

УДК 633.818.4:504.5

ДВУФАЗНАЯ ЗАВИСИМОСТЬ НЕКОТОРЫХ ЭКОЛОГО-МОРФОЛОГИЧЕСКИХ И БИОХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ЛИСТОВОЙ ПЛАСТИНКИ БЕРЁЗЫ ПОВИСЛОЙ ОТ УРОВНЯ АВТОТРАНСПОРТНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

Е.А. Ерофеева, В.С. Сухов, М.М. Наумова

*Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского
Россия, 603950, Н. Новгород, просп. Гагарина, 23
E-mail: progresso.1812_g@list.ru*

Поступила в редакцию 18.12.08 г.

Двуфазная зависимость некоторых эколого-морфологических и биохимических параметров листовой пластинки берёзы повислой от уровня автотранспортного загрязнения. – Ерофеева Е.А., Сухов В.С., Наумова М.М. – Показан двухфазный характер зависимости содержания фотосинтетических пигментов (ФП), интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) и величины флуктуирующей асимметрии (ФА) листовой пластинки берёзы повислой (*Betula pendula* Roth) от уровня автотранспортной нагрузки. В первую фазу зависимости усиление антропогенного пресса приводило к нарушению гомеостаза берёзы (снижению уровня ФП, возрастанию интенсивности ПОЛ и величины ФА). Во вторую фазу дальнейшее увеличение антропогенной нагрузки, напротив, нормализовало состояние гомеостаза (уменьшало интенсивность ПОЛ и величину ФА, увеличивало содержание ФП).

Ключевые слова: *Betula pendula*, липопероксидация, пигменты, флуктуирующая асимметрия, двухфазная зависимость, автотранспортное загрязнение.

Biphasic dependence of some biochemical and morphogenetic birch leaf lamina parameters on the motor-transport pollution level. – Erofeeva E.A., Sukhov V.S., and Naumova M.M. – A biphasic dependence of the photosynthetic pigment quantity, lipid peroxidation intensity, and fluctuating asymmetry factor of birch leaf lamina on the motor-transport load level is shown. During the first phase of this dependence, an increase in the anthropogenous load caused alteration of birch homeostasis (a reduction of the photosynthetic pigment quantity, an increase in both the lipid peroxidation intensity and fluctuating asymmetry factor). In the second phase, a further increase in the anthropogenous load, on the contrary, normalized the homeostasis state (reduced the intensity of lipid peroxidation, increased the quantity of pigments and fluctuating asymmetry).

Key words: *Betula pendula*, lipid peroxidation, pigments, fluctuating asymmetry, biphasic dependence, motor-transport pollution.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время известно, что зависимость состояния гомеостаза живой системы от интенсивности действия факторов окружающей среды может иметь немонотонный характер (изменение направления отклика при возрастании силы фактора). В многочисленных работах показано существование такого рода зависимости в области так называемых малых доз различных факторов (Батыгин, Савин, 1966; Сарапульцев, Гераськин, 1993; Бурлакова, 1994; Гаркави и др., 1998; Подколзин, Гуревич, 2002 и др.). В то же время некоторыми авторами выявлена аналогичная зависимость и для доз факторов, которые нельзя отнести к малым. Дан-

ные по этому вопросу получены в основном в экспериментах на млекопитающих, в том числе и в исследованиях на человеке. Показано, что зависимость состояния гомеостаза организма от интенсивности действия факторов самой различной природы (магнитные и электромагнитные поля, радиация, различные фармакологические агенты, физические нагрузки и т.д.) может иметь многофазный характер (Гаркави и др., 1990, 1998, 1999).

Вопрос о существовании у растений такого рода зависимости в настоящее время исследован недостаточно. Имеются немногочисленные работы экспериментального характера, показывающие возможность существования немонокотонных зависимостей у растений (Завадская, Антропова, 1979; Веселова и др., 1993; Ху и др., 2007). В то же время до сих пор практически не проводилось изучение такого рода зависимостей при действии антропогенных факторов на растения экосистем урбанизированных территорий. Исследование данной проблемы представляется наиболее актуальным для видов растений-биоиндикаторов, поскольку может внести важные коррективы в интерпретацию состояния их гомеостаза при антропогенной нагрузке. Одним из видов растений, используемых для проведения фитоиндикации, является берёза повислая (*Betula pendula* Roth.). Этот вид часто встречается в лесопосадках, расположенных вдоль автомобильных магистралей городов. В связи с этим оценка влияния автотранспортной нагрузки на гомеостаз берёзы повислой является удобной моделью для изучения существования немонокотонных зависимостей между величиной фактора и откликом биосистемы.

Для оценки состояния гомеостаза берёзы нами были использованы морфогенетические (флуктуирующая асимметрия) и биохимические показатели (интенсивность ПОЛ, содержание фотосинтетических пигментов) неспецифически изменяющиеся при действии любых стресс-факторов среды, в том числе и антропогенных (Илькун, 1978; Гуськов и др., 2000; Захаров и др., 2000; Чистякова, Кряжева, 2001; Полесская, 2007). Такой подход позволяет изучить универсальные системные реакции растительного организма. Кроме того, все данные параметры гомеостаза берёзы повислой либо уже используются для проведения фитоиндикации, как, например, ФА (Захаров и др., 2000), либо рекомендуются для этих целей (ПОЛ, ФП) (Илькун, 1978; Гуськов и др., 2000; Тужилкина, 2001; Савинов и др., 2007).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлась берёза повислая (*Betula pendula* Roth.), произрастающая на территории 10-ти модельных участков лесопосадок с участием данного вида, расположенных непосредственно вдоль автомагистралей нагорной части г. Нижнего Новгорода (таблица). Выбранные модельные участки характеризовались сходными почвенными условиями (светло-серые лесные почвы с антропогенным перемешиванием верхних горизонтов), нормальным режимом увлажнения. Участки были выбраны таким образом, чтобы величина потока автотранспорта изменялась в широком диапазоне, то есть минимальное и максимальное значения потока различались в десятки раз. Величину потока автотранспорта определяли, используя стандартную методику (Методика..., 1993). В качестве условно чис-

того (контрольного) был выбран участок за пределами г. Нижнего Новгорода вблизи поселка Киселиха (20 км к северу от города). Контрольный участок выбирали таким образом, чтобы он располагался вдали от автомагистралей и других

источников загрязнения.

Величина потока автотранспорта
в исследованных модельных участках г. Н. Новгорода

Модельный участок	Поток автотранспорта, авто/ ч
пр. Гагарина (в районе площади Лядова)	3964
пр. Гагарина (остановка «Музей района»)	3564
ул. Белинского	2204
ул. Медицинская	973
ул. Ижорская	613
ул. Нартова	399
ул. Нестерова	303
Территория Нижегородского Кремля	137
ул. Ломоносова	108
ул. Крылова	58.5

Листовые пластинки берёзы собирали во второй половине июля, когда рост большинства листьев прекращается или существенно замедляется, а процесс старения листа еще не начался. В этот период можно исключить влияние роста и старения на интенсивность ПОЛ и содержание пигментов у древесных растений.

Кроме того, ФА морфологических признаков листовой пластинки во второй половине июля приближается к некоторой итоговой величине в связи с достижением зрелости большинством листьев дерева (Методические рекомендации..., 2003).

Для изучения биохимических и морфогенетических показателей листовые пластинки берёзы повислой собирали с укороченных побегов на высоте 2 – 3 м со стороны кроны, обращенной к автотрассе. Выбирали деревья генеративного возраста с трещиноватостью ствола.

Для оценки ФА на каждом участке собирали по 10 листьев с каждого из 10-ти деревьев. Для оценки величины ФА листовой пластинки берёзы повислой использовали стандартный набор из 5-ти морфологических признаков (Методические рекомендации..., 2003). Расчет интегрального показателя флуктуирующей асимметрии комплекса морфологических признаков листовой пластинки производили с использованием алгоритма нормированной разности (Захаров и др., 2000):

$$\bar{A} = \frac{1}{m \cdot n} \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n \frac{|L_{ij} - R_{ij}|}{(L_{ij} + R_{ij})},$$

где L_{ij} и R_{ij} – значение j -го признака у i -го листа, соответственно слева и справа от плоскости симметрии.

Для изучения интенсивности ПОЛ в листе берёзы в объединенной пробе из 30 – 35 листовых пластинок для каждого из 10-ти деревьев модельного участка определяли содержание ТБК-активных продуктов липопероксидации (малонового диальдегида (МДА)). Использовали стандартную методику, основанную на образовании окрашенного комплекса с максимумом поглощения 540 нм при взаимодействии МДА с тиобарбитуровой кислотой (Камышников, 2002). В этих же объединенных пробах листовых пластинок для каждого из 10-ти деревьев участка определяли содержание фотосинтетических пигментов – каротиноидов и хлорофиллов А и В общепринятым методом абсорбционной спектрофотометрии. Для экстракции пигментов использовали 80% ацетон (Шлык, 1971).

Таким образом, все исследованные показатели листовой пластики берёзы определяли в 10-ти биологических повторностях ($n = 10$) для каждого биотопа. Статистическая обработка материала проводилась с использованием программ Биостатистика 4.03 и Statistica 6.0 с помощью регрессионного и однофакторного дисперсионного методов статистического анализа. Для множественных сравнений отдельных величин в работе применяли критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони. Для графического представления результатов исследования использовали выборочные средние и их ошибки.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

С помощью критерия Шапиро – Уилкса было установлено, что распределение всех исследованных показателей гомеостаза берёзы (содержание МДА, ФП в листовой пластинке, величина интегрального показателя ФА) не отличается от нормального ($p > 0.05$), поэтому для изучения зависимости данных показателей от величины потока автотранспорта использовали регрессионный анализ.

Считали, что выбранная регрессионная модель адекватно описывает взаимосвязь между исследуемыми величинами, если уровень значимости для уравнения регрессии не превышает 0.05, а коэффициент детерминации R^2 имеет значение более 0.50, то есть дисперсия зависимого признака более чем на 50% может быть объяснена дисперсией независимого признака (Реброва, 2003). Кроме того, с помощью однофакторного дисперсионного анализа и критерия множественных сравнений (критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони) был проведен анализ межбиотопических различий исследованных показателей гомеостаза берёзы.

Результаты регрессионного анализа показали, что зависимость всех исследованных показателей листовой пластинки берёзы повислой от потока автотранспорта наиболее адекватно описывается уравнениями полинома второй степени и имеет четко выраженный двухфазный характер (рис. 1 – 5).

В первую фазу зависимости нарастание антропогенной нагрузки приводит к нарушению гомеостаза берёзы – происходит усиление интенсивности ПОЛ в листовой пластинке, падение содержания всех фотосинтетических пигментов, а также снижение стабильности развития и увеличение ФА морфологических

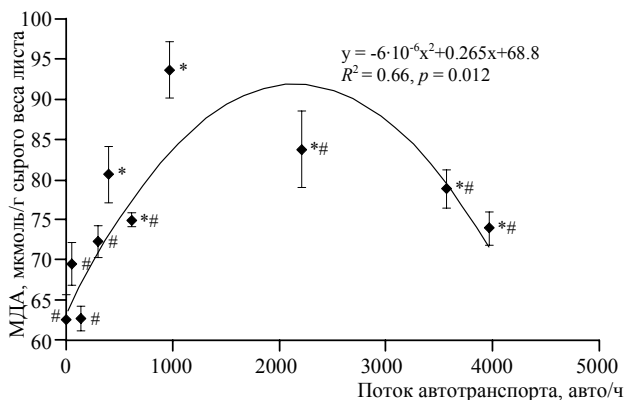


Рис. 1. Зависимость содержания МДА ($M \pm m$) в листовой пластинке берёзы повислой от потока автотранспорта в биотопах г. Нижнего Новгорода: * – $p < 0.05$ по отношению к контрольному биотопу; # – $p < 0.05$ по отношению к биотопу с максимальным значением зависимой переменной

признаков листа. При дальнейшем усилении антропогенного пресса нарастание негативных изменений в состоянии берёзы, как это ни странно, не наблюдается. Напротив, наступает вторая фаза зависимости, которую можно условно назвать «парадоксальной».

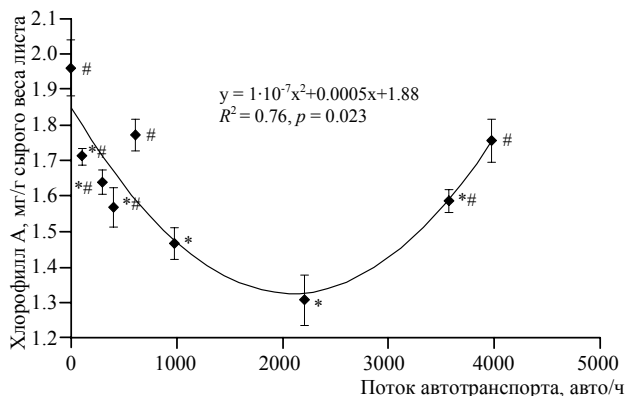


Рис. 2. Зависимость содержания хлорофиллов А ($M \pm m$) в листовой пластинке берёзы повислой от потока автотранспорта в биотопах г. Нижнего Новгорода: * – $p < 0.05$ по отношению к контрольному биотопу; # – $p < 0.05$ по отношению к биотопу с минимальным значением зависимой переменной

оне пос. Киселихи (содержание МДА, хлорофилла В), либо вообще статистически значимо от них не отличаются ($p > 0.05$) (величина ФА и содержание хлорофилла А, каротиноидов) (см. рис. 1 – 5).

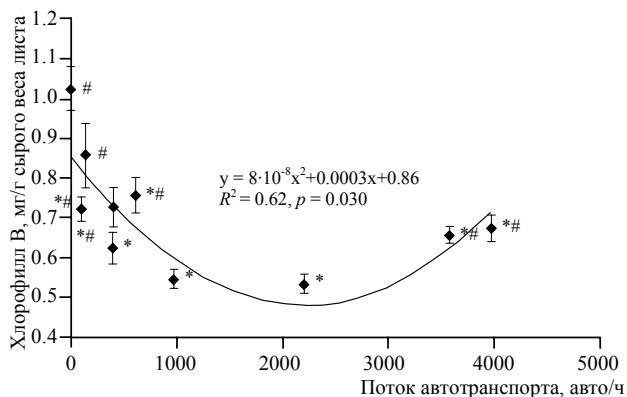


Рис. 3. Зависимость содержания хлорофилла В ($M \pm m$) в листовой пластинке берёзы повислой от потока автотранспорта в биотопах г. Нижнего Новгорода: * – $p < 0.05$ по отношению к контрольному биотопу; # – $p < 0.05$ по отношению к биотопу с минимальным значением зависимой переменной

В эту фазу увеличение автотранспортной нагрузки все более «нормализует» состояние гомеостаза берёзы повислой – отмечается снижение интенсивности ПОЛ и ФА, возрастание уровня пигментов листовой пластинки. Наконец, на модельном участке с наиболее высоким антропогенным прессом (пр. Гагарина в районе площади Лядова) исследованные показатели либо близки к аналогичным параметрам берёзы из условно-чистого участка в рай-

Каковы же причины развития «парадоксальной» фазы? На наш взгляд, на основе тех знаний, которыми наука располагает на данный момент, наиболее логичное объяснение такого рода зависимости можно дать, если допустить существование у растений нескольких адаптационных режимов функционирования, аналогичных тем, которые были выявлены в экспериментальных моделях у млекопитающих Л.Х. Гаркави с соавторами (1990) и названы уровнями реак-

тивности организма. Существование универсальных для всех биосистем принципов адаптации является общепризнанным фактом. Достаточно вспомнить, что защитная реакция стресса, открытая Гансом Селье у млекопитающих, впоследствии была обнаружена практически у всех живых существ (Панин, 1983).

По-видимому, организм растения также может функционировать в различных режимах в зависимости от силы фактора, требующего адаптации.

В нашем случае увеличение антропогенной нагрузки сначала вызывает у берёзы все большее нарастание тяжести стресса, то есть напряженности адаптационных процессов, что приводит к все более выраженному нарушению гомеостаза. Накопление

МДА свидетельствует о повреждении клеточных мембран и белков, снижение уровня хлорофиллов и каротиноидов – о нарушении функционирования фотосинтетического аппарата, возрастание величины ФА указывает на увеличение флуктуаций в регуляторных механизмах, контролирующих процессы роста и деления клеток листовой пластинки, то есть на их дестабилизацию.

По-видимому, когда нарушения состояния гомеостаза берёзы достигают некоторого критического порога, вследствие ограниченности адаптивных возможностей в данном режиме функционирования, и возникает угроза развития необратимых повреждений системы, происходит вовлечение в процесс адаптации дополнительных энергетических и пластических ресурсов и переход в новый стационарный режим функцио-

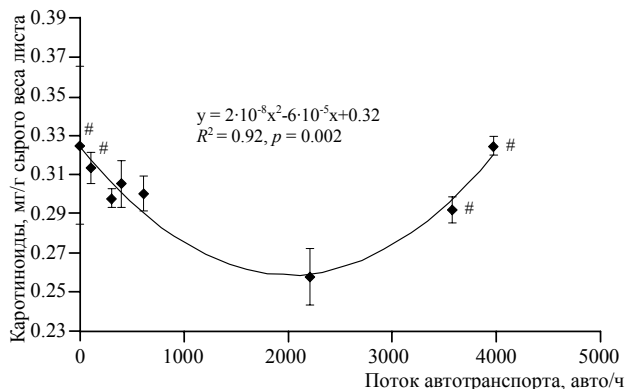


Рис. 4. Зависимость содержания каротиноидов ($M \pm m$) в листовой пластинке берёзы повислой от потока автотранспорта в биотопах г. Нижнего Новгорода: * – $p < 0.05$ по отношению к контрольному биотопу; # – $p < 0.05$ по отношению к биотопу с минимальным значением зависимой переменной

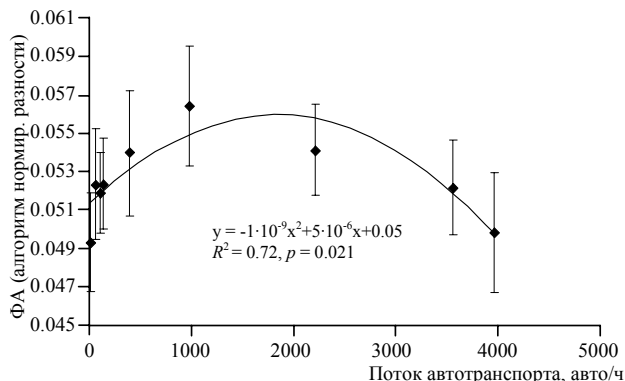


Рис. 5. Зависимость величины интегрального показателя ФА ($M \pm m$) листовой пластинки берёзы повислой от потока автотранспорта в биотопах г. Нижнего Новгорода

нирования. Такой переход позволяет относительно стабилизировать состояние гомеостаза, но в то же время существенно увеличивает затраты ресурсов на адаптацию. Поэтому во вторую «парадоксальную» фазу зависимости у растений из биотопов с высоким уровнем антропогенной нагрузки происходит значительное снижение интенсивности ПОЛ, повреждения фотосинтетического аппарата за счет увеличения мощности антиоксидантной системы и систем детоксикации ксенобиотиков, усиление стабильности процессов регуляции морфогенеза листа и снижение ФА листовой пластинки.

Однако при этом полной нормализации гомеостаза не происходит. Так, только некоторые показатели (ФА, уровень каротиноидов, хлорофилла А) листовой пластинки берёзы на модельном участке с наибольшим потоком автотранспорта полностью нормализуются, остальные (содержание МДА и хлорофилла В) приближаются к условной норме, но так и не достигают ее величины (контрольный участок) (см. рис. 1 – 5). Учитывая представления Л.Х. Гаркави с соавторами (1998), можно предположить, что дальнейшее увеличение антропогенной нагрузки вновь вызвало бы постепенную дестабилизацию состояния системы и переход на следующий адаптивный уровень функционирования и так вплоть до полного истощения ресурсов и гибели организма. То есть в этом случае мы получили бы колебательную зависимость.

Таким образом, нами показано, что изменения состояния гомеостаза берёзы повислой при действии антропогенных факторов может иметь двухфазный характер. Нельзя исключить, что подобная зависимость может быть не только двухфазной, а также может иметь многофазный характер и проявляться при действии абсолютно любых экологических факторов. Так, на экспериментальных моделях показано существование многофазных зависимостей у растений при действии тяжелых металлов на содержание хлорофиллов и каротиноидов в листе, интенсивность перекисного окисления липидов (Ху и др., 2007; Ерофеева и др., 2008), высоких температур на уровень хлорофиллов в листе (Завадская, Антропова, 1979). Однако исследование этого вопроса является задачей будущего и пока еще рано делать какие-либо заключения. Нам лишь хотелось бы в качестве итога подчеркнуть всю важность дальнейшего изучения выявленного нами феномена, поскольку это может существенно расширить имеющиеся на данный момент представления об адаптации живых организмов к действию факторов окружающей среды.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Батыгин Н.Ф., Савин В.Н. Использование ионизирующего излучения в растениеводстве. Л.: Колос, 1966. 123 с.
- Бурлакова Е.Б. Эффект сверхмалых доз // Вестн. РАН. 1994. Т. 64, №5. С. 425 – 431.
- Веселова Т.В., Веселовский В.А., Чернавский Д.С. Стресс у растений. М.: Изд-во МГУ, 1993. 144 с.
- Гаркави Л.Х., Квакин Е.Б., Шихлярова А.И. Магнитные поля, адаптационные реакции и самоорганизация живых систем // Биофизика. 1999. Т. 41, вып. 4. С. 898 – 908.
- Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Кузьменко Т.С. Антистрессорные реакции и активационная терапия. М.: Имедис, 1998. 617 с.
- Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Уколова М.А. Адаптационные реакции и резистентность организма. Ростов-н/Д.: Изд-во Ростов. гос. ун-та, 1990. 375 с.

ДВУХФАЗНАЯ ЗАВИСИМОСТЬ НЕКОТОРЫХ ЭКОЛОГО-МОРФОЛОГИЧЕСКИХ

Гуськов Е.П., Вардуни Т.В., Шкурят Т.П., Милютин Н.П., Мирзоян А.В. Свободнорадикальные процессы и уровень aberrаций хромосом в листьях древесных растений как тест-системы на генотоксичность городской среды // Экология. 2000. №4. С. 270 – 275.

Ерофеева Е.А., Наумова М.М., Лисицына О.Н. Влияние нитрата свинца в широком диапазоне концентраций на интенсивность липопероксидации у проростков пшеницы // Физико-химические основы структурно-функциональной организации растений: Тез. докл. Междунар. конф. Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2008. С.170 – 171.

Завадская И.Г., Антропова Т.А. О «парадоксальном» эффекте при действии высоких температур на листья некоторых высших растений // Цитология. 1979. Т. 21, №1. С. 46 – 56.

Захаров В.М., Чубинишвили А.Т., Дмитриев С.Г., Баранов А.С., Борисов В.И., Валецкий А.В., Крысанов Е.Ю., Крайзева Н.Г., Пронин А.В., Чистякова Е.К. Здоровье среды: Практика оценки / Центр экол. политики России. М., 2000. 318 с.

Илькун Г.М. Загрязнители атмосферы и растения. Киев: Наук. думка, 1978. 247 с.

Камышиников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: В 2 т. Минск: Беларусь, 2002. Т. 2. 495 с.

Методика определения массы выбросов загрязняющих веществ автотранспортными средствами в атмосферный воздух. М.: Изд-во НИИАТ, 1993. 152 с.

Методические рекомендации по выполнению оценки качества среды по состоянию живых существ (оценка стабильности развития живых организмов по уровню асимметрии морфологических структур); Введ. 16.10.03. №460-Р. М., 2003. 24 с.

Панин Л.Е. Биохимические механизмы стресса. Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1983. 241 с.

Подколзин А.А., Гуревич К.Г. Действие биологически активных веществ в малых дозах. М.: Т-во науч. изд. КМК, 2002. 170 с.

Полесская О.Г. Растительная клетка и активные формы кислорода. М.: Книжный дом «Университет», 2007. 140 с.

Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М.: МедиаСфера, 2003. 312 с.

Савинов А.Б., Курганова Л.Н., Шекунов Ю.И. Интенсивность перекисного окисления липидов у *Taraxacum officinale* Wigg. и *Vicia cracca* L. в биотопах с разным уровнем загрязнения почв тяжелыми металлами // Экология. 2007. №3. С. 191 – 197.

Сарапульцев Б.И., Гераськин С.А. Генетические основы радиорезистентности и эволюции. М.: Энергоатомиздат, 1993. 209 с.

Тужилкина В.В. Пигментная система хвойных в районе влияния Сыктывкарского лесопромышленного комплекса // Вестн. Ин-та биологии РАН. 2001. Вып. 47. С. 22 – 25.

Ху Ц.Ц., Ши Г.С., Су Ц.С., Ван С., Юан Ц.Х., Ду К.Х. Воздействие Pb^{2+} на активность антиоксидантных ферментов и ультраструктуру клеток листьев // Физиология растений. 2007. Т. 54, №3. С. 469 – 474.

Чистякова Е.К., Крайзева Н.Г. Возможность использования показателей стабильности развития и фотосинтетической активности для исследования состояний природных популяций растений на примере берёзы повислой // Онтогенез. 2001. Т. 53, № 6. С. 422 – 427.

Шлык А.А. Определение хлорофиллов и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев // Биохимические методы в физиологии растений. М.: Наука, 1971. С. 154 – 170.