

На правах рукописи



Аюшинова Любовь Сергеевна

**ОТВЕТНЫЕ РЕАКЦИИ РАСТЕНИЙ НА ДЕЙСТВИЕ СПЕЦИФИЧЕСКИХ
ПОЛЛЮТАНТОВ (НА ПРИМЕРЕ МЕТИЛФОСФОНОВОЙ КИСЛОТЫ,
ПИРОФОСФАТА НАТРИЯ И ФТОРИДА НАТРИЯ)**

03.02.08 – Экология (биология)

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Сыктывкар 2015

Работа выполнена на кафедре экологии ФГБОУ ВПО Вятского государственного гуманитарного университета.

Научный руководитель: **Огородникова Светлана Юрьевна**
кандидат биологических наук, старший научный сотрудник ФГБУН Института биологии Коми НЦ УрО РАН, доцент кафедры экологии ФГБОУ ВПО Вятского государственного гуманитарного университета, г. Киров

Официальные оппоненты: **Широких Ирина Геннадьевна**
доктор биологических наук, заведующая лабораторией биотехнологии растений и микроорганизмов ФГБНУ «НИИСХ Северо-Востока», г. Киров

Маслова Светлана Петровна
доктор биологических наук, доцент, старший научный сотрудник ФГБУН Института биологии Коми НЦ УрО РАН, г. Сыктывкар

Ведущая организация: ФГБОУ ВПО Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, кафедра ботаники и физиологии растений, г. Саранск

Защита состоится «13» мая 2015 г. в 13.00 часов на заседании диссертационного совета Д004.007.01 в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН по адресу: 167982, г. Сыктывкар, ГСП-2, ул. Коммунистическая, 28

e-mail: dissovet@ib.komisc.ru, сайт института: www.ib.komisc.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Коми научного центра Уральского отделения РАН по адресу: 167982, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 24.

Автореферат разослан «__» _____ 2015 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук

Алевтина Григорьевна Кудряшева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Проблема химического загрязнения окружающей среды имеет глобальный характер. Серьезную опасность для живых систем представляют специфические поллютанты, которые в отличие от общепромышленных загрязнителей, поступают в природные среды в меньшем количестве, но нередко являются более токсичными. Загрязнение окружающей среды специфическими поллютантами чаще всего носит локальный характер и актуально для тех регионов, где расположены производства – источники загрязнения.

Потенциальными источниками специфических поллютантов являются объекты по уничтожению химического оружия, один из которых расположен на территории Кировской области. В процессе его работы в окружающую среду могут поступать метилфосфоновая кислота (МФК), пирофосфат натрия (ПФН), фторид натрия (ФН) (Ашихмина, 2002). Кроме того, источником загрязнения ФН является крупное химическое предприятие региона – Кирово-Чепецкий химический комбинат (Уткин, 2006). Известно, что производные метилфосфонатов применяются в качестве пестицидов, например N-фосфометилглицин входит в состав препарата глифосат (Жемчужин, 1985; Федке, 1985); пирофосфаты применяют для смягчения воды, обогащения руд, в пищевой промышленности, электрохимии, входят в состав многокомпонентных моющих средств (Гончаров, Корнилов, 1974; Фосфор .., 1977); значительный вклад в поступление фторидов в окружающую среду вносят алюминиевые заводы (Танделов, 2012), предприятия по производству фосфорных удобрений (Алексеев, Гладушко, 1990), тепловые электростанции, работающие на угле с высоким содержанием фтора (Щербаков, 1991).

Изучаемые в данной работе вещества отличаются по химической природе: МФК – органическое соединение, ПФН и ФН – неорганические, они относятся к разным классам опасности (ФН – 2, МФК – 3, ПФН – 4). Все соединения хорошо растворимы в воде: рН водного раствора ПФН >7, а МФК и ФН < 7; обладают разной степенью устойчивости в окружающей среде (МФК сохраняется в почве десятилетиями, ПФН легко гидролизует с образованием фосфатов, а ФН существует в растворе в виде ионов) (Корбридж, 1982; Франке, 1973; Карапетьянц, Дракин, 1994; Химия, 2003; Фтор .., 1989).

Наиболее подвержены действию поллютантов растения, ведущие прикрепленный образ жизни. В ответ на действие неблагоприятных факторов, в первую очередь, происходят биохимические изменения, что служит хорошим индикатором физиологического статуса растений. В стрессовых условиях в растительных клетках в большем объеме генерируются активные формы кислорода (АФК), что сопровождается активацией антиоксидантной защиты растения. В ответ на действие стрессоров в клетках происходит накопление веществ с антиоксидантными свойствами (антоцианы, каротиноиды, аскорбиновая кислота и т.д.), активируются антиоксидантные ферменты (пероксидаза, каталаза, супероксиддисмутаза и др.). В случае если антиоксидантные системы не справляются со сверхпродукцией АФК, развивается окислительный стресс, что может привести к повреждениям клеток, нарушениям барьерных функций мембран, разрушению молекул пигментов, белков и т.д. (Лукаткин, 2002; Чиркова, 2002; Полесская, 2007). Показатели жизнедеятельности растений являются чувствительными индикаторами качества окружающей среды, ответные биохимические реакции могут быть использованы при проведении биологического мониторинга.

Из литературных источников известно о влиянии МФК, ПФН, ФН на показатели жизнедеятельности растений (Огородникова и др., 2004; Божков и др., 2009; Косицина, 2009; Смит, 1988; Пуляевская и др., 2011; Рудковская, 2009); на тест-объекты: инфузории *Paramecium caudatum* (Позолотина и др., 2006; Некрасова и др., 2012; Позолотина и др., 2007) и ракообразные *Daphnia magna* (Храбрых и др., 2006; Некрасова и др., 2012; Храбрых и др., 2007). Изучено действие МФК на почвенные водоросли и грибы (Кондакова и др., 2005), почвенные ферменты (Огородникова, 2004), млекопитающих (Савельева и др., 2002; Плотникова и др., 2010, 2011). Имеются сведения о токсичности

ФН для бактерий (тест-система «Эколюм») (Некрасова и др., 2012), рыб (Фтор ..., 1989). Изучены эффекты ПФН на водоросли *Chlorella vulgaris* (Позолотина и др., 2007); бактерии (тест-система «Эколюм») (Кондакова, 2006; Олькова, 2007).

Однако комплексных исследований ответных биохимических реакций растений на действие специфических поллютантов МФК, ПФН, ФН и их смесей не проводилось.

Цель работы: изучить влияние специфических поллютантов (метилфосфоновой кислоты, пирофосфата натрия и фторида натрия) на жизнедеятельность растений на примере ячменя сорта Новичок и одуванчика лекарственного.

Задачи исследования:

1. Изучить влияние специфических поллютантов и их смесей в градиенте концентраций на всхожесть и биохимические показатели семян, на рост проростков ячменя.
2. Выявить особенности ответных биохимических реакций растений на действие индивидуальных веществ (метилфосфоновой кислоты, пирофосфата натрия, фторида натрия) и совместное действие поллютантов, включающие разные способы обработки растений (внесение в субстрат и обработка надземной части).
3. Выявить биохимические показатели жизнедеятельности растений, наиболее чувствительные к действию метилфосфоновой кислоты, пирофосфата натрия и фторида натрия.
4. Исследовать закономерности биохимического отклика растений ячменя и одуванчика лекарственного на действие специфических поллютантов.

Положения, выносимые на защиту:

1. Наиболее чувствительными к действию МФК, ПФН, ФН и их смесям являются всхожесть семян и линейные показатели роста проростков ячменя.
2. Все изученные поллютанты независимо от длительности воздействия и способа обработки растений индуцируют развитие окислительного стресса, что проявляется в изменении биохимических показателей: интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ), активности пероксидаз, содержании пигментов и экзоосмосе электролитов. Изученные поллютанты оказывают системное действие на растения, изменения биохимических показателей происходят и в листьях и в корнях.
3. Совместное действие изученных поллютантов приводит к усилению токсических эффектов, что указывает на опасность для растений появления в окружающей среде одновременно фтор- и фосфорсодержащих специфических поллютантов.

Научная новизна работы. Впервые проведены комплексные модельные опыты по изучению влияния смесей МФК+ПФН, МФК+ФН на биохимические и морфологические показатели высших растений на примере ячменя сорта Новичок и одуванчика лекарственного. Доказано, что независимо от длительности воздействия и способа обработки растений токсиканты индуцируют развитие окислительного стресса, что проявляется в изменении биохимических показателей: интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ), активности пероксидаз, содержании пигментов и экзоосмосе электролитов. Определены наиболее чувствительные к действию изученных веществ показатели жизнедеятельности растений: интенсивность процессов ПОЛ, содержание антоцианов и пластидных пигментов. Установлено, что среди изученных поллютантов ФН наиболее опасен для растений. Его действие проявлялось в концентрациях на порядок ниже, чем в опытах с МФК и ПФН. В большей степени ФН вызывал биохимические изменения в листьях, остальные токсиканты – в корнях опытных растений. Под влиянием ПФН происходило накопление пластидных пигментов. МФК (0,01 моль/л) вызывала снижение интенсивности ПОЛ в растительных тканях, в то время как остальные токсиканты индуцировали активацию процессов ПОЛ.

Практическая значимость. Результаты диссертационного исследования внедрены в учебный процесс при чтении курсов лекций «Химия окружающей среды», «Методы

моделирования химических процессов в окружающей среде», «Экологический мониторинг» и «Экологически опасные факторы» при подготовке бакалавров и магистров в Вятском государственном гуманитарном университете. Показатели жизнедеятельности растений (содержание пластидных пигментов и антоцианов) включены в программу комплексного экологического мониторинга территории в районе расположения объекта уничтожения химического оружия «Марадыковский» в Кировской области.

Личный вклад автора. Автор принимала активное участие в разработке темы, планировании исследования, выполнении анализов, статистической обработке, интерпретации полученных результатов и подготовке публикаций.

Апробация работы. Основные результаты диссертационной работы были представлены на конференциях: «Инновационные методы и подходы в изучении естественной и антропогенной динамики окружающей среды» (Киров, 2009); «Науке нового века – знания молодых» (Киров, 2010, 2011); «Экология родного края проблемы и пути их решения» (Киров, 2010; 2011); «Экотоксикология 2010» (Тула, 2010); «Современные проблемы биомониторинга и биоиндикации» (Киров, 2010); VII Съезде Общества физиологов растений России «Физиология растений – фундаментальная основа экологии и инновационных биотехнологий» (Нижний Новгород, 2011); «Экология мегаполисов: фундаментальные основы и инновационные технологии» (Москва, 2011); «Актуальные проблемы биологии и экологии» (Сыктывкар, 2012); «Молодые ученые в решении актуальных проблем науки» (Владикавказ, 2012, 2013, 2014); II(X) Международной Ботанической конференции молодых ученых в Санкт-Петербурге (Санкт-Петербург, 2012); «Бизнес. Наука. Экология родного края проблемы и пути их решения» (Киров, 2013); Международной молодежной конференции «Современное естествознание и охрана окружающей среды» (Курган, 2013); «Актуальные проблемы региональной экологии и биодиагностика живых систем» (Киров, 2013), «Закономерности функционирования природных и антропогенно трансформированных экосистем» (Киров, 2014).

Публикации: по теме диссертации опубликовано 27 работ, в том числе – 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность темы, сформулированы цель, задачи, научная новизна и практическая значимость работы, приведены положения, выносимые на защиту, изложена структура диссертации.

Глава 1. Химическое загрязнение и растения (обзор литературы)

Приводится анализ работ по вопросам химического загрязнения окружающей среды специфическими поллютантами – метилфосфоновой кислотой, пирофосфатом натрия, фторидом натрия. Рассматривается влияние поллютантов на живые организмы. Освещены вопросы физиолого-биохимических ответных реакций растений на действие химического загрязнения окружающей среды. Обоснован выбор растений в качестве объекта исследований.

Глава 2. Объекты и методы исследования

В качестве объектов исследований использовали культурные и дикорастущие растения. Опыты проводили на растениях ячменя, который широко культивируется в сельском хозяйстве и включен в Госреестр по Волго-Вятскому региону. Главное достоинство сорта Новичок (*Hordeum vulgare* L.) – его устойчивость к ионам Al^{3+} на кислых почвах (Родина и др., 2007).

В полевых условиях опыты проводили на растениях одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* Wigg), который широко распространен по всей территории РФ и активно используется в экотоксикологических исследованиях (Савинов, 1998; Фролова, Таскаев, 2000; Позолотина и др., 2009, 2010; Воробьев и др., 2013).

Изучали влияние разных способов обработки специфическими поллютантами на жизнедеятельность растений.

Внесение поллютантов в субстрат

1. Действие на семена и рост проростков. Семена ячменя выдерживали в растворах МФК, ПФН, ФН, МФК+ПФН и МФК+ФН в градиенте концентраций (контроль – дистиллированная вода). Изучали влияние специфических поллютантов на активность пероксидаз в семенах при прорастании, жизнеспособность (оценивали по активности дегидрогеназ в семенах) и всхожесть семян, рост проростков.

2. Кратковременное действие. 14-дневные проростки ячменя, выращенные в водной культуре, выдерживали в течение 1 часа на растворах МФК, ПФН, ФН, МФК+ПФН и МФК+ФН в концентрациях (0,01 моль/л), в раствор погружали только корневую систему растений. Проводили оценку биохимических показателей растений (активность пероксидаз и интенсивность ПОЛ) в динамике через 1, 3, 5, 12, 24, 36, 48 ч. после начала опыта. Выход электролитов, накопление антоцианов и содержание пластидных пигментов определяли через 12, 24, 36 и 48 ч.

3. Хроническое действие. Ячмень выращивали в контейнерах с песком, который увлажняли растворами токсикантов МФК, ПФН, ФН, МФК+ПФН (концентрация действующего вещества 0,01 моль/л), МФК+ФН (0,01; 0,005 моль/л), контроль – дистиллированная вода. На 14 сутки опыта изучали биохимические показатели жизнедеятельности растений: активность пероксидаз, интенсивность ПОЛ, накопление каротиноидов и антоцианов, экзоосмос электролитов.

Обработка надземной части растений

4. Ячмень, выращенный в почвенном субстрате (окультуренная дерново-подзолистая почва), обрабатывали однократным опрыскиванием надземной части растворами токсикантов ПФН, ФН, МФК+ПФН (0,04 моль/л), МФК+ФН (0,004 моль/л) до полного смачивания листовой пластины растений. Изучение биохимических показателей проводили через 24 часа после обработки.

5. Надземную часть одуванчика лекарственного однократно опрыскивали растворами токсикантов ПФН (0,1 моль/л), ФН (0,04 моль/л) до полного смачивания листовой пластины. Ответные реакции растений на действие поллютантов изучали в течение 12 суток после обработки.

Оценку жизнеспособности семян проводили по методу, основанному на способности дегидрогеназ живых клеток восстанавливать бесцветный раствор 2,3,5-трифенилтетразол-хлорида в формазан (ГОСТ 12039-82); определение всхожести семян проводили по стандартной методике в чашках Петри в течение 7 дней, выполняли ростовой анализ и рассчитывали биомассу растений на 8-е сутки (ГОСТ 12038-84); активность пероксидаз оценивали по накоплению продуктов окисления гваякола (Методы биохимического ..., 1987); интенсивность ПОЛ определяли по накоплению в тканях продукта ПОЛ – малонового диальдегида (МДА) (Лукаткин, 2002); экстракцию и количественное определение антоцианов проводили по общепринятой методике (Муравьева, 1987); содержание фотосинтетических пигментов определяли в ацетоновой вытяжке (Шлык, 1971); выход электролитов из тканей корней растений в дистиллированную воду (соотношение навеска/вода – 150 мг/50 мл) за 3 часа определяли на кондуктометре INOLAB, затем рассчитывали процент выхода электролитов от полного выхода, который оценивали по электропроводности вытяжки после разрушения мембран кипячением (Коваль, 1974).

Полученные данные обрабатывали с использованием стандартных статистических методов (Лакин, 1973). Достоверность различий между средними значениями оценивали по t-критерию Стьюдента ($p \leq 0,05$). На рисунках и в таблицах приведены средние арифметические величины и стандартное отклонение.

Глава 3. Влияние фосфор- и фторсодержащих соединений на биохимические показатели семян при прорастании, всхожесть семян и рост проростков ячменя сорта Новичок

Выявлена статистически значимая зависимость доза-реакция по активности пероксидаз и жизнеспособности семян при прорастании в присутствии растворов МФК и МФК+ПФН (рис. 1). МФК усиливала токсический эффект ПФН при их совместном действии на семена, что проявлялось в снижении активности пероксидаз и жизнеспособности семян, которую определяли по активности дегидрогеназ. Между показателями активность пероксидаз и жизнеспособность семян в варианте с МФК и МФК+ПФН выявлена сильная корреляционная связь ($r = 0,99$ и $r = 0,92$ соответственно). В опытах с ПФН, ФН, МФК+ФН не выявлено зависимости между активностью оксидоредуктаз в семенах при прорастании и концентрацией вещества.

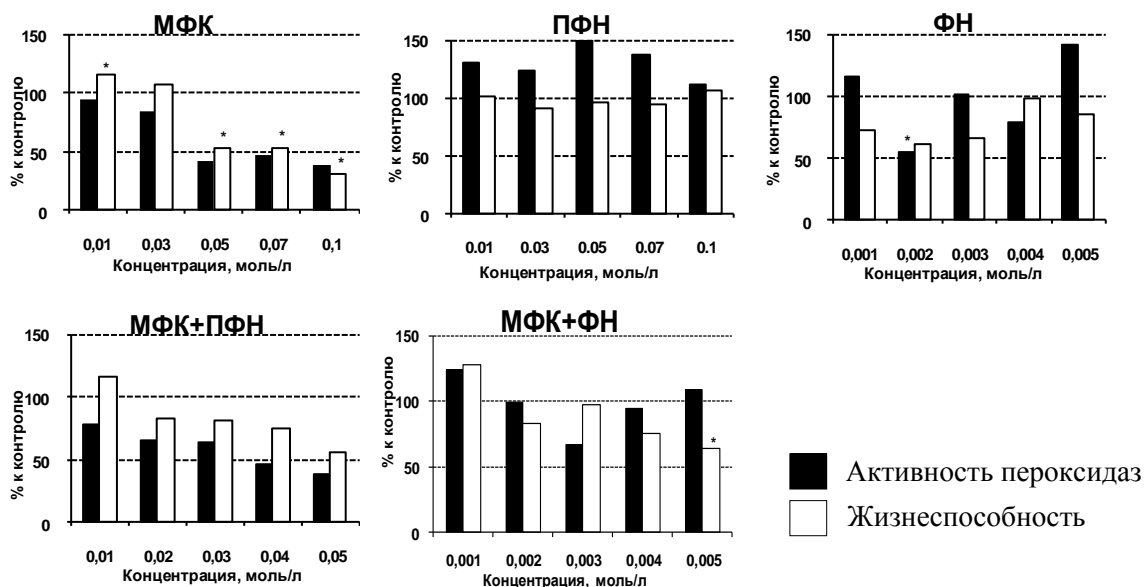
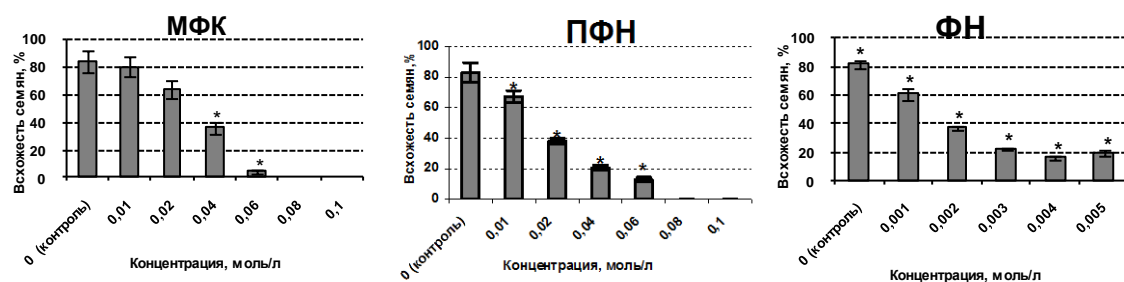


Рис. 1. Влияние специфических поллютантов на биохимические показатели семян ячменя при прорастании. *Здесь и далее различия между опытом и контролем достоверны при $p \leq 0,05$

Показатели всхожести семян и линейные показатели роста проростков ячменя были наиболее чувствительны к действию МФК, ПФН, ФН и их смесям (рис. 2, 3). Среди изученных веществ наибольшее ингибирование всхожести вызывал ФН, причем, достоверное снижение всхожести семян происходило в присутствии ФН в самой низкой из исследуемых концентраций (0,001 моль/л). При совместном действии МФК+ФН с увеличением концентрации происходило более значительное снижение всхожести семян, по сравнению с действием индивидуальных веществ. Гибель 50 % семян наблюдали в опытах с 0,04 моль/л МФК и 0,002 моль/л ФН, а при действии смеси МФК+ФН подобный эффект отмечали при более низких концентрациях действующих веществ (0,001 моль/л). В варианте с МФК+ПФН снижения всхожести семян в изучаемом диапазоне концентраций не выявлено, что, по-видимому, связано с оптимизацией pH среды при совместном присутствии фосфорсодержащих поллютантов.



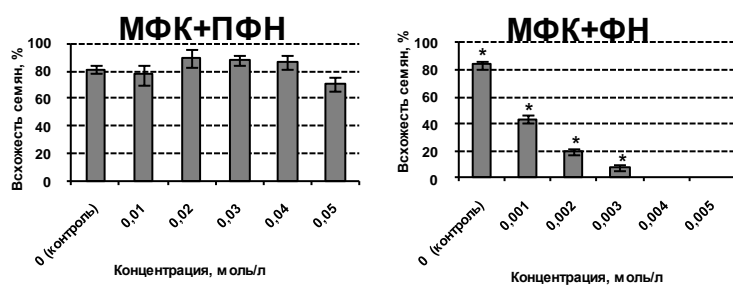


Рис. 2. Влияние специфических поллютантов на всхожесть семян ячменя

Чувствительным показателем на действие специфических поллютантов является линейный рост проростков. Влияние изучаемых веществ и их смесей на семена ячменя проявилось в подавлении ростовых процессов, которое усиливалось с ростом концентрации веществ (рис. 3). При совместном присутствии поллютантов MFK+PFN и MFK+FN происходило значительное ингибирование роста проростков ячменя. При действии токсикантов и их смесей более чувствительны были корни растений, по сравнению с надземными органами.

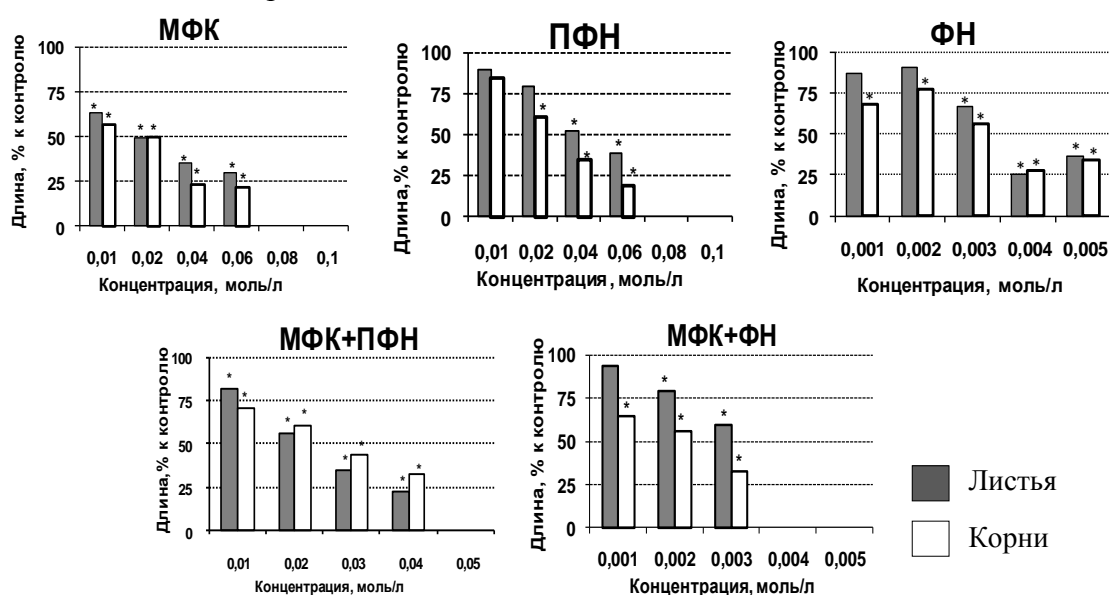


Рис. 3. Влияние специфических поллютантов на рост проростков ячменя

Таким образом, показатели всхожести семян и линейные показатели роста проростков наиболее чувствительны к действию изученных поллютантов и могут быть использованы для биотестирования природных сред. Угнетение показателей жизнедеятельности семян, биохимических показателей и показателей линейного роста растений происходит под действием FN в концентрациях на порядок ниже, чем при действии MFK и PFN. Полученные данные согласуются с классами опасности для данных веществ: FN – 2 (высокоопасные), MFK – 3 (умеренно опасные), PFN – 4 (малоопасные).

Глава 4. Ответные реакции растений ячменя на кратковременное действие фосфор- и фторсодержащих соединений

В лабораторных условиях моделировали кратковременное действие поллютантов, которое может происходить при аварийных разливах загрязняющих веществ в ходе функционирования промышленных объектов.

Установлено, что кратковременное действие фосфор- и фторсодержащих соединений приводит к накоплению АФК в растительных тканях и развитию окислительного стресса, что проявляется в активации пероксидаз, накоплении веществ с

антиоксидантными свойствами – антоцианов и каротиноидов и в интенсификации процессов ПОЛ.

Активность пероксидаз является очень чувствительным показателем, который меняется достаточно быстро во времени, поэтому наиболее информативно отслеживать его в динамике. Существенное возрастание активности пероксидаз в растительных клетках происходило в первые часы после инкубации растений на растворах токсикантов (рис. 4). Изменения активности пероксидаз отмечали и в листьях, и в корнях растений, что свидетельствует о системном действии токсикантов. Максимальная активация пероксидаз выявлена при инкубации опытных растений на растворе, содержащем одновременно МФК+ПФН, что свидетельствует об усилении токсического эффекта при совместном действии поллютантов. При действии токсикантов, кроме варианта МФК+ФН, более чувствительны были корни растений, что может быть обусловлено непосредственным контактом корней с токсикантом.

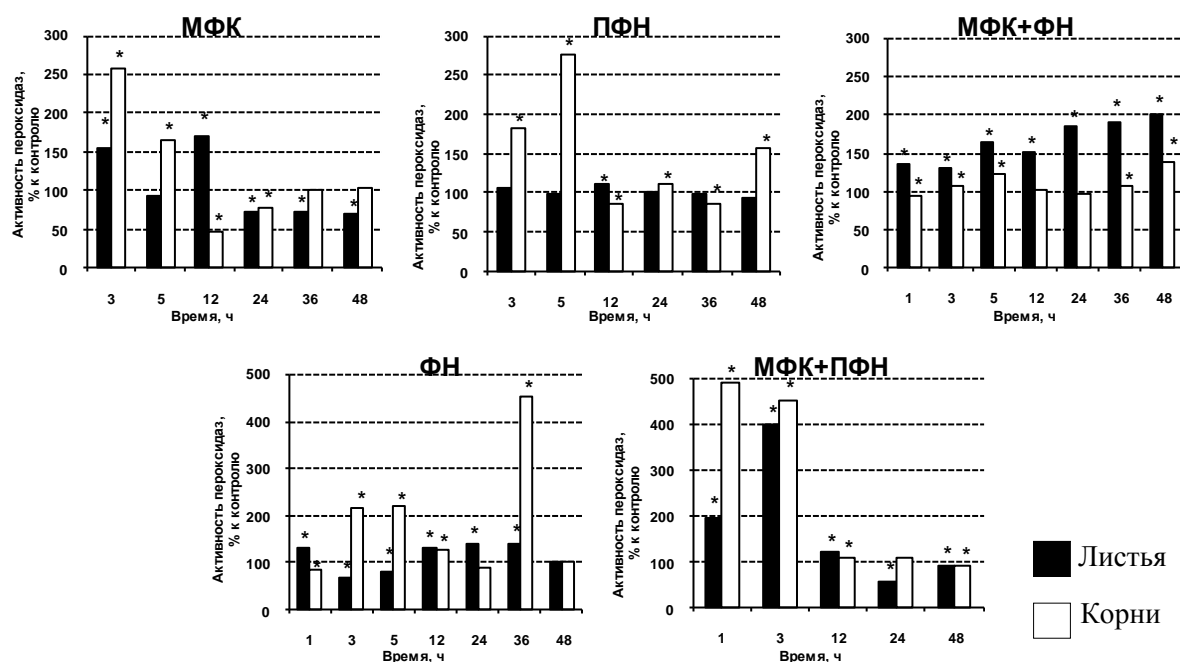


Рис. 4. Влияние специфических поллютантов на активность пероксидаз в листьях и корнях ячменя

Кратковременное действие МФК приводило к снижению уровня МДА в листьях и корнях ячменя, в то время как остальные токсиканты ПФН, ФН и МФК+ФН индуцировали активацию процессов ПОЛ (рис. 5). Ингибирование процессов ПОЛ при действии МФК может быть обусловлено расщеплением малополярной связи в МФК с образованием метильного и фосфонатного радикала, которые выступают в качестве ловушек других радикалов, вызывающих процессы ПОЛ (Плотникова и др., 2011). Совместное присутствие МФК+ПФН в растворе не вызывало изменений интенсивности процессов ПОЛ, по-видимому, это обусловлено значительной активацией ферментов – пероксидаз и их эффективной работой в обезвреживании АФК. Инициация процессов ПОЛ была выявлена в большей степени в листьях, где активность пероксидаз была ниже, по сравнению с корнями растений. Под влиянием ФН и МФК+ФН высокая интенсивность процессов ПОЛ сохранялась через 48 часов после действия поллютантов, что свидетельствует о серьезных нарушениях про/антиоксидантного равновесия в клетках, вызванных кратковременным действием токсикантов, а также об усилении токсического эффекта при действии смеси веществ. В большей степени ФН вызывал биохимические изменения в листьях, чем в корнях опытных растений.

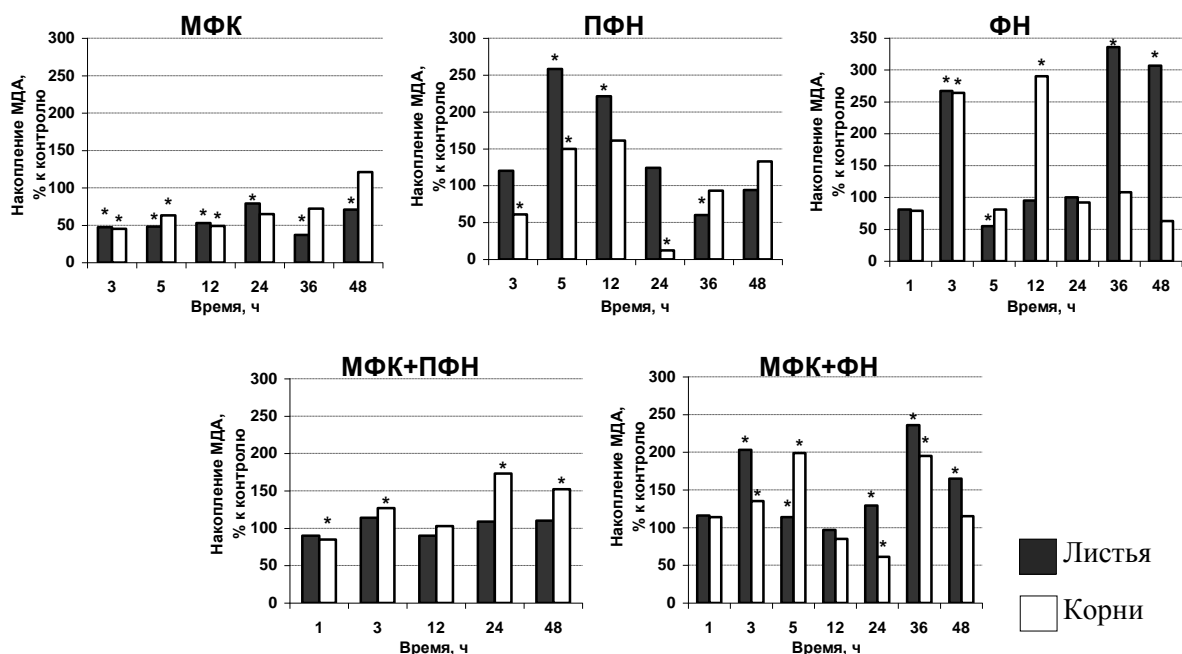


Рис. 5. Влияние специфических поллютантов на накопление МДА в листьях и корнях ячменя

При действии индивидуальных веществ отмечено незначительное накопление низкомолекулярных антиоксидантов – антоцианов только в 1-е сутки, на 2-е сутки уровень антоцианов снижался (рис. 6). При совместном действии МФК+PFN изменений содержания вакуолярных пигментов в 1-е сутки опыта не происходило, на 2-е сутки - отмечали возрастание концентрации антоцианов в листьях.

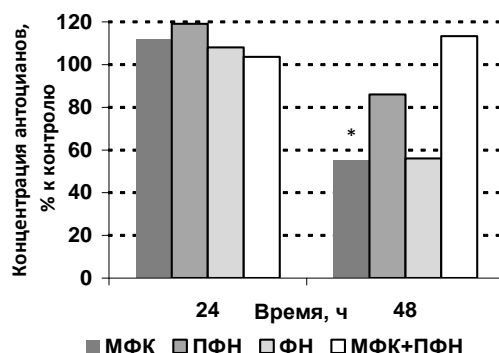


Рис. 6. Влияние специфических поллютантов на содержание антоцианов в листьях ячменя

Кратковременное действие 0,01 моль/л МФК вызывало достоверное ($p \leq 0,05$) накопление пластидных пигментов в листьях ячменя, максимальное значение отмечено через 36 часов после начала опыта (рис. 7). При действии FN и смеси МФК+FN происходило снижение уровня хлорофиллов и каротиноидов, что может быть обусловлено окислительной деструкцией молекул пигментов и согласуется с активацией процессов ПОЛ в листьях в данных вариантах опытов. Также известно, что снижение содержания хлорофиллов в присутствии фторидов происходит в результате ингибирования фермента хлорофиллазы (Фтор ..., 1989). Инкубация ячменя на растворе PFN приводила к незначительному накоплению пигментов в листьях через 12 часов после начала опыта, далее наблюдали восстановление содержания пигментов до уровня контрольных растений.

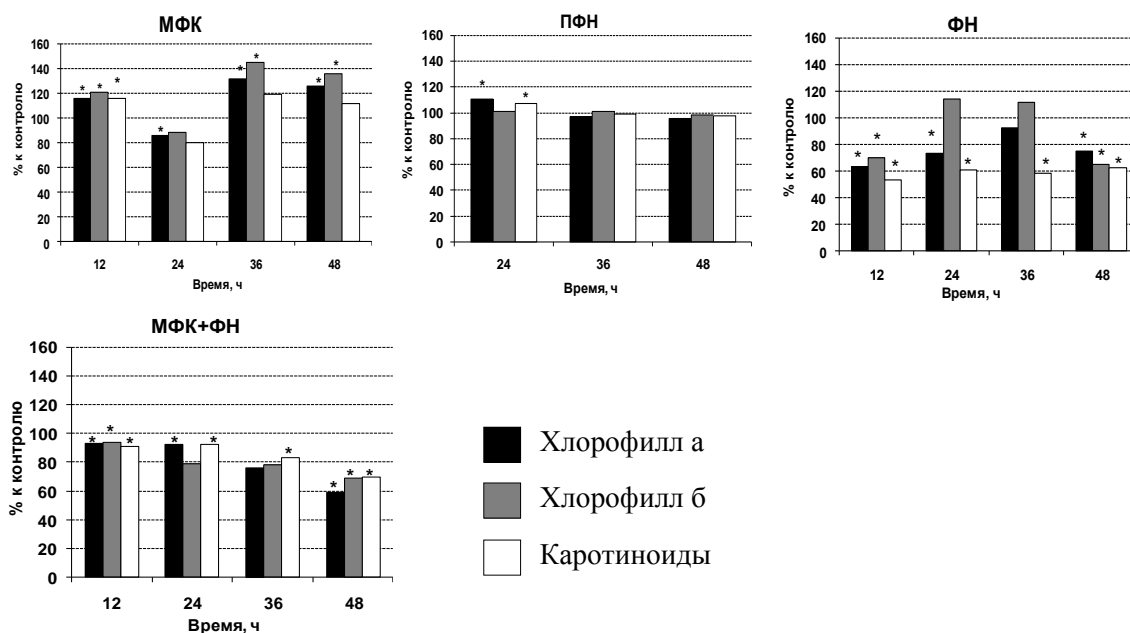


Рис. 7. Влияние специфических поллютантов на содержание пластидных пигментов в листьях ячменя

Таким образом, кратковременная обработка корней опытных растений специфическими поллютантами приводила к биохимическим изменениям и в листьях, что свидетельствует о системном действии веществ. Выявлено, что ФН в большей степени вызывал биохимические изменения в листьях, фосфорсодержащие токсиканты – в корнях опытных растений.

Глава 5. Ответные реакции растений ячменя на хроническое действие фосфор- и фторсодержащих соединений

При функционировании предприятий поллютанты могут длительное время поступать в окружающую среду, накапливаться в природных средах и оказывать влияние на живые организмы, поэтому были изучены ответные реакции растений на хроническое действие поллютантов.

В опыте с совместным действием МФК+ФН (0,01 и 0,005 моль/л) происходило набухание семян, но семена не проросли, что свидетельствует о высокой токсичности смеси веществ.

Хроническое действие ПФН приводило к активации антиоксидантных ферментов-пероксидаз и инициации процессов ПОЛ в растительных клетках (табл.). Действие смеси МФК+ПФН на 14 сутки проявилось в ингибировании пероксидаз и активации процессов ПОЛ в листьях и корнях опытных растений.

Присутствие в субстрате МФК и ФН вызывало активацию пероксидаз и накопление продуктов ПОЛ в корнях, в листьях, напротив, отмечали ингибирование данных показателей. Усиление выхода электролитов было отмечено в корнях растений под влиянием ФН и может быть следствием активации окислительных процессов.

Таблица

Влияние специфических поллютантов на биохимические показатели ячменя				
Вариант	МФК (0,01 моль/л)	ПФН (0,01 моль/л)	ФН (0,01 моль/л)	МФК+ПФН (0,01 моль/л)
Активность пероксидаз, ед./г сырой массы				
Лист	<u>380,85±6,47*</u>	<u>360,65±3,95*</u>	<u>315,47±10,20*</u>	<u>350,24±6,08*</u>
	470,07±14,78	328,06±6,53	470,07±14,78	375,99±4,09
Корень	<u>333,21±12,33*</u>	<u>464,62±9,89*</u>	<u>302,84±9,83*</u>	<u>275,00±1,29*</u>
	172,97±7,29	399,63±3,88	172,97±7,29	332,72±1,27
Содержание МДА, нмоль/г сырой массы				
Лист	<u>5,94±0,93</u>	<u>6,28±0,81</u>	<u>3,75±0,14*</u>	<u>8,48±0,57*</u>
	6,68±0,13	4,52±0,71	6,68±0,13	5,94±0,80
Корень	<u>6,34±1,10</u>	<u>5,52±0,54*</u>	<u>6,50±0,67*</u>	<u>5,05±0,97</u>
	4,77±0,13	3,64±0,40	4,77±0,13	3,59±0,18
Выход электролитов, % от полного выхода				
Корень	<u>9,10±0,09*</u>	<u>40,67±0,95</u>	<u>14,49±0,29*</u>	не опр.
	10,25±0,52	40,11±2,3	10,25±0,52	

* Различия между контролем и опытом достоверны при $p \leq 0,05$. В числителе – опыт, в знаменателе – контроль.

Как и в опыте с кратковременным действием, выращивание растений на загрязненном МФК субстрате индуцировало достоверное ($p \leq 0,05$) увеличение содержания зеленых пигментов и каротиноидов: хлорофилл а – $8,56 \pm 0,03$ мг/г сух. массы, хлорофилл б – $4,36 \pm 0,40$ мг/г сух. массы, каротиноиды – $1,57 \pm 0,04$ мг/г сух. массы. При загрязнении песка ФН происходило значительное накопление хлорофилла б в листьях опытных растений: содержание хлорофилла б составило $5,14 \pm 0,17$ мг/г сух. массы, в контроле – $3,03 \pm 0,23$ мг/г сух. массы (рис. 8). Соотношение хлорофиллов а/б в присутствии ФН составило 1,44, в контрольном варианте – 2,17. Накопление зеленых пигментов, каротиноидов, антоцианов выявлено и в листьях растений в варианте с ПФН, что может быть обусловлено появлением в среде доступного для растений фосфат-иона в результате гидролиза ПФН. Присутствие в среде МФК+ПФН индуцировало накопление каротиноидов, выполняющих протекторную функцию.

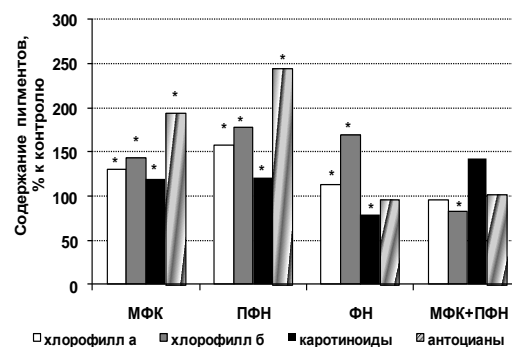


Рис. 8. Влияние специфических поллютантов на содержание пластидных и вакуолярных пигментов в листьях ячменя

Таким образом, хроническое действие МФК, ПФН вызывало активацию окислительных процессов в растительных тканях, которая сохранялась в течение всего опыта. Совместное действие специфических поллютантов оказывало больший токсический эффект на растения, чем отдельные вещества. Совместное действие МФК+ФН (0,01 и 0,005 моль/л) приводило к гибели семян.

Глава 6. Ответные реакции растений ячменя и одуванчика на действие фосфор- и фторсодержащих соединений (обработка надземной части растений)

Все изученные поллютанты МФК, ПФН, ФН и их смеси независимо от длительности воздействия и способа обработки растений вызывали развитие окислительного стресса в растительных клетках.

Действие поллютантов проявилось в изменении активности пероксидаз в листьях и корнях ячменя, причем в листьях опытных растений активность пероксидаз была выше по сравнению с корнями (рис. 9). Под влиянием ПФН и смеси ПФН+МФК происходила активация антиоксидантных ферментов-пероксидаз в листьях ячменя. Достоверное снижение активности пероксидаз отмечали в корнях растений, обработанных растворами ПФН и ФН.

Рост уровня МДА – продукта ПОЛ отмечали в листьях опытных растений при действии отдельных веществ (ПФН, ФН). В ответ на действие смесей веществ, содержащих МФК (МФК+ПФН и МФК+ФН), в клетках опытных растений происходило снижение интенсивности процессов ПОЛ.

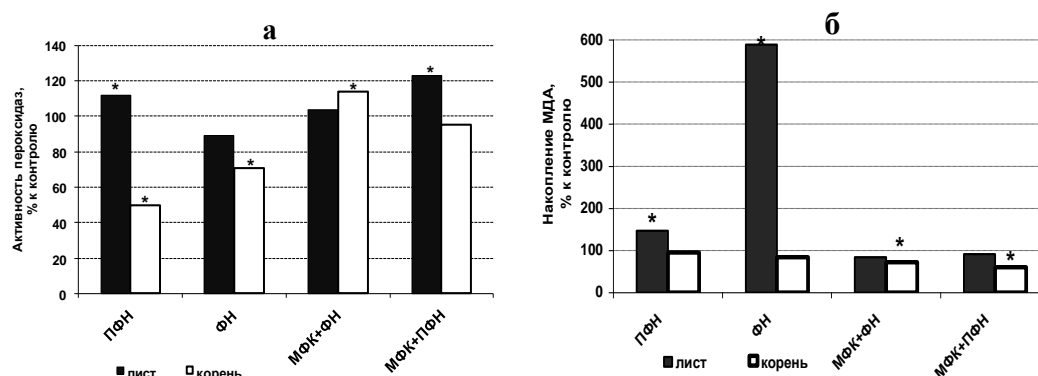


Рис. 9. Влияние специфических поллютантов на активность пероксидаз (а) и накопление МДА (б) в растениях ячменя

Повышение содержания пластидных пигментов отмечено в опытах с ПФН и ПФН+МФК, что, по-видимому, обусловлено появлением в среде для выращивания доступного для растений фосфат-иона, который образуется в результате гидролиза ПФН (рис. 10). Снижение содержания хлорофилла а в листьях растений при обработке ФН+МФК, может быть следствием окислительной деструкции молекул пигментов. Данное предположение подтверждается результатами изучения интенсивности процессов ПОЛ в листьях ячменя, в опыте с действием ФН уровень МДА в клетках был значительно выше, чем в контроле.

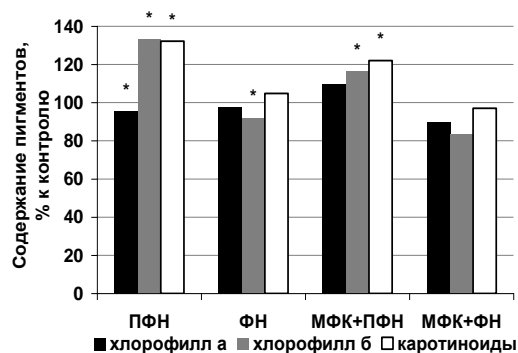


Рис. 10. Влияние специфических поллютантов на содержание пластидных пигментов в листьях ячменя

Таким образом, однократная обработка надземной части растений ячменя растворами токсикантов вызвала изменение функциональных показателей, а

особенности биохимического отклика растений зависели от природы загрязнителя. При действии изученных веществ изменения происходили и в листьях и в корнях растений, что указывает на системное действие токсикантов.

Лабораторные опыты по изучению ответных биохимических реакций растений ячменя на действие специфических загрязнителей были продолжены в полевых условиях на растениях одуванчика лекарственного.

В ответ на действие ПФН происходила активация про/антиоксидантной системы растений, которая проявилась в накоплении низкомолекулярных антиоксидантов – антоцианов и активации процессов ПОЛ в листьях одуванчика (рис. 11). Выявлена тесная положительная корреляция между показателями интенсивности ПОЛ и концентрацией антоцианов ($r = 0,99$).

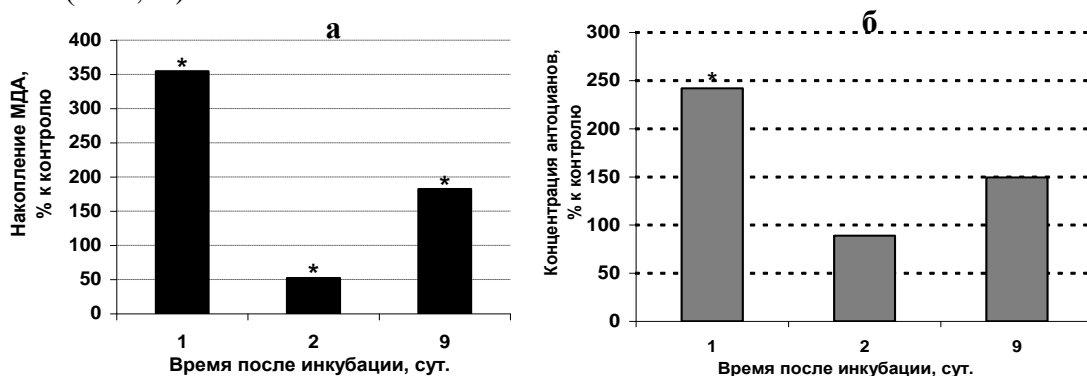
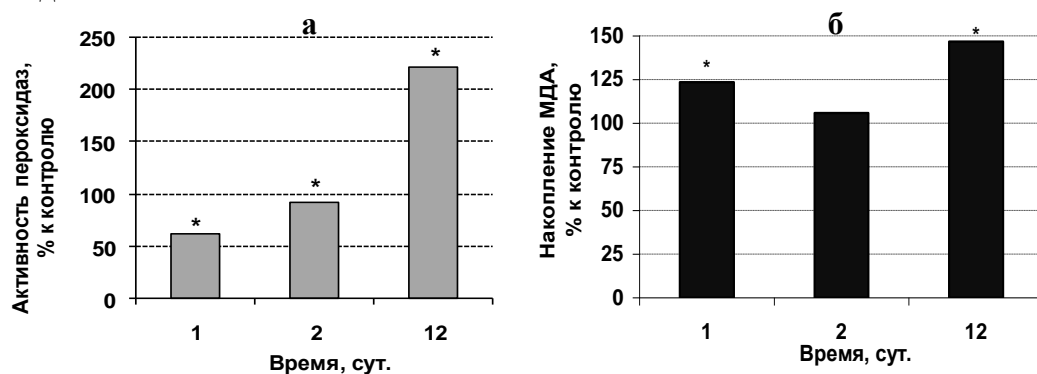


Рис. 11. Влияние ПФН (0,1 моль/л) на накопление МДА (а) и содержание антоцианов (б) в листьях одуванчика

ФН в меньшей концентрации (0,04 моль/л), чем ПФН (0,1 моль/л) вызывал сходные, значительные изменения биохимических показателей растений. Максимальное накопление продуктов ПОЛ и активацию пероксидаз в листьях опытных растений наблюдали на 12 сутки после обработки ФН (рис. 12). Обработка ФН надземной части растений сопровождалась повышенным накоплением антоцианов и каротиноидов на вторые сутки опыта. Между показателями концентрация антоцианов и содержанием каротиноидов выявлена тесная корреляция ($r = 0,98$). На 12 сутки опыта отмечали снижение данных показателей.



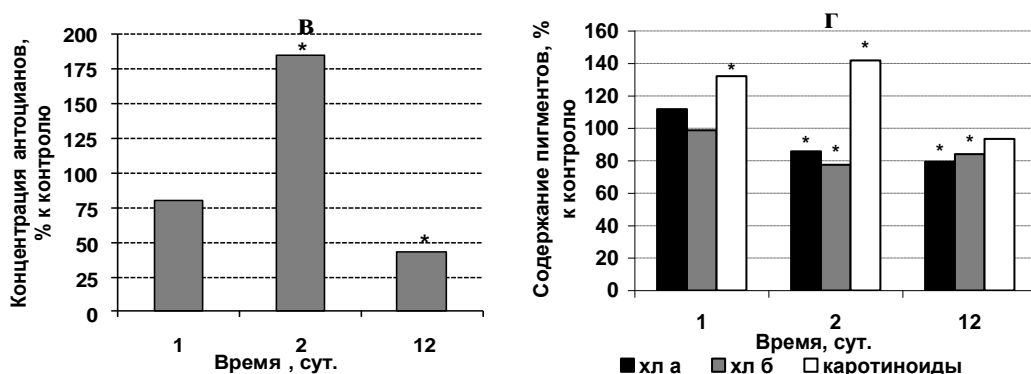


Рис. 12. Влияние ФН (0,04 моль/л) на активность пероксидаз (а), интенсивность ПОЛ (б), содержание антоцианов (в) и пластидных пигментов (г) в листьях одуванчика лекарственного

Таким образом, однократная обработка растений одуванчика лекарственного ПФН и ФН, вызвала ответные реакции сходные с теми, что выявлены в опытах на растениях ячменя. Наблюдали изменения активности антиоксидантного фермента – пероксидазы, активацию процессов ПОЛ, изменение уровня пигментов. Наиболее показательными индикаторами загрязнения среды изученными поллютантами явились интенсивность процессов ПОЛ, уровень антоцианов и каротиноидов в растительных тканях.

ВЫВОДЫ

1. Выявлены особенности действия метилфосфоновой кислоты, пирофосфата натрия, фторида натрия и их смесей на активность биохимических процессов в семенах при прорастании, всхожесть семян, рост и развитие проростков ячменя. Установлено, что всхожесть семян и линейные показатели роста наиболее чувствительны к действию изученных поллютантов и могут быть использованы при биотестировании природных сред.

2. Специфические поллютанты и их смеси индуцируют развитие окислительного стресса в растениях ячменя независимо от длительности воздействия и способа обработки. Биохимические изменения происходят уже в первые часы после действия поллютантов. Независимо от способа обработки изученные поллютанты оказывали системное действие на растения: изменения биохимических показателей отмечали и в листьях и в корнях растений.

3. Наибольшее фитотоксическое действие среди изученных поллютантов оказывает фторид натрия. Угнетение показателей жизнедеятельности семян, биохимических показателей растений происходит под влиянием фторида натрия в концентрациях на порядок ниже, чем при действии метилфосфоновой кислоты и пирофосфата натрия. В большей степени фторид натрия вызывает биохимические изменения в листьях, остальные токсиканты – в корнях опытных растений. Под влиянием пирофосфата натрия происходит накопление пигментов. Кратковременное действие метилфосфоновой кислоты в низких дозах (0,01 моль/л) вызывает снижение интенсивности процессов перекисного окисления липидов в растительных тканях, в то время как остальные токсиканты индуцируют активацию процессов перекисного окисления липидов.

4. При совместном действии поллютантов (метилфосфоновая кислота и пирофосфат натрия, метилфосфоновая кислота и фторид натрия) происходит усиление токсических эффектов, по сравнению с действием отдельных веществ, что указывает на опасность для растений появления в окружающей среде одновременно фтор- и фосфорсодержащих поллютантов.

5. Биохимические ответные реакции растений на действие специфических поллютантов, выявленные в модельных экспериментах на культурных растениях ячменя, были отмечены и в опытах на дикорастущих растениях одуванчика лекарственного.

Изменения таких показателей, как интенсивность процессов перекисного окисления липидов, накопление антоцианов и каротиноидов в растительных тканях являются показательными индикаторами загрязнения среды изученными поллютантами.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ:

1. Свинолупова Л. С. (Аюшинова Л. С.) Огородникова С. Ю. Влияние пирофосфата натрия на антиоксидантную систему защиты растений ячменя // *Агрохимия*. 2012. № 6. С. 84-88

2. Свинолупова Л. С. (Аюшинова Л. С.), Огородникова С. Ю., Ашихмина Т. Я. Ответные реакции растений ячменя на действие фторида натрия // *Вестник Алтайского государственного аграрного университета*. 2012. № 12 (98). С. 17-20.

3. Коваль Е. В., Свинолупова Л. С. (Аюшинова Л. С.), Огородникова С. Ю. Оценка токсических эффектов метилфосфоновой кислоты по ответным реакциям фототрофных организмов // *Теоретическая и прикладная экология*. 2013. № 1. С. 89-93.

Публикации в других изданиях:

4. Свинолупова Л. С. (Аюшинова Л. С.), Огородникова С. Ю. Влияние метилфосфоновой кислоты на активность окислительных процессов в растительных тканях // *Проблемы региональной экологии в условиях устойчивого развития: Матер. VII Всерос. науч.-практ. конференции в 2 частях. Часть 2*. Киров: ООО «Лобань», 2009. С. 51-55.

5. Свинолупова Л. С. (Аюшинова Л. С.), Огородникова С. Ю. Изучение окислительных процессов в растительных тканях, инициированных действием метилфосфоновой кислоты // *Инновационные методы и подходы в изучении естественной и антропогенной динамики окружающей среды: Матер. Всерос. научной школы для молодежи в 3 частях. Часть 3*. Киров: ООО «Лобань», 2010. С. 65-67.

6. Свинолупова Л. С. (Аюшинова Л. С.), Огородникова С. Ю. Биохимические реакции растений на действие пирофосфата натрия // *Науке нового века – знания молодых: Матер. Всерос. научно-практич. конференции молодых ученых, аспирантов и соискателей, посвященной 80-летию Вятской ГСХА*. Киров: Вятская ГСХА, 2010. С. 148-152.

7. Свинолупова Л. С. (Аюшинова Л. С.), Огородникова С. Ю. Изучение биохимических реакций растений на действие соединений фосфора (модельные опыты) // *Экотоксикология 2010: Тезисы докл. Всерос. конф. с элементами научной школы для молодежи: Тула: Изд-во ТулГУ, 2010. С. 45.*

8. Свинолупова Л. С. (Аюшинова Л. С.), Огородникова С. Ю. Влияние фосфорсодержащих соединений на активность пероксидазы в растительных тканях // *Экология родного края проблемы и пути их решения: Матер. Всерос. науч.-практ. конференции молодежи*. Киров: ООО «Лобань», 2010. С. 135-138.

9. Свинолупова Л. С. (Аюшинова Л. С.), Огородникова С. Ю. Действие пирофосфата натрия на биохимические характеристики растений // *Современные проблемы биомониторинга и биоиндикации: Матер. VIII Всерос. науч.-практ. конференции с международным участием в 2 частях. Часть 1*. Киров: ООО «Лобань», 2010. С. 163-166.

10. Свинолупова Л. С. (Аюшинова Л. С.), Огородникова С. Ю. Влияние фосфорсодержащих соединений на биохимические показатели растений // *Науке нового века – знания молодых: Матер. Всерос. науч.-практ. конференции молодых ученых, аспирантов и соискателей*. Киров: Вятская ГСХА, 2011. С. 118-123.

11. Свинолупова Л. С. (Аюшинова Л. С.), Огородникова С. Ю. Действие фторида натрия на биохимические показатели ячменя сорта «Новичок» // *Экология родного края проблемы и пути их решения: Матер. Всерос. молод. науч.-практ. конференции*. Киров: ООО «Лобань», 2011. С. 189-191.

12. Свинолупова Л. С. (Аюшинова Л. С.), Огородникова С. Ю. Изучение окислительных процессов в растительных тканях, инициированных действием

фосфорсодержащих веществ // Молодые ученые в решении актуальных проблем науки: Матер. II-международ. науч.-практ. конференции молодых ученых в 2 частях. Часть 2. Владикавказ: ИПО СОИГСИ, 2011. С. 12-15.

13. Огородникова С. Ю., Свинолупова Л. С. (**Аюшинова Л. С.**) Динамика биохимических реакций растений на действие фосфорсодержащих соединений // Физиология растений – фундаментальная основа экологии и инновационных биотехнологий. VII Съезд Общества физиологов растений России: Матер. докладов в двух частях. Часть II. Нижний Новгород, 2011. С. 518-519.

14. Свинолупова Л. С. (**Аюшинова Л. С.**), Огородникова С. Ю. Отклик дикорастущих растений на загрязнение пирофосфатом натрия // Экология мегаполисов: фундаментальные основы и инновационные технологии: Матер. докл. Всерос. симпозиума. Москва, 2011. С. 133.

15. Свинолупова Л. С. (**Аюшинова Л. С.**), Огородникова С. Ю. Влияние фторида натрия на всхожесть и накопление биомассы растениями ячменя сорта «Новичок» // Биологический мониторинг природно-техногенных систем: Матер. Всерос. научно-практической конфер. с международным участием в 2 частях. Часть 2. Киров: ООО «Лобань», 2011. С. 75-78.

16. Свинолупова Л. С. (**Аюшинова Л. С.**), Чиванова С. В., Огородникова С. Ю. Влияние фторидного загрязнения на биохимические показатели растений на примере ячменя с. Новичок // Адаптационные реакции живых систем на стрессорные воздействия: Матер. Всерос. молод. конференции. Киров: ООО «Лобань», 2012. С. 50-53.

17. Свинолупова Л. С. (**Аюшинова Л. С.**), Огородникова С. Ю. Изучение состояния антиоксидантной системы растений ячменя в условиях загрязнения почвы пирофосфатом натрия // Молодые ученые в решении актуальных проблем науки: Матер. III-международ. науч.-практ. конференции молодых ученых в 2 частях. Часть 2. Владикавказ: ИПО СОИГСИ, 2012. С. 21-23.

18. Свинолупова Л. С. (**Аюшинова Л. С.**), Огородникова С. Ю. Индикация загрязнения почв фосфорсодержащими соединениями по изменениям биохимических показателей растений ячменя с. Новичок (модельные опыты) // II (X) Международ. Ботаническая Конференция молодых ученых в Санкт-Петербурге: Тезисы докладов. СПб.: Изд-во СПбГЭТУ «ЛЭТИ», 2012. С. 125-126.

19. Свинолупова Л.С. (**Аюшинова Л. С.**), Чиркова С. В., Огородникова С. Ю. Биохимический отклик растений ячменя на действие фторида натрия // Экология: синтез естественно-научного, технического и гуманитарного знания: Матер. III Всерос. науч.-практ. форума. Саратов: «ЕврАзНИИПП», 2012. С. 144-146.

20. Свинолупова Л. С. (**Аюшинова Л. С.**), Огородникова С. Ю. Изучение биохимических эффектов пирофосфата натрия на растения ячменя сорта Новичок // Актуальные вопросы биологии и экологии: Матер. докл. XIX Всерос. молод. науч. конференции науч.-практ. конференции. Сыктывкар, 2012. С. 253-256.

21. Свинолупова Л. С. (**Аюшинова Л. С.**), Чиванова С. В., Огородникова С. Ю. Сравнительная характеристика биохимических реакций растений на загрязнение почвы фосфор- и фторсодержащими соединениями // Бизнес. Наука. Экология родного края проблемы и пути их решения: Матер. Всерос. науч.-практ. конференции-выставки экологических проектов с международным участием. Киров: ООО «ВЕСИ», 2013. С. 119-122.

22. Чирухина М. П., Жебелюк К. В., Свинолупова Л. С. (**Аюшинова Л. С.**), Огородникова С. Ю. Действие фторида натрия на активность пероксидаз и жизнеспособность семян при прорастании // Бизнес. Наука. Экология родного края проблемы и пути их решения: Матер. Всерос. науч.-практ. конференции-выставки экологических проектов с международным участием. Киров: ООО «ВЕСИ», 2013. С. 186-188.

23. Свинолупова Л. С. (**Аюшинова Л. С.**), Огородникова С. Ю. Использование показателей жизнеспособности и всхожести семян в биотестировании // Современное

естествознание и охрана окружающей среды: Матер. Междунар. молодежной конференции. Курган: Изд-во Курганского гос. ун-та, 2013. С. 46-48.

24. Свинолупова Л. С. (**Аюшинова Л. С.**), Чиванова С. В., Огородникова С. Ю. Применение показателей жизнедеятельности семян и линейного роста проростков в оценке токсичности метилфосфоновой кислоты и фторида натрия. // Актуальные проблемы региональной экологии и биодиагностика живых систем: Матер. XI Всерос. науч.-практ. конференции-выставки инновационных экологических проектов с международным участием. Киров: ООО «ВЕСИ», 2013. С. 187-191.

25. Свинолупова Л. С. (**Аюшинова Л. С.**), Огородникова С. Ю. Биохимические реакции дикорастущих растений на действие фторида натрия // Закономерности функционирования природных и антропогенно трансформированных экосистем: Матер. Всерос. науч. конференции. Киров: ООО «ВЕСИ», 2014. С. 265-268.

26. Чирухина М. П., Жебелюк К. В., Свинолупова Л. С. (**Аюшинова Л. С.**), Огородникова С. Ю. Влияние фосфорсодержащих соединений на активность пероксидаз и жизнеспособность семян при прорастании // Закономерности функционирования природных и антропогенно трансформированных экосистем: Матер. Всерос. науч. конференции. Киров: ООО «ВЕСИ», 2014. С. 262-265.

27. Свинолупова Л. С. (**Аюшинова Л. С.**), Огородникова С. Ю. Изучение ответных реакций растений на совместное действие метилфосфоновой кислоты и фторида натрия (модельные опыты) // Молодые ученые в решении актуальных проблем науки: Матер. V междунар. науч.-практ. конференции. Владикавказ, 2014. С. 380-382.