

Поиск информативных биохимических тестов в практике экологического мониторинга особо опасных объектов

© 2011. А. И. Иванов^{1,2}, д.б.н., профессор, исп. директор, Т. А. Дунаева¹, н.с., Е. А. Домнина³, к.б.н., доцент, Т. Я. Ашихмина^{3,4}, д.т.н., профессор, зав. лабораторией, Г. П. Дудин⁵, д.б.н., зав. кафедрой,

¹Региональный центр государственного экологического контроля и мониторинга по Пензенской области,

²Пензенская государственная сельскохозяйственная академия,

³Вятский государственный гуманитарный университет,

⁴Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,

⁵ Вятская государственная сельскохозяйственная академия,

e-mail: rcgekim@mail.ru

Изложены основные аспекты лишеноиндикации в условиях урбанизированных территорий и лесных массивов. В условиях химического загрязнения изучено накопление общего фосфора в слоевищах лишайников, выявлены изменения содержания малонового диальдегида, пигментов и флюоресценции хлорофилла в ответ на стрессовые воздействия.

The fundamental aspects of lichenindication at urban territories and in forest conditions are given. Accumulation of phosphorus in lichens, content variation of malone dialdehyde and pigments, chlorophyll fluorescence as a reaction to stress impact are examined.

Ключевые слова: лишайники, малоновый диальдегид, пигменты, фосфор

Key words: lichens, malone dialdehyde, pigments, phosphorus

Обеспечение безопасности населения, окружающей природной среды – одна из приоритетных задач химического разоружения. На территориях зоны защитных мероприятий (ЗЗМ) объектов хранения и уничтожения химического оружия (ХУХО) проводится комплексный экологический мониторинг, в том числе и методами лишеноиндикации, которые достаточно просты и информативны. Лишайники доступны для исследований круглый год. Кроме того, они практически не связаны с почвой и другими субстратами, благодаря чему их слоевища, аккумулируя атмосферную влагу, впитывают в себя содержащиеся в ней поллютанты. В отличие от высших растений, лишайники имеют более примитивные антистрессовые биохимические системы, что в итоге определяет их высокую чувствительность к загрязнению.

Первые лишеноиндикационные исследования были начаты во второй половине XIX в. Их авторы [1, 2] указывали на бедность видового состава лишенофлоры городов и индустриальных центров и констатировали различную чувствительность видов лишайников в отношении загрязнённости среды. В 1926 г. шведский ботаник Р. Сернандер [3], выделил на территории Стокгольма так называемые

лишайниковые зоны: сильнозагрязнённую зону без лишайников («лишайниковую пустыню»), среднезагрязнённую, с обеднённой лишенофлорой и пониженной витальностью видов, и сравнительно чистую нормальную зону с богатой видами лишенофлорой. Эта работа Сернандера дала толчок к широкому развитию лишеноиндикационного картирования территорий городов и их окрестностей на основе изучения всей лишенофлоры или распространения одиночных индикаторных, наиболее информативных видов [4, 5]. Во второй половине 60-х гг. XX в. было экспериментально доказано вредное влияние на многие виды лишайников одного из общепромышленных загрязнителей – диоксида серы. Одновременно были разработаны первые математические лишеноиндикационные индексы [6, 7]. Показатели обоих индексов хорошо совпадают с данными фактического аэрохимического измерения концентраций выбросов, особенно SO₂, и других загрязняющих веществ [8, 9].

Эпифитные лишайники, т. е. виды, развивающиеся на стволах деревьев, в силу ряда экологических и физиологических особенностей являются группой, обладающей наибольшей чувствительностью к загрязнению

атмосферы [10]. Это обстоятельство обуславливает выбор эпифитных лишайников в качестве приоритетного объекта мониторинга наземной биоты, находящейся в условиях фоновом загрязнении атмосферы. Морфологические изменения у лишайников, такие как уменьшение размеров, деформация и уродства слоевищ, являются первыми визуально различимыми признаками, которые свидетельствуют о воздействии на лишайники загрязняющих веществ. При сильном изменении состава воздуха у эпифитных видов лишайников наблюдается также сокращение количества и измельчание апотециев, наблюдается тенденция изменения размеров спор, некроз, изменение окраски, характера поверхности (бугорчатость) и ветвления [11].

Лишайники способны накапливать многие элементы до концентраций, которые намного превышают их физиологические потребности, что позволяет по уровням содержания их в слоевищах делать выводы об особенностях выпадений и степени загрязнения. В настоящее время опубликовано достаточно большое количество обзорных материалов, посвящённых лишайноиндикации, по накоплению лишайниками химических веществ. В результате способности лишайников накапливать в слоевищах различные поллютанты происходят изменения в их физиологии и биохимии.

В настоящее время разработаны математические лишайноиндикационные индексы (индекс атмосферной чистоты – ИАЧ, индекс толерантности – ИТ) в целях более объективного и точного отражения антропогенной динамики лишайниковых синузий. Показатели обоих индексов хорошо совпадают с данными фактического аэрохимического измерения концентраций выбросов, особенно SO_2 , и других загрязняющих веществ.

Использование лишайников в мониторинге промышленных объектов, расположенных в окружении лесных массивов вне населенных пунктов и выбрасывающих в атмосферу небольшие концентрации в основном специфических загрязнителей, имеет свои особенности. Среди них в первую очередь следует указать на то, что в городских условиях поллютанты влияют не только на взрослые особи. Формирование селитебных лишайнофлор уже идёт в условиях загрязнения, и онтогенез отдельных особей тесно связан с влиянием поллютантов. Поэтому для городской среды характерно невысокое видовое разнообразие и низкое проективное покрытие. При этом отмечается

высокая доля накипного типа слоевищ, меньше встречается листоватых форм и практически полностью отсутствуют кустистые формы лишайников.

Целью работы было изучение физиолого-биохимических реакций лишайников и накопление общего фосфора в районе объектов хранения и уничтожения химического оружия.

Объекты и методы

Для биомониторинга химического загрязнения окружающей среды использована способность лишайников накапливать в свободном виде в слоевище маломолекулярный диальдегид (МДА) в ответ на стрессовые воздействия. Для выявления повреждения фотосинтетического аппарата изучены изменения содержания пигментов и флуоресценции хлорофилла.

В условиях лабораторного эксперимента проведено изучение воздействия на лишайники специфических загрязнителей, включенных в список веществ, подлежащих контролю в промвыбросах.

На базе Регионального центра государственного экологического контроля и мониторинга по Пензенской области изучалось воздействие на лишайники продуктов деструкции фосфорорганических отравляющих веществ: метилфосфоновой кислоты, капролактама и моноэтаноламина. Ответные реакции на химический стресс оценивались преимущественно по биохимическим тестам. Исследования проводили на доминирующих видах лишайников ЗЗМ объекта ХУХО в пос. Леонидовка Пензенской области: *Cladonia arbuscula* (Wallr.) Hale et W.L., *Cladonia cornuta* (L.) Schaer., *Hypogymnia physodes* (L.) Nul., *Parmelia sulcata* Taylor., *Pseudoevernia furfuracea* (L.) Zopf., *Ramalina pollinaria* (Westr.) Ach.; *Usnea hirta* (L.) Weber ex F.H. Wigg. Для того чтобы исключить влияние иных источников химического загрязнения на включённые в эксперимент образцы лишайников, их отбирали в экологически чистой зоне – в заповеднике «Приволжская лесостепь, Верховья Суры».

В лаборатории были созданы оптимальные условия для максимальной активности фотосинтеза исследуемых лишайников: температура воздуха 22–23 °С, освещённость 1600 Лк. Растительный материал весом 1 г помещали в чашки Петри, предварительно заполненные чистым песком, затем в них приливали по 10 мл растворов метилфосфоновой кислоты, капролактама, моноэтаноламина в концентрациях 0,1, 0,001 и 0,0001 мг/л.

Для контроля использовали дистиллированную воду. Экспозиция в эксперименте составляла 1, 5 и 10 суток. В условиях химического стресса в опытных образцах определялись следующие показатели: малоновый диальдегид (МДА), пигменты – хлорофилл *a* и *b*, каротиноиды.

В 2009–2010 гг. с 10 участков мониторинга в СЗЗ и ЗЗМ объекта уничтожения химического оружия в пос. Мирный Кировской области были отобраны пробы эпифитного лишайника *Hypogymnia plisodes* (L.) Nyl.

Содержание общего фосфора в талломах лишайника определяли фотометрическим методом (основной метод) ГОСТ 26657-97. Сущность метода заключается в минерализации пробы способом сухого озоления с образованием солей ортофосфорной кислоты и последующим фотометрическим определением фосфора в виде окрашенного в жёлтый цвет соединения – гетерополикислоты, образующегося в кислой среде в присутствии ванадат- и молибдат-ионов.

Результаты и обсуждение

Обработка лишайников метилфосфоновой кислотой в концентрации 0,1 мг/л вызывала повышение содержания хлорофиллов *a* и *b*, по сравнению с контролем. Повышение уровня пигментов, по-видимому, связано со значительным содержанием фосфора – биогенного элемента, стимулирующего рост растений. Фотосинтетический аппарат в контрольном образце лишайников проявлял более высокую активность, несмотря на меньшее количество пигментов. Содержание МДА в опытах превышало содержание его в контрольных образцах, что свидетельствует о развитии стрессовых реакций.

При воздействии метилфосфоновой кислоты в концентрации 0,001 мг/л на лишайники на протяжении 10 суток прослеживалась тенденция к повышению содержания конечного продукта перекисного окисления – МДА у всех изучаемых видов. При данной концентрации увеличивалось количество каротиноидов и уменьшалось содержание зелёного пигмента хлорофилла.

В эксперименте также изучались другие продукты деструкции фосфорорганических отравляющих веществ, в частности, капролактамы и моноэтаноламин, на которые у вышеназванных видов наблюдались реакции, как и в случае с метилфосфоновой кислотой.

На основе полученных результатов можно сделать вывод о том, что изученные в экс-

перименте биохимические тесты достаточно информативны и могут быть использованы в практике экологического мониторинга особо опасных промышленных объектов.

При организации системы биомониторинга не следует использовать большое количество биоиндикаторов. В связи с этим из вовлечённых в эксперимент видов лишайников для полевых исследований были выбраны всего два – *H. physodes* и *P. sulcata*. Это эпифитные виды, имеющие высокое проективное покрытие, развивающиеся на коре лиственных пород и доминирующие на изучаемой территории, что не создаёт трудностей в отборе материала для лабораторных исследований. Кроме того, они наиболее чувствительны к ультрамалым концентрациям поллютантов, что было показано в описанном выше эксперименте.

Пробы слоевищ отбирали с 10 точек, расположенных в четырёх направлениях по сторонам света от объекта ХУХО, с коры липы сердцевидной. Минимальное количество точек обусловлено гомогенным составом площадок (тип сообщества берёза – липа), распространением и покрытием индикаторных видов, гомогенности климатических условий (что можно соблюсти, отбирая пробы в течение 1 – 2 дней).

В ходе исследований накопления МДА были получены следующие результаты. На большей части территории ЗЗМ по биохимическим параметрам лишайники находятся в нормальном состоянии, в том числе образцы, отобранные с площадок непосредственно приближенных к объекту ХУХО. Отклонения от контроля по исследованным показателям в пределах нормы. Следует отметить, что значения МДА в образцах изучаемых лишайников непосредственно с мест прежнего уничтожения (МПУ) химического оружия имеют максимальные значения, немного ниже они на приближённых к МПУ территориях.

При изучении пигментного состава лишайников получены следующие результаты. Достоверные отклонения выявлены по всем изученным точкам системы пробоотбора. Доказано, что длительное действие поллютантов на лишайники уменьшает количество хлорофилла. Разрушение хлорофилла может быть вызвано разрывом связей в хлорофилл-белковых комплексах, а также возникновением свободнорадикального окисления. У изучаемых видов происходит разрушение зелёных пигментов и вследствие этого уменьшение их количества. Но, несмотря на это, уровень флуоресценции выше, чем в контрольном образце. Подобное явление можно объяснить тем, что

организм сопротивляется стрессу и активизирует то количество пигментов для фотосинтеза, которое у него имеется. Исключением является вид *H. physodes*. Образцы этого лишайника, отобранные с МПУ химического оружия и его окрестностей, отличаются высоким содержанием изучаемых пигментов. Данное явление отмечено и в литературных данных. При низком уровне загрязнения лишайники в полевых условиях могут показывать увеличение содержания хлорофилла с увеличением стресса загрязнения [12]. К тому же на МПУ и приближенных к ним участках мониторинга наблюдается увеличение доли каротиноидов. Тенденция увеличения количества каротиноидов типична в условиях загрязнения. Данное явление связано с большей устойчивостью каротиноидов к действию поллютантов, а также с их защитной функцией как антиоксидантов клеточного метаболизма и участников защиты фотосистемы.

Загрязнение окружающей среды может оказывать влияние не только на биохимические процессы в организме лишайника. Не связанные с почвой слоевища аккумулируют в себе атмосферные выпадения и содержащиеся в них поллютанты. При постоянном поступлении их даже в ультрамалых концентрациях, находящихся за пределами чувствительности приборов, лишайники накапливают поллютанты в количествах, позволяющих производить измерения. Это делает их очень ценными объектами биоиндикации. Поэтому анализ слоевищ на содержание тех или иных элементов или специфических химических веществ в лишайниках может быть широко использован для оценки степени загрязнения атмосферного воздуха.

Подобные исследования были реализованы практически в процессе эксплуатации системы государственного экологического мониторинга в Кировской области, где основными загрязнителями воздуха являются соединения фосфора.

В результате проведенных исследований были выявлены определённые закономерности. Содержание общего фосфора в пробах лишайника *H. physodes* в 2010 г. варьировало в пределах от 43,3 до 112,0 мкг/г сухой массы. Установлено, что в местах пробоотбора, расположенных на расстоянии, не превышающем 2 км от промплощадки объекта ХУХО, содержание изучаемого элемента в лишайнике было в 2–3 раза выше, чем на удалённой от объекта контрольной территории, где выявлено минимальное содержание общего фосфора. Более высокое содержание фосфора по сравнению с контрольным участком также отмечено

в местах пробоотбора, находящихся в непосредственной близости от объекта.

Сравнительный анализ накопления фосфора в лишайниках был проведён за три года наблюдений. Было рассчитано содержание фосфора в слоевищах лишайников в зоне загрязнения в процентах по отношению к контрольной территории. Из полученных данных следует, что в лишайнике *H. physodes* в местах пробоотбора, расположенных в непосредственной близости от объекта ХУХО, в течение трёх последних лет отмечается некоторое увеличение содержания общего фосфора по сравнению с контролем.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что анализ слоевищ лишайников на содержание химических элементов, поступающих в атмосферу с промвыбросами, является перспективным методом, который может быть широко рекомендован для использования в системах мониторинга объектов, выбрасывающих в атмосферу соединения фосфора.

Лишайники получают всё необходимое для жизни преимущественно аэральным путём и практически не связаны с субстратами, поэтому являются хорошими биоиндикаторами чистоты атмосферного воздуха. Всё это позволяет в настоящее время использовать лишайноиндикационные методы в мониторинге объектов уничтожения химического оружия.

Литература

1. Grindon L.H. The Manchester Flora. London. White. 1859. 261 p.
2. Nylander W. Les lichens du Jardin du Luxembourg // Bull. Soc. Bot. Fr., 1866. V. 13. P. 364–372.
3. Sernander R. Stockholms natur. Uppsala: Almqvist & Wiksells, 1926. 189 p.
4. Трасс Х. Х. Успехи и проблемы лишайноиндикации загрязнённости воздуха // Лишайноиндикация загрязнения окружающей среды. Таллин. 1978. С. 16–18.
5. Трасс Х. Х. Классы полевотолерантности лишайников и экологический мониторинг // Проблемы экологического мониторинга и моделирования экосистем. Л.: Гидрометеиздат, 1985. Т. 8. С. 122–137.
6. Инсаров Г.Э., Инсарова И.Д. Лишайники в условиях фонового загрязнения атмосферы двуокисью серы // Проблемы экологического мониторинга и моделирования экосистем. Л.: Гидрометеиздат, 1986. Т. 9. С. 242–258.
7. Лийв С.Э. Индикация степени загрязнения воздуха с помощью лишайников // V делегатский съезд Всесоюзного ботанического общества: Тезисы докладов. Киев. 1973.

8. Martin J. Lichen indication studies in the Estonian S.S.R. // *Anthropogenous Changes in the Plant Cover of Estonia*. Tartu. 1981. P. 108–125.

9. Martin J. Air pollution impacts on lichens: an overview // *Interaction Between Forest Ecosystems and Pollutants*. Tallinn. 1982. P. 50–52.

10. Иссаров Г.Э. Сравнительные оценки чувствительности эпифитных лишайников различных видов к загрязнению воздуха // Проблемы экологического мониторинга и моделирования экосистем. Л.: Гидрометеоиздат, 1989. Т. 12. С. 113–176.

11. Пауков А.Г., Гулика А.Г. Анатомические и морфологические изменения лишайников в антропогенно нарушенных местообитаниях // Развитие идей академика С.С. Шварца в современной экологии. Екатеринбург. 1999. С. 134–140.

12. Von Arb C., Brunold C. Lichen physiology and air pollution. I. Physiological responses of in situ *Parmelia sulcata* among air pollution zones within Biel, Switzerland // *Canadian Journal of Botany*. 1990. № 68. P. 35–42.

**СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫЙ ВЫПУСК ЖУРНАЛА
«ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ И ПРИКЛАДНАЯ ЭКОЛОГИЯ» – 2012**

Уважаемые авторы!

В 2012 г. при поддержке Федерального управления по безопасному хранению и уничтожению химического оружия планируется издание специализированного выпуска журнала «Теоретическая и прикладная экология», посвящённого научным достижениям и практическим разработкам по вопросам санации и реабилитации территорий бывших производств химического оружия и объектов по уничтожению химического оружия.

Статьи следует направлять в адрес редакции журнала до **30 июля 2012 г.**

Требования к статьям:

- содержание статьи должно соответствовать заявленной тематике специализированного выпуска журнала;
- статья должна быть оформлена в соответствии с требованиями;
- к статье должны быть приложены:
 - направление от организации;
 - экспертное заключение о возможности опубликования материалов в открытой печати;
 - сведения об авторах;
 - электронная версия статьи.

По вопросам публикации статей обращаться:
610002, г. Киров, ул. Свободы, д. 122, каб. 308,
редакция журнала «Теоретическая и прикладная экология».
Тел./факс: (8332) 37-02-77; e-mail: ecolab2@gmail.com