

На правах рукописи

Винокурова Наталья Викторовна

**МАКРОФИТЫ ПРЕСНЫХ ВОД КАК ОБЪЕКТ
БИОМОНИТОРИНГА ПОЛИХЛОРИРОВАННЫХ БИФЕНИЛОВ
(НА ПРИМЕРЕ РЕКИ УРАЛ В РАЙОНЕ ОРЕНБУРГА)**

03.02.08 – экология (биология)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Оренбург – 2015

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ГБОУ ВПО ОрГМУ Минздрава России).

Научный руководитель: **Соловых Галина Николаевна** доктор биологических наук, профессор ГБОУ ВПО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России

Официальные оппоненты: **Петухова Галина Александровна,** доктор биологических наук, профессор, ФГБОУ ВПО «Тюменский государственный университет» Министерства образования Российской Федерации, кафедра экологии и генетики.

Рябинина Зинаида Николаевна, доктор биологических наук, профессор, ФГБОУ ВПО «Оренбургский государственный педагогический университет» Министерства образования Российской Федерации, кафедра ботаники и физиологии растений.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Оренбургский государственный университет» Министерства образования Российской Федерации (ФГБОУ ВПО ОГУ Министерства образования России).

Защита состоится « 24 » апреля 2015 года в 15.00. часов на заседании диссертационного совета Д.208.066.03 при ГБОУ ВПО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России по адресу: 460000, г. Оренбург, ул. Советская, 6, конференц-зал (к. 205); телефон (3532) 40-35-62; факс (3532)77-24-59; e-mail: orgma_ds1@esoo.ru; официальный сайт: <http://orgma.ru>.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГБОУ ВПО ОрГМУ Минздрава России.

Автореферат разослан « » _____ 2015 г., автореферат и текст объявления размещены на официальном сайте ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации: www.vak2.ed.gov.ru

Ученый секретарь
диссертационного совета, д.м.н., профессор

Курлаев П.П.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Несмотря на принятые ограничения и запрещения использования полихлорированных бифенилов (ПХБ) в промышленном производстве, снижения содержания этих токсикантов в окружающей среде не наблюдается (Авхименко, 2000). Поэтому актуальной остается проблема загрязнения природных объектов ПХБ, так как они обладают высокой устойчивостью в окружающей среде (Майстренко, 2004) вследствие стабильности к внешним воздействиям, высокой температуры разложения, значительной фотоустойчивости, малой реакционной способности, что определяет их незначительный метаболизм в природных условиях (Крятов, 2013), а главное благодаря наличию у ПХБ липофильных свойств они способны аккумулироваться и передаваться по пищевым цепям, при этом накопление поллютантов живыми организмами происходит очень быстро и определяется влиянием внешних условий, видовыми особенностями организмов в отношении поглощения и выведения химикатов, экологической характеристикой животных (Крятов, 2012).

По мнению некоторых авторов (Флеров, 1989; Остроумов, 2010), объективная оценка экологической опасности загрязняющих веществ обязательно должна включать оценку сублетальных эффектов, так как даже в малых концентрациях они обладают высокой токсичностью. Это свидетельствует о необходимости разработки более эффективных методов мониторинга загрязнителей.

Несмотря на некоторую изученность воздействия ПХБ на компоненты биосферы (Гремячих, 2011), до сих пор остается недостаточно исследованным вопрос ответных реакций воздействия токсикантов на живые системы и адаптационные возможности организмов. Биохимический ответ растительных организмов водной экосистемы, как результаты первичной реакции на действие стресс-факторов, изучен не достаточно полно, а именно ответные реакции гидробионтов, в том числе и макрофитов, которые являются дополнительными и репрезентативными показателями состояния водной среды. Поэтому именно макрофиты выступают одним из объектов для мониторинга загрязнения водных экосистем.

Не изученным остается вопрос о загрязнении ПХБ р. Урал, а также не достаточно изучен вопрос об ответных реакциях макрофитов как одной из важнейших компонент, участвующих в процессе создания первичного органического вещества водных экосистем. Поэтому все это свидетельствует об актуальности проведенного исследования.

Цель исследования – научно обосновать возможности использования макрофитов пресных вод в качестве объектов биомониторинга полихлорированных бифенилов.

Задачи исследования:

1. Изучить видовое разнообразие макрофитов реки Урал и выявить доминантные виды, определить их систематическую принадлежность.
2. Определить содержание полихлорированных бифенилов в воде и донных отложениях реки Урал, изучить их межгодовую и сезонную динамику во временном и пространственном аспектах.

3. Изучить возможности биоаккумуляции полихлорированных бифенилов макрофитами разных экологических групп и оценить уровень их накопления в растениях.
4. В модельном эксперименте определить влияние различных концентраций полихлорированных бифенилов на состояние свободно-радикального окисления, антиоксидантную защиту, фотосинтезирующий и генетический аппарат макрофитов.
5. Разработать способ выявления загрязнения рек полихлорированными бифенилами с использования макрофитов пресных вод в качестве объектов биомониторинга.

Научная новизна. Установлены доминантные виды разных систематических групп макрофитов в реке Урал на территории Оренбургской области: наиболее многочисленной экологической группой являются гидрофиты (64,71%), большинство из которых представлены погруженными в воду укореняющимися гидрофитами (35,29%), а наиболее малочисленная экологическая группа (5,88%) представлена погруженными в воду, не укореняющимися гидрофитами.

Впервые выявлено загрязнение воды и донных отложений реки полихлорированными бифенилами (ПХБ) с четкой сезонной динамикой (повышением в летний и снижением в осенний период), содержание которых не превышало ПДК для почв и воды, но было выше зарубежных нормативов для донных отложений. Установлена тенденция к некоторому повышению в содержании токсикантов в период с 2009 по 2013 гг., и отмечена достаточно активная аккумуляция ПХБ в донных отложениях, что может выступать потенциальным источником вторичного загрязнения реки данными поллютантами.

Показана способность макрофитов аккумулировать полихлорированные бифенилы; выявлены межвидовые различия их накопления макрофитами. Установлены наиболее активные накопители токсикантов *Ceratophyllum demersum*, *Patamogeton crispus*, *Typha angustifolia* (Кб – от 89,89 до 1225), но не отмечено прямой корреляционной связи между содержанием ПХБ в воде и донных отложениях и их содержанием в макрофитах. Впервые показано, что за период вегетации происходит перераспределение поллютантов между компонентами водной экосистемы: снижение их содержания в воде и донных отложениях к осени, но увеличение в макрофитах, что способствует временному выведению ПХБ из экотопа, т.е. осуществляются процессы миграции и перераспределения ПХБ в водной среде по цепи «вода - макрофиты - донные отложения».

По результатам оценки степени защиты макрофитов от воздействия полихлорированных бифенилов установлено, что токсическое действие поллютантов на макрофиты подчиняется теории стресса, но ответная реакция компонентов антиоксидантной защиты растений зависит от дозы токсикантов – «доза-эффект». Выявлен повреждающий эффект действия ПХБ, проявляющийся в снижении их содержания и изменении соотношения пулов зеленых и желтых пигментов: чем выше концентрация ПХБ, тем ниже соотношение суммы хлорофиллов к количеству каротиноидов, что свидетельствует о нарушении производства новых фотосинтетических органелл и их функционировании. По результатам исследования токсического действия ПХБ «построено дерево классификации» и выделены 4 ведущих биохимиче-

ских показателя наиболее чувствительных к действию различных концентраций загрязнителей: концентрации хлорофилла *b* и флавоноидов, содержание витамина С и антиоксидантная активность.

Выявлена высокая информативность макрофитов в оценке содержания полихлорированных бифенилов в водной экосистеме, которые рекомендованы к использованию в экологическом мониторинге. Разработан способ выявления загрязнения рек полихлорированными бифенилами (патент на изобретение № 2526798 от 02 июля 2014г.).

Теоретическая и практическая значимость. Расширены знания об экологическом состоянии р. Урал на территории Оренбургской области и степени устойчивости компонентов экосистемы реки к действию ПХБ.

Выявленная высокая экотоксичность ПХБ послужила основой для разработки «Способа выявления загрязнения рек полихлорированными бифенилами», что имеет важное практическое значение для совершенствования экологического мониторинга водных экосистем и решения практических вопросов хозяйственно-питьевого водоснабжения населения. Результаты исследования могут быть применены для проведения биомониторинга на территориях, подвергнутых загрязнению ПХБ. Установление факта активного накопления ПХБ макрофитами, позволило их рекомендовать в практику фиторемедиации для усиления процессов очистки грунтов, природных и сточных вод.

Внедрение результатов исследования в практику. Материалы диссертационного исследования используются в учебном процессе на кафедре общей и коммунальной гигиены ГБОУ ВПО «Оренбургский государственный медицинский университет» (акт внедрения от 23.12.2014 г.), в лекционном курсе по экологии на кафедре биологии ГБОУ ВПО «Оренбургский государственный медицинский университет» (акт внедрения от 9.12.2014г.), на кафедре микробиологии ФГБОУ ВПО «Оренбургский государственный университет» (акт внедрения от 11.12.2014 г.), на кафедре биоэкологии, природопользования и экологической безопасности ФГБОУ ВПО «Оренбургский государственный аграрный университет» (акт внедрения от 12.01.2015 г.), на кафедре общей биологии, экологии и методики обучения биологии ФГБОУ ВПО «Оренбургский государственный педагогический университет» (акт внедрения от 13.01.2015 г.).

Личный вклад автора. Диссертация является оригинальной научной работой. Автором определены цели и задачи исследования, собраны и проанализированы литературные данные по проблематике научной работы. Выполнен отбор проб воды, донных отложений, образцов макрофитов. Определена систематическая принадлежность изучаемых растений. Проведен подбор и апробация методик биохимического анализа, самостоятельно проведены модельные эксперименты по изучению влияния ПХБ на биохимические показатели макрофитов и оценка генотоксичности поллютантов, проведен биохимический анализ образцов водных растений, отобранных на р. Урал на территории Оренбургской области.

Апробация результатов исследований. Материалы диссертационной работы докладывались на заседаниях кафедры биологии и кафедры биохимии Оренбургского государственного медицинского университета (2011-2014 гг.); на XI Всероссийском съезде гигиенистов и санитарных врачей (Москва, 2012); на VI Россий-

ской научно-практической конференции «Охрана природы и здоровья человека: проблемы медицины, биологии, экологии и новые научные технологии в XXI веке» (Оренбург, 2011); на Всероссийской научно-практической конференции «Химия: из прошлого в будущее», посвященной 100-летию юбилею Заслуженного деятеля науки, профессора Л.Е. Олифсона (Оренбург, 2013); на III (V) Всероссийской молодежной конференции с участием иностранных ученых «Перспективы развития и проблемы современной ботаники» (Новосибирск, 2014) Диссертация апробирована на расширенном заседании проблемной комиссии «Гигиена, экология, эпидемиология, общественное здоровье и здравоохранение» ОрГМУ (11.02.2015 г.).

Опубликованность результатов. По теме диссертации опубликовано 13 работ, из них 7 статей и 2 тезиса в рецензируемых научных журналах, обозначенных в списке ВАК для опубликования основных научных результатов исследований на соискание ученой степени доктора и кандидата наук.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Макрофиты являются аккумуляторами полихлорированных бифенилов в водной экосистеме и обладают межвидовыми различиями в их накоплении; за период вегетации происходит перераспределение поллютантов между компонентами водной экосистемы: снижение их содержания в воде и ДО и увеличение в макрофитах в осенний период, что способствует выведению ПХБ из экотопа.

2. Выделены 4 ведущих биохимических показателя наиболее чувствительные к действию различных концентраций полихлорированных бифенилов: концентрации хлорофилла *b* и флавоноидов, содержание витамина С и антиоксидантная активность

3. В мониторинге полихлорированных бифенилов, для повышения эффективности, необходимо проводить забор проб не только воды и донных отложений, но и фитомассы доминантных видов макрофитов в начале и конце периода вегетации растений.

Объем и структура диссертационной работы. Диссертация состоит из введения, 6 основных глав, выводов и приложений. Список литературы включает 278 источника, в том числе 30 на иностранном языке. Диссертация изложена на 212 страницах машинописного текста и иллюстрирована 23 таблицами и 32 рисунками, приложениями.

Связь работы с научными программами. Диссертационное исследование выполнено в ГБОУ ВПО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ в соответствии с открытым планом научно-исследовательской работы ГБОУ ВПО «ОрГМУ Минздрава России» (№ гос. регистрации 0120.0809344). Работа выполнена в рамках «Областного ГРАНТа в сфере научной и научно-технической деятельности», соглашение № 27-г, 2013 г.

Благодарность. Автор выражает глубокую благодарность сотрудникам испытательной лаборатории Федерального государственного учреждения Государственный центр агрохимической службы «Оренбургский» за помощь в проведении химического анализа проб донных отложений, воды, растений. Особую благодарность выражаю научному руководителю д.б.н., профессору Г.Н. Соловых за ценные консультации, помощь в выборе методик и подготовке экспериментов, а также при

анализе результатов и написании диссертации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Диссертационные исследования проводились с 2009 по 2013 гг.

В качестве материалов использовались вода, донные отложения и водные растения, собранные в 2009, 2011, 2013 гг. в реке Урал. Отбор проб воды производился на расстоянии с центральной части с глубины 0,3-0,5 м. Пробы донных отложений отбирали на максимальной глубине с горизонта 0-10 см дночерпателем. Пробы помещали в стеклянную посуду объёмом 1 л из темного стекла и фиксировали н-гексаном.

Суммарное содержание ПХБ в исследуемых образцах определяли хроматографическим методом на хроматографе «Хромос GX-1000» на базе испытательной лаборатории Федерального государственного учреждения Государственный центр агрохимической службы «Оренбургский». Оценка содержания ПХБ в воде проводилась в сравнении с их ПДК в воде (Г.Н. 2.1.5.2280-07), в ДО в соответствии с ПДК для почв (ГН 2.1.7.2041-06), а также с зарубежными нормами, равными 0,02 мг/кг (Neue Niederlandische Liste, 1995).

Растения, используемые для дальнейших исследований, сушили при комнатной температуре в затемненном месте, предварительно тщательно промытые в проточной водопроводной воде с тем, чтобы удалить с их поверхности возможные загрязнения.

Для оценки разнообразия исследуемых сообществ было проведено определение видового богатства с помощью индексов видового богатства Маргалефа (D_{Mg}) и Менхиника (D_{Mn}), также вычислены индексы доминирования Паляя–Ковнацки (География и мониторинг биоразнообразия, 2002).

При постановке экспериментов использовали лабораторные модельные водные экосистемы, содержащие в качестве объекта пресноводный макрофит роголистник погружённый (*Ceratophyllum demersum* L.). После сбора растения промывались проточной водой для избавления от эпифитов и содержались в аквариумах (ёмкостью 15 литров) для прохождения периода акклиматизации в условиях естественной фотопериодичности при температуре воды $20^{\circ}\text{C}\pm 3$ в течение 14 суток. Для содержания растений использовали предварительно отстаивную в течение двух суток водопроводную воду.

Изучение влияния ПХБ на макрофиты проводили с применением однократных добавок контаминантов (Филенко, 1988).

В качестве воздействующего вещества применяли раствор Совола (смесь тетра-, пента- и гекса-ПХБ) в гексане с концентрацией 0,005; 0,001; 0,0012 мг/л. Данные концентрации соответствовали минимальному, максимальному значению ПХБ в реке Урал, а также ПДК данных поллютантов для воды водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования. В качестве контроля выступали растения, содержащиеся в воде без добавления токсикантов. Уровень воды в модельных системах в опытах с однократными добавками поддерживали путем мониторинга (через каждые двое суток) за снижением уровня воды и добавления в аквариумы воды до отметки требуемого уровня. После периода акклиматизации, были взяты пробы из всех аквариумов, и проведены определения исходного

содержания исследуемых биохимических показателей. Затем в аквариумы были добавлены ПХБ в различных концентрациях. После чего биохимические исследования были проведены через 2, 5, 9, 12 дней.

Степень свободно-радикального окисления определяли по содержанию соединений, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБКРС) (Costa et al., 2002), об антиоксидантной активности макрофитов судили по их способности ингибировать аутоокисление адреналина *in vitro* и тем самым предотвращать образование активных форм кислорода (Сирота, 2000). В экстрактах макрофитов определяли активность каталазы (Королюк, 1988), массовую долю суммы Р-активных флавоноидов (Лобанова, 2004), количественное содержание аскорбиновой кислоты (Кучеренко, 1988), хлорофиллов *a* и *b*, каротиноидов (Шлык, 1968).

Для моделирования оценки генотоксичности ПХБ использовали два биотеста: метод учета видимых мутаций (ВМ) - *Chlorella vulgaris*, метод учета хромосомных aberrаций (ХА) в меристеме- *Allium cepa* (Прохорова, 2005).

Для статистической обработки результатов исследований и корреляционного анализа применяли компьютерные программы EXCEL 2000 (Microsoft, USA) и Statistika 10.0. Для выявления прямой (сильной, средней, умеренной и слабой) корреляционной связи использовали коэффициент корреляции Пирсона. Была построена математическая модель зависимости концентрации от значений биохимических показателей *Ceratophyllum demersum* при помощи «Построение деревьев классификации». В качестве целевая переменная выступала «концентрация ПХБ» (варианты: 0,0 мг/л - контроль; 0,0005 мг/л; 0,001 мг/л; 0,0012 мг/л). Предикторами в построенной модели выступали: активность каталазы, содержание ТБКРС, аскорбиновой кислоты, флавоноидов, хлорофилла *a* и хлорофилла *b*, каротиноидов, антиоксидантная активность. Определение статистической значимости различий между сравниваемыми параметрами проводилось с расчетом критерия Стьюдента, при обязательном выполнении условий нормальности (критерий Колмагорова-Смирнова) в сравниваемых группах и равенства дисперсии (критерий Левина). Пороговый уровень статистической значимости принят при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате исследования макрофитов на различных станциях, расположенных на р. Урал в районе Оренбурга и на территории Оренбургской области нами выявлено 17 доминирующих видов макрофитов из 13 семейств (Typhaceae, Sparganiaceae, Potamogetonaceae, Najadaceae, Alismataceae, Butomaceae, Hydrocharitaceae, Zannichelliaceae, Cyperaceae, Lemnoideae, Nymphaeaceae, Ceratophyllaceae, Haloragaceae) и 14 родов (Typha, Sparganium, Potamogeton, Najas, Sagittaria, Butomus, Hydrocharis, Zannichellia, Carex, Scirpus, Lemna, Nuphar, Ceratophyllum, Myriophyllum). В состав изучаемой флоры входят растения, относящиеся к отделу Magnoliophyta (цветковые растения). В составе флоры макрофитов все растения относятся к цветковым растениям, большинство которых (76,92 %) приходится на класс Liliopsida, остальная часть (23,08%) – на класс Magnoliopsida.

По числу видов (рис. 1) лидирует семейство Potamogetonaceae: 23,53% всех обнаруженных видов макрофитов. На втором месте семейство Cyperaceae, содержащее 2 вида, что соответствует 11,16%.



Рис. 1 Распределение видов макрофитов р. Урал по экологическим группам

На долю остальных семейств приходится по 5,88%, они содержат по 1 виду растений. Самой многочисленной экологической группой макрофитов являются гидрофиты, насчитывающие 11 видов (64,71%). Большинство (35,29%) из них представлены группой погруженных в воду, укореняющиеся гидрофитов, ими являются 6 видов. На долю укореняющихся гидрофитов с плавающими на поверхности воды листьями и гидрофитов не укореняющихся, свободно плавающих на поверхности воды приходится по 11,76%. Наиболее малочисленной группой среди гидрофитов являются гидрофиты, погруженные в воду, не укореняющиеся, к этой группе относится 1 вид: *Ceratophyllum demersum* (5,88%). Группа гелофитов включает 5 видов, что составляет 29,41% от всех макрофитов. Гидрофитом является 1 вид: *Carex riparia*, на его долю приходится 5,88%.

Среди макрофитов, собранных в 2013 г., большинство видов относится к субдоминантам (57,28%), к доминантам принадлежат 37,18%, остальная часть (11,54%) определены как субдоминанты первого порядка.

Сопоставление распространенности макрофитов в пределах описанных станций р. Урал между собой показало, что исключительным преобладанием характеризовалось водное растение *Ceratophyllum demersum*, оно выступало в роли доминанты на 8 станциях.

Изучение в модельных условиях адаптационных возможностей именно доминантного растения к действию ПХБ представляет как теоретический интерес, так и практическое значение, поскольку создаёт научные основы для разработки методов биомониторинга водных объектов, загрязненных данными поллютантами, и фиторемедиации в целях повышения устойчивости гидроценозов в целом и поддержания биологического разнообразия экосистем.

Не изученность данного вопроса для р. Урал, как одного из крупнейших водотоков региона, а также степень аккумуляции ПХБ макрофитами, несомненно, представляет огромный экологический интерес.

Результаты анализа содержания ПХБ в воде и ДО р. Урал в районе Оренбурга, проведенные в 2009, 2011 гг. представлены в таблице 1.

По Российским нормативам превышения ПДК для воды водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования не было характерно на всех изученных станциях р. Урал в районе Оренбурга, за исключением ст. «Очистные сооружения», где в июне 2009 г. было зафиксировано превышение показателя в 1,2 раз, а в ДО по нормативам для почв выявлено превышение в 1,17 раз и отмечена наиболее высокая концентрация ПХБ в ДО.

Таблица 1

Содержание ПХБ в воде и ДО, значения коэффициентов донной аккумуляции на станциях реки Урал в районе Оренбурга в 2009; 2011гг

Название станции	Концентрация ПХБ				КДА
	в воде		в донных отложениях		
	мг/л	нг/л	мг/кг	нг/г	
июнь 2009 г.					
Очистные сооружения	0,0012±0,0001	1200	0,07±0,003	70	58,33
Автомаршрутный мост	0,0008±0,00004	800	0,017±0,0008	17	21,25
Водозабор	0,0008±0,00005	800	0,04±0,0017	40	50,00
июнь 2011 г.					
Очистные сооружения	0,0010±0,00023	1000	0,065±0,027	65	65,00
Автомаршрутный мост	0,00074±0,00017	740	0,015±0,0063	15	20,27
Водозабор	0,0007±0,00016	700	0,037±0,015	37	52,86
сентябрь 2011 г.					
Очистные сооружения	0,0008±0,00018	800	0,05±0,021	50	62,50
Автомаршрутный мост	0,00061±0,00014	610	0,021±0,008	21	34,43
Водозабор	0,0005±0,00011	500	0,028±0,011	28	56,00

В тоже время, по зарубежным нормативам концентрация ПХБ в ДО в разные периоды исследования была превышена на ряде станций экосистем р. Урал, но максимальное превышение (2,5 - 3,5 раз) также выявлено на ст. «Очистные сооружения», а наиболее низкое содержание поллютантов отмечено на ст. «Автомаршрутный мост», где их значения либо не превышали норму, либо были увеличены незначительно.

Расчет и анализ коэффициента донной аккумуляции ПХБ (КДА) (табл. 1) показал, что в 2009 г. наибольшая аккумуляция ПХБ в донных отложениях наблюдалась на ст. «Очистные сооружения» (58,33), что полностью согласуется и с высоким содержанием данных загрязнителей в воде. Наиболее низкий показатель донной аккумуляции был зарегистрирован на ст. «Автомаршрутный мост», о чем свидетельствует значение КДА (21,25).

Анализ временной динамики процесса аккумуляции ПХБ на ст. «Очистные сооружения» выявил заметное его усиление, подтверждением чему является увеличение коэффициента накопления ПХБ с 58,33 в июне 2009 г. до 65,0 в июне 2011 г. В сентябре 2011 г. КДА снизился до 62,5, что говорит либо о снижении процесса накопления ПХБ, либо об уменьшении поступления данных токсикантов со сточными водами г. Оренбурга.

На ст. «Автомаршрутный мост» максимальная способность накапливать ПХБ в ДО была зафиксирована в сентябре 2011 г - КДА 34,43, тогда как в июне 2009 г. и июне 2011 г. этот показатель был ниже - КДА 21,25 и 20,27. Выявлено увеличение аккумуляционной способности ДО от лета к осени 2011 г. в 1,7 раз. Установлена высокая аккумуляция данных токсикантов донными отложениями и на ст. «Водозабор», где в июне 2009 г. значение КДА составило 50,0, в июне 2011 г. - 52,86, а в

сентябре 2011 г. - 56,0. За летний сезон 2011 г усиление донной аккумуляции произошло в 1,06 раз.

Усиление процесса депонирования поллютантов происходит, по-видимому, из-за вторичного попадания ПХБ с отмирающими растениями или за счёт увеличения их поступления в реку с водосборной площади. Одним из факторов, определяющих процессы аккумуляции ПХБ в реке, вероятно, является характер грунта, так наибольшая аккумулярующая способность выявлена на ст. «Очистные сооружения», где преобладало илистое дно, а более низкая способность накапливать ПХБ показана на ст. «Автомаршрутный мост», характеризующейся песчаным грунтом.

Впервые установленное присутствие ПХБ в воде и ДО р. Урал в районе Оренбурга, и прослеженные динамические изменения их накопления по КДА как по разным станциям, так и по годам, вызвали необходимость более широкого обследования р. Урал на содержание данных токсикантов и на других участках реки.

Для решения поставленной задачи в ходе экспедиции 2013 г. был осуществлен забор проб воды и ДО реки Урал не только в районе Оренбурга, но и по среднему течению реки: от Оренбурга до Ириклинского водохранилища. Результаты анализа содержания токсикантов в воде и ДО представлены в таблице 2.

Таблица 2

Содержание ПХБ в воде и ДО и значения коэффициентов донной аккумуляции на станциях реки Урал в районе Оренбурга и на территории Оренбургской области в 2013 г.

Название станции	Концентрация ПХБ				КДА
	в воде		в донных отложениях		
	мг/л	нг/л	мг/кг	нг/г	
Очистные сооружения	0,00081±0,00022	810	0,056±0,03	56	69,14
Железнодорожный мост	0,00065±0,00018	650	0,018±0,009	18	27,69
Автомаршрутный мост	0,00075±0,0002	750	0,016±0,008	16	21,33
Водозабор	0,00068±0,00018	680	0,035±0,02	35	51,47
Карьер	<0,0003	<300	<0,01	<10	33,33
Лагерь «Дубки»	<0,0003	<300	<0,01	<10	33,33
п. Южный Урал, Лагерь «Чайка»	<0,0003	<300	<0,01	<10	33,33
п. Черноречье, мост через р. Урал	0,00041±0,00011	410	0,017±0,009	17	41,46
Турбаза «Прогресс», Оренбургский район	<0,0003	<300	<0,01	<10	33,33
с. Красногор, Саракташский район	<0,0003	<300	<0,01	<10	33,33
с. Алабайтал, Беляевский район	<0,0003	<300	<0,01	<10	33,33
с. Никольское, Кувандыкский район	<0,0003	<300	<0,01	<10	33,33
с. Хабарное ниже г. Новотроицка	0,00035±0,00009	350	0,012±0,006	12	34,29
с. Ущелье выше г. Новотроицка	0,00031±0,00008	310	0,011±0,006	11	35,48
г. Орск (городской пляж)	<0,0003	<300	<0,01	<10	33,33
п. Новоказачий выше г. Орска	0,00031±0,00008	310	0,012±0,006	12	38,71
Ириклинское водохранилище	<0,0003	<300	<0,01	<10	33,33
отд. Уральское, Кваркенский район	<0,0003	<300	<0,01	<10	33,33

В содержании ПХБ в воде и ДО (по Российским нормативам) на всех 18 станциях в 2013 г. не были установлены превышения ПДК. Максимальная концентрация поллютантов в воде и в ДО была зафиксирована, как и в предыдущие годы исследования, на ст. «Очистные сооружения» в районе Оренбурга ($0,00081 \pm 0,00022$ мг/л и $0,056 \pm 0,03$ мг/кг).

Наиболее низкие значения ПХБ в воде и в ДО ($<0,0003$ мг/л и $<0,01$ мг/л) были зарегистрированы для 10 станций: «Карьер», «Лагерь «Дубки»», «п. Южный Урал, Лагерь «Чайка»», «Турбаза «Прогресс», Оренбургский район», «с. Красногор, Саракташский район», «с. Алабайтал, Беляевский район», «с. Никольское, Кувандыкский район», «г. Орск (городской пляж)», «Ириклинское водохранилище», «отд. Уральское, Кваркенский район».

Оценка содержания ПХБ в ДО по зарубежным нормативам, выявила превышение показателя только на двух станциях: на ст. «Очистные сооружения» в 2,8 раза и на ст. «Водозабор» в 1,75 раза, а на остальных участках реки содержание токсикантов соответствовало нормам.

Оценка аккумулирующей способности донных отложений в 2013 г. показала, как и в предыдущие годы исследования (2009 и 2011 гг.) самый высокий показатель КДА (69,14) полихлорбифенилов на ст. «Очистные сооружения», а также высокие значения КДА были выявлены на ст. «Водозабор» - 51,47, на ст. «п. Черноречье, мост через р. Урал» - 41,46, на ст. «п. Новоказачий выше г. Орска» - 38,71 (рис. 2).

Более низкая способность накапливать поллютанты (КДА 33,33) выявлена для тех же 10 станций реки, где отмечено минимальное содержание ПХБ как в воде, так и в ДО.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что на исследуемых участках реки во все годы исследования в содержании полихлорированных бифенилов не было существенного превышения ПДК в воде (на ст. «Очистные сооружения» в 2009 г. в 1,2 раза), в то время как в ДО, на отдельных станциях их значения превышали зарубежные нормативы в несколько раз (на ст. «Очистные сооружения» в 2009 г. в 3,5 раза, в 2011 г. – 2,5 - 3,25 раза, а в 2013 г. – 2,8 раза).

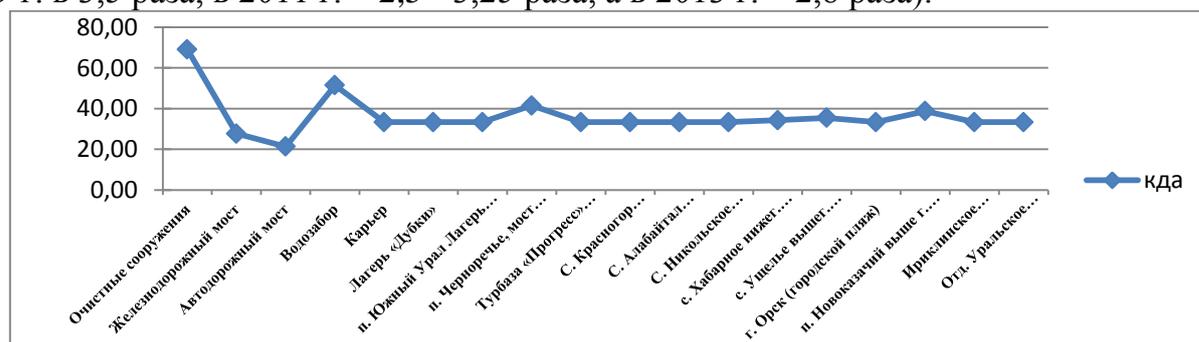


Рис. 2 Значение коэффициента донной аккумуляции ПХБ на станциях р. Урал, расположенных в районе Оренбурга и среднего течения реки на территории Оренбургской области

Установление факта присутствия полихлорбифенилов на всём протяжении исследованного участка р.Урал определило следующий этап исследования: оценить содержание ПХБ в макрофитах доминантных и субдоминантных видов, характерных для отдельных станций реки Урал в разные периоды и провести расчеты коэффициентов биологического поглощения (Кб) и относительного специфического

накопления (Ксон) ПХБ макрофитам. Кб отражает уровень биогенной миграции загрязнителя и показывает во сколько раз его содержание больше в золе растения по сравнению со средой обитания, а Ксон даёт информацию о селективной способности макрофитов к накоплению токсикантов при произрастании в одинаковых экологических условиях и выявлению фитоиндикаторов.

Результаты оценки миграции ПХБ между растениями и средой обитания по Кб (табл. 3) не выявили прямой корреляционной связи между содержанием ПХБ в воде, ДО и их содержанием в макрофитах, однако установлены межвидовые различия в накоплении ПХБ в растениях: более высокий Кб был отмечен в июне 2009 г (от 11,38 до 1225), а в июне 2011 г этот показатель снизился и колебался от 6,1 до 27,58.

Таблица 3

Коэффициенты биологического поглощения ПХБ в макрофитах, собранных в реке Урал в районе Оренбурга в 2009, 2011 гг.

Станция	Растение	Коэффициент биологического поглощения(Кб)		
		Июнь 2009 г	Июнь 2011 г	Сентябрь 2011 г
Очистные сооружения	<i>Sagittaria sagittifolia</i>	11,38	-	-
	<i>Butomus umbellatus</i>	12,08	-	-
	<i>Carex riparia</i>	40,45	9,70	13,98
Автомобильный мост	<i>Potamogeton perfoliatus</i>	78,65	6,1	24,99
	<i>Typha angustifolia</i>	89,89	-	-
	<i>Butomus umbellatus</i>	54,49	-	-
	<i>Carex riparia</i>	-	3,72	28,69
	<i>Zannichellia palustris</i>	-	4,48	-
Водозабор	<i>Potamogeton crispus</i>	25,25	-	-
	<i>Ceratophyllum demersum</i>	1225	-	-
	<i>Zannichellia palustris</i>	25,25	-	-
	<i>Potamogeton perfoliatus</i>	31,86	27,58	31,58
	<i>Carex riparia</i>	-	22,02	26,67

«-» растения не были обнаружены

В 2011 г. анализ накопления ПХБ в макрофитах был проведен в два сезона исследования и выявлено увеличение содержания ПХБ от лета к осени. В сентябре 2011 г произошло значительное возрастание процесса поглощения поллютантов во всех макрофитах: в июне Кб колебался от 3,72 до 27,58, а в сентябре он составил 13,98 - 31,58, для отдельных растений (*Carex riparia*, *Potamogeton perfoliatus*) коэффициент повышался в 1,4; 4,26; 7,7 раза.

Выявлена избирательная способность макрофитов к накоплению ПХБ у разных видов. Наиболее высокие показатели Кб были отмечены для *Ceratophyllum demersum* - 1225, *Potamogeton crispus* -78,65 и *Typha angustifolia* – 89,89, а низким аккумулярующим эффектом обладали *Sagittaria sagittifolia* -11,38 и *Butomus umbellatus* -12,08.

Для оценки способности к накоплению полихлорбифенилов макрофитами, произрастающими в одинаковых экологических условиях, были рассчитаны коэффициенты специфического относительного накопления ПХБ - Ксон (табл. 4).

Установлено, что в 2009 г. более высокий коэффициент был зарегистрирован у *Typha angustifolia* (1,55) на ст. «Автомоторный мост», а самый низкий в том же году у *Carex riparia* (0,54) на ст. «Очистные сооружения».

Процесс относительного накопления ПХБ в макрофитах в оба сезона 2011 г. варьировал, о чём свидетельствуют рассчитанные показатели Ксон: в июне от 0,68 до 1,44, в сентябре 0,84 до 1,18. Для всех растений, за исключением *Potamogeton perfoliatus*, для которого отмечено уменьшение коэффициента в 1,06 раз, наблюдалась тенденция к увеличению относительного накопления ПХБ от лета к осени. Так на ст. «Автомоторный мост» для *Potamogeton perfoliatus* возрастание составило 1,19 раз, для *Carex riparia* - 1,3 раза, на ст. «Водозабор» для *Carex riparia* – 1,05 раза.

Таблица 4

Значение коэффициентов специфического относительного накопления ПХБ макрофитами, собранными в реке Урал в районе Оренбурга в 2009, 2011 гг.

Станция	Растение	Коэффициент специфического относительного накопления (Ксон)		
		Июнь 2009 г	Июнь 2011 г	Сентябрь 2011 г
Очистные сооружения	<i>Sagittaria sagittifolia</i>	0,94	-	-
	<i>Butomus umbellatus</i>	1,06	-	-
	<i>Carex riparia</i>	0,54	-	-
Автомоторный мост	<i>Potamogeton perfoliatus</i>	1,28	0,97	1,15
	<i>Typha angustifolia</i>	1,55	-	-
	<i>Butomus umbellatus</i>	0,78	-	-
	<i>Carex riparia</i>	-	0,68	0,87
	<i>Zannichellia palustris</i>	-	1,44	-
Водозабор	<i>Potamogeton crispus</i>	0,93	-	-
	<i>Ceratophyllum demersum</i>	1,28	-	-
	<i>Zannichellia palustris</i>	0,88	-	-
	<i>Potamogeton perfoliatus</i>	0,93	1,25	1,18
	<i>Carex riparia</i>	-	0,80	0,84

«-» растения не были обнаружены

Исследования уровня миграции ПХБ из среды в растения в 2013 г. показали, что среди всех изученных растений, наилучшей способностью к накоплению обладает *Ceratophyllum demersum*, т.к. его Кб варьировал от 984,62 на ст. «Железнодорожный мост» до 2967,74 на ст. «с. Ущелье, выше г. Новотроицка», а в среднем для данного растения коэффициент составлял 1695,32. на всех станциях, где оно было обнаружено.

Несколько медленнее поллютанты мигрировали в растение *Lemna minor* (Кб от 2096,77 на ст. «п. Новоказачий, выше г. Орска» до 2933,33 на ст. «Турбаза «Прогресс», Оренбургский район») или в среднем по станциям для растения - 2440,14. Также высокой способностью поглощать ПХБ отличался и вид *Hydrocharis morsus-ganae*, для которого Кб колебался от 677,42 (ст. «п. Новоказачий, выше г. Орска») до 1225,81 (ст. «с. Ущелье, выше г. Новотроицка») или в среднем 1023,3. Все эти виды растений относятся к не укореняющимся гидрофитам и извлекают ПХБ только из водной толщи.

Среди укореняющихся макрофитов наибольшей способностью поглощать ПХБ характеризовались виды *Potamogeton natans* (среднее Кб 75,55) и *Scirpus lacustris* (среднее Кб - 71,31), а низкой - *Nuphar lutea* (среднее Кб 31,07) и *Sparganium erectum* (Кб - 33,52).

Ряд, построенный по интенсивности накопления ПХБ для выявленных макрофитов по среднему значению Кб, выстраивается следующим образом: *Ceratophyllum demersum* > *Lemna minor* > *Hydrocharis morsus-ranae* > *Potamogeton natans* > *Scirpus lacustris* > *Potamogeton perfoliatus* > *Potamogeton crispus* > *Zannichellia palustris* > *Typha angustifolia* > *Butomus umbellatus* > *Myriophyllum spicatum* > *Potamogeton lucens* > *Sagittaria sagittifolia* > *Najas marina* > *Sparganium erectum* > *Nuphar lutea*.

Сравнение средних значений коэффициентов специфического относительно накопления ПХБ для макрофитов показано, что более высокое значение Ксон зафиксировано для *Scirpus lacustris* (1,71), *Potamogeton perfoliatus* (1,54) и *Potamogeton natans* (1,51), которые относятся к группе укореняющихся макрофитов. Самые низкие значения наблюдались у укореняющегося с плавающими на поверхности листьями гидрофита *Nuphar lutea* (0,54) и неукореняющегося, свободно плавающего гидрофита *Hydrocharis morsus-ranae* (0,55).

Ряд изучаемых макрофитов по среднему значению коэффициентов специфического накопления ПХБ выстраивается следующим образом: *Scirpus lacustris* > *Potamogeton perfoliatus* > *Potamogeton natans* > *Potamogeton crispus* > *Lemna minor* > *Butomus umbellatus* > *Typha angustifolia* > *Zannichellia palustris* > *Ceratophyllum demersum* > *Myriophyllum spicatum* > *Sparganium erectum* > *Potamogeton lucens* > *Sagittaria sagittifolia* > *Najas marina* > *Hydrocharis morsus-ranae* > *Nuphar lutea*.

Проведенный анализ содержания ПХБ в воде, донных отложениях и накопления токсикантов в макрофитах позволяет сделать выводы о том, что:

во – первых, в воде, донных отложениях и макрофитах р. Урал присутствуют ПХБ; во - вторых, за период вегетации растений происходит перераспределение ПХБ между компонентами водной экосистемы - осенью их содержание снижается в среде, но увеличивается в макрофитах, а это способствует выведению токсиканта из водной среды и биологическому самоочищению воды природных водных экосистем от данных загрязнителей. Выявление подобного факта свидетельствует о возможности использования макрофитов для фиторемедиации водоёмов и снижения их загрязнения полихлорированными бифенилами, что предотвратит возвращение загрязнителей в экосистемы в процессе их отмирания.

Установление факта аккумуляции макрофитами значительного количества ПХБ определило необходимость выполнения следующей задачи: исследовать биохимический ответ макрофитов (перестройки фотосинтезирующей системы и генетического аппарата, потенциальные возможности защиты растительных организмов на данное воздействие) на действия ПХБ с помощью модельных экспериментов.

Тест-объектом в модельном эксперименте выступал выявленный нами, доминирующий в р. Урал вид макрофитов - роголистник погружённый (*Ceratophyllum demersum* L.). Результаты оценки токсического действия ПХБ на макрофиты по динамике содержания соединений, реагирующих с тиобарбитурой кислотой (ТБКРС) в *Ceratophyllum demersum* представлены в таблице 5.

Динамические изменения концентрации ТБКРС и в процентах (%) к контролю в *Ceratophyllum demersum* под воздействием различных концентраций ПХБ

Экспозиция, день	Контроль	Вариант опыта (концентрация ПХБ, мг/л)					
		0,0005		0,001		0,0012	
		Концентрация ТБКРС, мкмоль/г	%	Концентрация ТБКРС, мкмоль/г	%	Концентрация ТБКРС, мкмоль/г	%
До внесения ПХБ	15,53±3,38	15,53±3,38	100	15,53±3,38	100	15,53±3,38	100
2	18,19±1,23	15,1±4,19	83,0	22,84±1,37*	125,5	9,89±3,45*	54,4
5	16,43±2,32	29,18±3,46*	177,6	27,96±3,1*	170,2	32,13±2,95*	195,5
9	14,41±4,69	13,42±2,34	93,1	24,34±2,19*	168,9	23,05±1,44*	160,0
12	13,46±1,99	7,10±2,32*	52,7	22,84±3,16*	169,7	21,76±1,89*	161,7

*- различия с контролем достоверны при $p \leq 0,05$

Полученные результаты показали, что ПХБ в концентрациях, равных уровню ПДК и несколько выше, активизируют процессы свободно-радикального окисления в макрофитах, о чем свидетельствуют изменения в 1,6 – 1,7 раза концентрации ТБКРС в их тканях по сравнению с контролем. Следует отметить, что ПХБ как стрессовые факторы вызывали различные по амплитуде и скорости изменения содержания ТБКРС, что свидетельствовало о формировании разной ответной реакции макрофита в зависимости от концентрации поллютантов.

Известно, что свободно-радикальное окисление в клетке поддерживается на постоянном уровне благодаря многоуровневой антиоксидантной системе защиты, а сбалансированность между окислением и антиоксидантной активностью является необходимым условием для поддержания нормальной жизнедеятельности клетки (Курганова, 2001).

К ферментативным антиоксидантным ферментам относится каталаза. Полученные данные по изучению активности каталазы в *Ceratophyllum demersum* во временном аспекте при разных концентрациях ПХБ представлены на рис. 3.

Во всех макрофитах, культивируемых в среде с добавлением ПХБ, наблюдалась тенденция повышения каталазной активности с начала эксперимента сверх нормального уровня, причем аномально высокий показатель был зафиксирован для *Ceratophyllum demersum* из аквариума с содержанием 0,001 мг/л токсикантов. Повышение активности каталазы в этот период не соответствует первой фазе адаптации, при которой должны быть падение всех физиологических и биохимических процессов, так как сила внешнего воздействия токсикантов была небольшой, а в этом случае, проявления первой фазы может быть слабо выражено или совсем отсутствовать.

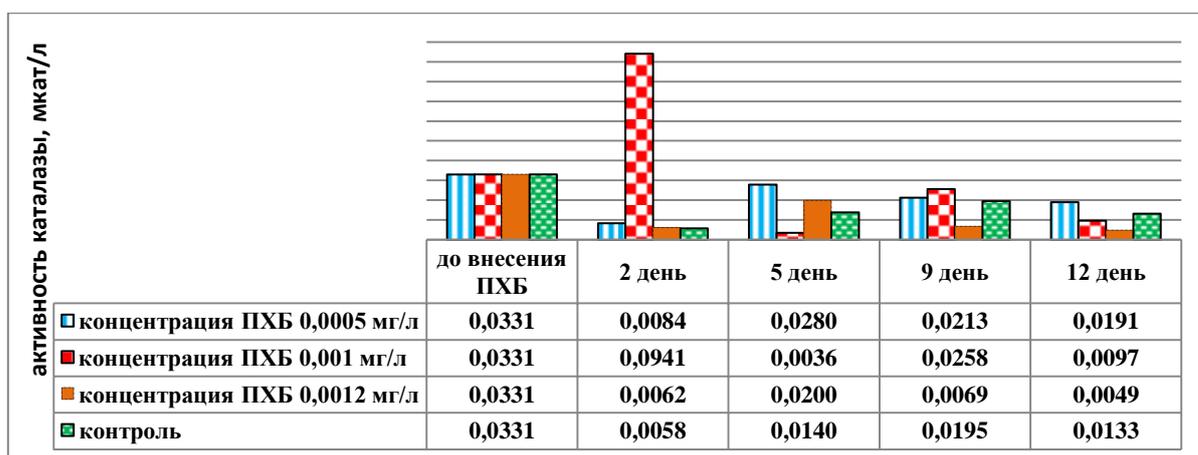


Рис. 3 Динамические изменения активности каталазы под воздействием различных концентраций ПХБ

В последующем, наблюдалось резкое падение активности каталазы в пробах из аквариума с 0,001 мг/л ПХБ, что приводило к волнообразным изменениям показателя с затухающей амплитудой и соответствовало второй стадии – «адаптации» растения к воздействию поллютантов. В растениях из других аквариумов не было отмечено резких колебаний значений каталазной активности, они также имели волнообразный вид с тенденцией к незначительному повышению показателя сверх нормального на 12 сутки в макрофитах из среды с 0,0005 мг/л поллютантов и понижению значений в растениях, содержащихся в воде с 0,0012 мг/л ПХБ. Таким образом, разные концентрации ПХБ вызвали различные по амплитуде и скорости изменения активности каталазы, которые отличались от контроля.

Одним из факторов неферментативной антиоксидантной защиты растений является аскорбиновая кислота, которая как восстанавливающий агент способна напрямую реагировать на супероксидный, гидроксильный и токоферильный радикалы, что обеспечивает ей антиоксидантные функции.

Результаты количественного определения содержания аскорбиновой кислоты в *Ceratophyllum demersum* представлены на рис. 4.

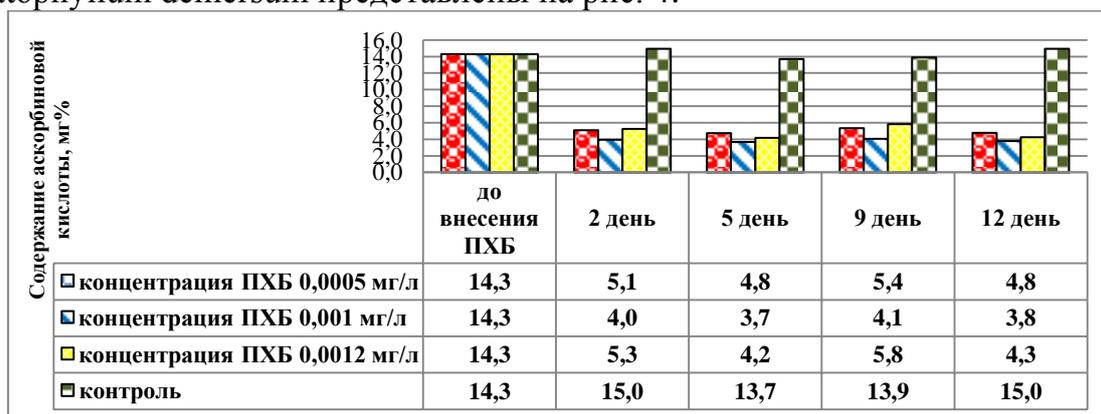


Рис. 4 Динамические изменения содержания аскорбиновой кислоты в экстрактах *Ceratophyllum demersum* в модельном эксперименте

Выявлено снижение содержания аскорбиновой кислоты на 2 день эксперимента во всех пробах, подвергшихся воздействию разных концентраций ПХБ, по сравнению с контролем, и эта тенденция сохранялась почти на всем протяжении

эксперимента и была значительно ниже контрольной пробы. Следовательно, содержание аскорбиновой кислоты в растениях варьирует в зависимости от дня эксперимента и концентрации токсикантов.

Установление факта снижения содержания аскорбиновой кислоты под воздействием различных концентраций ПХБ полностью согласуется с известными данными о том, что аскорбиновая кислота выполняет защитную функцию уже на первых этапах образования активных форм кислорода, а снижение ее количества в макрофите, возможно, свидетельствует о включении защитных механизмов к действию ПХБ.

Важную роль в защите растений от различных неблагоприятных факторов окружающей среды играет многочисленная группа фенольных соединений растительного происхождения – флавоноиды. Результаты количественного определения суммарного содержания флавоноидов в *Ceratophyllum demersum* во временном аспекте представлены на рис. 5.

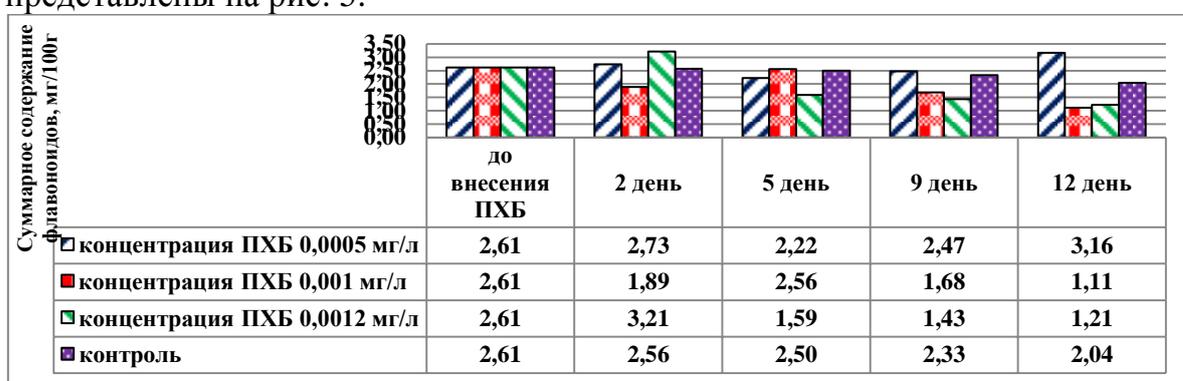


Рис. 5 Динамические изменения массовой доли суммы Р-активных флавоноидов в экстрактах *Ceratophyllum demersum* в модельном эксперименте

Сумма флавоноидов в образцах *Ceratophyllum demersum* варьировала от 1,107 до 3,210 мг/100 г. В растениях, культивируемых в среде с концентрацией ПХБ 0,0005 мг/л и 0,0012 мг/л, на 2 день эксперимента происходило увеличение показателя, но в последующем он снижался, а в растениях, вегетирующих в присутствии 0,0005 мг/л ПХБ, на 9 день синтез флавоноидов вновь активизировался, так как их концентрация к концу эксперимента была значительно выше контроля. Есть вероятность того, что под воздействием данных концентраций поллютантов, происходит развитие сразу второй фазы стресса и приспособление растений к повреждающему действию токсикантов, и, как следствие, к уменьшению содержания флавоноидов в растениях. В макрофитах, находящихся в среде с 0,001 мг/л ПХБ, почти на всем протяжении эксперимента (2 и 9, 12 дни) происходило подавление синтеза флавоноидов как факторов антиоксидантной защиты, что также свидетельствует об адаптационных возможностях растений к повреждающему действию токсикантов. Полученные результаты показали, что флавоноиды активно включаются в антиоксидантную защиту от действия полихлорированных бифенилов, но формирование флавоноидной защиты у макрофитов имеет разную ответную реакцию на воздействие их различных концентраций.

В качестве основного показателя, определяющего состояние антиоксидантной системы *Ceratophyllum demersum* под влиянием ПХБ, была использована антиоксидантная активность (АОА).

Расчет антиоксидантной активности показал, что исследуемые растительные экстракты проявляют разные значения показателя в условиях воздействия различных концентраций ПХБ, которые менялись в разные сроки эксперимента (рис. 6).

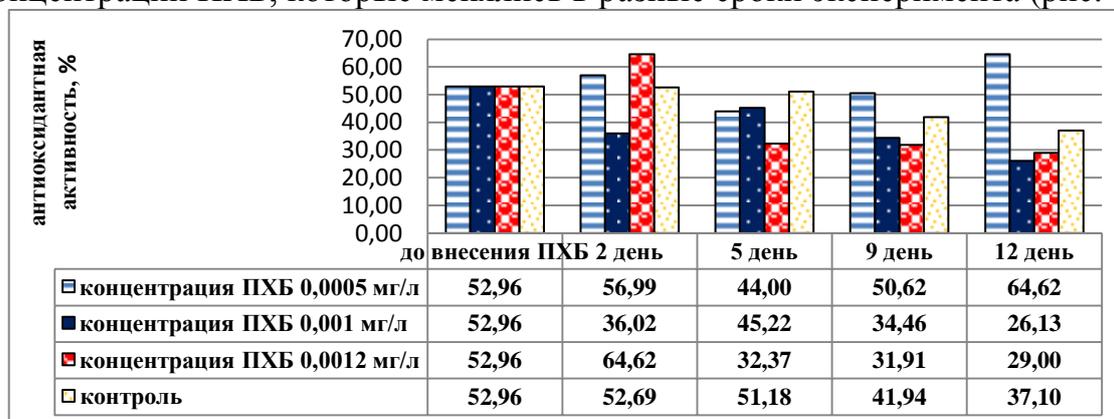


Рис. 6 Динамические изменения антиоксидантной активности экстрактов *Ceratophyllum demersum* в модельном эксперименте

Так, если в начале эксперимента АОА соответствовала 52,96 %, то после добавления ПХБ ее величина варьировала от 26,13 до 64,62 %. В эксперименте было показано, что ПХБ разных концентраций неодинаково воздействуют на АОА экстрактов *Ceratophyllum demersum*. Так, при 0,0005 мг/л ПХБ наблюдалась стимуляция в 1,2 раза АОА (64,62 %), что, по-видимому, свидетельствует о быстром приспособлении *Ceratophyllum demersum* к более низким концентрациям токсикантов. Повышенные концентрации ПХБ (0,001 мг/л, 0,0012 мг/л), наоборот, приводили к снижению в 2 и 1,8 раз показателя АОА (26,13 и 29,0), а значит замедлению процессов адаптации макрофитов к действию данных концентраций ПХБ.

При воздействии экотоксикантов на растения серьезные изменения наблюдаются в строении их клеток и особенно фотосинтезирующего аппарата, который определяет наиболее важный процесс в любой природной экосистеме: создание первичного органического вещества. Следовательно, важное значение при изучении влияния ПХБ на физиологическое состояние растений имеет изучение пластичности фотосинтетического аппарата, его способности приспосабливаться к изменяющимся условиям среды обитания фитоценоза. Результаты воздействия ПХБ на фотосинтезирующие пигменты *Ceratophyllum demersum* представлены в табл. 6.

Проведенный анализ динамических изменений в содержании хлорофиллов *a* и *b* и каротиноидов *Ceratophyllum demersum* показал, что фотосинтетический пигмент хлорофилла *b* значительно более чувствителен к загрязнению ПХБ, нежели хлорофилл *a*. Об этом свидетельствует тот факт, что в течение эксперимента содержание хлорофилла *b* уменьшилось у макрофитов из всех аквариумов с различной концентрацией ПХБ в 1,5 - 7,12 раз, а хлорофилла *a* в 1,18-4 раза. В тоже время, для содержания каротиноидов в *Ceratophyllum demersum* характерно увеличение их концентрации под влиянием загрязнения. Это объясняется тем, что каротиноиды являются наиболее распространенным и активным метаболитом живых организмов,

участвующим в системе защиты клеток от воздействия факторов внешней среды. Эксперимент показал, что произрастание растений в условиях, характеризующихся действием малых концентраций ПХБ в воде, приводило к изменению величины показателя «хл. (а+в)/кар.», что может быть следствием свободно-радикального окисления.

Таблица 6

Динамические изменения фотосинтезирующих пигментов *Ceratophyllum demersum* под влиянием различных концентраций ПХБ

Время взятия проб	Концентрация ПХБ, мг/л	Содержание пигментов, мг/ г сырой массы				Соотношение пигментов	
		Хлорофилл <i>a</i>	Хлорофилл <i>b</i>	Сумма хл.	Каротиноиды	$\frac{\text{Хл. } a}{\text{Хл. } b}$	$\frac{\text{Хл. } (a+b)}{\text{кар.}}$
До внесения ПХБ	0,0005	0,382±0,002	0,726±0,008	1,108	0,021±0,003	0,526	52,762
	0,001	0,382±0,002	0,726±0,008	1,108	0,021±0,003	0,526	52,762
	0,0012	0,382±0,002	0,726±0,008	1,108	0,021±0,003	0,526	52,762
	контроль	0,382±0,002	0,726±0,008	1,108	0,021±0,003	0,526	52,762
2 день	0,0005	0,725±0,005	0,405±0,017	1,13	0,01±0,004	1,79	113,0
	0,001	0,69±0,005	0,379±0,008	1,069	0,021±0,003	1,821	50,905
	0,0012	0,388±0,005	0,332±0,012	0,72	0,105±0,003	1,169	6,261
	контроль	0,941±0,008	0,986±0,036	1,927	0,154±0,009	0,954	12,513
5 день	0,0005	0,288±0,005	0,519±0,003	0,807	0,216±0,002	0,555	3,736
	0,001	0,285±0,005	0,416±0,01	0,701	0,208±0,003	0,685	3,37
	0,0012	0,16±0,001	0,231±0,007	0,391	0,175±0,005	0,693	2,234
	контроль	0,311±0,002	0,558±0,006	0,869	0,218±0,002	0,557	3,986
9 день	0,0005	0,231±0,007	0,296±0,019	0,527	0,296±0,004	0,78	1,78
	0,001	0,201±0,002	0,21±0,009	0,411	0,266±0,004	0,957	1,545
	0,0012	0,132±0,01	0,19±0,014	0,322	0,145±0,003	0,695	2,221
	контроль	0,318±0,002	0,497±0,01	0,815	0,3 ±0,01	0,64	2,717
12 день	0,0005	0,169±0,004	0,161±0,012	0,33	0,267±0,004	1,05	1,236
	0,001	0,24±0,003	0,14±0,01	0,38	0,268±0,005	1,714	1,418
	0,0012	0,094±0,004	0,102±0,009	0,196	0,118±0,001	0,922	1,661
	контроль	0,325±0,008	0,476±0,007	0,801	0,303±0,004	0,683	2,644

Проведенный нами эксперимент показал, что ПХБ, даже в относительно невысоких концентрациях, способны вызывать снижение содержания основных форм фотосинтезирующих пигментов в тканях водного растения и приводить к серьезным нарушениям функционирования пластид и, как следствие, процесса фотосинтеза в целом.

Для анализа зависимости исследуемых биохимических показателей (активность каталазы, содержание ТБКРС, аскорбиновой кислоты, флавоноидов, хлорофилла *a* и хлорофилла *b*, каротиноидов, антиоксидантная активность) от концентрации ПХБ был применен метод моделирования: «Построение деревьев классификации», где целевой переменной выступала «концентрация ПХБ» (варианты: 0,0 мг/л - контроль; 0,0005 мг/л; 0,001 мг/л; 0,0012 мг/л (рис.7)).

Была последовательно выявлена многомерная зависимость концентрации ПХБ при различных значениях анализируемых биохимических показателей. По графику значимости предикторов для построенной модели мы можем оценить какие биохимические показатели наиболее связаны с различными концентрациями ПХБ.

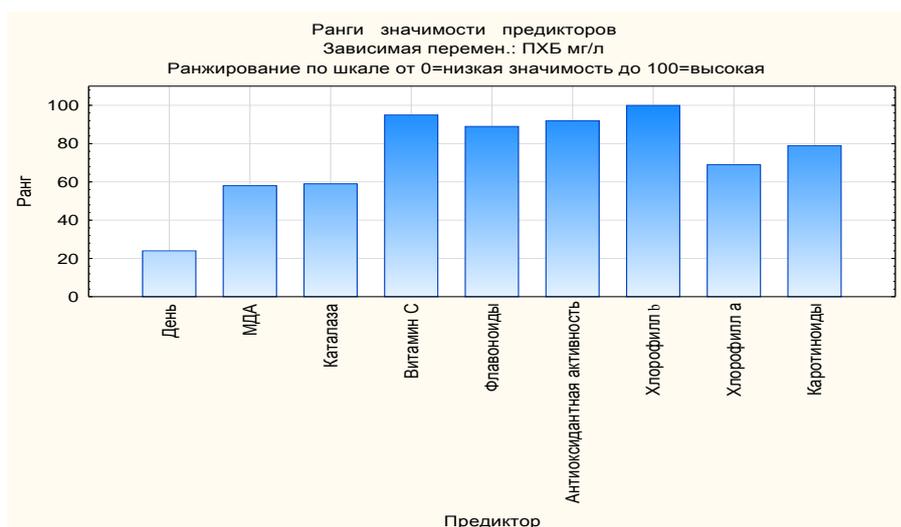


Рис. 7 График значимости предикторов для модели

В зависимости от содержания загрязнителей в воде выделено 4 ведущих фактора: концентрация хлорофилла *b*, содержание витамина С, антиоксидантная активность, концентрация флавоноидов. Остальные биохимические показатели имели более низкую зависимость и играли второстепенную роль в классификации. Предложенная классификация является достаточно качественной, т.к. прогностическая ценность этой классификации равна 96%, что соответствует отличной точности построенной модели. Проведение тройной кросс – проверки несколько снизило качество модели. Однако ее прогностическая ценность составила 81%, что свидетельствует о хорошем качестве построенной модели.

Токсическое действие различных загрязнителей на растительные организмы через развитие окислительного стресса ведут и к повреждению РНК и ДНК (Finkel, 2000), что может приводить к появлению различных видов мутаций. Все сказанное и определило одну из задач нашего исследования: в условиях модельного эксперимента оценить генотоксический эффект отдаленных последствия воздействия ПХБ на растительные организмы. Результаты моделирования генотоксического эффекта действия ПХБ на растительные тест-объекты представлены в табл. 7.

Таблица 7

Оценка мутагенной активности ПХБ в модельном эксперименте

Концентрация ПХБ, мг/л	Тест учета ВМ у <i>Chlorella vulgaris</i>			Тест учета ХА в меристеме <i>Allium cepa</i>			СИМА
	ВМ, %	Кратность превышения контроля	ВМА	ХА, %	Превышение контроля	ВМА	
0,0005	0,647±0,125	4,8	0	40,905±7,212*	39	3 сильная	3
0,001	1,683±0,141*	12,5	3 сильная	45,406±10,033*	43	3 сильная	6
0,0012	1,375±0,140*	10,2	3 сильная	12,907±1,682*	11,4	3 сильная	6

*- различия с контролем достоверны при $p \leq 0,05$

ВМ – видимые мутации; ВМА – выраженность мутагенной активности; СИМА – суммарный индекс мутагенной активности; ХА – хромосомные aberrации

Используемый в нашем модельном эксперименте набор тестов (*Chlorella vulgaris*, *Allium cepa*) позволил регистрировать генные и хромосомные типы нарушений наследственного материала.

Показано, что различные концентрации ПХБ вызывали видимые мутации у одноклеточной водоросли *Chlorella vulgaris*, наименьшая частота которых ($0,647 \pm 0,125\%$) отмечалась при воздействии минимальной концентрации ПХБ ($0,0005$ мг/л) в воде реки Урал в районе Оренбурга.

Видимые мутации у *Chlorella vulgaris* ($1,683 \pm 0,141^* \%$) индуцировали ПХБ и в концентрации $0,001$ мг/л, при этом кратность превышения контроля составила $12,5$ при $p=0,01$ и мутагенная активность при данном воздействии соответствовала «сильному» уровню выраженности. Полихлорированные бифенилы в концентрации $0,0012$ мг/л также индуцировали ВМ ($1,375 \pm 0,140^* \%$), превышение контроля составило $10,2$ раза при $p=0,02$, что свидетельствует о «сильной» мутагенной активности.

В модельных экспериментах установлено, что генотоксический эффект ПХБ у растений проявляется и в индуцировании хромосомных аберраций в меристематической ткани *Allium cepa*.

Оценка суммарного индекса мутагенной активности (СИМА) при воздействии различных концентраций ПХБ показала, что наибольшая СИМА=6 регистрировалась в растениях, подверженных влиянию ПХБ в концентрациях $0,001$ и $0,0012$ мг/л, а наименьшая СИМА=3 проявлялась при воздействии $0,0005$ мг/л ПХБ. Следовательно, полихлорированные бифенилы обладают генотоксическим эффектом, а поэтому при проведении экологического мониторинга водных экосистем необходимо контролировать содержание полихлорированных бифенилов, так как даже в незначительных концентрациях они оказывают повреждающее воздействие на генетический аппарат клеток.

Установление факта широкого распространения полихлорированных бифенилов в р. Урал на территории Оренбургской области определило как одну из приоритетных задач нашего исследования разработку наиболее эффективных методов выявления и оценки загрязнения данными токсикантами природных водных экосистем. По результатам исследования разработан «способ выявления загрязнения рек полихлорированными бифенилами», включающий забор проб воды, донных отложений и фитомассы макрофитов, их обработку и оценку, отличающийся тем, что забор проб проводят в начале и конце периода вегетации растений, а именно *Carex riparia* (осоки береговой) и *Typha angustifolia* (рогоза узколистного) (патент на изобретение № 2526798 от 02 июля 2014 г.).

ВЫВОДЫ

1. В составе флоры макрофитов все растения относятся к цветковым растениям: $76,92 \%$ приходится на класс Liliopsida и $23,08\%$ – на класс Magnoliopsida. Лидирует семейство Potamogetonaceae- $23,53\%$, представленное 4 видами одного рода Potamogeton (*P. crispus*, *P. lucens*, *P. natans*, *P. perfoliatus*).

2. Наиболее многочисленной экологической группой макрофитов являются гидрофиты - $64,71\%$ (*Potamogeton natans*, *Nuphar lutea*, *Ceratophyllum demersum*, *Lemna minor*, *Hydrocharis morsus-ranae*, *Potamogeton lucens*, *Potamogeton perfoliatus*, *Najas*

marina, *Myriophyllum spicatum*, *Zannichellia palustris*, *Potamogeton crispus*), большинство (35,29%) из которых представлены погруженными в воду, укореняющимися гидрофитами, Наиболее малочисленной группой (5,88%) являются гидрофиты погруженные в воду, не укореняющиеся.

3. Видовое богатство и доминирование макрофитов р. Урал в районе Оренбурга в 2009 г. представлено 10 видами, а в 2013 г. - 17 видами, имеющими различный уровень видового богатства и доминирования: 57,28% - субдоминанты, 37,18% - доминанты, а остальные (11,54%) определены как субдоминанты первого порядка. Доминирующей экологической группой макрофитов являются гидрофиты не укореняющиеся, а исключительным преобладанием среди доминант выступало водное растение *Ceratophyllum demersum* (на 8 станциях).

4. Установлено широкое распространение ПХБ в воде и ДО р. Урал на территории Оренбургской области, содержание которых не превышало ПДК для почв и воды, но было выше зарубежных нормативов для донных отложений. Выявлена активная аккумуляция ПХБ донными отложениями и четкая сезонная динамика: повышение в летний и снижение в осенний период, а также тенденция к увеличению содержания ПХБ в период с 2009 по 2013 гг.

5. Макрофиты служат накопителями ПХБ, поступающих в водные экосистемы. Не выявлено четкой корреляционной связи между содержанием ПХБ в воде, ДО и макрофитах, но показаны межвидовые различия в накоплении ПХБ в макрофитах. Установлены наиболее активные накопители токсиканта *Ceratophyllum demersum* (Кб-2967,74), *Lemna minor* (Кб-2933,33), *Hydrocharis morsus-ranae* (Кб-1225,81).

6. В период вегетации происходит перераспределение поступающих в водоём полихлорированных бифенилов между компонентами экосистемы: снижение их содержания в воде и донных отложениях к осени, но увеличение в макрофитах, что способствует временному выведению ПХБ из экотопа, т.е. осуществляются процессы миграции ПХБ в экосистеме водоёма по цепи «вода - макрофиты - донные отложения».

7. Изменение свободно-радикального окисления в макрофитах имело вид волнообразных кривых с тенденцией к понижению активности процесса на 2 день исследования в средах с содержанием ПХБ 0,0005 мг/л и 0,0012 мг/л и усилением активности процесса в растениях из всех аквариумов на 5 день эксперимента с затухающей амплитудой на 9 и 12 дни исследования

8. Выявлена зависимость ответной реакции макрофитов на действие ПХБ от концентрации поллютантов, которая проявлялась в изменениях содержания соединений, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБКРС): ПХБ ниже ПДК вызывали снижение уровня ТБКРС в растениях и падение интенсивности свободно - радикального окисления, а в растениях, подверженных воздействию ПХБ на уровне ПДК и выше, отмечено возрастание содержания ТБКРС, что свидетельствует об активации свободно-радикального окисления.

9. Анализ действия различных концентраций ПХБ на изученные биохимические показатели позволил выделить зависимость от содержания поллютантов в воде 4 ведущих факторов: концентрация хлорофилла b, содержание витамина C, антиоксидантная активность, концентрация флавоноидов. Остальные биохимические показатели имели более низкую зависимость и играли второстепенную роль.

10. На модели А1. сера установлен генотоксический эффект полихлорбифенилов, проявляющийся: в повреждении хромосом и индукции хромосомных aberrаций типа «фрагментов» и «мостов»; в нарушении подвижности хромосом на хроматиновом веретене деления и приводящих к появлению отстаиваний при расхождении хромосом.

11. Разработан «способ выявления загрязнения рек полихлорированными бифенилами», включающий забор проб воды, донных отложений и фитомассы макрофитов, отличающийся тем, что отбор проб осуществляют в начале и конце периода вегетации растений.

РАБОТЫ, ОПУБЛИКОВАННЫЕ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Голинская, Л.В. Биологические аспекты р. Урал в районе Оренбурга / Л.В. Голинская, Н.В. Шустова (Винокурова) // Астраханский медицинский журнал. – 2008. – том 3, № 3. – С. 253-255.

2. Шустова, Н.В. (Винокурова). Исследование видового разнообразия гидрофитов в водных биоценозах Оренбургской области / Н.В. Шустова (Винокурова), Г.М. Тихомирова // Вестник Оренбургского государственного университета. Материалы конференции молодых ученых и специалистов Оренбургской области. -2008. - № 82. - С.160-161.

3. Голинская, Л.В. Временная динамика мутагенной активности донных отложений реки Урал в акватории Оренбурга / Л.В. Голинская, Н.В. Шустова (Винокурова) // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2009. - № 2. - С. 230-232.

4. Соловых, Г.Н. Макрофиты гидробиоценозов и их роль в процессах выведения полихлорированных бифенилов из природных водоемов / Г.Н. Соловых, Н.В. Винокурова // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2011. - № 12 (131). - С. 439-242.

5. Винокурова, Н.В. Мониторинг загрязнения рек Урала полихлорированными бифенилами / Н.В. Винокурова, Г.Н. Соловых // Материалы XI Всероссийского съезда гигиенистов и санитарных врачей. – 2012, том II.- С. 57-59.

6. Винокурова, Н.В. Влияние полихлорированных бифенилов на фотосинтезирующий аппарат макрофитов на примере роголистника *Ceratophyllum demersum L.* / Н.В. Винокурова, Г.Н. Соловых // Интеллект. Инновации. Инвестиции. Академический журнал ОГИМ.- 2013.-№1.- С. 158-161.

7. Соловых, Г.Н. Биотестирование степени загрязнения водных экосистем генотоксикантами как показатель опасности водной среды для генетического здоровья населения / Г.Н. Соловых, Л.В. Голинская, Н.В. Винокурова // Информационный бюллетень «Здоровье населения и среда обитания». - 2013.- №6 (243). - С. 21-22.

8. Винокурова, Н.В. Мониторинг загрязнения рек Урала полихлорированными бифенилами / Н.В. Винокурова, Г.Н. Соловых //Санитарный врач. -2013.- -№3. - С. 11-13.

9. Винокурова, Н.В. К вопросу о способности макрофитов к биоаккумуляции токсичных веществ / Н.В. Винокурова // Журнал ОрГМА «Альманах молодой науки». – 2013. - №3. - С. 20-21.

10. **Винокурова, Н.В., Соловых Г.Н. К вопросу о роли биологических факторов в процессах самоочищения водной среды природных водоемов от полихлорированных бифенилов / Н.В. Винокурова, Г.Н. Соловых // Информационный бюллетень «Здоровье населения и среда обитания». – 2014. - №8 (257). - С. 23-26.**
11. **Винокурова, Н.В. Макрофиты реки Урал в биомониторинге и фиторемедиации полихлорированных бифенилов / Н.В. Винокурова // Материалы III (V) Всероссийской молодежной конференции с участием иностранных ученых (10–14 ноября 2014 г., г. Новосибирск) / Отв. Ред. С. В. Асбаганов. – Новосибирск: Изд-во «Академиздат», 2014. - С. 53-54.**
12. **Кольчугина, Г.Ф. Способ выявления загрязнения рек полихлорированными бифенилами / Г.Ф. Кольчугина, Н.В. Винокурова, Г.Н. Соловых // Официальный бюллетень «Изобретения. Полезные модели» № 14 от 20.05.2014.**
13. **Винокурова, Н.В. Генотоксические эффекты полихлорированных бифенилов в эксперименте / Н.В. Винокурова, Г.Н. Соловых, Л.В. Голинская // В мире научных открытий. № 12.2 (60), 2014. С. 833-840.**

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- АОА** – антиоксидантная активность
ВМ – видимые мутации
ВМА – выраженность мутагенной активности
ДО – донные отложения
Кб - коэффициент биологического накопления
КДА - коэффициент донной аккумуляции
МА – мутагенная активность
ПДК – предельно допустимая концентрация
ПОЛ – перекисное окисление липидов
ПХБ – полихлорированные бифенилы
р. - река
СИМА – суммарный индекс мутагенной активности
СРО –свободно-радикальное окисление
Ст. – станция
ТБК – тиобарбитуровая кислота
ТБКРС – соединения, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой
ХА – хромосомные aberrации
D_{Mg} - индекс видового богатства Маргалефа
D_{Mn} - индекс видового богатства Менхиника
D_i - индекс доминирования Паляя – Ковнацки

Отпечатано в типографии «ОренПечать»
О.Г.Р.Н. 312565810300101
Формат 60x84 1/16. Бумага офисная. Усл. печ. л. 1.6
Тираж 100 экз. заказ 241
Г. Оренбург, ул. Советская, 27

