

## РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В БИОМАССЕ РДЕСТОВ РЕКИ ЕНИСЕЙ<sup>1</sup>

Т.А. Зотина, И.В. Грибовская\*

*Исследовалось распределение металлов в биомассе четырех видов рдестов, собранных в реке Енисей. В результате протонирования сухой биомассы растений 0.2 М соляной кислотой металлы разделились на три группы. Такие катионы, как K, Na, Ca, Mg, Mn, Cd, Sr, преимущественно перешли в раствор кислоты, следовательно, эти металлы относительно слабо связаны с биомассой, они были десорбированы с минеральных инкрустаций на поверхности листьев, а также вымылись из внутриклеточного пространства в случае, если эти элементы находились внутри клеток в растворенной форме. Другая группа элементов (Fe, Al, Mo, Cr) осталась преимущественно в биомассе после обработки кислотой, следовательно, эти металлы относительно прочно связаны с биомассой растений и, в частности, могут быть встроенными в ткани. Для Co, Ni, Va, Zn и Si не удалось получить однозначных данных о прочности связывания этих металлов с биомассой растений во всех обработанных пробах.*

Водные растения являются агентами самоочищения водоемов, накапливая в своей биомассе различные техногенные загрязнители, в том числе радионуклиды и тяжелые металлы. В прибрежной зоне и протоках реки Енисей наблюдается массовое развитие погруженных водных растений. В отличие от других групп водных растений, погруженные макрофиты накапливают металлы преимущественно из водной среды, концентрируя их в своей биомассе [1]. В зависимости от физико-химических свойств металлы могут сорбироваться на поверхности клеток, а также аккумулироваться во внутриклеточном пространстве [2]. Место локализации металлов в биомассе растений определяет дозовую нагрузку, биологический эффект, а также дальнейшую миграцию металлов в водной экосистеме.

В реке Енисей основу биомассы погруженных макрофитов составляют представители рода *Potamogeton* - рдесты, они также наиболее разнообразно представлены в видовом отношении [3]. Физиологическая особенность рдестов - накопление на поверхности листьев минеральных инкрустаций, основу которых составляют карбонаты [4]. На карбонатных инкрустациях, в свою очередь, осаждаются минеральные вещества, в том числе тяжелые металлы и радионуклиды [4, 5].

Поэтому целью данного исследования была оценка локализации в биомассе металлов, накопленных рдестами реки Енисей.

### Методы

Для исследования использовали четыре вида рдестов – типичных представителей фитоценоза реки Енисей. Биомассу растений собирали в прибрежной зоне реки на участке от села Большой Балчуг до устья реки Ангара: в районе п.Стрелка (вблизи устья Ангары), на расстоянии 330 км от г.Красноярска, на двух участках вблизи с. Захаровка на расстоянии 276 км, около с. Большой Балчуг, 98 км от г. Красноярска. Биомассу растений тщательно промывали речной водой, формировали пробы в трех повторностях, взвешивали и высушивали при температуре 80 °С до постоянного веса в отдельных бумажных пакетах во избежание потери

<sup>1</sup> Работа выполнена при поддержке Лаврентьевского гранта СО РАН №80; Гранта Президента РФ № МК-5961.2006.4; гранта Минобрзаования и науки РФ и CRDF № Y2-B-02-16; Интеграционного проекта СО РАН № 30.

\* © Т.А.Зотина, Институт биофизики СО РАН, e-mail: t\_zotina@ibr.ru, Красноярский государственный университет; И.В.Грибовская, Институт биофизики СО РАН, 2006.

карбонатного осадка, накопленного на поверхности листьев, который легко отделяется с сухой биомассы. Полученные пробы сухой биомассы (в среднем по 15 г каждая) обрабатывали соляной кислотой. Для этого пробы биомассы заливали 150-200 мл 0.2 М соляной кислоты, выдерживали при помешивании 15-30 минут в зависимости от интенсивности реакции растворения карбонатов, раствор сливали, и биомассу снова заливали порцией кислоты. Процедуру повторяли 3-4 раза до полного растворения карбонатного осадка, о чем судили по интенсивности образования пены. После прекращения обработки кислотой биомассу отжимали и сушили при 80 °С. Из полученного раствора кислоты удаляли крупную взвесь фильтрованием через ткань для сит с размером ячеек 56 мкм. Взвесь присоединяли к обработанной биомассе. В растворе кислоты в обработанной биомассе, а также в исходной сухой биомассе определяли содержание металлов: К и Na – с помощью пламенного фотометра FLAPHO-4 (Carl Zeiss, Jena); Ca, Mg, Fe, Mn, Zn, Co и Cu были измерены на атомно-абсорбционном спектрометре AAS-IN (Carl Zeiss); Al, Cr, Ni, Cd, и Pb были измерены с помощью эмиссионного спектрометра PGS2 (Carl Zeiss). Образцы были проанализированы в двух повторностях. Ошибки измерения составили:  $0.3 \cdot 10^{-4}\%$  для Sr в твердых образцах и  $1 \cdot 10^{-6}\%$  в растворах. Аналогично для Mo, Va –  $0.1 \cdot 10^{-4}\%$  и  $0.3 \cdot 10^{-6}\%$ . Для Co, Ni, Pb –  $0.1 \cdot 10^{-4}\%$  и  $0.6 \cdot 10^{-6}\%$ . Для Al  $5 \cdot 10^{-4}\%$  и  $3 \cdot 10^{-6}\%$ . Для Zn и Cd –  $0.1 \cdot 10^{-5}\%$  и  $0.06 \cdot 10^{-6}\%$ . Для Cu –  $0.015 \cdot 10^{-4}\%$  и  $0.1 \cdot 10^{-6}\%$ . Для Cr  $0.75 \cdot 10^{-4}\%$  и  $0.5 \cdot 10^{-6}\%$ . Для Mn  $3 \cdot 10^{-6}\%$  и  $0.2 \cdot 10^{-6}\%$ . Для Fe –  $9 \cdot 10^{-6}\%$  и  $0.6 \cdot 10^{-6}\%$ . Для K, Na и Ca  $1.5 \cdot 10^{-4}\%$  и  $0.1 \cdot 10^{-4}\%$ . Для Mg  $1.5 \cdot 10^{-5}\%$  и  $1 \cdot 10^{-6}\%$ .

### Результаты

На участке реки Енисей от г.Красноярска до устья р.Ангары нами было встречено семь видов рдестов. *Potamogeton pectinatus* L. был единственным видом, который был встречен на всех станциях отбора проб. В протоке вблизи села Большой Балчуг было встречено четыре вида рдеста. Помимо вышеупомянутого это *P.perfoliatus* L., *P.lucens* L. и *Potamogeton* sp. Последний таксон по описаниям Приймаченко с соавторами [3] похож на *P.juzepchukii* или, возможно, является гибридом. В результате проведенных измерений в исходной биомассе и полученных фракциях биомассы исследованных видов рдестов было определено содержание металлов K, Na, Ca, Mg, Mn, Fe, Al, Sr, Zn, Cr, Cd, Mo, V, Co, Ni, Cu. В табл. 1 представлены диапазоны концентраций исследованных металлов в пробах биомассы *Potamogeton pectinatus*, собранных на четырех вышеупомянутых станциях. Содержание исследованных элементов в сухой биомассе рдеста попадает в диапазон значений, представленных в обзоре [4].

Исключение составляют концентрации молибдена и ванадия, содержание которых в данном литературном источнике очень высоко. Согласно полученным нами данным, удельные концентрации большинства металлов в биомассе данного вида рдеста на разных станциях являются величинами одного порядка (табл. 1).

Таблица 1

Содержание металлов в биомассе *Potamogeton pectinatus*

Металл	Содержание в биомассе, мг/г		Доля металла, пределы варьирования (среднее±sd, n=4), %	
	Для р.Енисей	Данные литературы [4]	В растворе кислоты	В протонированной биомассе
K	15-29	5.9-53.4	77-96 (90±9)	4-23 (10±9)
Na	7-13	10-40	83-92 (88±3)	8-17 (12±3)
Ca	10-20	1.6-220	90-97 (93±4)	3-10 (7±4)
Mg	3-8	0.5-60.8	70-96 (87±12)	4-30 (13±12)
Mn	1.0-7.4	0.1-5.3	80-96 (90±7)	4-20 (10±7)
Sr	0.29-0.47	0.12-0.53	42-82 (66±18)	
Fe	1.2-3.9	0.3-50	14-26 (24±7)	74-86 (76±7)
Al	0.6-4.3 (1.0-3.8)	0.4-2.7		71-97 (90±13)
	мкг/г			
Zn	18-48	12-340		68-87 (76±10)
Cr	1.7-7.1			97-100 (99±1)
Mo	0.4-1.0	>65->110		60-94 (74±15)
Va	3.5-18.5	1650		42-91 (71±21)
Co	1.5-6.5	2.8-26.0	26-72 (48±21)	52±21
Ni	5.0-8.7	9-21	18-79 (53±28)	47±28
Cu	4.8-8.1	8-103		41-79 (65±17)

Для оценки прочности связывания металлов с биомассой растений и локализации элементов в биомассе было проведено протонирование сухой биомассы соляной кислотой. Согласно существующим представлениям [2, 6, 7] при обработке соляной кислотой происходит замена легких катионов в местах их связывания на поверхности клеток протонами кислоты. В частности, в результате растворения карбонатов в раствор должны переходить металлы, сорбированные на карбонатных инкрустациях. Таким образом, в раствор переходят металлы, слабо связанные с биомассой растений: ионы, сорбированные на поверхностных инкру-

стациях, а также находящиеся внутри клеток в растворенной форме. В обработанной кислотой биомассе остаются металлы, относительно прочно связанные с биомассой растений, в частности встроенные в ткани.

В табл. 1 приведены доли металлов в полученных фракциях: в смыве соляной кислотой и в обработанной кислотой биомассе. Например, калий, который относится к числу элементов, находящихся в клетке в растворенной форме, практически полностью перешел в раствор кислоты ( $90 \pm 9$  %). То же самое произошло с Na, Ca и Mg. Из микроэлементов в раствор перешла большая часть Mn, Cd и Sr. Известно, что кальций накапливается на поверхности листьев рдеста в процессе фотосинтеза в виде известковых инкрустаций [1, 2]. В свою очередь инкрустации карбоната на поверхности листьев рдеста способствуют сосаждению металлов, например магния и железа, а также ряда микроэлементов [4]. Следовательно, вышеупомянутые элементы перешли в раствор как из внутриклеточного пространства, так и с поверхностных инкрустаций.

Такие катионы, как железо, алюминий, цинк, хром и молибден, остались преимущественно в обработанной кислотой биомассе. Следовательно, эти металлы в основном относительно прочно связаны с биомассой, возможно, встроены в ткани.

Разброс значений при оценке распределения между фракциями кобальта, никеля, ванадия и меди был довольно большим. Поэтому полученные данные не позволяют судить о распределении в биомассе рдеста данных катионов.

Было также проведено исследование распределения катионов в результате протонирования биомассы четырех разных видов рдестов, собранных на одной станции, в протоке вблизи с.Б.Балчуг. В табл. 2 приведены содержания катионов в растворе кислоты, полученной в результате обработки биомассы растений. Согласно полученным результатам такие катионы, как K, Na, Ca, Mg, Sr, Mn и Cd, практически полностью перешли в раствор при обработке биомассы всех четырех видов растений. Исключение составляет результат для распределения марганца в биомассе *Potamogeton sp.* Алюминий, молибден, железо, ванадий, кобальт и хром после обработки кислотой преимущественно остались в биомассе растений. Исключение составили кобальт и ванадий, которые распределились равномерно между раствором кислоты и биомассой для *P.lucens* и *P.perfoliatus* соответственно. Большая часть меди (56-78 %) осталась в биомассе после обработки кислотой для всех четырех видов. В распределении цинка и никеля не наблюдалось единообразия.

Таблица 2

Содержание металлов в растворе кислоты, полученном после обработки биомассы рдестов, собранных вблизи села Б.Балчуг.

металл	Доля металла. %			
	<i>P.pectinatus</i>	<i>P.perfoliatus</i> L.	<i>Potamogeton sp.</i>	<i>P.lucens</i>
K	92	98	97	94
Na	89	98	97	98
Ca	90	98	99	95
Mg	92	93	91	88
Mn	80	90	49	98
Sr	62	86	70	65
Fe	26	17	11	34
Al	7	32	17	12
Zn	28	42	92	86
Cr	0	2	3	15
Mo	6	32	35	20
Va	9	54	5	10
Co	35	30	23	46
Ni	18	79	45	66
Cu	22	28	22	44

При сравнении результатов, полученных для одного вида, собранного с четырех станций по течению реки Енисей, и результатов, полученных для четырех разных видов, собранных на одной станции, наблюдается единообразие для распределения металлов между полученными фракциями. Так получены аналогичные результаты для катионов, перешедших в раствор соляной кислоты. Так же получен аналогичный результат для Al, Fe, Mo и Cr, - эти металлы после протонирования преимущественно остались в биомассе. Для таких металлов, как Va, Zn, Cu, Ni и Co, не удалось получить единообразных результатов для всех исследованных видов растений.

Таким образом, в результате протонирования биомассы четырех видов рдеста соляной кислотой металлы разделились на три группы. Такие катионы, как K, Na, Ca, Mg, Mn, Cd, Sr, в основном перешли в раствор, следовательно, эти металлы относительно слабо связаны с биомассой, они могут быть сорбированы в минеральных инкрустациях на поверхности листьев, а также находятся в растворенной форме внутри клеток. Другая группа металлов (Fe, Al, Mo, Cr) осталась преимущественно связанной с биомассой, следовательно, эти металлы относительно прочно связаны с биомассой растений и, в частности, могут быть встроенными в

ткани. Для Co, Ni, Va, Zn и Cu не удалось получить однозначных данных о прочности связывания этих металлов с биомассой растений. Возможно, необходим анализ большего числа проб или использование более концентрированной кислоты. Проведенные исследования позволяют оценить прочность связывания тяжелых металлов с биомассой растения и сделать предположение относительно их локализации в биомассе погруженных макрофитов реки Енисей.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лукина Л.Ф. Физиология высших водных растений / Л.Ф. Лукина, Н.Н. Смирнова. - Киев: Наукова думка. - 1988. - С.188.
2. Vazquez M.D., Lopez J., Carballeira A. Uptake of heavy metals to the extracellular and intracellular compartments in three species of aquatic bryophyte. / *Ecotoxicology and environmental safety*. - 1999. - V.44. - P. 12-24.
3. Приймаченко А.Д. Продукционно-гидробиологические исследования Енисей / А.Д. Приймаченко, Н.Г. Шевелева, И.Л. Покатилова, И.Л. Пырина, А.П. Белавская, О.П. Баженова. - Новосибирск: Наука. - 1993. - С.197.
4. Kantrud, Harold A. Sago pondweed (*Potamogeton pectinatus* L.): A literature review. // U.S. Fish and Wildlife Service, Fish and Wildlife. Resource Publication 176. Jamestown, ND: Northern Prairie Wildlife Research Center. Home Page. 1990. <http://www.npwrc.usgs.gov/resource/literatr/pondweed/pondweed.htm> (Version 16JUL97)
5. Куликов Н.В. Радиоэкология пресноводных биосистем / Куликов Н.В., Чеботина М.Я.. Свердловск: УрО АН СССР. 1988. - С.129.
6. Brown D.Y., Wells J.M. Physiological effects of heavy metals on the moss *Rhytidiadelphus squarrosus*. / *Annals of botany*. - 1990. - V. 66. - P. 641-647.
7. Davis T.A., Volesky B., Mucci A. A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae. / *Water research*. - 2003. - V. 37. - P. 4311-4330.

#### DISTRIBUTION OF HEAVY METALS IN THE BIOMASS OF POTAMOGETON SPECIES OF THE YENISEI RIVER

T.A.Zotina, I.V.Gribovskaya

*We investigated the distribution of metals in the biomass of four species of Potamogeton genera from the Yenisei River. As a result of protonation of the oven-dried biomass of plants with 0.2 M HCl, the metals have been sorted in three groups. The largest amount of K, Na, Ca, Mg, Mn, Cd, Sr was detected in acid solution, consequently, these metals have a relatively weak bonds with plants biomass, they were desorbed from carbonate incrustations on the plant surface and/or (in case this metal was not bound inside the cell) washed out from intracellular compartment of cells as well. Another group of metals included Fe, Al, Mo and Cr. These metals preferably remained in plant biomass after acid treatment. Therefore, they are relatively tightly bound with plant tissues. The distribution of Co, Ni, Va, Zn and Cu was not uniform in all samples treated.*

УДК 574.5(28)

#### ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЯ СРЕДЫ НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ РАЧКОВ *DAPHNIA MAGNA* К ТОКСИКАНТАМ

Т.Л. Шашкова,  
Ю.С. Григорьев, О.А. Березина\*

*Исследована зависимость выживаемости рачков *Daphnia magna* от условий проведения токсикологического эксперимента с тяжелыми металлами. Показано, что токсический эффект этих веществ усиливается при улучшении условий аэрации среды, уменьшении плотности посадки рачков и снижении связующей способности культивационной воды.*

Методы биотестирования при определении острого токсического воздействия на низших ракообразных широко применяются для экологического контроля как в России, так и за рубежом [5, 7, 8, 10, 13]. Наиболее часто используемым тест-организмом являются рачки *Daphnia magna*, токсическое воздействие на которых оценивается по показателю их выживаемости или смертности в тестируемой воде [4, 6]. Среди достоинств этих методов можно указать на простоту выращивания тест-культуры рачков и выполнение токсикологиче-

\* © Т.Л. Шашкова, Ю.С. Григорьев, О.А. Березина, Красноярский государственный университет, 2006.