

## \* ИЗМЕНЕНИЕ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ЭЛОДЕИ ПРИ ЗАГРЯЗНЕНИИ ВОДНОЙ СРЕДЫ

© 2011 г. Г.Г. Борисова, М.Н. Кислицина, М.Г. Малева, Н.В. Чукина

Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, г. Екатеринбург

**Ключевые слова:** водные объекты, загрязнение, водные макрофиты, фотосинтетический аппарат, *Eloдея canadensis*, *E. densa*, тяжелые металлы, фенольные соединения.

В статье рассмотрены вопросы устойчивости водных макрофитов к загрязнению среды обитания. Представлены результаты модельных исследований, направленных на выявление изменений в содержании фотосинтетических пигментов у *Eloдея canadensis* в присутствии тяжелых металлов (на примере никеля) в градиенте концентраций. Проведено сопоставление действия отдельных поллютантов и их сочетаний на структурные параметры мезофилла листа *E. densa*. Показано, что исследованные растения обладали высоким адаптивным потенциалом и способностью противостоять действию поллютантов за счет изменения структурно-функциональных характеристик фотосинтетического аппарата.

### Введение

Водные экосистемы являются весьма чувствительным к антропогенному воздействию компонентом природной среды. В условиях существенного роста техногенных нагрузок на водные экосистемы все большую актуальность приобретает изучение механизмов устойчивости гидробионтов, в том числе и макрофитов, к загрязнению водных объектов.

Высшие водные растения занимают особое место среди автотрофных организмов гидробиоценозов. Они являются начальным звеном в круговороте веществ и энергии как первичные продуценты органического вещества и играют огромную роль в поддержании сложившегося естественного равновесия в водоемах и водотоках. В процессе своей жизне-

\* Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента РФ (договор № 02.120.11.881-МК), ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009—2013 гг. (ГК № П1301) и гранта УрФУ для молодых ученых — кандидатов наук (договор № 2.1.2/16).

деятельности водные растения поглощают и аккумулируют большие количества различных элементов, включая и тяжелые металлы (ТМ); осуществляют деструкцию токсичных органических соединений. Они являются прекрасным естественным биофильтром, предохраняющим водную среду от загрязнений и ограничивающим чрезмерное развитие фитопланктона.

Уязвимость и чувствительность гидроэкосистем к антропогенным нагрузкам в значительной степени определяется устойчивостью автотрофного компонента гидроценозов. Однако на современном этапе адекватная оценка устойчивости растений к техногенному воздействию остается сложной, недостаточно изученной проблемой.

К настоящему времени в отечественной и зарубежной литературе накоплено много данных об аккумулятивной способности высших водных растений по отношению к ТМ и другим поллютантам [1—7]. Отмечается способность отдельных видов высших водных растений к аккумулярованию токсичных веществ в концентрациях, во много раз превышающих их концентрации в водной среде. Установлена высокая накопительная способность некоторых видов водных макрофитов по отношению к таким ТМ, как кадмий, медь, свинец, хром, ртуть, селен; показано участие водных растений в детоксикации фенольных соединений.

Важную роль в адаптации растений к стрессорам различной природы играет структурно-функциональная организация фотосинтетического аппарата, изменение которой можно рассматривать как один из путей повышения неспецифической устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды обитания. Однако влияние техногенных факторов на структурные характеристики фотосинтетического аппарата растений изучено недостаточно: имеются лишь единичные данные об его изменениях в условиях загрязнения среды [8—11].

Цель исследований — выявление изменений в организации фотосинтетического аппарата водных макрофитов при действии неорганических и органических поллютантов и их сочетаний для оценки адаптационных возможностей растений и их устойчивости к загрязнению водной среды. Использование водных растений в качестве объектов исследований при изучении этих вопросов представляется весьма удачным, так как эти растения в большей степени по сравнению с наземными контактируют со средой обитания, поглощая из воды различные вещества, включая и поллютанты, всей поверхностью листьев.

Изучение структурно-функциональных показателей макрофитов в условиях повышенных антропогенных нагрузок на водные экосистемы является научной основой для более эффективного использования высших растений в целях биологического мониторинга, фиторемедиации

загрязненных водных объектов и разработки мер, направленных на повышение устойчивости гидробиоценозов в целом и поддержание их биологического разнообразия.

### Объекты и методы исследований

Объектами исследований были погруженные водные макрофиты: элодея канадская (*Elodea canadensis* Michx.) и элодея густолиственная (*Elodea densa* Planch.). Эти виды получили широкое распространение. Они обитают в водоемах и водотоках со стоячей или медленно текущей водой. Особенностью анатомического строения листа элодеи является тонкая листовая пластинка, состоящая всего из двух слоев клеток — верхнего и нижнего эпидермиса, которые выполняют основную фотосинтезирующую функцию.

Для достижения поставленной цели было проведено две серии экспериментов в моделируемых условиях.

В первой серии экспериментов, направленных на оценку аккумулирующей способности элодеи и изучение действия тяжелых металлов на содержание фотосинтетических пигментов, побеги элодеи (*E. canadensis*) инкубировали в течение 5 дней в 5 %-ной среде Хогланда-Арнона с различными концентрациями  $Ni^{2+}$ : 0 (контроль); 0,05; 0,5 и 3 мг/л. Никель был взят в виде сульфата, но концентрации рассчитаны на ион. Содержание никеля в листьях элодеи определяли методом атомно-абсорбционной спектроскопии после мокрого озоления 70 %-ной азотной кислотой. Содержание хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов определяли спектрофотометрически. Расчет количества хлорофиллов проводили по формуле Vernon, содержание каротиноидов рассчитывали по Wettstein [12]. Для экстрагирования пигментов из листьев использовали 80 %-ный водный раствор ацетона. Определение содержания фотосинтетических пигментов проводили в 3-х аналитических повторностях.

Проведение второй серии экспериментов было нацелено на выявление изменений структуры фотосинтетического аппарата элодеи при выращивании в среде с повышенным содержанием поллютантов различной химической природы. Для этого побеги элодеи (*E. densa*) выращивали в течение 60 дней в 5 %-ной среде Хогланда-Арнона (контроль). В опытные сосуды были добавлены органические поллютанты (гидрохинон в концентрациях: 0,1; 1; 10 мг/л) в сочетании с никелем (в концентрации 0,05 мг/л в расчете на ион). Новые побеги, сформированные за время инкубации, были зафиксированы в 3,5 %-ном растворе глутарового альдегида в фосфатном буфере (pH = 7,2) для последующего измерения структурных параметров мезофилла листа. Размеры клеток верхне-

го и нижнего эпидермиса определяли в 30-кратной повторности, а толщину листа — в 10-кратной повторности.

Для оценки достоверности различий использовали непараметрический критерий Манна-Уитни при уровне значимости  $p < 0,05$ . На рисунке и в таблице представлены средние арифметические значения и ошибки среднего.

### **Результаты исследований и обсуждение**

В исследованиях, проведенных нами ранее [13], изучены структурно-функциональные показатели фотосинтетического аппарата водных макрофитов из природных местообитаний, различающихся уровнем техногенного воздействия. Показано, что листья большинства водных растений из водных объектов с повышенной нагрузкой отличались более значительными размерами клеток мезофилла и более высоким содержанием фотосинтетических пигментов по сравнению с растениями из «условно чистых» водоемов и водотоков. Однако в подверженных техногенному воздействию водных экосистемах загрязнение поверхностных вод является многокомпонентным и поэтому не ясно, какие именно поллютанты вызвали такие изменения структурно-функциональных показателей. Полученные нами результаты обусловили необходимость проведения более детального исследования влияния отдельных металлов (на примере никеля) и их комбинаций с другими поллютантами на растение одного и того же вида в моделируемых условиях.

Среди тяжелых металлов никель наименее изучен по своему влиянию на высшую водную растительность. Биологическая роль никеля заключается в участии в структурной организации и функционировании основных клеточных компонентов — ДНК, РНК и белка. Он входит в состав ряда ферментов, участвует в гормональной регуляции организма. Повышенные дозы металла вызывают физиологические нарушения у растений. Токсичность никеля для растений проявляется в подавлении процессов фотосинтеза и транспирации, появлении признаков хлороза листьев.

Около 90 % никеля в растительной клетке содержится в цитоплазме. В значительных концентрациях он накапливается в виде водорастворимого полярного комплекса в вакуолях. При этом его токсичность значительно снижается [14].

Как известно, существует тесная связь между концентрацией химических элементов в воде и их содержанием в тканях водных растений. Избыток тяжелых металлов в среде обитания, как правило, приводит к повышенному их накоплению растительными организмами. В результа-

те проведения экспериментов (первая серия) установлено, что листья элодеи активно аккумулировали никель, скорость накопления зависела от концентрации металла в среде. При возрастании концентрации никеля в 60 раз (от 0,05 до 3 мг/л) растения накапливали от 102 мкг до 3800 мкг  $Ni^{2+}$  на 1 г сухой массы.

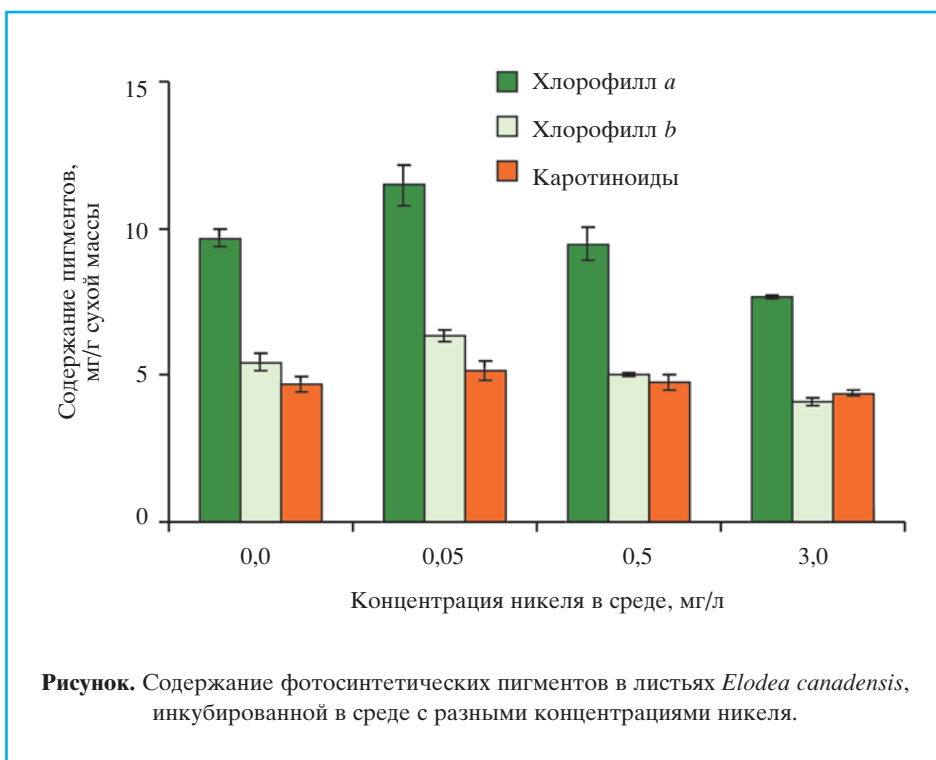
Состояние пигментной системы является одним из важнейших факторов, обеспечивающих эффективную фотоассимиляцию углекислого газа. Содержание фотосинтетических пигментов в листьях растений, произрастающих в загрязненной среде, изучалось многими исследователями [8, 10, 11]. Однако имеющиеся в литературе данные являются весьма неоднозначными и зачастую противоречивыми.

В литературе имеются данные о значительном снижении содержания хлорофилла при загрязнении среды тяжелыми металлами, что может быть результатом замедления процессов его биосинтеза и активации процессов дегградации. В то же время в исследованиях некоторых авторов показано, что действие низких концентраций ионов тяжелых металлов может стимулировать накопление хлорофилла.

Содержание хлорофиллов ( $a+b$ ) в 1 г сухих листьев элодеи при низкой (0,05 мг/л) концентрации  $Ni^{2+}$  достоверно увеличивалось по сравнению с контролем, что подтверждает вывод некоторых исследователей о стимулирующем действии низких концентраций ТМ. При увеличении содержания никеля до 3 мг/л количество хлорофиллов уменьшалось в 1,4 раза (рисунок). Отношение хлорофилла  $a$  к хлорофиллу  $b$  было постоянным и от концентрации никеля не зависело.

Содержание каротиноидов было более стабильно в сравнении с хлорофиллами и достоверно не отличалось от контроля даже при наивысшей концентрации металла (см. рисунок). Отношение хлорофиллов к каротиноидам увеличивалось при низкой концентрации никеля и снижалось при ее увеличении. Следовательно, при высоких концентрациях никеля происходило увеличение доли вспомогательных пигментов.

На современном этапе весьма актуальным является изучение различных механизмов толерантности растений к токсическому действию тяжелых металлов. Предотвращение поступления металла в клетку достигается иммобилизацией ионов в клеточной стенке, ограничением транспорта ионов через плазмалемму, а также с помощью лигандов, хелатирующих металлы, которые выделяются из клетки в окружающую среду. Такими лигандами могут быть органические кислоты, сахара, фенолы и пептиды [15]. Известно, что никель способен формировать прочные комплексы с белками и органическими кислотами [16]. Очевидно, именно этим можно объяснить тот факт, что при его добавлении в сре-



ду в концентрациях 0,05 и 0,5 мг/л состояние пигментного аппарата существенно не изменилось.

В результате сравнительного изучения структурных характеристик мезофилла элодеи (вторая серия экспериментов) установлено, что растения, выросшие в присутствии органических (гидрохинон) и неорганических поллютантов (никель), отличались по анатомо-морфологическим параметрам.

Как показали ранее проведенные исследования [17], с возрастанием концентрации гидрохинона в среде (от 0,1 до 10 мг/л) наблюдалось значительное увеличение площади поверхности и объема клеток по сравнению с контролем и был отмечен интенсивный рост новых побегов. Так, например, при концентрации гидрохинона 10 мг/л прирост побегов элодеи за 2 месяца был в 3 раза выше по сравнению с контролем.

Однако при выращивании *E. densa* в среде с никелем (0,05 мг/л) площадь поверхности и объем клеток уменьшались на 33 и 49 % по сравнению с контролем (таблица). Как установлено в первой серии экспериментов, кратковременное инкубирование элодеи (в течение 5 суток) в среде, содержащей никель, в концентрации 0,05 мг/л, не оказало токсич-

**Таблица.** Анатомо-морфологические параметры побегов *Elodea densa*, выросших в среде с добавлением никеля и гидрохинона

Показатель, единицы измерения	Контроль (среда Хогланда- Арнона)	Ni, 0,05 мг/л	Концентрация гидрохинона, мг/л в присутствии Ni (в концентрации 0,05 мг/л)		
			0,1	1,0	10,0
Площадь поверхности клетки листа, тыс. мкм <sup>2</sup>	13,3±0,96	7,76±1,26	15,49±0,90	11,44±0,77	13,25±0,75
Объем клетки листа, тыс. мкм <sup>3</sup>	131,23±14,45	55,97±2,48	163,43±14,16	105,08±11,05	130,69±11,17
Прирост побегов, см	2,44±0,24	2,00±0,29	3,00±0,87	2,67±0,44	3,17±0,44

ческого действия на растения. Более того, ионы никеля оказали стимулирующее влияние на содержание фотосинтетических пигментов (см. рисунок). Долговременные эксперименты с выращиванием элодеи в среде с аналогичной концентрацией ионов никеля привело к задержке роста и развития растений и уменьшению величины их клеток.

При добавлении в среду с никелем гидрохинона значения анатомо-морфологических параметров хотя и увеличивались; тем не менее эти показатели были ниже по сравнению с вариантами без никеля. Особенно отчетливо этот эффект прослеживался при концентрации гидрохинона 1 и 10 мг/л: все изучаемые характеристики снижались по сравнению с вариантами без никеля. Следует отметить, что в комбинации гидрохинон-никель прирост побегов был также существенно ниже по сравнению с приростом без никеля (см. таблицу). Полученные данные позволяют сделать предположение, что в определенных концентрациях гидрохинон и никель проявляют антагонистический эффект.

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что элодея обладает высоким адаптивным потенциалом и способностью противостоять действию поллютантов за счет изменения структурно-функциональных характеристик фотосинтетического аппарата. Однако повышенные концентрации поллютантов и их сочетания оказывают токсическое действие на фотосинтетические пигменты и структурные параметры мезофилла листа, что приводит к угнетению роста и развития растений. Причем, характер действия высоких доз поллютантов и степень их влияния определяются как продолжительностью и силой воздействия, так и присутствием в среде других загрязняющих веществ.

Исследование пределов толерантности разных видов растений к поллютантам органической и неорганической природы и их сочетаниям необходимо для разработки научно обоснованных мер по улучшению экологического состояния водных объектов, повышению их самоочищающей способности и сохранению биоразнообразия гидроценозов, а также для оценки потенциала устойчивости гидроэкосистем и прогнозирования их трансформации при возрастании техногенных нагрузок.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кадукин А.И., Красинцева В.В., Романова Г.И., Тарасенко Л.В. Аккумуляция железа, марганца, цинка, меди и хрома у некоторых водных растений // Гидробиологический журнал. 1982. Т. 18. № 1. С. 79—82.
2. Золотухина Е.Ю., Гавриленко Е.Е. Тяжелые металлы в водных растениях. Аккумуляция и токсичность // Биологические науки. 1989. № 9. С. 93—106.
3. Микрякова Т.Ф. Накопление тяжелых металлов макрофитами в условиях различного уровня загрязнения водной среды // Водные ресурсы. 2002. Т. 29. № 2. С. 253—255.
4. Прасад М.Н. Практическое использование растений для восстановления экосистем, загрязненных металлами // Физиология растений. 2003. Т. 50. № 5. С. 764—780.
5. Barber J.T., Sharma H.A., Ensley H.E., Polito M.A., Thomas D.A. Detoxification of phenol by the aquatic angiosperm *Lemna gibba* // Chemosphere. 1995. V. 31. No 6. P. 3567—3574.
6. Carvalho K.M., Martin D.F. Removal of aqueous selenium by four aquatic plants // J. Aquatic Plant Manag. 2001. V. 39. P. 33—36.
7. Choo T.P., Lee C.K., Hishamuddin O. Accumulation of chromium (VI) from aqueous solutions using water lilies (*Nymphaea spontanea*) // Chemosphere. 2006. V. 62. No 6. P. 961—967.
8. Зотикова А.П., Бендер О.Г., Собчак Р.О., Астафурова Т.П. Сравнительная оценка структурно-функциональной организации листового аппарата хвойных растений на территории г. Горно-Алтайска // Вестник Томского государственного университета. 2007. № 299. С. 197—200.
9. Капитонова О.А. Особенности анатомического строения вегетативных органов некоторых видов макрофитов в условиях промышленного загрязнения среды // Экология. 2002. № 1. С. 64—66.
10. Кулагин А.А. Особенности развития тополя бальзамического (*Populus balsamifera* L.) в условиях загрязнения окружающей среды металлами // Известия Самарского научного центра РАН. 2003. Т. 5. № 2. С. 334—341.
11. Талипова Е.В., Егоршина Т.Л., Шулятьева Н.А. Влияние загрязнения среды тяжелыми металлами на пигментный комплекс ландыша майского // Актуальные вопросы ботаники и физиологии растений: материалы Междунар. науч. конф. Саранск: Изд-во Мордовского ун-та, 2004. С. 225.
12. Гавриленко В.Ф., Хандобина Л.М. Большой практикум по физиологии растений. М.: Высшая школа, 1975. 392 с.
13. Чукина Н.В., Борисова Г.Г. Структурно-функциональные показатели высших водных растений из местообитаний с разным уровнем антропогенного воздействия // Биология внутренних вод. 2010. № 1. С. 49—56.
14. Кошкин Е.И. Физиология устойчивости сельскохозяйственных культур. М.: Дрофа, 2010. 638 с.



15. *Чиркова Т.В.* Физиологические основы устойчивости растений. СПб.: Изд-во СПб. ун-та, 2002. 244 с.
16. *Кабата-Пендиас А., Пендиас Х.* Микроэлементы в почвах и растениях. М.: Мир, 1989. 439 с.
17. *Борисова Г.Г., Кислицина М.Н., Чукина Н.В.* Исследование токсического действия фенольных соединений на водные растения // Водное хозяйство России. 2010. № 4. С. 94—103.

**Сведения об авторах:**

Борисова Галина Григорьевна, д. г. н., профессор кафедры физиологии и биохимии растений, Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина (УрФУ), Институт естественных наук, департамент: биологический факультет, 620000 Екатеринбург, пр. Ленина, 51, e-mail: Borisova59@mail.ru

Кислицина Мария Николаевна, магистр кафедры физиологии и биохимии растений, УрФУ, Институт естественных наук, департамент: биологический факультет, e-mail: Mariyakislitsina@yandex.ru

Малева Мария Георгиевна, к. б. н., ассистент кафедры физиологии и биохимии растений, УрФУ, Институт естественных наук, департамент: биологический факультет, e-mail: maria.maleva@mail.ru

Чукина Надежда Владимировна, к. б. н., ассистент кафедры физиологии и биохимии растений, УрФУ, Институт естественных наук, департамент: биологический факультет, e-mail: nady\_dicusar@mail.ru