УДК: 574.24:582.521.43

ВОЗДЕЙСТВИЕ ПОЛЛЮТАНТОВ НА ЖИВЫЕ СИСТЕМЫ В КЕМЕРОВСКОЙ ОБЛАСТИ А. С. Заушинцен, А. В. Заушинцена, С. В. Свиркова

Проведены биоиндикация и биотестирование окружающей среды с использованием Lemna minor L. Выявлены сильная изменчивость морфологических признаков у растений и специфическая реакция на загрязнение почвы тяжелыми металлами.

The biological indicating and the biotesting of the environment have been conducted by using Lemna minor L. Strong variability of the morphological characters and the specific reaction in plants have been clear revealed on the dirti soil by the heavy metals.

Ключевые слова: биотестирование, биоиндикация, тест-системы, живые системы, норма реакции.

В процессе разработки недр происходит вскрытие почвенного покрова, уничтожение его целостности, нарушение всех функций, включая экологические. На дневную поверхность вместе с породой выносятся токсичные элементы и соединения в неопределенных количествах, а также происходят техногенные выбросы в виде пыли неорганической и газов. Источниками пылевыделения являются машины и механизмы, с помощью которых осуществляются погрузочные, буровзрывные, транспортные работы, а также передвижение техники по технологическим дорогам, ветровая эрозия, которая влечет сдувание пыли с обнаженных плоскостей отвалов и бортов выработки. Работа дизельных двигателей является источником выделения в атмосферу диоксидов серы, оксидов углерода, сажи, керосина и других загрязнителей. Загрязняющие вещества участвуют в биогеохимическом круговороте и обостряют возможность сохранения равновесного состояния биоресурсов и определенного гомеостаза почвенного покрова. Поэтому особое значение на современном этапе развития экологического мониторинга окружающей среды имеют методы биоиндикации и биотестирования с использованием живых систем. Это позволит уловить присутствие стрессового воздействия на биоту раньше, чем получить результаты с использованием многих химико-аналитических методов. Последствия комплексного воздействия поллютантов на биоценозы и фитопопуляции в реально встречающихся концентрациях исследованы недостаточно. В почве и в растениях они вступают в сложные взаимодействия различного характера, включая антогонизм, синергизм, аддитивность. Поэтому смеси разных загрязнителей обычно не полчиняются закономерностям, установленным для индивидуальных веществ. Для получения объективных сведений по загрязнению почвы и фитоценозов необходимы исследования в двух направлениях. Вопервых, должны совершенствоваться методы химического анализа, во-вторых, целесообразно более широкое использование биоиндикаторов. Применение организмов, реагирующих на загрязнение среды обитания изменением визуальных признаков, имеет ряд преимуществ. Оно позволяет существенно сократить или даже исключить применение дорогостоящих и трудоемких физико-химических методов анализа. Это обусловлено тем, что биоиндикаторы интегрируют биологически значимые эффекты загрязнения, позволяют определить скорость проис-

ходящих изменений, пути и места скопления в экосистемах различных токсикантов, делать выводы о степени их опасности для человека и биоты [10].

В условиях техногенного давления на природные экосистемы происходит снижение численности популяций, отклонение от нормального строенияразличных морфологических признаков, вплоть до мутабильности [2]. В связи с этим необходим поиск критериев оценки биологических объектов, адекватно отражающих уровень техногенной нагрузки на экосистемы. Существует много требований к выбору тест-организмов, но предпочтение следует отдавать тем, у которых хорошо регистрируются функциональные, этиологические, цитогенетические изменения, а не только изменение структуры, численности и биомассы [1, 4, 5, 11, 12]. В соответствии с международными стандартами они должны удовлетворять следующим требованиям: простое строение организма, высокий коэффициент размножения при низкой индивидуальной изменчивости, легкость идентификации в природе. Важное значение имеет легкое поддерживание культуры в лабораторных условиях, воспроизводимость результатов при использовании тест-системы, экономическая эффективность и высокая информативность исследований.

В последние годы широкое применение в биоиндикации почв, воды, кормов нашли виды высших растений из семейства рясковых (Lemnacea). В научных центрах нашей страны (Кубанский государственный аграрный университет, институт биологи Коми НЦ Уро РАН, Санкт- Петербургский государственный университет и др.), Беларуси (Национальный технический университет), Франции (Прикардийский университет), Германии (Равенсбург-Вайнгартен), Греции (Афинский университет), Швейцарии (Технический университет Цюриха) и в других странах накоплен достаточный материал по характеристике тест-объекта, условиям содержания, по методике работы ряскового теста и принято 10 международных стандартов по использованию в экологическом мониторинге окружающей среды.

Метод позволяет показать качество почвы по скорости роста биоиндикатора в водной вытяжке, по морфологическим отклонениям и нарушению физиологических функций в виде специфических реакций на токсичные элементы. Метод апробирован в программе экологического мониторинга техногенных почв Кемеровской области[6-8].

Цель исследований — оценить влияние техногенных выбросов промышленных предприятий на состояние живых систем. Для выполнения цели поставлены следующие задачи:

- провести отбор почвенных проб для химического анализа и биотестирования;
- определить видовой состав рясковых в Кемеровской области и отобрать популяцию *Lemna minor L*. в естественных водоемах вблизи промышленного предприятия для биоиндикации и биотестирования;
- осуществить диагностику окружающей среды по морфологическим и физиологическим параметрам растений.

Условия, материал и методы исследований

Отбор почвенных проб проведен согласно ГОСТ 17.4.102- 83 Почвы. Классификация химических веществ для контроля загрязнения [3] на четырех мониторинговых площадках, расположенных равномерно по исследуемой территории и отражающих состояние почвенного покрова.

В качестве объекта исследований взята природная популяция Lemna minor L. по транссекте, перпендикулярной линии отвала. Первый водоем расположен в 10 м от линии отвала; второй – на краю леса со стороны отвала, а третий - в водоеме среди лесной поляны, окруженной лесом. Забор проб проведен сачком из 6 - 8 точек водоема. Растения помещены в специальные чистые банки, заполненные водой из этих же водоемов. Адаптацию живых объектов к лабораторным условиям провели в течение 7 дней, а для поддержания жизнеспособности часть популяции перенесли в мини – аквариумы с питательным раствором. Вторую часть природной популяции анализировали сразу. Для этого провели замеры основных органов растений (листецов и корней) штангенциркулем.

Хроническое действие водной вытяжки почв, отобранных вблизи точек отбора растительных проб, на объект исследований оценили по смертности и скорости роста за период 5 суток в сравнении с контрольным вариантом (дехлорированная водопроводная вода). Критерием токсичности служит

гибель 20 % и более тест-организмов и (или) достоверное отклонение в скорости роста выживших растений по сравнению с контролем [13].

Результаты исследований и их обсуждение

Химический анализ почвенных образцов, взятых на анализ по точкам отбора проб, показал превышение предела допустимых концентраций по кадмию в 40,5 раз, по свинцу – на 21,6 %. Близко к ПДК было содержание кобальта на третьей и четвертой мониторинговых площадках, и превышение никеля- на второй и третьей. Известно, что элементы и соединения, попавшие в почву, в процессе миграции по профилю участвуют во многих биохимических реакциях и могут оказывать токсическое воздействие на живые системы, включая растения. Поэтому очень важно своевременно осуществить биоиндикацию окружающей среды. Мы провели ее по результатам изменчивости морфологических показателей в популяции ряски малой (Lemna minor L.). Анализ собранных популяций (от 1500 до 2000 растений) показал существенные различия по размерам листецов [6]. В первом и втором водоемах они имели более вытянутую форму со средней длиной 4,8 мм и на 12,5 % превзошли показатели растений из третьего, но у них листовая пластинка была на 20,0- 66,7 % шире, чем у предыдущих (табл. 2). Расчет площади листецов подтвердил это преимущество в пределах 5,0 - 46,5 %. Не выявлено различий по их толщине, во всех вариантах она составила 0,1 мм. Более значительная разница между популяциями обнаружена по наличию корней и их длине. Вблизи техногенной дороги они имелись только у 44,0 % растений; во втором водоеме - у 0,09 %; в третьем каждое растение имело корень. Наряду с этим отмечена высокая вариация по его длине. В среднем она составила 3,5 см; 0,7 и 2,3 см соответственно по точкам отбора проб. Это, на наш взгляд, отражает стимулирующий эффект действия токсичных элементов при техногенных выбросах пыли на рост корней в первом водоеме, но депрессию признака (315%) во втором по сравнению с третьим водоемом.

Содержание подвижных форм тяжелых металлов

ПДК Элемент Значение показателей по мониторинговым площадкам Среднее 2 3 23 0,81 0,91 1,27 0,90 0,97 Цинк 3,0 0,41 0,36 0,24 0,40 0,35 Медь Кадмий 0,02 0,88 0,74 0,98 0,81 0,63 Свинец 3,2 1,94 2,46 5,35 5,78 3,89 Кобальт 1,0 0,54 0,65 0,91 0,84 0,73 Никель 4,0 4,0 4,33 4,70 3,03 4,00

Вестник КемГУ	№ 4	2009	Биология
---------------	-----	------	----------

Таблица 2

Размеры органов растения у *Lemna minor L*.

Удаленность водо- емов от техноло- гической дороги, м	Длина листецов, см	Ширина листецов, см	Площадь листецов, см²	Толщина листецов, мм	Число корней, ит.	Средняя длина кор- ней, см
10	4,8±0,09	2,5±0,013	12±0,06	0,1±0,01	0,4±0,001	3,5±0,11
500	4,8±0,09	8,6±0,011	8,6±0,07	0,1±0,01	0,09±0,001	0,73±0,01
1000	4,2±0,08	$3,0\pm0,03$	12,3±0,06	$0,1\pm0,001$	1,0±0,001	2,3±0,10

Предположено тератогенное влияние поллютантов, так как у 18 % растений на первой мониторинговой площадке длина корней превышает 10см, а у отдельных из них может достигать 50 см. Во втором случае у 22 % растений она достигает 10 – 30 см. Это может быть вызвано не только модификациями под влиянием токсикантов, но и, например, соматическими мутациями. Чтобы подтвердить или опровергнуть мутагенный эффект необходима постановка специальных опытов, в которых растения могли бы пройти через генеративное размножение. К сожалению, цветение в семействе рясковых не укладывается ни в какие, известные для цветковых растений, ритмы развития и наблюдается настолько редко, что специально регистрируется. В Финляндии отмечено 33 случая цветения с 1685 по 1947 гг.; в Польше – только 2 раза с 1679 по 1959 гг.; в Америке – за последние 200 лет – не более 20 раз; в средней полосе России - с 1814 по 1978 гг. в печати появлялись сообщения о 25 находках цветущих рясок. Возникла новая проблема в разработке подходов по качественной оценке видимых и регистрируемых изменений на ряске малой.

Это оказалось возможным в результате использования растений в качестве биотестеров. Ряску малую называют «экологической дрозофилой», так как на каждый загрязнитель она откликается специфической реакцией: на медь – листецы реагируют полным рассоединением из групп и изменением окраски с зеленой на голубую; на цинк – окраска изменяется до бесцветной; на барий – с зеленой на молочно – белую, а при воздействии кобальта окраска теряется и приостанавливается рост растений [9].

Экспериментальным путем мы установили, что почвенная вытяжка второго разведения является пороговой (TC_{50}). Провели сравнительный эксперимент и получили сведения, подтверждающие токсичность почв (табл. 3).

Таблица 3 Специфическая реакция *Lemna minor L*. на загрязнение почвы

Варианты		Тестовые реакции	Коэффициент	Отклонение от	
опыта*	окраска листецов	рассоединение листецов	реакция листецов	роста	стандарта, %
1	интенсивно зеленая	нет	нет	2,85	_
2	светло- коричневая	есть	усыхание	0,88	- 69,2
3	желтовато- зеленая	есть	подсыхание зоны роста	1,33	- 53,3

^{**} достоверно при p< 05.

Во-первых, изменилась окраска листецов от интенсивно-зеленой в контрольном варианте до светло-коричневой в почвенной вытяжке первого разведения и желтовато- зеленой в условиях второго разведения. В опытных вариантах наблюдали рассоединение листецов, их усыхание (вариант 2), подсыхание зоны роста (вариант 3), а также существенное отклонение от контроля (на 53,3—69,2 %) в сторону депрессии по коэффициенту роста. Сравнение диаг-

ностируемых показателей провели с рекомендуемой авторами методики [13] таблицей по реакции ряски малой на соли тяжелых металлов. Выявлено, что симптомы и характер изменения листецов близки к индикаторным показателям повреждений, связанных с воздействием кадмия и свинца. Это отражает значительное влияние техногенной нагрузки на биологические системы и является обоснованием к дальнейшему использованию ряски малой в качест-

¹⁻ контроль;

²⁻ первое разведение;

³– второе разведение (TC_{50});

 TC_{50} – минимальная концентрация, обеспечивающая рост не более 50 % организмов.

ве биотеста в процессе экологического мониторинга окружающей среды.

Выводы

- 1. Биоиндикация окружающей среды с привлечением *Lemna minor L*. показала, что под влиянием техногенного загрязнения возможны физиологические отклонения от нормы реакции в виде потери пигментации, хлорозов зеленых органов, высокой изменчивости линейных параметров растений.
- 2. Биотестирование почв с привлечением этого вида растений подтвердило негативное влияние техногенных выбросов на биоту.

Литература

- 1. Бурдин, К. С. Основы биологического мониторинга / К. С. Бурдин. М.: Изд-во МГУ, 1985. 265 с.
- 2. Гарипова, Р. Ф. Биотестирование водных вытяжек почв, подвергшихся воздействию выбросов газохимического Оренбургского комплекса / Р. Ф. Гарипова, А. Ж. Калиев // Вестник Оренбургского государственного университета. -2004. -№ 9. C. 90 92.
- 3. ГОСТ 17.4.102- 83 Почвы. Классификация химических веществ для контроля загрязнения. М.: Изд-во стандартов, 1984. 4 с.
- 4. Давронов, И. Д. Индукция митотического кроссинговера и соматических мутаций у сои при действии нейтронов (0,8 МэВ) в сравнении с гаммаоблучением / И. Д. Давронов, И. А. Захаров // Генетика. 1985. Т. 21. № 11. С. 1864 1868.
- 5. Дубинин, Н. П. Мутагенез и окружающая среда / Н. П. Дубинин, Ю. В. Пашин. М.: Наука, 1978.-128 с.
- 6. Заушинцен, А. С. Биоиндикация почвы с помощью представителей семейства рясковых (*Lemnacea*) / А. С. Заушинцен // Сборн. научн. тр. студ. и молодых ученых Кемеровского гос. ун-та, посвящ. 60-летию победы в ВОВ (материалы XXXII апрельской конф. студ и молодых ученых КемГУ). Кемерово, 2005. Вып. 6. Т. 3. С. 344 345.

- 7. Заушинцен, А. С. Влияние техногенных выбросов разреза «Черниговец» на развитие *Lemna minor L*. в естественных водоемах / А. С. Заушинцен // Образование, наука и инновации вклад молодых исследователей (материалы I (XXXIII) Междунар. научн.- практич. конф. студ., аспирантов и молодых ученых). Кемерово, 2006.– Вып. 7. Т. 3. С. 271 273.
- 8. Заушинцен, А. С. Реакция *Lemna minor L*. на техногенное загрязнение почв вблизи разреза «Черниговец» / А. С. Заушинцен // Образование, наука и инновации вклад молодых исследователей (материалы I (XXXIV) Междунар. научн.- практич. конф. студ., аспирантов и молодых ученых). Кемерово, 2007. Вып. 8. Т. 1. С. 330 331.
- 9. Малюга, Н. Г. Биоиндикация загрязнения воды тяжелыми металлами с помощью представителей семейства рясковых— *Lemnacea* / Н. Г. Малюга, Л. В. Цаценко, Л. Х. Аветянц // Экологические проблемы Кубани. Краснодар, 1996. С. 153 155.
- 10. Минеев, В. Г. Биотест для определения экологических последствий применения химических средств защиты растений // Доклады ВАСХНИЛ. 1991. N 2. C.5 9.
- 11. Соколов, М. С. Система мониторинга загрязнения почв агросферы / М. С. Соколов, В. И. Терехов // Агрохимия. 1994. N 4. С. 88 98.
- 12. Соколов, М. С. Отклик агроландшафта на воздействие загрязняющих веществ и их экологическое нормирование / М. С. Соколов, Т. В. Павлова, В. П. Чуприна и др. // Агрохимия. 1999. № 5. С. 3-24.
- 13. Цаценко, Л. В. Методика биотестирования на основе ряскового теста в агроэкологическом мониторинге / Л. В. Цаценко, Н. Г. Малюга. Краснодар: КубГАУ, 2003. С. 407 415.

Рецензент – Н. Н. Чуманова, Кемеровский государственный сельскохозяйственный институт.