

Оценка токсичного воздействия диоксидов азота и серы на химический состав *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. ИК-спектральный анализ

А. Ф. МЕЙСУРОВА, С. Д. ХИЖНЯК, П. М. ПАХОМОВ

ГОУ ВПО «Тверской государственный университет»
170100, Тверь, ул. Желябова, 33
E-mail: alexandrauraz@mail.ru

АННОТАЦИЯ

Изучено влияние некоторых поллютантов на лишайник *Hypogymnia physodes*. Экспериментально выявлено, что наибольшие изменения в химическом составе лишайника происходят при кратковременном воздействии 32 и 65%-й азотной кислоты и продолжительном действии (14–21 дней) серной кислоты низких концентраций – 3 и 6%-й.

Ключевые слова: лишайник, *Hypogymnia physodes*, Фурье-ИК-спектроскопия, диоксиды азота и серы, поллютант.

Наиболее распространенными загрязнителями атмосферы являются оксиды азота (NO и NO_2) и диоксид серы (SO_2 , сернистый газ) [1]. Высокая токсичность сернистого газа и оксидов азота определила интерес к специальным исследованиям по их воздействию на растительный мир, особенно на эпифитные лишайники. С момента обнаружения высокой чувствительности лишайников к действию оксида азота и диоксида серы прошло более полутора столетий, однако изучение явления продолжается. Во многом это обусловлено возможностью точного диагностирования и прогнозирования состояния окружающей среды при помощи лишайноиндикации. Токсичное воздействие оксидов азота и серы на лишайник исследовалось в разных аспектах. Наиболее полно изучено изменение видового состава и структуры эпифитных лишайносинузий на урбанизированных территориях [2–6]. Специально исследовали морфо-

логическую и анатомическую структуру лишайников в условиях атмосферного загрязнения [7–11]. Сделаны обзоры физиолого-биохимических процессов в слоевищах лишайников в условиях атмосферного загрязнения [12–16]. Изучение реакции лишайников на действие загрязнителей на популяционном, анатомо-морфологическом и физиолого-биохимическом уровнях представляет большой интерес для оценки современного состояния окружающей среды [15]. С природоохранной точки зрения актуальны исследования специфических реакций лишайников на определенные токсиканты, которые позволят разработать биологический тест мониторинга качества среды. В этой связи результаты исследования изменения химического состава лишайников с помощью Фурье-инфракрасной (Фурье-ИК) спектроскопии представляют большой интерес [17]. Подобных работ пока еще мало, однако первые результаты применения лишайноиндикационного подхода с использованием Фурье-ИК-спектроскопии показали эффективность оценки состояния

Мейсурова Александра Федоровна
Хижняк Светлана Дмитриевна
Пахомов Павел Михайлович

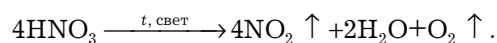
атмосферы и возможность использования подхода в мониторинговых исследованиях. Достоинством метода Фурье-ИК-спектроскопии является возможность идентификации функциональных групп соединений, образующихся в результате поглощения поллютанта слоевищем. Удастся точно установить изменения химического состава под влиянием экотоксикантов, оценить их концентрацию, пороговые значения, характер воздействия. Таким образом, появляется возможность разработать метод ранней диагностики основных направлений трансформации природных систем под воздействием техногенной нагрузки.

Цель работы – исследование характера воздействия диоксидов серы и азота на химический состав слоевища *Hyrogynia physodes* (L.) Nyl. с помощью метода Фурье-ИК-спектроскопии. Задачи работы: экспозиция образцов лишайников в эксикаторах с кислотой (азотной и серной) различной концентрации в течение разного времени; проведение спектрального анализа образцов лишайников до и после воздействия поллютанта; интерпретация полученных спектральных данных и их количественная оценка; изучение динамики накопления слоевищем лишайника поллютантов, характера его воздействия; оцен-

ка возможностей практического применения полученных результатов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследован лишайник *H. physodes*, у которого обнаружены существенные изменения химического состава слоевища под воздействием атмосферного загрязнения [18]. Образцы лишайника собраны в экологически чистой зоне, расположенной в 60 км от г. Твери (окрестности дер. Ферязкино Калининского р-на Тверской обл.), которую можно считать фоновой [19]. Эксперимент проводили при комнатной температуре (22–25 °С) по схеме, указанной в табл. 1. Влажные образцы *H. physodes* (1–6) из фоновой зоны помещали в эксикаторы, содержащие 20 мл азотной кислоты (HNO₃) различной концентрации. Время экспозиции образцов 1–3 нед. Известно, что под действием света азотная кислота разлагается с выделением диоксида азота согласно химической реакции [20]



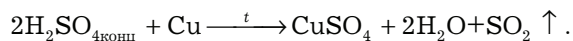
Аналогичным образом проводили эксперимент и с серной кислотой (см. табл. 1). Влажные образцы *H. physodes* (7–12) из фоновой

Т а б л и ц а 1
Схема проведения эксперимента

№ образца	Кислота	Концентрация кислоты, %	Время экспонирования, нед		
			1	2	3
0		0	+	+	+
1	Азотная	2	+	+	+
2		4	+	+	+
3		8	+	+	+
4		16	+	+	+
5		32	+	+	–
6		65	+	–	–
7	Серная	3	+	+	+
8		6	+	+	+
9		12	+	+	+
10		24	+	+	+
11		49	+	+	+
12		98	+	+	+

П р и м е ч а н и е. + – ИК-спектр образца *H. physodes* записан; прочерк – ИК-спектр образца *H. physodes* не записан в связи с деструкцией слоевища.

зоны помещали в эксикаторы, содержащие 20 мл серной кислоты различной концентрации. Для выделения паров SO₂ в кислоту опускали медную проволоку, при этом процесс разложения протекал по следующей реакции:



Выбор высоких концентраций кислоты для эксперимента, в том числе концентрированной, обусловлен необходимостью получения быстрых эффектов, выяснения методом ИК-спектроскопии существенных изменений слоевища лишайника, возникающих в результате загрязнения.

Для контроля влажный образец из фоновой зоны помещали в герметичный эксикатор без кислоты в течение аналогичного времени и в том же температурном режиме, что образцы 1–12. При этом видимых изменений слоевища по истечению 3 нед экспонирования не наблюдалось.

С интервалом в неделю осуществляли запись ИК-спектров высушенных образцов 1–12 (см. табл. 1). Для записи ИК-спектров образцов готовили таблетки с бромидом калия (KBr) [21]. Для этого 3 мг образца лишайника, высушенного при температуре 25–35 °С, измельчали в вибрмельнице, смешивали с порошком KBr (0,7 г). Затем смесь прессовали под давлением 20 атм в специальной пресс-форме при комнатной температуре с вакуумной откачкой. ИК-спектры образцов регистрировали на Фурье-ИК-спектрометре “Equinox 55” фирмы “Bruker” (Германия). В предварительных экспериментах установлена высокая воспроизводимость полученных результатов.

Для проведения количественных расчетов использовали программу OPUS-NT, которая позволяет получить оптическую плотность анализируемой полосы (D_A). Оптическая плотность в соответствии с законом Бугера – Ламберта – Бера определяется как логарифм отношения интенсивности падающего на вещество света (I_0) к интенсивности прошедшего через вещество света (I) или по формуле

$$D = \lg \left(\frac{I_0}{I} \right) = kcd,$$

где: D – оптическая плотность (поглощение); c – концентрация поглощающих центров (осцилляторов или колеблющихся химических

группировок); d – толщина образца (длина пути, пройденного светом); k – коэффициент поглощения данного осциллятора.

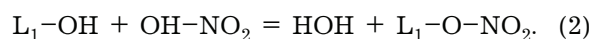
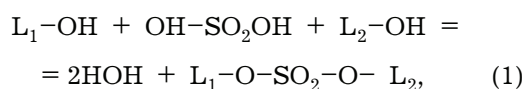
С целью исключения влияния толщины на величину оптической плотности значение анализируемой полосы поглощения (D_A) относили к оптической плотности полосы стандарта (D_C): D_A/D_C . В качестве полосы стандарта выбрана структурно-нечувствительная полоса 2925 см⁻¹, характеризующая валентные колебания СН₂-групп. Отношение D_A/D_C (D_A/D_{2925}) дает представление об относительной концентрации исследуемых химических групп и их изменении в процессе эксперимента.

Эксперимент проводили несколько раз по данной схеме, результаты расчетов достоверные.

При интерпретации ИК-спектров образцов лишайника ориентировались на источники, представленные в табл. 2 [17, 22–26].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Фурье-ИК-спектральный анализ образцов *H. physodes*, выдержанных в парах серной и азотной кислот, показал химические изменения в составе лишайника, вызванные поглощением экотоксиканта слоевищем. Накопление в слоевище диоксида азота приводит к образованию алкилнитратов [17]. Об этом свидетельствуют изменения в ИК-спектрах образцов *H. physodes* на частотах 1381 (ν_s (–O–NO₂)) и 874, 779 см⁻¹ (δ(O–N–O)) (см. табл. 2; рис. 1, а). На усвоение слоевищем лишайника диоксида серы может указывать образование нескольких типов соединений: сульфатов (RO)₂SO₂ (1424, 873 и 711 см⁻¹), сульфонов R–SO₂R (1313, 782, 666 и 518 см⁻¹) и сульфокислот – R–SO₂–OH (1230, 1056, 851 и 581 см⁻¹) (см. табл. 2; рис. 1, б–г). Образование сульфатов и нитратов может происходить в результате взаимодействия кислот со свободными гидроксильными группами лишайника (L), который является основным компонентом грибных гиф, согласно реакции



Под действием паров разбавленной серной кислоты может происходить замещение ато-

Отнесение некоторых характеристических полос поглощения в ИК-спектрах

Волновое число, см ⁻¹	Возможное отнесение	Источник
1654	Амид I, (ν C=O)	[22-24]
1619	ν (C=O)	[22,24]
1542	Амид II, ν (O-C-N)	[22-24]
1454	δ (-CH ₂ -)	[24]
Сульфаты - (RO)₂SO₂:		
1424	ν_a (SO ₂)	[24,26]
873, 711	ν (S-O-C)	
Алкилнитраты (органические нитраты):		
1381	ν_s (-O -NO ₂)	[17, 23-25]
874, 779	δ (O-N-O)	
Сульфоны (R-SO₂R):		
1313	ν_a (SO ₂)	[24,26]
782, 666, 518	ν (S-O-C)	
1266	Амид III, δ N-H	[22-24]
Сульфокислоты (R-SO₂-OH):		
1230	ν_a (SO ₂)	[24, 26]
1056, 851, 581, 533	ν_s (SO ₂)	

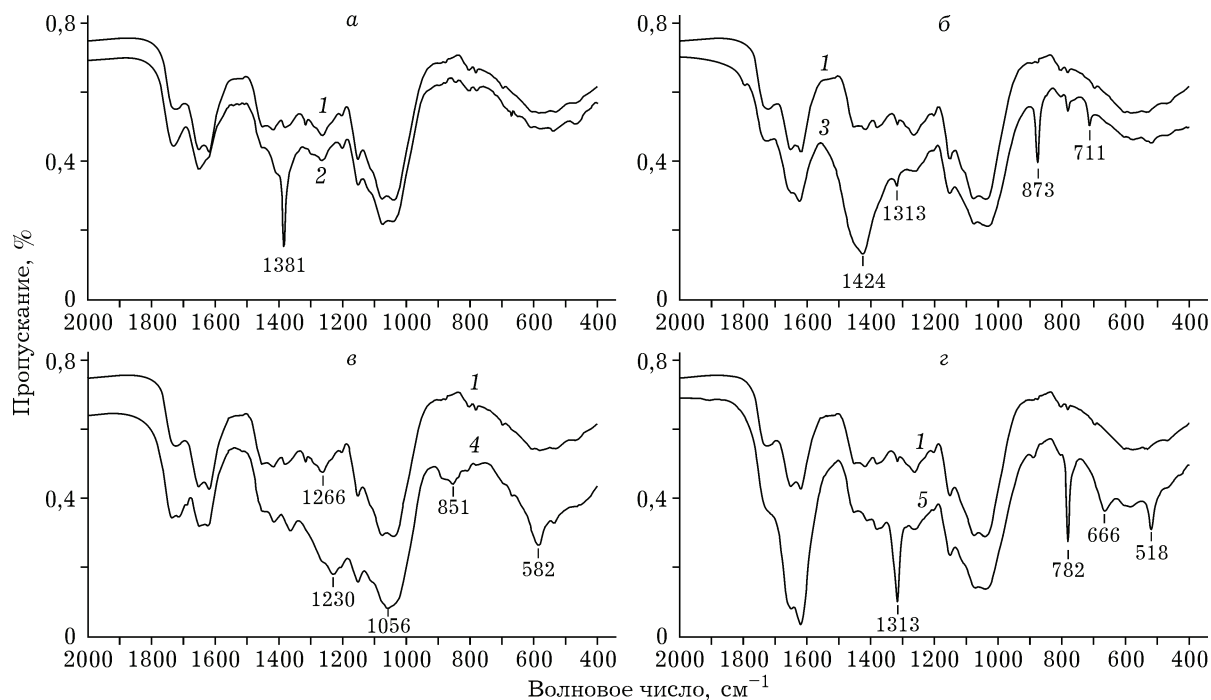
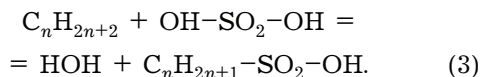
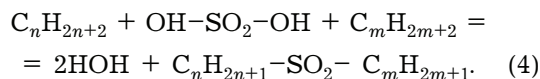


Рис. 1. ИК-спектры образцов *H. physodes* из фоновой зоны (спектр 1) и образцов, выдержанных в парах кислот: 32%-й азотной в течение 2 нед (а, спектр 2); 98%-й серной в течение 1 нед (б, спектр 3); 3 и 6%-й серной в течение 3 нед (в, спектр 4 и г, спектр 5 соответственно)

мов водорода в углеводородной цепи углеводов, входящих в состав слоевища, остатком кислоты с образованием сульфокислот:



Образование в слоевище лишайника сульфонов возможно по следующей схеме:



Тип образуемых в лишайниках соединений под воздействием поллютантов, а также степень вызываемых ими изменений химического состава определяются концентрацией поллютанта и временем воздействия. Анализ ИК-спектров образцов 1–6, выдержанных в парах азотной кислоты различной концентрации, показал, что повреждающее действие диоксида азота в большей степени зависит от концентрации кислоты, чем от времени экспонирования [17]. В ИК-спектрах образцов 1–4 со временем экспонирования 1 нед наблюдаются значительные изменения, что свидетельствует об изменениях химического состава лишайников. Расчет отношения D_{1381}/D_{2925} , характеризующего содержание алкилнитратов, показал, что с ростом концентрации азотной кислоты в эксикаторах в образцах 1–4 со временем экспозиции 1 нед отмечен рост содержания экотоксиканта в слоевище (рис. 2, а; табл. 3). Однако абсорбция поллютанта замедляется при выдерживании образца в парах азотной кислоты с концентрацией выше 16%. По-видимому, данная концентрация азотной кислоты является предельно допустимой. Действие азотной кислоты высоких концентраций (32 и 65%) в течение первой недели не приводит к изменениям в ИК-спектрах, что может быть вызвано снижением способности слоевища к детоксикации при нормальном метаболизме. Значения величины D_{1381}/D_{2925} для образцов 5–6 – 2,50 и 1,43 соответственно. О начале деструктивных процессов могут свидетельствовать морфологические признаки – пожелтение образца 6 со временем экспонирования 1 нед. Появление характерного желтого окрашивания слоевища лишайника может быть следствием денатурации белка. Известно, что для белков существует ряд ка-

чественных реакций на различные кислоты – при воздействии концентрированной азотной кислоты появляется характерное желтое окрашивание [20].

Сравнение ИК-спектров образцов 7–12 с образцом из фоновой зоны показало отсутствие четкой зависимости деструктивного эффекта от концентрации серной кислоты в течение первой недели эксперимента. Низкие и средние концентрации серной кислоты не приводят к существенным изменениям в слоевище, за исключением образца 12. Так, в ИК-спектре образца 12 регистрируются изменения в трех областях: появляются полосы на частотах 1424 см^{-1} ($\nu_a(\text{SO}_2)$), 873 и 711 см^{-1} – $\nu(\text{S-O-C})$ (сульфаты – $(\text{RO})_2\text{SO}_2$) (см. рис. 1, б, табл. 2). Величины $D_{1424}/D_{2925} = 2,8$, $D_{873}/D_{2925} = 0,76$, $D_{711}/D_{2925} = 0,24$ у образца 12 высокие, что указывает на интенсивный процесс накопления экотоксиканта (см. табл. 3). Однако изменение морфологических признаков, которое можно было бы ожидать при воздействии концентрированной кислоты в течение 7 сут (побледнение слоевища, ослизнение слоевища), не наблюдается. Таким образом, кратковременное воздействие сернистого газа, выделяемого концентрированной серной кислотой, оказывается менее опасным для лишайника *H. physodes* в отличие от некоторых высших растений [1]. Выделяющийся диоксид серы успевает окислиться и в определенном объеме под-

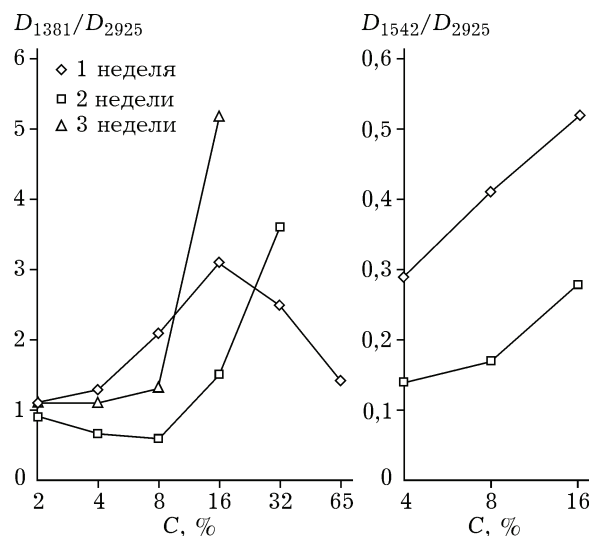


Рис. 2. Зависимость величин D_{1381}/D_{2925} (а) и D_{1542}/D_{2925} (б) от концентрации азотной кислоты для разного времени экспонирования

Значения D_A/D_{2925} , рассчитанные из ИК-спектров изученных образцов *H. physodes*

Волновое число ана- лизируемой полосы, см ⁻¹	Время, нед	Опыт												Фон
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
1654	1	0,80	0,81	0,89	1,44	1,53	1,04*	0,90	0,94	1,05	1,18	1,00	-	0,88
	2	0,40	-	1,21	1,21	0,92*	Ж	0,67*	1,03*	1,05	1,05	0,89	0,95	
	3	0,58	0,38	0,35	1,28	Ж	Д	0,71*	2,24*	0,82	1,05	1,02	0,96	
1619	1	0,80	0,69	0,83	1,44	-	0,91*	0,90	0,91	1,23	1,18	1,00	1,48	0,92
	2	0,46	2,1	1,14	1,21	-	Ж	0,64*	1,05*	0,97	1,03	0,82	0,94	
	3	-	-	-	-	Ж	Д	0,57*	3,10*	0,76	1,13	1,13	1,13	
1542	1	-	0,29	0,41	0,52	-	-	-	-	0,17	0,36	-	-	-
	2	0,13	0,14	0,17	0,28	-	Ж	-	-	-	-	-	0,22	
	3	-	-	-	-	Ж	Д	-	-	0,15	-	-	-	
1454	1	0,33	0,57	0,79	1,15	1,00	0,69*	0,69	0,71	0,71	0,78	0,75	-	0,65
	2	0,23	-	0,66	-	-	Ж	0,45*	0,76*	0,66	0,64	0,69	0,68	
	3	0,47	0,60	0,18	0,84*	Ж	Д	0,57*	0,58*	0,59	0,67	0,69	0,71	
1424	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,8	
1381	1	1,10	1,30	2,10	3,10	2,50	1,43*	-	-	-	-	-	-	
	2	0,90	0,68	0,59	1,50	3,60*	Ж	-	-	-	-	-	-	
	3	1,13	1,10	1,31	5,20*	Ж	Д	-	-	-	-	-	-	
1313	1	0,30	0,59	0,89	1,00	-	-	-	0,71	0,71	0,78	0,75	0,80	0,61
	2	-	-	0,89	0,71	-	Ж	-	0,89*	0,80	0,82	0,66	0,78	
	3	0,41	-	-	-	Ж	Д	-	1,93*	-	0,76	0,72	0,81	
1266	1	0,33	0,66	0,75	1,01	0,59	0,83*	0,08	0,82	0,80	0,81	0,78	0,96	0,71
	2	0,21	0,61	0,72	1,21	0,36*	Ж	-	0,84*	0,78	0,74	0,76	0,78	
	3	0,41	0,26	0,18	-	Ж	Д	-	0,71*	0,87	0,79	0,79	0,74	
1230	2	-	-	-	-	-	Ж	1,16*	-	-	-	-	-	
	3	0,53	-	-	-	Ж	Д	1,11*	-	0,85	-	-	0,71	
1056	2	-	-	-	-	-	Ж	1,54*	-	-	-	-	-	

879	3	-	-	-	-	Ж	Д	2,42*	-	1,88	-	-	-	-	-	0,04
	1	-	0,13	0,15	0,08	Ж	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	0,14	-	Ж	Ж	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	1,12*	Ж	Д	Д	-	-	-	-	-	-	-	-	-
873	1	-	0,13	0,19	0,06	Ж	-	-	-	-	-	-	-	-	0,76	-
	2	-	-	0,14	-	Ж	Ж	0,04*	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	1,12*	Ж	Д	Д	0,17*	-	-	-	-	-	-	-	-
851	1	-	-	-	-	Ж	-	-	-	-	-	-	0,03	-	-	-
	2	-	-	-	-	Ж	Ж	0,14*	-	-	-	-	0,02	-	-	-
	3	-	-	-	Ж	Д	Д	0,17*	-	-	-	-	-	-	-	-
805	1	-	-	-	-	Ж	-	0,07	0,05	0,14	0,06	0,06	0,06	0,04	0,08	-
	2	-	-	-	-	Ж	Ж	-	0,05*	0,12	0,05	0,02	0,02	0,12	-	-
	3	-	-	0,08*	Ж	Д	Д	-	0,07*	0,02	0,05	0,07	0,07	0,03	-	-
780	1	0,03	0,05	0,15	-	Ж	-	0,05	0,05	0,17	0,09	0,09	0,09	0,16	0,08	-
	2	-	-	-	-	Ж	Ж	-	0,12*	0,12	0,12	0,04	0,04	0,11	-	-
	3	0,23	1,3	0,37	Ж	Д	Д	-	0,75*	0,02	0,10	0,09	0,09	0,11	-	-
711	1	-	-	-	-	Ж	-	-	-	-	-	-	-	0,24	-	-
666	3	-	-	-	Ж	Д	Д	-	0,41*	-	-	-	-	-	-	-
581	1	-	-	-	-	Ж	-	-	0,23	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	Ж	Ж	0,54*	0,29*	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	Ж	Д	Д	0,42*	0,34*	0,39	-	-	-	-	-	-
533	3	-	-	-	Ж	Д	Д	0,34*	-	-	-	-	-	0,29	-	-
518	1	-	-	-	-	Ж	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	Ж	Ж	-	0,23*	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	Ж	Д	Д	-	0,53*	-	-	-	-	-	-	-

П р и м е ч а н и е. *- изменение цвета (пожелтение); прочерк - отсутствие полос поглощения в ИК-спектрах; Ж - полное ослизнение и деструкция слоевица; Д - опыты прекращены в связи с полной деструкцией слоевица лишнийка.

вернуться восстановлению и нейтрализации без появления повреждений слоевища. Токсичность поллютанта значительно уменьшается при превращении сульфита в сульфат [1].

В первую неделю экспонирования к действию экотоксикантов чувствительными оказываются белки. Низкие и средние концентрации азотной (4, 8 и 16 %) и серной (12 и 24 %) кислот в эксикаторах вызывают появление в ИК-спектрах образцов полосы поглощения 1542 см^{-1} (Амид II, валентные колебания группы C-N). Отметим, что в ИК-спектре образца из фоновой зоны наблюдаются две полосы поглощения, соответствующие белковому компоненту, – 1654 (Амид I, валентные колебания группы C=O) и 1266 см^{-1} (Амид III, деформационные колебания группы N-H) (см. рис. 2, б). Величина отношения D_{1542}/D_{2925} в образцах 2–4 выше по сравнению с аналогичной величиной в данных образцах, экспонированных более 1 нед над парами поллютанта, а в образцах 9 и 10 полоса на частоте 1542 см^{-1} исчезает. Изменения в ИК-спектрах образцов 2–4, 9 и 10 в области поглощения 1542 см^{-1} (Амид II) со временем экспозиции 1 нед связаны с синтезом и ростом содержания белка за счет поступления азота и серы. В какой-то степени накопление диоксидов азота и серы данных концентраций в первую неделю экспонирования может оказаться полезным для лишайника. Например, поглощенный анион HSO_3^- на свету в хлоропластах может превращаться в органически связанные группы SH^- , которые являются компонентом таких аминокислот, как цистеин и метионин [1]. Причиной количественных изменений аминокислотного состава белков в результате накопления лишайником оксидов азота может быть изменение содержания лизина, аргинина, аспарагина и изолейцина [27]. Одинаково низкая интенсивность полос поглощения 1654 , 1266 и 1542 см^{-1} в исследованных образцах связана с тем, что содержание белков в лишайниках составляет всего 1,9–3,3 % от общего химического состава, т. е. их количество меняется в узком интервале.

Действие высоких концентраций серной (49 и 98 %) и азотной (32 и 65 %) кислот на лишайник не приводит к появлению полосы поглощения Амид II. В практике анализа состояния атмосферы по ИК-спектрам образ-

цов лишайников возможно определение присутствия в атмосфере низких и средних концентраций этих экотоксикантов по появлению полосы поглощения Амид II.

Увеличение времени экспонирования образцов 1–4 в парах азотной кислоты до 2 нед приводит к деструктивному состоянию последних, абсорбция экотоксиканта заметно снижается. В ИК-спектрах данных образцов лишайника отмечены незначительные изменения химического состава. Во всех ИК-спектрах отмечено поглощение на частоте 1381 см^{-1} . Величина D_{1381}/D_{2925} для образцов 1–4 со временем экспонирования 2 нед значительно ниже, чем в аналогичных образцах в первую неделю (см. рис. 2, а). После 2-й нед экспонирования образцов 1–4 над азотной кислотой сорбционная способность лишайников восстанавливается. Экотоксикант накапливается в концентрациях, не способных к детоксикации, приводя к деструкции слоевища лишайника на 3-ю нед экспонирования при действии 16%-й азотной кислоты и, вероятно, на 4-ю при действии 8%-й кислоты и т. д. Серная кислота в отличие от азотной в эксикаторе в течение 2 нед не оказывает на лишайник никакого воздействия. К действию 12, 24 и 49%-й серной кислоты лишайник проявляет значительную толерантность. Изменения в ИК-спектрах образцов 7, 8 свидетельствуют об активном усвоении слоевищем экотоксиканта [26]. ИК-спектры образцов 7, 8 демонстрируют изменения, связанные с образованием сульфокислот ($\text{R-SO}_2\text{-OH}$) и сульфонов ($\text{R-SO}_2\text{R}$) (см. рис. 1, в, г). С образованием сульфокислот в лишайнике в ИК-спектре образца 7 связано исчезновение полосы поглощения на частоте 1266 см^{-1} (Амид III). Образцы лишайника, выдержанные в эксикаторах с 3 и 6%-й серной кислотой, уже на 2-й нед экспонирования обесцвечиваются, что обусловлено разрушением хлорофилла. С увеличением времени экспонирования до 3 нед значения D_{1313}/D_{2925} и D_{780}/D_{2925} в ИК-спектре образца 8 увеличиваются от 0,66 до 1,93 и от 0,04 до 0,75 соответственно (рис. 3, б, в). Существенным становится увеличение значения D_{1619}/D_{2925} – в 3 раза (3,1). Высокая интенсивность полосы 1619 см^{-1} ($\nu(\text{C=O})$) связана с деструкцией слоевища. Тот факт, что максимальное значение D_{1619}/D_{2925} отмечено в образце 8 со временем экспонирования

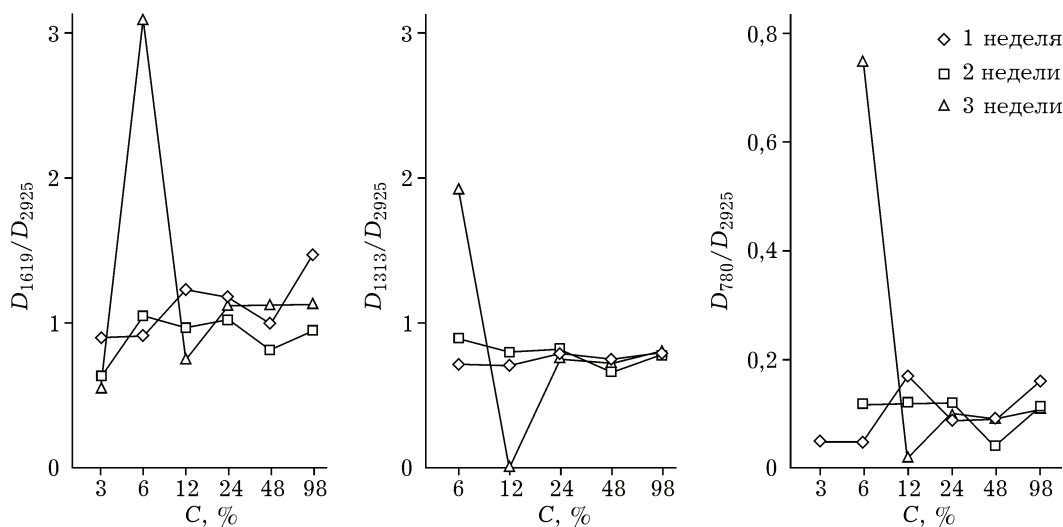


Рис. 3. Зависимость величин D_{1619}/D_{2925} (а), D_{1313}/D_{2925} (б) и D_{780}/D_{2925} (в) от концентрации серной кислоты для разного времени экспонирования

3 нед, может свидетельствовать о значительной токсичности сульфонов и серьезной опасности их для лишайника. Более того, в ИК-спектре образца 8 со временем экспозиции 3 нед помимо отмеченных изменений появляется дополнительная полоса поглощения на частоте 666 см^{-1} (симметричные колебания группы SO_2 в сульфонах). Величина D_{666}/D_{2925} в ИК-спектре образца 8 с экспозицией 3 нед высокая – 0,41.

Хотя процесс поглощения экотоксикантов у лишайников описан в литературе как пассивный [28], накопление поллютанта имеет свои особенности. В зависимости от концентрации и времени экспонирования один и тот же экотоксикант может вызывать образование разных типов соединений, а также разную степень деструктивного эффекта. В ходе эксперимента удалось выяснить, что одним из основных факторов, определяющих характер воздействия загрязнителя на лишайник, является его концентрация. В 1-ю нед экспонирования в ИК-спектрах всех образцов (1–6) отмечены существенные изменения, причем наиболее активна сорбция поллютанта при концентрации азотной кислоты, не превышающей предельно допустимого значения (16 %) (см. рис. 2, а). Высокие концентрации кислоты приводят к быстрому перенасыщению слоевища экотоксикантом, усиливаются деструктивные процессы. Увеличение времени экспонирования образцов (1–4) в парах 2–16%-й азотной кислоты до 2 нед приводит к

снижению (замедлению) скорости воздействия поллютанта на слоевище лишайника. Вероятно, 2-я нед экспозиции для образцов 1–4 является пороговой или переломной, когда система может восстановиться в случае прекращения воздействия. К 3-й нед экспонирования процесс абсорбции восстанавливается. При этом происходит максимальное накопление экотоксиканта лишайником, приводящее к разрушению слоевища. Полную деструкцию слоевища лишайника *H. physodes* при концентрации азотной кислоты 16 % можно наблюдать уже на 3-ю нед. Влияние паров азотной кислоты низкой концентрации приводит к разрушению слоевища через месяц.

Воздействие серной кислоты в отличие от азотной показывает большую зависимость деструктивного эффекта от времени экспозиции и меньшую – от концентрации поллютанта. Существенными являются изменения в ИК-спектре образца, выдержанного над парами 98%-й серной кислоты в течение 7 сут. Для лишайника, вероятно, данные изменения химического состава являются обратимыми, не наблюдаются даже ожидаемые внешние морфологические изменения. Наличие полос поглощения, ответственных за наличие сульфатов, в спектре образца 6 со временем экспозиции 1 нед свидетельствует о снижении токсичного эффекта, поскольку последний в 1-ю нед экспозиции успевает окислиться и в определенных пределах подвергнуться восстановлению и нейтрали-

зации. Наиболее опасно для лишайника *H. physodes* долговременное воздействие (14–21 дней) 3 и 6%-й серной кислоты. Длительное воздействие на лишайник *H. physodes* серной кислоты низких концентраций приводит к образованию сульфонов ($R-SO_2R$) и сульфокислот ($R-SO_2-OH$), что подтверждается ИК-спектрами, вызывает серьезные деструктивные изменения химического состава и сопровождается пожелтением и ослизнением слоевища. Поэтому среднеустойчивый к атмосферному загрязнению вид *H. physodes* может быть хорошим индикатором низких концентраций данного загрязнителя в атмосфере.

Влияние малых доз экотоксиканта, его накопление слоевищем и преобразование в природных условиях – очень длительный процесс. Весьма редко можно встретить длительное воздействие высоких доз экотоксиканта, как это имеет место в нашем эксперименте. Однако с точки зрения методики биотестирования данные исследования представляют значительный интерес. Они позволяют делать прогноз характера воздействия поллютанта на слоевище лишайника. Информация о накопленном экотоксиканте, типе соединений, образованных в лишайниковом слоевище, полезна для оценки уровня качественного и количественного загрязнения атмосферы. Например, данные ИК-спектров образцов 1–12 могут быть полезны в экологическом мониторинге для сопоставления контрольных спектров со спектрами образцов лишайника урболихенофлор [29]. Идентификация соединений на основе их ИК-спектров широко принята, эти спектры нередко включаются в формулы изобретений патентов, характеристику продуктов и т. д. В дальнейшем целесообразно проведение дополнительных спектральных исследований, которые позволят выяснить характер влияния других загрязнителей атмосферы на химическую структуру лишайника, например соединений хлора, фтора, фенола, формальдегида, а также комплексного воздействия нескольких загрязнителей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Спектральный анализ образцов *Nuroguntinia physodes* (L.) Nyl., выдержанных в парах серной и азотной кислот, показывает хими-

ческие изменения состава по мере накопления экотоксиканта слоевищем. На поглощение слоевищем диоксида серы указывает образование нескольких типов соединений – сульфатов (1424, 873 и 711 см^{-1}), сульфонов (1313, 782, 666 и 518 см^{-1}) и сульфокислот (1230, 1056, 851 и 581 см^{-1}); диоксида азота – алкилнитратов (1381, 874 и 779). Тип образуемого соединения при воздействии поллютанта, а также уровень деструктивного эффекта определяются концентрацией загрязнителя и временем экспонирования. Наибольшую опасность для лишайникового слоевища представляют кратковременные воздействия 32 и 65%-й азотной кислоты, а также продолжительное влияние (14–21 дней) низких концентраций серной кислоты – 3 и 6%-й.

Работа выполнена при поддержке Гранта Президента РФ № 02.120.11.1385-МК от 28.06.2010.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гольдовская Л. Ф. Химия окружающей среды. М.: Мир, 2005. 296 с.
2. Мартин Л. Н. Лихеноиндикация в условиях различного загрязнения воздуха: автореф. дис. ... канд. биол. наук (030016) / АН СССР. Урал. научн. центр. Институт экологии растений и животных. Свердловск, 1984. 17 с.
3. Нильсон Э. М. Биогеохимическая экология эпифитных видов лишайников в условиях загрязнения: автореф. дис. ... канд. биол. наук (030016). Свердловск, 1989. 16 с.
4. Мальшева Н. В. Лишайники Санкт-Петербурга. 3. Влияние городских условий и лихеноиндикация атмосферного загрязнения // Ботан. журн. 1998. Т. 83, № 9. С. 39–45.
5. Van Dobben H. F., ter Braak C. J. F. Ranking of epiphytic lichen sensitivity to air pollution using survey data: a comparison of indicator scales // Lichenologist. 1999. Vol. 31, N 1. P. 27–39.
6. Мучник Е. Э. Лихенофлора Центрального Черноземья: таксономический и эколого-географический анализы, вопросы охраны: автореф. ... д-ра биол. наук (03.00.05/03.00.16). Воронеж, 2003. 40 с.
7. Вайнштейн Е. А., Тахтаджян Е. А. Физиологические изменения у лишайниковой водоросли *Trebouxia* при культивировании // Физиол. раст. 1981. Т. 28, № 5. С. 1037–1044.
8. Scott M. G., Hutchinson T. C. The use of lichen growth abnormalities as an early warning indicator of forest dieback // Environmental monitoring and assessment. 1990. Vol. 15. P. 213–218.
9. Отнюкова Т. Н. Морфологическое состояние *Cladonia stellaris* (Cladoniaceae, Lichens) как показатель атмосферного загрязнения // Ботан. журн. 1997. Т. 82, № 3. С. 57–66.
10. Отнюкова Т. Н. Индикация атмосферного загрязнения по состоянию эпифитных лишайников // Тру-

- ды Государственного заповедника "Столбы". Красноярск, 2001. Вып. 17. С. 172–189.
11. Суетина Ю. Г. Онтогенез и структура популяции *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr. в различных экологических условиях // Экология. 2001. № 3. С. 203–208.
 12. Köck M., Shlee D. Effect of sulphite on adenine nucleotides of the green alga *Trebouxia* // Phytochem. 1981. Vol. 20, N 9. P. 2089–2092.
 13. Sanz M. J., Gries C., Nash T. N. Dose-response relationships for SO₂ fumigations in the lichens *Evernia prunastri* (L.) Ach. and *Ramalina fraxinea* (L.) Ach. // New phytologist. 1992. Vol. 122. P. 313–319.
 14. Шапиро И. А. Физиолого-биохимические изменения у лишайников под влиянием атмосферного загрязнения // Успехи совр. биологии. 1996. Т. 116, № 2. С. 158–171.
 15. Бязров Л. Г. Лишайники в экологическом мониторинге. М.: Научный мир, 2002. 336 с.
 16. Вержбицкая Е. В., Андросова В. И. Содержание фотосинтетических пигментов в талломах лишайника *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. в естественных и антропогенно-нарушенных местообитаниях // Современная микология в России. Т. 2: тез. докл. 2-го съезда микологов России. М., 2008. С. 524.
 17. Мейсунова А. Ф., Хижняк С. Д., Пахомов П. М. Спектроскопическое изучение воздействия окислов азота на слоевище лишайника *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. // Экологическая химия. 2007. Т. 16, вып. 4. С. 27–35.
 18. Уразбахтина А. Ф., Хижняк С. Д., Дементьева С. М., Нотов А. А., Пахомов П. М. Применение метода Фурье-ИК-спектроскопии для лишайноиндикации атмосферного загрязнения в городских районах // Растительные ресурсы. 2005. Т. 41, вып. 2. С. 139–147.
 19. Уразбахтина А. Ф., Катаускайте Л. А. Некоторые итоги лишайноиндикационного анализа рекреационных зон г. Твери // Ботанические исследования в Тверском регионе. Тверь: Изд-во ГЕРС, 2003. С. 130–136.
 20. Пособие по химии для поступающих в вузы / под ред. М. А. Володина, О. Г. Немкова, Л. П. Решетникова. М., 1971. 382 с.
 21. Смит А. Прикладная ИК-спектроскопия. М.: Наука, 1982. 328 с.
 22. Наканиси К. Инфракрасные спектры и строение органических соединений. М.: Мир, 1965. 325 с.
 23. Dinkelaker B., Rohmeld V., Marschner H. Citric acid excretion and precipitation of calcium citrate in the rhizosphere of white lupin (*Lupinus albus* L.) // Plant cell environ. 1989. Vol. 12. P. 285–292.
 24. Infrared characteristic group frequencies. Tables and Charts / ed. G. Socrates. London: John Wiley & Sons. 1994. 256 p.
 25. Мейсунова А. Ф., Дементьева С. М. Мониторинг окружающей среды. Ч. 1. Применение ИК-спектроскопии в лишайноиндикационных исследованиях. Тверь: Изд-во Твер. гос. ун-та, 2005. 29 с.
 26. Мейсунова А. Ф. Оценка токсичного действия диоксида серы на химический состав *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. // Вестник ТвГУ. Сер. Биология и экология. 2008. Вып. 7, № 17 (67). С. 63–73.
 27. Криворотов С. Б. Лишайники и лишайниковые группировки Северо-Западного Кавказа и Предкавказья: флористический и экологический анализ: автореф. дис. ... д-ра биол. наук (03.00.05). Краснодар, 2001. 35 с.
 28. Вайнштейн Е. А. Некоторые вопросы физиологии лишайников III. Минеральное питание // Ботан. журн. 1982. Т. 67, № 5. С. 561–571.
 29. Meisurova A. F., Khizhnyak S. D., Pakhomov P. M. IR spectral analysis of the chemical composition of the lichen *Hypogymnia physodes* to assess atmospheric pollution // J. of applied spectroscopy. 2009. Vol. 76, N 3. P. 420–426.

Estimation of Toxic Effect of Nitrogen and Sulfur Dioxides on Chemical Composition of *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. IR Spectroscopic Study

A. F. MEISUROVA, S. D. KHIZHNYAK, P. M. PAKHOMOV

*Tver State University
170100, Tver, Zhelyabova str., 33*

Effect of some pollutants on *Hypogymnia physodes* lichen is investigated. It is established experimentally that most changes in the chemical composition of the lichen are caused by short-duration action of 32 and 65 % nitric acid and long-duration action (14–21 days) of low-concentration sulfuric acid (3 and 6 %).

Key words: lichen, *Hypogymnia physodes* lichen, FTIR spectroscopy, nitrogen and sulfur dioxides, pollution.