

**Багдасарян
Александр Сергеевич**

**БИОТЕСТИРОВАНИЕ ПОЧВ
ТЕХНОГЕННЫХ ЗОН ГОРОДСКИХ
ТЕРРИТОРИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
РАСТИТЕЛЬНЫХ ОРГАНИЗМОВ**

03.00.16 – экология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Ставрополь – 2005

Работа выполнена в Ставропольском государственном университете

Научный руководитель: доктор ветеринарных наук, профессор
Мануйлов Игорь Михайлович

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор
Дударь Юрий Александрович

кандидат биологических наук, доцент
Лысенко Изольда Олеговна

Ведущая организация: **Ростовский государственный университет**

Защита состоится «22» сентября 2005 г. в 14.00 часов на заседании диссертационного совета Д 212.256.07 при Ставропольском государственном университете по адресу: 355009, г. Ставрополь, ул. Пушкина 1, корпус 2, аудитория 506. Факс (8652) 35-40-33

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Ставропольского государственного университета

Автореферат разослан «19» августа 2005 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук,
доцент



Лиховид Н.Г.

2006-У
12181

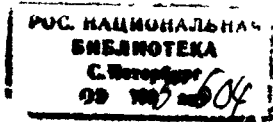
2163645

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Известно, что в связи с жизнедеятельностью человеческой цивилизации синтезируются и попадают в окружающую среду сотни тысяч новых химических соединений естественного и антропогенного происхождения с невыясненными токсикологическими характеристиками, которые, накапливаясь в почве, обуславливают ее загрязненность и токсичность. Существует сотни методов определения степени загрязненности окружающей среды, но все чаще применяются методы биотестирования. (Илющенко, Щегольков, 1990; Фролова, 2002; Белоусова, Селезнева, 2004; Underbrink, Spatow, 1974; Ma, 1981 a; Grover, 1981; Ichikawa, 1981; Cebulska-Wasilewska et al., 1981; Cebulska-Wasilewska, 1986). Это обуславливается рядом обстоятельств: во-первых, указанные объекты обычно содержат большое количество ингредиентов, токсикологические свойства которых не всегда характеризуются простой суммой свойств каждого из них с учетом количественного состава, определяемого аналитическими методами; во-вторых, среда часто загрязнена неустойчивыми продуктами взаимодействия и распада, которые иногда токсичнее исходных веществ; в-третьих, количество присутствующих в окружающей среде загрязнителей значительно превышает число удовлетворительных физико-химических методов анализа, позволяющих контролировать их содержание на уровне ПДК (Илющенко, 1995). Помимо этого, биотестирование позволяет получить полную токсикологическую характеристику природных сред независимо от состава загрязняющих веществ, поскольку большая часть загрязняющих веществ, в связи с отсутствием оборудования, методик и стандартов, аналитически не определяется, в связи с чем, методы биотестирования приобретают все большую популярность и внедряются повсеместно (Дятлов, 2000).

Проведение экспериментов по изучению влияния различных поллютантов на растительные объекты в контролируемых условиях позволяет решать многие задачи: установить причины разной устойчивости растений и тенденции приспособления к токсикантам, исключить действие других факторов внешней среды, выявить летальную дозу поллютанта и т.д. (Шершунова, Попова, 1999; Parry, et al, 1976; Klindworth, et al, 1979; Degrassi, Rizzoni, 1981; Panda, Sahu, 1985; Fiskesjo, 1985, 1993; Chauhan, et al., 1986; Babich, Borenfreund, 1987; Leith et al., 1989; Badr, et al, 1992; Cordina, et al, 1993; Mishra, 1993; Ma, et al, 1995).

Городские почвы являются депонирующей средой практически для всех поллютантов и при геохимическом изучении транспортно-селитебных ландшафтов являются высоко информативными (Шунелько, 2000).



В связи с этим представляется актуальной разработка методов комплексного биотестирования почв с различным по интенсивности автотранспортным и промышленным воздействием и оценка чувствительности различных тест-откликов к повышенному содержанию тяжелых металлов в почве, как в рамках одной тест системы, так и в сравнении чувствительности разных тест-систем.

Цель и задачи исследования. Цель настоящего исследования состояла в разработке методов биотестирования токсичности почвенного покрова техногенных зон города с различным по интенсивности автотранспортным и промышленным воздействием, с помощью растительных тест-систем (на примере г. Ставрополя), а также в определении наиболее чувствительной тест-системы к содержанию тяжелых металлов в почве исследуемых пунктов.

Для достижения цели решались следующие задачи:

1. Определение содержания подвижных форм меди, свинца, кадмия, цинка и хрома в почвах техногенных зон исследуемых пунктов г. Ставрополя.
2. Установление наиболее чувствительной тест-системы к загрязнению почв техногенных зон городских территорий.
3. Выявление качественного проявления реакций индикаторных признаков тест-растений на повышенное содержание тяжелых металлов в почвах.
4. Проведение корреляционного анализа и выявление взаимосвязи между содержанием тяжелых металлов в почвах и количественным проявлением тест-откликов модельных растений.
5. Разработка шкалы токсичности сред по результатам биотестирования.

Научная новизна. Впервые проведено биотестирование почвенного покрова территорий с различным по интенсивности автотранспортным и промышленным воздействием с помощью трех растительных тест-систем (*Raphanus sativus*, *Lepidium sativum*, *Allium cepa*). Впервые предложен метод биотестирования водных вытяжек почв с экспонированием свежих луковец *Allium cepa* в исследуемых вытяжках в течение 4, 7, 14 суток, с последующим измерением длины корней. Предложено использовать совместно ряд тест-откликов на одном растительном тест-объекте для биотестирования загрязненности почвенного покрова и водных вытяжек почв. Доказана перспективность использования активности каталазы проростков тест-растений в качестве чувствительного критерия для биотестирования загрязненности почвенного покрова тяжелыми металлами. Проведено сравнение тест-откликов используемых модельных организмов в сходных условиях загрязнения тяжелыми металлами почвенного покрова.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. При биотестировании почв с повышенным содержанием тяжелых металлов эффективно использовать такие индикаторные признаки, как

митотическая активность апикальной меристемы корешков проростков лука репчатого, всхожесть семян, каталазная активность, длина, надземной и подземной части проростков редиса и кресс-салата.

2. Токсичность тестируемых почв проявляется в ингибировании и стимулировании развития тест-откликов у редиса и кресс-салата.

3. При биотестировании почв по морфометрическим признакам эффективно применять экспонирование свежих луковец Allium сера в тестируемых вытяжках почв.

4. Активность каталазы проростков редиса и кресс-салата возможно использовать в качестве биохимического индикатора оценки токсичности городских почв.

5. При обобщении данных используется шкала токсичности исследуемых сред, в которой учитывается не только ингибирование, но и стимулирование развития тест-откликов.

Теоретическая и практическая значимость. Научно обоснованные данные представляют интерес с точки зрения методов биотестирования загрязненности объектов окружающей среды, ввиду открытости и актуальности этого вопроса на современном этапе развития экологии.

Проведенное биотестирование почв, с повышенным содержанием тяжелых металлов, при помощи нескольких тест-откликов на одном модельном организме, что позволяет увеличить степень чувствительности биотеста. Используемые методы могут быть применены для диагностики загрязнения почв, как тяжелыми металлами, так и недифференцированными поллутантами.

Материалы диссертации могут быть использованы в процессе преподавания экологии, цитологии, цитогенетики, а также при организации и проведении спецкурса «Биотестирование объектов окружающей среды».

Апробация работы. Результаты исследований были представлены и обсуждены на межрегиональной научно-практической конференции «Образование, здоровье и культура в начале XXI века» (г. Ставрополь, 2004); II Всероссийской научно-практической конференции «Химическое загрязнение среды обитания и проблемы экологической реабилитации, нарушенных экосистем» (г. Пенза, 2004); Всероссийском постоянно действующем научно-техническом семинаре «Экологическая безопасность регионов России и риск от техногенных аварий и катастроф» (г. Пенза, 2004); научной конференции «Университетская наука – региону» (г. Ставрополь, 2004); международной научной конференции «Татищевские чтения: актуальные проблемы науки и практики (АПНП-2004)» (г. Тольятти, 2004); международной научной конференций студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов- 2004» (г. Москва, 2004); научной конференции «Эколого-

гигиенические проблемы регионов России и стран СНГ» (г. Умаг, Хорватия, 2004); 50-й научной конференции «Университетская наука – региону» (г. Ставрополь, 2005); российской студенческой научной конференции «Актуальные проблемы современной биологии» (г. Астрахань, 2005).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 11 работ.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, четырех глав, выводов и списка цитируемой литературы. Работа содержит 162 страницы машинописного текста, включает 25 таблиц, 29 рисунков. Список цитируемой литературы включает 289 источников, в том числе 95 на иностранных языках.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Экспериментальная часть настоящего исследования проведена в 2002 – 2004 гг. в лаборатории кафедры общей биологии и на базе научно-образовательного центра «Технологии живых систем» Ставропольского государственного университета.

Объектами настоящего исследования явились почвы города, испытывающие на себе различное по интенсивности автотранспортное и промышленное воздействие, а в качестве предмета исследования – лук-севок (*Allium sera*) сорт «Штутгартер – Ризен», редис (*Raphanus sativus*) сорт «Полилез» и кресс-салат (*Lepidium sativum*) сорт «Ажур».

Пробы почвы отбирались в восьми различных пунктах города Ставрополя, на оживленных перекрестках с различным по интенсивности автотранспортным и промышленным воздействием. В качестве контроля были использованы почва, собранная на агробиологической станции Ставропольского госуниверситета за пределами города за пределами города.

Отбор проб почв и приготовление кислотных вытяжек проводились по стандартным методикам (Методы определения микроэлементов в почвах, растениях и водах, 1974; Методические рекомендации по проведению полевых и лабораторных исследований почв и растений при контроле загрязнению окружающей среды металлами, 1981). Водные вытяжки почв готовились по методике, описанной Кабириным с соавт.(1997). Содержание элементов (Cu, Pb, Cd, Zn, Cr) в почве и водной вытяжке почв определяли в научно-образовательном центре «Технологии живых систем» Ставропольского государственного университета в соответствии с «Методическими указаниями по определению тяжелых металлов в почвах сельхозугодий и продукции растениеводства» (1992) и «Методическими указаниями

по определению тяжелых металлов в кормах и растениях и их подвижных соединениях в почвах» (1993) с помощью атомно-абсорбционного спектрофотометра «Perkin – Elmer 2280».

Содержания гумуса проводили по методу И.В.Тюрина. Семена тест-растений проращивались в чашках Петри в почве. На каждый вариант использовали по 100 семян в трехкратной повторности. При биотестировании водных вытяжек семена проращивались в кварцевом песке. Для обеспечения влажности в чашки Петри добавлялась либо водная вытяжка почвы контрольного пункта, либо водная вытяжка почв экспериментальных пунктов.

Всхожесть и энергия прорастания семян тест-растений определялась по общепринятым методикам (ГОСТ 12039-82 и ГОСТ 12038-84).

Взвешивание и измерение длины подземной и надземной части тест-растений проводили у десятидневных проростков редиса и кресс-салата. Измерения длины вышеуказанных частей тест-растений проводили с помощью линейки, с точностью до 1 мм, взвешивание исследуемых органов тест-растений проводили на аналитических весах 2-го класса точности «ВЛР – 200».

Измерение длины корней у луковок Allium сера при биотестировании почвенных вытяжек проводили на 4, 7 и 14 сутки. Для каждого пункта использовали по 12 луковок в четырехкратной повторности.

Активность каталазы в четырехдневных проростках редиса, кресс-салата, определяли газометрическим методом в модификации А.И. Ермакова (Методы биохимического исследования растений, 1972.).

В корневой меристеме проростков лука репчатого определяли митотический индекс как процент делящихся от общего количества наблюдаемых клеток. Временные давленные препараты готовились по общепринятой методике (Магулаев, 1980.) Препараты исследовались под микроскопами МБИ-3 и МРУ-5. В каждом варианте подсчитывалось от 2000 до 3000 клеток.

Процент ингибирования тест-отклика растений вычисляли по формуле:

$$I = 100\% - \frac{K_1 \times 100\%}{K_2}, \text{ где:}$$

I – процент ингибирования тест-отклика растений (%),

K_1 – среднее значение тест-отклика растений в опыте,

K_2 – среднее значение тест-отклика растений в контроле.

Индекс токсичности почв (водной вытяжки почв) пунктов рассчитывали для каждой тест-функции (Кабиров с соавт., 1997).

В качестве тест-отклика использовали длину корней луковок, митотический индекс, всхожесть семян, длина и масса надземной / подземной части проростков тест-растений, активность каталазы в проростках тест-растений.

Все экспериментальные данные обрабатывались статистически (Рокицкий, 1967; Магулаев, 1994) на IBM PC Pentium IV с использованием пакета программы Statistica 6.0. Фотографии сделаны с помощью цифровой фотокамеры Sony DCS - F 707.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПОВЫШЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ПОЧВАХ НА РАЗВИТИЕ ТЕСТ-ОТКЛИКОВ У МОДЕЛЬНЫХ РАСТЕНИЙ

Содержание тяжелых металлов в почвах тестируемых пунктов. В тестируемых почвах методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии определялось содержание подвижных форм меди, кадмия, цинка, хрома и свинца. Результаты химического анализа почвы приведены в таблице 1.

Табл.1

**Содержание подвижных форм ТМ в почвах тестируемых пунктов
(мг/кг) (экстрагент 1М HNO₃)**

Точки отбора проб почв	Cu	Pb	Cd	Zn	Cr
Пункт 1	16,10	160,50	0,30	56,26	196,00
Пункт 2	21,60	193,40	0,80	57,00	322,00
Пункт 3	13,60	266,70	1,40	51,40	91,00
Пункт 4	11,60	164,40	-	36,20	233,00
Пункт 5	56,60	324,60	0,90	121,20	-
Пункт 6	36,00	33,20	0,40	30,26	63,00
Пункт 7	36,81	316,80	1,20	102,00	102,00
Пункт 8	15,30	163,40	1,30	47,10	213,00
Контроль	13,25	10,11	0,20	19,98	16,87
ПДК	20,00	32,00	0,30	37,00	50,00

Данные кластерного анализа показали, что пункты 5 и 7 входят в один кластер. Аналогичная картина прослеживается и для 1 и 8 пунктов. Это говорит о схожем элементном составе почв этих пунктов, причем схожесть между пунктом 1 и 8 больше, чем между пунктами 7 и 5.

Оценка загрязненности почв тестируемых пунктов тяжелыми металлами с помощью митотической активности. Митотическая активность нередко изучалась исследователями в качестве чувствительного показате-

ля в оценке загрязненности окружающей среды (Востирикова, 1999; Цитленок с соавт., 1997, 2002). Представляется интересным определить митотическую активность пролиферативных клеток корешков проростков *Allium* сера, выросших на почвах тестируемых пунктов с повышенным содержанием ТМ, Результаты исследования представлены на рис. 1.



Рис. 1

Корреляционный анализ указывает на наличие связей между митотической активностью и содержанием ТМ в исследуемых почвах: корреляционная зависимость имеет самые низкие значения в П. 1, 3 для свинца $r_{Pb} = 0,43, 0,40$; в П. 2, для цинка $r_{Zn} = 0,37$; в П. 4, 8 для хрома $r_{Cr} = -0,30, -0,47$; в П. 5, 6, 7 для меди $r_{Cu} = -0,22, -0,50, 0,42$.

Полученные результаты говорят о перспективности применения этого цитогенетического показателя для биотестирования загрязнения почв ТМ.

Биотестирование почв по всхожести семян модельных растений Результаты исследований показали, что происходит достоверное ингибирование всхожести семян тест-растений. Результаты биотестирования представлены в табл. 2.

Влияние концентраций ТМ на всхожесть семян тест-растений было изучено с помощью корреляционного анализа, по результатам которого удалось выявить более низкую корреляционную зависимость для цинка $r_{Zn} = 0,43$; (П. 2 –редис); $r_{Zn} = 0,37$ (П. 2 – кресс-салат); для меди $r_{Cu} = -0,14$; $-0,52$; $0,20$; $0,19$; (П. 2, 3, 5, 6- редис); $r_{Cu} = 0,25$ (П. 5 редис); $r_{Cu} = 0,22, 0,42$ (П. 5, 7 – кресс-салат); для свинца $r_{Pb} = -0,43$; $-0,36$ (П. 1, 3, редис); $-0,43$; $-0,38$ (П. 1, 3 кресс-салат), для кадмия $r_{Cd} = -0,50$ (П. 6, 7, 8 – для редиса).

Табл. 2

Энергия прорастания и всхожесть семян тест-растений

Точки отбора проб почв	Энергия прораст редис (почва)	Всхожесть редис (почва)	Энергия прораст редис (выпяжка)	Всхожесть редис (выпяжка)	Энергия прораст кресс-салат (почва)	Всхожесть кресс-салат (почва)	Энергия прораст кресс-салат (выпяжка)	Всхожесть кресс-салат (выпяжка)
Пункт 1	15,80±1,63	24,60±1,93	31,56±2,43	56,61±1,53	37,80±2,17	72,00±2,01	72,35±3,87	85,14±1,74
Пункт 2	30,00±2,05	52,00±2,23	41,12±1,25	74,40±1,20	16,20±1,65	37,80±2,17	52,30±1,45	72,26±2,27
Пункт 3	24,20±1,91	41,40±2,20	35,15±2,24	62,50±2,44	13,60±1,53	28,00±2,01	49,14±2,83	63,00±2,71
Пункт 4	21,80±1,85	24,00±1,91	32,56±3,46	48,36±3,23	32,00±2,09	39,60±2,19	66,21±2,89	74,10±3,79
Пункт 5	23,00±1,88	39,60±2,19	34,83±2,55	59,98±3,49	38,00±2,17	54,00±2,23	75,00±2,77	89,00±2,23
Пункт 6	23,60±1,90	41,40±2,20	31,58±2,90	62,10±3,50	38,60±2,18	43,20±2,21	70,67±3,25	78,28±3,21
Пункт 7	23,00±1,88	36,00±2,15	29,00±2,58	57,26±2,27	42,00±2,21	50,40±2,23	78,26±2,71	85,45±2,13
Пункт 8	21,40±2,04	52,20±2,23	31,40±2,04	70,40±2,65	46,00±2,23	55,80±2,22	80,10±2,00	90,85±2,55
Контроль	45,40±2,23	82,00±1,72	50,21±2,23	86,00±1,72	90,00±1,34	94,60±1,01	95,01±1,34	97,21±1,01

Тестирование почв на проростках редиса и кресс-салата. При биотестировании почв с повышенным содержанием меди, свинца, кадмия, хрома и цинка с помощью редиса и кресс-салата отмечены достоверные изменения длины подземной и надземной части тест-растений по сравнению с контролем, что говорит о фитотоксичности тестируемых почв. Результаты биотестирования отражены в табл. 3.

Проведенный корреляционный анализ показал наличие слабой положительной корреляции между содержанием гумуса в почве и длиной подземной части проростков редиса (П. 4, 5, 6), проростков кресс-салата (П. 7, 8), заметной положительной П. 1, 2, 3, 7 (редис) и П. 3, 6, (кресс-салат), выраженной положительной П. 4 (кресс-салат), тогда, как между содержанием гумуса и длиной надземной части выявлена слабая положительная корреляция (П. 1, 3, 5, 7, 8 – редис; П. 3, 5, 7 – кресс-салат); заметная положительная (П. 2 – редис; П. 1, 2 – кресс-салат); выраженная положительная (П. 4, 6 – редис и кресс-салат).

Действие повышенного содержания тяжелых металлов в почвах тестируемых пунктов на активность каталазы проростков модельных растений. В результате проведенного эксперимента было выявлено достоверное ингибирование активности каталазы в опытных проростках по сравнению с контрольными. Результаты биохимического исследования представлены на рис. 2.

Табл. 3

Результаты биотестирования почв на проростках модельных растений

Точки отбора проб почв	Корни				Стебли			
	Средняя длина, см (почва)	Средняя длина, см (водная вытяжка)	Средний вес, г (почва)	Средний вес, г (водная вытяжка)	Средняя длина, см (почва)	Средняя длина, см (водная вытяжка)	Средний вес, г (почва)	Средний вес, г (водная вытяжка)
Редис								
Пункт 1	8,17 ± 0,81	7,83 ± 0,41	0,03 ± 0,003	0,02 ± 0,003	9,07 ± 1,08	9,13 ± 1,01	0,14 ± 0,01	0,13 ± 0,02
Пункт 2	4,03 ± 0,36	6,98 ± 0,25	0,02 ± 0,008	0,02 ± 0,006	10,20 ± 0,50	10,73 ± 0,20	0,13 ± 0,01	0,14 ± 0,01
Пункт 3	6,49 ± 0,59	7,12 ± 0,19	0,04 ± 0,007	0,04 ± 0,003	6,03 ± 0,54	7,12 ± 0,54	0,09 ± 0,01	0,10 ± 0,003
Пункт 4	3,20 ± 0,52	6,31 ± 0,14	0,02 ± 0,002	0,02 ± 0,003	5,16 ± 0,70	6,30 ± 0,24	0,07 ± 0,01	0,09 ± 0,002
Пункт 5	7,25 ± 0,44	7,81 ± 0,47	0,02 ± 0,003	0,02 ± 0,002	6,60 ± 0,66	7,00 ± 0,25	0,12 ± 0,01	0,12 ± 0,008
Пункт 6	11,16 ± 1,12	12,03 ± 1,02	0,03 ± 0,003	0,03 ± 0,002	6,42 ± 0,68	7,12 ± 0,18	0,13 ± 0,01	0,14 ± 0,009
Пункт 7	5,55 ± 0,68	6,63 ± 0,11	0,02 ± 0,002	0,02 ± 0,004	6,28 ± 0,75	7,45 ± 0,54	0,10 ± 0,01	0,10 ± 0,03
Пункт 8	6,95 ± 0,48	7,01 ± 0,18	0,02 ± 0,006	0,02 ± 0,008	7,78 ± 0,44	8,05 ± 0,26	0,12 ± 0,01	0,12 ± 0,008
Контроль	8,16 ± 0,44	9,11 ± 0,44	0,02 ± 0,009	0,02 ± 0,009	8,23 ± 0,33	8,96 ± 0,33	0,12 ± 0,01	0,12 ± 0,007
Кресс-салат								
Пункт 1	2,95 ± 0,22	3,90 ± 0,22	0,004 ± 0,0002	0,004 ± 0,0003	3,87 ± 0,18	4,26 ± 0,17	0,02 ± 0,001	0,02 ± 0,0006
Пункт 2	3,28 ± 0,22	3,69 ± 0,20	0,005 ± 0,0003	0,005 ± 0,0003	4,31 ± 0,12	4,93 ± 0,23	0,02 ± 0,001	0,02 ± 0,0005
Пункт 3	2,14 ± 0,30	3,26 ± 0,18	0,003 ± 0,0005	0,003 ± 0,0008	3,27 ± 0,30	3,93 ± 0,11	0,02 ± 0,002	0,02 ± 0,003
Пункт 4	2,70 ± 0,23	3,88 ± 0,24	0,002 ± 0,0002	0,002 ± 0,0003	4,10 ± 0,16	4,28 ± 0,26	0,03 ± 0,009	0,03 ± 0,003
Пункт 5	2,19 ± 0,21	3,16 ± 0,47	0,005 ± 0,0001	0,004 ± 0,002	4,12 ± 0,12	4,36 ± 0,11	0,02 ± 0,001	0,02 ± 0,0006
Пункт 6	1,70 ± 0,24	3,00 ± 0,14	0,002 ± 0,0002	0,002 ± 0,0003	3,80 ± 0,24	4,01 ± 0,35	0,02 ± 0,001	0,02 ± 0,005
Пункт 7	2,86 ± 0,33	3,03 ± 0,33	0,004 ± 0,0003	0,005 ± 0,0002	4,60 ± 0,15	4,98 ± 0,11	0,02 ± 0,001	0,02 ± 0,0008
Пункт 8	2,59 ± 0,90	3,67 ± 0,25	0,004 ± 0,0003	0,004 ± 0,0002	4,28 ± 0,20	4,83 ± 0,10	0,02 ± 0,001	0,02 ± 0,0007
Контроль	4,71 ± 0,40	5,01 ± 0,40	0,003 ± 0,0005	0,003 ± 0,0005	5,82 ± 0,20	6,01 ± 0,20	0,04 ± 0,001	0,04 ± 0,0008

Каталазная активность проростков тест-растений

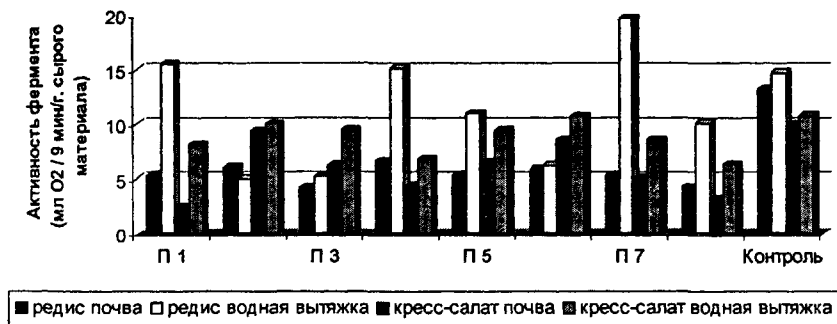


Рис. 2

Проведенный корреляционный анализ указывает на наличие связей между содержанием ТМ в водных вытяжках почв и активностью каталазы проростков тест-растений. Слабая корреляция установлена у редиса и кресс-салата между содержанием в водной вытяжке цинка – П. 5, ($r = 0,14$ – кресс-салат); меди П. 5 ($r = -0,22$ – редис), свинца П. 1, 7 ($r = 0,29; 0,10$ – редис); П. 1 ($r = 0,11$ – кресс-салат) и активностью каталазы проростков.

Исследования подтверждают возможность использования данного биохимического показателя в качестве тест-функции при мониторинге загрязнения почв ТМ.

Кластерные анализы, проведенные по результатам химического анализа почв и биотестирования, указывают на то, что сходный химический состав почв пунктов может вызвать сходную реакцию тест-откликов модельных растений, и напротив, различное содержание ТМ в почвах пунктов может вызвать сходную реакцию тест-откликов у модельных растений.

БИОТЕСТИРОВАНИЕ ВОДНЫХ ВЫТЯЖЕК ПОЧВ

Содержание тяжелых металлов в водных вытяжках почв тестируемых пунктов. В водных вытяжках тестируемых почв методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии определяли содержание меди, кадмия, цинка, хрома и свинца. Результаты элементного анализа приведены в табл. 4.

**Результаты элементного анализа водных вытяжек почв на ААС
«Perkin-Elmer 2280» (в мг/кг)**

Точки отбора проб почв	Cu	Pb	Cd	Zn	Cr
Пункт 1	1,05	0,46	-	0,93	10,36
Пункт 2	3,77	0,59	-	1,33	48,25
Пункт 3	1,78	0,35	-	3,24	18,86
Пункт 4	1,61	0,45	-	1,44	25,55
Пункт 5	1,22	0,49	-	2,01	-
Пункт 6	7,31	0,23	-	1,16	4,59
Пункт 7	3,81	0,43	-	11,17	8,88
Пункт 8	2,43	0,58	-	0,99	19,71
Контроль	1,00	-	-	0,25	0,36
ПДК	20,00	32,00	0,30	37,00	50,00

По результатам элементного состава водных вытяжек был проведен кластерный анализ, который позволил объединить пункты 3 и 8, 1 и 7, 5 и 6 в кластеры.

Чувствительность Allium-теста к присутствию ионов металлов в водных вытяжках почв тестируемых пунктов. Результаты проведенных исследований показали, что под действием водной вытяжки исследуемых почв происходит достоверное ($p \geq 0,9500$) изменение длины корней опытных лукович по сравнению с контрольными.

Результаты биотестирования водных вытяжек почв с помощью Allium сера

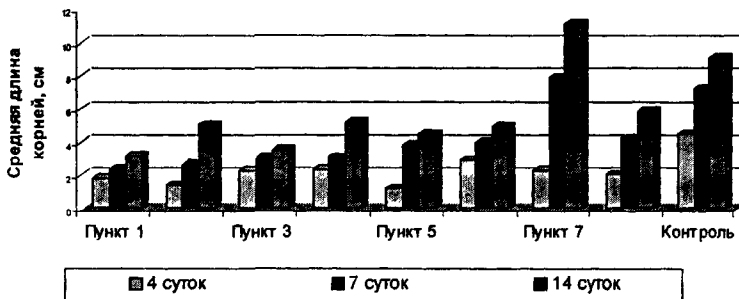


Рис. 3

Помимо достоверного изменения в росте корней *Allium* сера наблюдались такие морфологические нарушения, как крючковидные и веретенообразные корни, утолщения на корнях, появляющиеся на 7-8 сутки. Зависимость между величиной ингибирования роста корня и количеством утолщений было изучено с помощью корреляционного анализа, при этом была обнаружена как положительная ($r_{n4} = 0,50$; $r_{n5} = 0,50$; $r_{n6} = 0,89$), так и отрицательная ($r_{n1} = -0,85$; $r_{n2} = -0,16$; $r_{n3} = -0,83$; $r_{n7} = -0,91$; $r_{n8} = -0,50$) весьма тесная корреляционная зависимость между этими признаками (исключение - п. 6).

Данные кластерного анализа показали, что водные вытяжки почв пунктов по реакции тест-откликов *Allium*-теста группируются в один кластер, отдаленный от контрольного. Наибольшее кластерное расстояние отмечено между пунктом 7 и контролем, между пунктом 1 и контролем, между пунктом 4 и контролем.

Действие водных вытяжек почв тестируемых пунктов на митотическую активность клеток меристемы корней *Allium* сера. Исследования (см. рис. 1) показали, что водная вытяжка почв вызвала достоверное ингибирование митотической активности, что говорит о чувствительности этого цитогенетического критерия к содержанию ТМ в водной вытяжке. Корреляционный анализ показал наличие связей между митотической активностью и содержанием ТМ в водных вытяжках почв: корреляционная зависимость имеет самые низкие значения в П. 1, 4 для цинка $r_{zn} = 0,11$; $0,20$; в П. 2, 3, 5, 6 для меди $r_{cu} = -0,05$; $-0,50$; $0,27$; $0,20$; в П. 7, 8 для свинца $r_{pb} = -0,24$; $-0,24$.

Митотическая активность может быть использована как критерий для биотестирования водных вытяжек почв с повышенным содержанием ТМ.

Биотестирование водных вытяжек почв по всхожести семян модельных растений. Результаты эксперимента показали достоверное понижение ($p \geq 0,9500$) энергии прорастания и всхожести семян тест-растений по сравнению с контролем, что говорит о фитотоксичности водных вытяжек почв. Результаты биотеста отражены в табл. 2.

Зависимость между содержанием ТМ в водных вытяжках почв и всхожестю семян тест-растений изучено с помощью корреляционного анализа, который выявил более низкую корреляционную зависимость для цинка $r_{zn} = 0,11$; $0,16$ (П. 1 и 4 – редис); $r_{zn} = -0,11$; $0,28$; $0,44$ (П. 1, 4, 8 – кресс-салат); для меди $r_{cu} = -0,14$; $-0,52$; $0,20$; $0,19$; (П. 2, 3, 5, 6 – редис); $r_{cu} = -0,21$; $0,21$; $0,19$; (П. 2, 5, 6 кресс-салат); для свинца $r_{pb} = -0,35$; $-0,12$ (П. 7, 8, редис); $-0,43$; $-0,19$ (П. 3, 7, кресс-салат).

Биотестирование водных вытяжек почв на проростках редиса и кресс-салата. При биотестировании водных вытяжек почв было зафиксировано как ингибированное, так и стимулированное развитие тест-откликов у ре-

дуса и кресс-салата. Слабая корреляция установлена у редиса и кресс-салата между содержанием в водной вытяжке цинка – П. 1, 4, ($r = -0,11$; $-0,19$ - редис; $r = 0,11$; $0,23$ – кресс-салат) меди П. 2, 5, 6 ($r = -0,14$; $0,27$; $0,21$ - редис; $-0,10$; $0,27$; $0,23$ – кресс-салат), свинца П. 7, 8 ($r = -0,23$; $0,08$ – редис; $-0,24$; $-0,12$ – кресс-салат) и длиной корня (табл. 3). Зависимость между содержанием ТМ в водных вытяжках почв и длиной надземной части тест-растений было изучено с помощью корреляционного анализа, в результате которого была установлена слабая корреляция для цинка – П. 1, 4, ($r = -0,13$; $-0,21$ - редис;) меди П. 2, 5, 6 ($r = -0,18$; $0,25$; $0,21$ - редис; $-0,20$; $0,21$; $0,27$ – кресс-салат), свинца П. 7, 8 ($r = -0,27$; $-0,12$ – редис; $-0,20$; $-0,18$ – кресс-салат).

Действие водных вытяжек почв на активность каталазы проростков модельных растений. Результаты экспериментов говорят о достоверном ингибировании (исключение пункт 6 для кресс-салата) активности каталазы у проростков редиса и кресс-салата, по сравнению с контролем, под действием водных вытяжек почв, что свидетельствует о фитотоксичности исследуемых вытяжек, и о возможности использования этого тест-отклика в качестве критерия для биотестирования водных вытяжек почв. Результаты эксперимента представлены на рис. 2.

Проведенный корреляционный анализ указывает на наличие связей между содержанием ТМ в водных вытяжках почв и активностью каталазы проростков тест-растений, Слабая корреляция установлена между содержанием в водной вытяжке цинка – П. 1, 4, ($r = -0,18$; $-0,29$ - редис; $r = -0,13$; $0,18$ – кресс-салат); меди П. 2, 5, 6 ($r = -0,21$; $0,28$; $0,26$ - редис; $-0,23$; $0,29$; $0,28$ – кресс-салат), свинца П. 7, 8 ($r = -0,23$; $-0,16$ – редис; $-0,33$; $-0,26$ – кресс-салат) и активностью каталазы проростков редиса и кресс-салата.

По данным биотестирования водных вытяжек был проведен кластерный анализ, в результате которого пункты 1 и 7 объединены в один кластер. Аналогичная картина наблюдается и при кластеризации данных элементного анализа водных вытяжек почв, из чего можно сделать вывод, что схожий химический состав разных пунктов вызывает схожую реакцию тест-откликов.

Расчет индекса токсичности почв и водных вытяжек почв по результатам биотестирования. Так как в настоящем исследовании зафиксировано достоверное стимулирование развития тест-откликов была предпринята попытка модифицировать авторскую шкалу токсичности Кабинова Р.Р., Сагитовой А.Р., Сухановой Н.В., с позиций более детального рассмотрения вопроса стимулирования тест-функции у модельных организмов, и ввести градации VI класса токсичности, тем более что величина индекса токсичности почв и водных вытяжек почв в собственных экспериментах для некоторых тест-откликов превышает табличное значение.

Шкала токсичности тестируемого фактора (в модификации)

Класс токсичности	Индекс токсичности тестируемой среды	Пояснения
VI (стимуляция) - значительная - выраженная - заметная - средняя - слабая	> 1,60 1,50 – 1,60 1,50 1,11 – 1,40 1,10	Фактор оказывает стимулирующее действие на тест-объекты. Величина тест-функции в опыте превышает контрольные значения
V (норма)	0,91 – 1,00	Фактор не оказывает существенного влияния на развитие тест-объектов. Величина тест-функции находится на уровне контроля
IV (низкая токсичность)	0,71 – 0,90	Разная степень снижения величины тест-функции в опыте по сравнению с контролем
III (средняя)	0,50 – 0,70	
II (высокая)	< 0,50 (ниже индекса LD ₅₀ принятого в токсикологии)	
I (сверхвысокая, вызывающая гибель тест-объекта)	Среда не пригодная для жизни тест-объекта	Наблюдается гибель тест-объекта

По итогам биотестирования, опираясь на шкалу токсичности тестируемого фактора (в модификации), был произведен расчет индекса токсичности почв отдельно для каждой тест – системы (рис. 4).

Индексы токсичности тестируемых сред для разных модельных организмах



Рис. 4

Вопрос о разработке шкал токсичности природных сред с комплексом поллютантов остается еще открытым, не смотря на то, что существует несколько десятков шкал, которыми пользуется современная наука. Открытость вопроса связана с тем, что реакции тест-организмов на модельные условия резко отличаются от таковых в природных условиях, где создать влияние какого – либо одного поллютанта невозможно. Почти всегда мы имеем дело с комплексом поллютантов, в котором учесть влияние каждого порой бывает сложно, и не всегда можно выявить механизмы взаимосвязи.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что редис (*Raphanus sativus*), кресс-салат (*Lepidium sativum*) и лук репчатый (*Allium cepa*) могут быть использованы для биотестирования почв техногенных зон городских территорий. Кресс-салат более чувствителен к повышенному содержанию тяжелых металлов в почве, а лук репчатый наиболее чувствителен к содержанию тяжелых металлов в водных вытяжках почв техногенных зон города.

2. Почвы техногенных зон городских территорий содержат до 3 ПДК меди, до 7 ПДК свинца, до 4 ПДК кадмия, до 2 ПДК цинка, до 4 ПДК хрома.

3. Реакция лука репчатого на содержание тяжелых металлов в почвах техногенных зон, проявилась в достоверном ингибировании митотической активности клеток апикальной меристемы корешков проростков (в среднем на 19%).

4. Фитотоксичное действие почв проявилось в ингибировании всхожести семян редиса до 53%. У всех изученных проростков редиса, выращенных на тестируемых почвах, происходило как ингибирование (в среднем до 30%), так и стимулирование роста корневой системы (в среднем до 25%); рост надземной части проростков редиса почвами техногенных зон ингибировался (в среднем на 23%) и стимулировался в среднем на 17%; активность каталазы ингибировалась, в среднем, на 60%.

5. Фитотоксичное действие, почв проявилось в ингибировании всхожести семян кресс-салата в среднем до 50%. Рост подземной части проростков кресс-салата, ингибировался в среднем до 40%, рост надземной части ингибировался в среднем на 31%, активность каталазы ингибировалась до 44%. Активность каталазы проростков редиса и кресс-салата может быть использована как индикаторный признак при биотестировании почв техногенных зон города.

6. Содержание тяжелых металлов в водных вытяжках почв техногенных зон не превышает ПДК, тем не мене, они подавляли и стимулировали развитие

индикаторных признаков. По все вероятности, это происходит из-за синергического эффекта, возникающего в результате полиэлементного состава водных вытяжек почв.

7. Водная вытяжка почв техногенных зон при четырехдневном экспонировании в ней луковиц *Allium* сера ингибирует развития корней в среднем на 55%, при семидневном в среднем на 54%, при четырнадцатидневном экспонировании, в среднем на 49%. При этом сроке экспонирования имеет место и стимулированное воздействие водной вытяжки на рост корней лука репчатого (в 13% случаях). Кроме того, водная вытяжка стимулирует образование утолщений у 38% корней луковиц на 7 сутки экспонирования и ингибирует митотическую активность клеток апикальной меристемы корешков опытных проростков лука репчатого (в среднем на 11%).

8. Фитотоксичное действие водных вытяжек почв проявилось в ингибировании всхожести семян редиса в среднем на 29%. У всех изученных проростков редиса, происходило как ингибирование (в среднем на 13%), так и стимулирование роста корневой системы (единичный случай на 49%). Рост надземной части проростков редиса стимулировался в среднем на 20%, ингибировался в среднем на 16%. Активность каталазы стимулировалась в среднем на 14%, ингибировалась в среднем на 31%.

9. Фитотоксичное действие водных вытяжек почв проявилось в ингибировании всхожести семян кресс-салата в среднем на 18%, в ингибировании роста подземной и надземной части проростков и активности каталазы (в среднем на 33%, 25% и 15% соответственно). Активность каталазы проростков редиса и кресс-салата может быть использована как индикаторный признак при биотестировании водных вытяжек почв техногенных зон города.

10. В результате проведенного корреляционного анализа между содержанием тяжелых металлов в почве, превышающих ПДК и проявлением индикаторных признаков установлено, что максимально превышающие ПДК свинца для пункта, не всегда тесно коррелирует с проявлением индикаторных признаков, напротив наблюдается большая зависимость между проявлением индикаторных признаков с тяжелыми металлами, концентрации которых в почве не максимально превышают свои ПДК для пункта, или вообще не превышают их.

11. Ингибированное и стимулированное развитие индикаторных признаков должно быть отражено в оценочных шкалах тестируемых сред окружающей среды, в связи, с чем была разработана шкала токсичности сред.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Мануйлов И.М., Багдасарян А.С. Allium сера – как тест-система биомониторинга почвенного покрова // Материалы межрегиональной научно-практической конференции «Образование, здоровье и культура в начале XXI века». - Ставрополь, 2004. - С. 93-96.
2. Мануйлов И.М., Багдасарян А.С. Использование растительных тест-объектов для изучения влияния недифференцированных мутагенов // Материалы межрегиональной научно-практической конференции «Образование, здоровье и культура в начале XXI века». - Ставрополь, 2004. - С. 100-102.
3. Багдасарян А.С. Фитотестирование загрязненности почв // Материалы II Всероссийской научно-практической конференции «Химическое загрязнение среды обитания и проблемы экологической реабилитации, нарушенных экосистем». - Пенза, 2004. - С. 18-20.
4. Багдасарян А.С. Применение некоторых биоморфологических показателей Allium сера (L.) для биотестирования снежного покрова // Материалы Всероссийского постоянно действующего научно-технического семинара «Экологическая безопасность регионов России и риск от техногенных аварий и катастроф» - Пенза, 2004. - С. 68-69.
5. Багдасарян А.С. Жизнеспособность семян Allium сера (L.) - как индикатор при биомониторинге почв // Материалы научной конференции «Университетская наука – региону» - Ставрополь, 2004. - С. 12-13.
6. Багдасарян А.С. Митотическая активность клеток корневой меристемы Allium сера (L.) – как критерий антропогенной нагрузки // Материалы научной конференции «Университетская наука – региону» - Ставрополь, 2004. - С.13-14.
7. Багдасарян А.С. К вопросу биотестирования окружающей среды // Материалы Международной научной конференции «Татищевские чтения: актуальные проблемы науки и практики (АПНП-2004)». - Тольятти, Волжский университет им. В.Н.Татищева, 2004. - С. 80-81
8. Багдасарян А.С. Использование показателей прорастания семян Allium putans при биотестировании загрязненности окружающей среды // Материалы международной научной конференций студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов- 2004». - Москва, 2004. - С. 9.
9. Багдасарян А.С. Чувствительность Allium сера к загрязненности почвенного покрова // Фундаментальные исследования.- № 3. – 2004, С.95-96 Материалы научной конференции «Эколого-гигиенические проблемы регионов России и стран СНГ» Умаг (Хорватия), 2004. - С. 95-96.

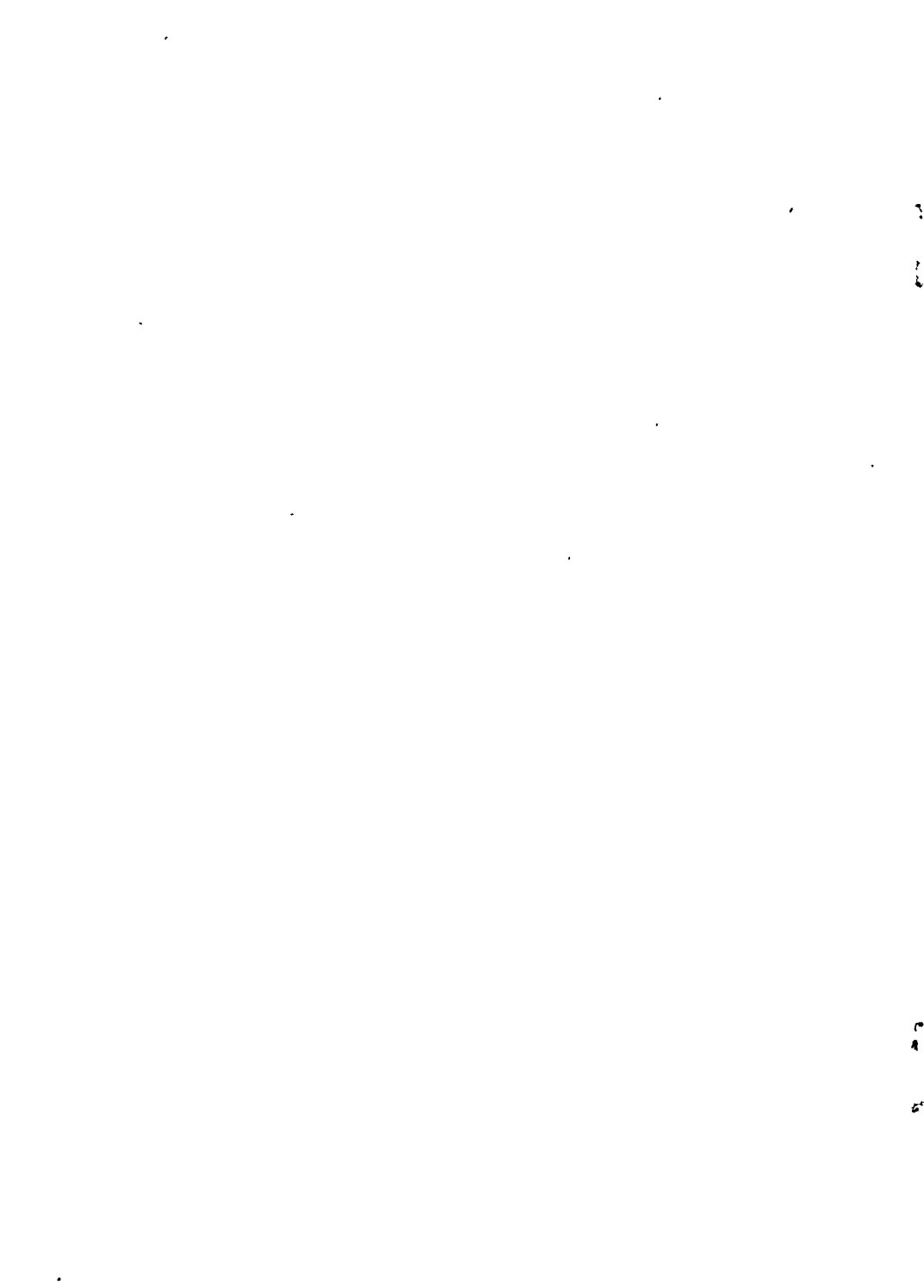
10. Багдасарян А.С. Биотестирование почв с повышенным содержанием тяжелых металлов на проростках редиса и кресс-салата // Материалы 50-й научной конференции «Университетская наука – региону» - Ставрополь, 2005. - С. 11-13.

11. Багдасарян А.С. Действие свинца антропогеннозагрязненных почв на систему антиоксидантной защиты тест-растений // Тезисы российской студенческой научной конференции «Актуальные проблемы современной биологии» - Астрахань, 2005. – С. 107-108.

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'A.S. Bagdasaryan', located in the right-center area of the page.

Изд. лиц.серия ИД № 05975 от 03.10.2001	Подписано в печать 8 08.2005	
Формат 60×84 1/16	Усл.печ.л. 1,22	Уч.-изд.л. 0,99
Бумага офсетная	Тираж 100 экз.	Заказ 292

Отпечатано в Издательско-полиграфическом комплексе
Ставропольского государственного университета
355009, Ставрополь, ул.Пушкина, 1.



1

2

3

4

5

6

7

8

9

10

11

№ 15085

РНБ Русский фонд

2006-4

12181