

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АМПЛИТУДНО-ИМУЛЬСНОЙ МОДУЛИРОВАННОЙ ФЛУОРИМЕТРИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ ДЕЙСТВИЯ ЛЕГУЧИХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ И БЕНЗ(А)ПИРЕНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ФОТОСИСТЕМЫ II В ЛИСТЯХ ОВСЯНИЦЫ ТРОСТНИКОВОЙ *Festuca arundinacea* Schreb.

Е. Г. Тюлькова^{1*}, Г. Е. Савченко², Л. Ф. Кабашникова²

УДК 543.42:[547.1+547.681]:633.264

¹ Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Беларусь; e-mail: tut-3@mail.ru

² Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

(Поступила 21 июня 2021)

С помощью амплитудно-импульсной модулированной флуориметрии, позволяющей оценить фотохимическую активность фотосистемы II (ФС II) по параметрам кинетической кривой индукции флуоресценции хлорофилла а (Хл а) *in vivo*, изучены механизмы действия токсичных органических соединений (ОС) — пентана, гексана, бензола, о-ксилола, бутилацетата и бенз(а)пирена — на растения овсяницы тростниковой *Festuca arundinacea* Schreb., широко распространенной в городских условиях. Обнаружено зависящее от дозы и времени действия токсикантов снижение содержания гидрофобных мембраносвязанных хлорофилловых пигментов при одновременном накоплении в листьях бесфитольного продукта деградации Хл а — хлорофиллида (Хд). Установлено, что эффективный квантовый выход фотохимических реакций ФС II снижается в основном при высоких дозах ОС; величина фотохимического тушения флуоресценции (qP) мало изменяется, а коэффициент нефотохимического тушения (qN) достоверно возрастает в разной степени в зависимости от вида и времени действия токсиканта. Обнаружена высокая отрицательная корреляционная взаимосвязь между величиной qN , характеризующей тепловую диссипацию поглощенной энергии, и содержанием мембраносвязанных фитольных хлорофилловых пигментов и каротиноидов. При этом изменения qN положительно коррелируют с содержанием Хд, образовавшегося при обработке ОС. Потребность в тепловой диссипации поглощенной энергии в результате действия ОС пропорциональна степени разрушения пигментного аппарата хлоропластов, что подтверждается положительной корреляцией между qN и содержанием Хд, обладающего фотодинамическим действием. Показано, что параметр qN может служить хорошим тестом на повреждающее действие токсичных техногенных ОС.

Ключевые слова: овсяница тростниковая, летучие органические соединения, бенз(а)пирен, фотохимическая активность фотосистемы II, флуоресценция хлорофилла а.

The mechanisms of action of toxic organic compounds (OC) (pentane, hexane, benzene, o-xylene, butyl acetate, and benzo(a)pyrene) on the reed fescue *Festuca arundinacea* Schreb., which is a common plant in the urban environment, were studied applying amplitude-pulse modulated fluorometry (PAM). To that end, the photochemical activity of photosystem II (PS II) was evaluated using the parameters of the kinetic curve of chlorophyll a (Chl a) fluorescence induction *in vivo*. A dose- and time-dependent reduction in the content of hydrophobic membrane-bound chlorophyll pigments was found along with simultaneous accumulation of chlorophyllide (Chlde), a phytol-free product of chlorophyll degradation, in the leaves. It was shown that the effective quantum yield of photochemical reactions of PS II ($Y(II)$) decreased mainly at high doses of toxic

APPLICATION OF AMPLITUDE-PULSE MODULATED FLUOROMETRY TO ESTIMATE THE EFFECT OF VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS AND BENZ(A)PYRENE ON THE FUNCTIONAL ACTIVITY OF THE PHOTOSYSTEM II IN THE LEAVES OF REED FESTUCA *Festuca arundinacea* Schreb.

E. G. Tulkova^{1*}, G. E. Savchenko², L. F. Kabashnikova² (¹ Gomel State Medical University, Gomel, Belarus; e-mail: tut-3@mail.ru; ² Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus)

compounds, wherein the level of photochemical quenching of fluorescence (qP) did not change significantly. We found that the coefficient of non-photochemical quenching (qN) significantly increased to different degrees, depending on the type of the toxicant and time of its exposure. A high negative correlation was observed between changes in qN , which characterizes the thermal dissipation of the absorbed energy, and the content of membrane-bound phytol chlorophyll pigments and carotenoids. On the other hand, changes in qN positively correlated with the content of Chl a formed during the OC processing. It leads us to the conclusion that the thermal dissipation of the absorbed energy as a result of the action of OC is proportional to the degree of destruction of the pigment apparatus of chloroplasts. This is confirmed by a positive correlation between the value of qN and the content of Chl a possessing a photodynamic effect. Thus, the qN parameter can serve as a reliable test for the damaging effect of various toxic technogenic factors.

Keywords: reed fescue, volatile organic compounds, benzopyrene, photochemical activity of photosystem II, chlorophyll a fluorescence.

Введение. Органические соединения (ОС) и их производные относятся к наиболее распространенным загрязнителям окружающей среды, источниками которых могут быть как техногенные, так и природные явления. Значительный удельный вес в выбросах современных промышленных предприятий занимают летучие органические загрязнители. Важная роль в детоксикации этих соединений принадлежит растениям, которые сами подвергаются их стрессовому воздействию.

Известно, что одной из наиболее отзывчивых на любой стресс систем растительной клетки является фотосинтетический аппарат, особенно фотосистема II (ФС II) [1—6], исследование механизмов воздействия токсических ОС на которую представляет теоретический и практический интерес [3]. Для оценки фотохимической активности ФС II в настоящее время используют метод амплитудно-импульсной модулированной флуориметрии (РАМ, pulse-amplitude modulated fluorometry), позволяющий проводить прижизненную регистрацию кинетической кривой индукции флуоресценции хлорофилла a (Хл a). Теоретические разработки на основе этого метода достигли высокого уровня интерпретации данных [7]. С его помощью оценивают изменения фотосинтетических характеристик растений, произрастающих в условиях различных стрессовых воздействий: нарушения доступности питательных веществ [8]; транспортного загрязнения [9]; действия различных концентраций пестицидов [10], озона [11], газообразного фтороводорода и водных растворов фторидов [12, 13], солей хрома [14], свинца [15], флуорантена и фенантрена [16]; низкой и высокой температуры [17, 18]; отдельных летучих ОС (ацетона, ацетонитрила, дихлорметана, этанола, метилового эфира) [19].

Изменения параметров РАМ-флуориметрии традиционно рассматривают на фоне общего содержания главных фотосинтетических пигментов. С использованием этого метода установлено, что действие полициклических ароматических углеводородов (нафталина, фенантрена и флуорантена) нарушает антенные комплексы ФС II, а при длительном действии или высокой концентрации снижает содержание фотосинтетических пигментов [3]. Однако такой информации недостаточно для раскрытия механизмов действия токсических веществ. В последнее время внимание исследователей привлекает проблема нарушения гомеостаза активных форм кислорода (АФК), постоянно продуцируемых в окислительной среде в хлоропластах, митохондриях и других компартментах клетки, главным образом, в процессах фотосинтеза и дыхания [20]. В функционирующем хлоропласте Хл связан с белками и обеспечивает фотосинтетическую трансформацию энергии света только в составе Хл-белковых комплексов. Свободный Хл, как и продукты его метаболизма и катаболизма, при освещении генерирует свободные радикалы, вызывающие дегенеративные повреждения тканей растения. Так, фотодинамически опасными становятся освободившиеся от связи с мембраной молекулы хлорофиллида (Хд) [20, 21], что делает особенно интересной информацию о содержании последнего при действии токсичных ОС.

В настоящей работе изменения параметров фотохимической активности фотосинтетического аппарата под действием загрязняющих факторов внешней среды изучены на фоне контроля состояния деградации пигментной системы с использованием для этой цели растения овсяницы тростниковой *Festuca arundinacea* Schreb. как одного из наиболее распространенных представителей городской флоры.

Материал и методы исследования. Объектом исследований служили растения овсяницы тростниковой *Festuca arundinacea* Schreb. Использование пентана, гексана, бензола, o -ксилола, бутилацетата обусловлено преобладающим количеством представителей этой группы в выбросах отдельных промышленных предприятий города Гомеля (ОАО "Гомельский завод литья и нормалей").

Бенз(а)пирен, присутствующий в выбросах предприятий теплоэнергетики (ТЭЦ-2) в небольших количествах, интересен из-за его высокой токсичности.

Листовые пластинки овсяницы обрабатывали водными растворами углеводов, дозы которых рассчитывали исходя из установленных для атмосферного воздуха предельно допустимых концентраций (ПДК) загрязняющих веществ [22]. Для пентана ПДК в атмосферном воздухе 100000.0 мкг/м³; гексана 60000.0 мкг/м³; бензола 100.0 мкг/м³; ксилолов 200.0 мкг/м³; бутилацетата 100.0 мкг/м³; бенз(а)пирена 5.0 нг/м³. Для всех соединений, кроме бенз(а)пирена, использовали максимальную разовую ПДК; для бенз(а)пирена — среднесуточную ПДК. Концентрации токсикантов для пентана 0.0001—0.03 мг/мл; гексана 0.00006—0.018 мг/мл; бензола 0.0001—0.03 мкг/мл; *o*-ксилола 0.0002—0.06 мкг/мл, бенз(а)пирена 0.000005—0.0015 нг/мл и для бутилацетата (бутилового эфира уксусной кислоты) 0.0001—0.03 мкг/мл. Таким образом, в эксперименте использовали по пять различных концентраций соединений, которые соответствуют 1, 5, 100, 200 и 300 ПДК этих токсикантов в атмосферном воздухе.

Растворимость пентана в воде 0.036 г/100 г при 16 °С; гексана 0.014 г/100 г при 15 °С; бензола 0.082 г/100 г при 16 °С; ксилола 0.015 г/100 г при 16 °С; бутилацетата 0.83 г/100 г при 25 °С. Листовые пластинки овсяницы опрыскивали водными растворами (по 50 мл для каждой дозы), материал анализировали через 1 и 3 сут после обработки. Растения овсяницы держали в пластиковых контейнерах с грунтом при интенсивности освещения 120 мкмоль · квант/м²·с с фотопериодом 14 ч при температуре 22 °С.

Параметры флуоресценции Хл *a* измеряли на флуориметре Dual-PAM 100 (Walz, Германия) согласно [23, 24]. Отделенные от растения листья предварительно адаптировали к темноте в течение 15 мин. Минимальный уровень флуоресценции (F_0) возбуждали модулированным с низкой частотой (32 Гц) светом (650 нм) очень низкой интенсивности (0.04 мкмоль · квант/м²·с). Повышение выхода флуоресценции до уровня F_m инициировали включением света высокой интенсивности (665 нм, 3500 мкмоль · квант/м²·с). Параметры флуоресценции измеряли с использованием актиничного света (120 мкмоль · квант/м²·с) и рассчитывали по формулам:

$$Y(II) = (F'_m - F)/F'_m, \quad qP = (F'_m - F)/(F'_m - F_0'), \quad qN = (F_m - F'_m)/(F_m - F_0),$$

где F_0 , F_0' и F_m , F'_m — минимальный и максимальный уровни флуоресценции Хл *a* в листьях, адаптированных к темноте и свету соответственно; F — выход флуоресценции на фоне действия модулированного и актиничного света; $Y(II)$ — эффективный квантовый выход фотохимических реакций ФС II; qP и qN — фотохимическое и нефотохимическое тушения флуоресценции Хл *a*.

Разделение фитильных и бесфитильных (Хд) форм хлорофилловых пигментов основано на разной их растворимости в гексане при соответствующих рН [25]. Общее содержание каротиноидов в ацетоновом экстракте определяли по [26], содержание всех пигментов в итоге пересчитывали на сырую массу. Измерения проводили в трехкратной биологической повторности.

Достоверность различий между параметрами флуоресценции Хл *a* и содержанием пигментов в экспериментальных и контрольных пробах оценивали с помощью дисперсионного анализа. Математическую обработку данных и расчет коэффициентов корреляции выполняли с помощью М. Excel.

Результаты и их обсуждение. На рис. 1 показано изменение содержания мембраносвязанного Хл и общего количества каротиноидов в листьях растений овсяницы после различных обработок. Видно, что исследуемые соединения вызывают снижение содержания Хл и каротиноидов. В случае пентана это происходило даже при низких концентрациях спустя 1 сут после обработки. Наиболее четкая зависимость эффекта от концентрации обнаружена через 1 сут после обработки *o*-ксилолом, однако его ингибирующее влияние исчезало через 3 сут после обработки, как и у гексана. Поведение хлорофилловых пигментов и каротиноидов в целом не различалось.

Поскольку содержание пигментов после обработки токсикантами уменьшается в отсутствие их нового синтеза, представляет интерес процесс деградации хлорофилловых пигментов. В табл. 1 показано изменение относительного содержания бесфитильных пигментов ($X_d(a + b)$) в листьях после различных обработок.

Наибольшее содержание Хд обнаружено через 1 сут после обработки листьев пентаном, гексаном, *o*-ксилолом и бутилацетатом. Спустя 3 сут процесс ослабевал после обработки пентаном и гексаном, но усиливался при действии бутилацетата. Влияние бензола и бенз(а)пирена выражено несколько слабее. В последнем случае концентрация токсиканта на три порядка ниже использованной для бензола.

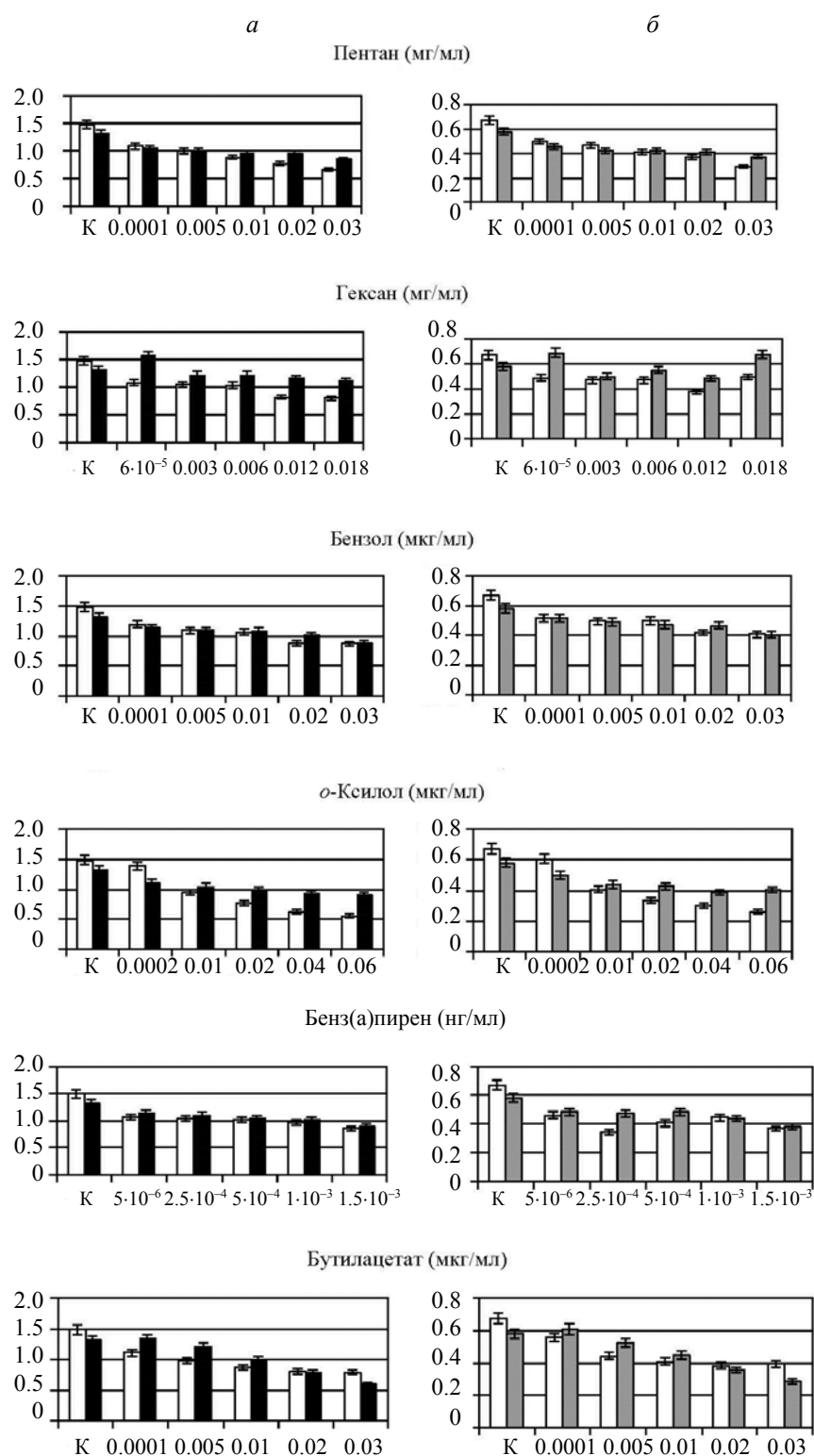


Рис. 1. Влияние разных концентраций летучих органических соединений и бенз(а)пирена (ось абсцисс) на содержание фитольных (Хл($a + b$)) форм хлорофилловых пигментов (а) и общее содержание каротиноидов (б) в листьях овсяницы тростниковой *Festuca arundinacea* Schreb. (ось ординат, содержание пигментов, мг/г сырой массы) спустя 1 (□) и 3 сут (■) после обработки

Т а б л и ц а 1. Изменение относительного содержания бесфитольных форм хлорофилловых пигментов (% к содержанию фитольных) в листьях овсяницы тростниковой *Festuca arundinacea* Schreb. после обработки летучими органическими соединениями и бенз(а)пиреном

Продолжительность действия ОС, сут	Пентан, мг/мл					
	Контроль	0.0001	0.005	0.01	0.02	0.03
1	2.18±0.11	2.96±0.15	4.25±0.21	6.95±0.35	7.54±0.38	15.41±0.77
3	1.56±0.08	2.72±0.14	4.55±0.23	5.15±0.26	5.42±0.27	8.33±0.42
	Гексан, мг/мл					
	Контроль	0.00006	0.003	0.006	0.012	0.018
1	2.18±0.11	2.89±0.14	5.45±0.27	6.84±0.34	10.67±0.53	16.79±0.84
3	1.56±0.08	4.08±0.20	6.48±0.32	6.72±0.34	7.71±0.39	9.03±0.45
	Бензол, мкг/мл					
	Контроль	0.0001	0.005	0.01	0.02	0.03
1	2.18±0.11	1.92±0.10	3.01±0.15	3.14±0.16	5.06±0.25	10.67±0.53
3	1.56±0.08	3.55±0.18	4.94±0.25	5.52±0.28	6.81±0.34	12.59±0.63
	o-Ксилол, мкг/мл					
	Контроль	0.0002	0.01	0.02	0.04	0.06
1	2.18±0.11	3.75±0.19	6.51±0.33	8.59±0.43	11.31±0.57	13.86±0.69
3	1.56±0.08	4.17±0.21	5.37±0.27	7.16±0.36	8.92±0.45	9.58±0.48
	Бенз(а)пирен, нг/мл					
	Контроль	0.000005	0.00025	0.0005	0.001	0.0015
1	2.18±0.11	4.95±0.25	5.17±0.26	6.65±0.33	8.07±0.40	10.09±0.50
3	1.56±0.08	5.53±0.28	6.13±0.31	6.91±0.35	8.43±0.42	9.68±0.48
	Бутилацетат, мкг/мл					
	Контроль	0.0001	0.005	0.01	0.02	0.03
1	2.18±0.11	3.11±0.16	4.08±0.20	4.89±0.24	7.72±0.39	11.20±0.56
3	1.56±0.08	4.11±0.21	5.01±0.25	6.42±0.32	10.64±0.53	17.33±0.87

Рассмотрим, как отражается обработка листьев токсичными веществами на функциональной активности ФС II. На рис. 2—4 показано влияние различных ОС на параметры РАМ-флуориметрии. В качестве наиболее информативных выбраны эффективный квантовый выход фотохимических реакций ФС II ($Y(II)$), а также фотохимическое (qP) и нефотохимическое (qN) тушения флуоресценции Хл *a*. Из рис. 2 видно, что величина $Y(II)$ через сутки после обработки листьев пентаном снижается при высоких дозах и ингибирующий эффект не исчезает спустя 3 сут. Подобная картина наблюдается и после обработки растений бензолом и ксилолом. Бенз(а)пирен ингибирует этот показатель только при самой высокой концентрации, а бутилацетат оказывает зависящее от концентрации ингибирующее влияние через 3 сут. Таким образом, эффект в большей степени зависит от дозы, чем от времени после обработки и вида загрязнителя.

Величина qP , регистрируемая в листьях, обработанных токсическими веществами, достоверно не превышает контрольных значений (рис. 3). При высоких концентрациях отдельных веществ обнаружена тенденция к снижению qP . Известно, что qP зависит от окислительно-восстановительного состояния первичных акцепторов электронов ФС II. Поскольку коэффициент фотохимического тушения отражает долю комплексов ФС II с окисленным Q_A (первичный хиноновый акцептор электронов ФС II) в момент до подачи вспышки, можно говорить в общем о независимости степени окисленности пула Q_A от обработки растения токсикантами. Однако при высоких концентрациях последних содержание Хл снижалось и это позволяет предположить, что та часть мембраны, которая не разрушалась, работала нормально. Известно, что qP зависит как от притока электронов к Q_A , так и от их оттока на пул пластохинонов и замедление последнего, как и окисление компонентов фотосинтетической электронтранспортной цепи, происходит при ингибировании реакций, потребляющих АТФ и НАДФ [7]. Кроме того, фотохимическое тушение контролируется метаболизмом углерода в цикле Кальвина и может существенно нарушаться при стрессовом ингибировании фиксации CO_2 [7]. В нашем эксперименте этого не наблюдалось.

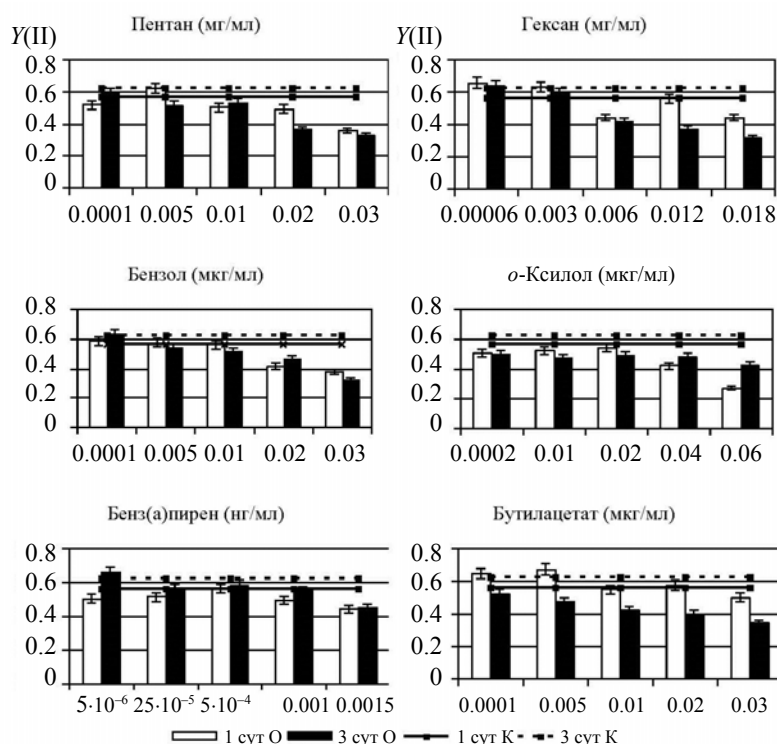


Рис. 2. Влияние различных концентраций летучих органических соединений и бенз(а)пирена (ось абсцисс) на эффективный квантовый выход ($Y(II)$) фотохимических реакций ФС II в листьях овсяницы тростниковой *Festuca arundinacea* Schreb. (O — опыт, K — контроль)

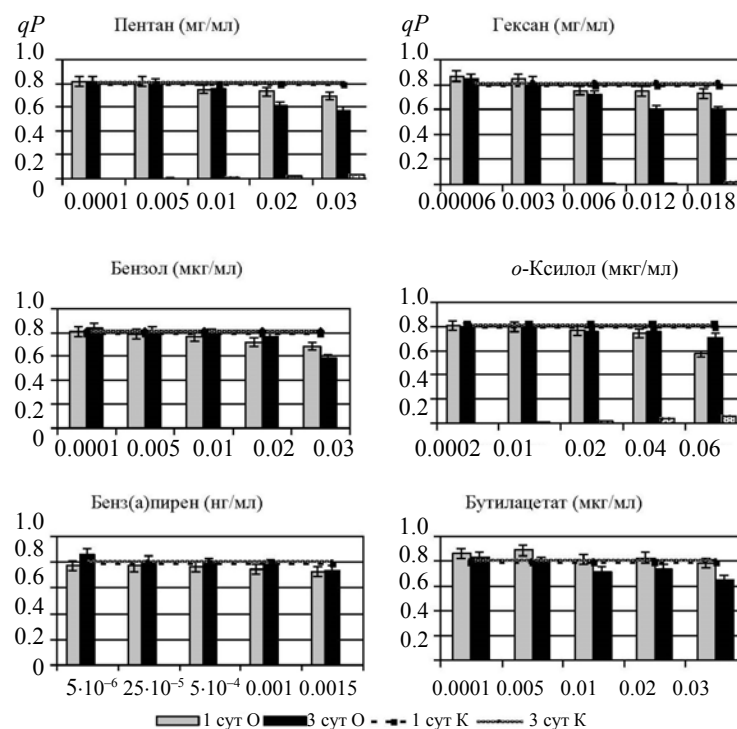


Рис. 3. Влияние различных концентраций летучих органических соединений и бенз(а)пирена (ось абсцисс) на фотохимическое тушение флуоресценции (qP) в листьях овсяницы тростниковой *Festuca arundinacea* Schreb. (O — опыт, K — контроль)

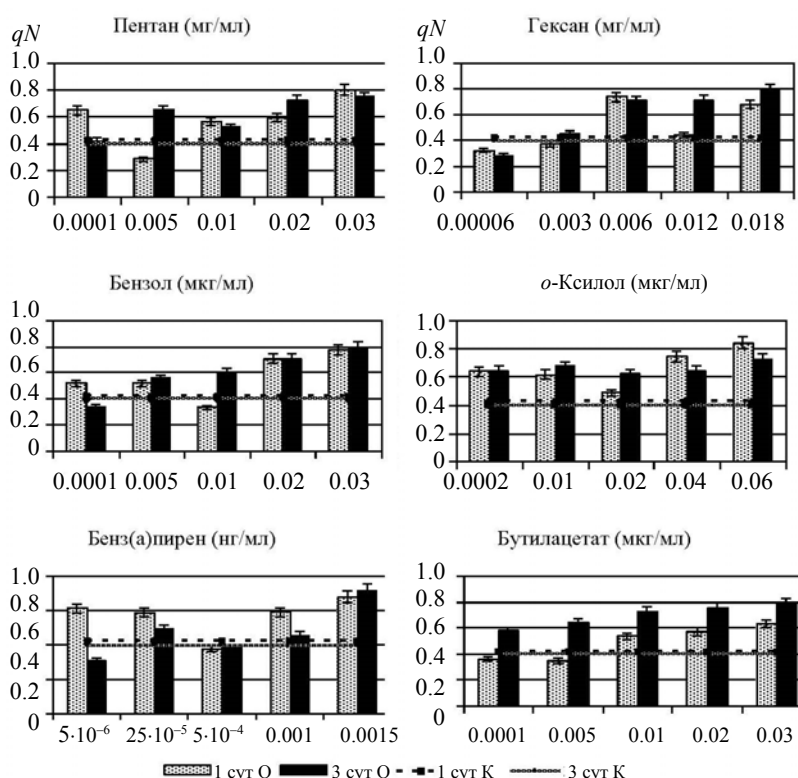


Рис. 4. Влияние различных концентраций летучих органических соединений и бенз(а)пирена (ось абсцисс) на нефотохимическое тушение флуоресценции (qN) в листьях овсяницы тростниковой *Festuca arundinacea* Schreb. (O — опыт, K — контроль)

Нефотохимическое тушение, которое оценивали по величине qN , варьировалось в разных вариантах и в основном повышалось по сравнению с контролем (рис. 4). Гексан через 3 сут вызывал увеличение этого параметра, бензол действовал аналогичным образом только при высоких концентрациях. Ксилол способствовал увеличению qN даже при сравнительно невысоких концентрациях, а бенз(а)пирен — при высоких дозах. Действие бутилацетата заметно только через 3 сут после обработки. В целом можно заключить, что величина qN — весьма чувствительный параметр РАМ-флуориметрии при оценке как пороговых концентраций, так и времени действия разных ОС на растение.

Интерпретация изменений коэффициента нефотохимического тушения флуоресценции X_{la} в результате обработки растений ОС достаточно сложна. Однако можно утверждать, что повышение qN отражает увеличение доли теплового рассеяния световой энергии. Обычно в литературе это демонстрируют на примере ситуации с избытком световой энергии [2]. В нашем случае это наблюдается на фоне некоторого снижения содержания фотосинтетических мембраносвязанных пигментов при сравнительно невысокой интенсивности освещения ($120 \text{ мкмоль} \cdot \text{квант/м}^2\text{с}$).

Чтобы понять природу наблюдаемого явления, необходимо сопоставить изменения параметров РАМ-флуориметрии с содержанием фотосинтетических пигментов и продуктов их разрушения как потенциальных продуцентов АФК. Для этого необходимо рассмотреть направленность корреляционных взаимодействий между изученными параметрами, чтобы увидеть наиболее информативные тенденции и наиболее вероятные взаимосвязи между исследуемыми параметрами.

В табл. 2 приведены коэффициенты корреляции между содержанием мембраносвязанных фитольных пигментов (Хл и каротиноидов) (см. рис. 1) и параметрами РАМ-флуориметрии (рис. 2—4). Абсолютные значения коэффициентов корреляции всех достоверно различающихся пар сравнения варьируют в пределах 0.54—0.75, что указывает на достаточно высокую корреляционную связь между анализируемыми параметрами. Наиболее высокие коэффициенты корреляции между содержанием фитольных форм Хл-пигментов и параметрами РАМ-флуориметрии имеют место при действии ароматических углеводородов — бензола и *o*-ксилола. Такая же тенденция сохраняется между флуоресцентными характеристиками и содержанием каротиноидов. Следует подчеркнуть, что содержание

фитольных форм Хл-пигментов и каротиноидов отрицательно коррелирует с величиной нефотохимического тушения флуоресценции, т. е. чем ниже содержание пигментов, тем больше qN , и наоборот. Самые высокие коэффициенты корреляции обнаружены в листьях, обработанных бензолом: -0.73 и -0.75 .

Т а б л и ц а 2. Коэффициенты корреляции между содержанием мембраносвязанных фитольных хлорофилловых пигментов (Фит) и каротиноидов (Кар) с различными параметрами РАМ-флуориметрии в листьях овсяницы тростниковой *Festuca arundinacea* Schreb.

Соединение	Пары сравнения					
	Фит— $Y(II)$	Фит— qP	Фит— qN	Кар— $Y(II)$	Кар— qP	Кар— qN
Пентан	0.66*	0.38	-0.62^*	0.67*	0.41	-0.66^*
Гексан	0.33	0.12	-0.38	0.12	0.05	-0.05
Бензол	0.70*	0.54*	-0.73^*	0.72*	0.54*	-0.75^*
<i>o</i> -Ксилол	0.65*	0.60*	-0.69^*	0.66*	0.59*	-0.68^*
Бнз(а)пирен	0.63*	0.28	-0.59^*	0.56*	0.28	-0.55^*
Бутилацетат	0.58*	0.20	-0.57^*	0.55*	0.27	-0.63^*

* Достоверные коэффициенты корреляции при $t_{st} > t_{табл}$; $t_{табл}(9) = 2.3$ при $p \leq 0.05$.

Иная картина наблюдается при сравнении изменений коэффициента нефотохимического тушения и содержания бесфитольных продуктов деградации Хл (табл. 3). Наиболее значимая высокая положительная корреляционная связь между содержанием нативных бесфитольных форм хлорофилловых пигментов (Хд) и qN обнаружена при действии ароматического углеводорода бензола и бутилацетата, наименьшая — бенз(а)пирена. Отметим, что этот токсикант использован в очень низких концентрациях (нмоль/мл). Изменение коэффициента нефотохимического тушения не коррелирует с образованием феофитина — второго продукта деградации Хл, обнаруженного нами ранее [27] при обработке листьев овсяницы ОС (табл. 3).

Т а б л и ц а 3. Коэффициенты корреляции между нефотохимическим тушением флуоресценции (qN) и содержанием продуктов деградации хлорофиллов (бесфитольных форм хлорофилловых пигментов и феофитина), образующихся в листьях овсяницы тростниковой *Festuca arundinacea* Schreb. после обработки летучими органическими соединениями и бенз(а)пиреном

Соединение	Пары сравнения	
	Бесфитольные— qN	Феофитин*— qN
Пентан	0.72	0.45
Гексан	0.66	0.06
Бензол	0.80	0.39
<i>o</i> -Ксилол	0.76	0.02
Бенз(а)пирен	0.43	0.001
Бутилацетат	0.87	0.02

* Использованы данные по содержанию феофитина [27].

Обсудим разную направленность корреляционных взаимосвязей между величиной qN и содержанием мембраносвязанных фитольных пигментов с одной стороны и qN и содержанием бесфитольных Хд — с другой. Отрицательное корреляционное взаимодействие между qN и содержанием встроенных в мембрану хлорофилловых пигментов означает, что чем меньше разрушается мембрана, тем меньше потребность фотосинтетического аппарата в тепловой диссипации избыточной поглощенной энергии. В случае продуктов деградации Хл прежде всего необходимо учитывать возможность их участия в образовании АФК. Известно, что более гидрофильный Хд, не связанный с пигмент-белковыми комплексами, является источником синглетного кислорода в хлоропластах [20], а из безмагнитных продуктов такой способностью обладает только бесфитольный продукт разрушения феофорбид [20]. Феофитин же содержит фитол и поэтому, вероятно, остается в связанном с липидами состоянии и никакого влияния на образование АФК не оказывает, а следовательно, необходи-

мость в нефотохимическом тушении флуоресценции отпадает. Обращает на себя внимание еще один момент. Как отмечено выше, типичной считается ситуация, когда тепловое тушение происходит при высокой интенсивности света [20]. В наших экспериментах использована умеренная интенсивность освещения в течение 1 либо 3 сут после обработки растений ОС ($120 \text{ мкмоль} \cdot \text{квант/м}^2\text{с}$), тем не менее значение qN достоверно увеличивалось, напоминая не только ситуацию с высокой интенсивностью света, но и другие проявления абиотического стресса [3]. Это позволяет предположить сходство механизма действия ОС на фотохимическую активность ФС II с типичным для других стрессовых условий. Остается открытым вопрос о возможности прямого участия использованных ОС в окислительно-восстановительных реакциях. Можно предположить, что растворение некоторого количества Хл в органике (зависит от глубины проникновения ОС в ткань листа и его гидрофобности) делает доступными его молекулы к атаке фермента хлорофиллазы, отщепляющей фитол [21]. Появление Хд вызывает образование синглетного кислорода, и фотосинтетический аппарат приводит в действие систему нефотохимического тушения флуоресценции для защиты мембран от разрушения.

Заключение. Ингибирующее влияние органических соединений на содержание мембраносвязанных хлорофилловых пигментов сопровождается накоплением лишнего фитола Хд. Эффект зависит как от концентрации токсиканта, так и от его химической природы, определяющей, по видимому, глубину проникновения органических соединений в ткань листа. Установлено, что в результате действия органических соединений в разной степени изменяются эффективный квантовый выход фотохимических реакций ФС II, величины фотохимического (qP) и нефотохимического (qN) тушения флуоресценции хлорофилла a : $Y(II)$ и qP после обработки снижаются в небольшой степени в основном при высоких дозах органических соединений, а qN возрастает в разной степени в зависимости от типа токсиканта и времени его действия. Обнаружены высокая отрицательная корреляция между изменением qN и содержанием мембраносвязанных фитольных хлорофилловых пигментов и каротиноидов, а также положительная корреляция между qN и содержанием хлорофиллида — продукта деградации хлорофилла, и отсутствие таковой в случае феофитина. Сделано предположение, что потребность в тепловой диссипации поглощенной энергии в результате действия органических соединений пропорциональна степени разрушения пигментного аппарата хлоропластов, что подтверждается положительной корреляцией между qN и содержанием хлорофиллида, обладающего фотодинамическим действием. Механизм действия токсичных гидрофобных органических соединений даже при невысокой интенсивности света подобен описанному в литературе влиянию на растение избыточного освещения, а параметр qN может служить хорошим тестом на повреждающее действие токсичных техногенных органических соединений.

Полученные данные иллюстрируют правомочность идеи организации системы биосинтеза хлорофилла, исключающей контакт молекул пигмента с агрессивной средой вплоть до встраивания в пигмент-белковые комплексы, которая известна как идея центров биосинтеза хлорофилла, сформулированная профессором А. А. Шлыком и его учениками.

- [1] Л. Ф. Кабашникова. Фотосинтетический аппарат и потенциал продуктивности хлебных злаков, Минск, Бел. наука (2011) 250—300
- [2] С. А. Сергейчик. Эколог. вестн., № 1 (2012) 16—24
- [3] А. В. Ланкин. Механизмы токсического действия полициклических ароматических углеводородов на фотосинтетический аппарат, Москва, Ин-т физиологии растений РАН (2016) 10—20
- [4] В. С. Лысенко, Т. В. Вардуни, В. Г. Соьер, В. П. Краснов. Фундамент. исслед., № 4 (2013) 112—120
- [5] М. Ю. Алиева, А. Т. Маммаев, М. Х.-М. Магомедова, Е. В. Пиняскина. Изв. Самарск. науч. центра РАН, № 1 (2014) 701—704
- [6] Д. И. Орехов, Ю. П. Козлов. Вест. РУДН, № 4 (2010) 23—28
- [7] Д. Ю. Корнеев. Информационные возможности метода индукции флуоресценции хлорофилла, Киев, Альтерпресс (2002) 150—180
- [8] H. M. Kalaji, W. Bąba, K. Gediga, V. Goltsev, I. A. Samborska, M. D. Cetner, S. Dimitrova, U. Piszcz, K. Bielecki, K. Karmowska, K. Dankov, A. Kompala-Bąba. Photosynth. Res., 136 (2018) 329—343
- [9] S. V. Wittenberghe, L. Alonso, J. Verrelst, I. Hermans, J. Delegido, F. Veroustraete, R. Valcke, J. Moreno, R. Samson. Environ. Pollut., 173 (2013) 29—37

-
- [10] **D. Dewez, O. Didur, J. Vincent-Héroux, R. Popovic.** *Environ. Pollut.*, **151** (2008) 93—100
- [11] **A. J. Clark, W. Landolt, J. B. Bucher, R. J. Strasser.** *Environ. Pollut.*, **109** (2000) 501—507
- [12] **S. R. Boese, D. C. MacLean, D. El-Mogazi.** *Environ. Pollut.*, **89** (1995) 203—208
- [13] **Y. Chae, D. Kim, Y.-J. An.** *Environ. Pollut.*, **219** (2016) 359—367
- [14] **K.-J. Appenroth, J. Stöckel, A. Srivastava, R. J. Strasser.** *Environ. Pollut.*, **115** (2001) 49—64
- [15] **A. T. Ruley, N. C. Sharma, S. V. Sahi, S. R. Singh, K. S. Sajwan.** *Environ. Pollut.*, **144** (2006) 11—18
- [16] **I. Oguntimehin, N. Nakatani, H. Sakugawa.** *Environ. Pollut.*, **154** (2008) 264—271
- [17] **J. N. Cape, I. D. Leith, J. Binnie, J. Content, M. Donkin, M. Skewes, D. N. Price, A. R. Brown, A. D. Sharpe.** *Environ. Pollut.*, **124** (2003) 341—353
- [18] **Y. Liang, H. Chen, M.-J. Tang, P.-F. Yang, S.-H. Shen.** *Physiol. Plantarum*, **131**, N 3 (2007) 508—517
- [19] **O. Herde, H. Peña-Cortés, H. Fuss, L. Willmitzer, J. Fisahn.** *Physiol. Plantarum*, **105**, N 1 (1999) 179—184
- [20] **B. C. Tripathy, R. Oelmüller.** *Plant Signaling Behav.*, **7**, N 12 (2012) 1621—1633
- [21] **А. А. Сиваш, Е. К. Золотарева.** *Вістн. Харків. нац. аграр. ун-ту*, вип. 3, № 30 (2013) 6—17
- [22] Постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь “Об утверждении и введении в действие нормативов предельно допустимых концентраций загрязняющих веществ в атмосферном воздухе и ориентировочно безопасных уровней воздействия загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных пунктов и мест массового отдыха населения” от 8.11.2016 № 113
- [23] **G. N. Krause, E. Wels.** *Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **42** (1991) 313—349
- [24] **K. Rochacek, M. Bartak.** *Photosynthetica*, **37** (1999) 339—363
- [25] **S. Harpaz-Saad, T. Azoulay, T. Arazi, E. Ben-Yaakov, A. Mett, Y. M. Shibolet.** *Plant Cell.*, **19** (2007) 1007—1022
- [26] **D. Rydzyński, A. I. Piotrowicz-Cieślak, H. Grajek, D. J. Michalczyk.** *Int. J. Environ. Sci. Technol.*, **16** (2019) 6301—6314
- [27] **Е. Г. Тюлькова, Г. Е. Савченко, Л. Ф. Кабашникова.** *Изв. РАН. Сер. биол.* (в печати), Id: IZVBIO2110008TYULKOVA <https://sciencejournals.ru/journal/izvbio/>