η προσθήκη CO₂ ή γλυκόζης κατάφεραν να αυξήσουν σημαντικά την φωτοσυνθετική παραγωγή O₂ στην ατμόσφαιρα προσεγγίζοντας τη σύσταση της γήινης ατμόσφαιρας, λόγω της επιτάχυνσης που πήρε από την ενισχυτική τους δράση ο φωτοσυνθετικός μηχανισμός, καθιστώντας τώρα ως περιοριστικό παράγοντα μόνο την ένταση φωτισμού.

Αναφορές

1. Bishop, N. I., & Senger, H. (1971). Preparation and photosynthetic properties of synchronous cultures of *Scenedesmus*. In *Methods in enzymology*, Vol. 23, pp. 53-66, Academic Press
2. Gaffron, H. (1939). Reduction of CO₂ with H₂ in green plants. *Nature* 143: 204-205.
3. Gupta, K.J., & Igamberdiev, A.U. (2011). The anoxic plant mitochondrion as a nitrite: NO reductase. *Mitochondrion* 11: 537–543.
4. Igamberdiev, A.U., & Hill, R.,D. (2009). Plant mitochondrial function during anaerobiosis. *Ann. Bot.* 103: 259–268.
5. Strasser, B., J., & Strasser, R. J. (1995). Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: The JIP-test. In: Mathis P (ed) *Photosynthesis: from Light to Biosphere*, pp 977- 980. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.