

ЭКОЛОГИЯ

УДК 582.263

ВЛИЯНИЕ ПИРОКАТЕХИНА НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КУЛЬТУРЫ ВОДОРОСЛЕЙ

А.Г. Недосекин, К.П. Хазанова, Л.Б. Братковская, С.Е. Плеханов

(кафедра гидробиологии; e-mail: N-biolog@yandex.ru; plekhanovse@yandex.ru)

Уменьшение интенсивности замедленной флуоресценции хлорофилла и подавление роста численности экспериментальной популяции *Scenedesmus quadricauda* под воздействием пирокатехина свидетельствует о снижении эффективности световых реакций фотосинтеза, что определяет ухудшение производительных свойств водорослей.

Ключевые слова: микроводоросли, пирокатехин, фотосинтетическая активность.

Фенольные соединения содержатся в сточных водах многих промышленных предприятий, являются важными компонентами естественного круговорота органических веществ и в то же время — одни из наиболее вредных и распространенных токсических агентов, опасных для фитопланктона — основы функционирования водных экосистем. Возникает необходимость исследования действия этого вида загрязнений на функциональные показатели фитопланктона. Постоянный рост требований к нормированию загрязняющих веществ обуславливает поиск высокочувствительных откликов биосистем на загрязнения на клеточном и субклеточном уровнях, а также необходимость определения механизмов их действия [1, 2].

Настоящая работа восполняет недостаток сведений о действии пирокатехина на функциональное состояние развивающейся культуры хлорококковой водоросли *Scenedesmus quadricauda* по ростовым и фотосинтетическим характеристикам, связанным с эффективностью первичных реакций фотосинтеза на уровне фотосистемы 2.

Материалы и методы

В опытах использовали аксеничные накопительные культуры водорослей *Scenedesmus quadricauda* Breb. DMMSU S-2 из коллекции кафедры гидробиологии МГУ имени М.В. Ломоносова. Их культивирование проводили на среде Бенеке стандартными методами, учет клеток — прямым счетом в камере Горяева.

Пирокатехин вносили в экспериментальные соуды в виде водных растворов. Его количественное определение в суспензии проводили спектрофотометрическим методом [3]. Концентрации пирокатехина (1,1 и 55 мг/л) подбирали в предварительных опытах так, чтобы их действие было значимым, но не приводило к гибели культуры.

Скорость фотоиндуцированного выделения кислорода определяли с использованием мембранныго электрода закрытого типа [4] в терmostатированной ячейке объемом 1 мл.

Интенсивность замедленной флуоресценции в суспензии водорослей измеряли с помощью цилиндрического фосфороскопа со временем между возбуждением и регистрацией свечения 1,2 мс [5, 6].

Результаты

Пирокатехин (ортодигидроксибензол) наряду с гидрохиноном и резорцином является типичным фенольным соединением загрязненных сточных вод. Он отличается химической лабильностью и способностью к автоокислению или окислению с участием растительных оксидаз, входя, таким образом, в схему транформации фенольных соединений: бензол—фенол—пирокатехин—*o*-бензохинон—продукты окислительной конденсации [3].

Анализ численности клеток водоросли *S. quadricauda* в присутствии пирокатехина (рис. 1) показал наличие фазности токсического действия. Фаза угнетения роста экспериментальной популяции сменилась фазой восстановления или даже стимуляции. Действие пирокатехина особенно эффективно в течение 2–3 сут, увеличение концентрации до 55 мг/л приводит к удлинению лагфазы и подавлению роста численности в течение всего эксперимента.

Этапы развития токсического эффекта соответствуют процессу дефеноляции культуральной среды. Убыль пирокатехина из суспензии клеток (рис. 1) можно объяснить автоокислением и биохимической деструкцией, обусловленной активностью фенолоксидаз, пероксидаз и, возможно, микросомальной активностью [3, 7].

Скорость фотоиндуцированного выделения кислорода отражает скорость электронного транспорта

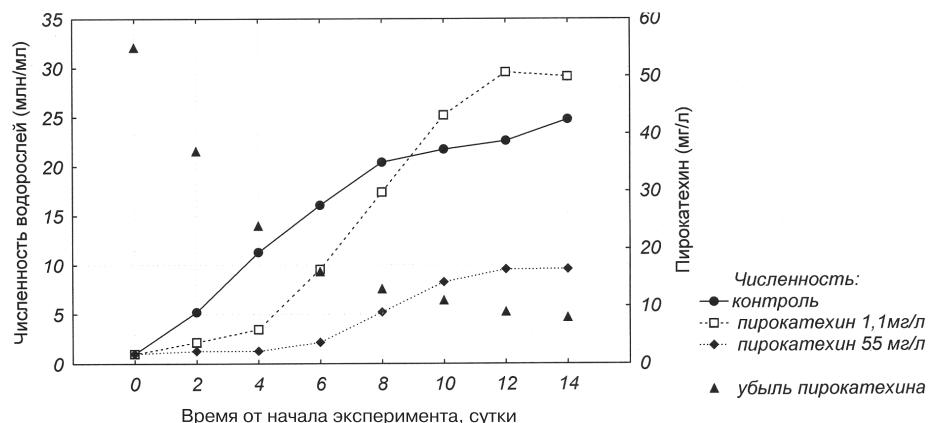


Рис. 1. Развитие культуры *S. quadricauda* и убыль пирокатехина в культуральной среде

всей электрон-транспортной цепи от H_2O до CO_2 . Она зависит как от световых, так и от темновых реакций фотосинтеза.

При действии пирокатехина в течение первых 2–3 сут обнаружена стимуляция скорости выделения кислорода (рис. 2). Возможно, этот эффект обусловлен акцепцией электронов пирокатехином или

хинонными продуктами его окисления из электрон-транспортной цепи, очевидно, на уровне фотосистемы 2. Нарушения электрон-транспортных реакций на уровне акцепторов Q_A и Q_B сопровождаются стимуляцией выделения кислорода, что установлено для хинонных аналогов сложных фенольных соединений [8]. Поэтому такой эффект, вероятно, может вызывать пирокатехин, быстро окисляющийся при контакте с водорослями до *o*-бензохинона под действием фенолоксидаз, локализованных в цитоплазме [9].

Кроме того, ранее показано, что фенольные соединения с *o*-оксигруппами являются реакционноспособными интермедиатами и могут акцептировать электроны из электрон-транспортной цепи после фотосистемы 2. Донорами электронов для них может служить восстановленный цитохром с [10]. Приведенные данные указывают на нарушение пирокатехином функционирования электрон-транспортной цепи и фотовосстановления NAD^+ .

Способность соединений фенольного ряда к разобщению окислительного фосфорилирования обусловила их использование в качестве гербицидов — ингибитирующих разобщителей, способных в низких концентрациях действовать как разобщители, а в высоких — как ингибиторы фотосинтетического электронного транспорта [11, 12].

В наших опытах более высокая по сравнению с контролем скорость выделения кислорода сохранялась в присутствии пирокатехина до 9–10 сут опыта, а затем снижалась до уровня ниже контрольного, что в целом соответствует его элиминации из среды.

С активностью фотосистемы 2 тесно связана миллисекундная замедленная флуоресценция хлорофилла, интенсивность которой отражает интактность реакционных центров фотосистемы 2. Интенсивность стационарного уровня замедленной флуоресценции успешно используется в настоящее время для целей биотестирования и диагностики состояния фотосинтетического аппарата клеток микроводорослей при действии загрязнений [6, 15].

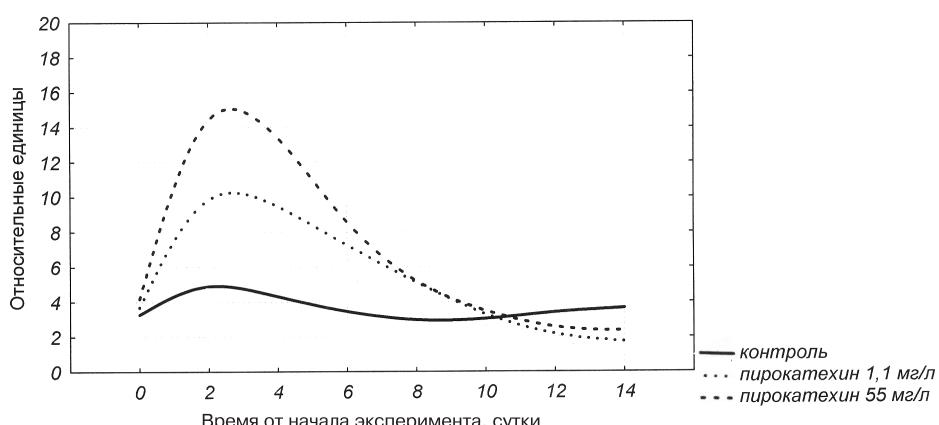


Рис. 2. Влияние пирокатехина на скорость фотоиндукционного выделения кислорода *S. quadricauda* в пересчете на 1 млн клеток (сглаживание способом взвешенных наименьших квадратов)

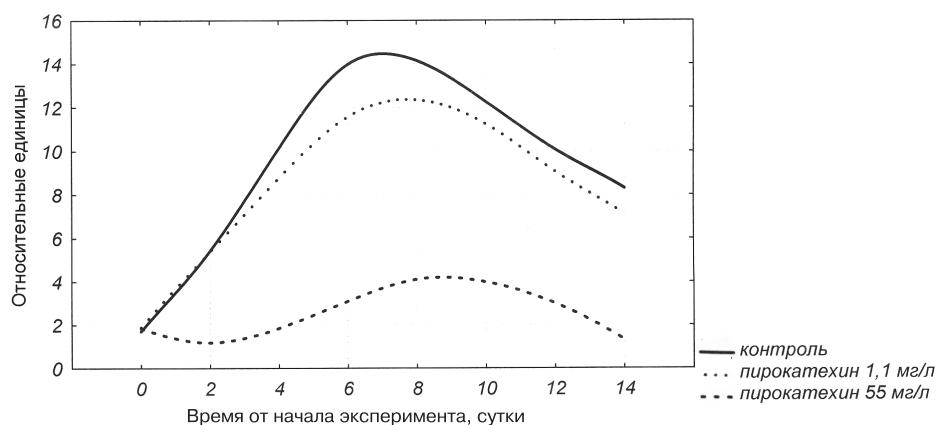


Рис. 3. Интенсивность замедленной флуоресценции хлорофилла в пересчете на 1 млн клеток при росте культуры в присутствии пирокатехина (сглаживание способом взвешенных наименьших квадратов)

Добавление в культуральную среду *S. quadricauda* пирокатехина приводило к снижению интенсивности замедленной флуоресценции клеток водорослей (рис. 3).

Снижение активности фотосистемы 2, которое определяется подавлением скорости электронного транспорта и энергизации фотосинтетической мембранны, соответствует величине добавок токсиканта. Это указывает на ухудшение состояния фотосинтетического аппарата клеток, которое ведет к снижению продукционного потенциала водоросли.

Замедленная флуоресценция хлорофилла сложным образом зависит от скорости электронного транспорта и энергизации мембран тилакоидов. Это затрудняет однозначную интерпретацию результатов эксперимента, но позволяет определять интактность фотосинтетического аппарата клеток водорослей. Учитывая стимуляцию скорости выделения кислорода при действии пирокатехина по сравнению с контролем, можно полагать, что снижение интен-

сивности замедленной флуоресценции обусловлено снижением степени энергизации мембран тилакоидов, а после 10 сут и подавлением электронного транспорта. В этом и выражается нарушение интактности фотосинтетического аппарата клеток, которое ведет к снижению производственных возможностей водоросли.

Из проведенных опытов следует, что действие пирокатехина проявляется сразу после его добавления в культуральную среду, что отражается на изменении скорости фотоиндуцированного выделения кислорода и интенсивности стационарного уровня замедленной флуоресценции хлорофилла.

Можно полагать, что в использованных нами концентрациях пирокатехин действует в 1–10-е сут развития культуры *S. quadricauda*, подавляя энергию фотосинтетических мембран, что приводит к нарушению фотофосфорилирования, снижению эффективности фотосинтеза, подавлению развития водорослей.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Yen J.N., Lin K.H., Wang Y.S. Acute lethal toxicity of environmental pollutants to aquatic organisms // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2002. Vol. 52. N 2. P. 113–116.
2. Huang G.L., Mao Y., Headley J.V., Sun H.V. Temporal changes in the toxicity of pentachlorophenol to Chlorella pyrenoidosa algae // Environ. Sci. Health. Biol. 2003. Vol. 38. N 5. P. 551–559.
3. Стом Д.И. Фитотоксичность и механизм детоксикации фенолов водными растениями: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Киев, 1982. 48 с.
4. Коваленко Е.А., Березовский В.А., Эпштейн И.М. Полярографическое определение кислорода в организме. М.: Медицина, 1975. 231 с.
5. Веселовский В.А., Веселова Т.В. Люминесценция растений. Теоретические и практические аспекты. М.: Наука, 1990. 200 с.
6. Маторин Д.Н., Осипов В.А., Венедиктов П.С., Рубин А.Б. Замедленная флуоресценция растений и водорослей: теоретические и практические аспекты. М.: Альтекс, 2011. 202 с.
7. Новиков К.Н. Роль активных форм кислорода в биологических системах при воздействии факторов окружающей среды: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М., 2004. 45 с.
8. Vermaas W.F.J., Arntzen C.J. The synthetic quinines influencing herbicide binding and photosystem II electron transport. The effects of triazine-resistance on quinine binding properties in thylakoid membranes // Biochim. Biophys. Acta. 1983. Vol. 725. P. 483–491.
9. Стом Д.И., Бейм А.М. Действие фенолов на некоторые виды водорослей // Гидробиол. журн. 1976. Т. 12. № 6. С. 53–57.
10. Красновский А.А., Михайлова Е.С. Восстановление цитохрома с в присутствии хинонов; действие света // Докл. АН СССР. 1973. Т. 212. № 1. С. 237–239.
11. Федтке К. Биохимия и физиология действия гербицидов. М.: Агропромиздат, 1985. 223 с.
12. Holt J.S., Powles S.B., Holtum J.A.M. Mechanisms and agronomic aspects of herbicide resistance // Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 1993. Vol. 44. P. 203–229.
15. Brack W., Frank H. Chlorophyll a fluorescence: a tool for the investigation of toxic effects in the photosynthetic apparatus // Ecotoxicology and Environmental Safety. 1998. Vol. 40. N 1–2. P. 34–41.

Поступила в редакцию
24.05.12

INFLUENCE OF PYROCATECHOL ON CHARACTERISTICS OF PHOTOSYNTHESIS IN ALGAE CULTURE

A.G. Nedosekin, K.P. Khazanova, L.B. Bratkovskaya, S.E. Plekhanov

Reduced intensity of delayed fluorescence of chlorophyll and suppressed growth recorded in experimental population of *Scenedesmus quadricauda* under influence of pirocatechol demonstrate reduction in efficiency of light reactions of photosynthesis, which, in turn, determines deterioration of algae productivity.

Key words: microalgae, pirocatechol, activity of photosynthesis.

Сведения об авторах

Недосекин Андрей Георгиевич — канд. биол. наук, доц., вед. науч. сотр. кафедры гидробиологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-433-37-83; e-mail: N-biolog@yandex.ru

Хазанова Ксения Петровна — аспирантка, кафедра гидробиологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-13-38; e-mail: mgu-gidro@yandex.ru

Братковская Любовь Борисовна — канд. биол. наук, вед. науч. сотр. кафедры гидробиологии биологического факультета МГУ. Тел.: +7-916-272-01-86; e-mail: Profkom-bio@mail.ru

Плеханов Сергей Елисеевич — докт. биол. наук, проф., вед. науч. сотр. кафедры гидробиологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-499-36-55; +7-916-177-61-99; e-mail: plekhanovse@yandex.ru