

ВЛИЯНИЕ НАКОПЛЕНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА СОДЕРЖАНИЕ ПИГМЕНТОВ ФОТОСИНТЕЗА И ФЕРТИЛЬНОСТЬ ПЫЛЬЦЕВЫХ ЗЕРЕН

Харитонцев Б.С., Чемагин А.А., Попова Е.И.

Тобольская комплексная научная станция УрО РАН, Тобольск, e-mail: popova-3456@mail.ru

Исследование посвящено изучению воздействия тяжелых металлов на фотосинтетические пигменты и фертильность пыльцевых зерен в антропогенных фитоценозах. Среди выявленных поллютантов, накапливающихся растениями, выделили группу тяжелых металлов (As, Cr, Cu, Mo, Ni, Pb, Sr, Zn). К информативным методам относятся показатели фотосинтетического аппарата растений, поскольку количество пигментов в тканях определяет их функциональное состояние и изменения, происходящие при росте, развитии и стрессах. Показано, что максимальное содержание хлорофилла *a* и *b* отмечается в менее загрязненных участках. В стрессовых антропогенных условиях регистрируется повышенное содержание каротиноидов. В качестве метода исследования использовали спектрофотометрический метод определения содержания пигментов. Для комплексного изучения антропогенной нагрузки определяли фертильность пыльцевых зерен йодным методом. При повышенной антропогенной нагрузке достоверно увеличивается количество стерильной пыльцы.

Ключевые слова: тяжелые металлы, фотосинтез, пигменты, хлорофилл, каротиноиды, спектрофотометрический метод, фитоценоз.

INFLUENCE ACCUMULATION OF HEAVY METALS AT THE CONTENT OF PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS AND FERTILITY POLLEN GRAINS

Kharitontsev B.S., Chemagin A.A., Popova E.I.

Tobolsk Complex Scientific Station UD RAS, Tobolsk, e-mail: popova-3456@mail.ru

The research is devoted to studying impact of heavy metals at photosynthetic pigments and fertility of pollen grains in anthropogenic plant communities. Among the identified pollutants that accumulate in plants have identified a group of heavy metals (As, Cr, Cu, Mo, Ni, Pb, Sr, Zn). The informative methods include indicators of the photosynthetic apparatus of plants; because the number of pigments in the tissue determines their function and changes that occur with growth, development and stress. It is shown that the maximum content of chlorophyll *a* and *b* is marked in the less contaminated areas. In stressful anthropogenic conditions registered an increased content of carotenoids. As a research method used spectrophotometric method for determination of pigments. For complex study of anthropogenic load determined fertility of pollen grains by iodine method. With increased anthropogenic load authentically increases the number of sterile pollen.

Keywords: heavy metals, photosynthesis, pigments; chlorophyll; carotenoids; spectrophotometric method; plant communities.

Загрязнение тяжёлыми металлами нарушает естественно сложившиеся фитоценозы, накапливаясь в органах и тканях растений, тяжелые металлы оказывают негативное воздействие на физиологические процессы растений [1,2,3,4, 6].

Состояние растительных сообществ является одним из основных индикаторов экологической ситуации. Фотосинтетический аппарат в первую очередь подвергается воздействию стрессовых факторов. Особый интерес в этой ситуации представляет роль фотосинтетических пигментов – компонентов фотосинтетических структур (фотосистем I и II и светособирающих комплексов) – хлорофилла *a*, хлорофилла *b* и каротиноидов [5,7, 8].

Загрязнение окружающей среды также негативно сказывается на продуктивности растений. Основное количество загрязняющих веществ накапливается в вегетативных

органах, но репродуктивная система также подвергается значительному негативному воздействию. Мужская генеративная сфера растений может служить показателем экологического благополучия: под воздействием антропогенных загрязнителей снижается жизнеспособность и качество пыльцы [9,11,12,13,14].

Цель исследования: определить воздействие тяжелых металлов на содержание пигментов фотосинтеза и фертильность пыльцевых зерен.

Материал и методы исследования

Для определения степени антропогенного воздействия были подобраны наблюдательные площадки с разной интенсивностью техногенной нагрузки.

Площадка № 1. Растительная ассоциация: Вейниково-разнотравное остепненное сообщество *Steppe-varieherbetum calamagrostidosum*. Географические координаты: N58°15,630', E068°28,878'. Рельеф ровный и плоский. Антропогенное воздействие не выражено. Общее проективное покрытие живого напочвенного покрова: 100 %. Средняя высота травостоя: 90 см.

Площадка № 2. Название растительной ассоциации: Придорожное рудеральное сообщество *Ruderoherbosa*. Географические координаты: N 58°15'36,9", E 068°25',52,8". Рельеф ровный и плоский. Антропогенное воздействие: выраженный, около автодороги. Общее проективное покрытие живого напочвенного покрова: 70 %. Другие особенности: прилегающая к асфальту часть полотна дороги имеет общее проективное покрытие < 5 %. Средняя высота травостоя: 60 см.

Площадка № 3. Название растительной ассоциации: Придорожное рудеральное сообщество *Ruderoherbosa*. Географические координаты: N 58°15'30,7", E 068°27'30,5". Рельеф ровный и плоский. Антропогенное воздействие: искусственный техногенный субстрат, около автодороги. Общее проективное покрытие живого напочвенного покрова: 60 %. Другие особенности: прилегающая к асфальту часть полотна дороги имеет общее проективное покрытие < 3 %. Средняя высота травостоя: 50 см.

Отбор образцов почв и пробоподготовка для количественного химического анализа проведены в соответствии с [14].

Подготовка проб осуществлялась с использованием системы микроволнового разложения speedwave MWS-2 фирмы PerkinElmer (США).

Количественный химический анализ накопления микроэлементов и тяжелых металлов As, Cr, Cu, Mo, Ni, Pb, Sr, Zn в образцах почвы, общей фитомассе методом индуктивно-связанной плазмы на атомно-эмиссионном спектрометре OPTIMA-7000DV фирмы PerkinElmer (США). Для градуировки использовали стандартные растворы фирмы PerkinElmer (США).

В качестве метода определения содержания пигментов был выбран спектрофотометрический метод [10,15,16]. Пробы отбирались в летний период, в дневное время. Экстракция проводилась в 90 % этаноле. Оптическую плотность вытяжек определяли на спектрофотометре UNICO-1200. Концентрацию хлорофиллов a , b и каротиноидов (C) рассчитывали по уравнениям Винтерманс и Де Мотс для этанола [15]:

$$C_a = 13,70 \times E_{665} - 5,76 \times E_{649} \quad (1)$$

$$C_b = 25,80 \times E_{649} - 7,60 \times E_{665} \quad (2)$$

$$C_k = 4,7 \times E_{440} - 0,27 \times C_{(a+b)} \quad (3)$$

Фертильность пыльцевых зерен определяли йодным методом. Окрашивание проводилось по йодной методике, подсчет пыльцевых зерен производился до 500 зерен в случайных полях зрения, насыщенность препарата высокая. Методика основана на различном прокрашивании спермиев и цитоплазмы клеток пыльцевых зерен. Исследования проводили с помощью светового микроскопа [12,17,18,19].

Результаты исследований и их обсуждение

На участке № 1 из слагающих его растительности выявлено 16 видов сосудистых растений. Из 16 видов сосудистых растений на участке № 2 представлено 13 видов. На участке № 3 обнаружено 11 видов. Общих видов на обеих площадках 10.

Общие виды для трех площадок: *Achillea millefolium* L., *Epilóbium angustifolium* L., *Leucanthemum vulgare* L., *Melilotus albus* Medik, *Elytrigia repens* (L.) Nevski, *Phragmites australis* (Cav.) Trin.ex Steud. *Tripleurospermum perforatum* (Merat) L. Lainz, *Plantago major* L., *Aegopodium podagraria* L., *Taraxacum officinale* L.

Основными загрязнителями в почве являются: Zn, Pb,Cu; в растениях: Pb,Cu,Zn.

В почвах наблюдаемых участков, в большей степени подверженных техногенным воздействиям, тяжелые металлы варьировали в пределах: As (4,53-7,38); Cr (41,40-32,75); Cu (14,60-17,63); Mo (6,52-6,81); Ni (17,56-27,45); Pb (70,65-85,48); Sr (19,89-22,31); Zn (16,93-20,02) мг/кг.

Тяжелые металлы накапливаются не только в почве, но и растениях. Растения накапливают тяжелые металлы в тканях и на поверхности органов. Наибольшая аккумуляция тяжелых металлов выявлена в общей фитомассе участка № 3 по отношению к Zn, Cu, Sr и Pb (рис.1).

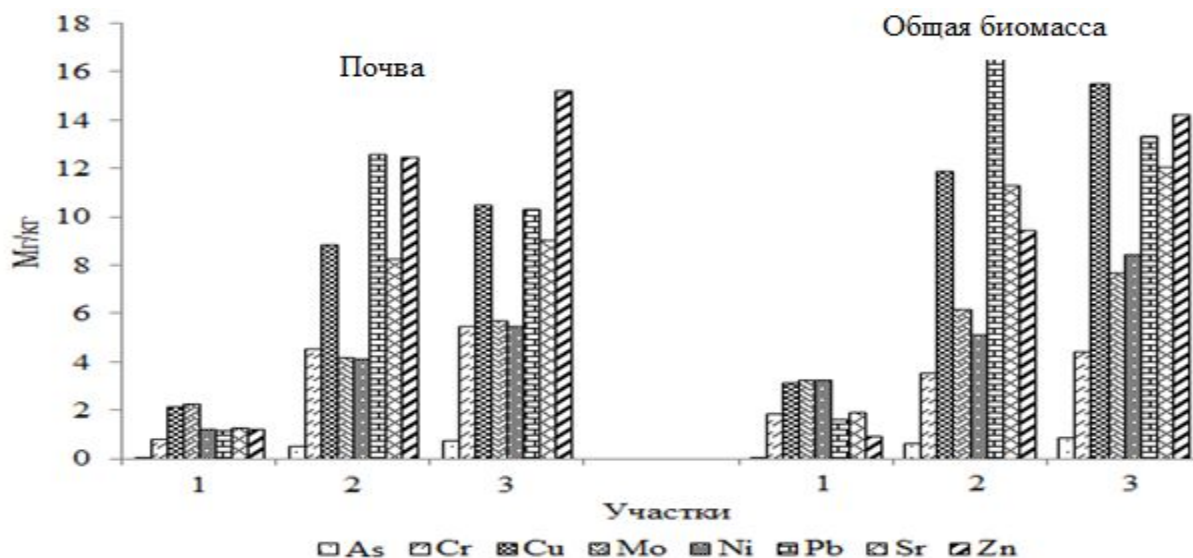


Рис. 1. Содержание тяжелых металлов в почве и общей биомассе наблюдаемых участков

Компоненты фотосинтетического аппарата имеют ключевое значение в жизни растения в стрессовых условиях роста, развития, размножения, перенесения неблагоприятных условий. Для исследования взяли растения, которые являются общими для всех трех участков. На рисунке 2 наблюдается резкое различие содержания пигментов разных групп.

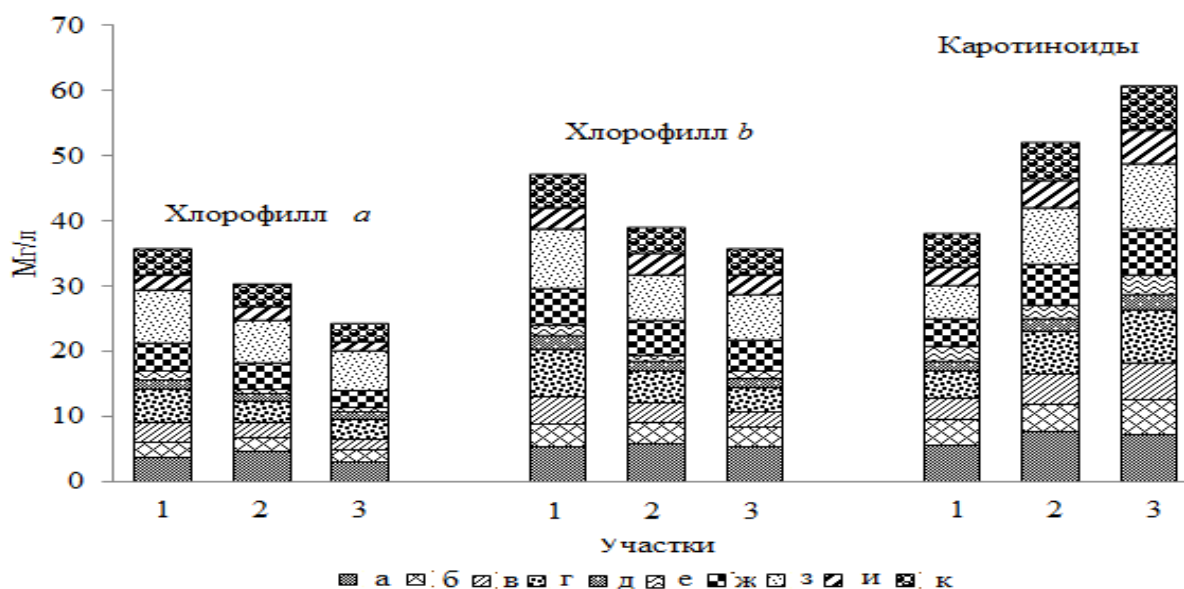


Рис. 2. Содержание Хлорофилла а, б и каротиноидов в растениях исследуемых участков.

- 1- *Achillea millefolium* L., 2- *Epilobium angustifolium* L., 3- *Leucanthemum vulgare* L.,
 4- *Melilotus albus* Medik., 5- *Elytrigia repens* (L.)Nevski, 6- *Phragmites australis* (Cav.)
 Trin.ex Steud., 7- *Tripleurospermum perforatum* (Merat)L.Lainz, 8- *Plantago major* L., 9-
Aegopodium podagraria L., 10- *Taraxacum agg. officinale* L.

Соотношение и содержание изученных пигментов свидетельствует о том, что рассматриваемые виды – светолюбивые растения. Исходя из полученных в ходе исследования данных, видно, что у всех видов преобладает основной хлорофилл *a* в сравнении с содержанием вспомогательного хлорофилла *b*.

Из указанных данных видно, что у растений, произрастающих в антропогенных условиях, концентрация хлорофилла *b* также снижется в сравнении с контрольным участком.

В стрессовых антропогенных условиях регистрируется повышенное содержание каротиноидов. Так, содержание общих каротиноидов на участках с антропогенным воздействием варьировало: у *Achillea millefolium* L. (4,02-4,23), *Epilóbium angustifolium* L. (3,99-4,65), *Leucanthemum vulgare* L. (6,10-6,38), *Melilotus albus* Medik. (1,52-1,99), *Elytrigia repens* (L.) Nevski (1,91-2,36), *Phragmites australis* (Cav.) Trin.ex Steud. (5,98-6,48), (*Tripleurospermum perforatum* (Merat) L.Lainz (7,89-8,01), *Plantago major* L. (8,01-8,48), *Aegopodium podagraria* L. (3,89-4,25), *Taraxacum officinale* L. (5,01-5,78) мг/г.

Таким образом, тяжелые металлы воздействуют на видовое разнообразие фитоценозов. Происходит уменьшение числа видов на участках с наибольшей антропогенной нагрузкой.

Показано, что концентрация хлорофилла *a*, *b* и каротиноидов изменяется в зависимости от условий произрастания. Максимальное содержание хлорофилла *a* и *b* отмечается в менее загрязненных участках.

В стрессовых антропогенных условиях регистрируется повышенное содержание каротиноидов.

Для определения фертильности пыльцевых зерен, изучали растения, которые являются общими для всех участков. Фертильными считали пыльцевые зерна, полностью окрашенные в темно-фиолетовый цвет, стерильными – окрашенные частично (рис.3).

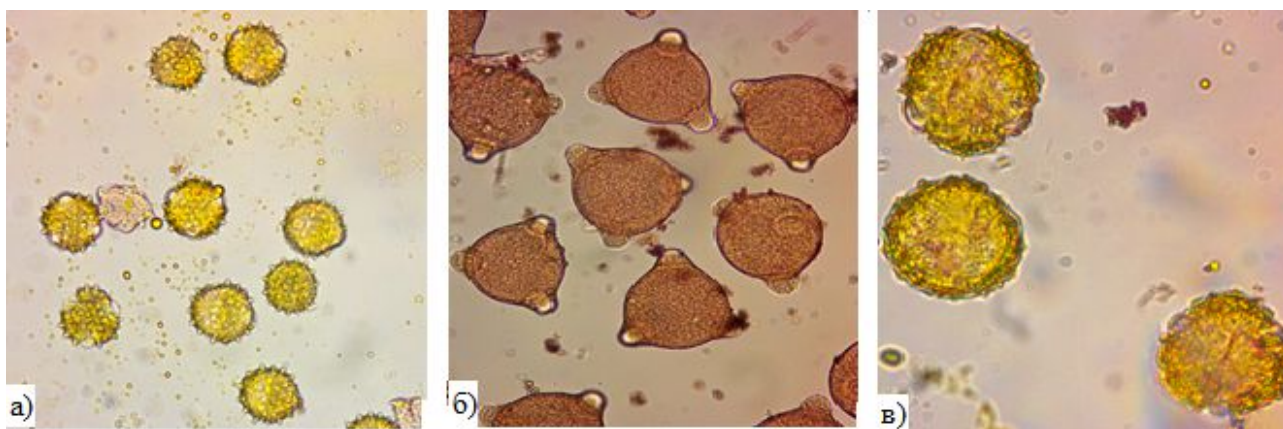


Рис. 3. Окрашенные пыльцевые зерна: а) *Achillea millefolium* L.; б) *Epilóbium angustifolium* L.; в) *Leucanthemum vulgare* L.

Применение йодной методики окрашивания пыльцы показало, что процент стерильных пыльцевых зерен достаточно высок на участках с наиболее высокой антропогенной нагрузкой. По данным йодной методики в образцах растений с участка №2,3 количество стерильных зерен достаточно велико: *Achillea millefolium* L. (12,3-18,3); *Epilóbium angustifolium* L. (6,2-17,2); *Leucanthemum vulgare* L. (11,8-22,0); *Melilotus albus* Medik (8,3-21,4); *Elytrigia repens* (L.) Nevski (7,6-9,5); *Phragmites australis* (Cav.) Trin.ex Steud. (8,9-2,4); *Tripleurospermum perforatum* (Merat) L.Lainz (7,1-9,3); *Plantago major* L. (9,2-14,2); *Aegopodium podagraria* L. (10,2-16,3); *Taraxacum officinale* L. (11,3-14,1) (таблица).

Количество стерильных пыльцевых зерен у растений участков с разной антропогенной нагрузкой, %

№ п/п	Виды	Участки		
		1	2	3
1	<i>Achillea millefolium</i> L.	2,3	12,3	18,3
2	<i>Epilóbium angustifolium</i> L.	8,9	6,2	17,2
3	<i>Leucanthemum vulgare</i> L.	10,2	11,8	22,0
4	<i>Melilotus albus</i> Medik	3,6	8,3	21,4
5	<i>Elytrigia repens</i> (L.) Nevski	6,3	7,6	9,5
6	<i>Phragmites australis</i> (Cav.) Trin.ex Steud.	5,3	8,9	12,4
7	<i>Tripleurospermum perforatum</i> (Merat) L.Lainz	4,6	7,1	9,3
8	<i>Plantago major</i> L.	5,3	9,2	14,2
9	<i>Aegopodium podagraria</i> L.	4,9	10,2	16,3
10	<i>Taraxacum officinale</i> L.	6,8	11,3	14,1

Причины появления стерильных пыльцевых зерен могут быть связаны с накоплением тяжелых металлов в почве и растительности исследуемых участков. Таким образом, необходимо продолжить исследования пыльцы на протяжении нескольких лет.

У всех растений на изучаемых участках при увеличении накопления поллютантов уменьшается содержание хлорофилла *a* и *b*, возрастает доля каротиноидов и снижается фертильность пыльцы, но эта общая закономерность проявляется количественно, по-разному у изучаемых видов. Наиболее резкое возрастание стерильной пыльцы отмечено у *Epilóbium angustifolium* L., *Phragmites australis* (Cav.) Trin.ex Steud., *Leucanthemum vulgare* L. Механизмы реагирования растений на действие загрязнителей характеризуются разными величинами ответных реакций, обусловленных их биологическими особенностями.

Melilotus albus Medik – симбионт с азотфиксирующими бактериями, полностью зависит от их жизнедеятельности. Накопленные тяжелые металлы резко снижают активность азотфиксаторов и, как следствие, угнетающе действуют на данный вид, что отражается на увеличении процента стерильности пыльцы.

Биология *Aegopodium podagraria* L. связана с синтезом эфирных масел в органах растения. Накопление тяжелых металлов нарушает механизмы синтеза, снижает

жизнеспособность особей, что проявляется в увеличении процента стерильных пыльцевых зерен.

Выводы

Продемонстрировано, что наиболее сильное угнетение испытывает экосистема, расположенная в зоне прямого техногенного воздействия (участок № 3). В более благоприятных условиях находится территории участка № 1. Участок № 2 находится в существенном нарушении экологической ситуации.

Показано, что концентрация хлорофилла *a*, *b* и каротиноидов изменяется в зависимости от условий произрастания. Максимальное содержание хлорофилла *a* и *b* отмечается в менее загрязненных участках.

В стрессовых антропогенных условиях регистрируется повышенное содержание каротиноидов.

При повышенной антропогенной нагрузке достоверно увеличивается количество стерильной пыльцы.

Список литературы

1. Булохов А.Д. Экологическая оценка среды методами фитоиндикации. – Брянск: Изд-во БГПУ, 1996. – 104 с.
2. Годнев Т.Н. Строение хлорофилла и методы его количественного определения. – Минск: Изд. АН БССР, 1952. – 215 с.
3. Дзюба О. Ф. Палиноиндикация качества окружающей среды. – СПб., 2006. – 198 с.
4. Жиров В.К., Голубева Е.И., Говорова А.Ф., Хаитбаев А.Х. Структурно-функциональные изменения растительности в условиях техногенного загрязнения на Крайнем севере. – М.: Наука, 2007. – 166 с.
5. Зотикова А.П., Воробьева Н.А., Соболевская Ю.С. Динамика содержания и роль каротиноидов хвойкедра сибирского в высокогорье // Вестник Башкирского ун-та. – 2001. – № 2 (II). – С. 67-69.
6. Ильина С.П. Морфологические изменения растений, используемые для биоиндикации загрязнения окружающей среды // Проблемы экологии и экологического образования Челябинской области: Материалы конференции. Челябинск: ЧелГУ, 2001. – С. 37-38.
7. Карнаухов В.Н. Биологические функции каротиноидов. – М.: Наука, 1988. – 240 с.
8. Корнюшенко Г.А., Соловьева Л.В. Экологический анализ содержания пигментов в листьях горно-тундровых трав // Ботанический журнал. – 1994. – Т. 79, вып. 2. – С. 80-101.
9. Ландратова А.С. Деревья и кустарники Карелии. – Петрозаводск, 1991. – 232 с.

10. Мерзляк М.Н., Чивкунова О.Б., Лехимена Л., Белевич Н.П. Ограничения и дополнительные возможности спектрофотометрического анализа пигментов в экстрактах листьев высших растений // Физиология растений. – 1996. – Т. 43. – С. 926-936.
11. Опекунова М.Г. Биоиндикация загрязнений. – СПб.: Изд-во СПбГУ, 2004. – 266 с.
12. Паушева З. П. Практикум по цитологии растений. – М., 1974.– 237 с.; 1988. – 271 с.
13. Попова Е.И. Влияние антропогенных факторов химической природы на морфо-биологическую изменчивость *Plantagomajor* L. и *Plantagomedia* L. // Научные ведомости БелГУ. – Белгород: Изд-во БелГУ, 2011. – № 9 (104). – Вып. 15. – С. 57–62.
14. Починок Х.Н. Методы биохимического анализа растений. – Киев: Наук. думка, 1976. – С. 213-216.
15. Шлык А.А. Определение хлорофилла и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев // Биохимические методы в физиологии растений / под ред. Павлиновой О.А. – М.: Наука, 1971. – С. 154-170.
16. Шлык А.А. О спектрофотометрическом определении хлорофиллов а и b. // Биохимия, 1968. – Т.33, вып. 2. – С. 275-285.
17. Mukhin V.A., Betekhtina A.A. Adaptive significance of endomycorrhizas for herbaceous plants // Russian Journal of Ecology. – 2006. – Т. 37. – № 1. – P. 1-6.
18. Voronkova N.M., Burkovskaya E.V., Burundukova O.L., Bezdeleva T.A. Morphological and biological features of plants related to their adaptation to coastal habitats // Russian Journal of Ecology. – 2008. – Т. 39, № 1. – P. 1-7.
19. Zaitsev G.A., Kulagin A.Yu. Root system formation in Scotch pine (*Pinussylvestris* L.) under conditions of technogenesis (Ufa Industrial Center) // Russian Journal of Ecology. 2005. – Т. 36, №2. – P. 127-130.