

Серебрякова Н.Н.

Региональный центр государственного экологического контроля и мониторинга по Пензенской области ФГУ «ГосНИИЭНП», г. Пенза

## ВЛИЯНИЕ КСЕНОБИОТИКОВ НА ФИЗИОЛОГИЮ И БИОХИМИЮ ЛИСТОСТЕБЕЛЬНЫХ МХОВ

Изучен характер воздействия метилфосфоновой кислоты на биохимические и физиологические процессы мхов. Рассматривается возможность использования мхов в мониторинге состояния окружающей среды в районе строительства объекта по уничтожению химического оружия.

Отравляющие вещества – супертоксичные, высокохимически активные – в малых концентрациях могут ингибировать работу ферментных систем. Кроме того, они способны к трансформации в окружающей среде. По этой причине при мониторинге состояния природных систем зоны защитных мероприятий (ЗЗМ) объектов уничтожения химического оружия (ОУХО) внимание должно уделяться не только отравляющим веществам (ОВ), но и продуктам их деструкции [4–6]. Вместе с тем проблема воздействия продуктов деструкции реакционных масс, образующихся после уничтожения химического оружия (ХО), на живые системы остается малоизученной [7]. Метилфосфоновая кислота (МФК) – конечный продукт гидролиза всех фосфорорганических ОВ [8] – устойчива к действию многих факторов окружающей среды (гидролиз, фотолиз и термическое воздействие). Его стойкость немного выше исходных ОВ и превышает 10 лет [8–10]. В связи с этим оценка воздействия МФК на живые системы является особенно актуальной при осуществлении мониторинга ЗЗМ ОУХО.

В качестве модельного объекта для оценки влияния МФК на живые системы мы использовали растения мхов. Известно, что загрязнители влияют на растительный организм как биохимические агенты, нарушают ультрамикроскопические структуры клеток, физиологические процессы (рост, развитие, размножение, метаболизм) и морфологические проявления [11, 12]. Мхи благодаря простоте организации одними из первых реагируют на изменение концентрации поллютантов в окружающей среде. Им принадлежит существенная роль в процессах первичного перехватывания и аккумуляции различных

загрязнителей. Именно поэтому мы и выбрали мхи в качестве модельной группы.

Целью работы являлась оценка воздействия различных концентраций МФК на растения мхов для определения их пороговой чувствительности и выявления закономерностей проявления стрессовых реакций.

### Материал и методика

Для изучения влияния МФК на физиологические параметры бриофитов образцы листостебельных мхов *Stereodon pallescens* (Hedw.) Mitt., *Dicranum polysetum* Sw. и *Pleurozium schreberi* (Brid.) Mitt. отбирались на экологически благополучной территории государственного природного заповедника «Приволжская лесостепь» (участок «Верховье реки Суры») из сосново-березового сообщества, с учетом гомогенности условий (экспозиция, освещенность, порода дерева, для эпифитных видов, влажность, тип почвы). Последнее необходимо по причине того, что у видов, произрастающих в разных условиях, отличаются многие физиологические параметры, в частности содержание пигментов [13]. В лаборатории были созданы оптимальные условия для жизнедеятельности исследуемых видов мхов: температура воздуха 22–23° С, освещенность – 1600 Лк. Растительные организмы весом 1 г помещали в чашки Петри, предварительно заполненные чистым песком, экспонировали в течение одного часа в созданных условиях, а затем в субстрат добавляли по 10 мл растворов МФК в концентрациях  $10^{-1}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  моль/л. В контроль добавляли такое же количество дистиллированной воды. Физиологические параметры мхов определяли в интервале одни, пять и десять суток.

Для оценки изменения физиологического и биохимического состояния растений мхов определяли содержание малонового диальдегида (как показателя стрессовой реакции растения) и параметры состояния фотосинтетического аппарата – содержание пигментов (хлорофиллов *a* и *b* и каротиноидов) и уровень флуоресценции хлорофилла. Для определения содержания пигментов использовали стандартную методику спектрофотометрического анализа ацетоновой вытяжки пигментов. Экстракцию пигментов проводили 80-процентным ацетоном (Гавриленко, 2003). Концентрации хлорофиллов *a* и *b* и каротиноидов определяли на спектрофотометре СФ-46 ЛОМО. Для определения содержания малонового диальдегида использовали его способность взаимодействовать с 2-тиобарбитуровой кислотой с образованием окрашенного продукта с максимумом поглощения при 532 нм. [14]. Оценку уровня флуоресценции хлорофилла проводили на приборе флюорате-02 ПАНОРАМА. Этот показатель характеризует интегральное состояние пигментных систем, в частности интенсивность первичных реакций фотосинтеза, процессы миграции энергии, функциональную активность первой и второй фотосистем [15].

## Результаты

### *Stereodon pallescens*

В результате наших исследований оказалось, что МФК стимулирует синтез малонового диальдегида у мха *Stereodon pallescens*, причем его содержание возрастает с ростом концентрации токсиканта (рис. 1). Это свидетельствует о развитии стрессовой реакции и о прямой зависимости ее от МФК. Стрессовая реакция приводит к изменению в функционировании пигментных систем растения. При наиболее низкой концентрации МФК уровень флуоресценции хлорофилла не изменяется по сравнению с контролем, а при более высоких концентрациях значительно подавляется. Причем это происходит, несмотря на возрастание содержания хлорофиллов в растении. По всей видимости, синтез пигментов является защитной реакцией системы на действие поллютанта, однако только в наиболее низкой его концентрации ( $10^{-4}$  моль/л) этого оказалось достаточно, чтобы сохранить фотосинтезирующую систему в режиме нормальной работы. Учитывая физиологические и биохимические изменения в образцах мхов вида *Stereodon pallescens*, можно предположить, что концентрации МФК  $10^{-1}$  и  $10^{-3}$  моль/л являются ток-

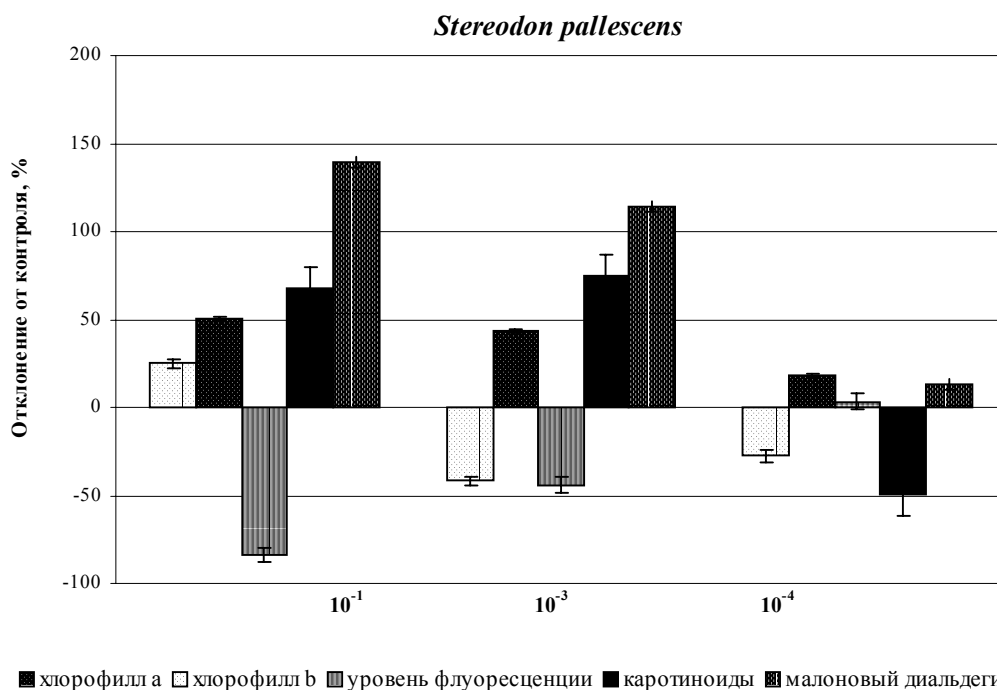


Рисунок 1. Изменение физиологических и биохимических параметров мха *Stereodon pallescens* при обработке МФК в концентрациях  $10^{-1}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  моль/л. Планки погрешностей – стандартное отклонение.

сичными и в конечном результате могут привести к гибели растительного организма, тогда как концентрация  $10^{-4}$  моль/л не оказывает столь губительного действия.

**Dicranum polysetum**

*Dicranum polysetum* отличается специфичной реакцией на воздействие МФК. Обнаружено, что токсикант на зеленые пигменты и

на их функцию повлиял значительно меньше (рис. 2), чем на содержание каротиноидов и малонового диальдегида (рис. 3). Стрессовая реакция у этого вида мхов выразилась в синтезе малонового диальдегида и особенно каротиноидов (отклонение от контроля более 3000%). Однако общая картина реакции растения на токсикант оказалось схожей с тако-

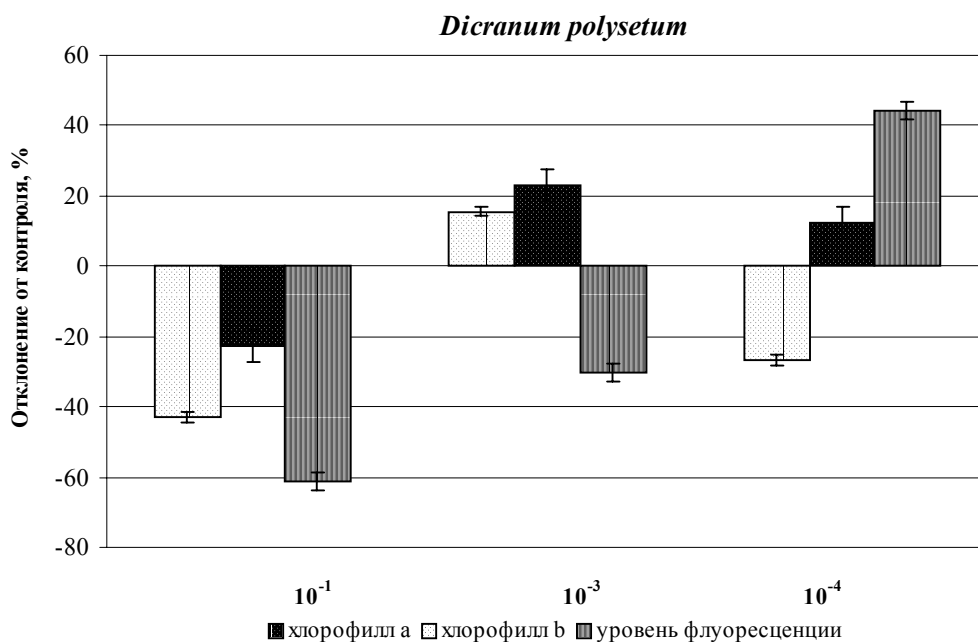


Рисунок 2 Изменение содержания зеленых пигментов и активности фотосинтетического аппарата мха *Dicranum polysetum* при обработке МФК в концентрациях  $10^{-1}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  моль/л. Планки погрешностей – стандартное отклонение.

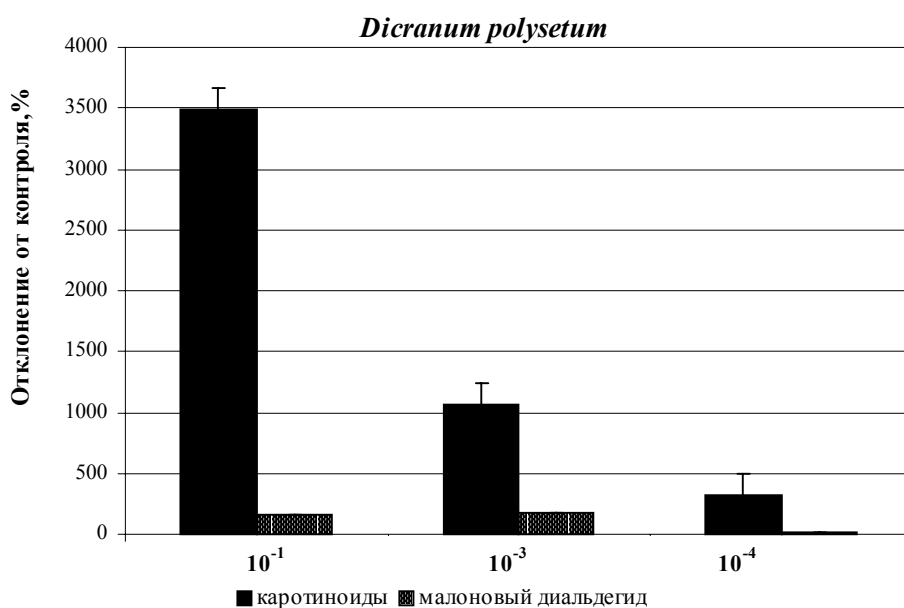


Рисунок 3 Изменение содержания каротиноидов и малонового диальдегида в растении вида *Dicranum polysetum* при обработке МФК в концентрациях  $10^{-1}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  моль/л. Планки погрешностей – стандартное отклонение.

вой у предыдущего вида. При наименьшей концентрации МФК ( $10^{-4}$  моль/л) защитные реакции способствовали не только сохранению устойчивости функционирования фотосинтетической системы, но и ее активации. При более высокой концентрации ( $10^{-3}$  моль/л) повышение синтеза хлорофиллов не компенсировало снижение уровня флуоресценции, а при самой высокой концентрации ( $10^{-1}$  моль/л) ухудшение состояния по всем параметрам. Таким образом, и для этого вида можно предположить, что концентрации МФК  $10^{-1}$  и  $10^{-3}$  моль/л являются токсичными, а концентрация  $10^{-4}$  моль/л не оказывает токсического действия.

***Pleurozium schreberi***

Реакция растений мха вида *Pleurozium schreberi* на воздействие МФК в разных концентрациях показана на рис. 4. Оказалось, что содержание малонового диальдегида, отражающее развитие стрессовой реакции, возрастает с увеличением концентрации токсиканта. При всех концентрациях МФК отмечается снижение уровня флуоресценции хлорофилла, т. е. ухудшение работы фотосинтетического аппарата. При низких концентрациях МФК ( $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  моль/л) развиваются защитные процессы, выражающиеся в синтезе пигментов (хлорофилла *b* и каротиноидов), однако при максимальной концентрации МФК

все параметры пигментной системы ингибируются. Таким образом, на этот вид мха МФК оказывает токсическое действие уже при наименьшей из изученных концентраций.

**Обсуждение**

Загрязняющие вещества, поступившие в окружающую среду, вызывают развитие стрессовых реакций у растений. Под влиянием загрязнителей происходит нарушение баланса между механизмами, запускающими окислительные реакции, и клеточной антиоксидантной защитой. В результате в тканях повышается концентрация активных форм кислорода, которые вызывают окисление клеточных структур. В первую очередь происходит перекисное окисление мембранных липидов. Оценить интенсивность перекисного окисления липидов можно по накоплению в тканях одного из конечных продуктов этого процесса – малонового диальдегида. Этот бифункциональный альдегид способен образовывать шиффовы основания с аминокетонами белка, выступая в качестве сшивающего агента. В результате образуются нерастворимые белок-липидные комплексы, называемые пигментами изнашивания или липофуцинами [16]. В ходе нашего исследования оказалось, что МФК во всех концентрациях вызывала синтез малонового диальдегида, при-

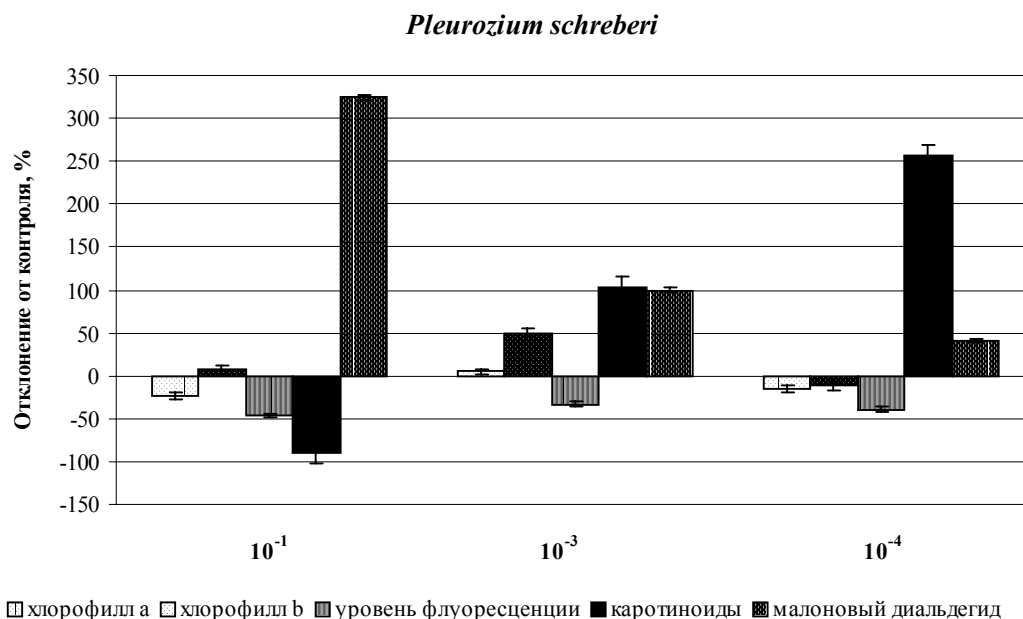


Рисунок 4. Изменение физиологических и биохимических параметров мха *Pleurozium schreberi* при обработке МФК в концентрациях  $10^{-1}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  моль/л. Планки погрешностей – стандартное отклонение.

чем его содержание прямо коррелировало с концентрацией токсиканта в среде.

Мхи – хлорофиллосодержащие организмы, им присущ жизненно важный процесс фотосинтеза. Одним из показателей изменения физиологии мохообразных является состояние фотосинтетического аппарата, в частности содержание пигментов: хлорофилла *a* и *b*, а также для количественного соотношения пигментов учитываются каротиноиды. Другой показатель – уровень флуоресценции хлорофилла – излучение световой энергии при переходе фотовозбужденной молекулы пигмента из первого возбужденного состояния в основное, невозбужденное. В ходе нашего исследования оказалось, что уровень флуоресценции как интегральный показатель состояния фотосинтетического аппарата ингибируется при концентрации МФК  $10^{-4}$  моль/л  $10^{-3}$  у видов *Stereodon pallescens* и *Dicranum polysetum*,  $10^{-4}$  моль/л у вида *Pleurozium schreberi*. Эти цифры указывают на порог чувствительности мхов и свидетельствуют об их различной способности выдерживать присутствие в среде токсиканта. Интересно, что у одного из изу-

ченных видов (*Dicranum polysetum*) при наименьшей концентрации МФК наблюдалась стимуляция фотосинтеза, что согласуется с другими работами [17], в которых было показано, что при концентрации МФК  $> 10^{-2}$  моль/л наблюдается угнетение роста проростков подсолнечника, а при концентрациях менее  $10^{-3}$  моль/л – активация.

### **Заключение**

Таким образом, исходя из анализа полученных результатов, можно сделать вывод, что МФК вызывает стрессовые реакции у изучаемых трех видов бриофитов *Pleurozium schreberi*, *Dicranum polysetum*, *Stereodon pallescens* в форме нарушения физиологических и биохимических процессов, которое выражается в увеличении или разрушении зеленых пигментов, и, как следствие этого, снижается уровень флуоресценции, а также в синтезе и накоплении каротиноидов и малонового диальдегида. Наиболее чувствительным видом к воздействию МФК стал *Pleurozium schreberi*, тогда как вид *Stereodon pallescens* оказался более устойчивым к воздействию МФК.

### **Список использованной литературы:**

1. Федеральный закон «Об уничтожении химического оружия» // Собрание законодательства Российской Федерации. – 1997. – №18. – С. 2105.
2. Федеральная целевая программа «Уничтожение запасов химического оружия в Российской Федерации». Постановление Правительства Рос. Федерации // Собрание законодательства Российской Федерации. – 2001. – №29. – С. 3020.
3. Указ Президента РФ от 24 марта 1995 г. №314 «О подготовке Российской Федерации к выполнению международных обязательств в области химического разоружения» // Собрание законодательства Российской Федерации. – 1995. – №13. – С. 1128.
4. Александров В.Н., Емельянов В.И. Отравляющие вещества. – М.: Воениздат, 1990. – 218 с.
5. Черных Н.А., Сидоренко С.Н. Экологический мониторинг токсикантов в биосфере. – М.: Изд-во РУДН, 2003. – 432 с.
6. Толстых А.В., Шляхтин Г.В., Иванов К.Н., Завьялов Е.В., Перевозникова Т.В., Березуцкий М.А., Костецкий О.В. Разработка, внедрение и эксплуатация системы биологического мониторинга на объекте по уничтожению химического оружия в Саратовской области // Поволжский экологический журнал. Спец. Выпуск. – 2005. – С. 47–63.
7. Голденков В.А., Дикий В.В., Лизунова Г.В. Феномен множественной химической чувствительности как следствие воздействия сверхмалых доз веществ // Рос. хим. журн. – 2002. – Т. 46. – №6. – С. 39–45.
8. Савельева Е.И., Зенкевич И.Г., Кузницова Т.А., Радилов А.С., Пшеничная Г.В. Исследования продуктов превращений фосфорорганических отравляющих веществ методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии // Рос. хим. журн. – 2002. – Т. 46. – Вып. 6. – С. 82–92.
9. Ашихмина Т.Я. Комплексный экологический мониторинг объектов хранения и уничтожения в зонах химического оружия. – Киров: Вятка, 2002. – 539 с.
10. Брудник В.В., Егоров И.В., Алексенко С.С., Конешова Е.Ю., Радюшкина Т.А. Экологический контроль лизина и метилфосфоновой кислоты на объектах по уничтожению химического оружия // Поволжский экологический журнал. Спец. Выпуск. – 2005. – С. 5–14
11. Гудериан Р. Загрязнение воздушной среды. – М., 1979. – 200 с.
12. Демкив Л.О., Кардаш А.Р., Лобачевская О.В. Мхи как индикаторы загрязнения экосистем тяжелыми металлами // Растения и промышленная среда. – Днепропетровск, 1990. – С. 15–16.
13. Служка З.А. О содержании хлорофилла у мхов в производных типах леса // Вестн. Моск. Ун-та. Сер. Биология. – 1978. – №1 – С. 23–27.
14. Лукаткин А.С. Холодное повреждение теплолюбивых растений и окислительный стресс. – Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2002. – 208 с.
15. Гавриленко В.Ф., Жигалова Т.В. Большой практикум по фотосинтезу /Под ред. Ермакова И.П. – Москва; acadma, 2003. – 250 с.
16. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Наука, 1972. – 252 с.
17. Мандыч В.Г., Скоробогатова В.И., Щербакова Л.Ф., Кубцов С.Н. и др. Некоторые аспекты воздействия метилфосфоновой кислоты на растения подсолнечника // Поволжский экологический журнал. Спец. выпуск. – 2005. – С. 30–39.