

Токсические эффекты ксенобиотиков на пигментный состав в тканях *Ceratophyllum demersum*

© 2014. С. А. Розина, аспирант, О. Н. Макурина, д.б.н., профессор,
Самарский государственный университет,
e-mail: rozina.sa@inbox.ru; makurina.on@mail.ru

В статье рассматривается влияние ксенобиотиков на пигментный состав в тканях высшего водного растения *Ceratophyllum demersum*. Исследовалось токсическое действие ионов свинца в концентрации 32 мг/л в составе ацетата свинца, раствора катионных синтетических поверхностно-активных веществ (СПАВ) концентрацией 1000 мг/л и их сочетания на содержание в тканях *C. demersum* хлорофиллов *a* и *b* и каротиноидов. Инкубация в среде поллютантов составила 12 часов, после этого проводили пятидневную реабилитацию, переместив растения в чистую воду, и измеряли в тканях *C. demersum* содержание хлорофилла *a* и *b* и каротиноидов.

Токсическое действие ионов свинца (32 мг/л) и сочетания ионов свинца (32 мг/л) с катионными СПАВ (1000 мг/л) вызвало снижение содержания хлорофилла *a* и *b* и повышение содержания каротиноидов в тканях высшего водного растения *C. demersum*. Инкубация в среде катионных СПАВ (1000 мг/л) привела к компенсаторному возростанию содержания хлорофилла *a* и каротиноидов и к снижению содержания хлорофилла *b* в тканях высшего водного растения *C. demersum*.

In this paper the effects of xenobiotic pigment contain in water submerged plant *Ceratophyllum demersum* are considered. Toxic effect of 32 mg/l lead ion ($\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$), cationic surfactants combination (1000 mg/l) and it's combination on pigment contain (chlorophyll *a*, *b* and carotenoids) in water submerged plant *Ceratophyllum demersum* are considered. Incubation with the addition of xenobiotic for twelve hours. Thereafter the plants were transferred to a portion of the clean water rehabilitation five days. Pigment content measured in the tissues of *C. demersum*.

Toxic effect of lead ions (32 mg/l) and combination of lead ions (32 mg/l) with cationic surfactants (1000 mg/l) caused a decrease of chlorophyll *a* and *b* and increasing carotenoid content in the tissues of higher aquatic plants *C. demersum*. Incubation with cationic surfactants (1000 mg/l) resulted in a compensatory increase in the content of chlorophyll *a* and carotenoids and chlorophyll *b* reduction in the tissues of higher aquatic plants *C. demersum*.

Ключевые слова: *Ceratophyllum demersum*, водные растения, тяжёлые металлы, катионные поверхностно-активные вещества, пигменты.

Keywords: *Ceratophyllum demersum*, water plant, heavy metal ions, cationic surfactants combination.

Введение

Ежегодно возрастают объёмы ксенобиотиков – чужеродных для живых организмов химических веществ, не входящих в естественный круговорот. Они наносят ущерб природной среде, подрывают существующее экологическое равновесие [1]. Наиболее распространёнными токсичными неорганическими загрязнителями являются тяжёлые металлы (ТМ) [2]. В международных документах по проблемам загрязнения окружающей среды более 10 тяжёлых металлов признаны опасными для живых организмов, а самыми токсичными из них являются ртуть, свинец и кадмий [3]. Соединения свинца являются наиболее распространёнными поллютантами, поступающими в окружающую среду с выхлопными газами и отходами различных производств, ПДК свинца для пресноводных водоёмов составляет 0,006 мг/л [4].

Другая разновидность ксенобиотиков – поверхностно-активные вещества (ПАВ), широко применяются в промышленности и содержатся во многих средствах бытовой химии, их производство ежегодно увеличивается. Только немногие ПАВ считаются безопасными (алкилполиглюкозиды), так как продуктами их деградации являются углеводы. Действие ПАВ зависит от заряда молекул. Катионные ПАВ проявляют большую цитотоксичность, чем анионные [5]. Токсическое действие ПАВ на клетку может проявляться по-разному: изменение физико-химических свойств воды, снижение содержания кислорода, повышение трофности [4].

Таким образом, ПАВ и ионы тяжёлых металлов – два наиболее распространённых поллютанта окружающей среды, актуально изучение их сочетанного действия. В работах наших соотечественников изучено действие

катионных и анионных СПАВ в сочетании с ионами меди и кадмия на биохимические показатели высшего водного растения *Egeria densa* [6], влияние ионов меди, кадмия и цинка на эколого-физиологические и биохимические показатели высшего водного растения *Hydrilla verticillata* [7]. В работах зарубежных исследователей [8, 9] было исследовано влияние ионов свинца и кадмия в концентрациях от 10 до 40 мг/л на морфометрические показатели *Lemna polyrrhiza* L. и *Lemna minor* L. Нами был выбран 12-час. период воздействия поллютанта для определения ранних эффектов токсикантов. Период реабилитации составил 5 сут., достаточный для восстановления растения. Объектом исследования был выбран пресноводный макрофит с широким ареалом обитания *Ceratophyllum demersum*, факторы воздействия – ионы свинца (раствор ацетата свинца в концентрации 32 мг/л), катионные СПАВ (1000 мг/л в составе широкодоступного катионного СПАВ – ополаскивателя для белья «Дося») и их сочетание в указанных выше концентрациях.

Фотосинтетические пигменты (хлорофиллы и каротиноиды) являются основными компонентами фотосинтетического аппарата зелёных растений и изменение их содержания служит чувствительным маркером нарушений метаболизма растительной клетки в целом [10]. ТМ нарушают водный статус и газообмен, снижают содержание пигментов и инактивируют ключевые ферменты метаболических путей. Количественное содержание пигментов и их соотношение в тканях растений являются фактором, определяющим физиологическое состояние растения, отражают изменения роста и развития при различных стрессах [11, 12].

Целью данной работы стало изучение морфометрических показателей и пигментного состава водного погружённого растения *C. demersum* при воздействии ионов свинца, катионных СПАВ и их сочетания в указанных выше концентрациях.

Объект и методы исследования

Объектом исследования был выбран пресноводный макрофит роголистник погружённый (*Ceratophyllum demersum* L.) [13].

Эксперимент проводился в лабораторных условиях при одинаковой интенсивности и регулярности светового потока, а также при постоянной температуре 20°C. Для этого в опыте была использована комбинация люми-

несцентных ламп и установлен постоянный период освещения, равный 18 час.

В ходе эксперимента растения были разделены на 4 группы, различающиеся средой выращивания. Контрольная группа растений находилась в среде отфильтрованной водопроводной воды, первая опытная группа инкубировалась в присутствии водного раствора $Pb(CH_3COO)_2$ с концентрацией ионов свинца 32 мг/л, вторая опытная группа – при добавлении катионного СПАВ в концентрации 1000 мг/л, третья – в среде с сочетанием ксенобиотиков в указанных концентрациях. Непосредственно перед началом исследований фрагменты растений длиной до 50 мм, считая от точки роста, помещали в стеклянные ёмкости объёмом 1 дм³.

Продолжительность воздействия поллютантов составила 12 час. По истечении указанного периода экспозиции часть растений из каждой группы отбирали на исследования, а часть переносили в чистую отфильтрованную воду для реабилитации (длительностью 5 сут.). После реабилитации также проводили измерения биохимических показателей.

В растительных тканях исследовали содержание фотосинтетических пигментов по методу Л.П. Брагинского [14]. Статистическую обработку данных (среднее значение, стандартное отклонение) проводили с использованием стандартных методов и компьютерных программ.

Результаты исследований и их обсуждение

Измерение морфометрических показателей – длина и вес растения, – не показало достоверных различий между опытными и контрольными группами во всех экспериментах. После 12 час. инкубации *C. demersum* в среде с добавлением ионов свинца в концентрации 32 мг/л наблюдались признаки хлороза. Действие раствора катионных СПАВ в концентрации 1000 мг/л привело к частичному листопаду. После инкубации в среде с сочетанием поллютантов наблюдались признаки повреждения растения ТМ (хлороз) и катионными СПАВ (частичный листопад), однако выраженность повреждений была меньшей, чем в случае эффектов ксенобиотиков по отдельности. Во всех трёх экспериментах реабилитация приводила к исчезновению признаков повреждения *C. demersum*.

Динамика содержания хлорофиллов *a* и *b* представлена на рисунках 1 и 2. Инкубация в среде ионов свинца в концентрации 32 мг/л

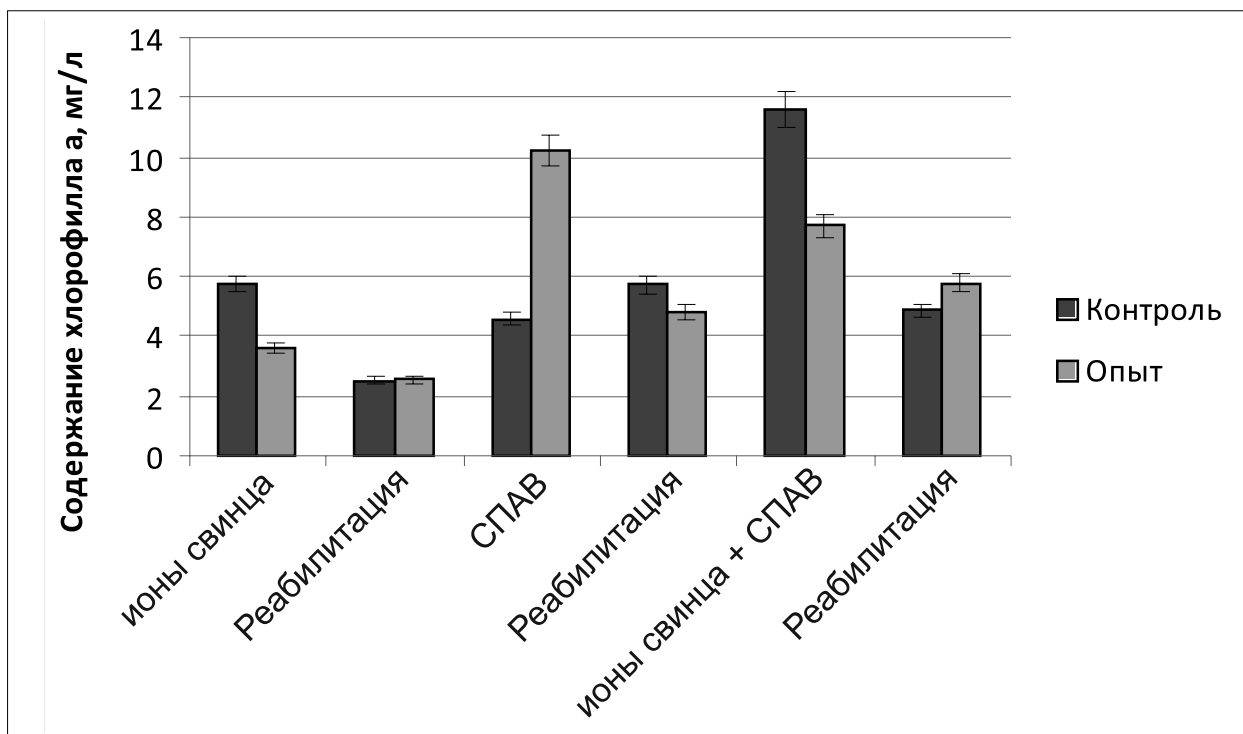


Рис. 1. Динамика содержания хлорофилла *a* при 12-час. действии ионов свинца (32 мг/л), раствора катионных СПАВ (1000 мг/л), их сочетания и последующей пятидневной реабилитации.
* – степень достоверности $p < 0,005$; ** – степень достоверности $p < 0,001$.

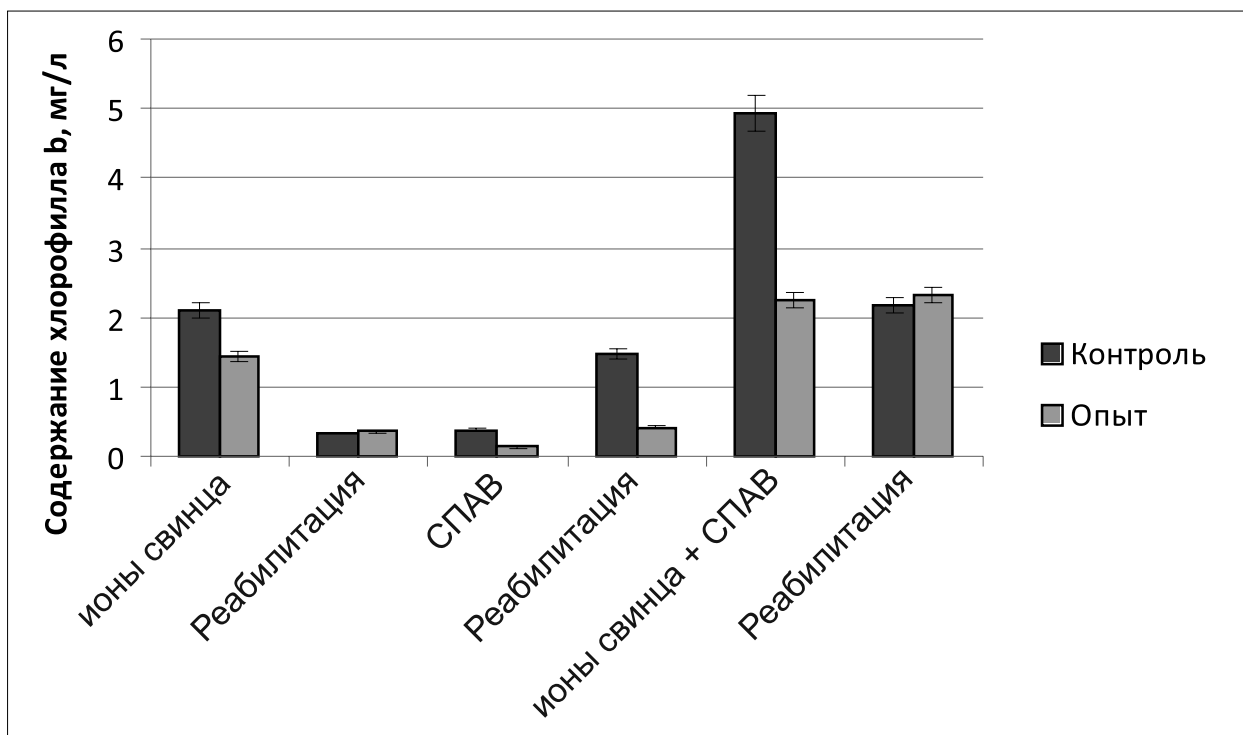


Рис. 2. Динамика содержания хлорофилла *b* при 12-час. действии ионов свинца (32 мг/л), раствора катионных СПАВ (1000 мг/л), их сочетания и последующей пятидневной реабилитации.
* – степень достоверности $p < 0,001$.

привела к снижению содержания хлорофилла *a* на 38%, хлорофилла *b* – на 32%, аналогичные данные получены в сходных работах зарубежных авторов [15, 16]. После реабилитации

содержание хлорофилла *a* и *b* не отличалось от контрольных величин.

Действие раствора катионных СПАВ в концентрации 1000 мг/л вызвало повышение

содержания хлорофилла *a* в 2,2 раза и снижению содержания хлорофилла *b* в 3 раза. После пяти суток реабилитации содержание хлорофилла *a* вернулось к контрольным значениям, а содержание хлорофилла *b* осталось низким – в 3,5 раза меньше контрольных величин.

Сочетанное 12-час. действие поллютантов привело к снижению содержания хлорофилла *a* на 51%, хлорофилла *b* – на 55%, после реабилитации содержание хлорофилла *a* превысило контрольные значения на 41%, а содержание хлорофилла *b* вернулось к контрольным значениям.

Динамика содержания хлорофиллов *a* и *b* в среде с ионами свинца и в среде с сочетанием поллютантов сходна. Исходя из анализа содержания пигментов в растении в период инкубации, можно предположить, что в ответ на стрессовое воздействие, вызванное ионами свинца и сочетанием ксенобиотиков, происходила индукция защитных механизмов в растении, и в связи с этим содержание хлорофиллов *a* и *b* увеличивалось, однако в метаболизме уже возникали необратимые нарушения, приводящие к последующей деградации пигментов в период реабилитации. На наш взгляд, и это также подтверждается литературными данными [17–19], повреждение пигментного комплекса в растительных тканях было обусловлено замещением центрального атома

Mg²⁺, связанного с тетрапиррольным макроциклом в молекулах хлорофилла, на Pb²⁺, ингибированием активности ключевых ферментов, участвующих в биосинтезе хлорофиллов (дегидратазы δ-аминолевулиновой кислоты и протохлорофиллидредуктазы) и ферментов цикла Кальвина, а также нарушением функционирования электронотранспортной цепи под влиянием ксенобиотика. Кроме того, в условиях действия поллютанта, возможно, имело место нарушение ультраструктуры хлоропластов, а также изменение размера и количества пластид в клетке [20, 21].

Основной токсический эффект СПАВ – образование плёнок на поверхности раздела сред и на поверхности самого растения, которые препятствуют проникновению кислорода в ткани *C. demersum*. Вероятно, повышение содержания хлорофилла *a* – компенсаторный ответ клетки для увеличения интенсивности дыхания, однако значительное снижение содержания хлорофилла *b* указывает на необратимые нарушения метаболизма, связанные с деградацией пигмента. Согласно данным литературных источников [22–25], повреждение пигментного комплекса в растительных тканях было обусловлено солюбилизацией тилакоидных мембран, изменением их жирнокислотного состава, нарушением ультраструктуры хлоропластов, а также солюбилизацией

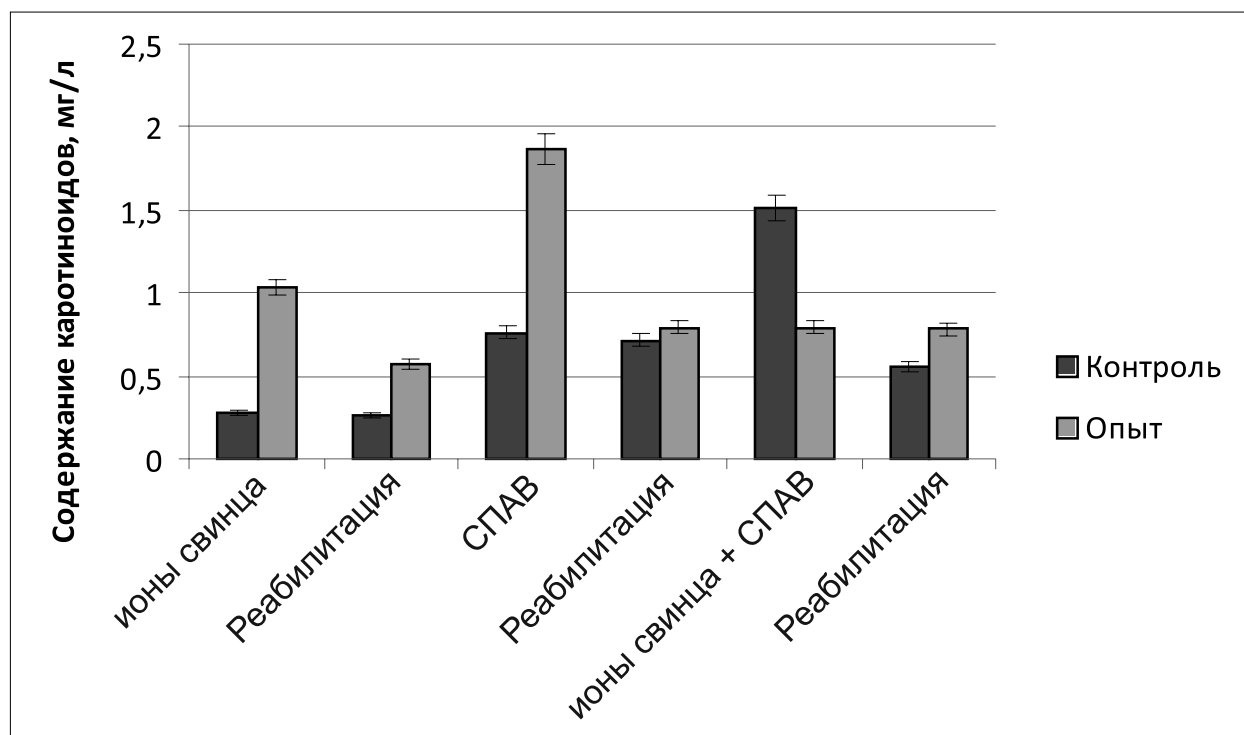


Рис. 3. Динамика содержания каротиноидов при 12-час. действии ионов свинца (32 мг/л), раствора катионных СПАВ (1000 мг/л), их сочетания и последующей пятидневной реабилитации. * – степень достоверности $p < 0,001$.

хлорофилл-белковых комплексов под действием СПАВ.

На рисунке 3 представлена динамика содержания каротиноидов. Токсическое действие ионов свинца и катионных СПАВ вызвало повышение содержания каротиноидов в 3,8 и 2,4 раза соответственно. После периода реабилитации от токсических эффектов ионов свинца содержание каротиноидов превышало контрольные значения в 2,2 раза, а после реабилитации от действия катионных СПАВ содержание каротиноидов достоверно не отличалось от контрольных величин. Сочетание поллютантов привело к снижению содержания пигментов на 47%, после реабилитации опытные значения превысили контрольные на 41%.

Из литературных данных известно, что в фотосинтетическом аппарате каротиноиды выполняют функцию антиоксидантов, обладающих способностью замедлять фотохимические реакции, приводящие к образованию свободных радикалов, повреждению мембран хлоропластов и деградации хлорофиллов [26]. По-видимому, увеличение их содержания в растении при воздействии поллютантов было вызвано необходимостью защиты хлорофиллов в условиях стресса. Так как и после реабилитации от токсического действия ионов свинца сохраняется высокий уровень содержания каротиноидов при содержании хлорофилла *a* и *b* на уровне контрольных величин, то повышенное содержание защитного пигмента – условие восстановления растения.

Сочетанное действие ксенобиотиков привело к значительному снижению содержания всех пигментов. Ионы свинца повреждали молекулы ферментов, замещая центральный атом Mg^{2+} , а катионные СПАВ привели к солиubilизации мембран. Пятидневная реабилитация привела к восстановлению растения.

Заключение

Токсическое действие ионов свинца (32 мг/л) и сочетания ионов свинца (32 мг/л) с катионными СПАВ (1000 мг/л) вызвало снижение содержания хлорофиллов *a* и *b* и повышение содержания каротиноидов в тканях высшего водного растения *C. demersum*. Инкубация в среде катионных СПАВ (1000 мг/л) привела к компенсаторному возрастанию содержания хлорофилла *a* и каротиноидов и к снижению содержания хлорофилла *b* в тканях высшего водного растения *C. demersum*.

Литература

1. Трахтенберг И.М. Тяжелые металлы во внешней среде: Современные гигиенические и токсикологические аспекты. Минск: Наука и техника, 1994. 286 с.
2. Antosiewicz D.M. Adaptation of plants to an environment polluted with heavy metals // Act. Soc. Bot. Pol. 1992. Vol. 61. P. 281–299.
3. Титов А.Ф., Таланова В.В., Казнина Н.М., Лайдинен Г.Ф. Устойчивость растений к тяжёлым металлам. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2007. 172 с.
4. Филенко О.Ф., Михеева И.В. Основы водной токсикологии. М.: Колос, 2007. 140 с.
5. Эрнандес Э.А., Марголина А.А., Петрухина А.В. Липидный барьер кожи и косметические средства. М.: ИД «Косметика и медицина», 2008. 80 с.
6. Мурзин И.Р., Макурина О.Н., Косицына А.А., Розенцвет О.А. «Особенности действия загрязнителей различной химической природы на содержание водорастворимых белков в тканях водного погруженного растения *Egeria Densa*» // Вестник СамГУ. Естественнонаучная серия. 2010. Т. № 4 (78). С. 191–199.
7. Розенцвет О. А., Нестеров В. Н., Синютина Н. Ф. Эколого-физиологические и биохимические аспекты влияния тяжёлых металлов на водное растение *Hydrilla verticillata* // Поволжский экологический журнал. 2011. № 2. С. 185–192.
8. John R., Ahmad P., Gadgil K., Sharma S. Effect of cadmium and lead on growth, biochemical parameters and uptake in *Lemna polyrrhiza* L. // Plant soul environ. 2008. V. 54 № 6. P. 262–270.
9. Paczkowska M., Kozłowska M., Golinski P. Oxidative stress enzyme activity in *Lemna monor* L. exposed to cadmium and lead // Acta biologica cracoviensia. Series Botanica. 2007. V. 49. № 2. P. 33–37.
10. Mishra S., Agrawal S.B. Interactive effects between supplemental ultraviolet-B radiation and heavy metals on the growth and biochemical characteristics of *Spinacia oleracea* L. // Braz. J. Plant Physiol. 2006. V. 18. № 2. P. 307–314.
11. Головки Т.К., Далькэ И.В., Бачаров Д.С. Мезоструктура и активность фотосинтетического аппарата трех видов растений сем. Crassulaceae в холодном климате // Физиология растений. 2008. Т. 55. № 5. С. 671–680.
12. Маслова Т.Г., Мамушина Н.С., Шерстнева О.А., Буболо Л.С., Зубкова Е.К. Структурно-функциональные изменения фотосинтетического аппарата у зимневегетирующих хвойных растений в различные сезоны года // Физиология растений. 2009. Т. 56. № 5. С. 672–681.
13. Жизнь растений. В 6-ти т. Т. 5. Ч. 1. Цветковые растения / Под ред. А.Л. Тахтаджяна. М.: Просвещение, 1980. С. 188–190.
14. Бриттон Г. Биохимия природных пигментов. М.: Мир, 1986. 422 с.
15. Ghani A. Effect of Lead Toxicity on Growth, Chlorophyll and Lead (Pb+) Contents of Two Varieties of

Maize (*Zea mays* L.) // Pakistan Journal of Nutrition. 2010. V. 9. № 9. P. 887–891.

16. Wang P., Zhang S., Wang C., Lu J. Effects of Pb on the oxidative stress and antioxidant response in a Pb bioaccumulator plant *Vallisneria natans* // Ecotoxicology and Environmental Safety. 2011. V. 5. №7. P. 234–240.

17. Kupper H., Kupper F., Spiller M. In situ detection of heavy metal substituted chlorophylls in water plants // Photosynth. Res. 1998. V. 58. P. 123–133.

18. Prasad D.D.K., Prasad A.R.K. Altered δ - amino-levulinic acid metabolism by lead and mercury in germinating seedlings of Bajra (*Pennisetum typhoideum*) // J. Plant Physiol. 1987. V. 127. P. 241–249.

19. Stiborova M., Doubravova M., Brezinova A. Effect of heavy metal ions on growth and biochemical characteristics of photosynthesis of barley (*Hordeum vulgare* L.) // Photosynthetica. 1986. V. 20. P. 418–425.

20. Rebechini H.M., Hanzely L. Lead-induced ultrastructural changes in chloroplasts of the hydrophyte

Ceratophyllum demersum // Z. Pflanzenphysiol. 1974. V. 73. P. 377–386.

21. Baryla A., Carrier P., Franck F. Leaf chlorosis in oilseed rape plants (*Brassica napus*) grown on cadmium-polluted soil: Causes and consequences for photosynthesis and growth // Planta. 2001. V. 212. P. 696–709.

22. Yang C.M., Hsu J.C. Pigment solubilization of the chloroplast thylakoid membranes by a surfactant // Bot. Bull. Acad. Sci. 1996. V. 37. P. 121–126.

23. Markwell J.P., Thornber J.P. Treatment of the thylakoid membrane with surfactants // Plant Physiol. 1982. V. 70. P. 633–636.

24. Kobayashi I., Kunoh H. Effects of several nonionic and anionic surfactants on cucumber protoplasts // J. Pesticide Sci. 1990. V. 15. P. 71–80.

25. Rinallo C., Bennici A., Cenni E. Effects of two surfactants on *Triticum durum* Desf. plantlets // Env. Exp. Bot. 1988. V. 28. № 4. P. 367–374.

26. Knox J.P., Dodge A.D. Singlet oxygen and plants // Phytochemistry. 1985. V. 24. P. 889–896.