

Галина Александровна ПЕТУХОВА¹
Валентина Викторовна ДМИТРИЕВА²
Виктория Владимировна ЗАБРОДИНА³
Елизавета Игоревна СТРЮЧКОВА⁴
Ольга Александровна ЕФРЮГИНА⁵

УДК 681.3. 574.3. 575.224

ОТВЕТНЫЕ РЕАКЦИИ МОДЕЛЬНЫХ ТЕСТ-ОБЪЕКТОВ НА НЕФТЯНОЕ ЗАГРЯЗНЕНИЕ СРЕДЫ

¹ доктор биологических наук, профессор
кафедры экологии и генетики, Институт биологии,
Тюменский государственный университет
gpetuhova1@mail.ru

² магистрант, кафедра экологии и генетики,
Институт биологии, Тюменский государственный университет;
лаборант-микробиолог, Фармасинтез-Тюмень
v.v.dmitrieva555@mail.ru

³ магистрант, кафедра экологии и генетики,
Институт биологии, Тюменский государственный университет
vduzeva@mail.ru

⁴ студент бакалавриата, кафедра экологии и генетики,
Институт биологии, Тюменский государственный университет
postmail1995@yandex.ru

⁵ студент бакалавриата, кафедра экологии и генетики,
Институт биологии, Тюменский государственный университет
lelya_busy@mail.ru

Аннотация

Исследования влияния нефти и ее водорастворимой фракции проведено на проростках растений, дрозофиле и дафниях. При внесении нефти в почву в концентрации 1% и 3%

Цитирование: Петухова Г. А. Ответные реакции модельных тест-объектов на нефтяное загрязнение среды / Г. А. Петухова, В. В. Дмитриева, В. В. Забродина, Е. И. Стрючкова, О. А. Ефрюгина // Вестник Тюменского государственного университета. Экология и природопользование. 2017. Том 3. № 1. С. 98-107.

DOI: 10.21684/2411-7927-2017-3-1-98-107

всхожесть семян у костреца безостого была на уровне контроля в большинстве сроков наблюдения, у клевера лугового всхожесть снижалась по сравнению с контролем только при 3% загрязнении, а у овсяницы — в большинстве сроков наблюдения. У проростков растений в условиях нефтезагрязнения зафиксировано увеличение содержания шиффовых оснований в клетках, что свидетельствует о повреждающем действии нефти на клеточном уровне. Содержание пигментов фотосинтеза, обеспечивающих энергетический статус клетки, возрастало у клевера лугового и снижалось в клетках костреца безостого и овсяницы красной. Содержание фенольных соединений, входящих в состав системы антиоксидантной защиты, увеличивается в клетках клевера лугового и снижается у костреца безостого и овсяницы красной.

У дрозофил и дафний при действии нефтяного загрязнения среды снижается жизнеспособность. У мух увеличивается содержание продуктов перекисного окисления липидов, что свидетельствует о значимых нарушениях в клетках при действии нефти. Система каротиноидной защиты в клетках усиливает свою работу, репарируя возникающие нарушения. При действии растворимой фракции нефти у мух проявляется эмбриотоксический эффект, а у дафний снижается жизнеспособность и двигательная активность.

Ключевые слова

Нефтяное загрязнение, проростки растений, дрозофила, дафнии, фенолы, пигменты фотосинтеза, основания Шиффа.

DOI: 10.21684/2411-7927-2017-3-1-98-107

Нефтеперерабатывающая отрасль промышленности является одной из ведущих в Тюменской области и оказывает решающее влияние на экологическую ситуацию региона. Область занимает первое место в России по числу аварийных ситуаций, связанных с добычей, переработкой и транспортировкой нефти [10; 11]. В связи с этим многие живые организмы вынуждены находиться в среде, подверженной нефтяному загрязнению. Несмотря на большое количество работ, посвященных изучению влияния нефти на растительные и животные организмы [2; 4; 6; 7], многие аспекты такого токсического, биохимического и эмбриотоксического действия остаются изученными не достаточно полно. В связи с этим нами было предпринято изучение влияния нефти и ее водорастворимой фракции (ВРФН) на проростки трех видов растений, используемых при рекультивации, а также на дрозофил и дафний.

В экспериментах использовали невысокие концентрации сырой нефти (1% и 3%) и ВРФН, которые добавляли непосредственно в среду обитания или наносили на отложенные мухами яйца.

При исследовании влияния нефтяного загрязнения среды использовали торфо-перегнойную почву с добавлением нефти в концентрации 1% и 3%. При учете всхожести семян костреца безостого (*Brōmus inērmis*), клевера лугового (*Trifolium pratēse*) и овсяницы красной (*Festuca rubra*) было показано, что у костреца безостого всхожесть была на уровне контроля в большинстве сроков

наблюдения, у клевера лугового всхожесть снижалась по сравнению с контролем только при 3% загрязнении, а у овсяницы в большинстве сроков наблюдения.

Анализ биохимических изменений в клетках растений производили при определении концентрации оснований Шиффа по методике А. А. Шведовой и Н. Б. Полянского [9], содержание пигментов фотосинтеза оценивали по методике И. А. Шульгина и А. А. Ничипоровича [8], а фенолов — по методике А. И. Федоровой и А.Н. Никольской [5].

Известно [3], что при действии нефтяного загрязнения концентрация продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) повышается, т. к. растения находятся в состоянии стресса. Во всех вариантах исследования концентрация шиффовых оснований (таблица 1) увеличивалась, а, значит, нефтяное загрязнение влияет на процессы жизнедеятельности [1].

Наряду с возникновением повреждений клеток необходимо обеспечивать их энергетический статус, который позволяет распределить энергию на детоксикацию и для работы ферментов, к числу таких систем относится система пигментов фотосинтеза. У всех обследованных проростков содержание пигментов фотосинтеза было меньше, чем в контроле (таблица 1). Каротиноиды улавливают энергию при длине волны 440 нм и передают ее на хлорофилл А в процессе фотосинтеза, также каротиноиды являются ферментами антиоксидантной защиты. Анализ концентрации пигментов показал, что каротиноиды не справляются даже с 1% содержания нефти в среде: их содержание в клетках снижается. Вероятно, нефтяное загрязнение нарушает клеточные мембраны, эти нарушения влияют на все жизненные процессы и сокращают продолжительность жизни растений. Каротиноиды устраняют избыток активных форм кислорода, защищая пигменты и ненасыщенные жирные кислоты липидов от окислительного повреждения.

В ходе экспериментов было выявлено снижение не только содержания каротиноидов в клетках, но и снижение содержания другого фермента антиоксидантной защиты клеток — фенолов. Известно, что у растений при нефтяном загрязнении при повышении содержания фенольных соединений происходит адаптация к действию нефти путем активизации биохимических систем защиты. При снижении концентрации фенолов растения находятся в угнетенном состоянии и не справляются с повреждающим действием нефти. У клевера содержание фенольных соединений увеличивалось, вероятно, растения по-разному реагируют на различные концентрации нефти; возможно, они пытаются приспосабливаться к загрязнению среды нефтью.

Наряду с растениями исследование влияния нефти (в концентрации 1%) на показатели жизнедеятельности проводили на дрозофиле (*Drosophila melanogaster*).

Анализ выживаемости мух показал, что жизнеспособность самок и самцов мух в условиях нефтезагрязнения среды была ниже контрольного уровня (таблица 2). Удельная плодовитость самок снижена при содержании их в условиях загрязнения питательной среды нефтью в концентрации 1%.

В условиях нефтезагрязнения нарушения у дрозофил возникают и на клеточном уровне (таблица 3). В клетках мух увеличивается содержание продуктов ПОЛ — диеновых конъюгатов и оснований Шиффа. У дрозофил в клетках активизируется система каротиноидной защиты, которая, вероятно, восстанавливает внутриклеточные нарушения. Однако такое восстановление происходит, вероятно, не полностью, о чем свидетельствует снижение в опытном варианте плодовитости и выживаемости мух.

Таблица 1

Биохимические показатели в клетках проростков травянистых растений при хроническом нефтяном загрязнении среды

Table 1

Biochemical indices in cells of herbaceous plants sprouts with chronic oil contamination of the environment

Биохимические показатели	Варианты эксперимента		
	контроль	нефть, 1%	нефть, 3%
кострец безостый			
Основания Шиффа (усл. ед./мг липидов)	0,02 ± 0,104	1,84 ± 0,096*	2,59 ± 0,881*
Суммарное содержание пигментов фотосинтеза (мг)	71,91 ± 0,346	58,21 ± 1,124*	44,52 ± 1,125*
Концентрация каротиноидов (мг)	21,35 ± 0,116	18,97 ± 0,345*	16,43 ± 0,385*
Концентрация фенолов (мг)	8,32 ± 0,110	6,24 ± 0,383*	5,41 ± 0,429*
клевер луговой			
Основания Шиффа (усл. ед./мг липидов)	0,26 ± 0,209	0,48 ± 0,086*	0,77 ± 0,160*
Суммарное содержание пигментов фотосинтеза (мг)	20,57 ± 0,205	21,48 ± 0,979*	15,78 ± 0,956*
Концентрация каротиноидов (мг)	10,91 ± 0,109	11,01 ± 0,316	12,57 ± 0,384*
Концентрация фенолов (мг)	6,14 ± 0,090	6,66 ± 0,291*	7,91 ± 0,252*
овсяница красная			
Основания Шиффа (усл. ед./мг липидов)	0,52 ± 0,309	1,62 ± 0,127*	2,38 ± 0,094*
Суммарное содержание пигментов фотосинтеза (мг)	36,14 ± 0,359	24,05 ± 1,306*	17,39 ± 1,103*
Концентрация каротиноидов (мг)	11,69 ± 0,110	8,21 ± 0,396*	5,97 ± 0,504*
Концентрация фенолов (мг)	7,07 ± 0,102	6,24 ± 0,337*	4,58 ± 0,433*

Примечание: * — статистически достоверные различия между контролем и вариантом эксперимента (при P < 0,05)

Notes: * — statistically significant differences between the control and the variant of the experiment (at P < 0.05)

Таблица 2

Выживаемость и плодовитость мух в условиях нефтяного загрязнения среды

Варианты эксперимента	Выживаемость (%) на 15 день		Удельная плодовитость (шт)
	самки	самцы	
Контроль	81,0 ± 1,2	79,0 ± 1,0	8,4 ± 0,35
Нефть, 1%	78,0 ± 1,1*	75,0 ± 1,2*	7,1 ± 0,26*

Table 2

Survival and fertility of flies in the conditions of oil pollution of the environment

Таблица 3

Биохимические показатели дрозофил при действии среды, загрязненной нефтью

Варианты эксперимента	Концентрация (усл. ед./мг липидов)		Концентрация каротиноидов (мг)
	диеновых конъюгатов	оснований Шиффа	
Контроль	1,01 ± 0,010*	0,06 ± 0,002*	0,41 ± 0,006 *
Нефть, 1%	3,66 ± 0,128*	0,36 ± 0,016*	0,68 ± 0,006*

Table 3

Biochemical parameters of drosophila in the oil-contaminated environment

У мух проводили исследование влияния не только сырой нефти, но и ВРФН на отложенные мухами яйца. ВРФН вносили сразу после подсчета количества отложенных яиц.

Полученные результаты (таблица 4) свидетельствуют о генотоксическом действии ВРФН в концентрации 3,7% на эмбрионы дрозофил. Количество отложенных самками яиц (удельная плодовитость) не изменялось, т. к. мухи содержались на чистой питательной среде, а частота ранних и поздних леталей увеличивались при нанесении растворимой в воде нефтяной фракции на отложенные яйца. Вероятно, эмбрионы, начиная развиваться в отложенных яйцах мух, останавливались в развитии и погибали как на ранних, так и на более поздних стадиях. Это свидетельствует об эмбриотоксическом действии нефти на яйца дрозофил.

Еще одним объектом, используемым в нашем исследовании, были дафнии (*Daphnia magna*). Дафнии были более чувствительны к действию ВРФН по сравнению с дрозофилами и могли выживать в нашем эксперименте в концентрациях 1,1% и ниже (таблица 5). Анализ выживаемости рачков в течение 7 дней показал, что дафнии снижали свою жизнеспособность при действии ВРФН в концентрации 1,1% и 0,5%. Поведенческие реакции рачков, регистрируемые по двигательной активности, снижались в большем диапазоне концентраций — от 1,1% до 0,2%. Это свидетельствует о том, что поведение у животных более чувствительный биоиндикационный показатель по сравнению с выживаемостью.

Таблица 4

Частота доминантных леталей у дрозофил при действии ВРФН

Table 4

The frequency of dominant lethals in drosophila under the influence of crude oil water associated fraction (WAF)

Варианты эксперимента	Удельная плодовитость (шт.)	Частота леталей (%)		
		ранних	поздних	доминантных
Контроль	18,5 ± 0,76	1,38 ± 0,28	0,22 ± 0,04	1,60 ± 0,32
ВРФН (3,7%)	19,9 ± 0,72	4,67 ± 0,34*	0,65 ± 0,09*	5,32 ± 0,43*

Таблица 5

Выживаемость и двигательная активность дафний в условиях нефтяного загрязнения среды

Table 5

Survival and motor activity of daphnia in the conditions of oil contaminated environment

Вариант эксперимента	Количество дафний	Выживаемость (%) на 7 день	Двигательная активность, (%)
К	30	100 – 0,3	46,3 ± 0,89
ВРФН (1,1%)	30	70,3 ± 2,5*	20,2 ± 0,73*
ВРФН (0,5%)	30	87,1 ± 2,13*	32,3 ± 0,54*
ВРФН (0,2%)	30	100 – 0,3	39,2 ± 0,28*
ВРФН (0,1%)	30	100 – 0,3	44,5 ± 0,78

Таким образом, проведенные нами исследования позволяют сделать следующие заключения. При внесении нефти в почву в концентрации 1% и 3% всхожесть семян у костреца безостого была на уровне контроля в большинстве сроков наблюдения, у клевера лугового всхожесть снижалась по сравнению с контролем только при 3% загрязнении, а у овсяницы — в большинстве сроков наблюдения. У проростков растений в условиях нефтезагрязнения зафиксировано увеличение содержания шиффовых оснований в клетках, что свидетельствует о повреждающем действии нефти на клеточном уровне. Содержание пигментов фотосинтеза, обеспечивающих энергетический статус клетки, возрастало у клевера лугового и снижалось в клетках костреца безостого и овсяницы красной. Содержание фенольных соединений, входящих в состав системы антиоксидантной защиты, увеличивается в клетках клевера лугового и снижается у костреца безостого и овсяницы красной.

У дрозофил и дафний при действии нефтяного загрязнения среды снижается жизнеспособность. У мух увеличивается содержание продуктов перекисного окисления липидов, что свидетельствует о значимых нарушениях в клетках при действии нефти. Система каротиноидной защиты в клетках усиливает свою

работу, ремонтируя возникающие нарушения. При действии растворимой фракции нефти у мух проявляется эмбриотоксический эффект, а у дафний снижается жизнеспособность и двигательная активность.

Полученные результаты свидетельствуют об опасности нефтяного загрязнения среды даже в невысоких концентрациях для растительных и животных организмов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гашев С. Н. Влияние нефтяного загрязнения на фауну и экологию мелких млекопитающих Среднего Приобья: автореф. дисс. на соиск. уч. ст. к. б. н. / С. Н. Гашев. Свердловск: ИЭРиЖ. 1991. 26 с.
2. Добринский Л. Н. Экология ХМАО / Л. Н. Добринский, В. В. Плотников. Тюмень, 1997. 282 с.
3. Осипова Е. С. Влияние нефтяного загрязнения на биохимические и морфофизиологические показатели растений: Дис. к. биол. н. / Е. С. Осипова. Тюмень, 2013. 156 с.
4. Петухова Г. А. Механизмы устойчивости организмов к нефтяному загрязнению среды / Г. А. Петухова, Тюмень. 2008. 182 с.
5. Федорова А. И. Практикум по экологии и охране окружающей среды / А. И. Федорова, А. Н. Никольская. М.: ВЛАДОС, 2001. 288 с.
6. Черкашин С. А. Отдельные аспекты влияния углеводородов нефти на рыб и ракообразных / С. А. Черкашин. Вестник ДВО РАН. 2005. № 3. С. 124-128.
7. Чижов Б. Е. Лес и нефть Ханты-Мансийского автономного округа / Б. Е. Чижов. Тюмень. 1998. 192 с.
8. Шведова А. А. Метод определения конечных продуктов перекисного окисления липидов в тканях — флуоресцирующих шиффовых оснований / А. А. Шведова, Н. Б. Полянский // Исследование синтетических и природных антиоксидантов *in vitro* и *in vivo*: сб. науч. статей / под ред. Е. Б. Бурлаковой. М.: Наука, 1992. С. 72–73.
9. Шульгин И. А. Расчет содержания пигментов с помощью номограмм / И. А. Шульгин, А. А. Ничипорович // Хлорофилл. Минск: Наука и техника, 1974. С. 127-136.
10. Экологическое состояние, использование природных ресурсов, охрана окружающей среды Тюменской области: Обзор Тюменской обл. ком. окр. среды и природных ресурсов. Тюмень. 2005. С. 65-73.
11. Statistical Review of World Energy 2015 / Centre for Energy Economics Research and Policy, Heriot-Watt University, 2015. 43 pp.

Galina A. PETUKHOVA¹
Valentina V. DMITRIEVA²
Viktoriya V. ZABRODINA³
Elizaveta I. STRYCHKOVA⁴
Olga A. EFRYUGINA⁵

THE RESPONSE OF MODEL TEST OBJECTS TO OIL ENVIRONMENTAL POLLUTION

- ¹ Dr. Sci. (Biol.), Professor,
Department of Ecology and Genetics,
Institute of Biology, Tyumen State University
gpetuhova1@mail.ru
- ² Master Degree Student, Department of Ecology and Genetics,
Institute of Biology, Tyumen State University;
Assistant Microbiologist, Farmasintez-Tyumen
v.v.dmitrieva555@mail.ru
- ³ Master Degree Student, Department of Ecology and Genetics,
Institute of Biology, Tyumen State University
vduzeva@mail.ru
- ⁴ Undergraduate Student, Department of Ecology and Genetics,
Institute of Biology, Tyumen State University
postmail1995@yandex.ru
- ⁵ Undergraduate Student, Department of Ecology and Genetics,
Institute of Biology, Tyumen State University
lelya_busy@mail.ru

Abstract

Research of oil and its water-soluble fraction impact was carried out on the germinants of plants, drosophilas and water fleas. Soil contamination by oil in the concentration of 1% and 3% led to no significant changes in the germination of rump, a decrease in the germination of meadow clover only in 3% oil pollution and a decrease in the germination of fescue both in 1% and 3% concentrations. The content of Schiff bases in the cells of plants grown in

Citation: Petukhova G. A., Dmitrieva V. V., Zabrodina V. V., Strychkova E. I., Efryugina O. A. 2017. "The Response of Model Test Objects to Oil Environmental Pollution". Tyumen State University Herald. Natural Resource Use and Ecology, vol. 3, no 1, pp. 98-107.
DOI: 10.21684/2411-7927-2017-3-1-98-107

contaminated soil was high, which indicates oil damage effect on cells level. The concentration of photosynthesis pigments, which provides energy for cells, increased in meadow clover cells and decreased in the cells of rump and fescue. The level of such important antioxidants as phenols rose in the cells of meadow clover and reduced in rump and fescue cells.

The viability of drosophilas and daphnias decreased due to oil pollution. The concentration of lipid peroxidation products in drosophilas was higher, which shows significant disorder in cells in the conditions of oil contamination. In turn, carotenoids defense system activated and restored appearing disturbances. The impact of the water-soluble fraction of oil on drosophilas led to embryotoxic effect, while viability and motion activity of daphnias was decreased.

Keywords

Oil pollution, germinants of plants, drosophila, water flea, phenols, photosynthesis pigments, Schiff bases.

DOI: 10.21684/2411-7927-2017-3-1-98-107

REFERENCES

1. Centre for Energy Economics Research and Policy. 2015. Statistical Review of World Energy 2015. Heriot-Watt University.
2. Cherkashin S. A. 2005. "Otdel'nye aspekty vliyaniya uglevodorodov nefti na ryb i rakoobraznykh" [Certain Aspects of Oil Hydrocarbons Influence on Fishes and Crustacea]. Vestnik of the Far East Branch of the Russian Academy of Sciences, no 3, pp. 124-128.
3. Chizhov B. E. 1998. Les i neft' Khanty-Mansiyskogo avtonomnogo okruga [The Forest and Oil of the Khanty-Mansi Autonomous Okrug]. Tyumen.
4. Dobrinsky L. N., Plotnikov V. V. 1997. Ekologiya KhMAO [Ecology of the Khanty-Mansi Autonomous Okrug]. Tyumen.
5. Fedorova A. I., Nikolskaya A. N. 2001. Praktikum po ekologii i okhrane okruzhayushchey sredy [Practice Studies on Ecology and Environmental Protection]. Moscow: VLADOS.
6. Gashev S. N. 1991. "Vliyanie neftyanogo zagryazneniya na faunu i ekologiyu mel-kikh mlekoopitayushchikh Srednego Priob'ya" [The Influence of Oil Pollution on Fauna and Ecology of Small Mammals in the Middle Ob Region]. Cand. Sci. (Biol.) diss. abstract. Sverdlovsk (Yekaterinburg): IERiZh.
7. Osipova E. S. 2013. Vliyanie neftyanogo zagryazneniya na biokhimicheskie i morfo-fiziologicheskie pokazateli rasteniy [The Influence of Oil Pollution on Biochemical and Morph-Physiologic Indicators of Plants]. Cand. Sci. (Biol.) diss. Tyumen.
8. Petukhova G. A. 2008. Mekhanizmy ustoychivosti organizmov k neftyanomu zagryazneniyu sredy [The Mechanisms of Organisms' Resistance to Oil Pollution of the Environment]. Tyumen.
9. Shulgin I. A., Nichiporovich A. A. 1974. "Raschet sodержaniya pigmentov s pomoshch'yu nomogramm" [Calculation of the Pigments Maintenance by the Means of Nomograms], pp. 127-136. In: Khlorofill. Minsk: Nauka i tekhnika.

10. Shvedova A. A., Polyansky N. B. 1992. “Metod opredeleniya konechnykh produktov perekisnogo okisleniya lipidov v tkanyakh — fluorestsiruyushchikh shiffovyykh osnovaniy” [The Method for Defining the Final Products of Peroxide Oxidation of Lipids in Fabrics — The Fluorescing Shift Bases]. In: Burlakov E. B. (ed.). 1992. Issledovanie sinteticheskikh i prirodnykh antioksidantov in vitro i in vivo: sb. nauch. statey [Research of Synthetic and Natural Antioxidants of In Vitro and In Vivo], pp. 72–73. Moscow: Nauka.
11. Tyumen Region Environment and Natural Resources Committee. 2005. Ekologicheskoe sostoyanie, ispol'zovanie prirodnykh resursov, okhrana okruzhayushchey sredy Tyumenskoy oblasti: Obzor Tyumenskoy obl. kom. okr. sredy i prirodnykh resursov [Ecological State, Use of Natural Resources, Environmental Protection of the Tyumen Region: Review of the Tyumen Region Environment and Natural Resources Committee], pp. 65-73. Tyumen.