

УДК 574.24

UDC 574.24

**ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ  
АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ  
НА ФОТОХИМИЧЕСКУЮ  
АКТИВНОСТЬ ФОТОСИСТЕМЫ II  
В ЛИСТЬЯХ ОВСЯНИЦЫ  
ТРОСТНИКОВОЙ *FESTUCA  
ARUNDINACEA* SCHREB.**

**INFLUENCE OF SOME  
AROMATIC HYDROCARBONS  
ON PHOTOCHEMICAL  
ACTIVITY OF THE  
PHOTOSYSTEM II  
IN THE LEAVES OF *FESTUCA  
ARUNDINACEA* SCHREB.**

**Е. Г. Тюлькова,**

*кандидат биологических наук, доцент  
кафедры товароведения, Белорусский  
торгово-экономический университет  
потребительской кооперации;*

**Л. П. Авдашкова,**

*кандидат физико-математических наук,  
доцент кафедры информационно-  
вычислительных систем, Белорусский  
торгово-экономический университет  
потребительской кооперации;*

**Л. Ф. Кабашникова,**

*доктор биологических наук, член  
корреспондент НАН Беларуси, доцент,  
заведующий лабораторией прикладной  
биофизики и биохимии, институт биофизи-  
ки и клеточной инженерии НАН Беларуси*

**E. Tulkova,**

*PhD in Biology, Associate Professor  
of the Department of Merchandising,  
Belarusian Commercial-Economical  
University of Consumers' Cooperation;*

**L. Avdashkova,**

*PhD in Physics and Mathematics,  
Associate Professor of the Department  
of Informational-Computing Systems,  
Belarusian Commercial-Economical  
University of Consumers' Cooperation;*

**L. Kabashnikova,**

*Doctor of Biology, Member-Correspondent  
of NAS of Belarus, Associate Professor,  
Head of the Laboratory of Applied Biophysics  
and Biochemistry, Institute of Biophysics  
and Cellular Engineering, NAs of Belarus*

Поступила в редакцию 22.07.2019.

Received on 22.07.2019.

В статье представлены результаты оценки активности фотосинтетического аппарата растений овсяницы тростниковой *Festuca arundinacea* Schreb. при воздействии различных доз бензола, о-ксилола, бенз(а)пирена и смеси бензола с о-ксилолом в условиях эксперимента с использованием методов ПАМ-флуориметрии.

С учетом динамики параметров ПАМ-флуориметрии во время эксперимента установлено, что после обработки бензолом изученные показатели снижались более интенсивно через трое суток, тогда как влияние о-ксилола, бенз(а)пирена и смеси бензола с о-ксилолом приводило к более выраженному снижению этих величин уже через 1 сутки после воздействия, причем наиболее резкие различия между параметрами флуоресценции хлорофилла а фотосистемы II на 1-е и 3-е сутки были отмечены для бенз(а)пирена. Влияние смеси бензола с о-ксилолом усиливало различия между изученными параметрами на первые и третьи сутки регистрации по сравнению с влиянием только о-ксилола и способствовало резкому снижению этих величин через одни сутки по сравнению с бензолом.

**Ключевые слова:** овсяница тростниковая *Festuca arundinacea* Schreb., бензол, о-ксилол, бенз(а)пирен, хлорофилл а, флуоресценция, ПАМ-флуориметрия.

The article presents the results of the estimation of activity of the photosynthetic apparatus of the reed fescue *Festuca arundinacea* Schreb. plants when exposed to different doses of benzene, o-xylene, benzo (a) pyrene and a mixture of benzene with o-xylene under experimental conditions using the methods of PAM-fluorimetry. Taking into account the dynamics of the PAM-fluorimetry parameters during the experiment, it was found that, after treatment with benzene, the studied parameters decreased more intensively after 3 days, while the effect of o-xylene, benz(a)pyrene and a mixture of benzene with o-xylene led to a more pronounced decrease in these values already after 1 day, with the sharpest differences between the chlorophyll fluorescence parameters of photosystem 2 on days 1 and 3 for benz(a)pyrene. The effect of the mixture of benzene with o-xylene increased

the differences between the studied parameters on days 1 and 3 of registration compared with the effect of o-xylene only and contributed to a sharp decrease in these values after 1 day compared to benzene.

**Keywords:** reed fescue *Festuca arundinacea* Schreb., benzene, o-xylol, benz(a)pyrene, chlorophyll a, fluorescence, PAM-fluorimetry.

**Введение.** Ароматические углеводороды и их производные относятся к числу одних из наиболее распространенных загрязнителей окружающей среды [1, с. 4–5]. Их источником могут быть как техногенные, так и природные явления. Важная роль в детоксикации токсичных соединений в целом и ароматических углеводородов в частности в атмосферном воздухе принадлежит растениям. Однако при этом растения сами подвергаются стрессовому воздействию ароматических углеводородов [2, с. 112–113]. Известно, что фотосинтетический аппарат является одной из наиболее уязвимых и чувствительных систем растительной клетки [3, с. 16–17; 4, с. 701–703; 5, с. 762–763; 6, с. 24–25; 7, с. 788–790]. В настоящее время в литературе недостаточно сведений о механизмах и путях воздействия ароматических углеводородов на фотосинтетический аппарат растений, что привлекает интерес исследователей к этой проблеме [8, с. 3–5]. Поэтому целью исследования явилось изучение изменений показателей фотохимической активности фотосинтетического аппарата растений (на примере овсяницы тростниковой *Festuca arundinacea* Schreb.) в задаваемых условиях эксперимента при воздействии разных доз ароматических углеводородов (бензола, о-ксилола, бенз(а)пирена).

**Материал и методы исследования.** Выбор овсяницы тростниковой *Festuca arundinacea* Schreb. в качестве исследуемого объекта в экспериментальных условиях обусловлен широкой распространенностью растения в городских условиях. Использование ароматических углеводородов обусловлено преобладающим количеством представителей этой группы в выбросах отдельных промышленных предприятий города Гомеля (ОАО «Гомельский завод литья и нормалей») по сравнению с другими загрязняющими веществами. Что касается бенз(а)пирена, то несмотря на невысокое наличие в выбросах предприятий теплоэнергетики (ТЭЦ-2) его использование в эксперименте связано с высокой токсичностью, способностью в небольших количествах вызывать значительный эффект, недостаточной изученностью эффектов влияния и возможностью прове-

дения сравнительной оценки влияния полициклического ароматического углеводорода и одноядерных ароматических углеводородов (бензол, о-ксилол) на растительные организмы.

Листовые пластинки овсяницы тростниковой *Festuca arundinacea* Schreb. обрабатывали водными растворами углеводородов. Размеры используемых доз углеводородов рассчитывались исходя из установленных для атмосферного воздуха предельно допустимых концентраций загрязняющих веществ [9]. В соответствии с нормативами ПДК бензола в атмосферном воздухе является 100,0 мкг/м<sup>3</sup>; ксилолов – 200 мкг/м<sup>3</sup>; бенз(а)пирена – 5,0 нг/м<sup>3</sup>. Для бензола и о-ксилола использовали величину максимальной разовой ПДК; для бенз(а)пирена – среднесуточную ПДК [9].

В качестве контроля использовали необработанные растения овсяницы тростниковой *Festuca arundinacea* Schreb.; экспериментальными явились растения, обработанные водными растворами исследуемых соединений в следующих концентрациях: 0,0001–0,03 мкг/мл бензола; 0,0002–0,06 мкг/мл о-ксилола, 0,000005–0,0015 нг/мл бенз(а)пирена. Для выявления возможных эффектов совместного воздействия исследуемых соединений использовали смеси следующих концентраций: 0,01 мкг/мл бензола + 0,02 мкг/мл о-ксилола; 0,02 мкг/мл бензола + 0,04 мкг/мл о-ксилола.

Обработка листовых пластинок овсяницы осуществлялась путем опрыскивания водными растворами (по 50 мл водного раствора каждой дозы вводимого соединения).

Для оценки фотохимической активности фотосистемы II использовали метод импульсно-модулированной флуоресцентной спектроскопии (PAM, pulse-amplitude modulated fluorometry), позволяющий проводить прижизненную регистрацию кинетической кривой индукции флуоресценции хлорофилла а. Параметры флуоресценции хлорофилла а измеряли на флуориметре Dual-PAM 100 («Walz», Германия) по методам [10, 11]. Листья предварительно адаптировали к темноте в течение 15 минут. Модулированный с низкой частотой (32 Гц) свет (650 нм) очень низкой интенсивности (0,04 мкмоль квантов/ м<sup>2</sup>с)

возбуждал флуоресценцию, повышая ее минимальный уровень ( $F_0$ ). Повышение выхода флуоресценции до уровня  $F_m$  инициировали включением света (665 нм) высокой интенсивности (3500 мкмоль квантов/ м<sup>2</sup>с). Параметры флуоресценции измеряли с использованием актиничного света (120 мкмоль квантов/ м<sup>2</sup>с) и рассчитывали по формулам 1–6:

$$\frac{F_v}{F_m} = \frac{F_m - F_0}{F_m}, (1) \quad qP = \frac{F_m' - F}{F_m' - F_0'}, (4)$$

$$F_v = F_m - F_0, (2) \quad qN = \frac{F_m - F_m'}{F_m - F_0}, (5)$$

$$Y(II) = \frac{F_m' - F}{F_m'}, (3) \quad qL = qP \times \frac{F_0'}{F}, (6)$$

где  $F_0$  и  $F_0'$  – минимальный уровень флуоресценции хлорофилла *a* в листьях, адаптированных к темноте и свету, соответственно;  $F_v$  – переменная флуоресценция хлорофилла *a*;  $F_m$  и  $F_m'$  – максимальный уровень флуоресценции хлорофилла *a* в листьях, адаптированных к темноте и свету, соответственно;  $F$  – выход флуоресценции на фоне действия модулированного и актиничного света,  $\frac{F_v}{F_m}$  – потенциальный квантовый вы-

ход фотохимических реакций фотосистемы II;  $Y(II)$  – эффективный квантовый выход фотохимических реакций фотосистемы II;  $qP$  и  $qN$  – фотохимическое и нефотохимическое тушение флуоресценции хлорофилла *a* соответственно;  $qL$  – параметр, отражающий

степень открытости реакционных центров фотосистемы II.

Скорость нециклического электронного транспорта рассчитывали по формуле 7:

$$ETR = Y(II) \times PAR \times c \times 0,5, (7)$$

где  $Y(II)$  – эффективный квантовый выход фотохимических реакций фотосистемы II, PAR – интенсивность света (мкмоль квантов/м<sup>2</sup>с);  $c$  – часть абсорбированного света (обычно 0,84), 0,5 – часть фотосинтетически активной радиации, приходящейся на фотосистему II [12].

Достоверность различий между параметрами флуоресценции хлорофилла *a* в экспериментальных и контрольных пробах оценивали с помощью дисперсионного анализа. Математическую обработку цифрового материала выполняли с помощью *M. Excel* и *Statistica*.

С целью проведения сравнительной количественной оценки изменений параметров флуоресценции хлорофилла *a* проводили вычисление среднего значения разности изучаемых параметров в начале и конце эксперимента в экспериментальных образцах при обработке каждым из использованных соединений и кластерный анализ методом иерархической классификации.

**Результаты и их обсуждение.** Результаты определения параметров индукции флуоресценции хлорофилла *a* в растениях овсяницы тростниковой свидетельствуют о том, что обработка бензолом, о-ксилолом, бенз(а)пиреном и смесью бензола и о-ксилола экспериментальных образцов явилась причиной разнонаправленных изменений по сравнению с контрольными пробами (таблицы 1–4).

Таблица 1 – Параметры флуоресценции хлорофилла *a* овсяницы тростниковой *Festuca arundinacea* Schreb. в условиях эксперимента после обработки бензолом

Концентрация раствора бензола, мкг/мл	Параметры флуоресценции хлорофилла <i>a</i>					
	$\frac{F_v}{F_m}$	$Y(II)$	$ETR(II)$	$qN$	$qP$	$qL$
через одни сутки после обработки						
контроль	0,739± 0,035	0,565± 0,028	31,1±1,5	0,421± 0,021	0,785± 0,039	0,507± 0,025
0,0001	0,756± 0,038*	0,588± 0,027*	32,3±1,6*	0,332± 0,015*	0,762± 0,038*	0,422± 0,021*
0,005	0,783± 0,037*	0,574± 0,028*	31,6±1,4*	0,519± 0,025*	0,803± 0,040*	0,537± 0,026*

Концентрация раствора бензола, мкг/мл	Параметры флуоресценции хлорофилла а					
	$\frac{F_v}{F_m}$	$Y(II)$	$ETR(II)$	$qN$	$qP$	$qL$
0,01	0,765± 0,036*	0,562± 0,026	30,9±1,3	0,517± 0,026*	0,784± 0,038	0,507± 0,025
0,02	0,659± 0,033*	0,416± 0,021*	22,9±1,1*	0,708± 0,035*	0,715± 0,035*	0,512± 0,026*
0,03	0,577± 0,029*	0,380± 0,019*	20,9±1,0*	0,773± 0,039*	0,683± 0,033*	0,489± 0,024
через трое суток после обработки						
контроль	0,769± 0,037	0,625± 0,031	34,3±1,7	0,395± 0,020	0,804± 0,040	0,478± 0,024
0,0001	0,756± 0,036*	0,632± 0,031*	34,8±1,5*	0,341± 0,017*	0,840± 0,042*	0,565± 0,028*
0,005	0,695± 0,034*	0,463± 0,023*	25,5±1,2*	0,709± 0,035*	0,764± 0,038*	0,560± 0,028*
0,01	0,732± 0,035*	0,543± 0,025*	29,9±1,4*	0,558± 0,026*	0,806± 0,040	0,576± 0,029*
0,02	0,683± 0,031*	0,513± 0,026*	28,2±1,3*	0,602± 0,029*	0,792± 0,040*	0,572± 0,026*
0,03	0,672± 0,034*	0,318± 0,016*	17,5±0,9*	0,797± 0,040*	0,581± 0,029*	0,385± 0,019*

Примечание. Здесь и далее в таблицах 2–4:  $F_v / F_m$  – потенциальный квантовый выход фотохимических реакций фотосистемы II;  $Y(II)$  – эффективный квантовый выход фотохимических реакций фотосистемы II;  $ETR(II)$  – скорость фотосинтетического электронного транспорта;  $qN$  и  $qP$  – нефотохимическое и фотохимическое тушение флуоресценции;  $qL$  – количество открытых реакционных центров.

Здесь и далее в таблицах 2–4 достоверные значения параметров флуоресценции хлорофилла а при  $p \leq 0,05$  обозначены \*.

Для интерпретации полученных результатов следует отметить, что энергия солнечного света, приходящая в фотосинтетический аппарат листа, расходуется в следующих направлениях: в процессе фотосинтеза (фотохимическое тушение  $qP$ ), на нефотохимическое тушение (переход в тепло  $qN$ ) и испускание в виде кванта света (флуоресценция  $F$ ). Влияние неблагоприятных условий роста и развития может оказывать негативное действие на такие характеристики активности фотосистемы II фотосинтеза, как потенциальный квантовый выход фотохимических реакций ( $\frac{F_v}{F_m}$ ), который определяется

как  $(\frac{F_m - F_o}{F_m})$ . В настоящее время установлено,

что значение потенциального квантового выхода фотохимических реакций пропорционально доле активных реакционных центров фотосистемы II и может снижаться в неблагоприятных условиях среды произрастания растения [3, с. 16–18; 4, с. 701–702]. В нашем эксперименте величина потенциального квантового выхода через одни сутки после

обработки раствором бензола снижалась только в пределах двух последних наибольших доз (0,02 мкг/мл и 0,03 мкг/мл), а через трое суток – во всех вариантах эксперимента (таблица 1). При этом через одни сутки снижение этого параметра при воздействии максимальной дозы (0,03 мкг/мл) было более резким по сравнению с третьими сутками, тогда как различия между минимальной дозой и контролем были практически равными, но разнонаправленными в течение эксперимента. Эффективный квантовый выход  $Y(II)$ , который характеризует квантовый выход фотохимического превращения поглощенной световой энергии, под влиянием бензола снижался во всех случаях, за исключением двух первых доз через одни сутки и первой дозы через трое суток после обработки, при этом разница между контролем и максимальной дозой в отличие от потенциального квантового выхода была более значительной через трое суток (в 1,96 раза). Изменение скорости фотосинтетического электронного транспорта  $ETR(II)$  в эксперименте с бензолом носило тот же характер, что и эффективного квантового выхода  $Y(II)$ . Величина нефотохимического тушения флуо-



ресценции  $qN$  возрастала при воздействии максимальной дозы по сравнению с контролем через первые и третьи сутки практически вдвое и снижалась почти в равных пропорциях под влиянием минимальной дозы. Тогда как коэффициент фотохимического тушения флуоресценции хлорофилла  $a$  ( $qP$ ) уменьшался при обработке листьев практически всеми дозами бензола, особенно максимальной через третьи сутки (в 1,38 раза), за исключением минимальной дозы через трое суток. Количество открытых реакционных центров  $qL$  в эксперименте с бензолом изменялось аналогично фотохимическому преобразованию энергии.

Обработка листовых пластинок овсяницы тростниковой *Festuca arundinacea* раствором о-ксилола обусловила снижение величины потенциального квантового выхода

фотохимических реакций  $\frac{F_v}{F_m}$  во время экс-

перимента во всех дозах, кроме двух первых (0,0002 мкг/мл и 0,01 мкг/мл) через одни сутки (таблица 2).

При этом максимальное уменьшение наблюдалось при воздействии минимальной дозы (0,0002 мкг/мл) через трое суток (в 1,38 раза). Эффективный квантовый выход  $Y(II)$  в отличие от влияния бензола снижался во всех вариантах, при этом наиболее значительно – через одни сутки (в 2,11 раза) при максимальной дозе воздействия (0,06 мкг/мл). Изменения величины скорости фотохимиче-

ского электронного транспорта  $ETR(II)$  носили тот же количественный характер, что и эффективного квантового выхода  $Y(II)$ , однако по сравнению с бензолом максимальное снижение этого параметра наблюдалось через одни сутки после обработки растений. Нефотохимическое тушение флуоресценции хлорофилла  $a$  ( $qN$ ) под влиянием о-ксилола возрастало во всех вариантах в течение эксперимента, причем наиболее резко (в 2 раза) через одни сутки после введения максимальной дозы. Через трое суток увеличение этого показателя по сравнению с контролем было примерно равным независимо от дозы о-ксилола. Фотохимическое тушение флуоресценции хлорофилла  $a$  ( $qP$ ) в отличие от эксперимента с бензолом снижалось максимально (в 1,37 раза) через одни сутки под влиянием максимальной дозы воздействия (0,06 мкг/мл), тогда как первые две дозы (0,0002 мкг/мл и 0,01 мкг/мл) в это время не оказывали негативное влияние на величину этого показателя. Количество открытых реакционных центров ( $qL$ ) через одни сутки после обработки снижалось с аналогичной закономерностью, что и фотохимическое тушение флуоресценции ( $qP$ ), однако через трое суток эксперимента отрицательное влияние о-ксилола на количество открытых реакционных центров не проявилось и его величина была выше по сравнению с контролем во всех случаях.

Таблица 2 – Параметры флуоресценции хлорофилла  $a$  овсяницы тростниковой *Festuca arundinacea* Schreb. в условиях эксперимента после обработки о-ксилолом

Концентрация раствора о-ксилола, мкг/мл	Параметры флуоресценции хлорофилла $a$					
	$\frac{F_v}{F_m}$	$Y(II)$	$ETR(II)$	$qN$	$qP$	$qL$
через одни сутки после обработки						
контроль	0,739± 0,037	0,565± 0,026	31,1±1,5	0,421± 0,020	0,785± 0,038	0,507± 0,025
0,0002	0,788± 0,037*	0,512± 0,025*	28,2±1,4*	0,637± 0,031*	0,812± 0,041*	0,616± 0,031*
0,01	0,803± 0,040*	0,526± 0,024*	28,9±1,3*	0,616± 0,030*	0,797± 0,040*	0,572± 0,028*
0,02	0,665± 0,033*	0,422± 0,021*	23,2±1,2*	0,746± 0,036*	0,744± 0,036*	0,557± 0,028*
0,04	0,699± 0,034*	0,544± 0,026*	29,9±1,5*	0,486± 0,023*	0,769± 0,037*	0,493± 0,024*
0,06	0,599± 0,030*	0,268± 0,012*	14,7±0,7*	0,844± 0,042*	0,572± 0,028*	0,415± 0,021*
через трое суток после обработки						
контроль	0,769± 0,038	0,625± 0,031	34,3±1,7	0,395± 0,020	0,804± 0,040	0,478± 0,024

Концентрация раствора о-ксилола, мкг/мл	Параметры флуоресценции хлорофилла а					
	$\frac{F_v}{F_m}$	$Y(II)$	$ETR(II)$	$qN$	$qP$	$qL$
0,0002	0,557± 0,028*	0,474± 0,024*	26,0±1,3*	0,677± 0,034*	0,784± 0,039*	0,591± 0,030*
0,01	0,72± 0,035*	0,495± 0,024*	27,2±1,3*	0,624± 0,031*	0,760± 0,038*	0,524± 0,025*
0,02	0,724± 0,036*	0,499± 0,025*	27,4±1,4*	0,646± 0,031*	0,792± 0,040*	0,584± 0,029*
0,04	0,569± 0,028*	0,484± 0,024*	26,6±1,3*	0,645± 0,032*	0,760± 0,037*	0,534± 0,027*
0,06	0,676± 0,034*	0,427± 0,021*	23,5±1,2*	0,725± 0,036*	0,708± 0,035*	0,490± 0,024*

Бенз(а)пирен в эксперименте с растением овсяницы тростниковой явился причиной снижения величины потенциального квантового выхода фотохимических реакций  $\frac{F_v}{F_m}$ ,

кроме минимальной дозы (0,000005 нг/мл) через одни сутки после обработки, причем

эта тенденция была характерна для всех использованных ароматических углеводов в наших исследованиях. Однако по сравнению с одноклеточными углеводородами бенз(а)пирен вызывал самые незначительные изменения этого параметра в экспериментальных образцах (таблица 3).

Таблица 3 – Параметры флуоресценции хлорофилла а овсяницы тростниковой *Festuca arundinacea* Schreb. в условиях эксперимента после обработки бенз(а)пиреном

Концентрация раствора бенз(а)пирена, нг/мл	Параметры флуоресценции хлорофилла а					
	$\frac{F_v}{F_m}$	$Y(II)$	$ETR(II)$	$qN$	$qP$	$qL$
через одни сутки после обработки						
контроль	0,739± 0,036	0,565± 0,028	31,1±1,6	0,421± 0,020	0,785± 0,039	0,507± 0,024
0,000005	0,786± 0,039*	0,566± 0,027	31,1±1,5	0,377± 0,019*	0,765± 0,038*	0,458± 0,023*
0,00025	0,642± 0,032*	0,496± 0,025*	27,3±1,3*	0,589± 0,028*	0,745± 0,037*	0,493± 0,025*
0,0005	0,670± 0,034*	0,507± 0,024*	27,9±1,3*	0,612± 0,030*	0,776± 0,038*	0,545± 0,026*
0,001	0,591± 0,034*	0,444± 0,022*	24,4±1,2*	0,680± 0,034*	0,730± 0,037*	0,513± 0,025*
0,0015	0,621± 0,031*	0,515± 0,025*	28,4±1,4*	0,587± 0,028*	0,769± 0,036*	0,525± 0,024*
через трое суток после обработки						
контроль	0,769± 0,038	0,625± 0,031	34,3±1,7	0,395± 0,020	0,804± 0,040	0,478± 0,024
0,000005	0,711± 0,035*	0,659± 0,033*	36,3±1,8*	0,311± 0,015*	0,859± 0,042*	0,586± 0,029*
0,00025	0,686± 0,033*	0,586± 0,028*	32,2±1,6*	0,384± 0,019*	0,789± 0,039*	0,491± 0,025*
0,0005	0,506± 0,024*	0,553± 0,028*	30,4±1,5*	0,456± 0,023*	0,786± 0,039*	0,521± 0,026*
0,001	0,734± 0,037*	0,565± 0,028*	31,1±1,5*	0,490± 0,025*	0,809± 0,040*	0,561± 0,028*
0,0015	0,709± 0,035*	0,454± 0,023*	25,0±1,3*	0,715± 0,035*	0,736± 0,037*	0,517± 0,026*

Эффективный квантовый выход  $Y(II)$  под влиянием бенз(а)пирена аналогично бензолу снижался при максимальных дозах воздействия и был на уровне контроля при минимальных дозах, однако снижение величины этого параметра по сравнению с бензолом и о-ксилолом были самыми незначительными (в 1,10 раза через одни сутки и в 1,38 раза – через трое суток). Скорость фотохимического электронного транспорта  $ETR(II)$ , нефотохимическое тушение флуоресценции ( $qN$ ) и фотохимическое тушение флуоресценции ( $qP$ ) в эксперименте с бенз(а)пиреном изменялись аналогично приведенным выше для бензола, однако эти изменения, как в направлении увеличения, так и снижения, в большинстве случаев были менее значительны. Количество открытых реакционных центров ( $qL$ ) возрастало через первые и третьи сутки после обработки, кроме первых двух минимальных доз через первые сутки, что характеризует отсутствие отрицательного влияния бенз(а)пирена на значение этого показателя. Таким образом, бенз(а)пирен как одно из наиболее токсичных соединений в условиях проведенного эксперимента не явился причиной существенных изменений параметров флуоресценции хлорофилла *a* овсяницы тростниковой *Festuca arundinacea* Schreb. по сравнению с бензолом и о-ксилолом.

Для оценки влияния смесей летучих органических соединений на активность функционирования фотосистемы II фотосинтеза нами проведен эксперимент по совместному воздействию на листовые пластинки овсяницы тростниковой *Festuca arundinacea* Schreb. смеси бензола с о-ксилолом, наличие которой характерно для выбросов ОАО «Гомельский завод литья и нормалей» (таблица 4).

Данные таблицы 4 свидетельствуют о том, что по сравнению с контролем в экспериментальных образцах, обработанных смесями бензола и о-ксилола, на первые и третьи сутки наблюдалось снижение величины потенциального квантового выхода  $\frac{F_v}{F_m}$ ,

эффективного квантового выхода  $Y(II)$  (за исключением смеси 0,02 мкг/мл бензола и 0,04 мкг/мл о-ксилола на первые сутки), скорости электронного транспорта  $ETR(II)$  (за исключением смеси 0,02 мкг/мл бензола и 0,04 мкг/мл о-ксилола на первые сутки), а также увеличение нефотохимического тушения флуоресценции  $qN$  и количества открытых реакционных центров  $qL$ . Изменение коэффициента фотохимического тушения флуоресценции  $qP$  оказалось не столь однозначным, несколько увеличиваясь на первые сутки и снижаясь на третьи сутки при максимальных дозах внесения изученных органи-

Таблица 4 – Параметры флуоресценции хлорофилла *a* овсяницы тростниковой *Festuca arundinacea* Schreb. в условиях эксперимента после обработки смесью бензола и о-ксилола

Варианты опыта	Параметры флуоресценции хлорофилла <i>a</i>					
	$\frac{F_v}{F_m}$	$Y(II)$	$ETR(II)$	$qN$	$qP$	$qL$
через одни сутки после обработки						
контроль	0,739± 0,037	0,565± 0,028	31,1±1,5	0,421± 0,021	0,785± 0,038	0,507± 0,025
0,01 мкг/мл +0,02 мкг/мл	0,578± 0,028*	0,465± 0,022*	25,6±1,3*	0,687± 0,034*	0,781± 0,039*	0,591± 0,030*
0,02 мкг/мл +0,04 мкг/мл	0,558± 0,028*	0,573± 0,028	31,5±1,6	0,500± 0,025*	0,822± 0,041*	0,582± 0,029*
через трое суток после обработки						
контроль	0,769± 0,037	0,625± 0,031	34,3±1,7	0,395± 0,020	0,804± 0,040	0,478± 0,023
0,01 мкг/мл +0,02 мкг/мл	0,646± 0,030*	0,559± 0,028*	30,8±1,5*	0,532± 0,026*	0,819± 0,041*	0,589± 0,026*
0,02 мкг/мл +0,04 мкг/мл	0,630± 0,031*	0,530± 0,027*	29,1±1,5*	0,507± 0,025*	0,785± 0,039*	0,542± 0,025*

ческих соединений (0,02 мкг/мл бензола + 0,04 мкг/мл о-ксилола). Проведение сравнительной оценки параметров флуоресценции хлорофилла *a* при обработке бензолом и о-ксилолом в отдельности и совместно показало, что значения потенциального квантового выхода  $\frac{F_v}{F_m}$  и нефотохимического ту-

шения флуоресценции  $qN$  при обработке листовых пластинок смесью соединений снижаются, за исключением влияния 0,04 мкг/мл о-ксилола через третьи сутки и 0,01 мкг/мл бензола через первые сутки на каждый указанный параметр. По отношению к другим исследованным параметрам РАМ-флуориметрии наблюдалось увеличение значений при воздействии смеси бензола и о-ксилола, кроме обработки 0,01 мкг/мл бензола через первые сутки в случае эффективного квантового выхода  $Y(II)$  и скорости транспорта электронов  $ETR(II)$ , а также 0,02 мкг/мл бензола через третьи сутки по отношению к фотохимическому тушению флуоресценции  $qP$  и количеству открытых реакционных центров  $qL$ .

Достоверность различий между параметрами флуоресценции хлорофилла *a* листовых пластинок экспериментальных и контрольных растений овсяницы оценивали с помощью дисперсионного анализа.

Результаты дисперсионного анализа комплексов, включающих параметры флуоресценции хлорофилла *a* при каждой вводимой дозе углеводорода через одни и трие суток после обработки и контроля, позволили установить достоверность их изменений ( $F_{\text{фактич.}} = 32,14 \div 4056,97$ ;  $F_{\text{критич.}}(1, 6) = 5,98$  при  $p \leq 0,05$  при обработке соединениями по одному;  $F_{\text{фактич.}} = 21,76 \div 9121,03$ ;  $F_{\text{критич.}}(1, 6) = 5,98$  при  $p \leq 0,05$  при обработке соединениями в смеси). Исключение составили следующие недостоверные различия изученных параметров между контролем и экспериментальной пробой: через первые сутки – скорость электронного транспорта  $ETR(II)$ , эффективный квантовый выход  $Y(II)$ , фотохимическое тушение флуоресценции  $qP$  и количество открытых реакционных центров  $qL$  при обработке 0,01 мкг/мл бензола; скорость электронного транспорта  $ETR(II)$  и эффективный квантовый выход  $Y(II)$  при обработке 0,000005 нг/мл бенз(а)пирена; через третьи сутки – фотохимическое тушение флуоресценции  $qP$  при обработке 0,01 мкг/мл бензола. В случае использова-

ния смесей в эксперименте достоверные различия выявлены для скорости электронного транспорта  $ETR(II)$  и эффективного квантового выхода  $Y(II)$  при обработке 0,02 мкг/мл бензола и 0,04 мкг/мл о-ксилола через первые сутки. Таким образом, наибольшее количество недостоверных различий между изученными параметрами наблюдалось через первые сутки эксперимента и было характерно для скорости электронного транспорта  $ETR(II)$  и эффективного квантового выхода  $Y(II)$ .

Сравнение комплексов дисперсии параметров флуоресценции хлорофилла *a* через одни и трие суток в эксперименте позволило установить достоверность их изменений с течением времени действия органических соединений без учета контрольных проб ( $F_{\text{фактич.}} = 5,63 \div 35,45$ ;  $F_{\text{критич.}}(1, 38) = 4,10$  при  $p \leq 0,05$  при обработке соединениями по одному;  $F_{\text{фактич.}} = 6,12 \div 17,22$ ;  $F_{\text{критич.}}(1, 14) = 4,60$  при  $p \leq 0,05$  при обработке соединениями в смеси). Исключение составило количество открытых реакционных центров после обработки о-ксилолом, изменение которого в течение времени эксперимента носило недостоверный характер.

Результаты кластерного анализа параметров флуоресценции хлорофилла *a* у растущей овсяницы тростниковой за период эксперимента с учетом минимальных и максимальных доз вводимых соединений представлены на рисунке 1 (анализ проведен методом иерархической классификации).

Результаты кластерного анализа свидетельствуют о том, что при использовании минимальных доз через одни сутки эксперимента изученные ароматические углеводороды сформировали несколько кластеров, которые можно распределить в порядке снижения степени воздействия на параметры флуориметрии листьев овсяницы тростниковой следующим образом: о-ксилол (более всего повлиял на изменение параметров флуориметрии по сравнению с контролем); бенз(а)пирен (образовал с контрольными образцами один кластер); бензол (оказал менее интенсивное влияние на изменение параметров флуориметрии листа по сравнению с бенз(а)пиреном).

С течением времени воздействия минимальных доз через трие суток наблюдались изменения в порядке расположения вводимых соединений: о-ксилол (аналогично первым суткам продолжал наиболее сильно влиять на параметры флуориметрии); бензол (образовал один кластер с контролем);



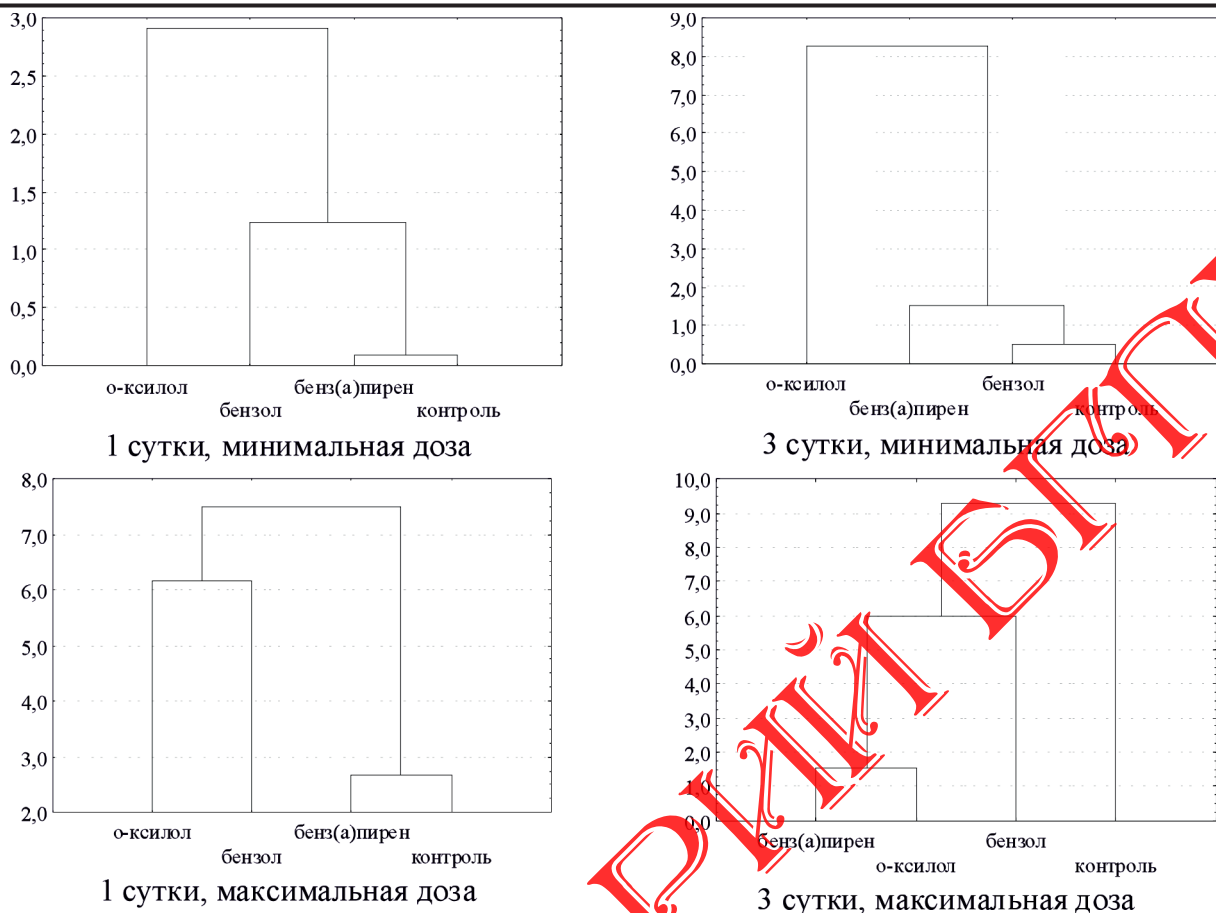


Рисунок 1 – Дендрограммы кластерного анализа параметров флуоресценции хлорофилла а овсяницы тростниковой *Festuca arundinacea* Schreb.

бенз(а)пирен (его воздействие ослабевало по сравнению с контролем и первыми сутками). Что касается максимальных доз, то через одни сутки после обработки о-ксилол и бензол составили один кластер и оказали наиболее интенсивное влияние на изменение параметров флуориметрии листа по сравнению с контролем и бенз(а)пиреном; бенз(а)пирен, как и в случае использования минимальных доз, сформировал один кластер с контролем. По истечении трех суток эксперимента влияние всех максимальных доз привело к снижению параметров флуориметрии по сравнению с контролем; при этом воздействие бензола и о-ксилола на изученные параметры продолжалось в направлении снижения по сравнению с контрольными образцами; бенз(а)пирен и о-ксилол образовали один кластер, и бенз(а)пирен усилил свое воздействие по сравнению с одними сутками.

В результате общей количественной оценки влияния всех доз изученных ароматических углеводородов на параметры флуоресценции хлорофилла а растений овсяницы тростниковой получено, что после обработки бензолом флуоресцентные показатели сни-

жались более интенсивно через трое суток эксперимента, тогда как влияние о-ксилола, бенз(а)пирена и смеси бензола с о-ксилолом приводило к более выраженному их снижению уже через одни сутки после воздействия, причем наиболее существенные различия между параметрами, зарегистрированными через одни и трое суток, были характерны для бенз(а)пирена (рисунок 2).

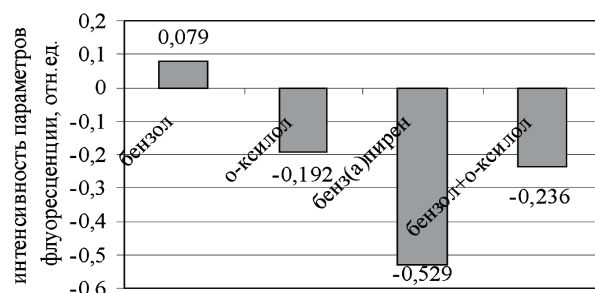


Рисунок 2 – Изменение параметров флуоресценции хлорофилла а овсяницы тростниковой *Festuca arundinacea* Schreb. за период эксперимента

Обработка смесью бензола с о-ксилолом усиливала различия между параметрами

флуориметрии фотосистемы II в листьях на первые и третьи сутки по сравнению с влиянием только о-ксилола и способствовала резкому снижению этих величин через одни сутки по сравнению с бензолом.

**Заключение.** В результате проведенного эксперимента с использованием методов РАМ-флуориметрии с целью оценки воздействия на параметры активности фотосистемы II фотосинтеза в листьях растений овсяницы тростниковой *Festuca arundinacea* различных доз бензола, о-ксилола, бенз(а)пирена и смеси бензола с о-ксилолом в условиях эксперимента установлено, что после обработки бензолом изученные показатели снижались более интенсивно через трое суток эксперимента, тогда как влияние о-ксилола, бенз(а)пирена и смеси бензола с о-ксилолом приводило к более выраженному снижению этих величин уже через одни сутки после воздействия, причем наиболее резкие различия между параметрами первых и третьих суток были характерны для бенз(а)пирена.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Фатеева, Н. Л. Дистанционная диагностика состояния растений на основе метода лазерно-индуцированной флуоресценции: автореф. дис. ... канд. ф.-м. наук: 01.04.05 / Н. Л. Фатеева; Ин-т оптики атмосферы им. В. Е. Зуева, Сибир. отд-ние РАН. – Новосибирск, 2007. – 19 с.
2. Флуоресценция хлорофилла растений как показатель экологического стресса: теоретические основы применения метода / В. С. Лысенко [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 4. – С. 112–120.
3. Сергейчик, С. А. Влияние формальдегида (НСНО) на флуоресценцию хлорофилла, содержание фотосинтетических пигментов, белков и активность пероксидазы древесных растений / С. А. Сергейчик // Экологический вестник. – 2012. – №1. – С. 16–24.
4. Изучение параметров флуоресценции хлорофилла древесных растений в условиях различной транспортной нагрузки / М. Ю. Алиева [и др.] // Известия Самарского научного центра РАН. – 2014. – № 1 (3). – С. 701–704.
5. Исследование фотосинтетической активности растений в зависимости от высотного градиента / Е. В. Пиняскина [и др.] // Известия Самарского научного центра РАН. – 2013. – № 3 (2). – С. 762–764.
6. Орехов, Д. И. Изучение параметров флуоресценции хлорофилла в листьях древесных растений, растущих в условиях г. Москвы / Д. И. Орехов, Ю. П. Козлов // Вестник РУДН. – 2010. – № 4. – С. 23–28.
7. Пиняскина, Е. В. Изучение параметров фотосинтетической активности растений в зависимости от вертикальной поясности / Е. В. Пиняскина, А.Т. Мамаев // Известия Самарского научного центра РАН. – 2014. – № 1 (3). – С. 788–791.

Наибольшее количество недостоверных различий изученных параметров наблюдалось через одни сутки эксперимента и было характерно для скорости электронного транспорта  $ETR (II)$  и эффективного квантового выхода  $Y (II)$ . Сравнительная оценка параметров флуоресценции при обработке бензолом и о-ксилолом в отдельности и совместно показала, что значения потенциального квантового выхода  $\frac{F_v}{F_m}$  и нефотохимического

тушения флуоресценции  $qN$  при обработке листовых пластинок смесью соединений снижались. По отношению к другим параметрам флуориметрии (эффективный квантовый выход  $Y (II)$ , скорость транспорта электронов  $ETR (II)$ , фотохимическое тушение флуоресценции  $qP$  и количество открытых реакционных центров  $qL$ ) наблюдалось увеличение значений при воздействии смеси бензола и о-ксилола.

#### REFERENCES

1. Fateyeva, N. L. Distantcionnaya diagnostika sostoyaniya rasteniy na osnove metoda lazerno-indutsirovannoy fluorestsentsii: avtoref. dis. ... kand. f.-m. nauk: 01.04.05 / N. L. Fateyeva; In-t optiki atmosfery im. V. Ye. Zuyeva, Sibir. otd-niye RAN. – Novosibirsk, 2007. – 19 s.
2. Fluorestsentsiya khlorofilla rasteniy kak pokazatel ekologicheskogo stressa: teoreticheskiye osnovy primeneniya metoda / V. S. Lysenko [i dr.] // Fundamentalnyye issledovaniya. – 2013. – № 4. – S. 112–120.
3. Sergeychik, S. A. Vliyanie formaldegida (NSNO) na fluorestsentsiyu khlorofilla, sodержaniye fotosinteticheskikh pigmentov, belkov i aktivnost peroksidazy drevesnykh rasteniy / S. A. Sergeychik // Ekologicheskij vestnik. – 2012. – №1. – S. 16–24.
4. Izucheniye parametrov fluorestsentsii khlorofilla drevesnykh rasteniy v usloviyakh razlichnoy transportnoy nagruzki / M. Yu. Aliyeva [i dr.] // Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra RAN. – 2014. – № 1 (3). – S. 701–704.
5. Issledovaniye fotosinteticheskoy aktivnosti rasteniy v zavisimosti ot vysotnogo gradiyenta / Ye. V. Pinyaskina [i dr.] // Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra RAN. – 2013. – № 3 (2). – S. 762–764.
6. Orekhov, D. I. Izucheniye parametrov fluorestsentsii khlorofilla v listyakh drevesnykh rasteniy, rastushchikh v usloviyakh g. Moskvy / D. I. Orekhov, YU. P. Kozlov // Vestnik RUDN. – 2010. – № 4. – S. 23–28.
7. Pinyaskina, Ye. V. Izucheniye parametrov fotosinteticheskoy aktivnosti rasteniy v zavisimosti ot vertikalnoy poyasnosti / Ye. V. Pinyaskina, A.T. Mamayev // Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra RAN. – 2014. – № 1 (3). – S. 788–791.

8. Ланкин, А. В. Механизмы токсического действия полициклических ароматических углеводородов на фотосинтетический аппарат: автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.01.05 / А. В. Ланкин; ин-т физиологии растений им. К. А. Тимирязева РАН. – Москва, 2016. – 22 с.
9. 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.
10. Krause, G. N. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. Ann. Rev. / G. N. Krause, E. Wels // Plant Physiol. Plant Mol. Biol. – 1991. – V. 42. – P. 313–349.
11. Rochacek, K. Technique of the modulated chlorophyll fluorescence: basic concepts, useful parameters and some application / K. Rochacek, M. Bartak // Photosynthetica. – 1999. – V. 37. – P. 339–363.
12. Korneev, D. Ju. Informacionnie vozmozhnosti metoda indukcii fluorescencii (Information capabilities of the fluorescence induction method) / Korneev, D. Ju. – Kiev : «Albatros», 2002. – 188 p.
8. Lankin, A. V. Mekhanizmy toksicheskogo deystviya politsiklicheskikh aromaticheskikh uglevodorodov na fotosinteticheskiy apparat: avtoref. dis. ... kand. biol. nauk : 03.01.05 / A.V. Lankin; in-t fiziologii rasteniy im. K. A. Timiryazeva RAN. – Moskva, 2016. – 22 s.
9. Postanovleniye Ministerstva zdravookhraneniya Respubliki Belarus “Ob utverzhenii i vvedenii v deystviye normativov predelno dopustimyykh kontsentratsiy zagryaznyayushchikh veshchestv v atmosfernom vozdukhke i oriyentirovochno bezopasnykh urovnay vozdeystviya zagryaznyayushchikh veshchestv v atmosfernom vozdukhke naseleennykh punktov i mest massovogo otdykha naseleniya” ot 8.11.2016 № 113.
10. Krause, G. N. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. Ann. Rev. / G. N. Krause, E. Wels // Plant Physiol. Plant Mol. Biol. – 1991. – V. 42. – P. 313–349.
11. Rochacek, K. Technique of the modulated chlorophyll fluorescence: basic concepts, useful parameters and some application / K. Rochacek, M. Bartak // Photosynthetica. – 1999. – V. 37. – P. 339–363.
12. Korneev, D. Ju. Informacionnie vozmozhnosti metoda indukcii fluorescencii (Information capabilities of the fluorescence induction method) / Korneev, D. Ju. – Kiev : “Albatros”, 2002. – 188 p.

РЕПОЗИТОРІУМ