

Экспериментальная оценка возможности использования погруженных макрофитов для биотестирования донных отложений р. Енисей

Т. А. ЗОТИНА, Е. А. ТРОФИМОВА, А. Я. БОЛСУНОВСКИЙ, О. В. АНИЩЕНКО

Институт биофизики СО РАН
660036, Красноярск, Академгородок
E-mail: t_zotina@ibp.ru

Статья поступила 13.11.2013

АННОТАЦИЯ

Лабораторное биотестирование проб донных отложений (ДО) р. Енисей, отличающихся по содержанию техногенных радионуклидов, тяжелых металлов и биогенных элементов (N и P), с использованием водных растений *Elodea canadensis* (элодея) и *Myriophyllum spicatum* (уруть), показало, что параметры корней более чувствительны к изменению качества ДО в целом, чем параметры побегов: у урути – длина побегов (9 %) < длина корней (11 %) < число корней (15 %); у элодеи – длина побегов (22 %) < длина корней (42 %) < число корней (44 %). В отличие от урути показатели роста корней и побегов элодеи достоверно различались между большинством проб ДО. Выявлена обратная зависимость роста длины побегов растений от активности техногенных радионуклидов в пробах ДО, наиболее достоверная для элодеи ($r^2 = -(0,90-0,95)$; $p = 0,05$). Поскольку показатели роста побегов и корней элодеи оказались более чувствительными к изменению качества ДО, чем у урути, то элодею можно рассматривать как более перспективный вид для биотестирования ДО.

Ключевые слова: *Elodea canadensis*, *Myriophyllum spicatum*, донные отложения, токсичность, техногенные радионуклиды, тяжелые металлы, биогены.

Река Енисей подвергается антропогенному загрязнению в результате работы промышленно-коммунального комплекса г. Красноярска и других населенных пунктов, расположенных в зоне водосбора, а также загрязнена техногенными радионуклидами в результате многолетней работы Горно-химического комбината (ГХК) госкорпорации “Росатом”, расположенного на восточном берегу реки, на 80 км ниже Красноярска. За время работы ГХК в донных отложениях р. Енисей накопились высокие активности долгоживущих техногенных радионуклидов, в том числе трансурановых элементов [Bolsunovsky,

2010]. В предыдущих исследованиях выявлено повышенное содержание некоторых металлов (Cu, Zn, Pb) в донных отложениях реки ниже Красноярска [Анищенко и др., 2010]. Поэтому донные отложения р. Енисей на участке, расположенном ниже г. Красноярска, и ГХК являются потенциальным источником ксенобиотиков химической и радиационной природы для биоты. Экспериментально установлено, что совместное действие радиационного и химического факторов (тяжелых металлов) может вызывать как усиление, так и ослабление биологических реакций у растений [Евсеева и др., 2008]. По-

этому наиболее адекватную оценку качества ДО для биоты можно получить методами контактного биотестирования.

С недавнего времени погруженные макрофиты (в том числе *Myriophyllum* spp., *Elodea* spp.) стали использоваться для биотестирования воды и донных отложений как самостоятельно, так и совместно с другими тест-объектами [Knauer et al., 2006; Sanchez et al., 2007; Arts et al., 2008; Knauer et al., 2008; Hoess et al., 2010; Teodorovic et al., 2012; Feiler et al., 2013; Beketov et al., 2013]. Установлено, что параметры макрофитов не уступают по чувствительности ряду других тест-объектов [Hoess et al., 2010; Feiler et al., 2013], традиционно используемых для оценки токсичности донных отложений. Токсичность донных отложений р. Енисей в лабораторных условиях ранее не оценивалась, хотя была установлена повышенная частота встречаемости клеток с цитогенетическими нарушениями в корнях элодеи канадской, произрастающей в р. Енисей на участках, подвергающихся химическому и радиоактивному загрязнению [Болсуновский и др., 2007]. Исходя из вышесказанного, возникла цель данной работы: оценить возможность использования погруженных макрофитов для оценки токсичности донных отложений р. Енисей и выявить параметры растений, чувствительные к изменению качества донных отложений.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Пробы донных отложений (ДО) отбирали в октябре 2012 г. в р. Енисей на участках с разным уровнем радиоактивного загрязнения. Расстояние по течению реки определяли с помощью судходной карты р. Енисей [Карта..., 2008]. За точку отсчета принят речной вокзал г. Красноярск. Фоновая проба (ДО-1) отобрана со стороны западного берега реки, в территориальных границах пос. Удачный, около 12 км выше речного вокзала г. Красноярск (рис. 1). В зоне радиоактивного и химического загрязнения реки были отобраны пробы со стороны восточного берега: ДО-2 – вблизи с. Большой Балчуг, ДО-3 – вблизи с. Атаманово и ДО-4 – в устье р. Шумиха, на расстоянии 97, 86 и 80 км ниже Красноярск соответственно. Пробы ДО отбирали в ме-



Рис. 1. Карта-схема участка р. Енисей с указанием точек пробоотбора

стах вегетации макрофитов вблизи берега из верхнего, корнеобитаемого, слоя толщиной до 20 см, протирали через полиэтиленовую сеть с размером ячеек 0,9 см и хранили в холодильнике при 4–5 °С. В экспериментах использовали массовые виды погруженных макрофитов на данном участке р. Енисей – элодею канадскую (*Elodea canadensis* Michx.) и уруть колосистую (*Myriophyllum spicatum* L.) [Зотина, 2014]. Растения отбирали в р. Енисей на фоновом участке и акклиматизировали в лаборатории в течение двух недель на водопроводной воде при температуре 18–19 °С, естественном освещении от северного окна, при слабом аэрировании. Для экспериментов использовали молодые апикальные побеги растений длиной 4 см (для элодеи) и 5 см (для урути), выросшие в лаборатории. Начальная сырая масса побегов элодеи составила $0,281 \pm 0,048$ г ($n = 108$, влажность 94,8%), урути – $0,089 \pm 0,025$ г ($n = 72$, влажность 91,8%).

Для эксперимента брали образцы проб ДО объемом 300 мл (массой 500–700 г) (табл. 1) с каждой точки отбора, и измеряли в них содержание радионуклидов. Затем каждую пробу делили на три равные части и раскладывали по стеклянным стаканам. Каждую порцию ДО (100 мл) заливали водопроводной водой (500 мл), отфильтрованной через мембраны (RAWP, Millipore) с размером пор 0,2 мкм, не допуская значительного взмучивания. Высота слоя донных отложений в каждом стакане составила около 2,5 см, воды – 14 см. Через сутки (время, необходимое для

Т а б л и ц а 1

Содержание радионуклидов в пробах донных отложений р. Енисей (Бк/кг сырой массы) в эксперименте с элодеей (Е) и с урутью (М)

	Пробы донных отложений											
	ДО-1		ДО-2		ДО-3		ДО-4					
	Е	М	Е	М	Е	М	Е	М				
⁴⁰ K	327 ± 21	334 ± 21	242 ± 18	246 ± 19	254 ± 19	283 ± 21	312 ± 23	331 ± 25				
⁶⁰ Co	-	-	68 ± 2	57 ± 2	61 ± 2	66 ± 2	10 ± 1	11 ± 1				
¹³⁷ Cs	0,8 ± 0,2	0,8 ± 0,2	124 ± 5	131 ± 5	353 ± 13	385 ± 14	1262 ± 45	1401 ± 50				
¹⁵² Eu	-	-	58 ± 2	199 ± 3	178 ± 3	169 ± 3	-	-				
¹⁵⁴ Eu	-	-	7 ± 1	25 ± 1	24 ± 1	24 ± 1	-	-				
¹⁵⁵ Eu	-	-	-	11 ± 2	-	-	-	-				
²⁴¹ Am	-	-	-	8 ± 1	-	40 ± 4	-	-				
Суммарная активность, Бк/кг	328 ± 21	335 ± 21	498 ± 27	677 ± 33	875 ± 39	967 ± 45	1584 ± 69	1743 ± 76				
Активность техногенных радионуклидов, Бк/кг	0,8 ± 0,2	0,8 ± 0,2	256 ± 9	431 ± 14	621 ± 20	684 ± 24	1272 ± 46	1412 ± 51				
Сырая масса пробы, кг	0,623	0,559	0,524	0,506	0,558	0,487	0,703	0,533				

Примечание: содержание изотопа в пробе меньше минимальной детектируемой активности.

осаждения взмученной взвеси) в ДО высаживали растения, по 6 (для урути) и 9 (для элодеи) побегов на стакан. Далее стаканы выдерживали при температуре 19 °С, круглосуточном освещении люминесцентными лампами с уровнем освещенности на поверхности воды 1,5 клк в течение 12 (уруть) и 14 (элодею) суток. Эксперимент прекращали, когда верхушки побегов достигали поверхности воды. По окончании эксперимента растения вынимали из ДО, измеряли все необходимые параметры и высушивали при 105 °С. В качестве параметров роста оценивали длину побегов (сумму основных и боковых, если таковые имелись); длину корней; число корней; массу побегов (сырую и сухую); прирост длины и массы по отношению к их начальным величинам; отношение длины корней к длине побегов.

После удаления растений из донных отложений в конце экспериментов надосадочную воду из трех стаканов сливали, объединяли, фильтровали через бумажный фильтр с размером пор 3,5 мкм (“синяя лента”) и концентрировали до 40 мл с добавлением азотной кислоты при нагревании. Донные отложения из трех стаканов также объединяли в одну пробу. Осадок донных отложений на фильтре добавляли к пробе донных отложений. Высушенную биомассу элодеи озоляли в смеси H₂O₂ и HNO₃ (конц.) при нагревании и объем раствора доводили до 40 мл. Полученные пробы использовали для измерения содержания радионуклидов.

Активность радионуклидов в пробах измеряли на гамма-спектрометре с детектором из сверхчистого германия (Canberra, США), спектры анализировали с помощью программного обеспечения Genie-2000 (Canberra, США).

Влажность донных отложений и биомассы растений оценивали как долю воды (%) в сырых пробах по отношению к их абсолютно сухой массе (после высушивания при 105 °С). Анализ ДО проводили в четырех повторностях, результаты представлены как средние величины со стандартным отклонением. Долю органики оценивали как потерю массы абсолютно сухих проб донных отложений в результате их озонирования в муфельной печи (ПМ-1.0-20, НПП “Теплоприбор”, Россия) при

450 °С в течение 12 ч и выражали в процентах. Анализ проводили в трех повторностях, результаты представлены как средние величины со стандартным отклонением. Для измерения содержания металлов пробы донных отложений сушили при 105 °С, растирали в ступке и минерализовывали в смеси азотной и хлорной кислот (1 : 1). К полученному осадку добавляли дистиллированную воду и выпаривали, процедуру повторяли дважды, затем пробу переносили в мерную пробирку и добавляли дистиллят до необходимого объема [Анищенко и др., 2010]. Содержание металлов в пробах измеряли на атомно-эмиссионном спектрометре с индукционно-связанной плазмой (ICP-OES Spectrometer iCAP 6300 Duo, Thermo Electron Manufacturing Ltd, Великобритания). Анализ проводили в двух повторностях, результаты представлены как средняя величина. Содержание общего фосфора ($P_{\text{общ}}$) в минерализованных пробах определяли фотометрическим методом после реакции с молибдатом аммония [АРНА, 1989]. Содержание общего азота ($N_{\text{общ}}$) определяли методом Къельдаля.

Для сравнения различия средних величин использовали двухвыборочный *t*-тест Стьюдента с различными дисперсиями из пакета анализа данных Microsoft Excel.

Чувствительность параметров растений к изменению качества ДО оценивали по их ингибированию относительно контроля как отношение: (величина параметра в контроле – величина параметра в опыте)/величина параметра в контроле, и выражали в %.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Содержание радионуклидов в пробах донных отложений, растений и воды. В пробах донных отложений (ДО) содержался природный радионуклид ^{40}K , удельная активность которого находилась на уровне 242–331 Бк/кг (см. табл. 1). Из техногенных радионуклидов в фоновой пробе (ДО-1) зарегистрирована незначительная активность ^{137}Cs . В других пробах ДО отмечено большее число техногенных радионуклидов (^{60}Co , ^{137}Cs , $^{152,154}\text{Eu}$, ^{241}Am), из которых наибольшая активность принадлежала ^{137}Cs (30–99 % от суммарной активности техногенных радионуклидов).

Максимальная суммарная активность техногенных радионуклидов отмечалась в пробе ДО-4 (см. табл. 1). Суммарная активность гамма-излучающих радионуклидов (техногенных и природного изотопа ^{40}K) в пробах ДО с загрязненных участков реки (ДО-2–4) превышала фоновую активность (ДО-1) в 1,5–5,2 раза. Активность техногенных радионуклидов в пробах, отобранных в зоне радиоактивного загрязнения (ДО-2–4), различалась в 1,6–5,0 раза и значительно превышала фоновую.

В растениях с фонового участка р. Енисей из техногенных радионуклидов регистрировался только ^{137}Cs с активностью до 0,8 Бк/кг сухой массы. В биомассе растений, использованных для эксперимента, активность техногенных радионуклидов не превышала пределов обнаружения.

По окончании экспериментов незначительная активность ^{137}Cs (до $0,13 \pm 0,02$ Бк/кг сухой массы) была зарегистрирована в побегах растений, выращенных на пробе ДО-4. Содержание радионуклидов в воде не превышало пределов обнаружения.

Содержание металлов, биогенных элементов, влаги и органики в пробах донных отложений. Наименьшие содержания всех исследованных металлов (K, Na, Ca, Mg, Fe, Cu, Mn, Zn, Cr, Co, Ni, Pb, Cd, Mo, V, Sr, Al) зарегистрированы в пробе ДО-4, наибольшие – в пробе ДО-2 (табл. 2). Содержание влаги в пробах донных отложений составляло от 20 до 41 % (см. табл. 2), наименьшая влажность отмечена в пробах ДО-4. Максимальная доля органики зарегистрирована в пробе ДО-3 (см. табл. 2). Доля органического вещества (450/150 °С) в пробе ДО-3 достоверно ($p < 0,05$) превышала долю органики в пробах ДО-1 и ДО-4. Наименьшее содержание общего фосфора ($P_{\text{общ}}$) зарегистрировано в пробе ДО-4, общего азота ($N_{\text{общ}}$) – в пробе ДО-1. Наибольшее содержание общего фосфора и общего азота – в пробе ДО-2.

Показатели роста побегов и корней. Показатели роста элодеи и урути в конце экспериментов приведены на рис. 2. Побеги растений достигли максимальной длины на пробе ДО-1 (см. рис. 2, а). Средняя длина побегов элодеи, выросших на пробе ДО-1, достоверно ($p < 0,05$) превышала среднюю длину побегов, выросших на трех других про-

Валовое содержание металлов (мг/кг сырой массы) в пробах донных отложений р. Енисей, использованных в экспериментах, доля органики (%) и влажность (%)

Элемент	Проба донных отложений			
	ДО-1	ДО-2	ДО-3	ДО-4
K	440	967	617	243
Na	71	146	100	34
Ca	2085	3235	2429	671
Mg	2879	4434	3766	987
Fe	6217	9571	7859	2911
Cu	2,4	9,2	7,3	1,7
Mn	91,9	133,6	110,7	83,0
Zn	17,6	49,2	46,1	7,0
Cr	7,8	15,2	12,2	3,1
Co	3,7	6,5	5,1	1,9
Ni	10,9	17,0	13,9	4,2
Pb	3,2	7,3	5,2	0,9
Cd	0,239	0,471	0,370	0,099
Mo	0,000	0,139	0,000	0,000
V	11,4	19,0	13,1	4,0
Sr	20,0	35,4	23,6	5,6
Al	4193	9476	6514	1701
P _{общ} (n = 3)	213 ± 29	306 ± 18	269 ± 28	117 ± 12
N _{общ}	413	2486	1465	795
Влажность (n = 4)	31,8 ± 3,2	40,8 ± 3,8	40,3 ± 0,3	20,2 ± 3,5
Доля органики (n = 3)	2,80 ± 0,71	3,93 ± 1,71	6,36 ± 0,48	2,95 ± 1,29

П р и м е ч а н и е. Приведены средние величины для двух повторностей или среднее для указанного в скобках числа повторностей ± станд. отклон.

бах ДО, наименьшая ($p < 0,05$) средняя длина побегов зарегистрирована на пробе ДО-4. Средняя длина побегов урути, выросших на пробе ДО-1, достоверно ($p < 0,05$) превышала только среднюю длину побегов, выросших на пробе ДО-2. За время эксперимента длина побегов элодеи увеличилась в среднем в 2,3–2,9 раза относительно их начальной длины, урути – в 2,9–3,2 раза (см. рис. 2, б). Минимальный прирост длины побегов элодеи зарегистрирован на пробах ДО-4, максимальный – на пробе ДО-1. Появления боковых побегов у элодеи не наблюдалось, в отличие от урути, у которой наблюдалось появление боковых побегов, не достигших в большинстве случаев значительной длины. Наибольшее число боковых побегов (15 шт.) появилось у урути на пробе ДО-2. Суммарная длина боковых побегов у урути не превышала 2 % от суммарной длины основных побегов.

Сухая биомасса побегов элодеи в конце эксперимента была в среднем больше, чем побегов урути (см. рис. 2, в). Средние величины сухой массы растений, выросших на разных пробах ДО, не различались достоверно ($p < 0,05$) за исключением биомассы элодеи на пробах ДО-2 и ДО-4. Биомасса элодеи возросла в конце эксперимента в 1,4–1,7 раза по сравнению с их начальной массой, урути – в 2,1–2,4 раза (см. рис. 2, г). Относительный прирост биомассы урути не различался достоверно на разных пробах ДО (см. рис. 2, г). Минимальный прирост биомассы элодеи ($p < 0,05$) зарегистрирован на пробе ДО-4, величина достоверно отличается от прироста массы на пробе ДО-2 и ДО-3. Прирост массы на пробе ДО-1 был также достоверно ($p < 0,05$) ниже прироста на пробах ДО-2 и ДО-3.

Среднее число корней, выросших на побегах элодеи, составило 0,5–0,9 шт. на один

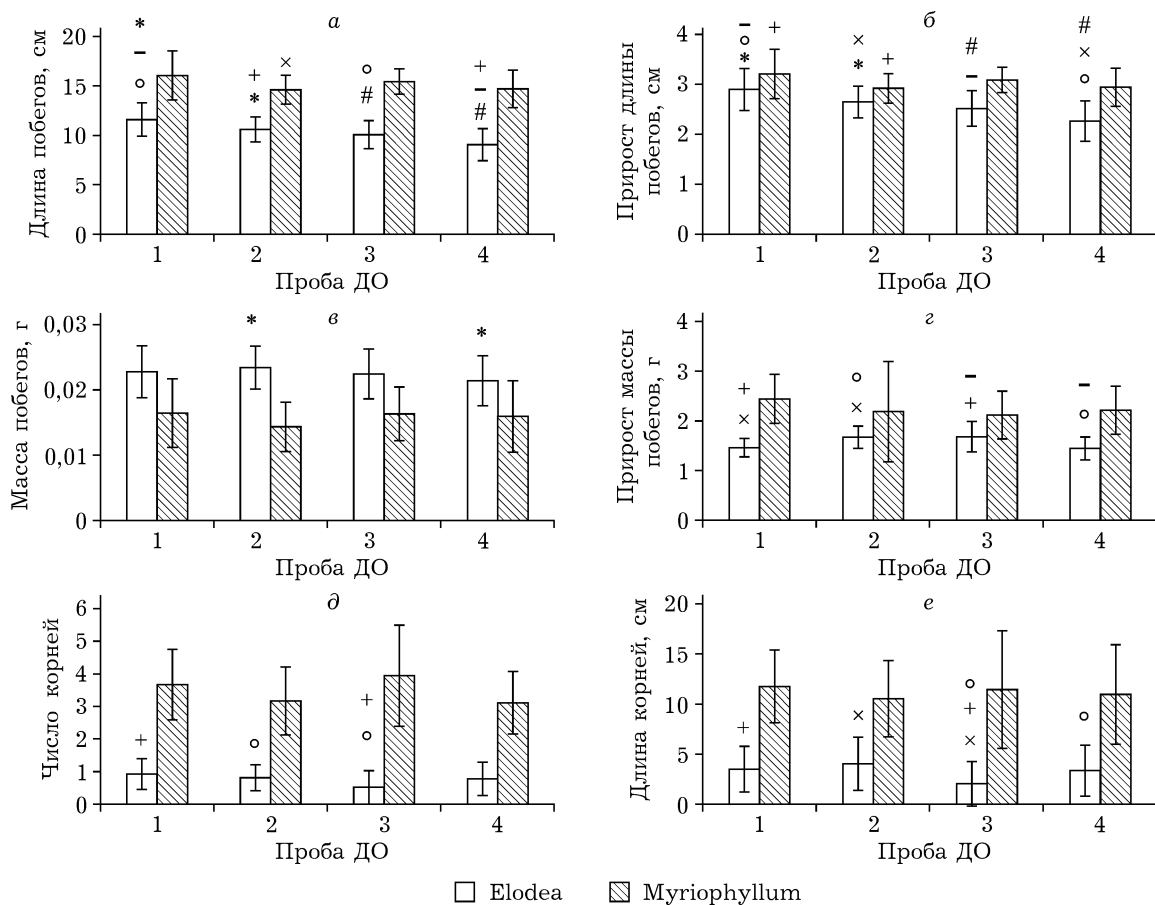


Рис. 2. Показатели роста побегов и корней растений (*E. canadensis* и *M. spicatum*) на пробах донных отложений (ДО-1–4) в экспериментах (средн. знач. \pm станд. отклон.), $n = 27$ для *E. canadensis* и $n = 18$ для *M. spicatum*: а – длина побегов, см; б – масса побегов сухая, г; в – длина корней, см; г – число корней, шт.; д – прирост длины побегов относительно их начальной длины; е – прирост массы побегов относительно их начальной массы. Символы (*, +, -, #, o, x) над столбцами обозначают достоверность различий ($p < 0,05$) между отмеченными значениями

побег (см. рис. 2, д), а их средняя длина – 2,0–4,0 см (см. рис. 2, е). На некоторых побегах элодеи корни вообще не выросли. Максимальное число побегов без корней зарегистрировано на ДО-3 (15 шт.), на ДО-1 корни не выросли на четырех побегах, на ДО-2 – на пяти побегах и на ДО-4 – на семи побегах. Среднее число корней на побегах урути составило 3,1–3,9 шт., их средняя длина – 10,5–11,8 см (см. рис. 2, д, е). Наименьшие число и длина корней элодеи ($p < 0,05$) зафиксированы для пробы ДО-3, число и длина корней, выросших на побегах урути на разных пробах ДО достоверно не различались (см. рис. 2, д, е).

Средние величины (с учетом нулевых значений, в тех случаях, когда на побегах корни не выросли) соотношения длина корней/

длина побегов варьировали у урути в диапазоне 0,72–0,74, у элодеи – в диапазоне 0,20–0,38.

Зависимость параметров роста растений от активности радионуклидов, содержания металлов и биогенов в пробах ДО. Корреляционный анализ выявил обратную зависимость роста длины побегов и биомассы элодеи от удельной активности радионуклидов (суммарной, техногенных и ^{137}Cs) в пробах ДО с высоким уровнем достоверности ($r^2 = -0,90 \div -0,95$; $p < 0,05$) (табл. 3). Параметры роста корней имели слабую обратную корреляцию с содержанием радионуклидов в ДО. Параметры роста побегов и корней элодеи слабо коррелировали друг с другом. Длина побегов и показатели роста корней элодеи, а также отношение длины корней к длине по-

Корреляционная матрица параметров *E. saipalensis* и содержания радионуклидов, азота и фосфора в пробах донных отложений

Наименование параметра	№	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Бк/пробу сумм.	1	1											
Бк/пробу техн.	2	1	1										
¹³⁷ Cs, Бк/пробу	3	0,99	0,99	1									
R _{общ} мг/кг	4	-0,80	-0,74	-0,83	1								
N _{общ} мг/кг	5	-0,29	-0,21	-0,29	0,75	1							
Длина побегов, см	6	-0,92*	-0,95	-0,90	0,51	-0,07	1						
Прирост длины побегов отн.	7	-0,92	-0,95	-0,90	0,51	-0,07	1	1					
Сух масса, г	8	-0,93	-0,90	-0,91	0,90	0,59	0,76	0,76	1				
Прирост сухой массы отн.	9	-0,44	-0,35	-0,49	0,88	0,84	0,05	0,05	0,59	1			
Длина корней, см	10	-0,17	-0,20	-0,07	-0,02	0,20	0,27	0,27	0,35	-0,29	1		
Число корней	11	-0,22	-0,29	-0,13	-0,24	-0,28	0,48	0,48	0,21	-0,62	0,86	1	
Длина корней/длина побегов	12	0,22	0,21	0,32	-0,26	0,19	-0,15	-0,15	0,01	-0,36	0,91	0,70	1

* Для $r^2 > 0,90$ корреляция достоверна при $p < 0,05$.Корреляционная матрица параметров *M. spicata* и содержания радионуклидов, азота и фосфора в пробах донных отложений

Наименование параметра	№	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Бк/пробу сумм.	1	1											
Бк/пробу техн.	2	1	1										
¹³⁷ Cs, Бк/пробу	3	0,99	0,97	1									
R _{общ} мг/кг	4	-0,72	-0,65	-0,81	1								
N _{общ} мг/кг	5	-0,15	-0,06	-0,28	0,75	1							
Длина побегов, см	6	-0,60	-0,66	-0,53	0,04	-0,63	1						
Прирост длины побегов отн.	7	-0,60	-0,66	-0,53	0,04	-0,63	1	1					
Сухая масса, г	8	0,08	0,01	0,15	-0,49	-0,86	0,74	0,74	1				
Прирост сухой массы отн.	9	-0,47	-0,54	-0,33	-0,26	-0,65	0,65	0,65	0,34	1			
Длина корней, см	10	-0,35	-0,41	-0,28	-0,18	-0,76	0,96*	0,96	0,91	0,54	1		
Число корней	11	-0,47	-0,48	-0,49	0,33	-0,25	0,79	0,79	0,66	0,05	0,80	1	
Длина корней/длина побегов	12	0,66	0,62	0,68	-0,73	-0,67	0,18	0,18	0,79	-0,13	0,46	0,28	1

* Для $r^2 > 0,90$ корреляция достоверна при $p < 0,05$.

Корреляционная матрица параметров *E. canadensis* и содержания металлов в пробах донных отложений

Наименование параметра	№	1	2	3	4	5	6	7	8	12	13	14	15	16	17	18	19
Cu	1	1															
Mn	2	0,97	1														
Zn	3	0,98	0,93	1													
Cr	4	0,95	0,96	0,97	1												
Co	5	0,95	0,97	0,96	1	1											
Ni	6	0,90	0,92	0,93	0,99	0,99	1										
Pb	7	0,95	0,98	0,95	1	1	0,98	1									
Cd	8	0,96	0,97	0,97	1	1	0,99	1	1								
Al	12	0,96	0,99	0,94	0,99	0,99	0,97	1	0,99	1							
Длина побегов, см	13	0,12	0,25	0,22	0,41	0,43	0,54	0,40	0,40	0,38	1						
Прирост длины побегов, отн.	14	0,12	0,25	0,22	0,41	0,43	0,54	0,40	0,40	0,38	1	1					
Сухая масса, г	15	0,70	0,81	0,72	0,87	0,89	0,92	0,88	0,87	0,88	0,76	0,76	1				
Прирост сухой массы отн.	16	0,97	0,89	0,98	0,91	0,89	0,85	0,89	0,91	0,88	0,05	0,05	0,59	1			
Длина корней, см	17	-0,05	0,18	-0,18	0,02	0,07	0,04	0,09	0,03	0,14	0,27	0,27	0,35	-0,29	1		
Число корней	18	-0,43	-0,20	-0,49	-0,26	-0,22	-0,18	-0,21	-0,26	-0,18	0,48	0,48	0,21	-0,62	0,86	1	
Длина корней/длина побегов	19	-0,20	-0,14	0,04	-0,32	-0,19	-0,15	-0,22	-0,11	-0,06	-0,05	-0,15	-0,15	-0,15	0,01	-0,36	1

П р и м е ч а н и е. Курсивом выделены коэффициенты, имеющие отношение к параметрам растений. * Для $r^2 > 0,90$ корреляция достоверна при $p < 0,05$.

Корреляционная матрица параметров *M. spicata* и содержания металлов в пробах донных отложений

Наименование параметра	№	1	2	3	4	5	6	7	8	12	13	14	15	16	17	18	19
Cu	1	1															
Mn	2	0,97	1														
Zn	3	0,98	0,93	1													
Cr	4	0,95	0,96	0,97	1												
Co	5	0,95	0,97	0,96	1	1											
Ni	6	0,90	0,92	0,93	0,99	0,99	1										
Pb	7	0,95	0,98	0,95	1	1	0,98	1									
Cd	8	0,96	0,97	0,97	1	1	0,99	1	1								
Al	12	0,96	0,99	0,94	0,99	0,99	0,97	1	0,99	1							
Длина побегов, см	13	-0,33	-0,34	-0,15	-0,09	-0,10	0,04	-0,14	-0,11	-0,20	1						
Прирост длины побегов отн.	14	-0,33	-0,34	-0,15	-0,09	-0,10	0,04	-0,14	-0,11	-0,20	1	1					
Сухая масса, г	15	-0,65	-0,77	-0,50	-0,58	-0,61	-0,51	-0,64	-0,60	-0,69	0,74	0,74	1				
Прирост сухой массы отн.	16	-0,61	-0,45	-0,55	-0,35	-0,33	-0,22	-0,34	-0,36	-0,35	0,65	0,65	0,34	1			
Длина корней, см	17	-0,48	-0,54	-0,30	-0,29	-0,32	-0,18	-0,36	-0,32	-0,41	0,96	0,96	0,91	0,54	1		
Число корней	18	0,11	-0,02	0,30	0,24	0,20	0,30	0,16	0,21	0,10	0,79	0,79	0,66	0,05	0,80	1	
Длина корней / длина побегов	19	-0,62	-0,79	-0,57	-0,74	-0,77	-0,76	-0,78	-0,75	-0,81	0,18	0,18	0,79	-0,13	0,46	0,28	1

П р и м е ч а н и е. Курсивом выделены коэффициенты, имеющие отношение к параметрам растений. Для $r^2 > 0,90$ корреляция достоверна при $p < 0,05$.

бегов слабо коррелировали с содержанием азота и фосфора в ДО. Масса побегов прямо достоверно зависела от содержания фосфора в ДО ($r^2 = 0,90$; $p < 0,05$), зависимость от содержания азота в ДО была недостоверной (см. табл. 3).

Параметры роста длины побегов и корней урути отрицательно коррелировали с содержанием радионуклидов в пробах ДО, но с низкой достоверностью (табл. 4). Однако длина корней и показатели роста побегов урути положительно коррелировали друг с другом ($r^2 = 0,91-0,96$; $p < 0,05$). Параметры урути имели обратную зависимость от содержания азота в ДО, те же параметры элодеи положительно коррелировали с содержанием фосфора и азота в ДО.

Параметры роста побегов и корней урути имели отрицательную, но статистически недостоверную корреляцию с содержанием тяжелых металлов (Cu, Mn, Zn, Cr, Co, Ni, Pb, Cd, Mo, V, Sr, Al) в пробах ДО ($r^2 < -0,77$). Длина корней положительно коррелировала с показателями роста побегов ($r^2 = 0,91-0,96$, $p < 0,05$). Показатели прироста побегов элодеи, наоборот, положительно коррелировали с содержанием металлов в пробах ДО (см. табл. 5, 6). Достоверные коэффициенты корреляции отмечены для зависимости биомассы и ее прироста от содержания некоторых металлов (Cu, Zn, Cr, Ni, Cd) в ДО ($r^2 = 0,91-0,98$, $p < 0,05$). Показатели роста побегов и корней элодеи слабо коррелировали друг с другом.

ОБСУЖДЕНИЕ

Токсичность ДО может быть обусловлена присутствием в них как отдельных ксенобиотиков (органических соединений, тяжелых металлов и др.), так и сочетанным действием факторов различной природы. Кроме того, возможно ингибирование роста погруженных макрофитов в присутствии ксенобиотиков, например, гербицидов и пестицидов, растворенных в воде [Knauer et al., 2006; Arts et al., 2008; McGregor et al., 2008].

В Российской Федерации пока не существует официально принятых нормативов, устанавливающих ПДК тяжелых металлов, техногенных радионуклидов и других ксено-

биотиков в ДО. Однако, учитывая возможность сочетанного действия, установленного, например, для радионуклидов и тяжелых металлов [Евсеева и др., 2008], нормативы для отдельных ксенобиотиков будут малоинформативными.

Пробы ДО р. Енисей, выбранные нами для тестирования, значительно различались по содержанию техногенных радионуклидов (^{60}Co , ^{137}Cs , $^{152,154}\text{Eu}$) и тяжелых металлов. Содержание тяжелых металлов в пробах ДО, собранных в р. Енисей ниже Красноярска, за исключением пробы ДО-4, оказалось больше, чем в пробе ДО-1, собранной выше Красноярска, что является свидетельством антропогенного загрязнения. Минимальное содержание всех металлов зарегистрировано в пробе ДО-4, которая в данном контексте является исключением, так как она отобрана в устье правобережного притока – р. Шумиха. Содержание металлов в пробах ДО различалось в пределах одного порядка, за исключением молибдена, который был зарегистрирован только в одной пробе. Содержание неэссенциальных металлов, токсичных для биоты, Pb и Cd, в пробах ДО различалось до 5–8 раз. На основе биотестирования проб донных отложений пресноводных водоемов США были установлены пороговые концентрации ряда металлов (Cu, Zn, Ni, Cr, Pb, Cd), ниже которых вредное воздействие на биоту не наблюдается и концентрации, выше которых возможно вредное воздействие [MacDonald et al., 2000]. Концентрации Ni и Cd в пробах ДО р. Енисей, исследованных нами, превышают пороговые значения, ниже которых вредное воздействие не наблюдается, но не достигают пороговых концентраций, при которых возможно вредное воздействие. Содержание всех исследованных металлов в пробах ДО отрицательно коррелировало с активностью радионуклидов. То есть в пробе ДО с максимальным содержанием радионуклидов содержание тяжелых металлов было минимальным. Помимо ксенобиотиков ограничивать рост макрофитов может недостаток биогенных элементов (азота и фосфора) в ДО [Angelstein et al., 2009], что может исказить токсический эффект. Однако известно, что при лимитировании биогенами увеличивается длина корней у

M. spicatum и, соответственно, возрастает отношение длина корней / длина побегов [Mantai, Newton, 1982]. Следовательно, учитывая данное соотношение можно избежать неверной интерпретации токсического эффекта. В пробах ДО, исследованных нами, содержание фосфора различалось до 2,6 раза, азота – до 6,0 раза.

Чувствительность параметров макрофитов к изменению качества среды обитания может различаться. Для биотестирования важно выбрать наиболее чувствительные параметры. Показатели роста корней отмечаются как более чувствительные к действию ксенобиотиков органической природы, чем показатели роста побегов у ряда погруженных макрофитов, среди которых находятся оба использованных нами вида растений [Arts et al., 2008]. В наших экспериментах большее число и длина корней выросли у урути, по сравнению с элодеей. Однако показатели прироста корней урути не различались достоверно на разных пробах ДО, в отличие от элодеи. У элодеи наибольшая длина корней зарегистрирована на пробе ДО-2, содержащей в 1,5 раза большую активность радионуклидов, чем в фоновой пробе. При этом содержание азота и фосфора в пробе ДО-2 было максимальным, что позволяло ожидать минимального прироста корней [Mantai, Newton, 1982]. Наименее интенсивный рост корней элодеи (числа и длины) зафиксирован на пробе ДО-3, имевшей большее содержание радионуклидов, ряда металлов и биогенов, чем в фоновой пробе. В целом можно отметить, что показатели роста корней элодеи варьируют между пробами ДО в большей степени, чем показатели роста побегов. Так, средняя длина побегов у элодеи изменяется в 1,3 раза, а средняя длина корней – в 2,0 раза. У урути максимальное различие обоих показателей не превышает 1,1 раза.

Чувствительность параметров растений к изменению качества среды обитания может быть оценена по величине их ингибирования по отношению к контролю [Arts et al., 2008; Hoess et al., 2010]. В нашем эксперименте контролем можно условно назвать пробу ДО-1, отобранную выше Красноярска. Показатели растений можно ранжировать по отклонению от контроля следующим образом: для урути –

длина побегов (9 %) < длина корней (11 %) < масса побегов (13 %) < число корней (15 %); для элодеи – масса побегов (6 %) < длина побегов (22 %) < длина корней (42 %) < число корней (44 %). Таким образом, у обоих видов растений, параметры корней более чувствительны к изменению условий среды обитания, чем показатели побегов. По имеющимся в литературе данным [Hoess et al., 2010], чувствительность параметров роста растений превышает 20 %, а наибольшая чувствительность характерна для ферментативной активности у бактерий (> 60 %).

Масса побегов используется как один из стандартных параметров растений в экотоксикологических экспериментах. Однако на основе полученного нами опыта мы вынуждены признать массу побегов не вполне пригодным параметром из-за погрешностей, которые возникают при ее измерении. Так, погрешности возникают при оценке сырой массы побегов, что обусловлено необходимостью строго соблюдать одинаковую увлажненность поверхности растений. Кроме того, начальная масса побегов растений обычно неодинакова, в отличие от длины побегов, которая достаточно точно устанавливается в начале эксперимента. При использовании большого числа повторностей отслеживать массу каждого отдельного побега в начале и конце эксперимента не представляется возможным, и приходится оперировать средними величинами, что также может исказить реальный эффект. Источником ошибок при оценке массы может стать оседание микрочастиц донных отложений на поверхности побегов растений, которое неизбежно возникает при даже незначительном взмучивании воды. Интенсивность взмучивания зависит от состава ДО. В силу вышесказанных причин мы рассматриваем массу побегов как вспомогательный, второстепенный параметр растений при биотестировании ДО, по сравнению с длиной побегов и параметрами корней. В наших экспериментах были получены неадекватные зависимости биомассы побегов от содержания металлов в пробах ДО.

В работе [Arts et al., 2008] установлено, что показатели роста разных видов погруженных макрофитов проявляют различную чувствительность к одним и тем же токси-

кантам. Наши результаты показывают сходные, но в разной степени выраженные реакции у двух видов макрофитов на присутствие радионуклидов и металлов в пробах ДО. Поскольку показатели роста побегов и корней элодеи оказались более чувствительными к изменению качества донных отложений р. Енисей, чем у урути, то элодею можно рассматривать как более перспективный вид для биотестирования донных отложений. Наиболее пригодными для биотестирования параметрами растений, обладающими достаточной чувствительностью к изменению качества донных отложений, являются, по нашему мнению, показатели роста длины побегов и показатели роста корней (число и длина).

Мы предприняли попытку выявить зависимость параметров роста растений от отдельных факторов, характеризующих качество ДО, с помощью корреляционного анализа. В результате была выявлена обратная зависимость роста побегов элодеи и урути от удельной активности радионуклидов в пробах ДО, достоверная только для элодеи. Параметры роста корней и побегов положительно коррелировали друг с другом у обоих видов растений, но с большей достоверностью – у элодеи. Полученные данные свидетельствуют об ингибировании роста побегов при увеличении содержания радионуклидов в ДО. Однако неясен механизм токсического действия радиационного фактора на рост побегов макрофитов, поскольку прямой контакт с ДО происходит только у небольшой дистальной части побега, погруженной в ДО и у корней, которые получают наибольшую дозу облучения. При этом достоверного ингибирования роста корней при увеличении содержания радионуклидов не выявлено. Возможно, в данном случае биологический эффект достигается в результате опосредованного (немишенного) механизма действия. Техногенные радионуклиды, зарегистрированные в пробах ДО р. Енисей, обладают химической токсичностью как тяжелые металлы, однако их концентрация очень мала. Оценки дозовой нагрузки на элодею канадскую, произрастающую в р. Енисей на загрязненных техногенными радионуклидами донных отложениях с удельной активностью, близкой к активности в наших пробах ДО, показали, что корни элодеи получают внешнюю дозу

гамма-излучения от донных отложений мощностью около 50 мкГр/сут [Болсуновский и др., 2007]. Следовательно, в наших экспериментах максимальная доза, полученная корнями растений, составила около 0,7 мГр. Эта величина относится к малым дозам по микродозиметрическому критерию для редкоизирующего излучения [Bond et al., 1988; Котеров, 2010]. Однако токсический эффект от такой дозы представляется маловероятным.

В отличие от токсического действия, мутагенное действие малых доз ионизирующего излучения на корни растений, произрастающих в донных отложениях, установлено экспериментально с помощью лукового теста [Geras'kin et al., 2011], а также для макрофитов, произрастающих в водоемах, загрязненных техногенными радионуклидами [Shevtsova, Gudkov, 2009]. Проведенные ранее исследования показали повышенную частоту клеток, содержащих аномалии хромосом, в корнях элодеи, выросшей на донных отложениях р. Енисей *in situ* с повышенным содержанием техногенных радионуклидов [Болсуновский и др., 2007]. Поэтому дополнительным индикаторным параметром элодеи для оценки мутагенного действия ксенобиотиков, присутствующих в донных отложениях, может стать частота аномалий хромосом в клетках апикальной корневой меристемы. Размеры хромосом элодеи (около 2 мкм) позволяют идентифицировать их аномалии, в отличие от урути, хромосомы которой слишком мелкие.

Достоверного ингибирования роста макрофитов при увеличении содержания тяжелых металлов в пробах ДО не выявлено. Параметры роста растений противоположным образом реагировали на содержание азота и фосфора в пробах ДО. На основе анализа зависимости параметров роста двух видов макрофитов от содержания радионуклидов, тяжелых металлов и биогенов в пробах ДО можно заключить, что характер и степень выраженности влияния радионуклидов (дозы облучения) на параметры растений не совпадают с влиянием тяжелых металлов, присутствующих в пробах ДО, и с содержанием биогенных элементов. Таким образом, несмотря на достоверно выявленный эффект, однозначно выявить причину ингибирования роста макрофитов на пробах ДО

р. Енисей нам пока не удалось. Однако мы не измеряли содержание других потенциально токсичных для растений ксенобиотиков, которые могут присутствовать в донных отложениях р. Енисей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате биотестирования проб донных отложений (ДО) р. Енисей, отличающихся по содержанию техногенных радионуклидов, тяжелых металлов и биогенных элементов, выявлены схожие, но в разной степени выраженные реакции у двух видов макрофитов *Elodea canadensis* (элодея) и *Myriophyllum spicatum* (уруть). Параметры роста корней оказались более чувствительными к изменению качества ДО, чем показатели роста побегов растений. Показатели роста элодеи были более чувствительными к изменению качества донных отложений, чем у урути, поэтому элодею можно рассматривать как более перспективный вид для биотестирования донных отложений р. Енисей. Параметры роста длины побегов и роста корней (длины и числа) элодеи являются достаточно чувствительными и наиболее пригодными параметрами для оценки качества ДО.

Авторы благодарят коллег из лаборатории радиоэкологии и аналитической лаборатории ИБФ СО РАН за гамма-спектрометрический и химический анализ проб. Исследование частично поддержано грантом РФФ № 14-14-00076 и проектом № 30.5 Программы Президиума РАН “Биологическое разнообразие”.

ЛИТЕРАТУРА

- Анищенко О. В., Гладышев М. И., Кравчук Е. С., Калачева Г. С., Грибовская И. В. Оценка антропогенного загрязнения р. Енисей по содержанию металлов в основных компонентах экосистемы на участках, расположенных выше и ниже г. Красноярск // Журн. Сиб. фед. ун-та. Сер. Биология. 2010. Т. 3, № 1. С. 82–98.
- Болсуновский А. Я., Муратова Е. Н., Суковатый А. Г., Пименов А. В., Санжараева Е. А., Зотина Т. А., Седельникова Т. С., Паньков Е. В., Корнилова М. Г. Радиоэкологический мониторинг реки Енисей и цитогенетические характеристики водного растения *Elodea canadensis* // Радиационная биология. Радиоэкология. 2007. Т. 47, № 1. С. 63–73.
- Евсеева Т. И., Гераскин С. А., Майстренко Т. А., Белых Е. С. Проблемы количественной оценки биологических эффектов совместного действия факторов радиационной и химической природы // Там же. 2008. Т. 48, № 2. С. 203–211.
- Зотина Т. А. Фитомасса и видовое разнообразие макрофитной растительности реки Енисей на участке от г. Красноярск до р. Ангара // Журн. Сиб. фед. ун-та. Сер. Биология. 2014. Т. 7, № 1. С. 1–7.
- Карта реки Енисей от Красноярской ГЭС до устья реки Ангара. ФГУ “Енисейречтранс”. СПб.: Изд-во ГБУ “Волго-Балт”, 2008. 91 с.
- Котеров А. Н. Малые дозы радиации: факты и мифы. Книга первая. Основные понятия и нестабильность генома. М.: Изд-во “ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России”, 2010. 283 с.
- Angelstein S., Wolfram C., Rahn K., Kiwel U., Frimmel S., Merbach I., Schubert H. The influence of different sediment nutrient contents on growth and competition of *Elodea nuttallii* and *Myriophyllum spicatum* in nutrient-poor waters // Fund. Appl. Limnol. 2009. Vol. 175, N 1. P. 49–57.
- APHA. Standard methods for the examination of water and wastewater. 17th Edition / eds. L. S. Clesceri, A. E. Greenberg, R. R. Trussell. Washington, DC: American Public Health Association, 1989.
- Arts G. H. P., Belgers J. D. M., Hoekzema C. H., Thissen J. T. N. M. Sensitivity of submerged freshwater macrophytes and endpoints in laboratory toxicity tests // Environ. Pollut. 2008. Vol. 153. P. 199–206.
- Beketov M. A., Cedergreen N., Wick L. Y., Kattwinkel M., Duquesne S., Liess M. Sediment toxicity testing for prospective risk assessment – a new framework and how to establish it // Hum. Ecol. Risk Assess. 2013. Vol. 19. P. 98–117.
- Bolsunovsky A. Artificial radionuclides in sediment of the Yenisei River // Chem. Ecol. 2010. Vol. 26, N 10. P. 401–409.
- Bond V. P., Feinendegen L. E., Booz J. What is a low dose of radiation? // Int. J. Radiat. Biol. 1988. Vol. 53, N 1. P. 1–12.
- Feiler U., Hoess S., Ahlf W., Gilberg D., Hammers-Wirtz M., Hollert H., Meller M., Neumann-Hensel H., Ottermanns R., Seiler T. B., Spira D., Heininger P. Sediment contact tests as a tool for the assessment of sediment quality in German waters // Environ. Toxicol. Chem. 2013. Vol. 32, N 1. P. 144–155.
- Geras'kin S., Oudalova A., Michalik B., Dikareva N., Dikarev V. Geno-toxicity assay of sediment and water samples from the Upper Silesia post-mining areas, Poland by means of *Allium*-test // Chemosphere. 2011. Vol. 83. P. 1133–1146.
- Hoess S., Ahlf W., Fahnenstich C., Gilberg D., Hollert H., Melbye K., Meller M., Hammers-Wirtz M., Heininger P., Neumann-Hensel H., Ottermanns R., Ratte H. T., Seiler T. B., Spira D., Weber J., Feiler U. Variability of sediment-contact tests in freshwater sediments with low-level anthropogenic contamination – Determination of toxicity thresholds // Environ. Pollut. 2010. Vol. 158, N 9. P. 2999–3010.
- Knauer K., Mohr S., Feiler U. Comparing growth development of *Myriophyllum* spp. in laboratory and field experiments for ecotoxicological testing // Environ. Sci. Pollut. R. 2008. Vol. 15, N 4. P. 322–331.
- Knauer K., Vervliet-Scheeboom M., Dark R.J., Maund S.J. Methods for assessing the toxicity of herbicides

- to submersed aquatic plants // Pest Manag. Sci. 2006. Vol. 62, N 8. P. 715–722.
- Mantai K. M., Newton M. E. Root growth in *Myriophyllum*: A specific plant response to nutrient availability? // Aquat. Bot. 1982. Vol. 13. P. 45–55.
- MacDonald D. D., Ingersol C. G., Berger T. A. Development and evaluation of consensus-based sediment quality guidelines for freshwater ecosystems // Arch. Environ. Contam. Toxicol. 2000. Vol. 39. P. 20–31.
- McGregor E. B., Solomon K. R., Hanson M. L. Effects of planting system design on the toxicological sensitivity of *Myriophyllum spicatum* and *Elodea canadensis* to atrazine // Chemosphere. 2008. Vol. 73, N 3. P. 249–260.
- Sanchez D., Grase M. A. S., Canhoto J. Testing the use of water milfoil (*Myriophyllum spicatum* L.) in laboratory toxicity assays // B. Environ. Contam. Tox. 2007. Vol. 78, N 6. P. 421–426.
- Shevtsova N. L., Gudkov D. I. Cytogenic effects of long-term radiation on higher aquatic plants within the Chernobyl accident Exclusion Zone // Radioprotection. 2009. Vol. 44, N 5. P. 937–940.
- Teodorovic I., Knezevic V., Tunic T., Cucak M., Lecic J. N., Leovac A., Tumbas I. I. *Myriophyllum aquaticum* versus *Lemna minor*: Sensitivity and recovery potential after exposure to atrazine // Environ. Toxicol. Chem. 2012. Vol. 31, N 2. P. 417–426.

Experimental Estimation of the Possibility to use Submersed Macrophytes for Biotesting of Bottom Sediments of the Yenisei River

T. A. ZOTINA, E. A. TROFIMOVA, A. Ya. BOLSUNOVSKY, O. V. ANISHENKO

*Institute of Biophysics SB RAS
660036, Krasnoyarsk, Akademgorodok
E-mail: t_zotina@ibp.ru*

Laboratory testing of bottom sediments (BS) of the Yenisei River with different concentrations of artificial radionuclides, heavy metals and nutrients (N, P), carried out using aquatic plants *Elodea canadensis* and *Myriophyllum spicatum*, revealed higher sensitivity of root growth endpoints to BS quality as compared to shoot growth endpoints. We obtained the following data: shoot length (9 %) < root length (11 %) < root number (15 %) for *M. spicatum* and shoot length (22 %) < root length (42 %) < root number (44 %) for *E. canadensis*. Endpoints of *E. canadensis* differed significantly among most of the samples of BS, unlike *M. spicatum*. Reverse correlation of shoot length growth and concentration of artificial radionuclides, ¹³⁷Cs and total (natural and artificial) activity concentration in the samples of BS was revealed for *E. canadensis* ($r^2 = -0.90 - -0.95$, $p < 0.05$). As endpoints of *E. canadensis* were more sensitive to the quality of BS than endpoints of *M. spicatum*, the former can be considered as a species more perspective for biotesting of BS.

Key words: bottom sediments, *Elodea canadensis*, *Myriophyllum spicatum*, bottom sediments, toxicity, artificial radionuclides, heavy metals, nutrients.