

На правах рукописи

ШАРУНОВА Ирина Павловна

**МЕЖВИДОВАЯ И ВНУТРИВИДОВАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ НАКОПЛЕНИЯ
ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ ЭПИФИТНЫМИ ЛИШАЙНИКАМИ
В ГРАДИЕНТЕ ТОКСИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ**

03.00.16 – экология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

ЕКАТЕРИНБУРГ – 2008

Работа выполнена в Институте экологии растений и животных Уральского отделения Российской академии наук

Научный руководитель —

кандидат биологических наук
Михайлова Ирина Николаевна.

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, профессор
Шавнин Сергей Александрович,
Ботанический сад УрО РАН,
кандидат биологических наук
Инсарова Ирина Давидовна,
Московский государственный университет
им. М.В. Ломоносова.

Ведущая организация —

Уральский государственный университет
им. А.М. Горького.

Защита состоится “ ____ ” _____ 2008 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 004.005.01 при Институте экологии растений и животных УрО РАН по адресу: 620144 г. Екатеринбург, ул. 8 Марта, 202.

Факс: (343) 260–82–56. Адрес сайта Института: <http://www.ipae.uran.ru>.

E-mail: common@ipae.uran.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института экологии растений и животных УрО РАН.

Автореферат разослан « ____ » _____ 2008 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор биологических наук



Нифонтова М.Г.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Способность лишайников аккумулировать из окружающей среды элементы в количествах, намного превосходящих их физиологические потребности, хорошо известна. Отсутствие специальных органов водо- и газообмена и соответственно крайне низкая способность к авторегуляции приводят к высокой степени соответствия химического состава лишайников и окружающей среды (Трасс, 1985; Мартин, 1987; Андерсон, Трешоу, 1988; Nash, Boucher, 1989). Это качество определило широкое использование лишайников как аккумулятивных биоиндикаторов загрязнения среды металлами, соединениями фтора, серы, азота и радионуклидами.

Практика аккумулятивной лишайноиндикации требует наличия сведений об особенностях поглощения и локализации поллютантов внутри талломов, а также о сезонной динамике содержания металлов. Необходимо выявление внешних и внутренних факторов, ответственных за внутривидовую гетерогенность содержания металлов (характеристики экотопа и форофита, размер и репродуктивное состояние таллома). До настоящего времени остаются открытыми вопросы, касающиеся межвидовых различий в накоплении металлов лишайниками в условиях одинаковой токсической нагрузки.

Цель и задачи работы. Цель настоящей работы – анализ закономерностей аккумуляции эпифитными лишайниками тяжелых металлов из аэротехногенных выбросов.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

- 1) установить влияние экотопических условий на аккумуляцию металлов в лишайниках;
- 2) оценить внутриталломную гетерогенность накопления металлов;
- 3) проанализировать временную динамику накопления металлов с использованием метода трансплантации;
- 4) исследовать внутривидовую гетерогенность накопления металлов;
- 5) изучить межвидовые различия в аккумулятивной способности лишайников.

Научная новизна работы. Впервые проведено комплексное исследование внутривидовой изменчивости содержания металлов в лишайниках, включающей экотопическую и сезонную изменчивость, а также внутривидовую и

внутриталломную гетерогенность содержания металлов (на примере модельного вида *Hypogymnia physodes*). Выполнен сравнительный анализ динамики аккумуляции и локализации тяжелых металлов в талломах, произрастающих в условиях хронического загрязнения и в талломах, трансплантированных из фоновой среды в загрязненную. Исследованы межвидовые различия в аккумулятивной способности пяти видов эпифитных лишайников.

Практическая значимость работы. Материалы диссертационной работы могут быть использованы для улучшения существующих протоколов отбора проб для аккумулятивной лишайноиндикации. Результаты исследований могут быть использованы как иллюстративный материал для преподавания учебных дисциплин «Экология», «Региональная экология», «Методы экологических исследований», «Мониторинг окружающей среды».

Апробация работы. Положения диссертации были доложены на конференциях молодых ученых в Институте экологии растений и животных (Екатеринбург, 2004, 2006), международных конференциях «Биология, систематика и экология грибов в природных экосистемах и агрофитоценозах» (Минск, 2004), «Грибы в природных и антропогенных экосистемах» (Санкт-Петербург, 2005), «Грибы и водоросли в биоценозах – 2006» (Москва, 2006), I Уральском международном экологическом конгрессе «Экологическая безопасность горнопромышленных регионов» (Екатеринбург, 2007). По теме диссертации опубликовано 7 работ, в том числе в журналах, рекомендованных ВАК - 1.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Содержание металлов в лишайнике определяется величиной локальной токсической нагрузки и морфолого-анатомическими характеристиками таллома (тип таллома, наличие эпикортекса) и модифицируется особенностями форофита, положением лишайника на стволе, репродуктивными и возрастными характеристиками таллома.
2. Накопление металлов в талломах лишайников – нелинейный процесс, на который оказывает существенное влияние сезонная динамика полога леса, осадков и снежного покрова.
3. Степень чувствительности видов лишайников к атмосферному загрязнению не связана однозначно со степенью их аккумулятивной способности.

Структура и объем работы. Диссертация изложена на 119 стр. машинописного текста, состоит из введения, 8 глав, выводов, списка цитированной литературы, включающего 192 наименования (из них 132 на иностранных языках). Работа содержит 34 таблицы и иллюстрирована 15 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. Аккумуляция тяжелых металлов в эпифитных лишайниках (обзор литературы)

В **разделах 1.1.–1.7.** представлены литературные данные по проблеме аккумуляции тяжелых металлов эпифитными лишайниками.

Глава 2. Характеристика района исследования

В **разделе 2.1.** приведена физико-географическая характеристика региона. Исследования проводились на западном склоне Среднего Урала в подзоне южной тайги. В **разделе 2.2.** характеризуется источник эмиссии – Среднеуральский медеплавильный завод (СУМЗ). Основные поллютанты – SO_2 и тяжелые металлы. В **разделах 2.3.–2.5.** приведены характеристики пробных площадей, содержание металлов в лесной подстилке и в коре пихты в градиенте токсической нагрузки. Экспериментальный полигон располагался к западу от завода, против направления господствующих ветров, что определяет небольшую протяженность градиента загрязнения в этом направлении. Границы зон нагрузки: импактная – 0–5 км от завода, буферная – 5–12 км, фоновая – больше 12 км. Критерии выделения зон – изменения параметров эпифитных сообществ (Михайлова, 1996). Токсическую нагрузку на пробных площадях оценивали по содержанию тяжелых металлов в лесной подстилке. В пихтово-еловом лесу фоновой зоны (30 км от завода) содержание (средние, пихта/ель, мкг/г) составило для меди 81.6/89.1, свинца – 122.9/136.1, цинка – 244.8/256.2, железа – 1443.4/1089.0, кадмия – 4.4/4.3. В контрольном сосново-березовом лесу (17 км от завода) концентрации выше (средние, береза/сосна, мкг/г): меди – 174.7/209.4, свинца – 287.2/322.6, цинка – 718.9/898.9 и кадмия – 10.0/10.8. Концентрации железа ниже – 1161.7/879.8 мкг/г. В импактной зоне (5 км от завода) в пихтово-еловом лесу концентрации меди превышают фоновые значения в 12–17, для свинца, цинка и кадмия различия равны 4–6.1, для железа – 1.3–1.7 раз. В березовом лесу эти превышения составляют соответственно для меди 9.1, для свинца, цинка и кадмия 2.5–3.6, для железа 1.9 раза; под кронами сосны содержание

меди выше фонового уровня в 5.2, свинца и железа в 2.5, кадмия в 1.1 раза, концентрации цинка, напротив, ниже фоновых в 1.6 раза.

Глава 3. Материал и методика

3.1. Сбор полевого материала.

3.1.1. Влияние экотопических условий на аккумуляцию металлов в талломах лишайников. Контрольные пробные площади были заложены в пихтово-еловом (30 км от завода) и сосново-березовом (17 км) лесах. В каждом фитоценозе было заложено по 3 площади размером около 500 м². На каждой из площадей было выбрано по 10 стволов пихты и ели (в пихтово-еловом лесу) и березы и сосны (в сосново-березовом лесу), с которых отобраны лишайники *Hypogymnia physodes* (на высоте от 0 до 50 см) и *Cladonia coniocraea* (у комля дерева). В импактной зоне (5 км от завода) по три пробные площади было заложено в березовом и в сосновом лесах, две - в пихтово-еловом лесу.

В пределах первой из трех пробных площадей, в двух зонах нагрузки со стволов пихты и березы дополнительно собирали талломы *H. physodes*, растущие на высоте 1 м и 1.5 м от комля дерева. Для оценки величины локальной токсической нагрузки около каждого дерева были отобраны образцы лесной подстилки (на расстоянии 0.5 м от ствола с четырех сторон, смешанный образец).

3.1.2. Внутриталломная вариабельность содержания тяжелых металлов. На пробных площадях (см. методику 3.1.1.) со стволов пихты и березы были собраны талломы *H. physodes* (на высоте 0.5 м). Всего было отобрано 110 талломов.

3.1.3. Временная динамика накопления и локализации тяжелых металлов. В пихтово-еловом лесу в фоновой зоне (30 км от завода) было собрано 210 талломов *H. physodes* вместе с субстратом (ветви пихты). Из собранных талломов 30 были оставлены для определения стартового содержания металлов, а 180 трансплантированы в буферную зону (7 км от завода). Трансплантация производилась на стволы пихты, где произрастали аборигенные талломы. Всего было выбрано 10 форофитов, на стволе каждого из которых произрастало не менее 12 аборигенных талломов *H. physodes*. На ствол каждого форофита пластиковой лентой прикрепляли ветви с 18 талломами-трансплантатами. Сбор образцов трансплантированных лишайников для химического анализа производился ежемесячно в период с июня по октябрь 2004 г, а сбор аборигенных лишайников – один раз в два месяца. Последний сбор аборигенных и трансплантированных талломов произведен в мае 2005 г., через год после

трансплантации. Выборки трансплантированных и аборигенных лишайников в указанные сроки сбора составляли по 3 таллома с каждого форофита.

3.1.4. Внутрипопуляционная гетерогенность накопления металлов. В фоновом (30 км от завода) и импактном (5 км от завода) пихтово-еловых лесах было собрано по 150 слоевищ *H. physodes* (на высоте от 0 до 50 см). В фоновой зоне слоевища были собраны с 5 деревьев. На каждом дереве с помощью квадрат-сетки с участка 20x20 см собирались все различимые невооруженным глазом талломы. В условиях импакта с 15 деревьев были собраны все имеющиеся на стволах слоевища.

3.1.5. Межвидовая изменчивость накопления металлов. Собраны образцы 5 видов эпифитных лишайников в пихтово-еловом лесу со стволов пихты в 30 км от завода. Последующие сборы проводились через каждые 1–2 км по направлению к источнику эмиссии и были закончены на расстоянии 1 км от границы завода. В результате были отобраны лишайники каждого вида не менее чем в 20 точках пространства на всем протяжении градиента. Собранные виды лишайников принадлежали к двум группам токситолерантности: устойчивые (*C. coniocraea*, *Hypocenomyce caradocensis*) и чувствительные (*Vulpicida pinastri*, *Chaenotheca ferruginea*, *H. physodes*) (Михайлова, 1996).

С целью построения зависимостей между выпадением токсикантов в точке пространства и аккумуляцией их в талломе отобраны образцы лесной подстилки и верхнего слоя коры форофита. Образцы коры отбирались со ствола с четырех сторон света на высоте 50 см от комля дерева (смешанный образец). Методика сбора образцов лесной подстилки изложена в разделе 3.1.1.

3.2. Подготовка проб к химическому анализу

3.2.1. Лишайники. Талломы очищены от коры, высушены и взвешены в воздушно-сухом состоянии с точностью до 0.0001 г. Для оценки **влияния экотопических условий на аккумулятивную способность**, талломы *H. physodes* и *C. coniocraea* измельчали на механической мельнице и из полученной массы брали навеску 0.25 г. С целью изучения **локализации тяжелых металлов в слоевищах лишайников** с каждого таллома *Hypogymnia physodes* отобрано по 4 образца: сорали с нижних лопастей (репродуктивные участки); дистальные участки верхних лопастей (срез 3 мм от края лопасти, самые молодые участки); средние части верхних лопастей (3 мм от

предыдущего среза); центральная часть таллома (высечка 5x5 мм, самый старый участок). Навески составляли 0.002-0.006 г.

Определение характера временной динамики накопления металлов. После сбора талломы были помещены в эксикатор в атмосферу повышенной влажности на 24 часа и затем очищены от коры. Перед анализом талломы промывались деионизированной водой для удаления свободных пылевых частиц с поверхности. Из каждого таллома, согласно методике последовательной экстракции (Improving the use of lichens..., 1999), выделялись три фракции тяжелых металлов: экстрацеллюлярная (катионы металлов, аккумулярованные на клеточных стенках симбионтов), интрацеллюлярная (катионы внутри клеток) и остаточная (частицы металлов на поверхности и/или в межклеточных пространствах талломов).

Внутрипопуляционная гетерогенность накопления металлов. Функционально-возрастные состояния у талломов *H. physodes* определены по методике И.Н. Михайловой и Е.Л. Воробейчика (1999). Критерии выделения – количество соралей, степень их развития и соотношение количества соралей на лопастях разных типов. В наших выборках отмечены лишайники всех возрастных состояний: асоредиозные (AS) – полное отсутствие соралей; криптосоредиозные (CS) – все сорали находятся на начальном этапе развития; гипосоредиозные (S1) – сорали на трубчатых и 1–2 сорали на шлемовидных и/или губовидных лопастях; мезосоредиозные (S2) – до 10 соралей на шлемовидных и/или губовидных лопастях; гиперсоредиозные (S3) – более 10 соралей на шлемовидных и/или губовидных лопастях. Затем талломы взвешивали.

Межвидовая изменчивость накопления металлов. Пробы лишайников измельчали. Навески составляли 0.002–0.25 г.

3.2.2. Кора деревьев. Образцы коры высушивали и измельчали. Навески составляли 0.25 г.

3.2.3. Лесная подстилка. Из лесной подстилки экстрагировались подвижные формы металлов 5%-й HNO₃ (Воробейчик, 2003б).

3.3. Методика микроволнового разложения лишайников и коры. Мокрое озоление образцов (65% HNO₃ (осч)) проводили в микроволновых печах (фирма «Урал-Гефест», Россия).

3.4. Элементный анализ. Концентрации элементов в пробах (Cu, Pb, Fe, Zn, Cd) определены на атомно-абсорбционном спектрофотометре AAS Vario 6 («Analytik Jena AG», Германия) с пламенным и электротермическим вариантами атомизации.

3.5. Оценка влияния условий взвешивания на показатель массы лишайника.

Талломы лишайников очень гигроскопичны, поэтому перед взвешиванием образцов мы экспериментально оценили влияние на показатель массы таллома влажности воздуха в помещении в момент взвешивания, а также дня и часа, когда производилось взвешивание. Показано, что влияние этих факторов на массу навесок не значимо.

3.6. Статистическая обработка материала. Материал обработан с использованием дисперсионного, ковариационного, корреляционного, регрессионного анализов, метода множественных сравнений Шеффе (S-метод), критерия Вилкоксона. Математическая обработка данных и построение графиков проводились с помощью стандартных пакетов Microsoft Excel 2000 и STATISTICA 6.0 (StatSoft, Inc. 2001).

Глава 4. Влияние экотопических условий на аккумуляцию тяжелых металлов эпифитными лишайниками

4.1. Содержание тяжелых металлов в талломах *Hypogymnia physodes*. В зоне токсической нагрузки концентрации свинца, цинка и кадмия в талломах *H. physodes* превышают фоновые в 2-2.7, меди – 4.4–6.6 раза (пихтово-еловый лес) и в 1.4–2.8 раза (сосново-березовый лес). Концентрации железа от уровня токсической нагрузки не зависят. С ростом загрязнения вариабельность содержания металлов в лишайниках увеличивается в 1.3–2.6 раза.

Двухфакторный дисперсионный анализ проведен отдельно для каждого типа леса в двух зонах нагрузки (фиксированный фактор – вид форофита (2 вида форофитов), случайный фактор – площадь в пределах зоны загрязнения). На фоновой территории лишайники, растущие на стволах пихты и ели (30 км от завода), по содержанию металлов не различаются, для лишайников с березы и сосны (17 км от завода) обнаружены различия по содержанию меди ($p < 0.01$), цинка и кадмия ($p < 0.05$). В сосново-березовом лесу показан существенный вклад фактора площадки в дисперсию концентраций меди ($p < 0.01$) и кадмия ($p < 0.05$). Следовательно, в условиях повышенного загрязнения (17 км от завода) на содержание металлов в лишайниках влияют особенности кроны форофита и пространственная неравномерность выпадения металлов. В фитоценозах импактной зоны (5 км) вид форофита не влияет на

аккумуляцию металлов лишайниками, а фактор площади значим только для содержания цинка в пихтово-еловом лесу ($p < 0.05$). Количество металлов в *H. physodes* со стволов березы больше, чем в лишайниках с других форофитов; это может быть связано с сезонной динамикой кроны березы.

Концентрации металлов в талломах *H. physodes* ниже таковых в лесной подстилке, но обнаруживают более высокую вариабельность.

4.1.1. Зависимость аккумуляции металла в талломах лишайника *Hypogymnia physodes* от высоты произрастания таллома. Направление изменений концентраций различно для разных металлов и форофитов. Так, на фоновой территории на стволе пихты концентрации свинца и кадмия при увеличении высоты произрастания таллома от 0.5 до 1.5 м уменьшаются ($p < 0.05$), железа и цинка – увеличиваются ($p < 0.05$), меди – остаются неизменными. На стволах березы в интервале от 0.5 до 1.5 м содержание меди и железа возрастает ($p < 0.05$). Изменения цинка и кадмия нелинейны: в интервале от 0.5 до 1 м концентрации возрастают, а затем на высоте 1–1.5 м снижаются. В импактной зоне на стволах пихты на отрезке 0.5–1.5 м концентрации металлов в *H. physodes* снижаются ($p < 0.05$), на стволах березы – возрастают (различия статистически не значимы).

4.2. Содержание тяжелых металлов в талломах *Cladonia coniocraea*. В талломах *C. coniocraea* на импактной территории по сравнению с фоновыми значениями количество меди и свинца увеличивается в 2.5–7.6 (пихтово-еловый лес) и в 3.1–5.6 раз (сосново-березовый лес). Концентрации железа, цинка и кадмия – возрастают в 1.3–3.9 (пихтово-еловый лес) и в 1.8–5.8 раз (сосново-березовый лес). Разница между фоновыми и импактными концентрациями и вариабельность концентраций металлов у *C. coniocraea* выше, чем у *H. physodes*. Возможные причины: произрастание *C. coniocraea* в прикомлевом горизонте древесных стволов, где талломы загрязняются частицами почвы, но экранируются от воздушных выпадений травяно-кустарничковым ярусом. Степень экранирования может быть различной, что создает дополнительную мозаичность содержания металлов в лишайниках. Влияние вида форофита и площадки в пределах зоны на содержание металлов в талломах *C. coniocraea* незначимо.

4.3. Сравнительный анализ содержания металлов в талломах *Hypogymnia physodes* и *Cladonia coniocraea*. В фоновом сосново-березовом лесу содержание металлов выше в талломах *H. physodes* в 2–3.8 раза ($p < 0.001$). В пихтово-еловом лесу различия выражены

слабее. Влияние токсической нагрузки способствует проявлению межвидовых различий в аккумуляции металлов. Количество аккумулированных металлов в *H. physodes* превосходит таковое в *C. coniocraea* на стволах пихты (Cu, $p < 0.05$ и Cd, $p < 0.01$) и березы (Pb, Fe, Cd, Zn, $p < 0.001$). На стволах ели концентрации свинца, железа и цинка ($p < 0.01$) выше в *C. coniocraea*, на стволах сосны – кадмия ($p < 0.05$).

Различия в аккумулятивной способности у лишайников *H. physodes* и *C. coniocraea* возникают из-за разных путей поступления токсикантов, которые обусловлены морфологией талломов и условиями произрастания на стволе дерева. В отличие от гидрофильного эпикортекса *H. physodes*, соредиезные подеции *C. coniocraea* гидрофобны (O'Hare, Williams, 1975). Поэтому *C. coniocraea* аккумулирует частицы из сухих выпадений, а *H. physodes* – частицы и ионы из растворов. Часть аккумулированных частиц подеции *C. coniocraea* теряют вместе с созревающими соредиями. *C. coniocraea* растет в прикорневых участках ствола, где экранируется от загрязнения кроной дерева и травяно-кустарничковым ярусом. *H. physodes* растет главным образом на высоте 0.5–1.5 м и экранируется только кроной дерева.

4.4. Зависимость содержания тяжелых металлов в талломах эпифитных лишайников от концентрации металлов в лесной подстилке. На фоновой территории в пихтово-еловом лесу содержание металлов в талломах *H. physodes* и *C. coniocraea* с содержанием металлов в лесной подстилке не связано (коэффициенты корреляции не значимы). *H. physodes*, собранные со стволов березы, обнаруживают среднюю степень обратной корреляции концентрации меди ($r = -0.45$, $p < 0.05$) и железа ($r = -0.57$, $p < 0.01$) с концентрацией данного металла в лесной подстилке. В импактной зоне число случаев значимой положительной корреляции увеличивается. Средняя степень корреляции обнаружена для содержания свинца ($r = 0.34$) и кадмия ($r = 0.44$) в лесной подстилке и в талломах *H. physodes*, собранных под кроной пихты. В случае с *C. coniocraea* корреляция установлена для содержания свинца ($r = 0.49$, $p < 0.05$), цинка ($r = 0.67$, $p < 0.01$) и кадмия ($r = 0.68$, $p < 0.01$). В березовом лесу поступление металлов в талломы лишайников и в лесную подстилку не связано. В сосновом лесу содержание кадмия в *H. physodes* коррелирует с его содержанием в подстилке ($r = 0.51$, $p < 0.01$).

Слабо выраженная корреляция между содержанием металлов в талломах лишайников и в лесной подстилке свидетельствует в пользу предположения о

различных механизмах поступления тяжелых металлов в лесную подстилку и в талломы лишайников. Лесная подстилка не может быть использована в качестве меры нагрузки на лишайниковые сообщества в масштабе десятков метров в пределах одной зоны загрязнения.

Глава 5. Внутриталломное распределение металлов

(на примере *Hypogymnia physodes*)

5.1. Распределение металлов в талломах, собранных со стволов березы. На всех пробных площадях обнаружено возрастание концентраций металлов по мере «старения» анализируемого участка таллома (дистальный участок < средняя часть лопасти < центр таллома) (рис. 1).

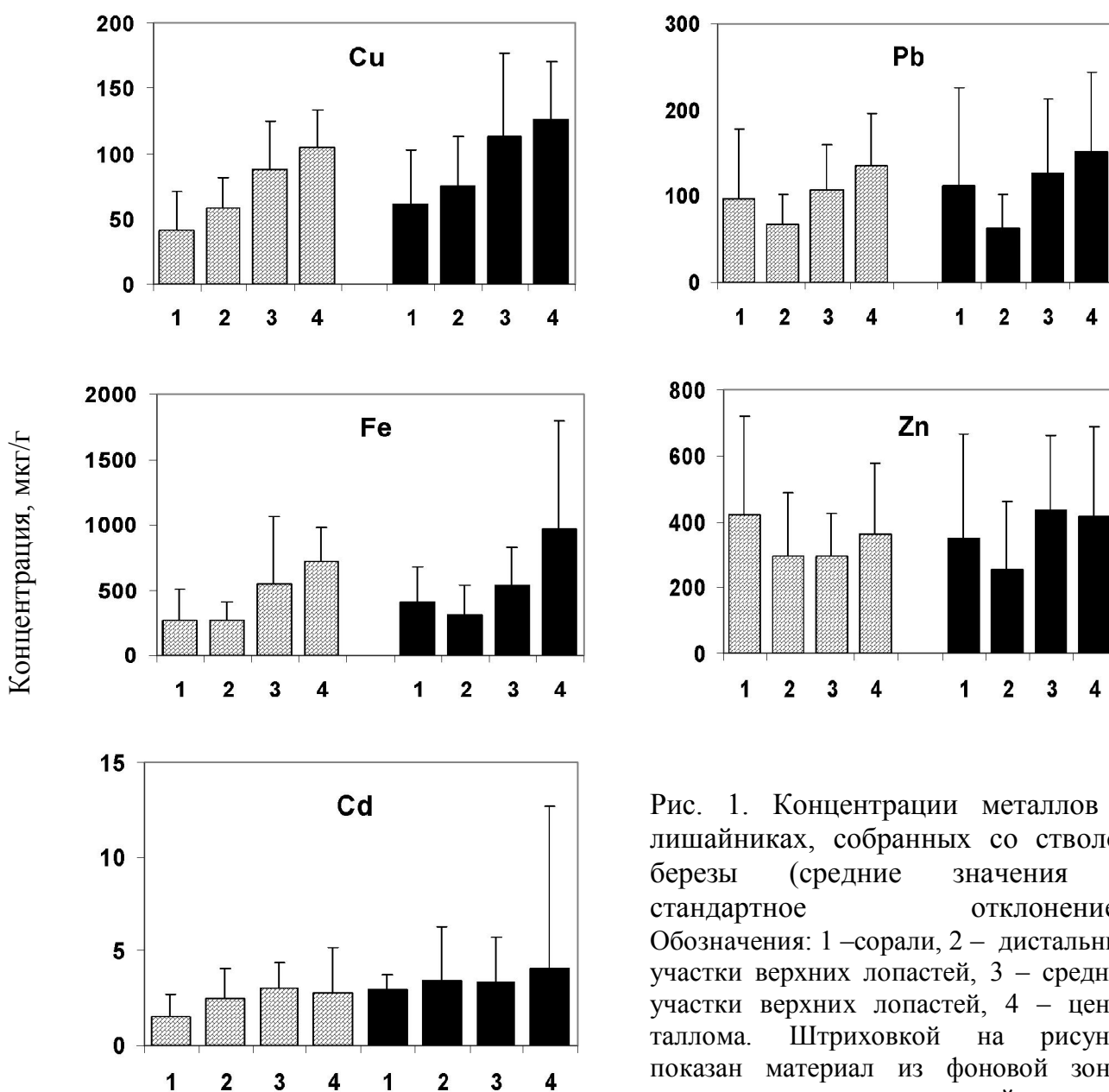


Рис. 1. Концентрации металлов в лишайниках, собранных со стволов березы (средние значения и стандартное отклонение). Обозначения: 1 – сорали, 2 – дистальные участки верхних лопастей, 3 – средние участки верхних лопастей, 4 – центр таллома. Штриховкой на рисунке показан материал из фоновой зоны, черным цветом - из импактной.

Выявленная закономерность лучше выражена у лишайников из загрязненной зоны. Различия достоверны на фоновых площадях для содержания меди и кадмия ($p < 0.01$), на импактных площадях – для содержания железа ($p < 0.001$), свинца ($p < 0.01$), меди и цинка ($p < 0.05$). И на фоновой, и на импактной территории в ряде случаев значимая доля дисперсии объясняется случайным фактором – положением площадки.

Различия концентраций внутри талломов перекрывают таковые между зонами: содержание металлов в центральных участках «фоновых» талломов превышает содержание металлов в молодых участках «импактных» талломов. Высокое содержание металлов (Pb, Fe, Zn) в сораях, близкое к таковому в средних частях верхних лопастей, закономерно, если предположить, что возраст данных участков примерно одинаков. Высокие концентрации тяжелых металлов в сораях могут служить доказательством отсутствия у лишайников защиты репродуктивной сферы от действия токсикантов.

5.2. Распределение металлов в талломах, собранных со стволов пихты. На фоновой территории участки талломов разного возраста различаются по содержанию железа ($p < 0.05$), на импактной – железа ($p < 0.001$) и кадмия ($p < 0.05$). В фоновых условиях фактор «положение площади» вносит значимый вклад в дисперсию содержания меди, свинца и цинка (во всех случаях $p < 0.001$), в импактных – только железа ($p < 0.001$). Закономерности распределения металлов в лишайниках со стволов пихты соответствуют таковым у лишайников со стволов березы, но выражены слабее.

Глава 6. Временная динамика накопления и локализации металлов в талломах *Hypogymnia physodes*

6.1. Динамика содержания металлов в аборигенных талломах. В талломах *H. physodes* Pb и Cd локализованы преимущественно экстрацеллюлярно, Zn – интрацеллюлярно, Fe и Cu – в остаточной фракции.

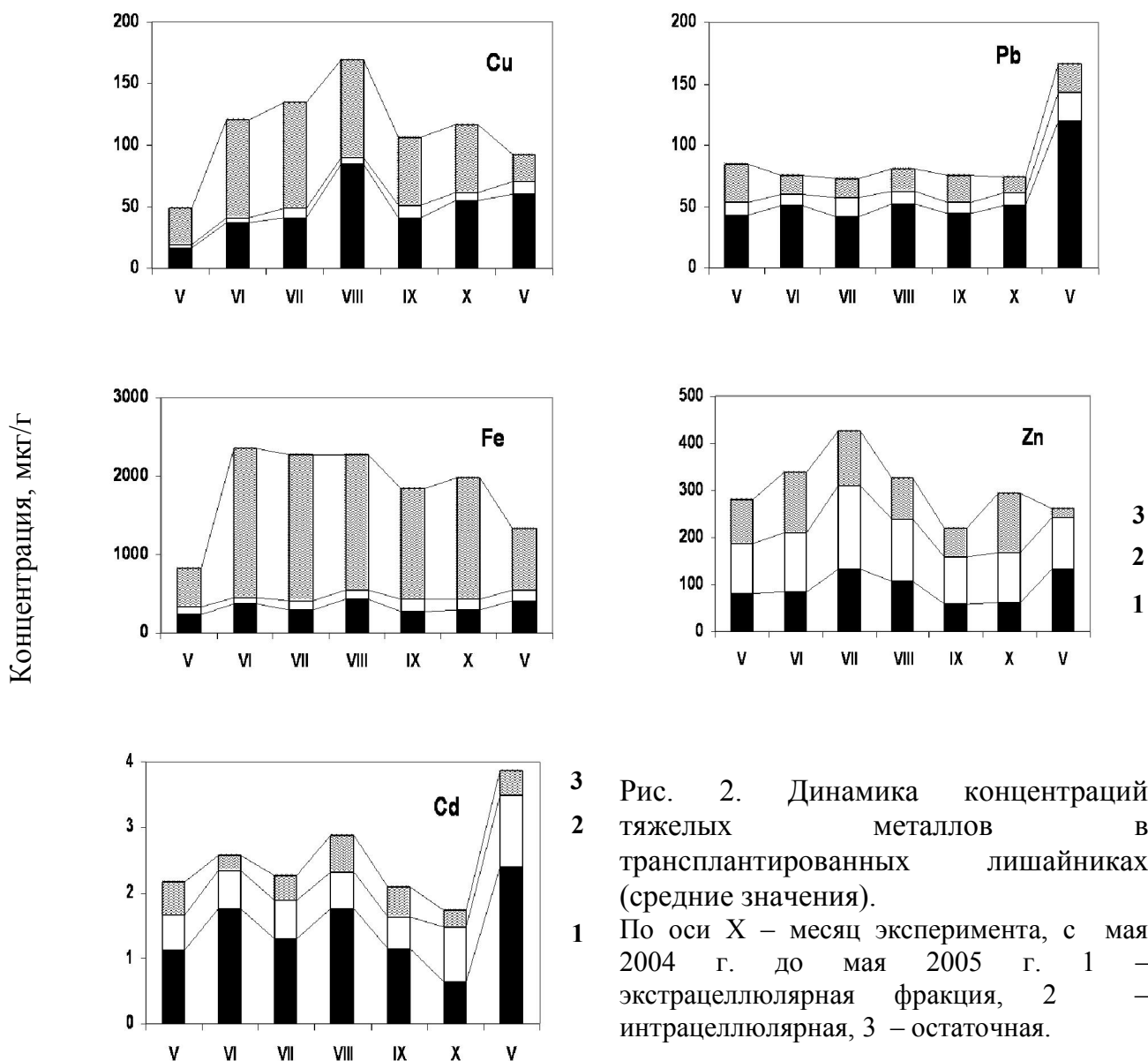
Для всех металлов отмечено снижение суммарного содержания в период с мая по октябрь. Наименее подвержена сезонной динамике интрацеллюлярная фракция металлов: значимое влияние месяца сбора отмечено только для содержания Zn ($F=4.58$, $p < 0.05$) и Cd ($F=2.87$, $p < 0.05$). Стабильность интрацеллюлярной фракции обеспечивается барьерной функцией плазматической мембраны, которая препятствует процессам поступления и вымывания катионов металлов.

Содержание металлов в экстрацеллюлярной и остаточной фракциях подвержено сезонным колебаниям. Для металлов, локализованных преимущественно

экстрацеллюлярно (Pb и Cd), характерно снижение суммарного содержания в течение вегетационного сезона (в основном за счет экстрацеллюлярной фракции) и резкий подъем концентраций весной. Для остальных металлов (Fe, Cu и Zn) обнаружен другой характер сезонной динамики: убывание общего содержания металлов (преимущественно за счет снижения содержания остаточной фракции) с июня в течение всего года без весеннего подъема. Если принять, что основную массу остаточной фракции составляют частицы, инкорпорированные в эпикортекс и межклеточные пространства таллома (Nash 1996; Cellular impact of metal trace elements..., 2004, Михайлова, 2005), то можно предположить, что в летний период поступление частиц на поверхность лишайников лимитировано (за счет экранирования кронами лиственных деревьев и травяно-кустарничковым ярусом), в то время как удаление частиц путем разрушения и/или растворения происходит.

6.2. Динамика содержания металлов в трансплантированных талломах. Закономерности распределения металлов по фракциям такие же, как и у аборигенных талломов. Уже через месяц после трансплантации увеличивается содержание Fe и Cu в остаточной ($p < 0.001$) и экстрацеллюлярной ($p < 0.05$) фракциях (рис. 2).

В последующие месяцы дальнейшего роста концентраций в остаточной фракции не происходит; более того, в мае, через год после трансплантации, содержание этих металлов снижается по сравнению с летне-осенним периодом предыдущего года ($p < 0.001$). Экстрацеллюлярное содержание железа также остается неизменным. Для содержания экстрацеллюлярной меди отмечены флуктуации с максимумом в августе. Интрацеллюлярное содержание меди значимо возрастает по сравнению с исходным после 2-х месяцев экспозиции, после чего остается неизменным летом и осенью, и лишь через год после трансплантации снова резко возрастает (в 4.3 раз по сравнению с исходным значением, $p < 0.001$). Интрацеллюлярное содержание железа значимо отличается от исходных значений после четырех месяцев экспозиции. Для содержания Pb и Cd обнаружены флуктуации в течение периода с мая по октябрь (отсутствуют достоверные отличия от исходных значений), и лишь через год экспозиции их содержание резко возрастает за счет экстрацеллюлярной и интрацеллюлярной фракций.



3 Рис. 2. Динамика концентраций
2 тяжелых металлов в
трансплантированных лишайниках
(средние значения).
1 По оси X – месяц эксперимента, с мая
2004 г. до мая 2005 г. 1 –
экстрацеллюлярная фракция, 2 –
интрацеллюлярная, 3 – остаточная.

6.3. Сравнение содержания металлов в аборигенных и трансплантированных талломах. В течение всего эксперимента наблюдали существенные отличия между трансплантированными талломами и аборигенными по содержанию металлов (многомерный однофакторный дисперсионный анализ, фиксированный фактор – происхождение таллома). Однако если после одного месяца эксперимента в значимость критерия вносили вклад фактически все металлы во всех фракциях (табл. 1), то к концу эксперимента отличия отмечены только по 7 зависимым переменным, при этом в ряде случаев знак отличий изменился на противоположный.

По содержанию в остаточной фракции Cu, Fe, Zn в течение лета разница между аборигенными и трансплантированными талломами уменьшалась из-за понижения

содержания этой фракции в аборигенных талломах, а не за счет накопления трансплантантами. В зимне-весенний период различия возрастают: потеря остаточной фракции сильнее выражена у трансплантантов. По содержанию свинца и кадмия в остаточной фракции трансплантанты быстро достигают уровней аборигенных талломов, а после года экспозиции превышают их (табл. 1).

Таблица 1

Относительная разница между содержанием металлов
в трансплантированных и аборигенных талломах

Фракция, металл	Месяц сбора			
	июнь	август	октябрь	май
Экстрацеллюлярная				
Fe	0.34 ***	0.15 **	0.19 *	0.17
Pb	0.36 ***	0.05	0.11	-0.22
Zn	0.16 *	0.00	0.21	-0.33
Cu	0.65 ***	0.26 **	0.52 ***	0.49 **
Cd	0.37	0.11	0.39 *	0.01
Интрацеллюлярная				
Fe	0.57 *	0.07	0.02	0.16
Pb	0.62 ***	0.62 **	0.63	0.34
Zn	0.34 **	0.22 **	0.24 **	0.23
Cu	0.71 ***	0.52 **	0.51 ***	0.19 *
Cd	0.51 **	0.36	-0.42	-0.35 **
Остаточная				
Fe	0.39 **	0.23 **	0.33 **	0.40 **
Pb	-0.06	-1.13	-0.33	-2.20 ***
Zn	0.34 *	0.22	-0.09	0.64 ***
Cu	0.47 ***	0.28 **	0.42 ***	0.60 ***
Cd	0.04	-1.29	0.03	-0.49

Примечания. 1. Значения вычислены по формуле $(K_{аб}-K_{тр})/K_{аб}$. 2. Уровни значимости указаны для одномерных F -критериев, вычисленных с помощью однофакторного дисперсионного анализа (фиксированный фактор – происхождение таллома); *, **, ***- $p < 0.05$, 0.01 и 0.001, соответственно.

По содержанию всех экстрацеллюлярно связанных металлов в ходе эксперимента отмечено постепенное нивелирование различий между трансплантированными и аборигенными талломами. К концу эксперимента содержание Zn и Pb в трансплантантах превышает «аборигенный» уровень. Содержание экстрацеллюлярно связанных ионов свинца и кадмия возрастает после зимнего периода, что свидетельствует о повышенном

зимне-весеннем поступлении токсикантов в виде растворов (талые воды и атмосферные осадки).

Для трансплантированных талломов, вследствие большего числа наблюдений, особенно очевидна высокая подвижность экстрацеллюлярной фракции в течение летнего периода. Это соответствует существующему представлению о том, что количество экстрацеллюлярно связанных ионов отражает недавние атмосферные выпадения и может резко измениться после однократного выпадения осадков или залпового выброса токсикантов (Bargagli, Mikhailova, 2002).

Для интрацеллюлярного содержания всех металлов также отмечено постепенное сглаживание различий между аборигенными и трансплантированными талломами. Учитывая относительную стабильность содержания интрацеллюлярной фракции металлов в аборигенных талломах, нивелирование различий следует отнести за счет постепенного накопления металлов внутри клеток трансплантированных талломов. Содержание интрацеллюлярного Cd в трансплантированных талломах после года экспозиции значительно превышает его уровни в аборигенных талломах.

Таким образом, накопление металлов в трансплантированных талломах - нелинейный процесс. Параллельный анализ аборигенных талломов выявил причину нелинейности - это динамика поступления/вымывания поллютантов, связанная с сезонной динамикой полога леса, количеством осадков и динамикой снежного покрова.

Важным является факт, что после года экспозиции интрацеллюлярные концентрации железа и меди в трансплантированных талломах достигают уровня аборигенных талломов, а концентрации кадмия превышают таковые. К сожалению, выбранный срок экспозиции – один год – оказался недостаточным для определения устойчивости этого превышения. Тем не менее, этот факт является аргументом в пользу гипотезы о существовании у стресс-толерантных аборигенных талломов механизмов защиты от избыточного поступления металлов внутрь клеток.

Глава 7. Внутрипопуляционная гетерогенность накопления тяжелых металлов

7.1. Характеристика возрастных спектров популяций *Hypogymnia physodes*. В возрастном спектре фоновой ценопопуляции (30 км от завода) преобладают гиперсорециозные (31%) и асорециозные (18%) талломы, в импактной популяции (5 км от завода) – асорециозные (44%) и гипосорециозные (25%) талломы. В фоновой зоне преобладают талломы с массой от 20 до 100 мг, в импактной от 20 до 60 мг.

7.2. Содержание металлов в талломах *Hypogymnia physodes*

7.2.1. Зависимость аккумуляции металлов в талломах *Hypogymnia physodes* от зоны нагрузки.

Концентрации металлов в лишайниках из импактной выборки выше фоновых в 1.5 (Fe, Zn) и 3.3–4.0 (Pb, Cu) раза. Содержание кадмия от зоны нагрузки не зависит.

7.2.2. Влияние на аккумуляцию металлов характеристик форофита и таллома.

Многомерный ковариационный анализ (случайный фактор – форофит, ковариаты – масса и возрастное состояние таллома) показал, что в популяции *H. physodes* из фоновой зоны масса и возрастное состояние таллома значимо связаны с содержанием металлов (Rao-R (10, 172)=5.12, $p < 0.0001$). Одномерные регрессии показывают значимый вклад возрастного состояния таллома в дисперсию содержания меди, цинка и свинца ($p < 0.001$; 0.007 и 0.04, соответственно). Влияние дерева-форофита значимо на очень высоком уровне (Rao-R (20, 286)=18.23, $p < 0.0001$); значимы все одномерные F-критерии ($p < 0.05$).

На рис. 3 показаны кривые накопления меди и железа в талломах, собранных с разных деревьев. Форма зависимости содержания меди от возрастного состояния таллома сходна для всех деревьев, но уровни накопления существенно различаются. Высокие концентрации металлов содержат асоредиозные талломы. При переходе AS-талломов в криптосоредиозное состояние, концентрации меди в лишайниках снижаются и, в дальнейшем, в ряду S₁- S₂ - S₃ стабилизируются. Форму зависимости накопления железа и кадмия от возрастного состояния таллома определяет положение и характеристики форофита. Содержание цинка максимально в AS-талломах; особенности форофита на его содержание в лишайниках не влияют.

В пределах фонового фитоценоза металлы из выбросов распределяются независимо друг от друга: максимальные концентрации железа и кадмия обнаружены в лишайниках, собранных на 1 и 5 деревьях, а максимальные концентрации меди обнаружены в лишайниках, собранных со 2 и 3 деревьев.

В популяции импактной зоны связь ковариат с содержанием металлов выражена слабее (Rao-R (10, 200)=1.99, $p = 0.04$). В значимость многомерного критерия вносит вклад только регрессия масса таллома – содержание кадмия ($p = 0.002$); содержание кадмия возрастает с увеличением массы таллома. Значимость на очень высоком уровне

главного эффекта – влияние дерева – показывает многомерный критерий (Rao-R (55, 466) = 5.52, $p < 0.0001$); значимы одномерные F-критерии для всех металлов.

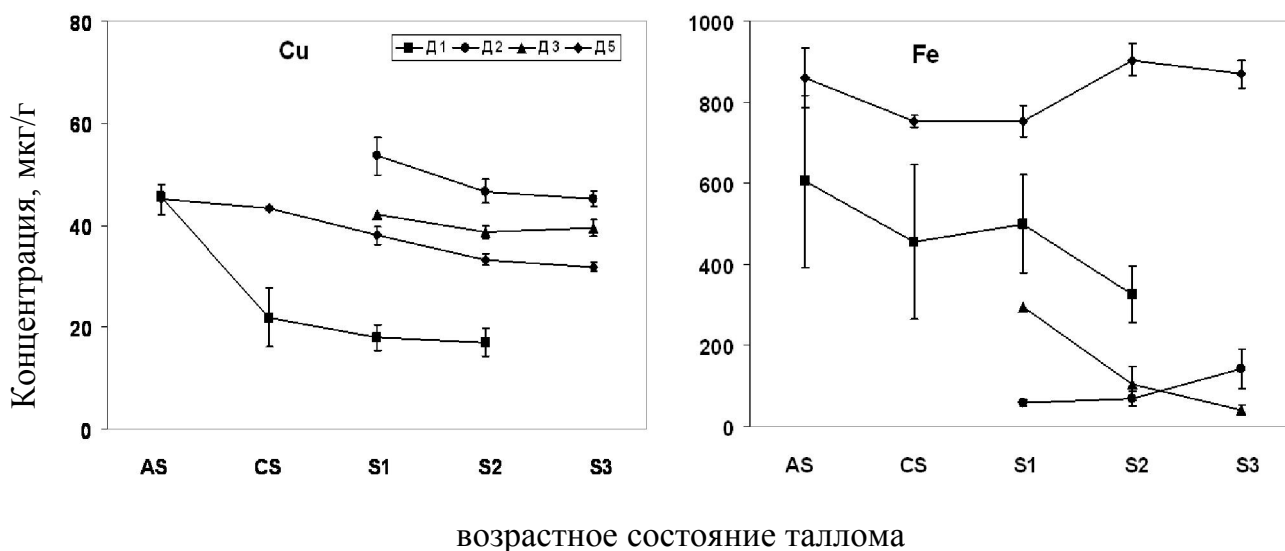


Рис. 3. Содержание меди и железа в разновозрастных талломах *H. physodes*, собранных со стволов разных форофитов на фоновой территории (средние значения \pm ошибка).

Как и на фоновой площади, велика доля дисперсии, связанная с положением и характеристиками форофита. С ростом токсической нагрузки, вклад положения и морфологии дерева в дисперсию распределения всех металлов, кроме железа, увеличивается.

Таким образом, на величину аккумуляции металлов в лишайниках больше влияет положение и особенности форофита, на стволе которого растет лишайник, чем размерные и репродуктивные характеристики самого таллома (по крайней мере, в исследованном нами диапазоне размеров талломов).

Глава 8. Межвидовые различия в аккумулятивной способности эпифитных лишайников

8.1. Зависимость величины аккумуляции металла в талломе лишайника от его видовой принадлежности и от дозы токсической нагрузки. Ковариационный анализ (вид лишайника – фиксированный фактор, содержание металла в лесной подстилке и в коре форофита – ковариаты) показал, что анализируемые виды лишайников значительно различаются по содержанию меди, свинца и кадмия ($p < 0.01$). Накопление меди, свинца и кадмия в талломах тесно связано с содержанием данных металлов в лесной подстилке ($p < 0.001$); кроме того, накопление кадмия связано с его содержанием в коре пихты ($p < 0.001$).

Концентрации металлов в исследуемых видах лишайников в градиенте токсической нагрузки представлены на рис. 4.

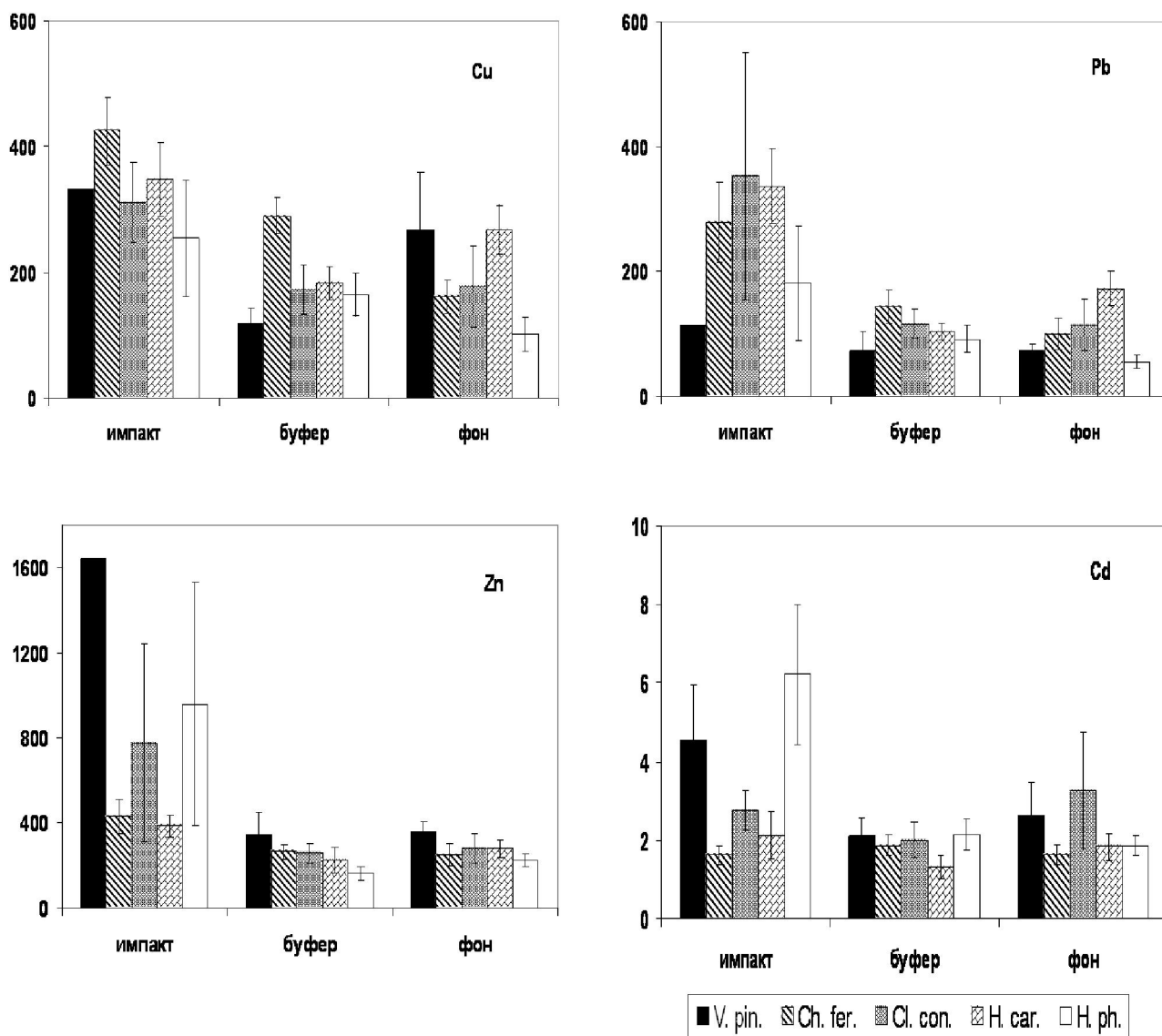


Рис. 4. Концентрации металлов в талломах лишайников (средние значения±ошибка). По оси: X – зона нагрузки, по оси Y – концентрации, мкг/г.

В буферной и импактной зонах максимальные концентрации свинца и меди обнаружены у *Ch. ferruginea*. Произрастание на участках ствола, по которым не проходит стволовой сток, с одной стороны, предохраняет этот вид от контакта с токсичными растворами, а с другой – предотвращает вымывание накопленных токсикантов из таллома. Соредии с подцеилов *C. coniocraea* высвобождаются вместе с уловленными на поверхности частицами металлов; кроме того, гидрофобность соредиозного слоя препятствует поглощению металлов из растворов. Поэтому содержание металлов в *C. coniocraea* ниже, чем в *Ch. ferruginea* и *H. caradocensis*.

Талломы *H. caradocensis*, *Ch. ferruginea* и *C. coniocraea* растут в прикомлевом горизонте или у комля дерева, где они получают медь и свинец из стволового стока и частиц почвы. Гидрофильный эпикортекс *H. physodes* и *V. pinastri* способствует поглощению катионов из растворов.

Чувствительные к загрязнению виды (*H. physodes*, *V. pinastri* и *Ch. ferruginea*) в целом обладают большей аккумулярующей способностью по отношению к кадмию и меди, и в определенной степени это может отрицательно сказываться на судьбе видов в загрязненных местообитаниях. Сравнительно низкие концентрации меди и кадмия в устойчивых видах *Cl. coniocraea* и *H. caradocensis*, возможно, являются результатом существования у них барьерных механизмов, препятствующих накоплению этих токсикантов. В то же время, концентрации свинца в этих видах достаточно высоки и, по-видимому, не оказывают существенного негативного эффекта на их жизнедеятельность. Таким образом, однозначной связи между аккумулятивной способностью видов лишайников и степенью их чувствительности к атмосферному загрязнению не обнаружено.

8.2. Связь содержания металлов в талломах модельных видов лишайников с величиной локальной токсической нагрузки.

8.2.1. Связь содержания металлов в талломах лишайников с содержанием металлов в лесной подстилке. Для описания этой связи использована модель линейной регрессии. Уравнение регрессии статистически значимо (для *Ch. ferruginea* при $p < 0.001$, для остальных видов при $p < 0.01$), хотя значения R^2 невысоки (0.21-0.34).

Содержание меди в талломах *V. pinastri* и *Ch. ferruginea* возрастает по мере увеличения уровня токсиканта в лесной подстилке (коэффициент $b=0.15$ и 0.21 , $p < 0.001$), для *C. coniocraea* и *H. physodes* этот эффект выражен слабее ($b=0.06$ и 0.09 , $p < 0.01$) и отсутствует у *H. caradocensis* ($b=0.02$). Линии регрессии, полученные для *Ch. ferruginea*, показывают увеличение поглощения свинца лишайником в ответ на рост концентрации свинца в лесной подстилке ($b=0.17$, $p < 0.001$). Реакция остальных видов на увеличение концентрации свинца выражена слабее ($b=0.05-0.08$). В фоновых условиях различия в аккумуляции кадмия между видами лишайников не выражены (линии регрессии выходят практически из одной точки), но они появляются по мере возрастания нагрузки (линии регрессии имеют разный наклон). Максимально увеличивается количество кадмия в талломах *V. pinastri* и *H. physodes*, минимально – в

H. caradocensis. Поскольку фоновые концентрации цинка у *V. pinastri*, *H. caradocensis*, *H. physodes* и *Ch. ferruginea* достаточно высоки ($a=396.19$, 279.53 , 194.85 , 151.87 , соответственно), их изменение в градиенте нагрузки незначительно ($b=-0.15$, -0.02 , 0.03 , 0.16 , соответственно). Напротив, для *C. coniocraea* с низким фоновым содержанием цинка ($a=68.39$), зарегистрирован максимальный отклик на увеличение концентраций цинка в лесной подстилке ($b=0.32$, $p<0.01$).

Соотнесение степени чувствительности лишайников к загрязнению и интенсивности накопления металлов в талломе приводит к выводу о том, что устойчивые лишайники (*H. caradocensis* и *C. coniocraea*), имеют низкие темпы накопления меди и кадмия в отличие от лишайников, чувствительных к атмосферному загрязнению (*Ch. ferruginea*, *H. physodes* и *V. pinastri*). Низкие темпы роста концентраций меди и свинца в талломах *H. caradocensis* в градиенте нагрузки связаны с их высоким фоновым содержанием.

8.2.2. Связь содержания металлов в талломах лишайников с содержанием металлов в коре пихты. Модель линейной регрессии лучше описывает зависимость между концентрацией металла в лишайнике и в лесной подстилке, чем таковую для лишайника и коры пихты. Уравнение регрессии значимо в случае накопления меди для *Ch. ferruginea* ($p<0.01$) и *C. coniocraea* ($p<0.05$), свинца для *C. coniocraea* ($p<0.01$), кадмия для *H. caradocensis*, *H. physodes* и *C. coniocraea* ($p<0.05$). Значения R^2 ниже таковых, полученных при описании связи между концентрациями металлов в талломах лишайников и в лесной подстилке.

Выводы

1. На количество металлов, аккумулированных лишайниками, влияют степень токсической нагрузки, высота произрастания лишайников на стволе и только в ряде случаев - вид форофита (так, в *H. physodes* на стволах березы концентрации металлов выше, чем на стволах сосны). Связь аккумуляции с высотой произрастания лишайников неоднозначна, и ее направление различается для разных форофитов и зон нагрузки.
2. В градиенте загрязнения зависимость содержания металлов в лишайниках от величины локальной токсической нагрузки лучше выражена, если использовать в качестве маркера нагрузки содержание металлов в лесной подстилке, а не в коре дерева-форофита. Однако в пределах одной зоны загрязнения корреляция между

содержанием металлов в талломах лишайников и в лесной подстилке выражена слабо, что подтверждает разные пути поступления металлов в подстилку и эпифитные лишайники.

3. Существует четкая «зональность» в распределении металлов внутри талломов *H. physodes*: концентрации металлов закономерно увеличиваются по мере «старения» анализируемого участка. При этом различия концентраций внутри талломов часто перекрывают таковые между зонами. Высокие концентрации металлов в сораях служат одним из доказательств отсутствия защиты репродуктивной сферы лишайников от действия токсикантов.
4. В талломах *H. physodes* Pb и Cd локализованы преимущественно экстрацеллюлярно, Zn – интрацеллюлярно, а Cu и Fe – в виде частиц в межклеточных пространствах и на поверхности таллома. Интрацеллюлярное содержание металлов наиболее стабильно во времени, тогда как содержание остаточной и экстрацеллюлярной фракций подвержено ярко выраженным сезонным колебаниям.
5. Наиболее интенсивное накопление металлов в трансплантированных талломах происходит в течение первых двух-трех месяцев экспозиции. Через год содержание экстрацеллюлярной фракции Pb, Zn, Fe и Cd в трансплантированных талломах приближается к уровням аборигенных талломов или превышает их. Интрацеллюлярное содержание железа и меди приближается к уровню аборигенных талломов, а концентрации кадмия превышают таковые, что является аргументом в пользу гипотезы о существовании у стресс-толерантных аборигенных талломов механизмов защиты от избыточного поступления металлов внутрь клеток.
6. На содержание металлов в *H. physodes* больше влияют положение и особенности форофита, чем размерные и репродуктивные характеристики самого таллома (по крайней мере, в исследованном нами диапазоне размеров талломов).
7. Величина аккумуляции металла в лишайнике зависит от морфолого-анатомических характеристик таллома: типа слоевища и наличия эпикортекса. Не обнаружено однозначной связи между аккумулятивной способностью видов лишайников и степенью их чувствительности к атмосферному загрязнению.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Шарунова И.П. Внутрипопуляционная изменчивость накопления тяжелых металлов эпифитным лишайником *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. / И.П. Шарунова // Биология, систематика и экология грибов в природных экосистемах и агрофитоценозах: материалы междунар. науч. конф. – Минск, 2004а. – С. 264–269.
2. Шарунова И.П. Содержание тяжелых металлов в разных частях таллома лишайника *Hypogymnia physodes* / И.П. Шарунова // Экологические механизмы динамики и устойчивости биоты: материалы конф. молодых ученых. – Екатеринбург, 2004б. – С. 300–305.
3. Шарунова И.П. Временная динамика накопления и локализации металлов в талломах эпифитного лишайника *Hypogymnia physodes* / И.П. Шарунова // Грибы в природных и антропогенных экосистемах: труды междунар. конф. – СПб., 2005. – Т.2. – С. 307–311.
4. Шарунова И.П. Влияние сезонной динамики полога леса и атмосферных осадков на аккумуляцию тяжелых металлов в талломах эпифитного лишайника *Hypogymnia physodes* / И.П. Шарунова // Экология в меняющемся мире: материалы конф. молодых ученых. – Екатеринбург, 2006а. – С. 288–292.
5. Шарунова И.П. Влияние форофита на аккумуляцию тяжелых металлов лишайником *Hypogymnia physodes* / И.П. Шарунова // Грибы и водоросли в биоценозах-2006: материалы междунар. конф., посвящ. 75-летию Биол. фак. МГУ им. М.В. Ломоносова. – М., 2006б. – С. 174–177.
6. Шарунова И. П. Пространственная гетерогенность содержания тяжелых металлов в талломах эпифитных лишайников / И. П. Шарунова, И. Н. Михайлова // Экологическая безопасность горнопромышленных регионов: материалы 1-го Урал. междунар. экол. конгр. – Екатеринбург, 2007. – Т. 2. – С. 42–48.
7. Михайлова И.Н. Динамика аккумуляции тяжелых металлов в талломах эпифитного лишайника *Hypogymnia physodes* / И.Н. Михайлова, И.П. Шарунова // Экология. – 2008. – N5. – С. 366–372.

Работа выполнена в рамках гранта РФФИ № 05-04-49086-а «Популяционная биология эпифитных лишайников: механизмы адаптации к экстремальным условиям среды».

Изд. лиц. № 04762 от 15.05.2001 г.

Формат 60x84 1/16. Бумага писчая.

Печать на ризографе. Усл.печ.л. 1,0.

Тираж 100 экз. Заказ №

620014, г. Екатеринбург, ГСП 664, ул. Московская, 29

Институт экономики УрО РАН

Типография Института экономики УрО РАН