

## ТОКСИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ ТЕРБИЯ НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ФОТОСИСТЕМЫ 2 ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

А.В. Локтюшкин, Е.Р. Ловягина, Б.К. Семин

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова», Москва, Россия, [Elena.Lovyagina@gmail.com](mailto:Elena.Lovyagina@gmail.com)

**Аннотация.** Исследовано влияние ионов  $Tb^{3+}$  на функциональную активность частиц фотосистемы 2 *Spinacia oleracea* L. Показано, что  $Tb^{3+}$  приводит к снижению скорости выделения кислорода и скорости восстановления акцептора электронов фотосистемы 2 феррицианида калия на свету. Максимальное снижение скорости электронного транспорта от воды к акцептору (примерно на 80%) наблюдалось при концентрации ионов  $Tb^{3+}$  2 мМ. Концентрации половинного ингибирования для выделения кислорода и восстановления акцептора составили 249 мкМ и 269 мкМ, соответственно. Снижение активности может быть связано с взаимодействием  $Tb^{3+}$  с донорной стороной фотосистемы 2.

**Ключевые слова:** фотосистема 2, кислород-выделяющий комплекс, транспорт электронов, тербий.

**DOI:** 10.31255/978-5-94797-319-8-475-478

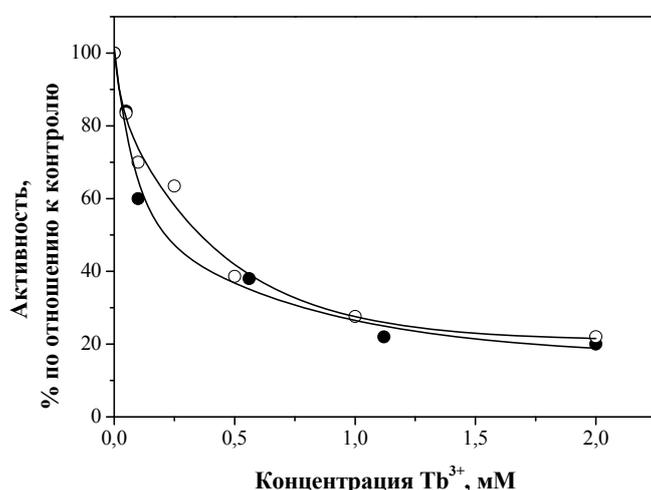
**Введение.** Тербий (Tb) – лантаноид, который наряду со скандием и иттрием относится к группе редкоземельных элементов (РЗЭ). Благодаря своим особым физико-химическим свойствам РЗЭ широко применяются в промышленности. Относительно низкая токсичность для человека позволила использовать некоторые РЗЭ как контрастные вещества для медицинской визуализации. Ионы РЗЭ обладают сильной люминесценцией в видимом диапазоне, что оказалось важным не только для создания высокотехнологичных люминесцентных материалов, но и для получения нанозондов для изучения биологических систем на молекулярном и клеточном уровне. Интересно, что в 70-е годы прошлого века некоторые РЗЭ стали применяться в сельском хозяйстве. Было установлено, что использование удобрений, содержащих соединения РЗЭ, позволяет добиться увеличения продуктивности некоторых сельскохозяйственных культур на 5–15% [Hu et al., 2004].

Несмотря на название группы, содержание РЗЭ в земной коре составляет примерно 0,015%, что сравнимо с содержанием таких микроэлементов как медь и цинк. Кроме того, в результате деятельности человека наблюдается накопление РЗЭ в окружающей среде в некоторых областях Земли. Уже сейчас РЗЭ относят к группе основных загрязнителей окружающей среды в некоторых странах Азии, например в Китае [Wang et al., 2009].

Установлено, что в высоких концентрациях РЗЭ угнетают рост растений [Diatloff et al., 1995]. Фотосинтез – ключевой биохимический процесс в растительном организме, обеспечивающий его рост и развитие. В некоторых работах в основном китайских исследователей изучалось влияние ионов РЗЭ на фотосинтетический аппарат растений [Wang et al., 2009; Zeng et al., 2000; Fashui, 2004]. Однако влияние ионов  $Tb^{3+}$  на выделенные препараты пигмент-белковых комплексов фотосистем высших растений ранее детально не исследовалось. В настоящей работе показано, что ионы  $Tb^{3+}$  взаимодействуют с фотосистемой 2 (ФС2) и ингибируют транспорт электронов от воды на искусственную акцепторную пару 2,6-дихлоро-*n*-бензохинон (ДХБХ) – феррицианид калия (ФЦ).

**Материалы и методы.** Частицы ФС2 (ВВУ-типа) получали из рыночного шпината *Spinacia oleracea* L. путем солиubilизации тилакоидных мембран детергентом

Тритон X-100 [Ghanotakis et al., 1984a]. Измерения проводили в буфере, содержащем 400 мМ сахарозу, 15 мМ NaCl, 50 мМ 2-(*N*-морфолино)этансульфоновую кислоту, pH 6,5. Функциональную активность частиц ФС2 оценивали в присутствии промежуточного акцептора электронов ДХБХ (200 мкМ) по скорости восстановления конечного акцептора ФЦ (2 мМ) и по скорости выделения кислорода при фотоокислении воды (также в присутствии 2 мМ ФЦ). Кинетику фотоиндуцированного восстановления ФЦ регистрировали фотометрически на спектрофотометре Spcorder UV-VIS (Германия) при длине волны 420 нм ( $\epsilon_{420}(\text{ФЦ})=1020 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ). Кинетику фотоиндуцированного выделения кислорода регистрировали амперометрически с помощью закрытого электрода Кларка при температуре 25 °С. Суммарную концентрацию хлорофиллов *a* и *b* определяли согласно [Pogra et al., 1989]; при измерении функциональной активности частиц ФС2 она составляла 10 мкг/мл. Источниками возбуждающего света были светодиоды L XK2-PD12\_R00 (красный, при измерении фотовосстановления ФЦ) и CREE XBDR0Y (синий, при измерении выделения кислорода). Tb<sup>3+</sup> добавляли к частицам ФС2 в виде раствора сульфата металла в буфере непосредственно перед измерением функциональной активности.



**Рис. 1.** Влияние Tb<sup>3+</sup> на скорости восстановления ФЦ (-○-) и выделения кислорода (-●-) частицами ФС2. Условия измерений описаны в «Материалах и методах». 100% соответствуют скорости выделения O<sub>2</sub> 430 мкмоль / мг хлорофилла в час и скорости восстановления ФЦ 1700 мкмоль / мг хлорофилла в час.

**Результаты и обсуждение.** При включении возбуждающего света наблюдалось линейное снижение оптической плотности при 420 нм (образующийся при фотоиндуцированном восстановлении ФЦ ион ферроцианида [Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>4-</sup> практически не поглощает свет при данной длине волны) и линейное нарастание тока электрода Кларка в течение как минимум 30 с как в отсутствие Tb<sup>3+</sup>, так и в его присутствии в использованных концентрациях (50 мкМ – 2 мМ). Активность контрольных препаратов ФС2, рассчитанная по скорости восстановления ФЦ, составила 1706 мкмоль ФЦ/(мг хлорофилла · ч). Активность, рассчитанная по скорости выделения кислорода, составила 432 мкмоль O<sub>2</sub>/(мг хлорофилла · ч). Таким образом, соотношение активностей (≈4:1) соответствовала стехиометрии процесса  $4[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 4[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-} + 4\text{H}^+ + \text{O}_2$ . В присутствии Tb<sup>3+</sup> снижалась как скорость восстановления ФЦ, так и скорость выделения O<sub>2</sub> на свету (рисунок). При максимальной использованной концентрации Tb 2 мМ активность снижалась примерно на 80% по сравнению с контролем. Концентрации половинного ингибирования выделения кислорода и восстановления акцептора были примерно равны и составили 249 мкМ и 269 мкМ, соответственно. Полученные нами результаты в целом согласуются с данными, приведенными в работе [Wang et al., 2009]. Авторы обнаружили, что обработка Tb<sup>3+</sup> приводит к значительному снижению суммарной

скорости фотосинтеза у растений хрена *Armoracia rusticana* (Lam.) Gaerth. Снижение скорости электронного транспорта, вызванное действием на фотосинтетический аппарат других ионов РЗЭ, также было показано ранее. В частности, было установлено, что обработка хлоридом лантана приводит к снижению скорости выделения кислорода и восстановления искусственного акцептора электронов 2,6-дихлорофенолиндофенола хлоропластами огурца *Cucumis satives* L. [Zeng et al., 2000].

Следует отметить, что интерес к изучению действия РЗЭ на биологические системы связан также с тем, что эти металлы способны специфически замещать ионы  $\text{Ca}^{2+}$  в их центрах связывания в белках. При этом в некоторых случаях реализуется функциональный изоморфизм РЗЭ и кальция, когда замещение не приводит к потере функциональной активности. В других случаях наблюдается «антиизоморфизм», при котором ион РЗЭ блокирует функцию  $\text{Ca}^{2+}$  [Золин, Коренева, 1980]. Известно, что водоокисляющий комплекс ФС2 содержит ион  $\text{Ca}^{2+}$ , удаление которого приводит к ингибированию кислород-выделяющей функции [Ghanotakis et al., 1984b; Semin et al., 2008]. Можно предположить, что ингибирование активности ФС2 ионами  $\text{Tb}^{3+}$  связано с нефункциональным замещением иона  $\text{Ca}^{2+}$  в водоокисляющем комплексе.

#### Литература

Золин В.Ф., Коренева Л.Г. Редкоземельный зонд в химии и биологии. – Москва: Наука, 1980. – 350 с.

Diatloff E., Smith F.W., Asher C.J. Rare earth elements and plant growth: I. Effects of lanthanum and cerium on root elongation of corn and mungbean // J. Plant Nutr. – 1995. – V. 18. – P. 1963–1976.

Fashui H. Effect of  $\text{Eu}^{3+}$  on characterization of photosystem II particles from spinach by spectroscopy // Biol. Trace Elem. Res. – 2004. – V. 97. – P. 279–288.

Ghanotakis D.F., Babcock G.T., Yocum C.F. Calcium reconstitutes high rates of oxygen evolution in polypeptide depleted photosystem II preparations // FEBS Lett. – 1984a. – V. 167. – P. 127–130.

Ghanotakis D.F., Babcock G.T., Yocum C.F. Water-soluble 17 and 23 kDa polypeptides restore oxygen evolution activity by creating a high-affinity binding site for  $\text{Ca}^{2+}$  the oxidizing side of photosystem II // FEBS Lett. – 1984b. – V. 170. – P. 169–173.

Hu Z., Richter H., Sparovek G., Schnug E. Physiological and biochemical effects of rare earth elements on plants and their agricultural significance: A Review // J. Plant Nutr. – 2004. – V. 27. – P. 183–220.

Porra R.J., Thompson W.A., Kriedemann P.E. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy // Biochim. et Biophys. Acta – 1989. – V. 975. – P. 384–394.

Semin B.K., Davletshina L.N., Ivanov I.I., Rubin A.B., Seibert M. Decoupling of the processes of molecular oxygen synthesis and electron transport in  $\text{Ca}^{2+}$ -depleted PSII membranes // Photosynth. Res. – 2008. – V. 98. – P. 235–249.

Wang L., Zhou Q., Huang X. Photosynthetic responses to heavy metal terbium stress in horseradish leaves // Chemosphere. – 2009. – V. 77. – P. 1019–1025.

Zeng F., An, Y., Ren L., Deng R., Zhang M. Effects of lanthanum and calcium on photoelectron transport activity and the related protein complexes in chloroplast of cucumber leaves // Biol. Trace Elem. Res. – 2000. – V. 77. – P. 83–91.

## TOXIC EFFECT OF TERBIUM ON THE HIGH PLANT PHOTOSYSTEM II FUNCTION

A.V. Loktyushkin, E.R. Lovyagina, B.K. Semin

Federal State Budget Educational Institution of Higher Education M.V.Lomonosov  
Moscow State University, Moscow, Russia, *Elena.Lovyagina@gmail.com*

**Abstract.** Effect of  $Tb^{3+}$  ions on the activity of PSII membranes prepared from *Spinacia oleracea* L. leafs was investigated. It was found that  $Tb^{3+}$  cations inhibit the reactions of  $O_2$  evolution and the reduction of ferricyanide electron acceptor under illumination. Maximal decrease of the rate electron transport from water to electron acceptor (about 80%) was observed at  $Tb^{3+}$  concentration 2 mM. Concentrations of half inhibition of oxygen evolution and exogenous acceptor reduction were 249  $\mu$ M and 269  $\mu$ M respectively. The decrease of PSII activity resulted due to the terbium addition possibly can be determined by interaction of  $Tb^{3+}$  with donor side of PSII membranes.

**Keywords:** *photosystem II, oxygen-evolving complex, electron transport, terbium*