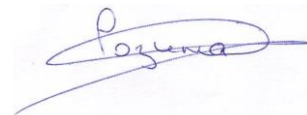


Министерство науки и высшего образования Российской Федерации  
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего  
образования «Самарский национальный исследовательский университет имени  
академика С.П. Королёва»

На правах рукописи



**РОЗИНА СВЕТЛАНА АЛЕКСЕЕВНА**

**Эколого-физиологические реакции высшего водного растения *Ceratophyllum demersum* на действие гипертермии и химических факторов**

Специальности: 03.02.08 – экология (биология)

03.01.05 – физиология и биохимия растений

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Научный руководитель  
д.б.н., профессор, Макурина О.Н.

Самара - 2018

## Содержание

Введение.....	4
Глава 1. Обзор литературы.....	7
1.1. Поступление ксенобиотиков в водные экосистемы и клетки растений 7	
1.2. Токсические эффекты тяжёлых металлов .....	11
1.3. Механизмы устойчивости растений к тяжёлым металлам .....	13
1.4. Токсические эффекты катионных синтетических поверхностно- активных веществ.....	16
1.5. Гипертермия как стрессовый фактор для водных растений .....	17
1.6. Адаптация растительных организмов к действию гипертермии.....	19
1.7. Эколого-физиологические реакции растительных организмов на действие гипертермии и химических факторов.....	20
Глава 2. Материалы и методы исследования .....	26
2. 1. Характеристика объекта исследования .....	26
2.2. Схема эксперимента .....	26
2.3. Определение пероксидазной активности .....	29
2.4. Определение каталазной активности.....	30
2.5. Определение полифенолоксидазной активности .....	30
2.6. Определение аскорбинатоксидазной активности.....	31
2.7. Определение содержания водорастворимых и мембраносвязанных белков .....	32
2.8. Определение содержания фотосинтетических пигментов .....	34
2.9. Определение содержания малонового диальдегида .....	35
2.10. Определение содержания фенольных соединений .....	35
Глава 3. Результаты исследования и их обсуждение .....	36
3.1. Влияние ионов свинца на эколого-физиологические характеристики <i>C. demersum</i> .....	36
3.2. Влияние катионных СПАВ на эколого-физиологические характеристики <i>C. demersum</i> .....	45
3.3. Влияние гипертермии на эколого-физиологические характеристики <i>C.</i> <i>demersum</i> .....	52
3.4. Влияние сочетания ионов свинца и раствора катионных СПАВ на эколого-физиологические показатели <i>C. demersum</i> .....	58

3.5. Влияние сочетания ионов свинца и гипертермии на эколого-физиологические характеристики <i>C. demersum</i> .....	65
3.6. Влияние сочетания раствора катионных СПАВ и гипертермии на эколого-физиологические характеристики <i>C. demersum</i> .....	72
3.7. Влияние сочетания ионов свинца, раствора катионных СПАВ и гипертермии на эколого-физиологические характеристики <i>C. demersum</i> .....	77
Выводы.....	84
Список используемых сокращений.....	85
Список использованной литературы.....	86
Приложения .....	109

## Введение

**Актуальность работы.** Одна из острых современных экологических проблем – загрязнение биосферы тяжёлыми металлами (ТМ) и синтетическими поверхностно-активными веществами (СПАВ), которые включаются в природные циклы миграции и в большинстве случаев накапливаются в гидросфере (Брагинский, 1998; Долгоносков, 2003; Rosen et al., 2001; Ying et al., 2006; Zeng et al., 2006; Филенко и др., 2007; Вишневецкий и др., 2009; Warniment et al., 2010; Новикова и др. 2013; Морачевский, 2014). С середины 60-х гг. XX наблюдается потепление в Северном полушарии, обусловленное как изменением солнечной активности и вулканической деятельностью, так и парниковым эффектом (Serreze et al., 2000; Минин, 2000; Заварзин, 2001; Roetzer et al., 2001; Шмидт, 2012; Владимиров и др., 2014; Байрамова, 2015).

В отечественных работах исследованы биологические эффекты различных видов ТМ (Капитонова, 2002; Розенцвет и др., 2005; Розенцвет, 2006; Мурзин и др., 2010) и СПАВ на ряд высших наземных и водных растений (Остроумов, 2001, 2004), приведены механизмы действия и выдвинута идея самоочистки сточных вод с помощью водных макрофитов (Вайсман и др., 2006; Быкова и др., 2009; Лазарева и др., 2009; Остроумов, 2012). Влияние гипертермии исследовалось отечественными учёными в рамках оценки состояния водоёмов-охладителей АЭС и ТЭЦ (Жутов и др., 2010; Капитонова и др., 2011; Марчюленене и др., 2013). Однако недостаточно изучены эффекты комбинированного влияния гипертермии и химических факторов на состояние водных растений и реабилитационные возможности макрофитов.

**Цель** настоящей работы – анализ эколого-физиологических реакций высшего водного погруженного растения *Ceratophyllum demersum* на действие гипертермии и антропогенных факторов химической природы.

### **Задачи исследования:**

1. Выявить наиболее существенные эколого-физиологические реакции *C. demersum*, свидетельствующие об устойчивости и адаптации к действию антропогенных факторов различной природы.

2. Изучить индивидуальное и комбинированное влияние гипертермии и химических факторов антропогенной природы на эколого-физиологические характеристики *C. demersum*.

3. Исследовать возможность реабилитации макрофитов *C. demersum* после снятия действия неблагоприятных факторов.

#### **Научная новизна.**

1. Впервые проведен анализ комплекса эколого-физиологических показателей *C. demersum* в условиях воздействия комбинации гипертермии и химических факторов и в постстрессовый период.

2. Выявлены стадии протекания стрессовой реакции у *C. demersum*: стадия первичной стрессовой индукции (развивается в течение первых суток воздействия фактора), стадия адаптации (развивается с первого по третий день влияния фактора), стадия реабилитации (развивается после исключения воздействия фактора). Обнаружено, что стадия первичной стрессовой индукции протекает сходно в случае влияния любого индивидуального фактора или их сочетания, а фазы адаптации и реабилитации зависят от природы воздействующего фактора.

3. Исследованы специфические защитные реакции *C. demersum*, связанные с изменением активности работы антиоксидантной системы и содержания водорастворимых и мембраносвязанных белков, с повышением содержания каротиноидов, аскорбинатоксидазной и полифенолоксидазной активностью.

**Теоретическая значимость работы.** Результаты диссертационной работы расширяют представления о механизмах влияния ТМ, катионных СПАВ, гипертермии и их различных сочетаний на высшие водные растения, а также позволяют оценить границы устойчивости *C. demersum* к действию исследуемых поллютантов.

**Практическая значимость работы.** Материалы диссертации, сформулированные в ней научные положения и выводы могут найти применение

в модернизации технологий фиторемедиации сточных вод с участием водных растений.

**Положения, выносимые на защиту:**

- макрофиты *C. demersum* способны адаптироваться к эффектам индивидуального и комбинированного влияния гипертермии и химических факторов за счёт эколого-физиологических реакций: увеличения содержания каротиноидов, водорастворимых и мембраносвязанных белков, повышения ферментативной активности антиоксидантной системы и полифенолоксидазной активности;

- комбинированное влияние факторов оказывает большее повреждающее действие на организм *C. demersum*, чем индивидуальное;

- в постстрессовый период водные растения *C. demersum* могут восстанавливаться благодаря компенсаторным эколого-физиологическим реакциям: повышению содержания пигментов, утилизации активным форм кислорода ферментами антиоксидантной системы, увеличению содержания защитных белков и фенольных соединений.

**Связь темы диссертации с плановыми исследованиями.** Тема диссертации связана с плановыми исследованиями кафедры биохимии, биотехнологии и биоинженерии Самарского университета по теме: «Деятельность биологических систем и механизмы их регуляции» («Влияние физических и химических факторов на живые системы»).

**Апробация работы.** Основные результаты диссертационной работы были представлены на 49, 50 Международных научных студенческих конференциях «Студент и научно-технический прогресс» (Новосибирск, 2011, 2012) 12-й Международной конференции «Актуальные проблемы современной науки» (Самара, 2012), Международных научно-практических конференциях «Теоретические и прикладные проблемы современной науки и образования» (Курск, 2012, 2013), Международной конференции «Биодиагностика – 2013» (Москва, 2013), Всероссийских научно-практических конференциях с международным участием «Экология родного края: проблемы и пути решения»

(Киров, 2012, 2013, 2014, 2016, 2018), Международной научно-практической конференции «Медико-биологические вопросы адаптации» (Сухум, 2012), 18-й международной Пущинской школе-конференции молодых учёных «Биология – наука XXI века» (Пущино, 2014), Третьей Международной конференции «Инновационные подходы к обеспечению устойчивого развития социо-эколого-экономических систем» (Тольятти, 2016).

**Декларация личного участия автора.** Настоящая диссертационная работа является результатом исследований, выполненных лично автором в 2011-2015 гг. Автором диссертации проведены планирование эксперимента, выбор объекта и методов исследования, обработка и анализ лабораторных материалов, разработаны основные теоретические положения диссертационной работы, выводы и практические рекомендации. Доля личного участия автора в совместных публикациях пропорционально числу соавторов.

**Публикации.** По материалам диссертации опубликованы 22 работы, в том числе 4 статьи в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК.

## **Глава 1. Обзор литературы**

### **1.1. Поступление ксенобиотиков в водные экосистемы и клетки растений**

Основные источники поступления ксенобиотиков в среду можно разделить на естественные и техногенные (рис. 1). Все антропогенные воздействия через атмосферные осадки, почвенный сток, миграцию подземных вод, процессы, связанные с круговоротом воды, приводят к загрязнению водных экосистем (Брагинский, 1998).

По объёму загрязнения и потенциальной биологической и экологической эффективности наибольшую опасность представляют ТМ, нефть и нефтепродукты, пестициды различной химической природы, поверхностно-активные вещества, полихлорированные бифенилы. Особое место занимают

вещества, устойчивые к деградации и перемещающиеся с воздушными потоками (Филенко и др., 2007).

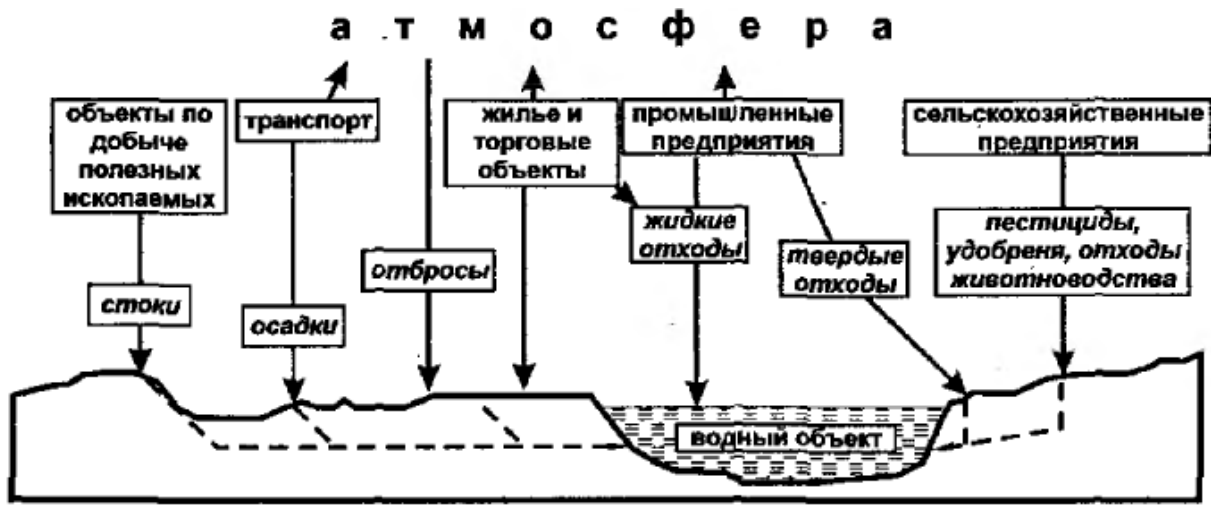


Рис. 1. Основные пути и источники загрязнения (Новосадова и др., 1990).

Значительная часть металлов, поступающих в атмосферу, переносится воздушным путём в твёрдом или водорастворимом виде на большие расстояния, поступают в гидросферу ТМ с недостаточно обработанными сточными водами различных предприятий (Титов и др., 2007; Вишневецкий и др., 2014). Схема поступления тяжёлых металлов в водную экосистему и их последующее перераспределение представлена на рис. 2.

Конечные эффекты поллютанта зависят от его физико-химических свойств: растворимость, скорость диссоциации, комплексообразование, скорость разрушения, гидролиза и фотолиза, летучесть. Например, растворимая фракция металлов может быть представлена гидратированными ионами, органическими и неорганическими соединениями и комплексами (Филенко и др., 2007). Связывание и осаждение ионов тяжёлых металлов приводит к их концентрации в донных осадках. При снижении рН, недостатке кислорода или появлении растворённых комплексообразователей, ионы металлов переходят из донных осадков в воду (Степанова и др., 2005; Гузеева, 2014).



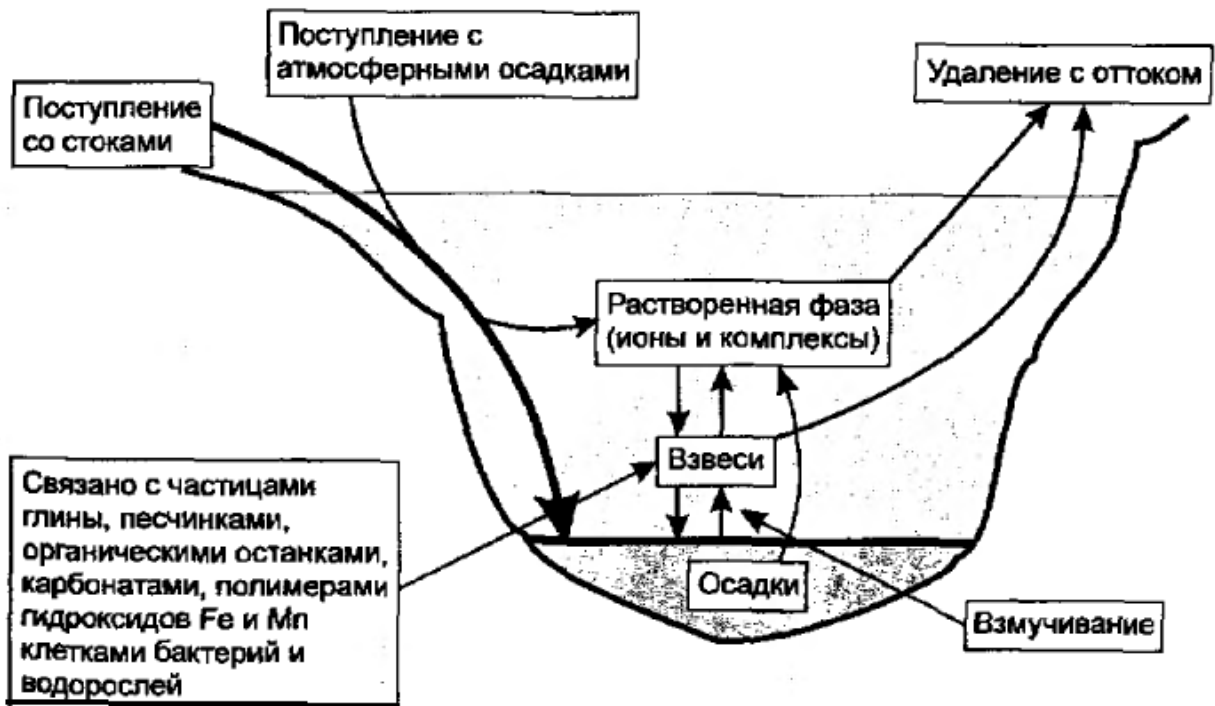


Рис. 2. Поступление, распределение и удаление тяжёлых металлов в водной экосистеме (Филенко и др., 2007).

СПАВ попадают в окружающую среду со сточными водами в виде различных средств бытовой химии. Отличительная особенность загрязнителя – наличие у одной молекулы полярных и неполярных участков. СПАВ устойчивы в окружающей среде и в организмах животных. В сильно загрязнённых природных водах содержание загрязнителя может достигать 5 мг/л, в сточных водах – 10 г/л, тогда как предельно допустимая концентрация (ПДК) для пресноводных водоёмов рыбо-хозяйственного значения составляет 0,1-0,4 мг/л в зависимости от природы СПАВ (Субботкин и др., 2011). В водном растворе СПАВ собираются в мицеллы, при определённой концентрации количество мицелл резко увеличивается. Данная концентрация СПАВ получила название точки критического мицеллообразования. Значения точки критического мицеллообразования отличаются для различных типов СПАВ, общая схема представлена на рис. 3 (Ying et al., 2006). Именно после перехода точки критического мицеллообразования СПАВ способны солюбилизировать мембраны живых организмов.



Рис. 3. Зависимость процессов солубилизации от концентрации ПАВ, точка км – точка критического мицеллообразования (Ying et al., 2006).

Поллютанты могут взаимодействовать между собой, например, металлы влияют на превращения пестицидов, промежуточные и конечные продукты деградации. Общая схема влияния факторов среды на токсиканты представлена в таблице 1. Кроме того, живые организмы также могут преобразовывать поллютанты, снижая их токсичность (Филенко и др., 2007).

Таблица 1.

Влияние факторов окружающей среды на состояние химического агента в воде (Филенко и др., 2007)

Фактор среды	Изменение фактора	Изменение состояния вещества	
		неорганического	органического
Температура	Повышение	Повышение растворимости	Ускорение превращения
Концентрация кислорода	Понижение		Замедление превращения
Жёсткость			
pH	Отклонение от 7	Изменение химической формы	Ускорение превращения
Комплексообразователи	Повышение концентрации	Связывание, повышение растворимости	Связывание, повышение биодоступности
Взвеси	Повышение содержания	Связывание, снижение растворимости	Связывание
Свет	Повышение интенсивности	Ускорение превращения	Ускорение превращения

Важно отметить, что металлы вне организма часто находятся в недоступной для живых организмов форме. Биодоступность повышается после связывания металла с хелатообразующими лигандами, выделяемыми растительными организмами. Транспорт веществ через клеточные мембраны может осуществляться за счёт диффузии по градиенту концентрации, фильтрации через поры в мембране или путём активного транспорта с затратой энергии. При связывании поллютанта после проникновения в клетку градиент концентрации сохраняется, и поступление вещества продолжается. Липофильные соединения хорошо проходят билипидный слой. Неполярные молекулы и слабополярные проходят через мембрану вне зависимости от своих размеров, однако выход их из клетки уже затруднён. Повышение температуры способствует увеличению количества поступающего внутрь клетки поллютанта, но лишь до определённых температур (Биочино, 1982; Филенко и др., 2007).

Для высших растений характерно более интенсивное накопление ТМ в корнях, для водных растений характерна сорбция металлов из растворов поверхностью листьев, корневое поглощение менее выражено по сравнению с наземными растениями. Листья погружённых гидрофитов обладают повышенной по сравнению с плавающими способностью накапливать ионы ТМ и аккумулировать их в метаболически малоактивных компартментах, клетках и органах, которых растение может впоследствии лишиться (Doust et al., 1994; Барсукова, 1997; Некрасова и др., 2009). Поглощение и накопление органических веществ, в том числе СПАВ, зависит от плотности биомассы макрофитов (Быкова и др., 2009).

## **1.2. Токсические эффекты тяжёлых металлов**

Эффекты влияния ТМ на растительный организм зависят как от физико-химических свойств конкретного металла, так и от особенностей самого растения. Степень выраженности токсического эффекта будет определять полученная доза ТМ и его свойства, а также механизмы растительного организма,

способствующие поглощению и распределению поллютанта между тканями и органами, где возможно преобразование полученного соединения в иные формы, отличающиеся по токсичности как в большую, так и в меньшую сторону (Добровольский, 1988). Чаще всего эффекты влияния ТМ проявляются в ингибировании ферментов (табл. 2).

Таблица 2

## Ферменты, ингибируемые тяжёлыми металлами (Малеева, 2004)

Металл	Фермент
Hg <sup>2+</sup>	Щелочная фосфатаза, глюкоза-6-фосфатаза, лактодегидрогеназа
Cd <sup>2+</sup>	Аденозинтрифосфатаза, алкогольдегидрогеназа, амилаза, карбоангидраза, карбоксипептидаза, глутаминооксалоацетатотрансаминаза
Pb <sup>2+</sup>	Ацетилхолин, эстераза, щелочная фосфатаза, аденозинтрифосфатаза, карбоангидраза, цитохромоксидаза

Многие ионы ТМ замещают сходные по размерам металлы в активных центрах ферментов и инициируют перекисное окисление липидов (ПОЛ). В результате образования свободных радикалов и активных форм кислорода (АФК) повреждаются различные мембранные структуры, нарушаются процессы фотосинтеза и дыхания, водный режим. Кроме того, свободные ионы свинца, ртути, кобальта и кадмия способны образовывать прочные комплексы с растворёнными в цитозоле биолигандами (Барсукова, 1997; Малеева, 2004).

Как сами ТМ, так и активированные ими свободнорадикальные процессы, нарушают структуру микротрубочек и окисляют компоненты клеточной стенки, в результате эластичность клеточной стенки снижается, нарушается водный режим, тормозится рост и деление клеток (рис. 4) (Гуральчук, 1994; Серёгин и др., 2001; Титов и др., 2007).

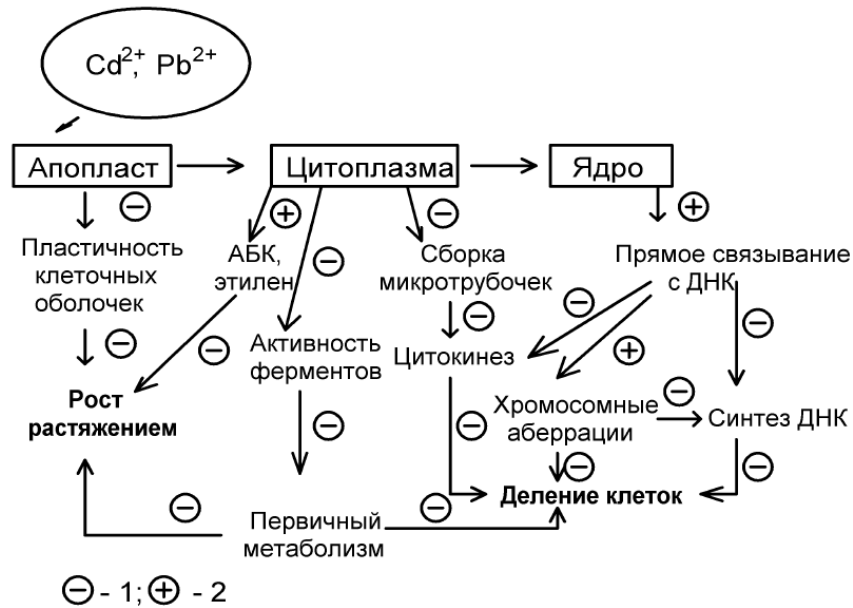


Рис. 4. Влияние ионов свинца и кадмия на деление и растяжение клеток растений: 1 – ингибирование, уменьшение; 2 – активация, увеличение (Серегин и др., 2001).

На организменном уровне эффекты влияния ТМ можно оценивать по степени выраженности хлороза листьев, обусловленного снижением содержания фотосинтетических пигментов и активности фотосинтеза вследствие нарушения структуры хлоропластов и снижении скорости транспорта электронов. Кроме того, ионы ТМ вызывают торможение дыхания, повреждая митохондриальные мембраны и вызывая разобщение окислительного фосфорилирования (Караваев и др. 2001; Казнина и др. 2005).

### 1.3. Механизмы устойчивости растений к тяжёлым металлам

По отношению к тяжёлым металлам все растительные организмы делятся на три группы:

- 1) концентраторы (аккумуляторы);
- 2) индикаторы;
- 3) исключители.

Для растений-концентраторов характерны выработанные в процессе эволюции механизмы устойчивости к ТМ: аккумуляция поллютантов в

метаболически малоактивных органах и последующий перевод токсичного соединения в более безопасную форму с помощью хелатообразователей. В результате концентрация ТМ в среде и тканях растительного организма совпадает (Артамонов, 1986).

Согласно данным отечественных исследователей, погружённые макрофиты способны поглощать и накапливать значительные концентрации ионов ТМ вследствие развитого контакта растительного организма с водной средой (Малёва и др., 2003, 2004; Борисова и др., 2005; Некрасова и др., 2009).

На ответную реакцию организма оказывают влияние факторы окружающей среды: температура, концентрация растворённого кислорода, жёсткость и щёлочность воды, присутствие хелатирующих агентов и других загрязнителей. При повышении жёсткости воды и рН, при падении парциального давления кислорода чувствительность к металлам снижается.

Адаптационные механизмы, направленные на защиту растительного организма от ТМ, отражены на рис. 5.



Рис. 5. Механизмы устойчивости растений к тяжелым металлам (Чиркова, 2002).

На клеточном уровне барьером для ионов ТМ служат клеточная стенка и плазмалемма, которые ограничивают поступление металла в протопласт (Титов и др., 2007). Для большинства растительных клеток при хроническом влиянии

ионов свинца и цинка в концентрациях, превышающих ПДК, характерно образование двойной мембраны, в которой вновь синтезированная мембрана защищает прежнюю, повреждённую ионами ТМ, и выполняет все биологические функции (Грубинко и др., 2012).

Общие направления обезвреживания ионов тяжёлых металлов представлены в таблице 3.

Таблица 3

## Пути детоксикации с помощью биомолекул (Prasad, 1998)

Механизм	Биомолекула
Индукция биосинтеза белков	Металлотионины, белки теплового шока, фитохелатины, ферритин, трансферритин
Индукция и активация ферментов АОС	Супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидаза
Увеличение пула органических кислот	Пировиноградная кислота, малоновая кислота, лимонная кислота, щавелевая кислота, $\alpha$ -кетоглутаровая кислота, аконитовая кислота

В цитозоле у многих высших растений обнаруживаются фитохелатины и металлотионины, способные связывать через сульфгидрильные группы ионы ТМ и тем самым нейтрализовать их. Следует отметить, что фитохелатины образуются прямо в цитозоле из глутатиона с участием фитохелатинсинтазы (Серёгин, 2001; Cobbett et al., 2002; Титов и др., 2007; Некрасова и др., 2009).

Активное участие в защите клетки от токсического действия ТМ могут принимать также белки теплового шока, отдельные компоненты которых могут синтезироваться в ответ на действие других различных неблагоприятных факторов (Титов и др., 2007).

Таким образом, ионы ТМ могут быть связаны специфическими белками (металлотионины и фитохелатины), белками теплового шока и органическими кислотами, а продукты перекисного окисления, индуцированного ионами ТМ, будут утилизироваться антиоксидантной системой.

#### **1.4. Токсические эффекты катионных синтетических поверхностно-активных веществ**

Основными компонентами и действующими вещества почти всех средств бытовой химии являются синтетические поверхностно-активные вещества (СПАВ). Поллютанты представлены обширной группой веществ, способных абсорбироваться на различных поверхностях, границах раздела сред и понижающих поверхностное натяжение воды (Холмберг и др., 2007; Вишневецкий и др., 2009). Важным свойством СПАВ является мицеллообразование – агрегация молекул в мицеллу в водном растворе с целью защиты гидрофобных частей молекул. Одна из наиболее распространённых классификаций СПАВ – по заряду полярной группы. Различают неионные, анионные, катионные и цвиттер-ионные СПАВ.

Катионные СПАВ – вещества, способные к ионизации в водном растворе с образованием положительно заряженных органических ионов. К ним относятся четвертичные аммониевые соли, состоящие из 12-18-атомного углеводородного радикала с прямой цепью, метильного, этильного или бензильного радикала, хлора, брома, йода или остатка метил- или этилсульфата. Данный класс ксенобиотиков проявляет сильную степень абсорбции практически на любой поверхности и наиболее устойчив к гидролизу по сравнению с другими классами, поэтому катионные СПАВ проявляют наибольшую токсичность в водной среде (Холмберг и др., 2007). Согласно исследованиям Давлетшина А.И. и др. (2009), биологические эффекты катионных СПАВ сходны и не зависят от различий в строении молекулы.

Для водных организмов характерен очень узкий интервал между токсической и нетоксической концентрацией катионных СПАВ (Шевердяев и др., 2001). Незначительное присутствие поллютанта в водоёмах вызывает пенообразование, нарушает кислородный режим, в результате чего создаются неблагоприятные условия для самоочистки водной экосистемы, снижается качество воды. В западных странах ПДК для СПАВ колеблется от 0,2 мг/л до 0,8



мг/л, в России ПДК – 0,1-0,4 мг/л в зависимости от типа СПАВ (Остроумов, 2001, 2005).

Изменение проницаемости мембран является универсальным структурно-функциональным нарушением при воздействии различных видов токсикантов, особенно СПАВ. Вследствие подобных явлений у водных растений нарушаются процессы фотосинтеза, снижается дисперсность коллоидов цитоплазмы и ядра, повышается вязкость цитоплазмы и кислотность внутренней среды клетки. В результате происходит обратимая денатурация клеточных белков (Филенко и др., 2007).

Катионные СПАВ способны встраиваться в липидный бислой плазматических мембран, инактивировать или даже денатурировать мембранные белки, в результате чего развивается лизис клетки (Пучкаев и др., 1992). Солюбилизация мембран – главный повреждающий эффект катионных СПАВ, защиту от него смогли выработать только некоторые микроорганизмы, синтезирующие плёнку на поверхности клетки, препятствующую проникновению молекул детергента (Helenius et al., 1975; Телитченко и др., 1990).

### **1.5. Гипертермия как стрессовый фактор для водных растений**

Температура воды является одним из важных физических факторов для высших водных растений. По термотолерантности все растительные организмы можно разделить на три группы, водные растения принадлежат к группе мезофитов, способных выдерживать повышение температуры до 38-42°C (Лосева и др., 1988; Половникова, 2010).

Согласно литературным данным, с середины 60-х гг. XX наблюдается потепление климата в Северном полушарии (Serreze et al., 2000; Минин, 2000; Заварзин, 2001; Roetzer et al., 2001; Шмидт, 2012; Владимиров др., 2014; Байрамова, 2015). В то же время сточные воды ТЭС, АЭС, ТЭЦ, ГРЭС и подогретые сточные воды производств приводят к локальному повышению температуры воды до 28-32°C (Брагинский, 1998). Так, в 2003 г. в водоёме-

охладителе Ижевской ТЭЦ-1 была зарегистрирована максимальная температура  $+36^{\circ}\text{C}$  (Капитонова и др., 2011). Термофикация водоёма приводит к развитию фито- и зоопланктона, «цветению» воды и ускорению роста рыб (Брагинский, 1998).

Экосистемы водоёмов-охладителей интересны адаптацией водных растительных сообществ к высоким температурам и являются модельными экосистемами для прогнозирования экологической обстановки в условиях потепления климата. Повышение температуры среды обитания для всех живых организмов – неблагоприятный, стрессовый фактор, защитные механизмы от которого являются интегральными и неспецифическими (Sung et al., 2003; Пятыгин, 2008). Растения, обитающие в водоемах-охладителях в условиях хронического воздействия гипертермии относительно невысокой интенсивности вынуждены приспосабливаться к ней, мобилизуя свои внутренние защитные ресурсы (Капитонова и др., 2011).

Эффекты влияния гипертермии будут зависеть от длительности, экстремальных значений и оптимума растительного организма. Прямое влияние повышения температуры среды – повышение скорости диффузии и скорости химических реакций, косвенное – изменение структуры макромолекул, в результате которого изменяется активность ферментов, макромолекулы начинают взаимодействовать друг с другом и разрушаться (Пятыгин, 2008).

Как и в случае влияния химического фактора, в первую очередь под влиянием гипертермии нарушается структура мембран вследствие повышения текучести. В результате повышается проницаемость мембран, по градиенту концентрации нужные клетке водорастворимые вещества выходят, тогда как внутрь поступают бесполезные или даже токсичные соединения. Повышение температуры среды оказывает влияние на все мембранные структуры, в том числе митохондрии и хлоропласты. Было выявлено, что при возрастании температуры до  $+30^{\circ}\text{C}$  снижается фотофосфорилирование, при дальнейшем повышении до  $+40^{\circ}\text{C}$  процесс полностью подавляется. Самой чувствительной к физическому

фактору является фотосистема II, тогда как RuБФкарбоксилаза устойчива к действию высоких температур (Кузнецов, 2005).

Компоненты процессов дыхания менее чувствительны к повышению температуры среды, поэтому до определённых температур при снижении активности фотосинтеза возросшая интенсивность дыхания компенсирует недостаток энергии. Однако при +45-52°C в течение нескольких часов окисление и фосфорилирование разобщается, вновь образованных молекул АТФ недостаточно, поэтому энергообмен, рост и развитие замедляются (Кузнецов, 2005; Пятыгин, 2008).

### 1.6. Адаптация растительных организмов к действию гипертермии

Растительные организмы в процессе эволюции выработали механизмы адаптации к высоким температурам (рис. 6). Для защиты от эффектов влияния гипертермии модифицируются хлоропласты, синтезируются и накапливаются белки теплового шока (БТШ), липиды и радикалы, содержащие кислород (Iba, 2002; Suzuki, 2003; Wahid et al., 2007). На организменном уровне адаптация проявляется в снижении объёма клеток, росте их плотности и уменьшении испарения (Пятыгин, 2008; Sung et al., 2003).

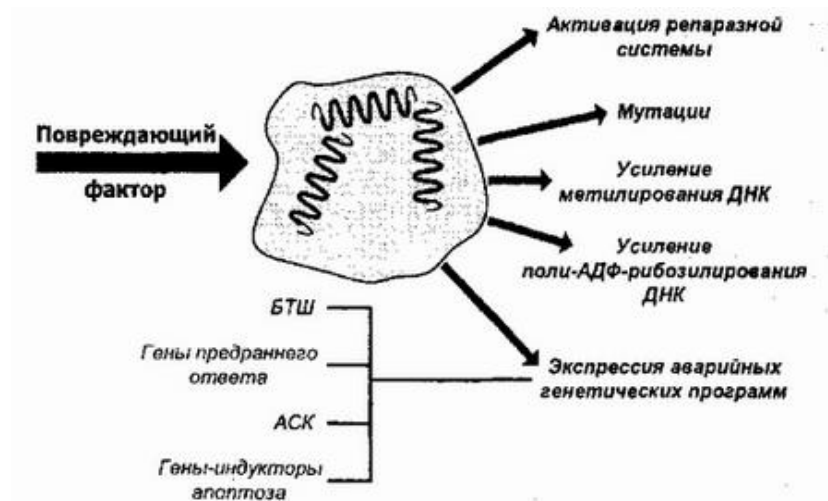


Рис. 6. Схема адаптации растительных организмов к повреждающему действию высоких температур (Кузнецов, 2005).

При повышении температуры среды на 8-10°C выше физиологической нормы растительного организма уже через 15 минут индуцируется синтез БТШ, активно идёт до четырёх часов, а после интенсивность синтеза снижается вследствие истощения пластических и энергетических запасов клетки, растение гибнет (Кулаева, 1997).

Для защитного механизма БТШ характерно действие только на клеточном уровне: стабилизация мембран, макромолекул, органелл. По месту функционирования и молекулярной массе выделяют 5 групп: ядерные, цитозольные, БТШ органелл, высокомолекулярные комплексы и индивидуальные протеолитические БТШ. Последняя группа обеспечивает долговременные механизмы адаптации, способствующие восстановлению растительного организма после прекращения действия экстремальных температур (Лозовская, 1982; Кузнецов, 2005).

В работах отечественных исследователей было показано, что синтез ряда БТШ индуцируется действием различных неблагоприятных факторов: недостаток воды, низкие температуры, засоление. Кроме того, адаптация к эффектам влияния одного фактора повышает устойчивость растительного организма к другим стрессорам (Чиркова, 2002; Титов и др., 2003; Кузнецов, 2005; Чудина и др., 2011, 2013, 2014; Репкина и др., 2014).

### **1.7. Эколого-физиологические реакции растительных организмов на действие гипертермии и химических факторов**

В естественных условиях экологические факторы действуют комплексно, в результате синергетического эффекта значительно изменяются значения ПДК, приведенные в справочниках (Воронков, 1999).

У большинства живых организмов выработан набор адаптаций к периодически изменяющимся экологическим факторам, для неизвестных ранее или быстро меняющихся факторов в некоторых случаях могут быть использованы

преадаптационные механизмы, выработанные ранее к другим факторам (Sahney et al., 2010).

Для большинства высших растений характерна активная адаптация к неблагоприятным факторам на всех уровнях организации (Чиркова, 2002; Яковец, 2010). Оптимум, зоны стресса и пределы устойчивости к различным факторам индивидуальны у каждого вида растений. При достижении фактором пределов выносливости через непродолжительное время растительный организм входит в состояние стресса (Чиркова, 2002). В современной физиологии выделяют три фазы стресса растений:

- 1) фаза первичной индуктивной стрессовой реакции;
- 2) фаза адаптации;
- 3) фаза истощения ресурсов надёжности.

В ходе первой фазы наблюдаются неспецифические эколого-физиологические реакции растительных организмов. Эффекты влияния многих стрессовых факторов различной природы направлены, в первую очередь, на мембранные структуры, в результате которых может изменяться содержание мембраносвязанных белков, как направленное на нейтрализацию негативного эффекта, так и являющееся признаком деградации растительной клетки (Гринштейн, 2001). Плазматическая мембрана первой подвергается действию фактора, в результате которого увеличивается проницаемость и деполяризация мембран, приводящие к ингибированию  $H^+$ -АТФазы. В то же время повышается активность мембранного фермента аскорбинатоксидазы, продукты его катализа запускают защитные механизмы клетки (De Tullio et al., 2004, 2013). Согласно исследованиям Keskinen et al. (2004), внутрикомпаратментное распределение поглощённых ТМ занимает около двух минут.

Снижение активности  $H^+$ -АТФазы приводит к снижению рН цитоплазмы и активации гидролаз, которые усиливают процессы распада биополимеров, в результате будет изменяться содержание водорастворимых и мембраносвязанных белков. Скорость гормонального обмена снижается,

экспрессируются репрессированные гены и синтезируются белки стресса (Курсанов, 1982; Кулаева, 1997; Тарчевский, 2001).

Активация сборки компонентов цитоскелета направлена на повышение вязкости цитоплазмы. Повреждённые действием неблагоприятного фактора белки и липиды вызывают снижение интенсивности фотосинтеза, а чуть позже – и дыхания, в результате уровень АТФ падает. Процессы образования свободных радикалов и ПОЛ, индуцированные эффектами экстремального фактора, приводят к различным последствиям (Тарчевский, 1993; Шакирова, 2001; Рубин, 2005). Такие продукты ПОЛ, как 4-гидроксиалкеналин и малоновый диальдегид (МДА), обладают мутагенной активностью и задерживают клеточное деление. Свободнорадикальное окисление нарушает структуру белков и нуклеиновых кислот (Вадов и др., 2008). Косвенным результатом ПОЛ может быть снижение содержания фотосинтетических пигментов (Горелова и др., 2010) и нарушение водного обмена (Ли и др. 2004). Однако есть данные о том, что продукты ПОЛ – медиаторы стресса, при избытке образования запускающие ответную реакцию растительного организма, результатом которой может быть как морфогенез, так и апоптоз, если адаптация к действию экстремального фактора невозможна (Иванов, 1998; Кулинский, 1999; Ревин, 2002; Гафризянов и др., 2011).

Работа компонентов ферментативной антиоксидантной системы (АОС) определяется местом накопления АФК. Изменение активности ферментов-антиоксидантов было показано в условиях засухи, засоления, действия высоких и низких температур, УФ-облучения и других стрессовых факторов (Лукаткин и др., 1988; Лукаткин, 2002, 2003; Максимов и др., 2006; Колупаев и др., 2008; Леи, 2008; Махдавиан и др., 2008; Ху и др., 2008).

В течение второй фазы растительный организм действует по одной из стратегий адаптации – пассивной или активной, конечным результатом которой должна быть защита от влияния неблагоприятного фактора (Грабельных, 2005). Пассивная адаптация связана с понижением уровня интегрированности вследствие энергетического субсидирования и оптимальна для систем, состоящих из низко специализированных подсистем, которые могут функционировать

независимо друг от друга. На уровне растительного организма пассивная адаптация может проявляться в виде увеличения числа более тонких стволов, стеблей или мелких листьев, что приводит к снижению антропогенной нагрузки на единицу растительной массы. Активная адаптация связана с повышением уровня интегрированности вследствие энергетического девальвирования. Кроме того, реакцией растительного организма на действие неблагоприятного фактора может быть падение уровня энергообмена на фоне снижения целостности структур всех уровней и последующая гибель (Брагинский, 1998; Жиров и др., 2006).

При благоприятном течении фазы адаптации у растительных организмов процессы синтеза преобладают над процессами гидролиза. В результате стабилизации мембран восстанавливается работа ионного транспорта, митохондрий и хлоропластов. Деятельность АОС приводит к снижению АФК (Тарчевский, 1993; Битюцкий, 1998; Шакирова, 2001).

Длительное действие экстремального фактора или отсутствие у растительного организма к нему адаптаций приводит к развитию фазы истощения, характеризующейся прогрессирующим нарушением структуры хлоропластов и митохондрий, образованием дополнительных вакуолей для нейтрализации продуктов обмена и деструкцией ядра. Недостаток энергии влечёт за собой необратимые изменения, ведущие к гибели растительной клетки (Тарчевский, 1993; Шакирова, 2001).

Иногда выделяют четвёртую фазу – фазу регенерации, для которой характерны реакции растительного организма после окончания действия неблагоприятного фактора. Важно отметить, что эколого-физиологические реакции данной фазы отличаются от реакций фазы адаптации вследствие определённого истощения растения (Ипатова, 2005).

Так как при кратковременном влиянии неблагоприятного фактора для растительного организма характерны неспецифические реакции, а при длительном – специфические, то адаптация к действию одного экстремального фактора может привести к изменению устойчивости к другому неблагоприятному

фактору. Данную адаптацию обозначают «перекрёстной», сопряжение может быть как положительным, так и отрицательным (Чиркова, 2002; Титов и др., 2003; Чудина и др., 2011, 2013, 2014; Репкина и др., 2014).

Экологическая пластичность растений определяется комплексом морфо-физиологических приспособлений. Одним из таких адаптационных механизмов является перестройка и изменение структуры хлоропластов. В результате изменяется соотношение пигментов в системе, а количественные изменения: соотношение пула зелёных и желтых пигментов – может быть надёжным диагностическим показателем нарушения состояния растительной клетки (Адрианова и др., 2005; Головко, 2005; Рубин, 2005; Чупахина и др., 2012; Танайлова и др., 2014).

Абсолютное количество пигментов – наследственно обусловленная величина, связанная со структурно-анатомическими особенностями листьев конкретного вида. Однако условия произрастания оказывают влияние на функционально значимые показатели пигментного аппарата: доля хлорофиллов в светособирающем комплексе (ССК), отношение хлорофилла  $a/b$ , отношение зелёных и жёлтых пигментов. Согласно литературным данным, для высших водных растений умеренного пояса характерно невысокое содержание пигментов (1-3 мг/г сырого материала), высокое содержание доли хлорофиллов в ССК (около 68%), в то время как отношение хлорофилла  $a/b$  довольно низкое и редко превышает 2,7 (Ронжина и др., 2004; Шерстнёва, 2004). Количество и соотношение пигментов в тканях растений определяется их физиологическим состоянием и изменениями в процессе роста, развития и при влиянии стрессовых факторов (Стржалка и др., 2003; Ishikita et al., 2006; Головко и др., 2008; Маслова и др., 2009).

Следует отметить, что биохимические методы позволяют обнаружить изменения в обмене веществ растительного организма раньше, чем влияние неблагоприятного фактора вызовет физиологические, морфологические и другие отклонения от нормы (Моисеенко и др., 2010). Динамика ключевых ферментов АОС – пероксидазы и каталазы – эколого-физиологическая реакция растительных



организмов на окислительный стресс, эффективность работы системы – залог успешной адаптации растения к действию неблагоприятного фактора (Гудков и др., 2014).

Эколого-физиологические реакции, связанные с изменением динамики аскорбинатоксидазной и полифенолоксидазной активности будут отражать скорость реакции растительного организма на действие фактора, интенсивность дыхания клеток и синтез соединений, предохраняющих от повреждения мембраны (Метлицкий, 1996; Рубин, 2005; De Tullio et al., 2004; Чупахина, 2012; De Tullio et al., 2013)

На экосистемном уровне в пределах выносливости действия фактора есть механизмы преадаптаций, позволяющих сохранять стабильное состояние экосистемы. При выходе силы действия фактора за пределы выносливости или при действии факторов, ранее не известных экосистеме, происходит изменение её структуры и функций. Устойчивость водных экосистем в условиях действия дестабилизирующего химического фактора будет определять: адаптивность к разнообразию факторов окружающей среды; структурное и функциональное изобилие в экосистемах; способность к самоочищению (Моисеенко и др., 2012). Согласно исследованиям Остроумова О.А. (2005), одной из фундаментальных функций биоты в самоочищении воды и поддержании ее качества является секвестрационная функция, заключающаяся в изъятии из водной среды загрязняющих веществ и биогенов микроорганизмами, водорослями, макрофитами и беспозвоночными. Вследствие этого актуально изучение пределов выносливости макрофитов и механизмов их устойчивости к действию химических факторов.

На данный момент изучено индивидуальное влияние гипертермии и химических факторов на высшие растения, были проведены эксперименты по исследованию возможности реабилитации водных растений от индивидуального влияния стрессового фактора. Комбинированное действие стрессовых факторов изучено недостаточно, исследование постстрессового периода не проводилось.

## Глава 2. Материалы и методы исследования

### 2. 1. Характеристика объекта исследования

*Объектом* исследования был выбран пресноводный макрофит роголистник тёмно-зелёный погруженный (*Ceratophyllum demersum* L.), принадлежащий к семейству роголистниковых (*Ceratophyllaceae*), порядку роголистникоцветных (*Ceratophyllales*), подклассу магнолиид (*Magnoliidae*), классу двудольных (*Dicotyledones*). *C. demersum* L. собирали в верховьях р. Сок и культивировали в лаборатории. Роголистник – многолетнее растение, свободно стелющееся под водной поверхностью или укореняющееся в грунте, с длинным облиственным, разветвленным, жестким стеблем, который содержит кремнезём, очень ломким. Листья круглые, мелко рассечённые, 1-2 вильчатые, сидячие, содержат известь, расположены в мутовках по 6-12 штук. Все части растений покрыты кутикулой (Konemann, 2006). Произрастает в условиях широкого диапазона температур (4-30°C) в озёрах и старицах, реках с медленным течением. *C. demersum* является растением-концентратором (Keskinan et al., 2004; Mishra et al., 2006), может применяться в доочистке сточных вод, часто используется в опытах из-за высоких показателей роста и хорошей приспособленности к искусственным условиям выращивания.

### 2.2. Схема эксперимента

Эксперимент проводился в лабораторных условиях при одинаковой интенсивности и регулярности светового потока. Для этого в опыте была использована комбинация люминесцентных ламп и установлен постоянный период освещения, равный 18 ч.

В ходе эксперимента растения были разделены на группы, отличающиеся средой выращивания (табл. 4). Контрольная группа растений находилась в среде отфильтрованной водопроводной воды, +20°C, опытные инкубировались в присутствии различных комбинаций гипертермии и поллютантов: раствор ацетата

свинца с концентрацией ионов свинца 100 мкМоль/л, 1% раствор катионных СПАВ в составе ополаскивателя для белья «Дося» (прил. 1).

Таблица 4

## Экспериментальные группы растений

Экспериментальные группы	Среда выращивания
1 группа – контроль	Отфильтрованная водопроводная вода, +20°C
2 группа	100 мкМоль/л ионов свинца, +20°C
3 группа	1% раствор катионных СПАВ, +20°C
4 группа	Отфильтрованная водопроводная вода, +36°C
5 группа	100 мкМоль/л ионов свинца + 1% раствор катионных СПАВ, +20°C
6 группа	100 мкМоль/л ионов свинца, +36°C
7 группа	1% раствор катионных СПАВ, +36°C
8 группа	100 мкМоль/л ионов свинца + 1% раствор катионных СПАВ, +36°C

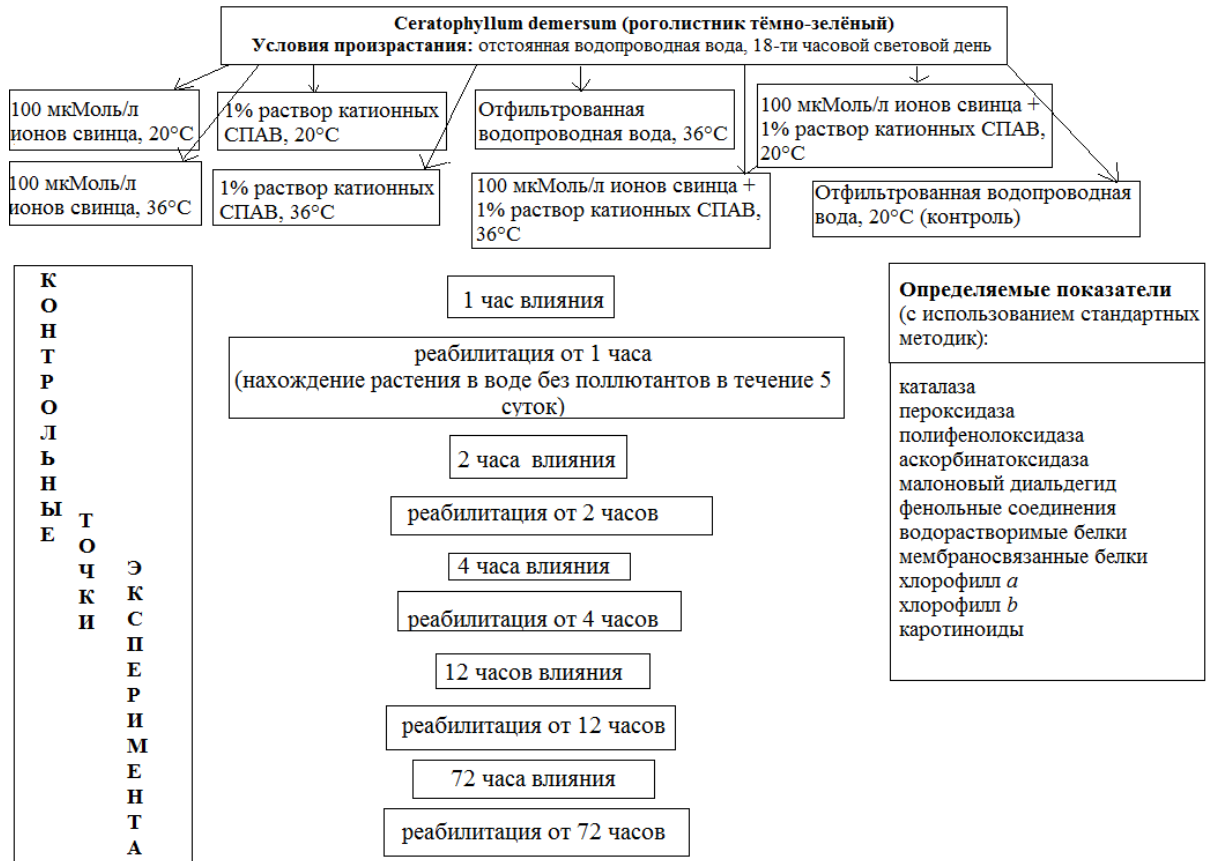
На основании результатов исследований отечественных и зарубежных учёных (Helenius et al., 1975; Капитонова и др., 2001; Серёгин и др., 2001; Малёва и др., 2003; Некрасова и др., 2009; Косицына и др., 2010; Мурзин и др., 2010, 2011) было выявлено, что наиболее значимые эколого-физиологические реакции у водных растений развиваются при концентрации ионов свинца 100 мкМоль/л и при влиянии 1% раствора катионных СПАВ, при более высоких концентрациях макрофиты гибнут. Выбор температуры +36°C обусловлен сходными условиями в водоёмах-охладителях АЭС и ТЭЦ (Капитонова, 2011), часто загрязнёнными ТМ и СПАВ. Кроме того, выбранные концентрации поллютантов и температура позволяют сравнивать полученные данные с результатами других исследователей.

Непосредственно перед началом исследований фрагменты растений длиной до 50 мм, считая от точки роста, помещали в стеклянные емкости объемом 1 дм<sup>3</sup>.

На основе работ последних лет в области стресса растений (Тарчевский, 1993; Чиркова, 2002; Ипатова, 2005) были определены контрольные точки эксперимента (табл. 5), которые отражают протекания фаз стрессовой реакции.

Таблица 5.

## Схема эксперимента



Так первые сутки соответствуют первичной индуктивной стрессовой реакции у большинства растений, для более полной картины замеры были сделаны через 1, 2, 4 и 12 часов влияния. Третьи сутки (72 часа влияния) отражают картину второй фазы стресса – фазы адаптации, пятые сутки реабилитации – фазы регенерации.

Каждый эксперимент повторяли пять раз. Аналитические измерения ферментативной активности и содержания фотосинтетических пигментов, малонового диальдегида, фенольных соединений, водорастворимых и мембраносвязанных белков проводили трижды. Полученные данные обрабатывали в программе Excel методами параметрического анализа и

учитывали отличие опытных значений от контрольных, за критерий достоверности брали  $p \leq 0,05$ .

### 2.3. Определение пероксидазной активности

Определение пероксидазной (ПО) активности осуществляли общепринятым методом по Бояркину А.М. Метод основан на определении скорости реакции окисления бензидина до образования синего продукта окисления определенной концентрации (Бояркин, 1951).

Навеску растительного материала 0,2-0,5 г тонко растирали на холоду в фарфоровой ступке с добавлением 25 мл дистиллированной воды и песком, переносили в колбу и доводили объём водой до 50 мл, настаивали 10 минут на холоду. Центрифугировали 6 минут (7000 об/мин.), надосадочную жидкость разводили в четыре раза и использовали для определения ферментативной активности.

В две стеклянные кюветы рабочей длиной 2 см вносили 2 мл ферментной вытяжки, 2 мл 0,2 М ацетатного буфера рН 5,4, 2 мл бензидина (0,92 г/л в ацетатном буфере). Измерение проводили при 590 нм в следующей последовательности. В контрольную кювету вносили 2 мл дистиллированной воды и выставляли ноль на КФК-3, в опытную вносили 2 мл 0,03% раствора пероксида водорода и замеряли время, за которое оптическая плотность достигнет 0,125. Пероксидазную активность вычисляли по формуле:

$$A = (D \cdot a \cdot b \cdot v) / (c \cdot t),$$

где А – пероксидазная активность, ед./г<sub>навески</sub> \* л \* сек,

D – оптическая плотность, равная 0,125,

a – отношение количества жидкости, взятой для приготовления вытяжки к массе сырой ткани, г/мл,

b – степень дополнительного разведения вытяжки, равная 4,

v – степень постоянного разведения в кювете, равная 4,

c – рабочая длина кюветы, 2 см,

t – время (с).

## 2.4. Определение каталазной активности

Исследование каталазной активности проводили по методу Королюк М.А. и Ивановой Л.И. (Королюк и др., 1988), основанному на определении скорости реакции по снижению концентрации перекиси водорода, образующей жёлтоокрашенное соединение с молибдатом аммония.

Растительный материал (0,5 г) растирали в ступке с водой и песком, переносили в колбу на 50 мл. Настаивали 10 минут, после чего центрифугировали (6000 об./мин., 7 минут). Надосадочную жидкость использовали для исследований.

В 10 чистых сухих пробирок вносили по 2 мл 0,03% раствора перекиси водорода. Затем запускали реакцию добавлением в 5 опытных пробирок 0,1 мл препарата каталазы. Одновременно ставили холостую пробу: в 5 чистых сухих пробирок вносили 2 мл 0,03% раствора перекиси водорода и 0,1 мл дистиллированной воды. Реакцию останавливали через 10 минут добавлением 1 мл 4% раствора молибдата аммония. Интенсивность окраски измеряли на длине волны 410 нм (КФК-3, толщина кюветы 0,5 см) против контроля на реактивы (2 мл дистиллированной воды, 0,1 мл исследуемой жидкости, 1 мл 4% молибдата аммония). Активность каталазы определяли по формуле:

$$A = (E_k - E_n) / (V * t * \xi),$$

где A – каталазная активность, нкат/л,

$E_k$  – оптическая плотность холостой пробы,

$E_n$  – оптическая плотность опытной пробы,

V – объём исследуемой жидкости, 0,1 мл,

t – время, 600 секунд,

$\xi$  – молярный коэффициент экстинкции,  $22,2 * 10^3 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ .

## 2.5. Определение полифенолоксидазной активности

Полифенолоксидазную (ПФО) активность определяли спектрофотометрическим методом, который основан на измерении оптической

плотности продуктов реакции, образовавшихся при окислении пирокатехина за определённый промежуток времени (Ермаков и др., 1972).

Навеску растительного материала 0,2-0,5 г растирали на холоду с добавлением полиамида (0,1-0,5 г), песка и 0,1 М фосфатного буфера рН 7,4, переносили в колбу на 25 мл, центрифугировали 7 минут (7000 об./мин.).

В две кюветы вносили 0,5 мл вытяжки, 2 мл 0,1 М фосфатного буфера рН 7,4. В контрольную кювету добавляли 0,5 мл дистиллированной воды и выставляли ноль на КФК-3, в опытную – 0,5 мл 0,05 М раствора пирокатехина и измеряли оптическую плотность каждые 20 секунд в течение 2 минут при длине волны 420 нм. Активность полифенолоксидазы определяли по формуле:

$$A = ((D_2 - D_1) * V * V_2 * 60) / ((t_2 - t_1) * V_1 * m),$$

где А – полифенолоксидазная активность, отн. ед./г<sub>навески</sub>\*мин,

D<sub>1</sub> – начальная оптическая плотность,

D<sub>2</sub> – конечная оптическая плотность,

V – общий объём ферментативной вытяжки, 25 мл,

V<sub>1</sub> – объём вытяжки в кювете, 0,5 мл,

V<sub>2</sub> – общий объём жидкости в кювете, 3 мл,

t<sub>2</sub> и t<sub>1</sub> – начальное и конечное время, с.,

60 – коэффициент перевода в минуты,

m – масса навески.

## 2.6. Определение аскорбинатоксидазной активности

Аскорбинатоксидазную (АО) активность определяли по методу, предложенному Асамовым Д.К., Рахимовой С.Т., основанному на свойстве аскорбиновой кислоты поглощать свет с максимумом при длине волны 265 нм. О ферментативной активности судили по уменьшению величины оптической плотности, учитывая, что степень окисления аскорбиновой кислоты пропорциональна количеству фермента (Ермаков и др., 1987).

Навеску растительного материала растирали на холоду в фарфоровой ступке, переносили в колбу (25 мл) с помощью охлаждённого 0,2 М фосфатного буфера рН 7,4, фильтровали на холоду.

В две кварцевые кюветы вносили 0,1 мл  $5 \cdot 10^{-3}$  М сульфата магния, 2 мл 0,2 М фосфатного буфера рН 7,4, 0,1 мл вытяжки, 0,1 мл  $5 \cdot 10^{-3}$  М соляной кислоты. В контрольную кювету добавляли 0,7 мл дистиллированной воды и выставляли ноль на спектрофотометре при длине волны 265 нм. В опытную кювету вносили 0,7 мл  $5 \cdot 10^{-3}$  М аскорбиновой кислоты и измеряли оптическую плотность каждые 30 секунд в течение 1-2 минут. Расчёт активности аскорбинатоксидазы делали по формуле:

$$A = ((D_1 - D_2) \cdot V \cdot V_2 \cdot 60) / ((t_2 - t_1) \cdot V_1 \cdot m),$$

где А – аскорбинатоксидазная активность, ед. оптической плотности,

$D_1$  – начальная оптическая плотность,

$D_2$  – конечная оптическая плотность,

V – общий объём ферментативной вытяжки, 25 мл,

$V_1$  – объём вытяжки в кювете, 0,1 мл,

$V_2$  – общий объём жидкости в кювете, 3 мл,

$t_2$  и  $t_1$  – начальное и конечное время, с.,

60 – коэффициент перевода в минуты,

m – масса навески.

## **2.7. Определение содержания водорастворимых и мембранносвязанных белков**

Определяли содержание водорастворимых белков по методу Bradford M.M. (Bradford, 1976). Принцип метода экстракции белков из растительной ткани основан на способности некоторых буферных растворов растворять белки из тканей или органов растений. Этот метод обеспечивает получение экстрактов, выделенных в мягких условиях, при которых сохраняется природная структура белковых молекул.



Для выделения препаратов белков использовали пробы, предварительно, взвешенные на аналитических весах. Пробы тщательно растирали в фарфоровой ступке с 2 мл дистиллированной воды на холоду, после чего разбавляли полученную массу до 5 мл с ополаскиванием ступки и пестика для извлечения в раствор максимального количества гомогената. Центрифугировали 15 минут (8000 об/мин.). Супернатант в последствие аккуратно (чтобы не поднять осадок) переносили в пробирки и доводили до 10мл для дальнейшего анализа.

После экстракции водорастворимых белков к осадку приливали по 10 мл 0,3% раствора тритона X-100, перемешивали, выдерживали сутки для наиболее полной экстракции мембранносвязанных белков. После этого пробы центрифугировали. Супернатант, содержащий экстракт мембранносвязанных белков, анализировали по методу Bradford M.M. (Bradford, 1976).

Метод основан на связывании с белками одного из кислых красителей кумасси синего (*Coomassie brilliant blue*), выпускаемого в двух модификациях R-250 и G-250. При связывании с белками спектр поглощения красителя меняется.

Смешивали 1 мл анализируемого раствора белков с 5 мл раствора красителя (в случае измерения мембранносвязанных белков 0,2 мл). Через 3-5 мин измеряли оптическую плотность на фотометре КФК-3 при длине волны равной 595 нм, используя в качестве контроля пробу, не содержащую белков.

Определение количества белков в пробе проводились по построенным калибровочным графикам (прил. 2, 3).

Стандартный раствор бычьего альбумина концентрацией 1000 мг/л разводился в мерных колбах разбавлением для получения растворов следующих концентраций 12,5, 25, 50 и 100 мкг/мл (и 50, 200, 1000 мкг/мл в случае построения калибровки для мембранносвязанных белков). Приготовление калибровочных графиков и построение кривой проводили в 3х повторях. Для калибровки мембранносвязанных белков стандартный раствор HSA готовился на 0,3% растворе тритона X-100. В соответствии с полученными по описанной выше методике оптическими плотностями окрашенных проб, строили график зависимости оптической плотности от количества белка в пробе.

## 2.8. Определение содержания фотосинтетических пигментов

В растительных тканях исследовали содержание фотосинтетических пигментов по методу Брагинского Л.П. (количественное определение пигментов основано на определении оптической плотности пигментов на длинах волн, являющихся максимумами их поглощения) (Бриттон, 1986).

Для извлечения пигментов из растительных тканей использовали ацетон. Для этого каждый экземпляр растения, растертый до состояния кашицы, помещался в одинаковые колбочки, содержащие 10 мл предварительно охлажденного растворителя. Смесь тщательно перемешивали и отфильтровывали. Фильтрат, содержащий выделенные пигменты, разбавляли до 10 мл. Оптическая плотность готового раствора анализировали на фотометре КФК-3 при разных длинах волн (440,5; 644; 662 нм), ноль выставляли по чистому растворителю (ацетон).

Концентрации пигментов рассчитывают по следующим формулам

( $C$  — концентрация,  $D$  — оптическая плотность):

$$C_{\text{хл } a}, \text{ мг/л} = 9,784 D_{662} - 0,990 D_{644};$$

$$C_{\text{хл } b}, \text{ мг/л} = 21,426 D_{644} - 4,650 D_{662};$$

$$C_{\text{кар}}, \text{ мг/л} = 4,695 D_{440,5} - 0,268 (C_{\text{хл } a} + C_{\text{хл } b}),$$

где  $C_{\text{хл } a}$ ,  $C_{\text{хл } b}$  и  $C_{\text{кар}}$  — концентрация хлорофилла  $a$ , хлорофилла  $b$  и каротиноидов соответственно.

Содержание хлорофиллов в растении в расчёте на 1г массы растения было рассчитано в соответствии с равенством:

$$N, \text{ мг/г} = V \cdot C / m,$$

где  $N$  — содержание соответствующего пигмента,

$C$  — его концентрация, мг/л,

$V$  — объём вытяжки,

$m$  — масса навески, г.

## 2.9. Определение содержания малонового диальдегида

В тканях исследованных растений определяли содержание малонового диальдегида (МДА) по методу Лукаткина А.С. и Головановой В.С. (Лукаткин и др., 1988).

Навеску 0,2-0,6 г растительного материала растирали в охлаждённой ступке с 20 мл среды выделения (0,1 М трис-НСl буфер рН 7,6 с добавлением 0,35 М хлорида натрия). Отбирали 5-6 повторностей по 3 мл в пробирки. Добавляли по 2 мл 0,5 % ТБУ в 20% ТХУК, инкубировали на кипящей водяной бане 30 минут вместе с контролем (3 мл среды выделения + 2 мл 0,5 ТБУ в 20% ТХУК). Отфильтровывали и измеряли оптическую плотность на спектрофотометре при длине волны 532 нм.

Расчёт накопления МДА вели по формуле:

$$C=D/(\xi * l * m),$$

где D – средняя оптическая плотность, мкМоль/ г сырого материала,

$\xi$  – коэффициент молярной экстинкции,  $1,56 * 10^5 \text{ см}^{-1} \text{ М}^{-1}$

l – толщина кюветы, 1 см,

m – масса навески.

## 2.10. Определение содержания фенольных соединений

Содержание растворимых фенольных соединений определяли по методу Swain J., Hillis W.E. (Swain et al, 1959).

Навеску растительного материала 0,2-0,5 г растирали на холоду в фарфоровой ступке, добавляли 5 мл дистиллированной воды, фильтровали, делали 3-5 повторов.

К 6 мл вытяжки добавляли 2 капли раствора Фолина-Чокальте, перемешивали, добавляли 2 капли 30% гидроксида натрия, через 10 минут измеряли оптическую плотность при длине волны 590 нм на КФК-3, содержание фенольных соединений определяли по калибровке, мг/л. Калибровку строили по спиртовому раствору бензола (прил. 4).

### Глава 3. Результаты исследования и их обсуждение

В ходе проведенных нами исследований были выявлены временные интервалы протекания фаз стресса у растений *C. demersum*. В первые сутки влияния факторов (0-12 часов) развивалась фаза первичной стрессовой индукции, по своим эколого-физиологическим характеристикам не зависящая от природы действующего фактора (рис. 7).

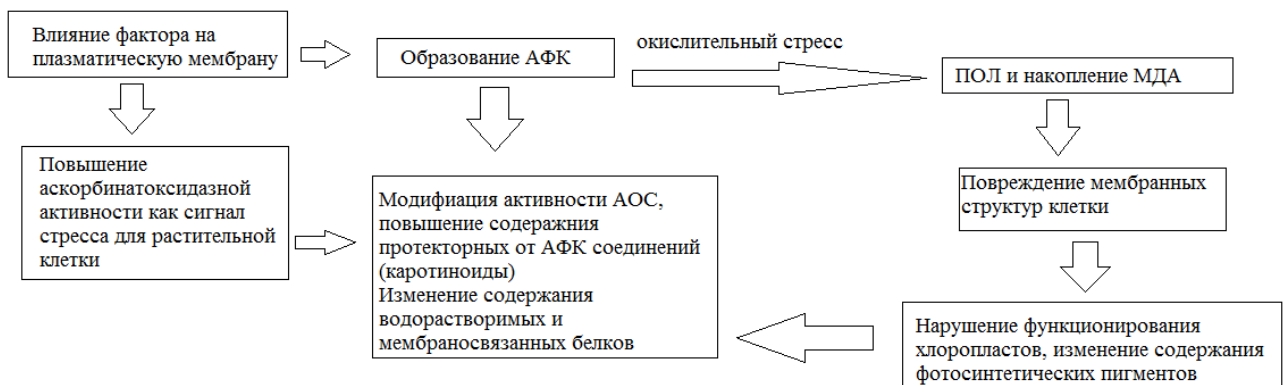


Рис. 7. Общая схема протекания фазы первичной стрессовой индукции.

В фазу адаптации (12-72 часа) у растений *C. demersum* протекают эколого-физиологические реакции, направленные на защиту и восстановление компонентов клетки, повреждённых специфическим действием негативного фактора. Фаза реабилитации, протекающая после исключения действия фактора, отражает возможность макрофитов возвращаться к исходному состоянию эколого-физиологических характеристик.

#### 3.1. Влияние ионов свинца на эколого-физиологические характеристики *C. demersum*

В ходе проведенных нами исследований было выявлено, что растения *C. demersum* испытывают стресс в ответ на действие ионов свинца. После 12 часов инкубации в среде с поллютантом у макрофитов наблюдались признаки хлороза, которые нарастали с увеличением экспозиции. (прил. 5). Измерение морфометрических показателей – длина и вес растения, – не выявило

достоверных различий между опытными и контрольными группами на протяжении всего эксперимента.

Динамика содержания фотосинтетических пигментов, показатель фотосинтетической активности листьев (отношение хлорофилла  $a/b$ ), доля хлорофиллов в светособирающем комплексе (ССК) отражены в таблице 6.

Таблица 6

Влияние 100 мкМоль/л ионов свинца на содержание пигментов, отношение хлорофилла  $a/b$  и долю хлорофиллов в ССК в тканях *C. demersum* в условиях инкубации и реабилитации

	Содержание хлорофилла $a$ , мг/г сырого материала	Содержание хлорофилла $b$ , мг/г сырого материала	Содержание каротиноидов, мг/г сырого материала	$a/b$	(хл $a$ + хл $b$ )/ каротиноиды	доля хлорофиллов в ССК, %
Контроль	1,350	0,500	0,281	2,70	6,583	59
1 час инкубации	1,620*	0,465	0,214*	3,48	9,763	49
2 часа инкубации	1,121*	0,420	0,365*	2,67	4,217	60
4 часа инкубации	1,121*	0,395	0,191*	2,84	7,931	57
12 часов инкубации	0,878*	0,340*	1,040*	2,58	1,171	61
72 часа инкубации	2,255*	0,710*	0,166*	3,17	17,881	53
Контроль	1,300	0,520	0,271	2,50	6,716	63
Реабилитация от 1 часа	1,157	0,333*	0,298	3,48*	4,998	49
Реабилитация от 2 часов	1,482*	0,811	0,190	1,82	12,089	77*
Реабилитация от 4 часов	1,144	0,447	0,238	2,56	6,672	61
Реабилитация от 12 часов	1,313	0,556	0,585*	2,36	3,194	65
Реабилитация от 72 часов	0,403*	0,156*	0,350*	2,58	1,599	61

\* обозначены статистически значимые различия опыта с контролем ( $p < 0,05$ ).

В фазу первичной стрессовой индукции, соответствующей первым 12 часам инкубации в среде с добавлением 100 мкМоль/л ионов свинца содержание

пигментов в тканях растений опытной группы было ниже, чем показатели контрольной группы растений: содержание хлорофилла *a* на 35%, хлорофилла *b* – на 32%, тогда как содержание каротиноидов в 3,7 раза было выше показателя контрольной группы. После 72 часов инкубации в среде поллютанта содержания фотосинтетических пигментов опытной группы растений превышало показатели контрольной (содержание хлорофилла *a* в 1,7 раза, хлорофилла *b* – в 1,4), тогда как содержание каротиноидов в тканях растений опытной группы было на 40% ниже, чем показатель контрольной группы растений.

В период реабилитации от влияния ионов свинца содержание пигментов в тканях опытной группы растений превышало значения показателей контрольной группы: содержание хлорофилла *a* – в 1,5, каротиноидов – в 1,3-2 раза. Аналогичные данные получены в сходных работах отечественных (Косицына и др., 2010) и зарубежных авторов (Ghani, 2010; Wang et al., 2011).

Отношение хлорофилла *a/b* в тканях растений опытной группы было выше показателя контрольной группы на 39% в период реабилитации от одночасового влияния ионов свинца, в этот же период доля хлорофиллов в ССК составила 77% от контрольных показателей.

Степень воздействия стрессового фактора можно определять по изменению отношения хлорофилла *a/b*. При повышении показателя снижается функция антенных комплексов фотосистемы II (Лисицын, 2012). Согласно исследованиям Караваева В.А. и др. (2001) даже при больших концентрациях ионов ТМ отношение хлорофилла *a/b* практически не изменяется, что указывает на неизменность стехиометрического соотношения между комплексами реакционных центров фотосистем.

Токсическое действие ионов свинца в фазу первичного индуктивного стресса привело к снижению содержания фотосинтетических пигментов (хлорофилла *a* и *b*) и повышению содержания каротиноидов. Предположительно, это связано с неблагоприятным влиянием ионов свинца на фотосинтез, приводящим к нарушению ультраструктуры хлоропластов, ингибирующим синтез пигментов и ферментов цикла Кальвина (Stobart et al., 1985; Vavilin et al., 1995).

Сокращение содержания хлорофилла возможно из-за ингибирования свинцом фермента синтеза хлорофилла –  $\gamma$ -аминолевуленатдегидратазы (Prasad et al., 1987), повреждения гран и стром хлоропластов (Rebecchini et al., 1974), нарушения поглощения необходимых элементов, таких как марганец и железо, повреждения фотосинтетического аппарата или разрушения хлорофилла через увеличение активности хлорофиллазы (Sharma et al., 2005), а также через замедление реакций пластоциана (Kimimura et al., 1972). Повышенное содержание каротиноидов, вероятно, связано с тем, что данные пигменты являются наиболее распространенным и активным метаболитом живых организмов, участвующим в системе защиты клеток от воздействия факторов внешней среды (Красиков и др., 2013).

На наш взгляд, увеличение содержания фотосинтетических пигментов после 72 часов инкубации в среде с ионами свинца обусловлено такими адаптационными реакциями растительного организма, как стабилизация повреждённых мембран и энергетическое субсидирование, связанное с усиленной работой хлоропластов и митохондрий (Брагинский, 1998; Жиров и др., 2006). Важно отметить, что содержание продуктов ПОЛ в тканях растений опытной группы было в 3,3 раза ниже, чем в тканях растений контрольной группы (рис. 9б).

Динамика содержания водорастворимых и мембраносвязанных белков отражена на рис. 8. До 4 часа эксперимента наблюдалось понижение содержания пула водорастворимых белков в 3-5 раз в тканях опытных растений (рис. 8а), однако к 12 часу инкубации достоверных отличий между показателями не было, что может указывать на более короткую продолжительность стадии первичной стрессовой индукции в отношении содержания водорастворимых белков по сравнению с содержанием пигментов. Содержание мембраносвязанных белков в 1,7 раз было ниже к 12 часу эксперимента, чем показатель контрольной группы растений (рис. 8б). В фазу адаптации содержание водорастворимых белков опытной группы растений в 1,5 раза было выше контрольных показателей, что отражает процессы синтеза, характерные для данного этапа, в то время как

содержание мембранносвязанных белков в тканях растений опытной группы составило 72% от показателей контрольной группы, сходные данные были получены в работах Мурзина И.Р. и др. (2011).

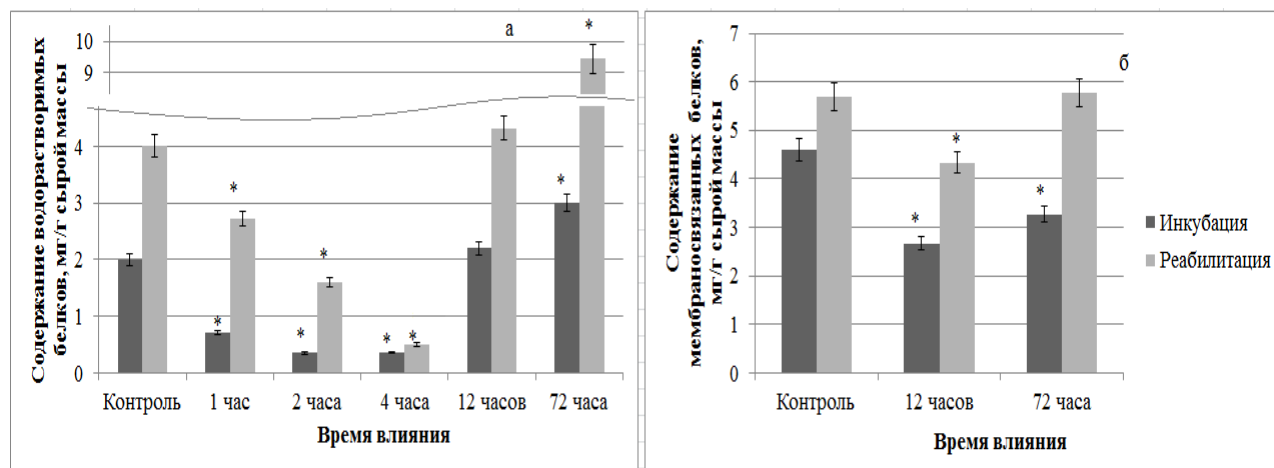


Рис. 8. Динамика содержания водорастворимых (а) и мембранносвязанных (б) белков в тканях *C. demersum* в условиях инкубации с добавлением 100 мкМоль/л ионов свинца с последующей реабилитацией;

\* обозначены статистически значимые различия опыта с контролем ( $p < 0,05$ ).

Содержание водорастворимых белков в период реабилитации от 72-х часовой экспозиции в 2,4 раза превысило показатель контрольной группы растений (рис. 8а), содержание мембранносвязанных белков достоверно не отличалось от контрольных показателей (рис. 8б).

Динамика содержания фенольных соединений и МДА представлена на рис. 9. На протяжении инкубации в среде с ионами свинца и реабилитации от эффектов влияния ТМ достоверных различий содержания фенольных соединений в опытной и контрольной группе выявлено не было.

В фазу первичной стрессовой индукции содержание МДА в тканях опытной группы было выше показателя контрольной группы растений в 1,5 раза, в фазу адаптации показатель опытной группы был ниже показателя контрольной в 3,3 раза. МДА – токсичный продукт свободно-радикального окисления, накопление которого отражает устойчивость растительного организма к внешним воздействиям (Винокурова и др., 2013).



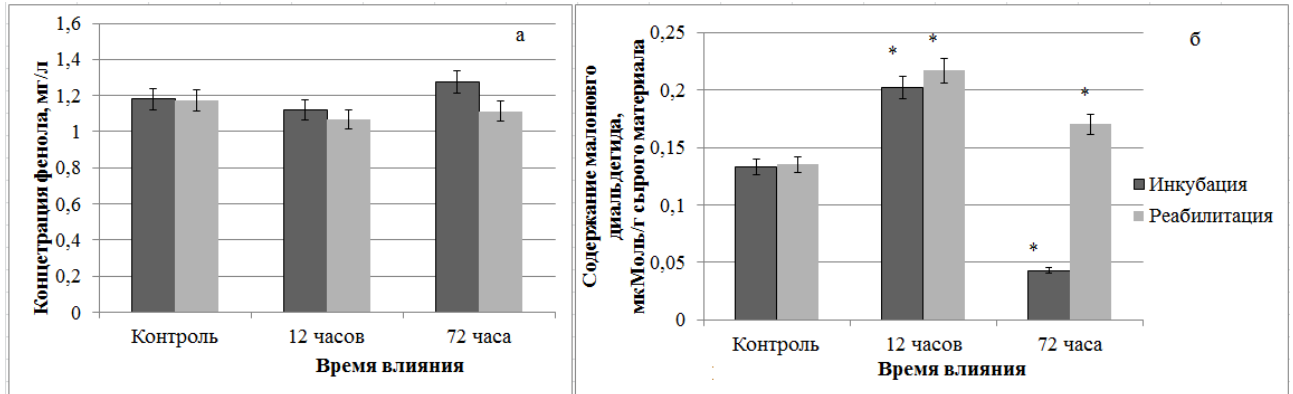


Рис. 9. Динамика содержания фенольных соединений (а) и малонового диальдегида (б) в тканях *C. demersum* в условиях инкубации с добавлением 100 мкмоль/л ионов свинца с последующей реабилитацией;

\* обозначены статистически значимые различия опыта с контролем ( $p < 0,05$ ).

Согласно полученным данным можно заключить, что в фазу первичной стрессовой индукции преобладают процессы катаболизма и деградации, в результате которых накапливается МДА, как один из продуктов ПОЛ. Однако в фазу адаптации компоненты АОС утилизируют продукты перекисного окисления, о чем свидетельствует снижение содержания МДА. Следует отметить, что в период реабилитации уровень МДА опытной группы был выше показателя контрольной в 1,3-1,6 раза, что указывает на незаконченность восстановительных процессов в тканях *C. demersum* и недостаточность пяти суток для реабилитации макрофита от влияния 100 мкмоль/л ионов свинца.

Динамика ферментативной активности представлена на рис. 10, 11. В фазу первичной стрессовой индукции на фоне повышенного содержания МДА каталазная и ПО активность опытной группы растений была ниже показателей контрольной группы в 2,6 раза, АО и ПФО активность была выше значений показателей контрольной группы в 3,9 раза и 1,5 раза соответственно.

На третьи сутки влияния ионов свинца, соответствующие фазе адаптации, ПО активность опытной группы растений была ниже показателей контрольной группы в 1,7 раза (рис. 10б), в то время как АО и ПФО активность опытной группы превысила показатели контрольной в 2,1 раза (рис. 11).

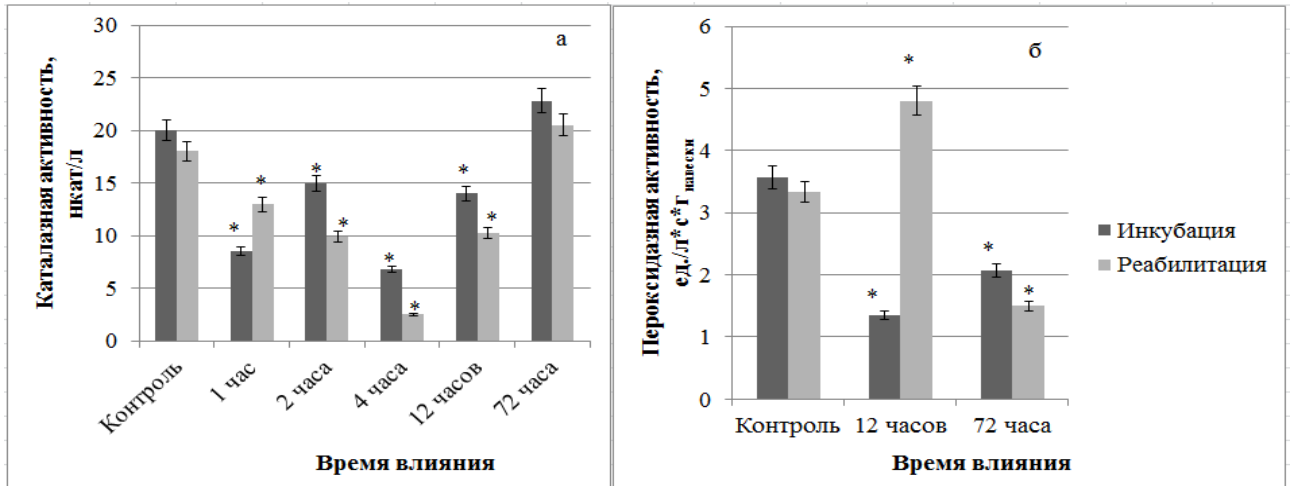


Рис. 10. Динамика каталазной (а) и пероксидазной (б) активности в тканях *C. demersum* в условиях инкубации с добавлением 100 мкМоль/л ионов свинца с последующей реабилитацией; \* обозначены статистически значимые различия опыта с контролем ( $p < 0,05$ ).

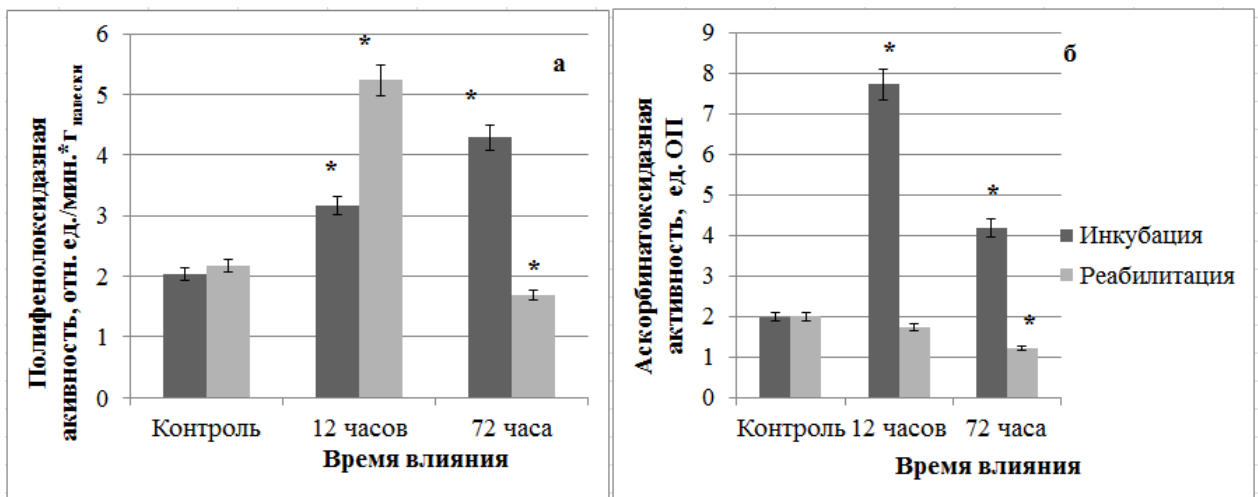


Рис. 11. Динамика полифенолоксидазной (а) и аскорбинатоксидазной (б) активности в тканях *C. demersum* в условиях инкубации с добавлением 100 мкМоль/л ионов свинца с последующей реабилитацией; \* обозначены статистически значимые различия опыта с контролем ( $p < 0,05$ ).

В период реабилитации от влияния ионов свинца каталазная ПО и АО активность была ниже контрольных показателей в 2 раза, ПФО активность – на 22%.

Исходя из полученных данных, может быть предложена схема влияния ионов свинца в концентрации 100 мкМоль/л на эколого-физиологические показатели тканей *C. demersum* (рис. 12).

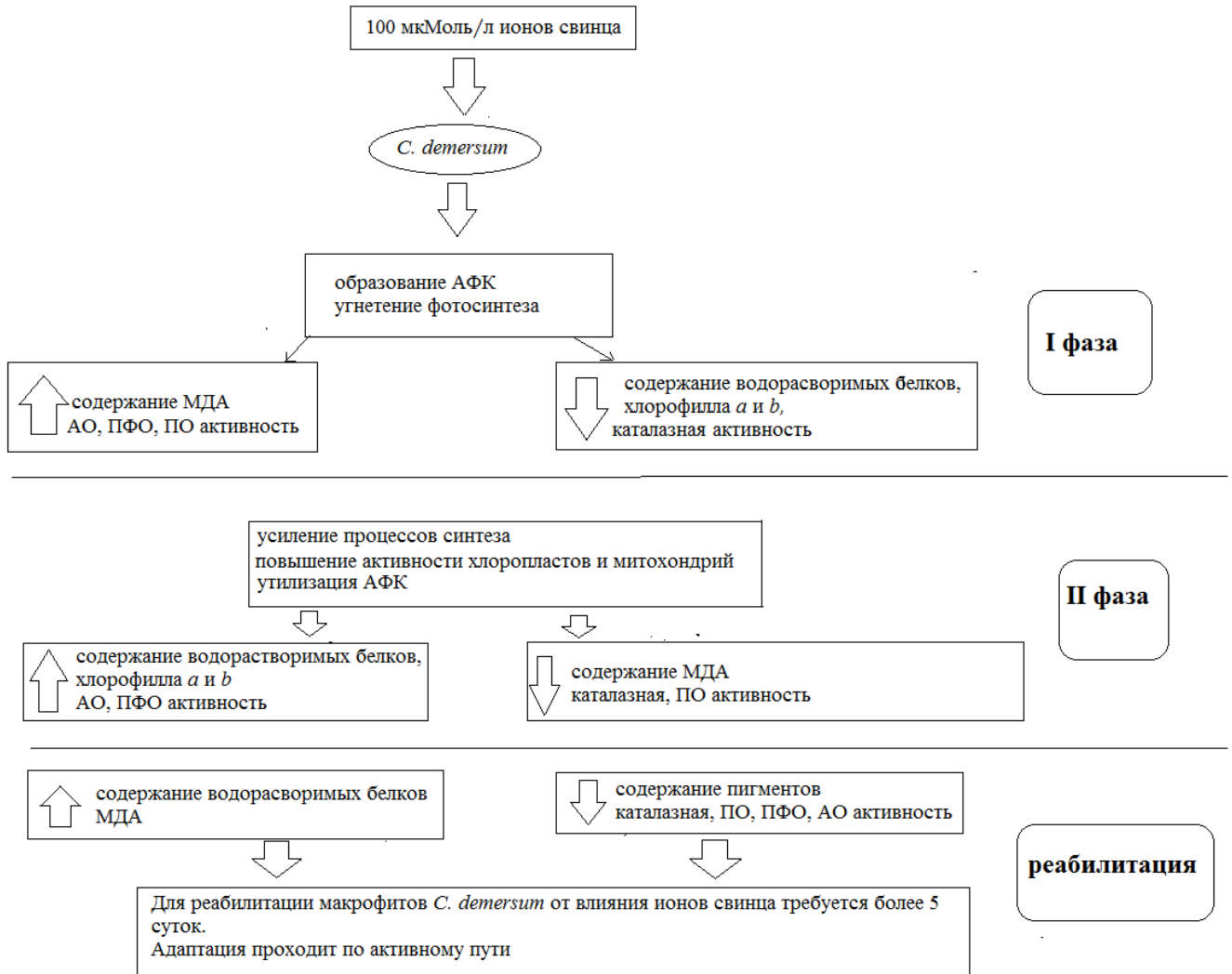


Рис. 12. Схема влияния ионов свинца на эколого-физиологические показатели тканей *C. demersum*.

Произошедшие биохимические изменения в исследуемых растениях за 12 часов влияния ионов свинца отражают протекание первой фазы стресса – первичной индуктивной стрессовой реакции. Согласно исследованиям Keskinan et al. (2004), при концентрации 2 – 64 мг/л ионов ТМ водный макрофит *C. demersum* поглощает и накапливает ионы в значимом количестве уже через 20 минут. Ионы ТМ связываются с транспортерами и поступают внутрь клетки,

повреждают клеточные структуры, индуцируя окислительный стресс. Повышение активности АО служит сигналом для растительной клетки, направляя её метаболизм на процессы детоксикации (De Tullio et al., 2013).

На первых этапах работают нормальные ферменты клетки: каталаза утилизирует избыток перекиси. После фиксации ионов свинца работа клетки направлена на обезвреживание химически активных групп чужеродных веществ, повышение полярности, снижение липофильности и повышение растворимости в воде (Филенко и др., 2007), что будет связано с процессами второй фазы стресса.

Снижение содержания водорастворимых белков в фазе первичной стрессовой индукции при высоких концентрациях свинца и кадмия ранее было показано для корней люпина и *C. demersum* (Aravind et al., 2005; Mishra et al., 2006). Свинец вызывает образование АФК, которые могут окислять белки, аминокислотные цепи и модифицировать белки. Окисленные белки эффективней разрушаются протеазами.

Токсическое действие ионов свинца в фазу первичного индуктивного стресса привело к снижению содержания фотосинтетических пигментов (хлорофилла *a* и *b*) и повышению содержания каротиноидов. Предположительно, это связано с неблагоприятным влиянием ионов свинца на фотосинтез (Красиков и др., 2013).

Согласно полученным данным, фаза адаптации у растений *C. demersum* характеризуется активацией процессов энергообмена, на что указывает повышение содержания фотосинтетических пигментов на фоне снижения содержания продуктов ПОЛ в результате работы АОС (Жиров и др., 2009).

Увеличение содержания водорастворимых белков в фазе адаптации предположительно связано с индукцией синтеза стрессовых белков (в том числе ферментов антиоксидантной системы защиты), участвующих в защитных реакциях, в ответ на внесение ТМ в среду, что подтверждается данными литературных источников (Siesko et al., 1997; Cuypers et al., 2005; Косаковская, 2008). Увеличение содержания водорастворимых белков под действием ионов

свинца также могло свидетельствовать об экспрессии металлотионинов и фитохелатинов, принимающих участие в детоксикации  $Pb^{2+}$  (Prasad, 2004; Mishra et al., 2006).

Биохимические показатели периода реабилитации свидетельствуют об остаточном действии ионов свинца: содержание фотосинтетических пигментов, водорастворимых белков и МДА опытной группы превышает показатели контрольной, тогда как каталазная, ПО, АО и ПФО активность ниже показателей контрольной группы растений. Предположительно такой эффект может быть связан с накоплением ионов свинца в митохондриях и пластидах (Plesnicar et al., 1967; Воронков и др., 1970; Синютина и др., 2013).

### **3.2. Влияние катионных СПАВ на эколого-физиологические характеристики *C. demersum***

Исследования показали, что экспозиция продолжительностью в 12 часов в среде катионных СПАВ приводит к листопаду и почти полной фрагментации растения *C. demersum* (прил. 6). Учитывая особенности вегетативного размножения *C. demersum*, остатки мутовок отмывали и переносили в чистую воду, однако пять суток реабилитации не привели к восстановлению растения.

В состав используемого в эксперименте моющего средства входит: менее 5% катионных СПАВ, бутилфенил метилпропиональ, D-лимонен, линалоол, бензилсалицилат (прил.1). Бутилфенил метилпропиональ – ароматический альдегид, применяемый в качестве ароматизатора. Согласно директиве Научного комитета по обеспечению безопасности (SCCS) от 16 марта 2016 года допустимая концентрация бутилфенила метилпропионаля в косметических продуктах, контактирующих с кожей и слизистой человека составляет 0,1-3% в зависимости от категории, в исследованиях токсические эффекты наблюдались при концентрациях, в несколько раз превосходящих допустимые нормы. Концентрация D-лимонена и линалоола – нерастворимых в воде спиртов, относящихся к терпеноидам, – в средствах бытовой химии не превышает 0,01%.

D-лимонен и линалоол применяются в качестве консервантов, так как обладают выраженной антиоксидантной активностью и широким противомикробным действием (Самусенко, 2012; Степаненко и др., 2014). Бензилсалицилат – эфир салициловой кислоты и бензилового спирта, растворим в этаноле, слабо растворим в пропиленгликоле, глицерине, практически не растворим в воде. Применяется в средствах бытовой химии в качестве фиксатора и консерванта, обладает антимикробным действием, концентрация в смываемых продуктах не должна превышать 0,01% (Тырков и др., 2012).

Таким образом, катионные СПАВ в составе используемого моющего средства являются основным компонентом, вызывающим негативные эффекты у водного растения в данном эксперименте.

Динамика содержания пигментов, отношения хлорофилла *a/b* и доли содержания хлорофиллов в ССК в тканях *C. demersum* под влиянием раствора катионных СПАВ представлена в таблице 7.

Таблица 7

Влияние 1% раствора катионных СПАВ на содержание пигментов, отношение хлорофилла *a/b* и долю хлорофиллов в ССК в тканях *C. demersum*

	Содержание хлорофилла <i>a</i> , мг/г сырого материала	Содержание хлорофилла <i>b</i> , мг/г сырого материала	Содержание каротиноидов, мг/г сырого материала	<i>a/b</i>	(хл <i>a</i> + хл <i>b</i> )/ каротиноиды	доля хлорофиллов в ССК, %
Контроль	1,450	0,550	0,276	2,63	7,246	60
1 час инкубации	0,885*	0,495	0,083*	1,79	16,661	79
2 часа инкубации	2,755*	0,908*	0,348	3,04	10,532	55
4 часа инкубации	2,161*	1,117*	0,144*	1,93	22,833	75
12 часов инкубации	3,234*	0,567	0,673*	5,71*	5,643	32*
72 часа инкубации	1,682	0,583	0,295	2,89	7,670	56

\* обозначены статистически значимые различия опыта с контролем ( $p < 0,05$ ).

На протяжении первых 12 часов инкубации в среде поллютанта, соответствующих фазе первичной стрессовой индукции в тканях растений опытной группы было выше содержание хлорофилла *a* в 1,5-2,2 раза, хлорофилла

*b* – в 1,7-2 раза, каротиноидов – в 2,4 раза. Отношение хлорофилла *a/b* в 2,2 раза превысило показатели контрольной группы растений, доля хлорофиллов в ССК к 12 часу инкубации в 2 раза была ниже у растений опытной группы, чем у контрольной, что указывает на силу стрессового фактора и повреждение антенных комплексов фотосистемы II в тканях *C. demersum* (Лисицын, 2012). Из литературных данных известно, что каротиноиды могут выполнять не только протекторную роль по отношению к хлорофиллам, но и снижать жидкостность мембран, вызванную эффектами влияния различных факторов (Стржалка и др., 2003), в данном случае, эффектами влияния катионных СПАВ.

В фазу адаптации достоверных различий между опытной и контрольной группой выявлено не было.

Динамика содержания водорастворимых и мембраносвязанных белков в тканях *C. demersum* отражена на рис. 13.

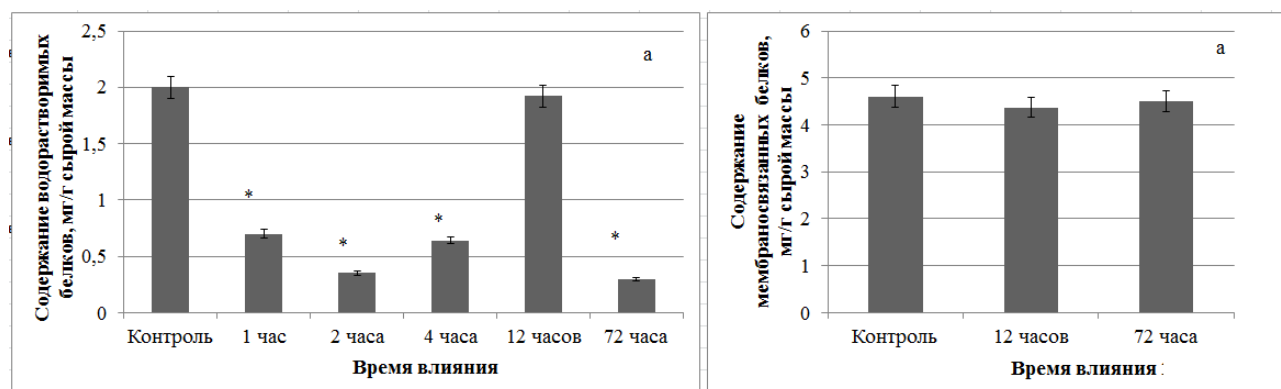


Рис. 13. Динамика содержания водорастворимых (а) и мембраносвязанных (б) белков в тканях *C. demersum* в условиях инкубации с добавлением 1% раствора катионных СПАВ; \* обозначены статистически значимые различия опыта с контролем ( $p < 0,05$ ).

На протяжении фазы первичной стрессовой индукции содержание водорастворимых белков опытной группы растений было ниже показателей контрольной группы в 2,2-5,7 раза, в фазу адаптации – в 6,7 раза. Содержание мембраносвязанных белков опытной группы достоверно не отличалось от показателей контрольной (рис. 13б).

Согласно литературным данным, для катионных СПАВ характерно образование плёнок на границах раздела сред, например, на границе вода-воздух, растение-вода, и растворение (солюбилизация) мембран (Hanke et al., 1999). Негативное влияние детергента на мембранные структуры приводит к дезинтеграции внутриклеточных компартментов и связыванию водорастворимых белков, в результате содержание свободных водорастворимых белков снижается (Helenius et al., 1975; Seddon et al., 2004).

Динамика содержания фенольных соединений и МДА в тканях *C. demersum* представлена на рис. 14. Достоверных различий между опытной и контрольной группой растений по содержанию фенольных соединений выявлено не было. Содержание МДА на 12 час эксперимента в тканях опытной группы в 15 раз превысило показатель контрольной, что косвенно указывает на образование АФК в результате влияния химического фактора.

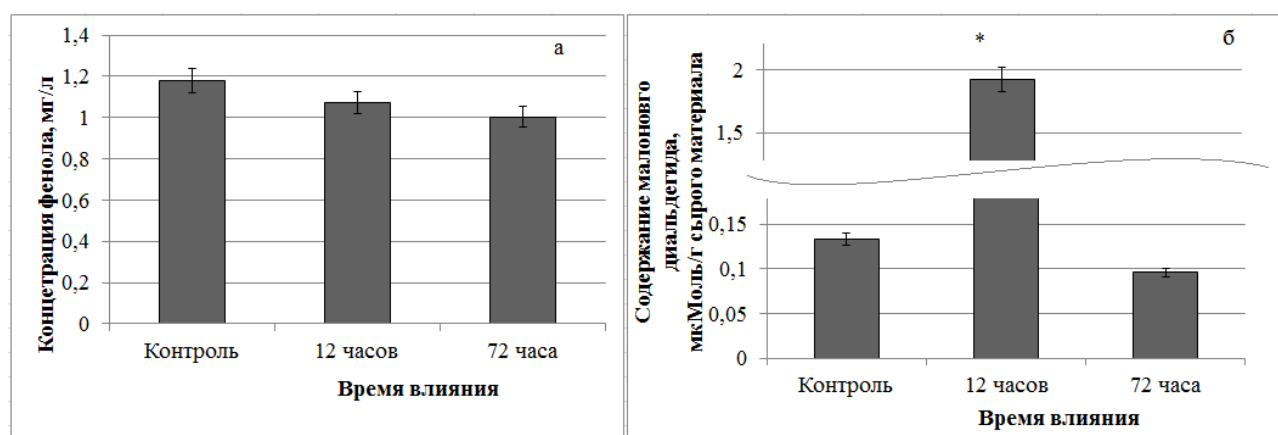


Рис. 14. Динамика содержания фенольных соединений (а) и малонового диальдегида (б) в тканях *C. demersum* в условиях инкубации с добавлением 1% раствора катионных СПАВ; \* обозначены статистически значимые различия опыта с контролем ( $p < 0,05$ ).

В фазу адаптации содержание МДА в тканях растений опытной группы составило 72% от показателей контрольной группы.

Динамика ферментативной активности в тканях *C. demersum* под влиянием 1% раствора катионных СПАВ отражена на рис. 15, 16.



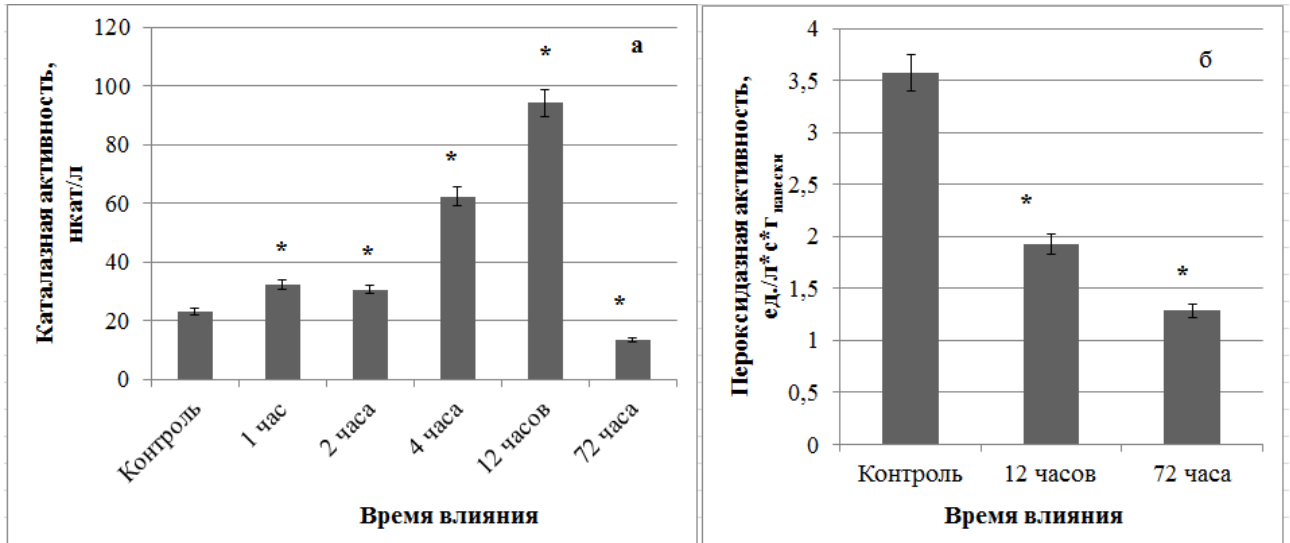


Рис. 15. Динамика каталазной (а) и пероксидазной (б) активности в тканях *C. demersum* в условиях инкубации с добавлением 1% раствора катионных СПАВ;

\* обозначены статистически значимые различия опыта с контролем ( $p < 0,05$ ).

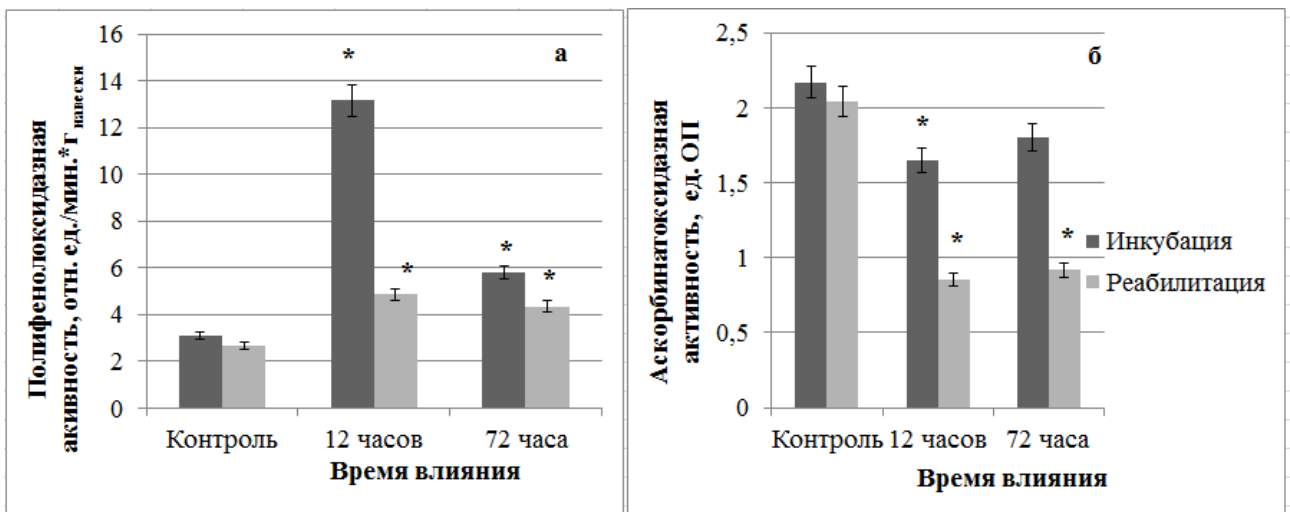


Рис. 16. Динамика полифенолоксидазной (а) и аскорбинатоксидазной (б) активности в тканях *C. demersum* в условиях инкубации с добавлением 1% раствора катионных СПАВ;

\* обозначены статистически значимые различия опыта с контролем ( $p < 0,05$ ).

В фазу первичной стрессовой индукции на фоне повышенного содержания МДА каталазная активность в тканях опытной группы растений была выше показателей контрольной группы в 1,3-4 раза (рис. 15а), АО активность – в 2,2 раза (рис. 16а), ПФО активность – в 5,5 раза (рис. 16а).

Сходные результаты были также отмечены в работе М.-Н. Li (2008). Вероятно, повышение активности ферментов АОС связано с ликвидацией АФК, вызванных негативным действием катионных СПАВ. Многократное повышение каталазной активности, являющееся индикатором загрязнения окружающей среды, хорошо соотносится с полученными данными Ткаченко Ф.П. и др. (2004). Согласно исследования Шахматовой О.А. и др. (2000), подобная ответная реакция АОС водных макрофитов часто развивается в результате антропогенного загрязнения. Следует отметить, что ПО активность опытной группы растений в фазу первичной стрессовой индукции была ниже показателей контрольной в 2 раза (рис. 15б). Сходные результаты – многократное повышение АО и ПФО активности при воздействии катионных СПАВ – были получены в работах И. Р. Мурзина на *Egeria densa* (Мурзин, 2010, 2011). Возможно, за счёт повышения ПФО активности компенсируется недостаток дыхания, связанный с плёнкой катионных СПАВ на поверхности растительного организма (Синютина и др., 2010). Кроме того, существуют данные о сигнальной роли АО в процессах ликвидации окислительного стресса (Tullio et al., 2013). Продукты реакции, катализируемой аскорбинатоксидазой, например, дегидроаскорбиновая кислота, запускают репаративные механизмы при избыточном образовании.

В фазу адаптации каталазная активность в тканях *C. demersum* опытной группы растений была ниже показателя контрольной в 1,7 раза, ПО активность – в 2,8 раза (рис. 15), в то время как АО и ПФО активность были выше показателей контрольной группы в 1,7 раза (рис. 316). Угнетение активности основных ферментов АОС указывает на неспособность организма *C. demersum* противостоять негативным эффектам 1% раствора катионных СПАВ.

Общая схема влияния 1% раствора катионных СПАВ отражена на рис. 17. В работах отечественных учёных было изучено поглощение и накопление макрофитами органических соединений, динамика зависит от плотности биомассы и времени инкубации в среде поллютанта. Прирост биомассы до определённых значений способствует увеличению поглощения СПАВ, а после –

не оказывает влияние. Максимальный временной интервал поглощения и накопления СПАВ составил трое суток (Быкова и др., 2009).

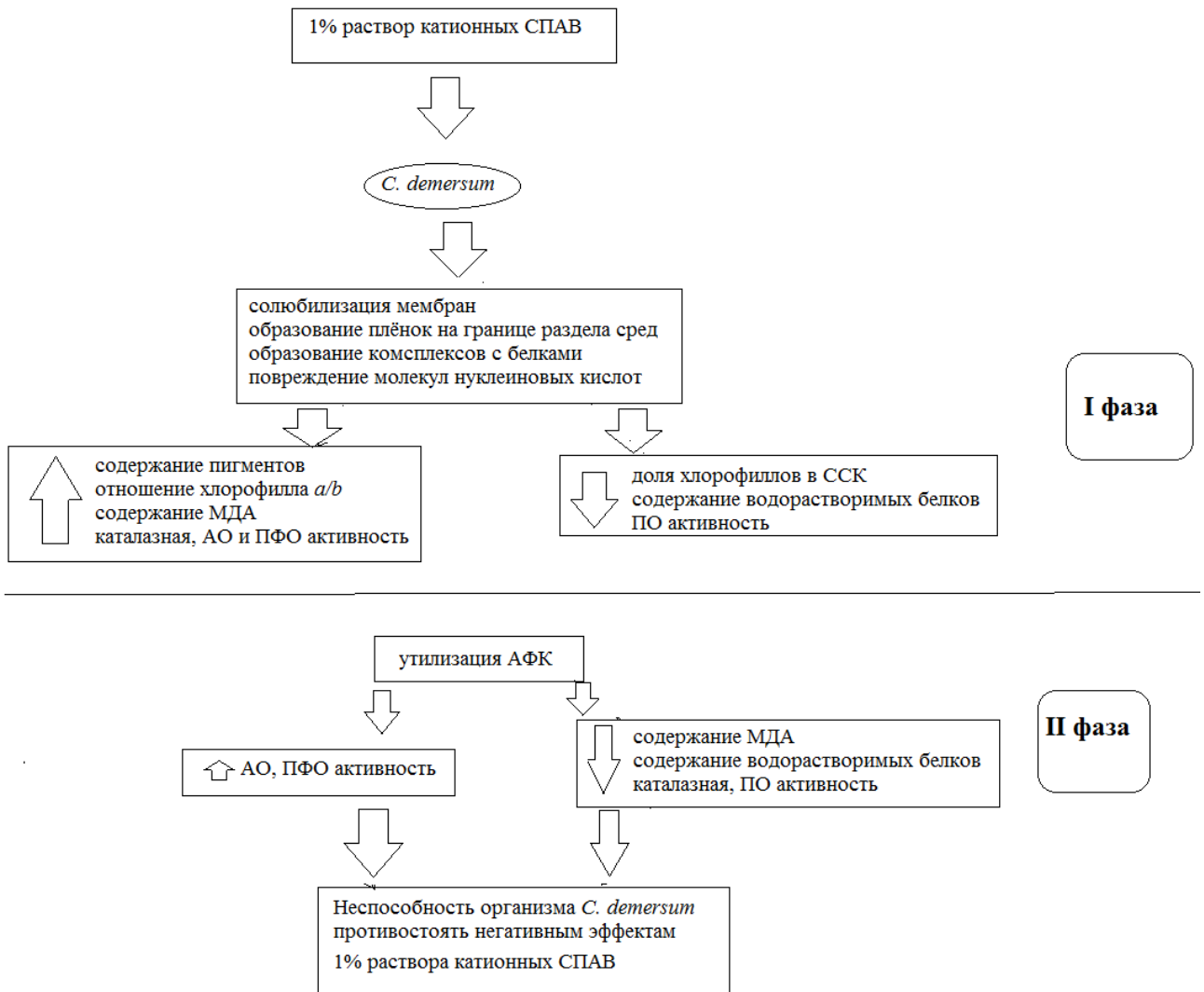


Рис. 17. Схема влияния 1% раствора катионных СПАВ на эколого-физиологические показатели тканей *C. demersum*.

Исследования показали, что фаза адаптации протекает различно в случае влияния ионов свинца и катионных СПАВ. Действие катионных СПАВ привело к разрушению мембран клеток и дезинтеграции растений. Известно, что СПАВ способны также повреждать молекулы нуклеиновых кислот (Vincenzini et al., 1985), и мы предполагаем, что поступление катионных СПАВ в организм индуцировало структурные изменения в молекулах ДНК, которые влекли за собой

нарушение процессов белкового синтеза, что и приводило к снижению содержания водорастворимых белков в фазу адаптации.

Согласно полученным данным, фазу адаптации к действию 1% раствора катионных СПАВ организм высшего водного растений *C. demersum* не прошёл. Наблюдалась десинхронизация метаболизма, разрушение тканей и органов растения, развития жизнеспособных почек в период реабилитации не происходило. Это хорошо соотносится с результатами других исследователей, выявивших, что концентрация 10 мг/л СПАВ катионной или анионной природы вызывает гибель водных растительных организмов (Айчдайзер, 2006).

### **3.3. Влияние гипертермии на эколого-физиологические характеристики *C. demersum***

В ходе проведенных нами исследований было выявлено, что организм *C. demersum* испытывает стресс в ответ на повышение температуры воды до +36°C. Внешних повреждений организма водного макрофита и достоверных различий морфометрических показателей (длина и вес) выявлено не было.

Динамика содержания пигментов, отношения хлорофилла *a/b* и доли содержания хлорофиллов в ССК в тканях *C. demersum* под влиянием гипертермии (+36°C) представлена в таблице 8. В фазу первичной стрессовой индукции в тканях *C. demersum* содержание хлорофилла *a* и *b* было ниже в 5 раз показателя контрольной группы, содержание каротиноидов – в 3,3 раза. В фазу адаптации содержание хлорофилла *a* и *b* было выше в 1,3 раза показателя контрольной группы, содержание каротиноидов – в 3,3 раза. В период фазы реабилитации от 72-х часового воздействия гипертермии содержания хлорофилла *a* и *b* в тканях опытной группы растений было ниже в 1,4 раза и 1,9 раза соответственно показателей контрольной группы.

Содержание каротиноидов в 1,4 раза было выше показателя контрольной группы, отношение хлорофилла *a/b* – в 1,3 раза. Полученные данные соотносятся с данными отечественных исследователей (Танайлова и др., 2014).

Предположительно, увеличение содержания пигментов в тканях *C. demersum* связано с модификацией хлоропластов под влиянием температурного стресса (Sung et al., 2003; Suzuki et al., 2006).

Таблица 8.

Влияние гипертермии (+36°C) на содержание пигментов, отношение хлорофилла *a/b* и долю хлорофиллов в ССК в тканях *C. demersum* в условиях инкубации и реабилитации

	Содержание хлорофилла <i>a</i> , мг/г сырого материала	Содержание хлорофилла <i>b</i> , мг/г сырого материала	Содержание каротиноидов, мг/г сырого материала	<i>a/b</i>	(хл <i>a</i> + хл <i>b</i> )/ каротиноиды	доля хлорофиллов в ССК, %
Контроль	1,450	0,540	0,285	2,68	6,982	60
12 часов инкубации	0,290*	0,092*	0,086	3,16	4,466	53
72 часа инкубации	1,885*	0,686*	0,653	2,75	3,939	59
Контроль	1,350	0,490	0,275	2,76	6,691	59
Реабилитация от 12 часов	1,404	0,510	0,399*	2,76	4,799	59
Реабилитация от 72 часов	0,932	0,255*	0,385*	3,66*	3,081	47

\* обозначены статистически значимые различия опыта с контролем ( $p < 0,05$ ).

Динамика содержания водорастворимых и мембраносвязанных белков в тканях *C. demersum* под влиянием гипертермии (+36°C) отражена на рис. 18. В фазу первичной стрессовой индукции содержание мембраносвязанных белков в тканях опытной группы растений было ниже в 3,3 раза, чем в тканях контрольной.

Содержание водорастворимых белков в тканях опытной группы растений в фазу адаптации было в 2,3 раза ниже значений контрольной группы, в то время как содержание мембраносвязанных белков было выше в 2,1 раза. В период реабилитации от 12 часовой экспозиции содержание водорастворимых белков на 25% было выше показателя контрольной группы растений, тогда как содержание мембраносвязанных белков в опытной группе при реабилитации от 72 часовой экспозиции было в 2 раза ниже значений контрольной группы.

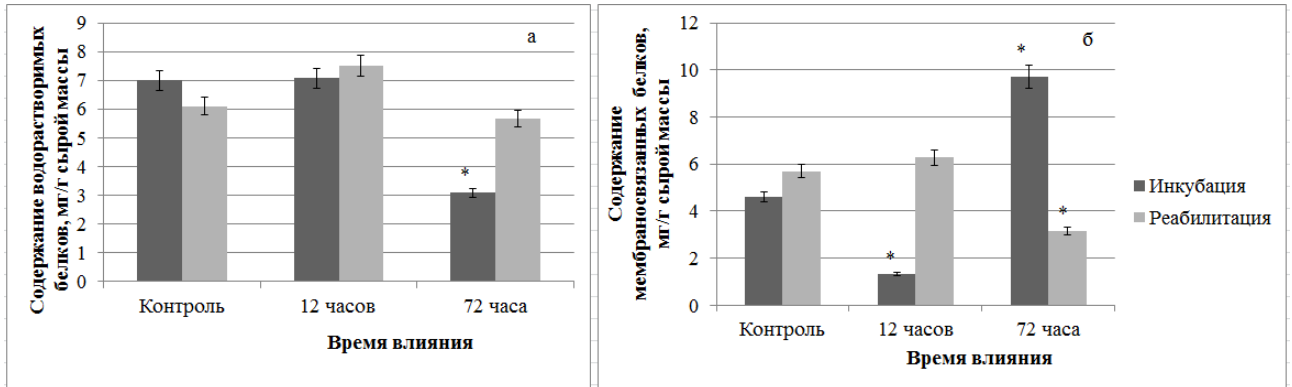


Рис. 18. Динамика содержания водорастворимых (а) и мембраносвязанных (б) белков в тканях *C. demersum* в условиях инкубации при гипертермии (+36°C) с последующей реабилитацией;

\* обозначены статистически значимые различия опыта с контролем ( $p < 0,05$ ).

Динамика содержания фенольных соединений и МДА в тканях *C. demersum* под влиянием гипертермии (+36°C) отражена на рис. 19. В фазу реабилитации от 12 часовой экспозиции содержание фенольных соединений в тканях опытной группы в 1,3 раза было выше показателя контрольной группы растений.

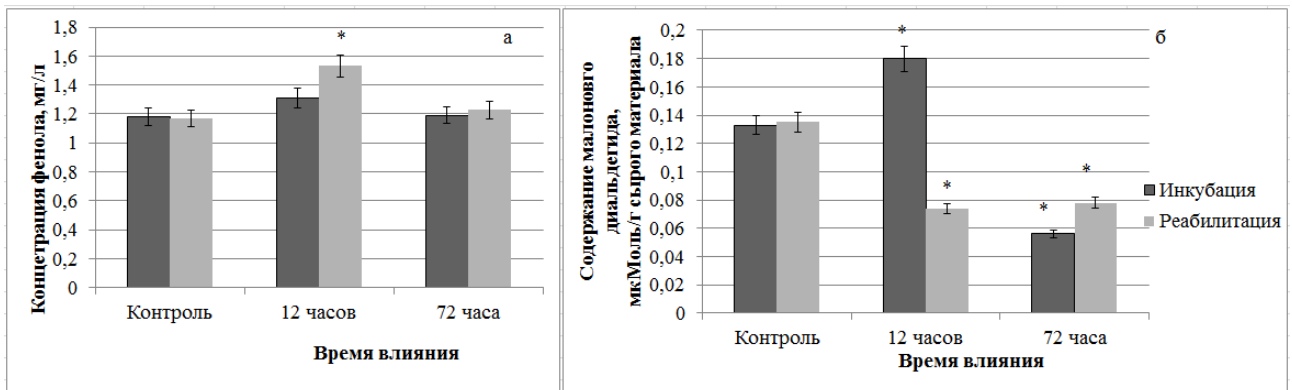


Рис. 19. Динамика содержания фенольных соединений (а) и МДА (б) в тканях *C. demersum* в условиях инкубации при гипертермии (+36°C) с последующей реабилитацией;

\* обозначены статистически значимые различия опыта с контролем ( $p < 0,05$ ).

Согласно литературным данным, фенольные соединения способствуют укреплению мембран для защиты от внешних воздействий (Метлицкий, 1996).

Вероятно, синтез фенольных соединений усиливался на фоне снижения содержания мембраносвязанных белков под влиянием гипертермии.

В фазу первичной стрессовой индукции содержание МДА в тканях растений опытной группы было выше в 1,4 раза, чем показатель контрольной группы растений. В фазу адаптации показатель опытной группы был ниже показателя контрольной в 2,4 раза. В период реабилитации содержание МДА в тканях растений опытной группы было ниже значений контрольной группы растений в 1,8 раза, что указывает на работу АОС по ликвидации АФК и адаптационные возможности растительного организма.

Динамика ферментативной активности в тканях *C. demersum* в условиях инкубации в условиях гипертермии (+36°C) отражена на рис. 20, 21. В фазу первичной стрессовой индукции каталазная активность тканей растений опытной группы была ниже показателя контрольной группы в 2,7 раза (рис. 20а), тогда как ПО, АО и ПФО активность опытной группы была выше показателей контрольной в 1,3 раза, 1,8 раза и 3,8 раза соответственно.

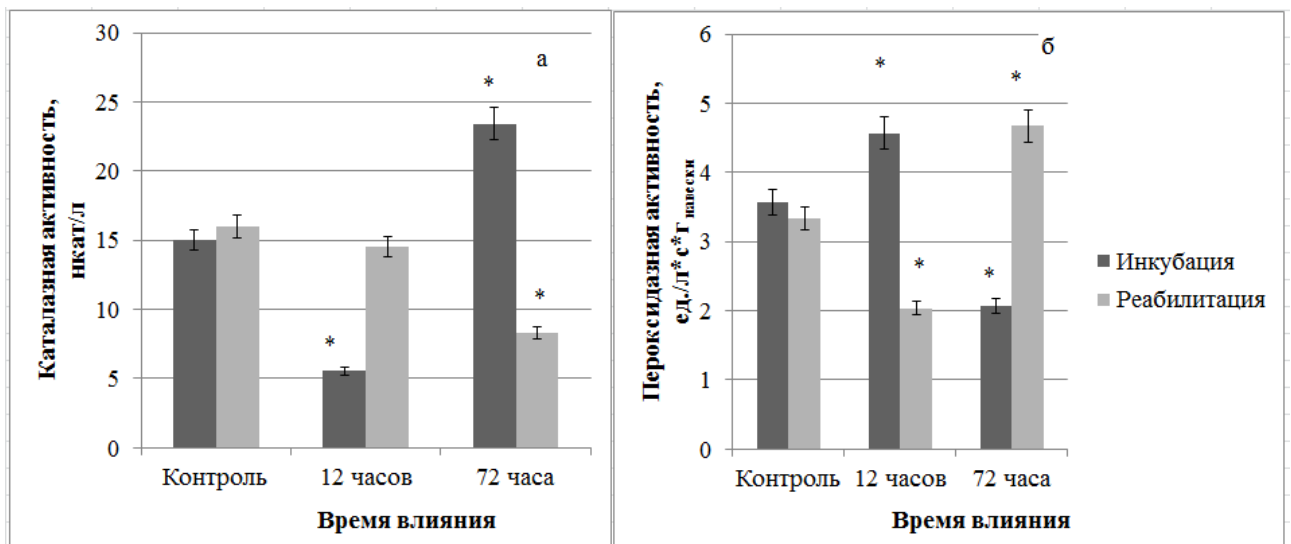


Рис. 20. Динамика каталазной (а) и пероксидазной (б) активности в тканях *C. demersum* в условиях инкубации при гипертермии (+36°C) с последующей реабилитацией;

\* обозначены статистически значимые различия опыта с контролем ( $p < 0,05$ ).

В фазу адаптации ПО активность растений опытной группы была ниже показателя контрольной группы в 1,7 раза, тогда как каталазная и АО активность были выше значений контрольной группы в 1,6 раза и 4,3 раза соответственно.

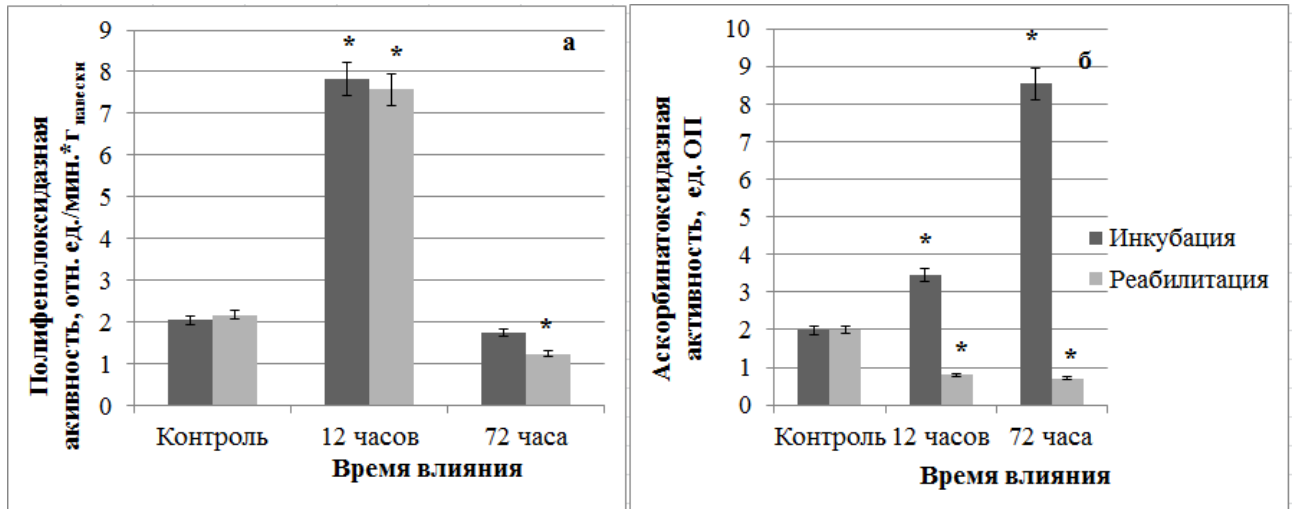


Рис. 21. Динамика полифенолоксидазной (а) и аскорбинатооксидазной (б) активности в тканях *C. demersum* в условиях инкубации при гипертермии (+36°C) с последующей реабилитацией;

\* обозначены статистически значимые различия опыта с контролем ( $p < 0,05$ ).

В период фазы реабилитации в тканях растений опытной группы каталазная, ПО и АО активность была ниже в 2 раза, в 1,6 раза и 2,5 раза соответственно, чем в тканях растений контрольной группы. ПФО активность растений опытной группы была выше показателя контрольной в 3,5 раза.

Общая схема влияния гипертермии (+36°C) на эколого-физиологические показатели тканей *C. demersum* отражена на рис. 22. Согласно литературным данным на субклеточном и клеточном уровне под влиянием гипертермии наблюдаются модификации в хлоропластах, накопление белков теплового шока, кислородсодержащих радикалов, липидов (Iba, 2002; Suzuki et al., 2006; Vahid et al., 2007), на организменном уровне уменьшаются размеры клеток, повышается их плотность и проницаемость мембран (Vahid et al., 2007).



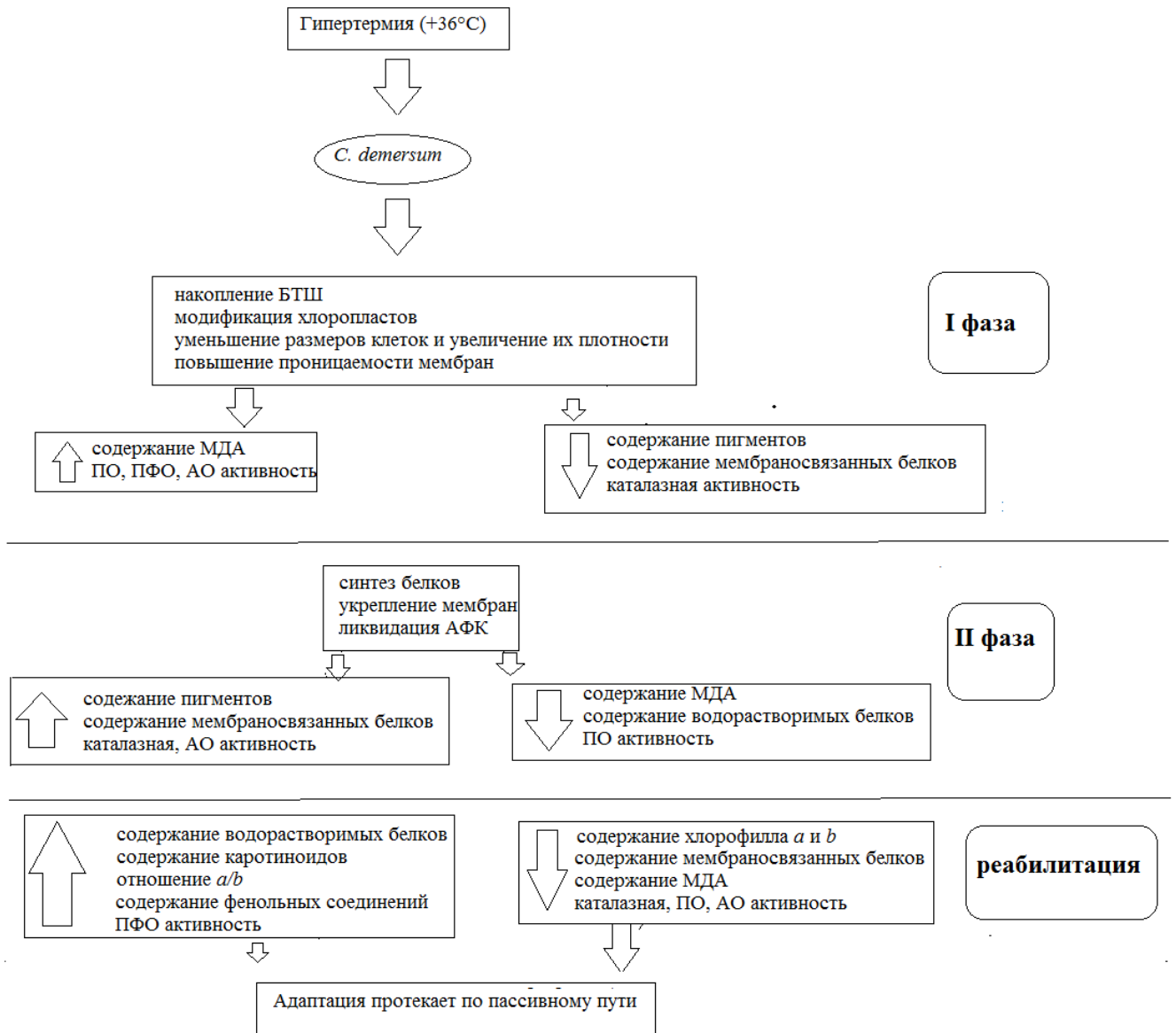


Рис. 22. Схема влияния гипертермии (+36°C) на эколого-физиологические показатели тканей *C. demersum*

Исследования показали, что в ответ на действие гипертермии у водного растения *C. demersum* повышается активность АО, запускающей ответную реакцию растения. Повышенная температура приводит к повреждению белковых структур и развитию окислительного стресса, о чём свидетельствует повышение содержания МДА в первую фазу и снижение показателя потенциальной фотосинтетической активности. Хотя в фазу адаптации содержание МДА снижается, каталазная и АО активность остаются очень высокими, что, вероятно, свидетельствует о ликвидации продуктов окислительного стресса.

Важно отметить, что на фоне понижения содержания водорастворимых белков в фазу адаптации наблюдалось увеличение содержания мембраносвязанных белков. По-видимому, часть водорастворимых белков разрушалась на фоне синтеза БТШ, в фазу адаптации клетка восстановила свои мембраны за счёт усиленного синтеза мембраносвязанных белков.

Аналогичная картина биохимических показателей сохраняется и в период регенерации, что позволяет сделать вывод о недостаточности пяти суток для восстановления организма высшего водного растения *C. demersum* от влияния гипертермии.

Фазы первичной стрессовой индукции и адаптации протекают сходно в случае влияния ионов свинца и гипертермии (+36°C), то есть для организма *C. demersum* характерна пассивная адаптация к действию данных антропогенных факторов, заключающаяся в усилении энергетического обмена при снижении целостности различных уровней организации (Жиров и др., 2009).

#### **3.4. Влияние сочетания ионов свинца и раствора катионных СПАВ на эколого-физиологические показатели *C. demersum***

Комбинированное действие ионов свинца и 1% раствора катионных СПАВ вызвало хлороз и фрагментацию растений *C. demersum* на отдельные мутовки, способные к дальнейшему вегетативному размножению, осадка катионных СПАВ не наблюдалось (прил. 7).

Динамика содержания пигментов, динамика отношения хлорофилла *a/b* и доли хлорофиллов в ССК в тканях *C. demersum* под влиянием сочетания поллютантов отражена в таблице 9. Из литературных данных известно, что при падении парциального давления кислорода, вызванного образованием плёнки катионных СПАВ на границе раздела сред вода-воздух, чувствительность водных растений к металлам снижается (Филенко и др., 2007). Это подтверждается нашими данными по снижению содержания фотосинтетических пигментов в меньших пределах, чем при индивидуальном влиянии химических факторов. Так

в фазу первичной стрессовой индукции содержание хлорофилла *a* в 1,5-2 раза было ниже показателя контрольной группы, содержание хлорофилла *b* – в 2-3,2 раза, в результате отношение хлорофилла *a/b* опытной группы было в 1,3 раза выше показателя контрольной группы растений, а доля хлорофиллов в ССК в 1,7 раза ниже значений контрольной группы растений.

Таблица 9

Влияние 100 мкМоль/л ионов свинца и 1% раствора катионных СПАВ на содержание пигментов, отношение хлорофилла *a/b* и долю хлорофиллов в ССК в тканях *C. demersum* в условиях инкубации и реабилитации

	Содержание хлорофилла <i>a</i> , мг/г сырого материала	Содержание хлорофилла <i>b</i> , мг/г сырого материала	Содержание каротиноидов, мг/г сырого материала	<i>a/b</i>	(хл <i>a</i> + хл <i>b</i> )/ каротиноиды	доля хлорофиллов в ССК, %
Контроль	1,330	0,490	0,278	2,71	6,547	59
1 час инкубации	0,878*	0,235*	0,270	3,73*	4,127	49
2 часа инкубации	0,612*	0,304*	0,270	2,01	3,395	73
4 часа инкубации	0,811*	0,152*	0,272	5,34	3,536	35*
12 часов инкубации	0,652*	0,221*	0,147	2,96	5,920	56
72 часа инкубации	0,585*	0,274*	1,298*	2,13	0,662	70
Контроль	1,250	0,480	0,265	2,60	6,528	61
Реабилитация от 1 часа	3,088*	0,451	1,081*	6,84*	3,273	28*
Реабилитация от 2 часов	2,038*	0,658*	0,374	3,10	7,213	54
Реабилитация от 4 часов	0,750	0,288*	0,159*	2,60	6,528	61
Реабилитация от 12 часов	1,475	0,514	0,374*	2,87	5,322	57
Реабилитация от 72 часов	1,438	0,470	0,262	3,06	7,272	54

\* обозначены статистически значимые различия опыта с контролем ( $p < 0,05$ ).

Фаза адаптации к действию сочетания поллютантов оказалась сходной с такой к действию 1% раствора катионных СПАВ. Содержание хлорофилла *a* и *b* в тканях *C. demersum* опытной группы было ниже показателя контрольной группы

в 2 раза, тогда как содержание каротиноидов было выше в 4,7 раза. Вероятно, повышенное содержание каротиноидов, способствующее снижению жидкостности мембран, является реакцией адаптации организма макрофита к эффектам влияния катионных СПАВ на мембранные структуры (Стржалка и др., 2003). В период реабилитации содержание хлорофилла *a* и *b* в тканях *C. demersum* опытной группы было выше показателя контрольной группы в 1,4-2 раза, содержание каротиноидов – в 1,4 раза.

Исходя из анализа содержания пигментов в тканях растения в период инкубации, можно предположить, что в ответ на стрессовое воздействие, вызванное сочетанием ксенобиотиков, происходила индукция защитных механизмов в растении, и, в связи с этим, содержание хлорофиллов *a* и *b* увеличивалось, однако в метаболизме уже возникали нарушения, приводящие к деградации пигментов в период реабилитации. На наш взгляд, и это также подтверждается литературными данными (Stiborova et al., 1986; Prasad et al.; 1987; Kupper et al.; 1998), повреждение пигментного комплекса в растительных тканях было обусловлено замещением центрального атома магния, связанного с тетрапиррольным макроциклом в молекулах хлорофилла, на свинец, ингибированием активности ключевых ферментов, участвующих в биосинтезе хлорофиллов и ферментов цикла Кальвина, а также нарушением функционирования электронтранспортной цепи под влиянием ксенобиотика. Кроме того, в условиях действия поллютантов, возможно, имело место нарушение ультраструктуры хлоропластов, а также изменение размера и количества пластид в клетке (Baryla et al., 2001).

Динамика содержания водорастворимых и мембраносвязанных белков в тканях *C. demersum* в условиях инкубации с сочетанием поллютантов отражена на рис. 23. В первые 2 часа инкубации содержание водорастворимых белков в тканях растений опытной группы было ниже в 1,6 раза, однако к 4 часу влияния показатель в 5,7 раза превысил значения контрольной группы растений.

В фазу адаптации содержание водорастворимых белков в тканях растений опытной группы было ниже в 5 раз, чем значения показателя контрольной

группы растений, содержание мембранносвязанных белков – в 1,3 раза. В фазу реабилитации содержание водорастворимых белков в тканях растений опытной группы было ниже в 1,5-2,6 раза, чем значения показателя контрольной группы растений, тогда как содержание мембранносвязанных белков – в 1,3 раза выше.

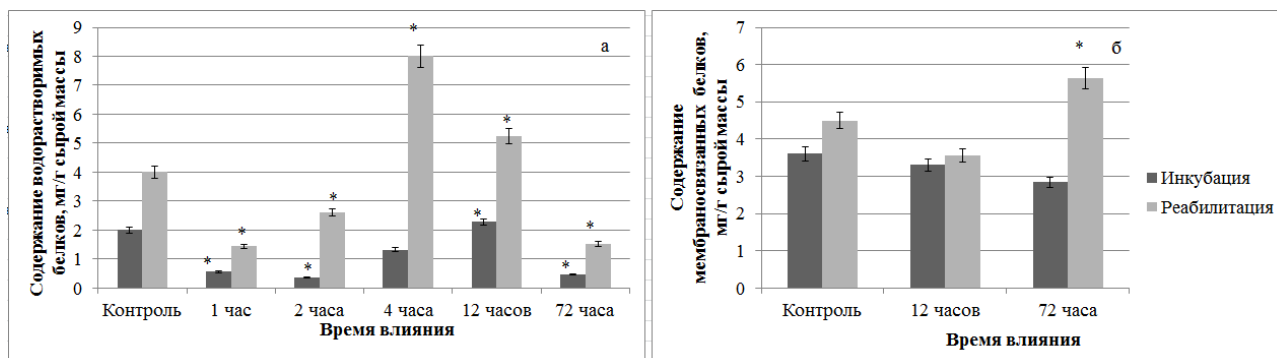


Рис. 23. Динамика содержания водорастворимых (а) и мембранносвязанных (б) белков в тканях *C. demersum* в условиях инкубации с добавлением 100 мкМоль/л ионов свинца и 1% раствора катионных СПАВ с последующей реабилитацией; \* обозначены статистически значимые различия опыта с контролем ( $p < 0,05$ ).

Динамика содержания фенольных соединений и МДА в эксперименте с сочетанием поллютантов представлена на рис. 24, достоверных различий по содержанию фенольных соединений между опытной и контрольной группой растений на протяжении всего эксперимента выявлено не было. В фазу первичной стрессовой индукции содержание МДА в тканях растений опытной группы было в 1,3 раза выше показателя контрольной группы растений. В период реабилитации содержание МДА в тканях *C. demersum* опытной группы было ниже показателей контрольной группы растений в 1,4 раза, что свидетельствует о ликвидации АФК.

Динамика ферментативной активности в тканях *C. demersum* под влиянием 100 мкМоль/л ионов свинца и 1% раствора катионных СПАВ представлена на рис. 25, 26. В фазу первичной стрессовой индукции в тканях растений опытной группы каталазная и ПФО активность были выше значений показателей контрольной группы растений в 1,3 раза и 5,9 раза соответственно, тогда как ПО активность была ниже в 3,3 раза.

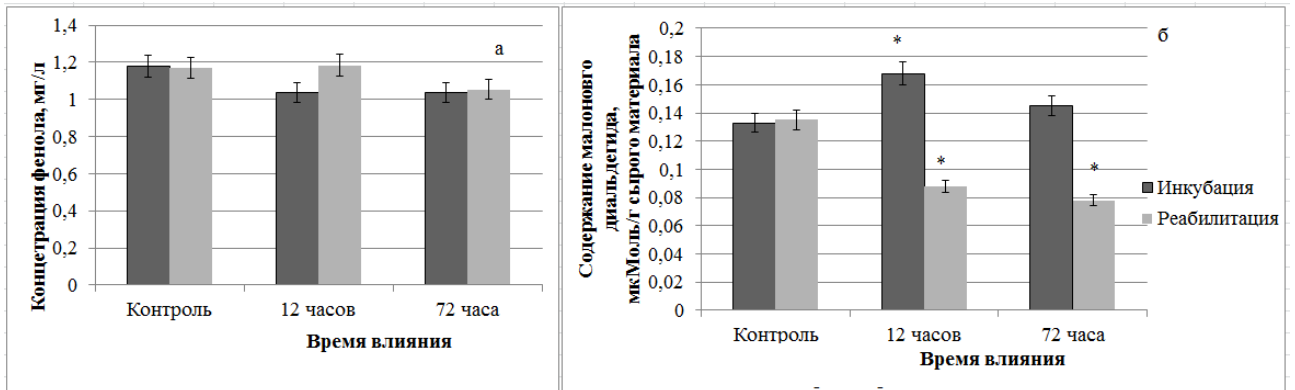


Рис. 24. Динамика содержания фенольных соединений (а) и малонового диальдегида (б) в тканях *C. demersum* в условиях инкубации с добавлением 100 мкМоль/л ионов свинца и 1% раствора катионных СПАВ с последующей реабилитацией;

\* обозначены статистически значимые различия опыта с контролем ( $p < 0,05$ ).

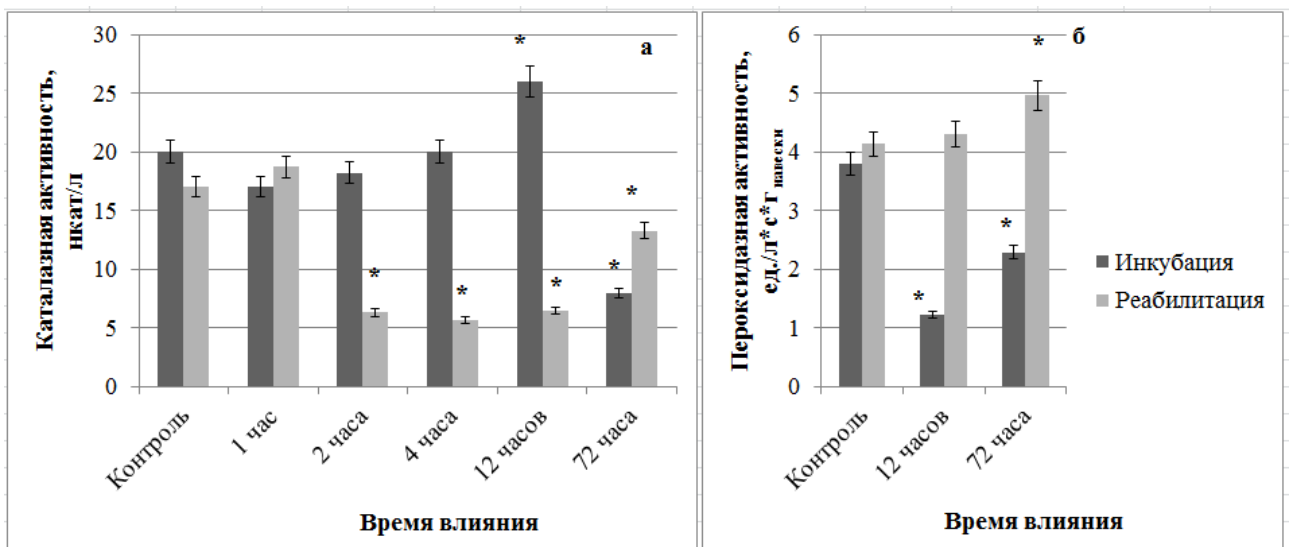


Рис. 25. Динамика каталазной (а) и пероксидазной (б) активности в тканях *C. demersum* в условиях инкубации с добавлением 100 мкМоль/л ионов свинца и 1% раствора катионных СПАВ с последующей реабилитацией;

\* обозначены статистически значимые различия опыта с контролем ( $p < 0,05$ ).

В фазу адаптации в тканях растений опытной группы АО активность была выше значений показателей контрольной группы растений в 1,6 раза, тогда как ПО и ПФО активность была ниже в 1,7 раза. В фазу реабилитации в тканях растений опытной группы каталазная активность была ниже значений

показателей контрольной группы растений в 2-3,3 раза, АО – в 3,3 раза, ПФО – в 2 раза.

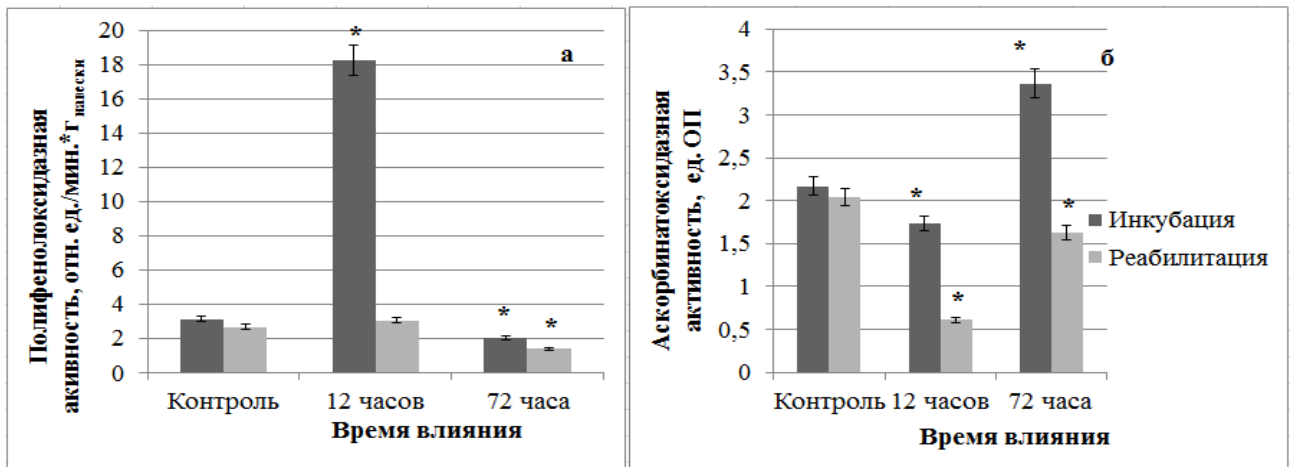


Рис. 26. Динамика полифенолоксидазной (а) и аскорбинатоксидазной (б) активности в тканях *C. demersum* в условиях инкубации с добавлением 100 мкМоль/л ионов свинца и 1% раствора катионных СПАВ с последующей реабилитацией;

\* обозначены статистически значимые различия опыта с контролем ( $p < 0,05$ ).

Общая схема комбинированного влияния поллютантов на эколого-физиологические показатели тканей *C. demersum* отражена на рис. 27. Из литературных данных известно, что в присутствии СПАВ возможно увеличение поступления ТМ в ткани растений (Maresova et al., 2009). По-видимому, подобный механизм имел место в проведенной нами работе. В этих условиях предположительно более интенсивно протекали процессы повреждения белковых молекул и ингибирования их биосинтеза. В условиях повышенного поступления ТМ в клетку, и такой эффект известен из литературы (Palma et al., 2002), могли также усиливаться процессы протеолиза, приводящие к деградации белков.

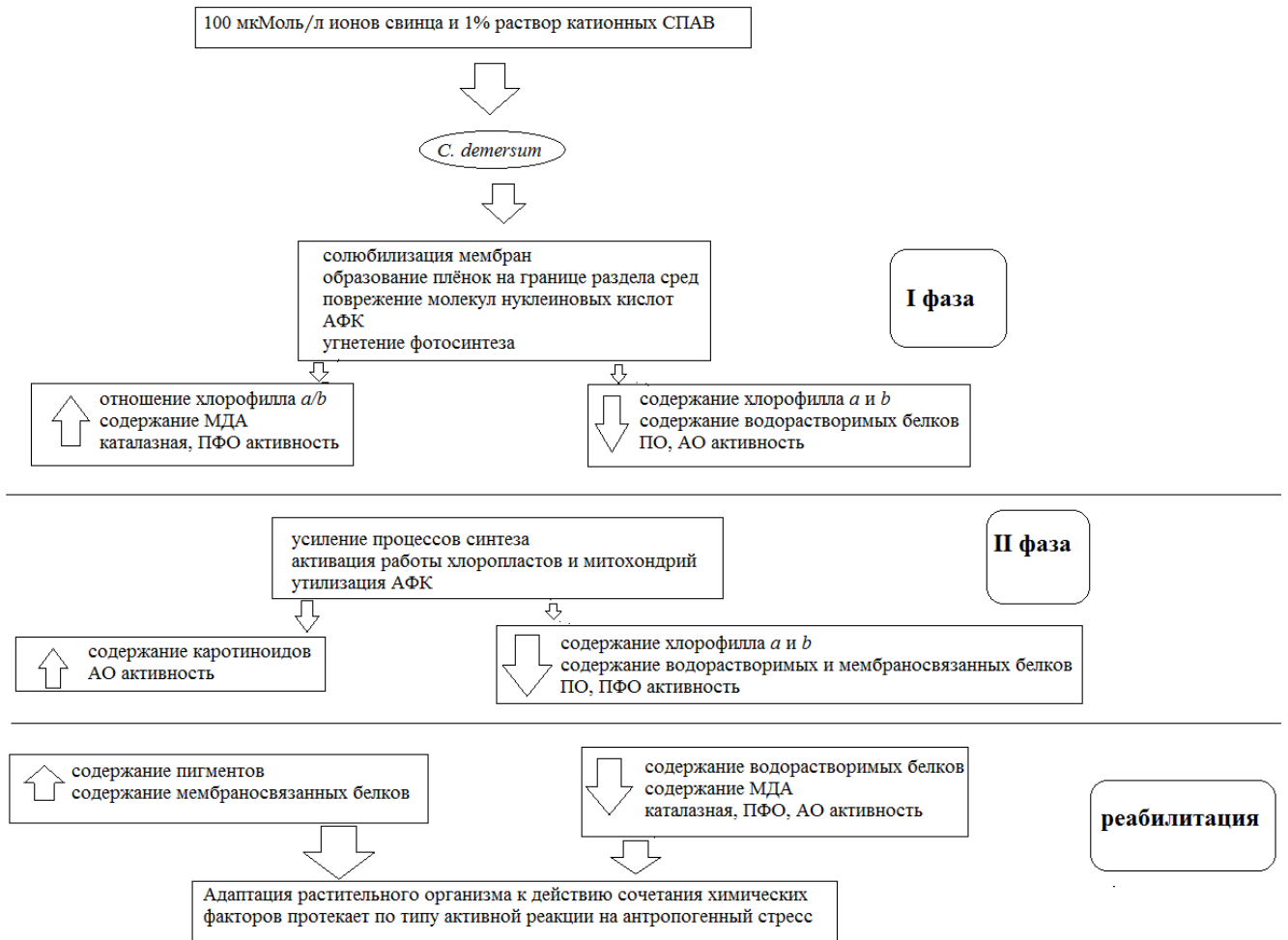


Рис. 27. Общая схема влияния 100мкМоль/л ионов свинца и 1% раствора катионных СПАВ на биохимические показатели тканей *C. demersum*

Именно поэтому фаза первичной стрессовой индукции аналогична первой фазе в условиях добавления только 100 мкМоль/л ионов свинца, фаза адаптации сходна с таковой по динамике исследуемых показателей в условиях добавления только 1% раствора катионных СПАВ. Адаптация растительного организма к действию сочетания химических факторов согласно Жирову В.К. и др. (2009) протекает по типу активной реакции на антропогенный стресс, заключающейся в снижении уровня энергообмена, возрастании целостности всех уровней организации, кроме организменного. Следует отметить, что пяти суток реабилитации от влияния сочетания поллютантов для организма *C. demersum* недостаточно, но реабилитация принципиально возможна.



### 3.5. Влияние сочетания ионов свинца и гипертермии на эколого-физиологические характеристики *C. demersum*

Влияние 100 мкМоль/л ионов свинца при температуре воды +36°C вызвало сильные изменения эколого-физиологических показателей в организме водного растения *C. demersum*. У повреждённых растений наблюдались более выраженные признаки хлороза, чем в эксперименте с ионами свинца при температуре +20°C (прил. 8).

Динамика содержания пигментов, отношение хлорофилла *a/b* и доля хлорофиллов в ССК в тканях *C. demersum* в условиях инкубации и реабилитации представлены в таблице 10.

Таблица 10.

Влияние 100 мкМоль/л ионов свинца и гипертермии (+36°C) на содержание пигментов (мг/г сырого материала), отношение хлорофилла *a/b* и долю хлорофиллов в ССК (в %) в тканях *C. demersum* в условиях инкубации и реабилитации

	хл <i>a</i>	хл <i>b</i>	каротиноиды	<i>a/b</i>	(хл <i>a</i> + хл <i>b</i> )/каротиноиды	доля хл в ССК
Контроль	1,350	0,510	0,275	2,65	6,764	60
12 часов инкубации	0,878*	0,112*	0,842*	7,82*	1,176	25*
72 часа инкубации	0,702*	0,219*	0,077*	3,20	11,965	52
Контроль	1,330	0,490	0,265	2,71	6,868	59
Реабилитация от 12 часов	1,609*	0,564	0,252	2,86	8,631	57
Реабилитация от 72 часов	0,758*	0,211*	0,557*	3,59*	1,741	48

\* обозначены статистически значимые различия опыта с контролем ( $p < 0,05$ ).

В течение фазы первичной стрессовой индукции в тканях *C. demersum* при влиянии ионов свинца и гипертермии содержание хлорофилла *a* и *b* в тканях растений опытной группы было ниже в 1,5 раза и 2 раза соответственно, чем в

тканях растений контрольной группы, как и в случае влияния только гипертермии (+36°C). В результате отношение хлорофилла *a/b* в 2,9 раза было выше показателя контрольной группы, а доля хлорофиллов в ССК – в 2,4 раза ниже. Содержание каротиноидов в тканях *C. demersum* было в 3 раза выше, чем в тканях контрольной группы растений. В фазу адаптации содержание пигментов в тканях растений опытной группы было ниже, чем в тканях контрольной: содержание хлорофилла *a* и *b* в 2,4 раза, каротиноидов – в 3,3 раза.

Согласно литературным данным, ионы ТМ могут ингибировать синтез пигментов и ферментов цикла Кальвина и нарушать ультраструктуру хлоропластов (Rebechini et al., 1974; Prasad et al., 1987; Sharma et al., 2005). Кроме того, действие повышенных температур также снижает интенсивность фотофосфорилирования за счёт повышения текучести мембранных липидов (Кузнецов, 2005). Вероятно, это и было причиной снижения содержания хлорофилла *a* и *b* в период инкубации.

В фазу реабилитации содержание фотосинтетических пигментов в тканях растений опытной группы также было ниже показателя контрольной в 2,4 раза, тогда как содержание каротиноидов было выше в 2 раза. Аналогичное отклонение показателей наблюдалось в период реабилитации от влияния гипертермии.

Динамика содержания водорастворимых и мембраносвязанных белков отражена на рис. 28. В фазу первичной стрессовой индукции под влиянием ионов свинца и гипертермии в тканях растений опытной группы содержание водорастворимых белков было выше в 1,3 раза, чем в тканях растений контрольной. Увеличение содержания водорастворимых белков в данном эксперименте, скорее всего, связано с индукцией синтеза стрессовых белков и БТШ, участвующих в защитных реакциях, в ответ на внесение ТМ в среду, что подтверждается данными литературных источников (Siesko et al., 1997; Prasad, 2004; Cuypers et al., 2005; Mishra et al., 2006; Косаковская, 2008).

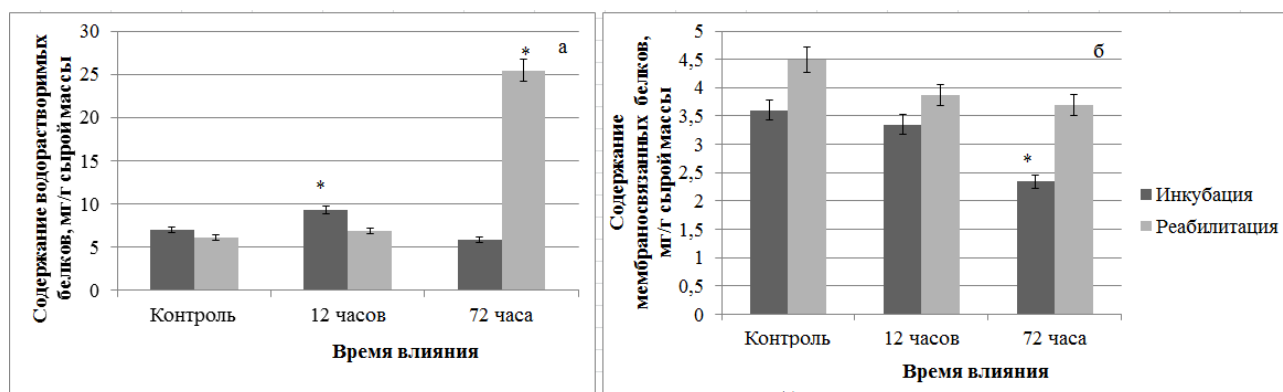


Рис. 28. Динамика содержания водорастворимых (а) и мембранносвязанных (б) белков в тканях *C. demersum* в условиях инкубации при гипертермии (+36°C) с добавлением 100 мкМоль/л ионов свинца с последующей реабилитацией; \* обозначены статистически значимые различия опыта с контролем ( $p < 0,05$ ).

В фазу адаптации содержание мембранносвязанных белков в 1,3 раза было ниже, чем показатель контрольной группы растений.

В период реабилитации в тканях *C. demersum* опытной группы содержание водорастворимых белков было выше показателя контрольной группы в 4,2 раза, тогда как содержание мембранносвязанных белков было ниже в 1,2 раза.

Динамика содержания фенольных соединений и МДА в тканях *C. demersum* в условиях инкубации при гипертермии представлена на рис. 29. Достоверного отличия показателя содержания фенольных соединений опытной и контрольной группы на протяжении всего эксперимента выявлено не было. Следует отметить, что содержание МДА в тканях растений опытной группы в фазу первичной стрессовой индукции и в фазу адаптации было ниже значений контрольной группы в 2,5-5 раз. На фоне сильного снижения активности АОС вероятной причиной снижения содержания МДА является, скорее всего, не адаптационная деятельность компонентов клетки, а деградация метаболизма под влиянием гипертермии и химического фактора, что подтверждается полученными данными по снижению содержания фотосинтетических пигментов. В период реабилитации в тканях растений опытной группы содержание МДА в 14 раз превысило значения показателя контрольной группы растений.

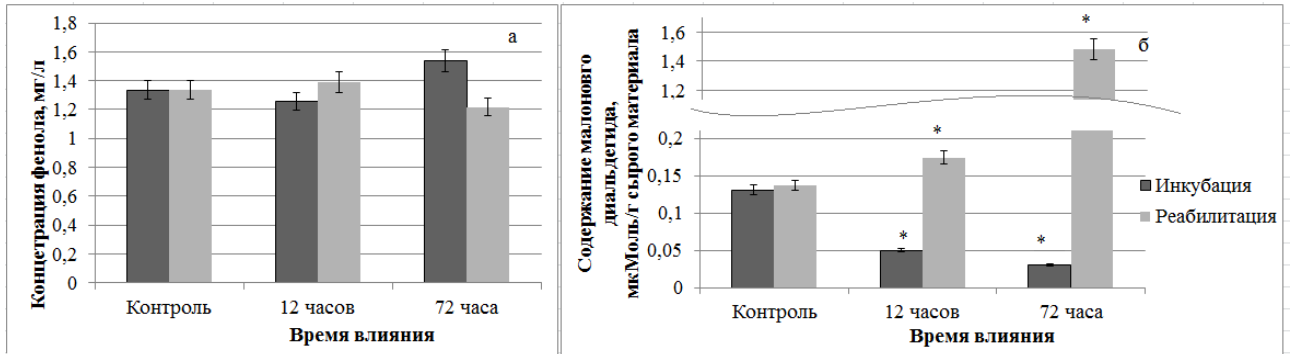


Рис. 29. Динамика содержания фенольных соединений (а) и малонового диальдегида (б) в тканях *C. demersum* в условиях инкубации при гипертермии (+36°C) с добавлением 100 мкМоль/л ионов с последующей реабилитацией;

\* обозначены статистически значимые различия опыта с контролем ( $p < 0,05$ ).

Динамика ферментативной активности в тканях *C. demersum* в условиях инкубации при гипертермии (+36°C) с добавлением 100 мкМоль/л ионов свинца отражена на рис. 30, 31.

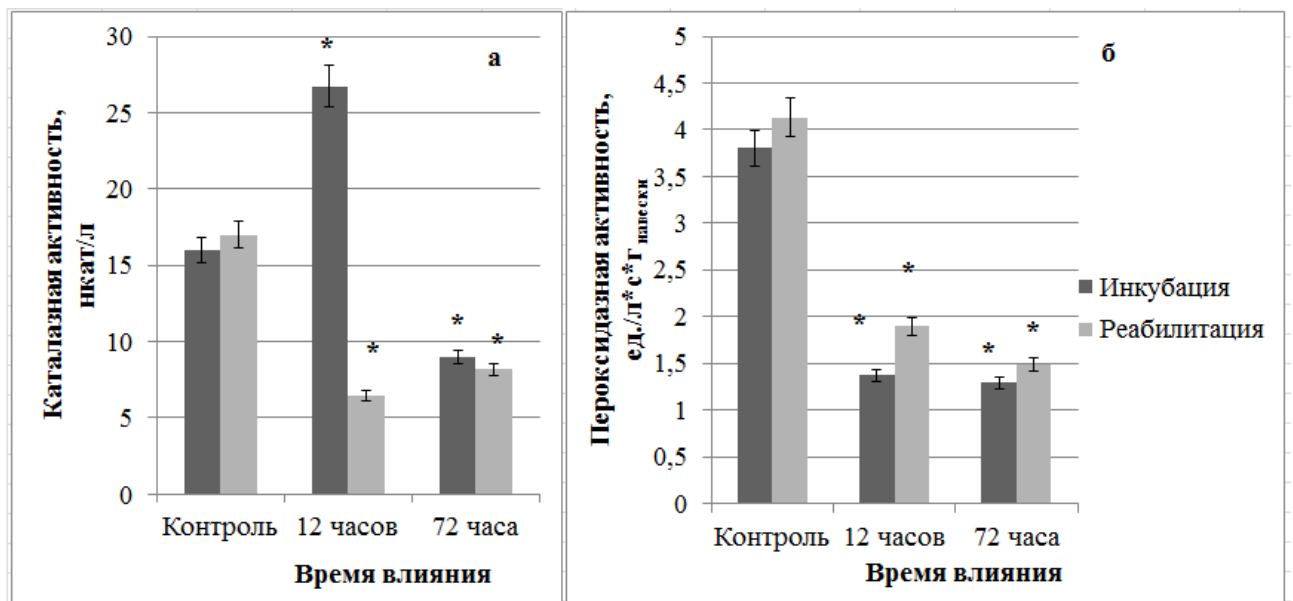


Рис. 30. Динамика каталазной (а) и пероксидазной (б) активности в тканях *C. demersum* в условиях инкубации при гипертермии (+36°C) с добавлением 100 мкМоль/л ионов свинца с последующей реабилитацией;

\* обозначены статистически значимые различия опыта с контролем ( $p < 0,05$ ).

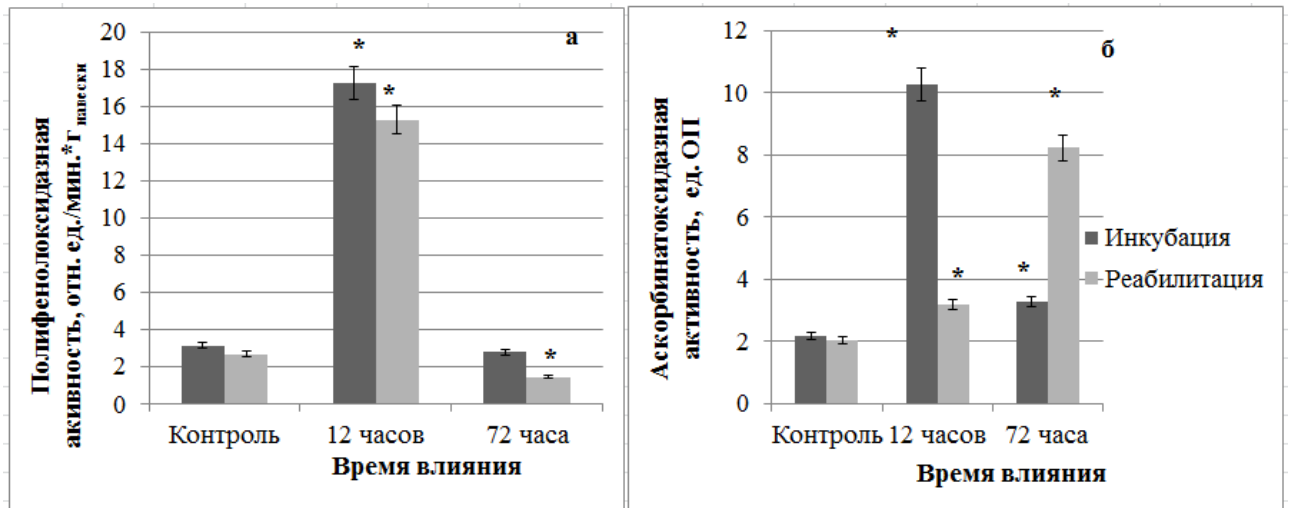


Рис. 31. Динамика полифенолоксидазной (а) и аскорбинатоксидазной (б) активности в тканях *C. demersum* в условиях инкубации при гипертермии (+36°C) с добавлением 100 мкМоль/л ионов свинца с последующей реабилитацией;

\* обозначены статистически значимые различия опыта с контролем ( $p < 0,05$ ).

В фазу первичной стрессовой индукции в тканях растений опытной группы каталазная, АО и ПФО активность в 1,7 раза, 4,7 раза и 5,6 раза соответственно были выше значений контрольной группы, тогда как ПО активность – в 2,8 раза ниже. В фазу адаптации под влиянием сочетания факторов в тканях *C. demersum* каталазная и ПО активность в 2 раза и 2,8 раза соответственно были ниже значений контрольной группы растений, тогда как АО активность – в 1,5 раза выше.

В период реабилитации от влияния сочетания гипертермии и химического фактора в тканях растений опытной группы каталазная и ПО активность в 2,7 раза были ниже показателей контрольной группы, тогда как АО и ПФО активность были выше в 4 раза и 5,7 раза соответственно.

Общая схема влияния 100 мкМоль/л ионов свинца при гипертермии (+36°C) на эколого-физиологические показатели тканей *C. demersum* отражена на рис. 32.

Из литературных данных известно, что поллютанты сужают пределы устойчивости растительных организмов к действию естественных факторов, таких, как температура и влажность (Духовский и др., 2006). Кроме того, при повышении температуры высшие водные растения способны поглощать большие

концентрации ионов металлов в первые десять суток (Тарушкина и др., 2006; Жуткова и др., 2010; Марчюленене и др., 2013). Данное явление ограниченного поглощения ионов ТМ связывают с механизмами адаптации, предотвращающими токсическое действие солей на растительный организм. Согласно литературным данным (Кулаева, 1997), синтез БТШ индуцирует не только тепловой шок, но и ряд других неблагоприятных воздействий. В частности, у растений подобными индукторами являются соли ТМ, в результате повышается устойчивость клеток к нагреву.

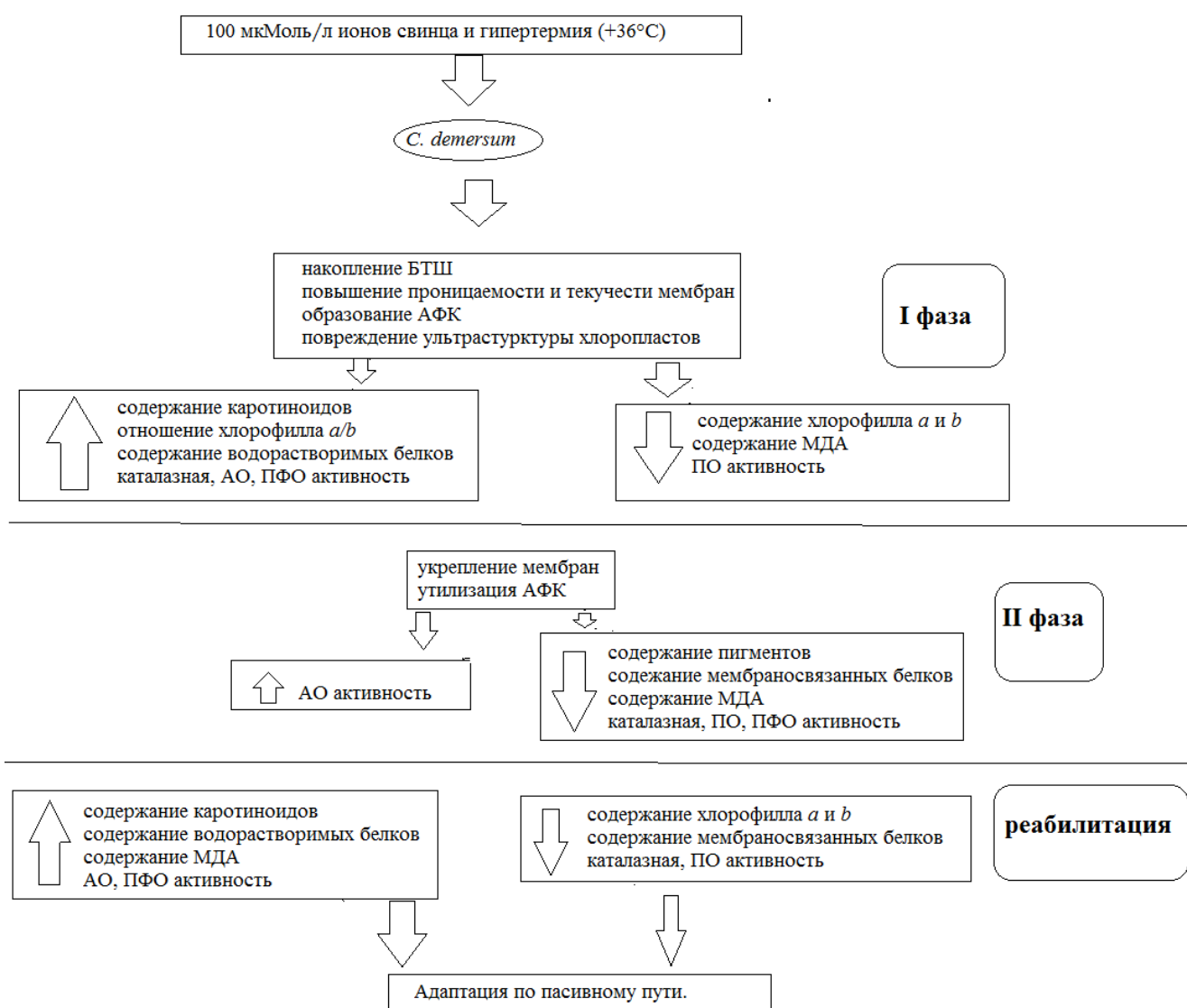


Рис. 32. Общая схема влияния 100мкМоль/л ионов свинца и гипертермии (+36°C) на эколого-физиологические показатели тканей *C. demersum*

Влияние 100 мкМоль/л ионов свинца и гипертермии вызывает нарушения в процессах метаболизма водного растения *C. demersum*. Эффекты влияния ионов ТМ при гипертермии более выраженные, чем при индивидуальном действии. Вероятно, это связано с тем, что повышение температуры способствует увеличению количества поступающего внутрь клетки поллютанта (Биочино, 1982; Филенко и др., 2007).

Деятельность каталазы и ПО угнетается токсическими эффектами ТМ, ферментативная активность минимальная. В то же время АО активность достигает больших значений, что свидетельствует о клеточном сигнале повреждения (De Tullio et al., 2013). Согласно литературным источникам, продукты ферментативного окисления полифенолоксидазы создают ещё и механический барьер для препятствия проникновению возбудителя, что может быть основой для защиты от других стрессовых факторов (Рубин и др., 1959; Метлицкий, 1968), например, от токсического действия ионов свинца при повышенной температуре, увеличивающей текучесть мембран (Кузнецов, 2005).

Таким образом, реакция растительного организма на действие исследуемых неблагоприятных факторов заключается в падении уровня энергообмена на фоне снижения целостности на всех уровнях организации (Жиров и др., 2009). Можно предположить, что более длительное влияние сочетания ионов свинца и гипертермии (+36°) приведёт к гибели водного растения *C. demersum*.

Изменения метаболизма в организме водного растения *C. demersum* указывают на превалирование эффектов влияния гипертермии (+36°С) в фазу первичной стрессовой индукции и реабилитации и эффектов влияния 100 мкМоль/л ионов свинца в фазу адаптации, а также на недостаточность адаптационных возможностей растительного организма для нейтрализации токсического действия 100 мкМоль/л ионов свинца при температуре +36°С.

### 3.6. Влияние сочетания раствора катионных СПАВ и гипертермии на эколого-физиологические характеристики *C. demersum*

После 12 часовой инкубации в среде с добавлением 1% раствора катионных СПАВ при температуре +36°C у растений *C. demersum* наблюдался частичный листопад, выраженность которого была значительно ниже, чем в эксперименте с катионными СПАВ при температуре +20°C (прил. 9). Следует отметить, что с повышением температуры до +36°C создаётся оптимальная среда для растворения используемых катионных СПАВ.

Динамика содержания пигментов, отношения хлорофилла *a/b* и доля хлорофиллов в ССК в тканях *C. demersum* под влиянием сочетания гипертермии и химического фактора отражена в таблице 11.

Таблица 11.

Влияние 1% раствора катионных СПАВ и гипертермии (+36°C) на содержание пигментов (мг/г сырого материала), отношение хлорофилла *a/b* и долю хлорофиллов в ССК (в %) в тканях *C. demersum* в условиях инкубации и реабилитации

	хл <i>a</i>	хл <i>b</i>	каротиноиды	<i>a/b</i>	(хл <i>a</i> + хл <i>b</i> )/ каротиноиды	доля хлоро- филлов в ССК
Контроль	1,350	0,500	0,275	2,70	6,727	59
12 часов инкубации	1,121	0,440	0,173*	2,55	9,007	62
72 часа инкубации	1,539	0,570	0,533*	2,70	3,953	59
Контроль	1,330	0,490	0,265	2,71	6,868	59
Реабилитация от 12 часов	1,529*	0,564	0,353	2,71	5,938	59
Реабилитация от 72 часов	0,745*	0,328*	0,331	2,27	3,240	67

\* обозначены статистически значимые различия опыта с контролем ( $p < 0,05$ ).

В фазу первичной стрессовой индукции в тканях растений опытной группы содержание каротиноидов в 1,6 раза было ниже, чем в тканях растений



контрольной группы, однако уже в фазу адаптации показатель в 1,9 раза был выше показателя контрольной группы.

В период реабилитации от влияния 1% раствора катионных СПАВ при гипертермии содержание хлорофилла *a* и *b* в тканях *C. demersum* опытной группы было в 1,5-1,8 раза ниже показателей контрольной группы, тогда как содержание каротиноидов – выше в 1,3 раза. Повреждение пигментного комплекса в растительных тканях, вероятно, было обусловлено солюбилизацией тилакоидных мембран, изменением их жирно-кислотного состава, нарушением ультраструктуры хлоропластов, а также солюбилизацией хлорофилл-белковых комплексов под действием СПАВ (Markwell et al., 1982; Rinallo et al., 1988; Kobayashi et al., 1990; Yang et al., 1996). Комбинированное влияние факторов привело к снижению содержания фотосинтетических пигментов и в период реабилитации, как при влиянии только гипертермии.

Динамика содержания водорастворимых и мембраносвязанных белков в тканях *C. demersum* отражена на рис. 33. В фазу первичной стрессовой индукции в тканях растений опытной группы содержание мембраносвязанных белков в 1,6 раза было выше значения показателя контрольной группы. Вероятной причиной увеличения содержания мембраносвязанных белков может быть противостояние организма водного растения *C. demersum* процессам солюбилизации мембран катионными СПАВ. В фазу адаптации в тканях *C. demersum* опытной группы содержание водорастворимых и мембраносвязанных белков было ниже в 3,5 раза и 1,5 раза соответственно, чем в тканях контрольной группы растений. В период реабилитации от влияния 1% раствора катионных СПАВ и гипертермии (+36°C) содержание водорастворимых белков в тканях растений опытной группы было выше в 1,3 раза, а содержание мембраносвязанных белков – ниже в 1,3 раза, как и в случае реабилитации от влияния только гипертермии.

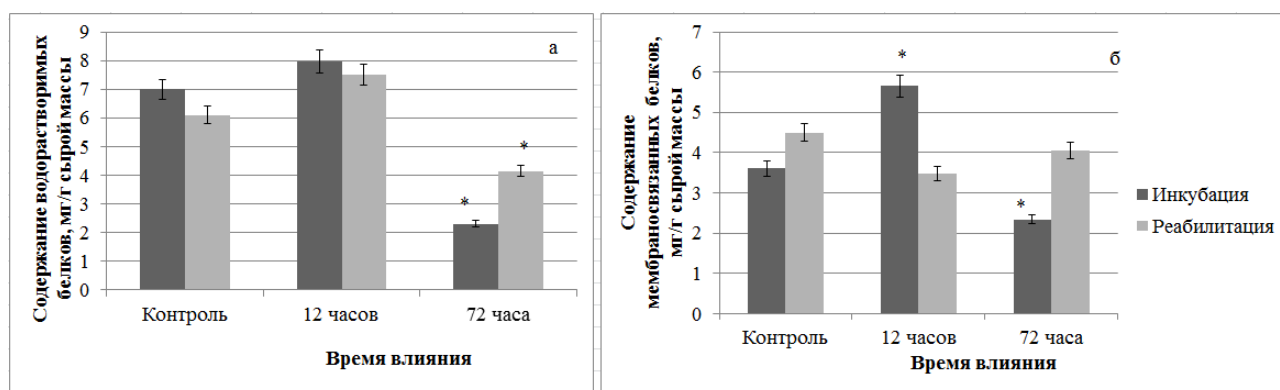


Рис. 33. Динамика содержания водорастворимых (а) и мембраносвязанных (б) белков в тканях *C. demersum* в условиях инкубации при гипертермии (+36°C) с добавлением 1% раствора катионных СПАВ с последующей реабилитацией;

\* обозначены статистически значимые различия опыта с контролем ( $p < 0,05$ ).

Динамика содержания фенольных соединений и МДА в тканях *C. demersum* под влиянием сочетания гипертермии и химического фактора отражена на рис. 34.

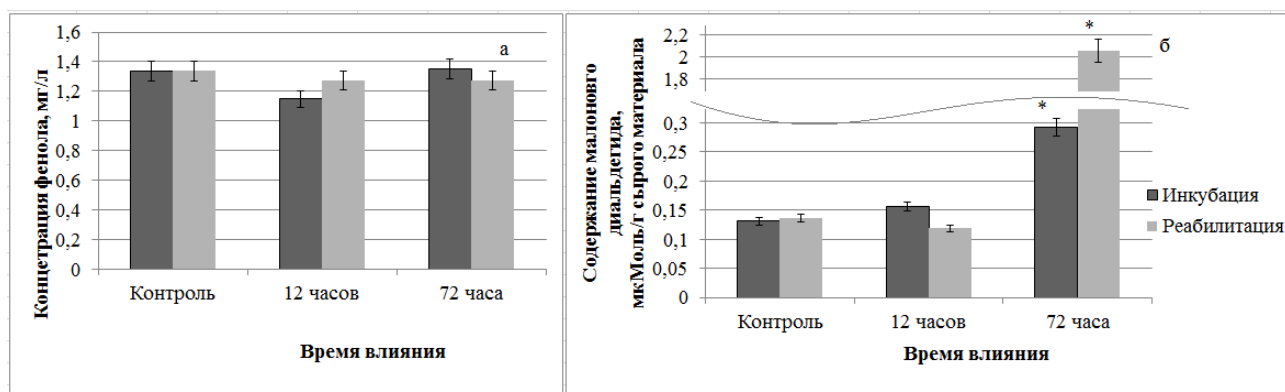


Рис. 34. Динамика содержания фенольных соединений (а) и малонового диальдегида (б) в тканях *C. demersum* в условиях инкубации при гипертермии (+36°C) с добавлением 1% раствора катионных СПАВ с последующей реабилитацией;

\* обозначены статистически значимые различия опыта с контролем ( $p < 0,05$ ).

В фазу первичной стрессовой индукции показатель содержания фенольных соединений опытной группы был ниже показателя контрольной в 1,2 раза. В фазу адаптации в тканях растений опытной группы содержание МДА было в 2,2 раза выше показателя контрольной группы, в период реабилитации – выше в 5 раз.

Динамика ферментативной активности в тканях *S. demersum* в условиях инкубации при гипертермии (+36°C) с добавлением 1% раствора катионных СПАВ представлена на рис. 35, 36.

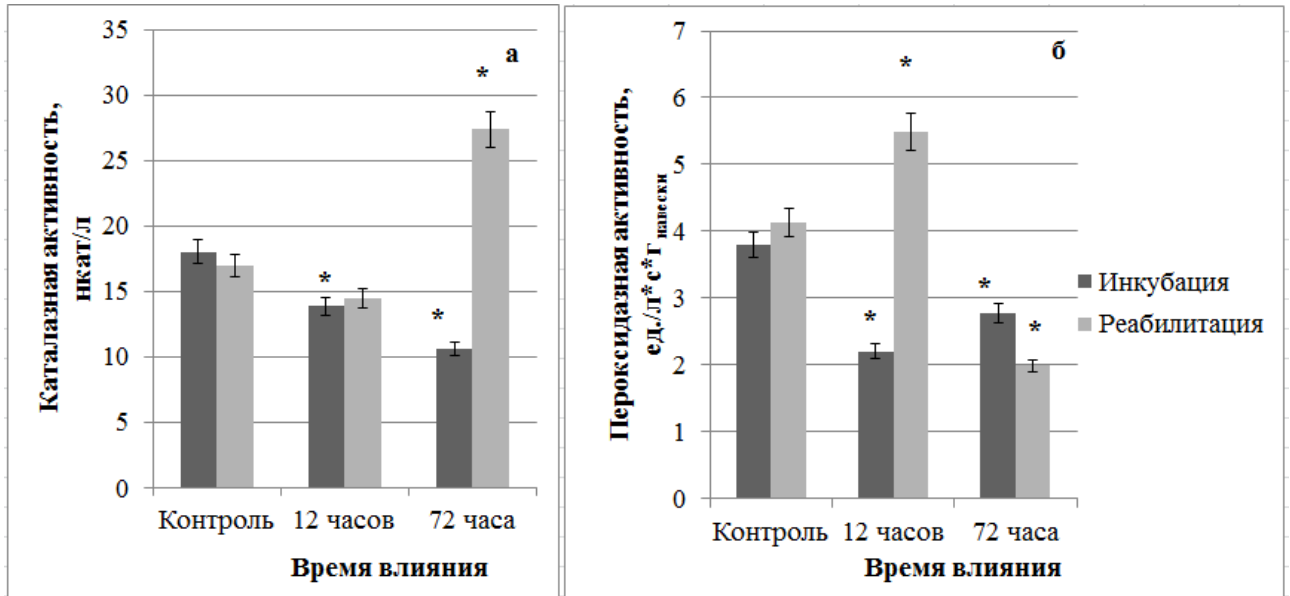


Рис. 35. Динамика каталазной (а) и пероксидазной (б) активности в тканях *S. demersum* в условиях инкубации при гипертермии (+36°C) с добавлением 1% раствора катионных СПАВ с последующей реабилитацией;

\* обозначены статистически значимые различия опыта с контролем ( $p < 0,05$ ).

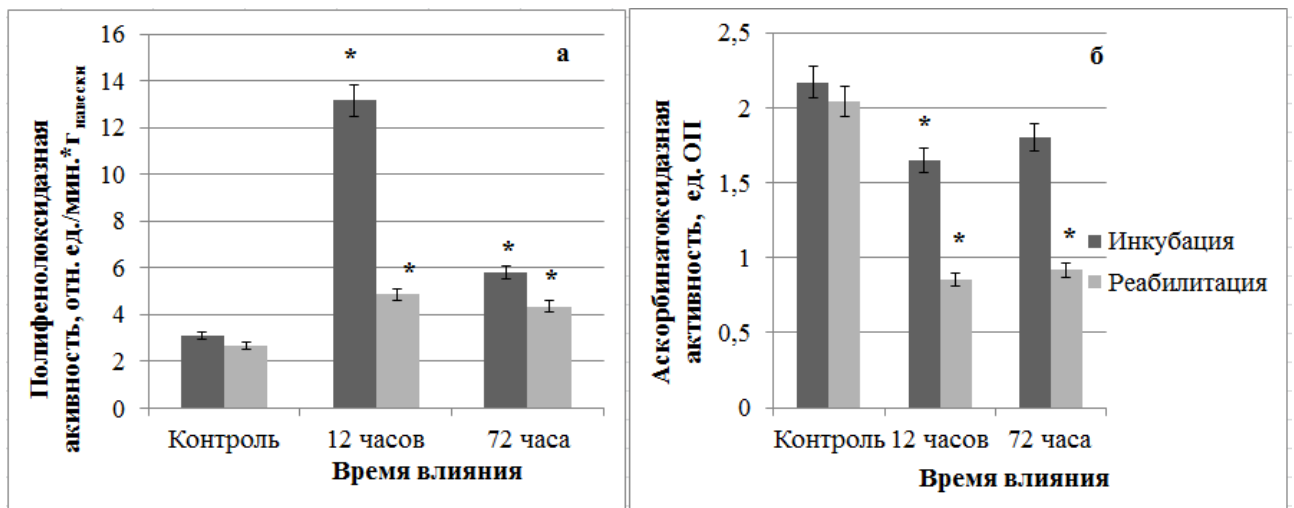


Рис. 36. Динамика полифенолоксидазной (а) и аскорбинатоксидазной (б) активности в тканях *S. demersum* в условиях инкубации при гипертермии (+36°C) с добавлением 1% раствора катионных СПАВ с последующей реабилитацией;

\* обозначены статистически значимые различия опыта с контролем ( $p < 0,05$ ).

В фазу первичной стрессовой индукции в тканях растений опытной группы каталазная и АО активность была ниже в 1,3 раза, ПО активность – в 1,7 раза, тогда как ПФО активность – выше в 4,2 раза, чем показатели контрольной группы растений. В фазу адаптации в тканях растений опытной группы каталазная активность была ниже в 1,7 раза, ПО и АО – в 1,3 раза, чем показатели контрольной группы растений. В период реабилитации от влияния сочетания гипертермии и химического фактора в тканях *C. demersum* каталазная и ПФО активность была выше показателей контрольной группы растений в 1,6 раза, тогда как ПО и АО активность – в 2 раза ниже.

Общая схема влияния сочетания гипертермии и химического фактора на эколого-физиологические показатели тканей *C. demersum* представлена на рис. 37

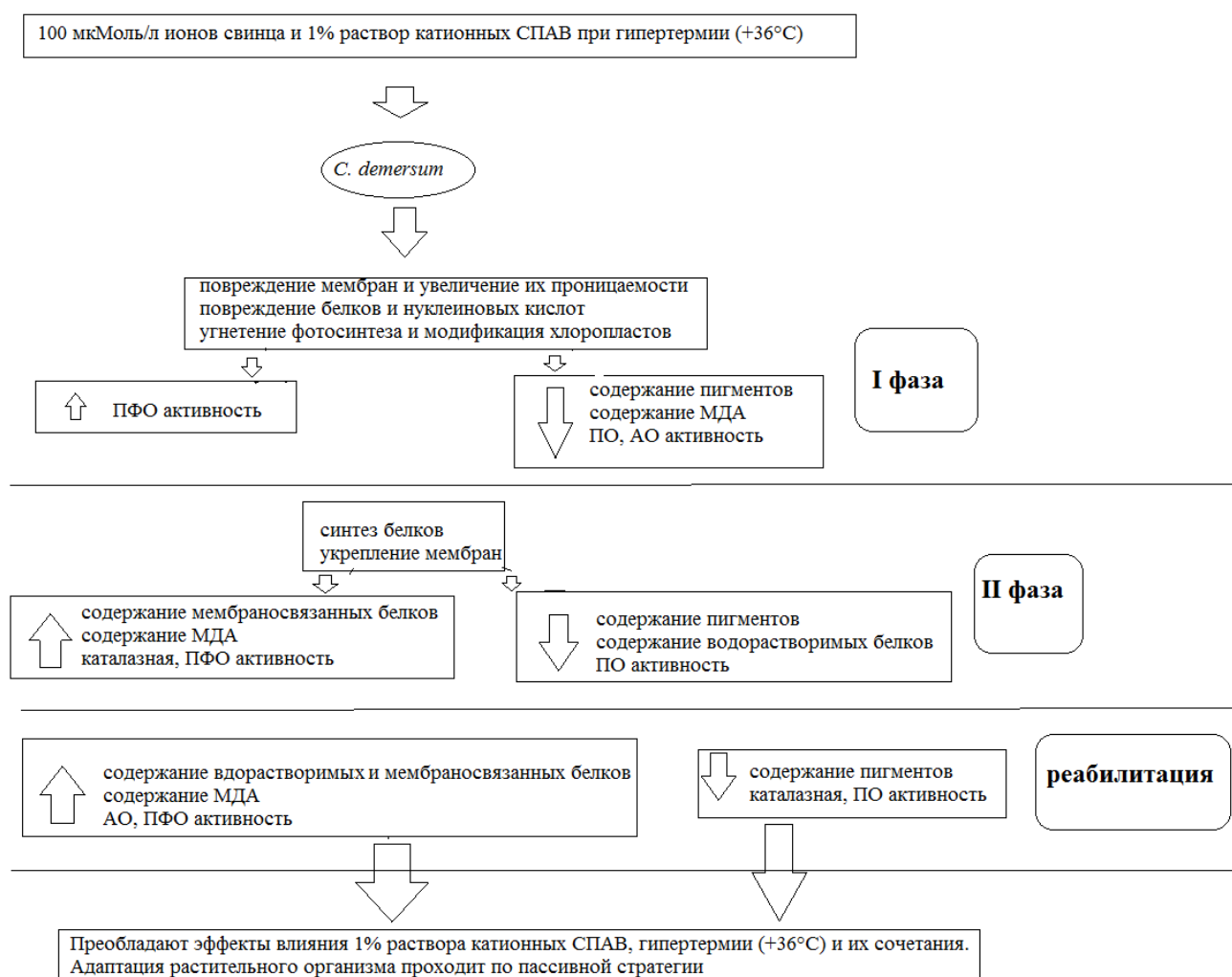


Рис. 37. Схема влияния 1% раствора катионных СПАВ и гипертермии (+36°C) на эколого-физиологические показатели тканей *C. demersum*

Влияние сочетания гипертермии и химического фактора на эколого-физиологические показатели тканей *C. demersum* выявило, что преобладают эффекты гипертермии. Негативное влияние катионных СПАВ снижается при возрастании температуры, вследствие этого для организма водного растения *C. demersum* реабилитация оказалась принципиально возможной, однако пяти суток для полного восстановления биохимических показателей тканей опытных растений было недостаточно.

### **3.7. Влияние сочетания ионов свинца, раствора катионных СПАВ и гипертермии на эколого-физиологические характеристики *C. demersum***

В эксперименте с влиянием сочетания гипертермии и химических факторов наблюдались внешние повреждения растений *C. demersum*: частичный листопад, небольшой хлороз (прил. 10), – степень выраженности морфологических повреждений была меньше, чем в случае токсического действия поллютантов по отдельности или в комбинации ионы свинца и раствор катионных СПАВ. По-видимому, при повышении температуры, кроме увеличения растворимости поллютантов, увеличивается степень их взаимодействия друг с другом, отчасти нейтрализующая токсические эффекты, в частности снижение парциального давления кислорода из-за образования плёнки катионных СПАВ на границе раздела сред вода-воздух обуславливает меньшую чувствительность макрофитов к действию ТМ (Филенко и др., 2007).

Динамика содержания пигментов, отношение хлорофилла *a/b* и доля хлорофиллов в ССК в тканях *C. demersum* отражена в таблице 12. В фазу первичной стрессовой индукции при влиянии 100 мкМоль/л ионов свинца и 1% раствора катионных СПАВ при повышенной температуре (+36°C) содержание пигментов в тканях *C. demersum* в 2,5-5 раз было ниже, чем в тканях растений контрольной группы, как при влиянии только гипертермии. Отношение хлорофилла *a/b* в тканях растений опытной группы в результате в 1,3 раза было выше показателя контрольной.

В фазу адаптации содержание пигментов в тканях растений опытной группы было ниже показателей контрольной в 1,7 раза. Аналогичные показатели наблюдались у опытной группы в фазу адаптации при влиянии 100 мкМоль/л ионов свинца.

В период реабилитации от влияния сочетания гипертермии и химических факторов в тканях растений опытной группы содержание хлорофилла *a* было ниже в 2,9 раза, хлорофилла *b* – в 10 раз, каротиноидов – в 2 раза. Сходные данные были получены в эксперименте с влиянием ионов свинца при повышенной температуре.

Таблица 12.

Влияние 100 мкМоль/л ионов свинца и 1% раствора катионных СПАВ при гипертермии (+36°C) на содержание пигментов (мг/г сырого материала), отношение хлорофилла *a/b* и долю хлорофиллов в ССК (в %) в тканях *S. demersum* в условиях инкубации и реабилитации

	хл <i>a</i>	хл <i>b</i>	каротиноиды	<i>a/b</i>	(хл <i>a</i> + хл <i>b</i> )/ каротиноиды	доля хлоро- филлов в ССК
Контроль	1,290	0,480	0,255	2,69	6,941	60
12 часов инкубации	0,284*	0,082*	0,010*	3,48*	3,674*	49
72 часа инкубации	0,722*	0,259*	0,153*	2,79	6,415	58
Контроль	1,300	0,48	0,265	2,71	6,717	59
Реабилитация от 12 часов	0,442*	0,043*	0,133*	10,23*	3,662*	20
Реабилитация от 72 часов	1,287	0,480	0,254	2,68	6,946*	60

\* обозначены статистически значимые различия опыта с контролем ( $p < 0,05$ ).

Динамика содержания водорастворимых и мембранносвязанных белков отражена на рис. 38. В фазу адаптации в тканях растений опытной группы содержание водорастворимых белков было ниже в 3 раза, чем значение показателя контрольной группы растений, тогда как содержание мембранносвязанных белков – в 1,3 раза выше.

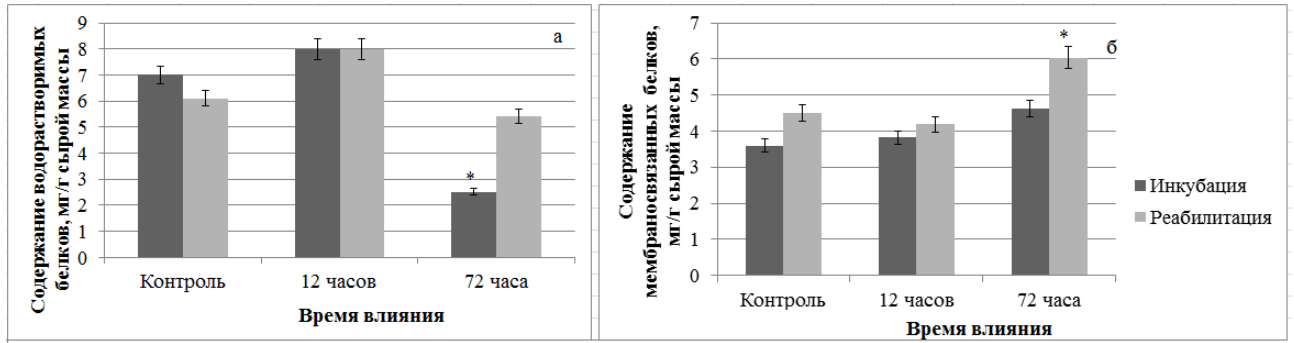


Рис. 38. Динамика содержания водорастворимых (а) и мембранносвязанных (б) белков в тканях *C. demersum* в условиях инкубации при гипертермии (+36°C) с добавлением 100 мкМоль/л ионов свинца и 1% раствора катионных СПАВ с последующей реабилитацией; \* обозначены статистически значимые различия опыта с контролем ( $p < 0,05$ ).

В период реабилитации от влияния сочетания факторов в тканях *C. demersum* опытной группы содержание водорастворимых и мембранносвязанных белков было выше в 1,3 раза показателей контрольной группы растений. Аналогичное значение показателя содержания мембранносвязанных белков в тканях растений опытной группы наблюдались при влиянии 100 мкМоль/л ионов свинца и 1% раствора катионных СПАВ. Вероятно, увеличение содержания мембранносвязанных белков – ответная реакция растений по укреплению мембран.

Динамика содержания фенольных соединений и МДА в тканях *C. demersum* под влиянием сочетания гипертермии и химических факторов представлена на рис. 39. В фазу первичной стрессовой индукции содержание МДА в тканях опытной группы растений в 1,3 раза было ниже показателя контрольной, что, скорее всего, связано не с работой АОС, а с деградацией пигментного комплекса и снижением интенсивности фотосинтеза (Жиров и др., 2006).

В фазу адаптации в тканях *C. demersum* опытной группы содержание МДА было выше в 1,5 раза, чем в тканях растений контрольной группы, как и при влиянии 1% раствора катионных СПАВ, гипертермии (+36°C) и их сочетания.

В фазу реабилитации от влияния сочетания гипертермии и химических факторов в тканях растений опытной группы содержание МДА в 2,8 раза было выше, чем в тканях растений контрольной группы, сходные данные были

получены в эксперименте с влиянием 1% раствора катионных СПАВ при повышенной температуре (+36°C).

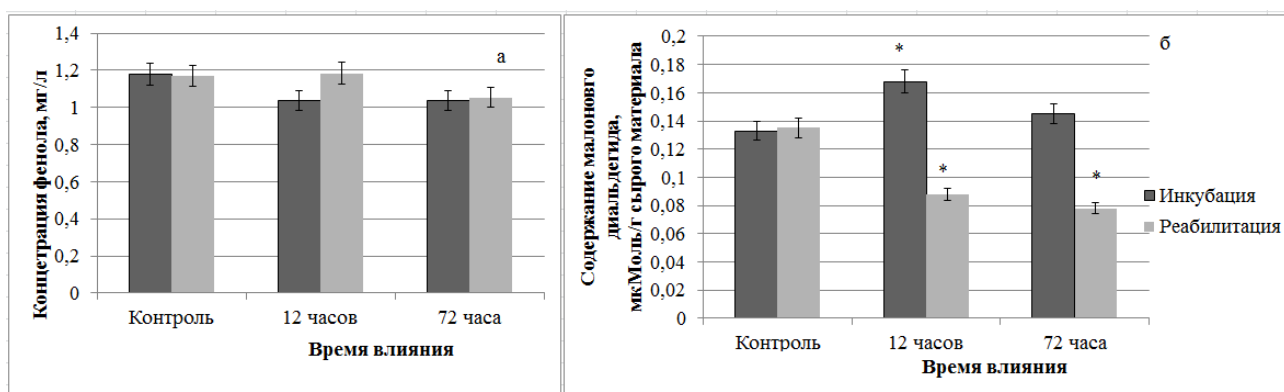


Рис. 39. Динамика содержания фенольных соединений (а) и малонового диальдегида (б) в тканях *C. demersum* в условиях инкубации при гипертермии (+36°C) с добавлением 100 мкмоль/л ионов свинца и 1% раствора катионных СПАВ с последующей реабилитацией; \* обозначены статистически значимые различия опыта с контролем ( $p < 0,05$ ).

Динамика ферментативной активности в тканях *C. demersum* в условиях инкубации при сочетании гипертермии и химических факторов отражена на рис. 40, 41.

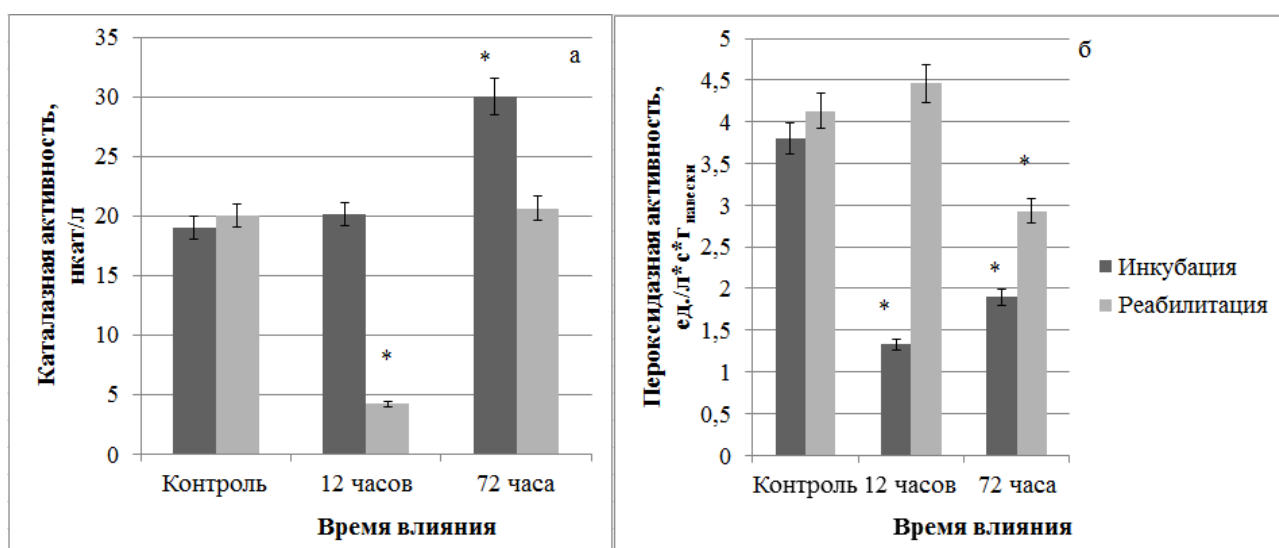


Рис. 40. Динамика каталазной (а) и пероксидазной (б) активности в тканях *C. demersum* в условиях инкубации при гипертермии (+36°C) с добавлением 100 мкмоль/л ионов свинца и 1% раствора катионных СПАВ с последующей реабилитацией; \* обозначены статистически значимые различия опыта с контролем ( $p < 0,05$ ).



В фазу первичной стрессовой индукции при влиянии сочетания гипертермии и химических факторов в тканях растений опытной группы ПО и АО активность были ниже в 3,3 раза, чем показатели контрольной группы растений, тогда как ПФО активность – выше в 5,5 раза.

В фазу адаптации в тканях *S. demersum* опытной группы каталазная и ПФО активность были выше в 1,5 и 2,2 раза соответственно, чем показатели контрольной группы растений, тогда как ПО активность – в 2 раза ниже.

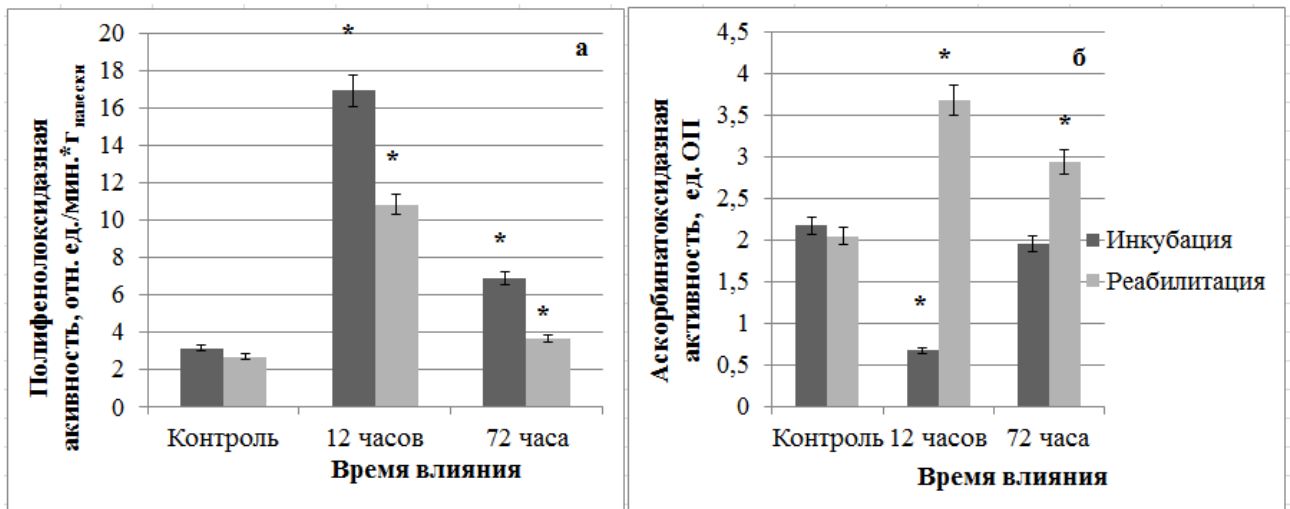


Рис. 41. Динамика полифенолоксидазной (а) и аскорбинатоксидазной (б) активности в тканях *S. demersum* в условиях инкубации при гипертермии ( $+36^{\circ}\text{C}$ ) с добавлением 100 мкМоль/л ионов свинца и 1% раствора катионных СПАВ с последующей реабилитацией; \* обозначены статистически значимые различия опыта с контролем ( $p < 0,05$ ).

В фазу реабилитации от влияния сочетания гипертермии и химических факторов в тканях растений опытной группы каталазная активность была ниже в 5 раз, ПО – в 1,3 раза, в то время как АО и ПФО активность в 1,8 раза и 4 раза соответственно были выше значений показателей контрольной группы растений. Сходные данные были получены в экспериментах с влиянием 100 мкМоль/л ионов свинца при повышенной температуре ( $+36^{\circ}\text{C}$ ) и 1% раствором катионных СПАВ при повышенной температуре ( $+36^{\circ}\text{C}$ ).

Общая схема влияния 100 мкМоль/л ионов свинца и 1% раствора катионных СПАВ при гипертермии ( $+36^{\circ}\text{C}$ ) на эколого-физиологические показатели тканей

*C. demersum* представлена на рис. 42. В эксперименте преобладают эффекты влияния 1% раствора катионных СПАВ, гипертермии (+36°C) и их сочетания, однако повреждения растительных тканей и отклонение биохимических показателей от значений контрольной группы растений выражены в меньшей степени. В целом, адаптация растительного организма проходит по пассивной стратегии, для которой характерно снижение уровня энергообмена и целостности всех уровней организации, кроме организменного (Жиров и др., 2009).

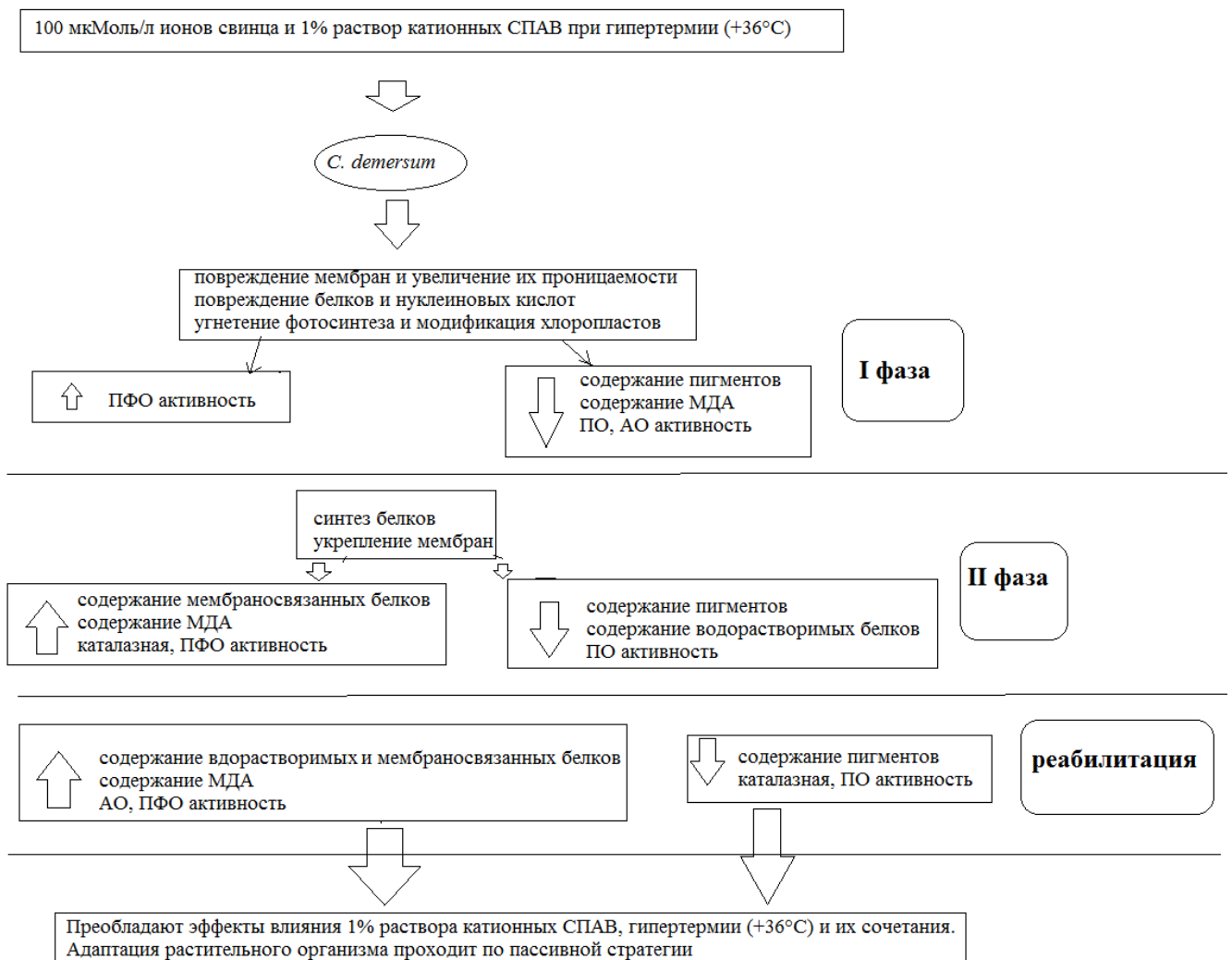


Рис. 42. Общая схема влияния 100 мкМоль/л ионов свинца и 1% раствора катионных СПАВ при гипертермии (+36°C) на эколого-физиологические показатели тканей *C. demersum*.

Исходя из полученных данных, можно заключить, что наибольшим повреждающим эффектом на ткани *C. demersum* обладает 1% раствор катионных СПАВ, реабилитация от влияния фактора для данного растения оказалась

невозможной. В экспериментах с сочетанием факторов преобладают эффекты влияния гипертермии: снижение содержания фотосинтетических пигментов после 12 часов инкубации в 5 раз, повышение полифенолоксидазной активности в 4 раза и содержания фенольных соединений в 1,3 раза.

## Выводы

1. У роголистника темно-зеленого *C. demersum* выявлены эколого-физиологические реакции, свидетельствующие об устойчивости и адаптации к действию антропогенных факторов различной природы: изменение активности работы антиоксидантной системы для ликвидации продуктов окислительного стресса; повышение содержания защитных водорастворимых и мембраносвязанных белков для стабилизации и укрепления мембран; увеличение содержания каротиноидов как протекторных соединений; повышение аскорбинатоксидазной активности для подачи сигнала стресса и запуска ответной реакции растительного организма; увеличение полифенолоксидазной активности для интенсификации дыхания и компенсации недостатка энергии вследствие снижения процессов фотосинтеза.
2. Адаптационные возможности макрофитов *C. demersum* наиболее выражены по отношению к действию комбинаций факторов, индивидуальное действие раствора катионных СПАВ приводит к гибели водных растений. Обнаружено, что в комбинации эффектов влияния гипертермии и химических факторов преобладают эффекты влияния гипертермии: снижение содержания фотосинтетических пигментов, повышение полифенолоксидазной активности и содержания фенольных соединений.
3. Реабилитация от влияния 1% раствора катионных СПАВ для макрофитов *C. demersum* оказалась невозможна. Реабилитационные процессы по отношению ко всем остальным исследованным факторам их комбинациям занимают более пяти дней.

## **Список используемых сокращений**

АО – аскорбинатоксидаза.

АОС – антиоксидантная система.

АФК – активные формы кислорода.

БТШ – белки теплового шока.

МДА – малоновый диальдегид.

ПДК – предельно допустимая концентрация.

ПО – пероксидаза.

ПОЛ – перекисное окисление липидов.

ПФО – полифенолоксидаза.

ССК – светособирающий комплекс.

СПАВ – синтетические поверхностно-активные вещества.

ТМ – тяжёлые металлы.

### Список использованной литературы

1. Адрианова, Е.Ю. Хлорофилл и продуктивность растений / Е.Ю. Адрианова, И.А. Тарчевский. – М.: Наука, 2000. – 135 с.
2. Айздайчер, Н.А. Токсическое действие детергентов на водоросль *Plagioselmis prolunga* (Cryptophyta) / Н.А. Айздайчер, Ж.В. Маркина // Биол. моря. – 2006. – Т. 32. №1. – С. 50-54.
3. Андреева, В.А. Фермент пероксидаза / В.А. Андреева. – М.: Наука, 1988. – 130 с.
4. Артамонов, В.И. Растения и чистота природной среды / В.И. Артамонов. – М.: Наука, 1986. – 157 с.
5. Байрамова, Л.А. К вопросу об изменениях климата в глобальном масштабе / Л.А. Байрамова // Austrian Journal of Technical and Natural Sciences. – 2015. – №1. – С. 94-97.
6. Барабой, В.А. Механизмы стресса и перекисное окисление липидов / В.А. Барабой // Успехи современной биологии. – 1991. – Т. 111. №6. – С. 923-932.
7. Барсукова, В.С. Физиолого-генетические аспекты устойчивости растений к тяжелым металлам: Аналит. обзор / СО РАН; ГПНТБ; Ин-т почвоведения и агрохимии / В.С. Барсукова. – Новосибирск, 1997. – 63 с.
8. Биочино, А.А. Экспериментальные исследования действия повышенной температуры воды на высшие водные растения / А. А. Биочино // Тр. Ин-та биологии внутр. Вод АН ССР. – 1982. – №45 (48). – С. 3-14.
9. Битюцкий, Н.П. Принципы классификации и некоторые механизмы структурно-функциональных перестроек пресноводных экосистем в условиях антропогенного стресса / Н.П. Битюцкий // Гидробиологический журнал. – 1998. – Т. 34. №6. – С. 72-93.

10. Борисова, Г.Г. Гидрофиты как показатели загрязнения тяжёлыми металлами водных объектов урбанизированных территорий / Г.Г. Борисова, М.Г. Малёва // Экология фундаментальная и прикладная: Проблемы урбанизации: Сборник материалов Международной научно-практической конференции / УрГУ. Екатеринбург. – 2005. – С. 66-68.
11. Ботаника. Энциклопедия «Все растения мира»: Пер. с англ. (ред. Григорьев Д.И. и др.) – Konemann, 2006. – С. 210.
12. Бояркин, А.Н. Быстрый метод определения активности пероксидазы / А.Н. Бояркин // Биохимия. – 1951. – Т. 16. №4. – С. 352–355.
13. Брагинский, Л.П. Принципы классификации и некоторые механизмы структурно-функциональных перестроек пресноводных экосистем в условиях антропогенного пресса / Л.П. Брагинский // Гидробиол. журн. – 1998. – Т.34. №6. – С.72-94.
14. Бриттон, Г. Биохимия природных пигментов. Пер. с англ. / Г. Бриттон. – М.: Мир, 1986. – 422 с.
15. Быкова, Г.С. Доочистка загрязнённой органическими веществами сточной воды наядой мелкокозубчатой / Г.С. Быкова, И.Ф. Шаталаев, А.В. Воронин, Н.Е. Чистяков // Известия Самарского научного центра РАН. – 2009. – Т.11. №1 (6). – С. 1336-1341.
16. Вадов, Д.Л. Активность антиоксидантных ферментов и содержание продуктов перекисного окисления липидов при действии кратковременного засоления на растения, различающиеся по содержанию АБК / Д.Л. Вадов, А.А. Брилкина, А.П. Веселов // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. – 2008. – №1. – С.73-76.
17. Вайсман, Я.М. Использование водных растений для доочистки сточных вод / Я.М. Вайсман, Л.В. Рудакова, Е.В. Калинина // Экология и промышленность России. – 2006. – №11. – С. 9-11.

18. Вишневецкий, В.Ю. Анализ воздействия загрязняющих веществ на поверхностные водные объекты / В.Ю. Вишневецкий, Ю.М. Вишневецкий // Известия Южного федерального университета. Технические науки. – 2009. – Т. 96. №7. – С. 135-139.
19. Владимиров, В.А. Проблема глобального изменения климата как природная опасность / В.А. Владимиров, Ю.И. Чураков // Стратегия гражданской защиты: проблемы и исследования. – 2014. – №1. Т.4. – С. 506-519.
20. Владимиров, Ю.А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю.А. Владимиров, А.И. Арчаков, Г.М. Франк. – М.: Наука, 1972. – 252 с.
21. Воронков, Н.А. Изучение каталитических свойств пероксидазы хлоропластов / Н.А. Воронков, И.В. Живопицева // Физиология и биохимия здорового и больного растения. – М.: Изд-во МГУ, 1970. – С. 305-311.
22. Воронков, Н.А. Основы общей экологии / Н.А. Воронков. – М.: Агар, 1999. – 96 с.
23. Газарян, Г.И. Особенности структуры и механизма действия пероксидаз растений / Г.И. Газарян, Д.М. Хушпульян, В.И. Тишков // Успехи биологической химии. – 2006. – Т. 46. – С. 303-330.
24. Гарифзянов, А.Р. Образование и физиологические реакции активных форм кислорода в клетках растений / А.Р. Гафриянов, Н.Н. Жуков, В.В. Иванищев // Современные проблемы науки и образования. – 2011. – Т.49. № 2. – С. 161-183.
25. Геннис, Р. Биомембраны. Молекулярная структура и функции / Р. Геннис. – М.: Мир, 1997. – 624 С.
26. Головкин, Т.К. Актуальные вопросы экофизиологии растений / Т.К. Головкин // Структурно-функциональные особенности биосистем Севера (особи, популяции, сообщества): Материалы конференции. Петрозаводск. – 2005. – Ч.1 (А-Л). – С. 88-91.



27. Головки, Т.К. Мезоструктура и активность фотосинтетического аппарата трёх видов растений сем. *Crassulaceae* в холодном климате / Т.К. Головки, И.В. Далькэ, Д.С. Бачаров // Физиология растений. – 2008. – Т.55. №5. – С. 671-680.
28. Горелова, С.В. Оценка возможности использования древесных растений для биоиндикации и биомониторинга выбросов предприятий металлургической промышленности / Горелова С.В., Гарифзянов А.Р., Ляпунов С.М., Горбунов А.В., Окина О.И., Фронтасьева М.В. // Проблемы биогеохимии и геохимической экологии. – 2010. – №1(12). – С. 155-163.
29. Грабельных, О.И. Энергетические функции митохондрий растений в стрессовых условиях / О.И. Грабельных // Journal of Stress Physiology & Biochemistry. – 2005. – Т. 1. №1. – С. 38-54.
30. Гринштейн, С.В. Структурно-функциональные особенности мембранных белков /С.В. Гринштейн, О.А. Кост // Успехи биол. химии. 2001. – Т. 41., №1. – С. 77-104.
31. Грубинко, В.В. Структурные адаптации клеточных стенок водных растений к действию цинка и свинца / В.В. Грубинко, К.В. Костюк // Біологічний вісник МДПУ. – 2012. – №2. – С. 58-66.
32. Гудков, С.В. Биоантиоксиданты (часть 1) / С.В. Гудков, В.И. Брусков, А.В. Куликов, А.Г. Бобылёв, Д.А. Куликов, А.В. Молочков // Альмананх клинической медицины. – 2014. – №31. – С. 61-65.
33. Гузеева, С.А. Экологическое состояние поверхностных вод и донных отложений озера г. Тюмени / С.А. Гузеева // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – 2014. – №8. – С. 134-139.
34. Гуральчук, Ж.З. Механизмы устойчивости растений к тяжелым металлам / Ж.З. Гуральчук // Физиология и биохимия культ. растений. – 1994. – Т. 26. № 2. – С.107-117.

35. Давлетшин, А.И. Влияние поверхностно-активных веществ на активность пероксидазы. II. Влияние катионных ПАВ /А.И. Давлетшин, Н.А. Калабина, С.Ю. Зайев, В.В. Егоров // Биоорганическая химия. – 1998. – Т. 24. № 6. – С. 430-432.
36. Добровольский, Г.В. Тяжелые металлы в окружающей среде и охрана природы / Г.В. Добровольский. – М.: МГУ, 1988. – С. 4-13.
37. Долгоносов, Б.М. Проблемы обеспечения качества воды в природно-техническом комплексе водоснабжения / Б.М. Долгоносов // Инженерная экология. – 2003. – № 5. – С. 2-4.
38. Духовский, П. Реакция растений на комплексное воздействие природных и антропогенных стрессоров / П. Духовский, Р. Юкнис, А. Бразайтите, И. Жукаускайте // Физиология растений. – 2003. – Т.50. №2. – С. 165-173.
39. Ермаков, А.И. Методы биохимического исследования растений / А.И. Ермаков, В.В. Арасимович, М.И. Смирнова-Иконникова, Н.П. Ярош, Г.А. Луковникова. – Л.: Изд-во Колос, 1972. – С. 49-50.
40. Ермаков, А.И. Методы биохимического исследования растений / А.И. Ермаков, В.В. Арасимович, Н.П. Ярош, Ю.В. Перуанский, Г.А. Луковникова, М.И. Иконникова. – Л.: Агропромиздат, 1987. – С. 44-45.
41. Жиров, В.К. Интродукция растений как приоритетное направление научной и практической деятельности Полярно-альпийского ботанического сада-института / В.К. Жиров, О.Б. Гонтарь // Вестник Кольского научного центра РАН. – 2009. – №1. – С. 34-44.
42. Жиров, В. К. Взаимодействия структур различных уровней организации и адаптационные стратегии растений / В.К. Жиров, А.Х. Хаитбаев, А.Ф. Говорова, О.Б. Гонтарь // Вестник Мурманского государственного технического университета. – 2006. – №5. Т. 9. – С. 725-728.

43. Жутов, А.С. Исследование возможности обессоливания водоёма-охладителя Балаковской АЭС с помощью высших водных растений / А.С. Жутов, С.М. Рогачёва, Т.И. Губина // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2010. – Т. 12. № 1(8). – С. 2125-2128.
44. Заварзин, Г.А. Роль биоты в глобальных изменениях климата / Г.А. Заварзин // Физиология растений. – 2001. – Т. 48, №2. – С.306-314.
45. Зарипова, Н.Р. Действие избыточных концентраций тяжёлых металлов на экспрессию хлоропластных генов растений ячменя: автореф. дис. канд. биол. наук: 03.00.12 / Зарипова Нелли Раилевна. – Москва, 2008. – 21 с.
46. Иванов, Б.Н. Восстановление кислорода в хлоропластах и аскорбатный цикл / Б.Н. Иванов // Биохимия. – 1998. – Т. 63. №2. – С. 165-170.
47. Ипатова, В.И. Адаптация водных растений к стрессовым факторам среды / В.И. Ипатова. – М.: Изд-во «Графикон-принт», 2005. – 224 с.
48. Казнина, Н.М. Влияние свинца на фотосинтетический аппарат однолетних злаков /Н.М. Казнина, Г.Ф. Лайдинен, А.Ф. Титов, А.В. Таланов // Изв. РАН. Сер. биол. – 2005. – № 2. – С. 184-188.
49. Камкин, А.Г. Физиология и молекулярная биология мембран клеток / А.Г. Камкин, И.С. Киселёва. – М.: Издательский центр «Академия», 2008. – 592 с.
50. Карavaев, В.А. Изменения фотосинтетического аппарата листьев бобов в зависимости от содержания тяжелых металлов в среде выращивания / В.А. Карavaев, А.М. Баулин, Т.В. Гордиенко, С.А. Довыдьков, А.Н. Тихонов // Физиология растений. – 2001. – Т. 48. №1. – С. 47-54.

51. Капитонова, О.А. Некоторые особенности аккумуляции тяжелых металлов водными и прибрежно-водными растениям / О.А. Капитонова // Вестн. Удмурт. ун-та. – 2001. – №7. – С. 11-27.
52. Капитонова, О.А. Структурно-продукционные характеристики водных макрофитов сбросного канала Ижевской ТЭЦ-1 (Удмуртская республика) / О.А. Капитонова, С.Р. Тукманова // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2011. – Т.13. №5. – С. 236-241.
53. Колупаев, Ю.Е. Окислительный стресс и состояние антиоксидантной системы в колеоптилях пшеницы при действии пероксида водорода и нагрева / Ю.Е. Колупаев, Ю.В. Карпец // Вестник Харьковского национального аграрного университета. Сер. Биология. – 2008. – №2 (14). – С. 42-52.
54. Королюк, М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова, В.Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.
55. Косаковская, И.В. Стрессовые белки растений / И.В. Косаковская. – Киев: Фитосоциоцентр, 2008. – 152 с.
56. Косицына, А.А. Влияние ионов меди и кадмия на пигментный комплекс водного растения сем. *Hydrocharitaceae* / А.А. Косицына, О.Н. Макурина, В.Н. Нестеров, О.А. Розенцвет // Известия Самарского научного центра РАН. – 2010. – Т.1. №1. – С.156-161.
57. Косулина, Л.Г. Физиология устойчивости растений к неблагоприятным условиям среды / Л.Г. Косулина, Э.К. Луценко, В.А. Аксёнова. – Ростов-на-Дону: Изд-во Рост. ун-та, 1993. – 240 с.
58. Красиков, С.И. Влияние полихлорированных бифенилов на фотосинтезирующий аппарат макрофитов на примере роголистника (*Ceratophyllum demersum*) / С.И. Красиков, Н.В. Шарапова, Л.А. Чеснокова, Е.Н. Лебедева // Интеллект.

- Инновации. Инвестиции. – Оренбург: Оренбургский государственный институт менеджмента, 2013. – №1. – С. 159-162.
59. Кузнецов, В.В. Физиология растений / В.В. Кузнецов. – М.: Высш. шк., 2005. – 736 с.
60. Кулаева, О.Н. Белки теплового шока и устойчивость растений к стрессу / О.Н. Кулаева // Соросовский образовательный журнал. – 1997. – №2. – С. 5-13.
61. Кулинский, В.И. Активные формы кислорода и оксидантная модификация макромолекул: польза, вред и защита / В.И. Кулинский // Соросовский образовательный журнал. – 1999. – №1. – С. 2-7.
62. Курсанов, А.А. О принципах саморегуляции физиологических процессов у растений / А.А. Курсанов // Ученый и аудитория. – М.: Наука, 1982. – С. 142-157.
63. Ладыгин, В.Г. Современные представления о функциональной роли каротиноидов в хлоропластах эукариот / В.Г. Ладыгин, Г.Н. Ширшикова // Общая биология. – 2003. – Т. 67. № 3. – С. 163-189.
64. Лазарева, Е.В. Ускорение снижения концентрации поверхностно-активного вещества в воде микросома в присутствии растений: инновации для фитотехнологии / Е.В. Лазарев, С.А. Остроумов // ДАН. – 2009. – Т. 425. №6. – С. 843-845.
65. Леи, Я. Физиологические ответы *Populus przewalskii* на окислительный стресс, вызванный засухой / Я. Леи // Физиология растений. – 2008. – Т. 55. – С. 945-953.
66. Ли М. Кальций способствует культивированию клеток солодки в водном стрессе, индуцированном полиэтиленгликолем / М. Ли, Г. Ванг, У. Лиин // Физиология растений. – 2004. – Т. 51. – С. 875-882.
67. Лисицын, Е.М. Содержание фотосинтетических пигментов листа как индикатор экологического стресса / Е.М. Лисицын // Биодиагностика состояния природных и природно-техногенных

- систем: Материалы X Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Книга 1. – Киров: ООО «Лобань», 2012. – С. 180-184.
68. Лосева, А.С. Устойчивость растений к неблагоприятным факторам среды / А.С. Лосева, А.Е. Петров-Спиридонов. – М.: Изд-во МСХА, 1983. – 47 с.
69. Лукаткин, А.С. Вклад окислительного стресса в развитие холодового повреждения в листьях теплолюбивых растений. Образование активированных форм кислорода при охлаждении растений / А.С. Лукаткин // Физиология растений. – 2002. – Т. 49. – С. 697-702.
70. Лукаткин, А.С. Вклад окислительного стресса в развитие холодового повреждения в листьях теплолюбивых растений. Повреждение клеточных мембран при охлаждении теплолюбивых растений / А.С. Лукаткин // Физиология растений. – 2003. – Т. 50. – С. 271-274.
71. Лукаткин, А.С. Интенсивность перекисного окисления липидов в охлажденных листьях теплолюбивых растений / А.С. Лукаткин, В.С. Голованова // Физиология растений. – 1988. – Т. 35. №4. – С. 773-780.
72. Лукина, Л.Ф. Физиология высших водных растений / Л.Ф. Лукина, Н.Н. Смирнова. – Киев: Наукова думка, 1988. – 186 с.
73. Максимов, И.В. Проантиоксидантная система и устойчивость растений к патогенам / И.В. Максимов, Е.А. Черепанова // Успехи современной биологии. – 2006. – Т. 126. – С. 250-261.
74. Малёва, М.Г. Роль белков в адаптации гидрофитов к тяжелым металлам / М.Г. Малёва, Г.Ф. Некрасова // «Современные проблемы водной токсикологии» Международная конференция памяти д.б.н, профессора Б.А. Флерова: Тез. докл. / ИБВВ РАН. – Борок. – 2005. – С. 90-91.

75. Малева, М.Г. Реакция гидрофитов на загрязнение среды тяжелыми металлами / М.Г. Малёва, Г.Ф. Некрасова, В.С. Безель // Экология. – 2004. – №4. – С. 266-271.
76. Малёва, М.Г. Ответные реакции *Ceratophyllum demersum* L. на действие тяжелых металлов ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  и  $\text{Ni}^{2+}$ ) / М.Г. Малёва, И.Н. Семашко, О.А. Павлова, Г.Ф. Некрасова // Проблемы глобальной и региональной экологии: Сборник материалов конференции молодых ученых / ИЭРиЖ УрО РАН. Екатеринбург. – 2003. – С. 144-147.
77. Марчюленене, Е.Д. Оценка радиэкологической ситуации в водоёме-охладителе Игналинской АЭС после её закрытия / Е.Д. Марчюленене, О. Ефанова, Й. Мажейка // Материалы IV Международной конференции, г.Томск. 4 – 8 июня 2013 г. – С. 341-345.
78. Маслова, Т.Г. Структурно-функциональные изменения фотосинтетического аппарата у зимневегетирующих хвойных растений в разные сезоны года / Т.Г. Маслова, Н.С. Мамушина, О.А. Шерстнёва, Л.С. Буболо, Е.К. Зубкова // Физиология растений. – 2009. – Т. 56. №5. – С.672-681.
79. Махдавиан, К. Влияние салициловой кислоты на формирование окислительного стресса, индуцированного УФ-светом в листьях перца / К. Махдавиан, М. Горбанли, Х.М. Калантари // Физиология растений. – 2008. – Т. 55. – С. 620-624.
80. Метлицкий, Л.В. Фенольные соединения и их биологические функции / Л.В. Метлицкий. – М.: Наука, 1996. – С. 290-296.
81. Минин, А.А. Фенология Русской равнины: материалы и обобщения / А.А. Минин. – М.: Изд-во АБФ/АВФ, 2000. – 160 с.
82. Мирошниченко, О.С. Биогенез, биологическая роль и свойства каталазы / О.С. Мирошниченко // Биополимеры и клетка. – 1992. – Т.8. №6. – С. 3-25.

83. Моисеенко, Т.И. Качество вод и устойчивость экосистем: теоретические и прикладные аспекты исследований / Т.И. Моисеенко, С.Н. Гашев, А.Д. Шалабодов // Вестник Тюменского государственного университета. – 2012. – №12. – С. 6-12.
84. Моисеенко, Т.И. Трансформация водных экосистем при увеличении антропогенной нагрузки / Т.И. Моисеенко, А.Н. Шаров // Вестник Тюменского государственного университета. – 2010. – №7. – С. 51-57.
85. Морачевский, А.Г. Отработанные свинцовые аккумулятора – важнейший источник вторичного свинца /А.Г. Морачевский // Научно-технические ведомости Санкт-Петербургского государственного политехнического университета. – 2014. №4(207). – С. 127-137.
86. Мурзин, И.Р. Влияние ксенобиотиков на содержание мембранносвязанных белков в тканях водного погружённого растения *Egeria densa* / И.Р. Мурзин, А.А. Косицына, О.А. Розенцвет, О.Н. Макурина // Известия Самарского научного центра РАН. – 2011. – Т.13. №1. – С. 257-259.
87. Мурзин, И.Р. Особенности действия загрязнителей различной химической природы на содержание водорастворимых белков в тканях водного погруженного растения *Egeria Densa* / И.Р. Мурзин, О.Н. Макурина, А.А. Косицына, О.А. Розенцвет // Вестник СамГУ Естественнонаучная серия. – 2010. – №4 (78). – С. 191-199.
88. Мурзин, И.Р. Влияние катионных синтетических поверхностно-активных веществ на активность аскорбинатоксидазы в тканях элодеи бразильской (*Egeria densa*) / И.Р. Мурзин // Социальные и медико-биологические вопросы адаптации: материалы II Междунар. науч.-практ. конф. – Курск: Изд-во Курский институт социального образования, 2011. – С. 170-172.



89. Мурзин, И.Р. Особенности влияния различных моющих средств на полифенолоксидазную активность тканей элодеи бразильской (*Egeria densa*) / И.Р. Мурзин // Физиологические механизмы становления и поддержания функций организма: материалы Междунар. науч.-практ. конф. – Сухум: Изд-во Абхазский Государственный Университет, 2010. – С. 220-226.
90. Некрасова, Г.Ф. Роль белков в связывании Cu, Cd, Ni листьями гидрофитов / Г.Ф. Некрасова, М.Г. Малёва, О.И. Новачек // Вестник Нижневартковского государственного университета. – 2009. – №1. – С. 3-15.
91. Новикова, М.А. Влияние хронической свинцовой интоксикации на организм человека (сообщение 1) / М.А. Новикова, Б.Г. Пушкарёв, Н.П. Судаков, С.Б. Никифоров, О.А. Гольдберг, П.М. Явербаум // Сибирский медицинский журнал – 2013. – № 2. – С. 13-16.
92. Новосадова, Т.Г. Сравнительная чувствительность гидробионтов к тяжелым металлам / Т.Г. Новосадова, Н.А. Стручкова // Физиология и токсикология гидробионтов. – Ярославль: Изд-во ЯрГУ, 1990. – 205 с.
93. Одум, Ю. Основы экологии / Пер. с англ. / Ю. Одум. – М.: Мир, 1975. – 740 с.
94. Остроумов, С.А. Биологические эффекты при воздействии поверхностно-активных веществ на организмы / С.А. Остроумов. – М.: МАКС-пресс, 2001. – 334 с.
95. Остроумов, С.А. Загрязнение, самоочищение и восстановление водных экосистем / С.А. Остроумов. – М.: МАКС-Пресс, 2005. – 108 с.
96. Остроумов, С.А. О биотическом самоочищении водных экосистем. Элементы теории / С.А. Остроумов // ДАН. – 2004. – Т. 396. № 1. – С.136-141.

97. Остроумов, С.А. Изучение вопросов химико-биотических взаимодействий в биосфере / С.А. Остроумов // Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии. – 2012. – Т. 21. №4. – С. 5-19.
98. Половникова, М.Г. Экофизиология стресса [Электронный ресурс]. / М.Г. Половникова // Марийский государственный университет. – 2010. – Режим доступа: <http://marsu.ru/>.
99. Пучкаев, А.В. Обращенные мицеллы поверхностно-активных веществ в органических растворителях – модель биологических мембран / А.В. Пучкаев, Д.И. Метелица // Биохимия. – 1992. – Т.57. №4. – С. 410-417.
100. Пятыгин, С.С. Стресс у растений: физиологический подход / С.С. Пятыгин // Журнал общей биологии. – 2008. – Т.69. №4. – С. 294-298.
101. Ревин, В.В. Биофизика / В.В. Ревин. – Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2002. – 156 с.
102. Репкина, Н.С. Реакция растений пшеницы (*Triticum aestivum* L.) на раздельное и совместное действие низкой температуры и кадмия / Н.С. Репкина, В.В. Таланова, А.Ф. Титов, И.В. Букарёва // Труды Карельского научного центра РАН. – 2014. – №5. – С. 133-139.
103. Розенцвет, О.А. Роль мембранных липидов в устойчивости *Potamogeton perfoliatis* L. к избытку кадмия в воде / О.А. Розенцвет, С.В. Мурзаева, И.А. Гущина // Известия РАН. Серия биологическая. – 2005. – №2. – С. 232-239.
104. Розенцвет, О.А. Изучение особенностей аккумуляции ионов тяжелых металлов водными растениями и роли липидов в адаптации к тяжелым металлам / О.А. Розенцвет // Изв. Самар. НЦ РАН. – 2006. – Т. 6. – С. 322-340.
105. Ронжина, Д.А. Сравнительная характеристика пигментного комплекса надводных, плавающих и погружённых листьев гидрофитов / Д.А.

- Ронжина, Г.Ф. Некрасова, В.И. Пьянков // Физиология растений. – 2004. – Т.51. №1. – С. 27-34.
106. Рубин, А.Б. Биофизика фотосинтеза и методы экологического мониторинга / А.Б. Рубин // Технология живых систем. – 2005. – Т.2. – С. 42-68.
107. Самусенко, А.Л. Влияние отдельных компонентов эфирных масел на окисление цитраля /А.Л. Самусенко // Химия растительного сырья. 2012. – №4. – С. 131-136.
108. Серегин, И.В. Физиологические аспекты токсического действия кадмия и свинца на высшие растения / И.В. Серёгин, В.Б. Иванов // Физиология растений. – 2001. – Т. 48. №4. – С. 606-630.
109. Серегин, И.В. Фитохелатины и их роль в детоксикации кадмия у высших растений / И.В. Серёгин // Успехи биол. химии. – 2001. – Т. 41. – С. 283-300.
110. Синютина, А.В. Определение активности полифенолоксидазы в осине (*Populus tremula L.*), произрастающей на территории ГПЗ «Воронинский» / С.Е. Синютина, А.Г. Шубина, А.В. Емельянов, А.А. Киреев // Вестник ТГУ. – 2010. – Т.15. №1. – С. 77-78.
111. Синютина, А.В. Влияние солей свинца и никеля на ферментативную активность ячменя / С.Е. Синютина, А.В. Можаров, М.А. Зайченко // Вестник ТГУ. – 2013. – Т. 18. №1. – С. 255-257.
112. Степаненко, И.С. Антимикробная активность (+)-лимонена и его производного (+)-1,2-оксида лимонена / И.С. Степаненко, С.В. Сяткин, И.В. Акулина // Вестник Чувашского университета. – 2014. – №2. – С.368-374.
113. Степанова, Н.Ю. Механизмы детоксикации тяжелых металлов в компонентах водной экосистемы Куйбышевского водохранилища / Н.Ю. Степанова, В.З. Латыпова // Ученые записки Казанского университета. Серия Естественные науки. – 2005. – Т. 147. №3. – С. 18-26.

114. Стржалка, К. Каротиноиды растений и стрессовое воздействие окружающей среды: роль модуляции физических свойств мембран каротиноидами / К. Стржалка, А. Костецка-Гугала, Д. Латовски // Физиология растений. – 2003. – Т.50. №2. – С.188-193.
115. Субботкин, Л.Д. Очистка сточных вод от поверхностно-активных веществ методом электрофлотокоагуляции / Л.Д. Субботкин, Н.Ю. Вербицкая // Строительство и техногенная безопасность. – 2011. – Т. 38. – С. 96-106.
116. Танайлова, Е.А. Состояние высшей водной растительности и фотосинтетических пигментов тростника южного (*Phragmites australis*) водоёма-охладителя Балаковской АЭС / Е.А. Танайлова, К.Г. Грищенко, М.Ю. Воронин // Известия Саратовского университета. – 2014. – Т.14. №2. – С.101-106.
117. Тарчевский, И.А. Катаболизм и стресс растений / И.А. Тарчевский. – М.: Наука, 1993. – 83 с.
118. Тарчевский, И.А. Метаболизм растений при стрессе / И.А. Тарчевский. – Казань: Изд-во "Фэн", 2001. – 448 с.
119. Тарушкина, Ю.А. Высшие водные растения для очищения сточных вод / Ю.А. Тарушкина, Л.Н. Ольшанская, О.Е. Мечева, А.С. Лазуткина // Экология и промышленность России. – 2006. – №5. – С. 36-39.
120. Телитченко, М.М. Введение в проблемы биохимической экологии / М.М. Телитченко, С.А. Остроумов. – М.: Наука, 1990. – 228 с.
121. Титов, А.Ф. Динамика холодо-теплоустойчивости растений при действии различных стресс-факторов на их корневую систему / А.Ф. Титов, В.В. Таланова, Т.В. Акимова // Физиология растений. – 2003. – Т. 50. №1. – С. 94-99.
122. Титов, А.Ф. Устойчивость растений к тяжёлым металлам / А.Ф. Титов, В.В. Таланова, Н.М. Казнина, Г.Ф. Лайдинен. – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2007. – 172 с.

123. Ткаченко, Ф.П. Состояние элементов антиоксидантной системы водорослей из разных по степени загрязненности районов Черного моря / Ф.П. Ткаченко, Ю.А. Ситников, У.Б. Куцын // Экология моря. – 2004. – №6. – С. 70-74.
124. Тырков, А.Г. Исследование химического состава и антимикробной активности экстрактивных веществ из семян *Robinia Pseudoacacia L.* / А.Г. Тырков, Л.Т. Сухенко, Э.Р. Акмаев // Химия растительного сырья. – 2012. – №2. – С. 119-123.
125. Филенко, О.Ф. Основы водной токсикологии / О.Ф. Филенко, И.В. Михеева. – М.: Колос, 2007. – 140 с.
126. Холмберг, К. Поверхностно-активные вещества и полимеры в растворах / К. Холмберг, Б. Йёнссон, Б. Кронберг, Б. Линдман. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2007. – 528 с.
127. Ху, Ю.Ф. Ферменты антиоксидантной защиты и физиологические характеристики двух сортов топинамбура при солевом стрессе / Ю.Ф. Ху, Ж.П. Лиу // Физиология растений. – 2008. – Т. 55. – С. 863-868.
128. Чиркова, Т.В. Физиологические основы устойчивости растений / Т.В. Чиркова. – СПб: Изд-во СПб ун-та, 2002. – 244 с.
129. Чудинова, Л.А. Роль некоторых низкомолекулярных соединений в механизме перекрестной адаптации растений / Л.А. Чудинова, В.И. Суворов // Вестник Пермского университета. Серия: Биология. – 2011. – №1. – С. 17-20.
130. Чудинова, Л.А. Влияние холодового закаливания на теплоустойчивость проростков пшеницы / Л.А. Чудинова, В.И. Суворов, Е.Ю. Бурлуцкая // Вестник Пермского университета. Серия: Биология. – 2014. – №1. – С. 10-16.
131. Чудинова, Л.А. Изменение пероксидазного комплекса у проростков пшеницы при перекрёстной адаптации / Л.А. Чудинова, В.И.

- Суворов, С.С. Худеньких // Вестник Пермского университета. Серия: Биология. – 2013. – №1. – С. 52-58.
132. Чупахина, Г.Н. Система аскорбиновой кислоты растений: Монография / Г.Н. Чупахина. – Калининград: Изд-во Калинингр. ун-та, 1997. – 120 с.
133. Чупахина, Г.Н. Реакция пигментной и антиоксидантной систем растений на загрязнение окружающей среды г. Калининграда выбросами автотранспорта / Г.Н. Чупахина, П.В. Масленников, Л.Н. Скрыпник, М.И. Бессережнова // Вестник Томского государственного университета. Биология. – 2012. – №2 (18). – С. 171-185.
134. Чупахина, Г.Н. Сравнение методов анализа суммарной антиоксидантной активности / Г.Н. Чупахина, Т. Тынутае, У. Моор // Вестник Балтийского федерального университета им. И. Канта. – 2012. – №1. – С. 69-74.
135. Шакирова, Ф.М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и её регуляция / Ф.М. Шакирова. – Уфа: «Гилем», 2001. – 160 с.
136. Шахматова, О.А. Активность каталазы и контроль качества воды / О.А. Шахматова, Д.С. Парчевская // Альгология. – 2000. – №3. – С. 355-361.
137. Шевердяев, О.Н. Основы технологии поверхностно-активных веществ и синтетических моющих средств / О.Н. Шевердяев, П.С. Белова, А.М. Шкитова. – М.: издательство МГОУ, 2001. – 205с.
138. Шерстнёва, О.А. Пигментный комплекс подводных листьев некоторых видов *Potamogeton* (*Potamogetonaceae*) / О.А. Шерстнёва // Ботанический журнал. – 2004. – Т. 89. №5. – С.821-829.

139. Шмидт, С.В. Биологические эффекты температурного воздействия на растения / С.В. Шмидт // Вестник Балтийского федерального университета им. И. Канта. – 2012. – №7. – С. 122-127.
140. Яковец, О.Г. Фитофизиология стресса / О.Г. Яковец. – Минск: БГУ, 2010. – 103 с.
141. Aravind, P. Modulation of cadmium-induced oxidative stress in *Ceratophyllum demersum* by zinc involves ascorbate–glutathione cycle and glutathione metabolism / P. Aravind, M.N.V. Prasad // Plant Physiology and Biochemistry. – 2005. – Vol. 43. – P. 107-116.
142. Barylа, A. Leaf chlorosis in oilseed rape plants (*Brassica napus*) grown on cadmium-polluted soil: Causes and consequences for photosynthesis and growth / A. Barylа, P. Carrier, F. Franck, C. Coulomb, C. Sahut, M. Havaux // Planta. – 2001. – Vol. 212. – P. 696-709.
143. Bradford, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding / M.M. Bradford // Anal. Biochem. – 1976. – Vol. 72. – P. 248-254.
144. Cobbett, C. Phytochelatin and metallothioneins: roles in heavy metal detoxification and homeostasis / C. Cobbett, P. Goldsbrough // Annu. Rev. Plant Biol. – 2002. – V. 53. – P. 159-182.
145. Cuypers, A. Analysis of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) proteins affected by copper stress / A. Cuypers, M.K. Koistinen, H. Kokko, S. Kärenlampi, S. Auriola, J. Vangronsveld // J. Plant Physiol. – 2005. – Vol. 162. – P. 383-392.
146. De Tullio, M.C. Ascorbate oxidase: an enzyme in search of a role / M.C. De Tullio, R. Liso, O. Arrigoni // Biol. Plant. – 2004. – Vol. 8. – P. 48-61.
147. De Tullio, M.C. Ascorbate oxidase is the potential conductor of a symphony of signaling pathways / M.C. De Tullio, M. Guether, R. Balestrini // Plant Signaling & Behavior. – 2013. Vol. 8 (3). – P. 23-26.

148. Doust, J.L. Biological assessment of aquatic pollution: a review, with emphasis on plants as biomonitors / J.L. Doust, M. Schmidt, L.L. Doust // *Biol. Rev.* – 1994. – Vol. 69. – P. 147-186.
149. Ghani, A. Effect of lead toxicity on growth, chlorophyll and lead ( $Pb^{2+}$ ) contents of two varieties of maize (*Zea mays L.*) / A. Ghani // *Pakistan Journal of Nutrition.* – 2010. – Vol. 9. № 9. – P. 887-891.
150. Hanke, G. Proteoliposomes and plant transport proteins / G. Hanke, C.G. Bowsher, M.N. Jones, I. Tetlow, M.J. Emes // *J. Exp. Bot.* – 1999. – Vol. 50. No. 341. – P. 1715-1726.
151. Helenius, A. Solubilization of membranes by detergents / A. Helenius, K. Simons // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1975. – Vol. 415. – P. 29-79.
152. Iba, K. Acclimative response to temperature stress in higher plants: approaches of gene engineering for temperature tolerance / K. Iba // *Plant Biol.* – 2002. – Vol. 53. – P. 225-245.
153. Ishikita, H. How photosynthetic reaction centers control oxidation power in chlorophyll pairs  $P_{680}$ ,  $P_{700}$ , and  $P_{870}$  / H. Ishikita, W. Saenger, J. Biesiadka, B. Loll, E.W. Knapp // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* – 2006. – Vol. 103 (26). – P. 55-60.
154. Keskinan, O. Heavy metal adsorption properties of a submerged aquatic plant (*Ceratophyllum demersum*) / O. Keskinan, M.Z.L. Goksu, M. Basibuyuk, C.F. Forster // *Bioresource Technology.* – 2004. – Vol. 92. – P. 197-200.
155. Kimimura, M. Studies on electron transport associated with photosystem I. I. Functional site of plastocyanin, inhibitory effects of  $HgCl_2$  on electron transport and plastocyanin in chloroplasts / M. Kimimura, S. Kathon // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1972. – Vol. 282. – P. 279-292.
156. Knox, J.P. Singlet oxygen and plants / J.P. Knox, A.D. Dodge // *Phytochemistry.* – 1985. – Vol. 24. – P. 889-896.



157. Kobayashi, I. Effects of several nonionic and anionic surfactants on cucumber protoplasts / I. Kobayashi, H. Kunoh // J. Pesticide Science. – 1990. – Vol. 15. – P. 71-80.
158. Kupper, H. In situ detection of heavy metal substituted chlorophylls in water plants / H. Kupper, F. Kupper, M. Spiller // Photosynth. Res. – 1998. – Vol. 58. – P. 123-133.
159. Li, M.-H. Effects of nonionic and ionic surfactants on survival, oxidative stress, and cholinesterase activity of planarian / M.-H. Li // Chemosphere. – 2008. – Vol. 70. – P. 1796-1803.
160. Maresova, J. Influence of anionic surfactants on Zn<sup>2+</sup> and Sr<sup>2+</sup> uptake by ivy (*Hedera helix L.*) leaves / J. Maresova, M. Hornik // Nova Biotechnol. – 2009. – Vol. 9. №3. – P. 333-339.
161. Markwell, J.P. Treatment of the thylakoid membrane with surfactants / J.P. Markwell, J.P. Thornber // Plant Physiol. – 1982. – Vol. 70. – P. 633-636.
162. Mishra, S. Lead detoxification by coontail (*Ceratophyllum demersum L.*) involves induction of phytochelatins and antioxidant system in response to its accumulation / S. Mishra, S. Srivastava, R.D. Tripathi, R. Kumar, C.S. Seth, D.K. Gupta // Chemosphere. – 2006. – Vol. 65. – P. 1027-1039.
163. Onsa1, G.H. Localization of polyphenol oxidase and peroxidase from *Metroxylon sagu* / G.H. Onsa1, N.B. Saari, J. Selamat, J. Bakar, A.S. Mohammed, S. Bahri. // AsPac J. Mol. Biol. Biotechnol. – 2007. – Vol. 15 (2). – P. 91-98.
164. Palma, J.M. Plant proteases, protein degradation and oxidative stress: Role of peroxisomes / J.M. Palma, L.M. Sandalio, F.J. Corpas, M.C. Romero-Puertas, I. McCarthy, L.A. Del Río // Plant Physiol. Biochem. – 2002. – Vol. 40. – P. 521-530.

165. Plesnicar, M. Peroxidase associated with higher plant mitochondria / M. Plesnicar, W.D. Bonner, B.T. Storey // *Plant Physiol.* – 1967. – Vol. 42. №3. – P. 366-370.
166. Prasad, D.D.K. Altered  $\delta$ -aminolevulinic acid metabolism by lead and mercury in germinating seedlings of Bajra (*Pennisetum typhoideum*) / D.D.K. Prasad, A.R.K. Prasad // *J. Plant Physiol.* – 1987. – Vol. 127. – P. 241-249.
167. Prasad, M.N.V. Metal-biomolecule complexes in plants: Occurrence, functions, and applications / M.N.V. Prasad // *Analysis magazine.* – 1998. – Vol. 26. №6. – P. 25-28.
168. Prasad, M.N.V. Metallothioneins, metal binding complexes and metal sequestration in plants / M.N.V. Prasad // Springer. – 2004. – P. 47-83.
169. Rebechini, H.M. Lead-induced ultrastructural changes in chloroplasts of the hydrophyte *Ceratophyllum demersum* / H.M. Rebechini, L. Hanzely // *Z. Pflanzenphysiol.* – 1974. – Vol. 73. – P. 377-386.
170. Rinallo, C. Effects of two surfactants on *Triticum durum* Desf. plantlets / C. Rinallo, A. Bennici, E. Cenni // *Env. Exp. Bot.* – 1988. – Vol. 28. №4. – P. 367-374.
171. Roetzer, T. Phenological maps of Europe / T. Roetzer, F. Chmielewski // *Climate research.* – 2001. – Vol. 18. – P. 249-257.
172. Rosen, M.J. The relationship between the interfacial properties of surfactants and their toxicity to aquatic organisms / M.J. Rosen, F. Li, S.W. Morall, D.J. Versteeg // *Environ. Sci. Technol.* – 2001. – Vol. 35. №5. – P. 954-959.
173. Sahney, S. Links between global taxonomic diversity, ecological diversity and the expansion of vertebrates on land / S. Sahney, M.J. Benton, P.A. Ferry // *Biology Letters.* – 2010. – Vol. 6 (4). – P. 544-547.
174. Seddon, A.M. Membrane proteins, lipids and detergents: not just a soap opera / A.M. Seddon, P. Curnow, P.J. Booth // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2004. – Vol. 1666. – P. 105-117.

175. Serreze, M.C. Observational evidence of recent changes in the northern high-latitude environment / M.C. Serreze, T. Zhang, R.G. Barry, J.E. Walsh, F.S. Chapin III, T. Osterkamp, V. Romanovsky, M. Dyurgerov, W.C. Oechel, J. Morison // *Climatic Change*. – 2000. – Vol. 46. – P. 159—207.
176. Sharma, P. Lead toxicity in plants / P. Sharma, R.S. Dubey // *Braz. J. Plant Physiol.* – 2005. – Vol. 17 (1). – P. 35-52.
177. Siesko, M.M. Stress protein synthesis and peroxidase activity in a submerged aquatic macrophyte exposed to cadmium / M.M. Siesko, W.J. Fleming, R.M. Grossfeld // *Environ. Toxicol. Chem.* – 1997. – Vol. 16. №8. – P. 1755-1760.
178. Stiborova, M. Effect of heavy metal ions on growth and biochemical characteristics of photosynthesis of barley (*Hordeum vulgare L.*) / M. Stiborova, M. Doubravova, A. Brezinova, A. Friedrich // *Photosynthetica*. – 1986. – Vol. 20. – P. 418-425.
179. Stobart, A.K. The effect of  $Cd^{2+}$  on the biosynthesis of chlorophyll in leaves of barley / A.K. Stobart, W.T. Griffiths, I. Ameen-Bukhuri, R.P. Sherwood // *Physiol. Plant.* – 1985. – Vol. 63. – P. 293-298.
180. Sung, D.-Y. Acquired tolerance to temperature extremes / D.-Y. Sung, F. Kaplan, L. Kil, C.L. Guy // *Trends in Plant Science*. – 2003. – Vol. 8. №4. – P. 179-187.
181. Suzuki, N. Reactive oxygen species and temperature stresses: A delicate balance between signaling and destruction / N. Suzuki, R. Mittler // *Physiologia Plantarum*. – 2006. – Vol. 126. – P. 45-51.
182. Swain, J. The phenolic constituents of *Prunus Domestica*. The quantitative analysis of phenolic constituents / J. Swain, W.E. Hillis // *J. Sci. Food and Agr.* – 1959. – Vol. 10. №1. – P. 63-68.
183. Vavilin, D.V. Sublethal concentration of copper stimulate photosystem II photoinhibition in *Chlorella pyrenoidosa* / D.V. Vavilin, V.A. Polynov,

- D.N. Matorin, P.S. Venediktov // *Plant Physiol.* – 1995. – Vol. 146. – P. 609-614.
184. Verma, S. Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants / S. Verma, R.S. Dubey // *Plant Sci.* – 2003. – Vol. 164. – P. 645-655.
185. Vincenzini, M.T. Detergents as selective inhibitors and inactivators of enzymes / M.T. Vincenzini, F. Favilli, M. Stio, P. Vanni, C. Treves // *Physiol. Chem. Phys. Med.* – 1985. – Vol. 17. №3. – P. 279-295.
186. Wahid, A. Heat tolerance in plants: An overview / A. Wahid, S. Gelani, M. Ashrat, M.K. Foolad // *Environmental and Experimental Botany.* – 2007. – №61. – P. 199-223.
187. Wang, P. Effects of Pb on the oxidative stress and antioxidant response in a Pb bioaccumulator plant *Vallisneria natans* / P. Wang, S. Zhang, C. Wang, J. Lu // *Ecotoxicology and Environmental Safety.* – 2011. – Vol. 5. №7. – P. 234-240.
188. Warniment, C. Lead poisoning in children / C. Warniment, K. Tsang, S.S Galazka // *Am Fam Physician.* – 2010. – Vol. 15. – №81(6). – P. 751-757.
189. Yang, C.-M. Pigment solubilization of the chloroplast thylakoid membranes by a surfactant / C.-M. Yang, J.-C. Hsu, Y.-K. Lu, M.-H. Yin // *Bot. Bull. Acad. Sci.* – 1996. – Vol. 37. – P. 121-126.
190. Ying, G.G. Fate, behavior and effects of surfactants and their degradation products in the environment / G.G. Ying // *Environ. Int.* – 2006. – Vol. 32. №3. – P. 417-431.
191. Zeng, L.S. Effects of lead contamination on soil microbial activity and rice physiological indices in soil Pb rice (*Oryza sativa* L) system. / L.S. Zeng, M. Liao, C.L. Chen, C.Y. Huang // *Chemosphere.* – Vol. 65. – P. 567–574.

## Приложения

### Приложение 1

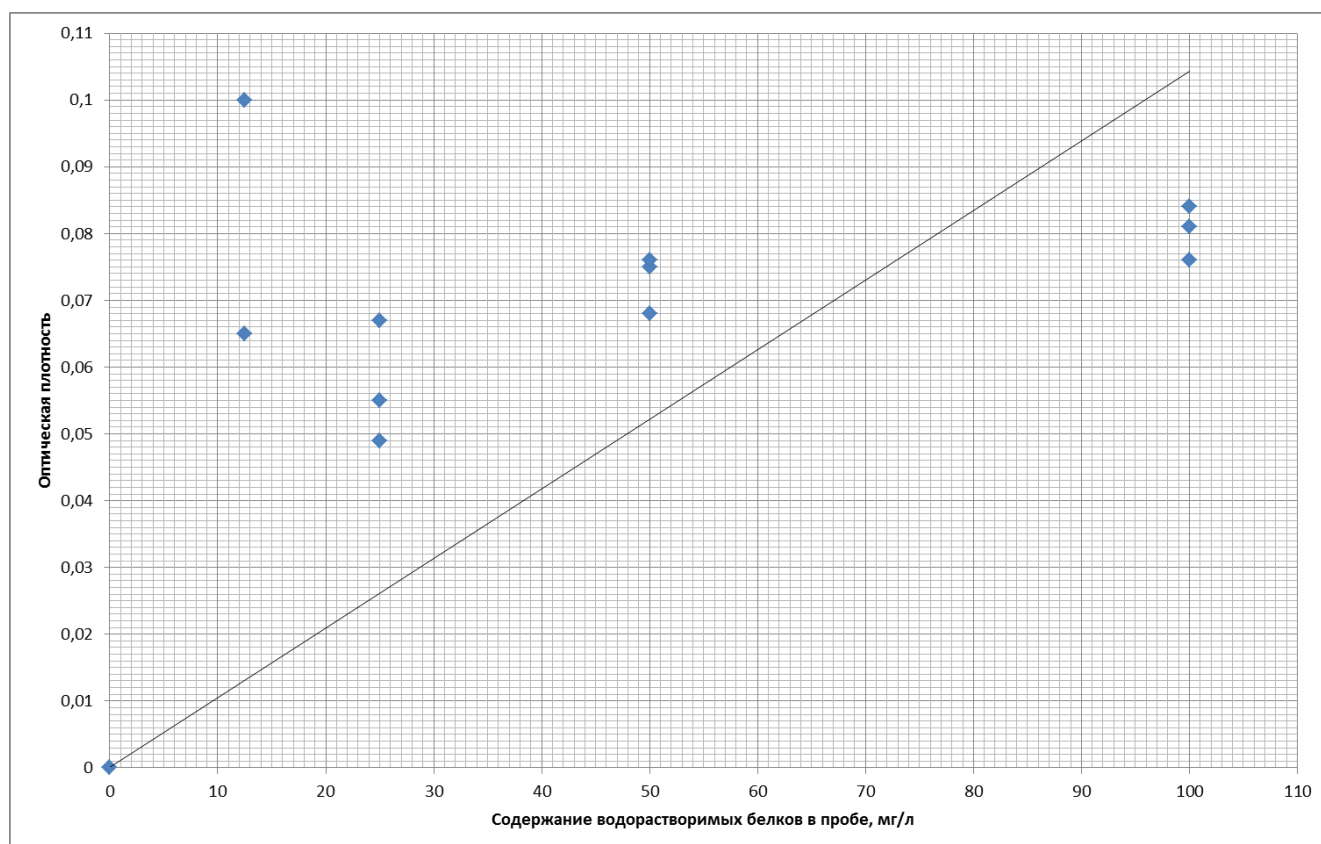
#### Химический состав ополаскивателя для белья «Дося»



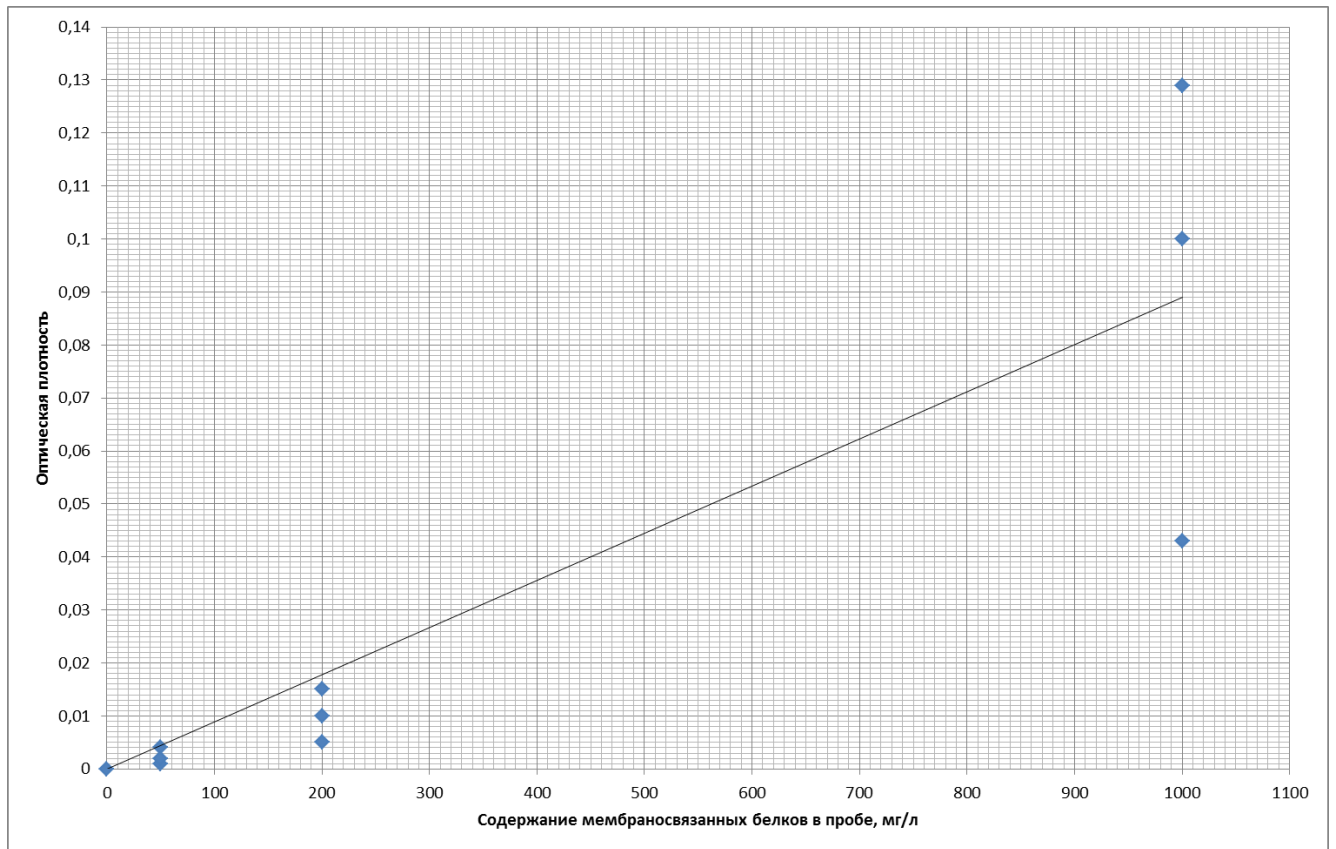
**Состав:** Менее 5% катионные ПАВ, консервант, ароматизатор, бутилфенил метилпропиональ, D-лимонен, линалоол, бензилсалицилат.

## Приложение 2

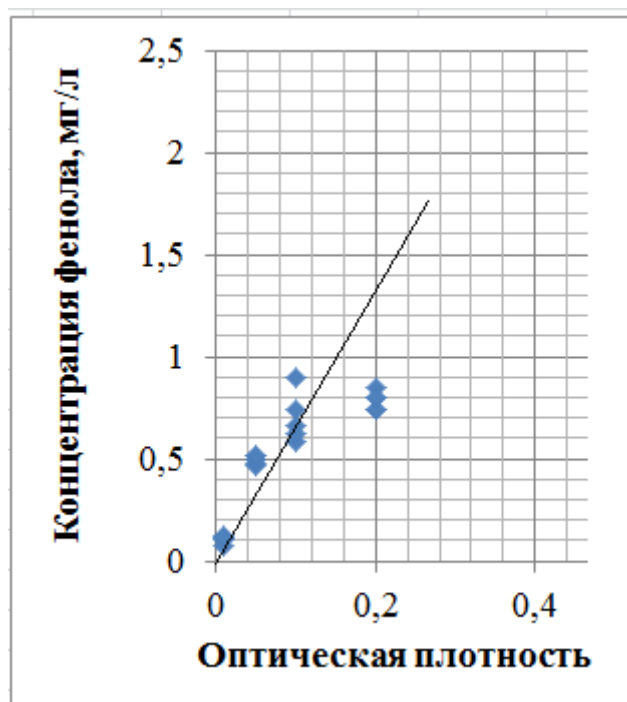
Калибровочный график для определения содержания водорастворимых белков



Калибровочный график для определения содержания мембраносвязанных белков



Калибровочный график для определения содержания фенольных соединений





Внешний вид *C. demersum* в экспериментах с токсическим действием 100 мкМоль/л ионов свинца

1. Здоровое растение *C. demersum*



2. Внешний вид *C. demersum* после трёх дней инкубации в среде с добавлением 100 мкМоль/л ионов свинца



3. Внешний вид *C. demersum* после реабилитации от 1 часа воздействия 100 мкМоль/л ионов свинца



**Приложение 6**

Внешний вид *C. demersum* в экспериментах с токсическим действием 1% раствора катионных СПАВ

1. Осадок катионных СПАВ после трёх дней инкубации в среде поллютанта



2. Внешний вид *C. demersum* после реабилитации от 4 часового воздействия 1% раствора катионных СПАВ



## Приложение 7

Внешний вид *C. demersum* в экспериментах с сочетанием токсического действия 100 мкМоль/л ионов свинца и 1% раствора катионных СПАВ

1. Внешний вид *C. demersum* после 12 часов инкубации в среде поллютантов



2. Внешний вид *C. demersum* после реабилитации от 1 часового воздействия 100 мкМоль/л ионов свинца и 1% раствора катионных СПАВ





**Приложение 8**

Внешний вид *C. demersum* в экспериментах с влиянием 100 мкМоль/л ионов свинца и гипертермии (+36°C)

1. Внешний вид *C. demersum* после 12 часов инкубации в среде с добавлением 100 мкМоль/л ионов свинца при гипертермии (+36°C)



2. Внешний вид *C. demersum* после 72 часов инкубации в среде с добавлением 100 мкМоль/л ионов свинца при гипертермии (+36°C)



**Приложение 9**

Внешний вид *C. demersum* после 12 часов инкубации в среде с добавлением 1% раствора катионных СПАВ при гипертермии (+36°C)



**Приложение 10**

Внешний вид *C. demersum* в экспериментах с токсическим действием 100 мкМоль/л ионов свинца и 1% раствора катионных СПАВ при гипертермии (+36°C)

1. Внешний вид *C. demersum* после 72 часов инкубации в среде с добавлением 100 мкМоль/л ионов свинца и 1% раствора катионных СПАВ гипертермии (+36°C)



2. Внешний вид *C. demersum* после реабилитации от 72 часов инкубации в среде с добавлением 100 мкМоль/л ионов свинца и 1% раствора катионных СПАВ при гипертермии (+36°C)

