ЛЬСКИЙ ФИЛИАЛ АКАДЕМИИ НАУК СССР

ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ

На правах рукописи

Э. А. ГИЛЕВА

О НАКОПЛЕНИИ НЕКОТОРЫХ ХИМИЧЕСКИХ ЭЛЕМЕНТОВ ПРЕСНОВОДНЫМИ ВОДОРОСЛЯМИ

АВТОРЕФЕРАТ ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

Научный руководитель
Н. В. ТИМОФЕЕВ-РЕСОВСКИЙ

СВЕРДЛОВСК, 1964

Защита диссертации состоится

26 марта 1964 г.

в Объединенном Ученом совете при Институте биологии УФАН СССР.

Отзывы направлять по адресу: Свердловск, 8, ул. 8 Марта, 202.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема накопления химических элементов живыми организмами рассматривается (под несколько различными углами зрения) в ряде теоретических дисциплин, среди которых в первую очередь следует назвать биогеохимию, биогеоценологию и физиологию.

В основе биогеохимии и биогеоценологии лежат идеи о неразрывной взаимосвязи и взаимообусловленности процессов, протекающих в живом и косном веществе Земли, а также о ведущей роли живых организмов в превращениях энергии и круговороте вещества биосферы. Создание биогеохимии неразрывно связано с именем В. И. Вернадского, определившего основную задачу этой дисциплины как исследование влияния живых организмов на судьбы атомов биосферы. Одним из путей решения этой общей задачи является точное количественное изучение элементарного химического состава животных и растений. Весьма важной в биогеохимическом отношении группой организмов являются водоросли, создающие огромные массы органического вещества и вовлекающие в сферу жизни большие количества атомов химических элементов. Изучению накопления ряда элементов пресноводными водорослями и посвящена диссертационная работа.

Исследование поглощения химических элементов организмами входит также в круг проблем созданной В. Н. Сукачевым биогеоценологии, предметом которой является изучение баланса вещества и энергии в биогеоценозах и геохимических связей между отдельными биогеоценозами. Биогеоценологические исследования могут проводиться как на природных биогеоценозах, так и на экспериментальных, искусственно созданных или выделенных в природе, а также в лабораторных условиях. Методы и задачи экспериментальной биогеоценологии были сформулированы Н. В. Тимофеевым-Ресовским, выделившим, кроме того, радиационную биогеоценологию (в качестве раздела экспериментальной). Радиационно-биогеоценологические эксперименты предполагают использование радиоактивных изотопов и ионизирующих излучений для исследования как процессов, протекающих в биогеоценозах в обычных условиях, так и перестроек и

изменений, вызываемых в них теми или иными воздействиями. Одной из биогеоценологических проблем, решение которых в значительной степени облегчается применением метода меченых атомов (использованного и в нашей работе), является изучение миграции и распределения химических элементов по живым и косным компонентам биогеоценозов, в частности — водных биогеоценозов. В этом плане должны исследоваться как основные компоненты водоемов (вода, грунт, биомасса), так и отдельные виды животных и растений. Одними из важнейших компонентов водных биогеоценозов являются планктонные, бентосные и перифитонные водоросли, продуценты основной массы первичного органического вещества в водоемах. Изучение накопления ими химических элементов необходимо для создания полной картины баланса вещества в водных биогеоценозах.

Задачи, стоящие перед биогеохимией и биогеоценологией, требуют в основном феноменологического подхода к изучению накопления химических элементов живыми организмами, в отличие от физиологической проблематики, включающей в первую очередь исследование физико-химических механизмов минерального питания. Однако и чисто феноменологические данные могут быть использованы для решения некоторых общих проблем физиологии минерального питания растений, в частности — проблемы микроэлементов. В этом аспекте определенный интерес представляет изучение накопления водорослями некоторых малоизученных редких и рассеянных элементов.

Проблема аккумуляции химических элементов живыми организмами, существенно важная для ряда теоретических дисциплин, имеет и практическое значение, в первую очередь в связи с загрязнением биосферы радиоактивностью. Сравнительное изучение способности разных групп и отдельных видов гидробионтов концентрировать радиоизотопы химических элементов необходимо для создания представлений о процессах самоочищения природных вод, а также для разработки методов индикации радиоактивных загрязнений водоемов с помощью живых организмов и почвенно-биологической дезактивации промышленных сточных вод.

В связи со всем вышеизложенным цель и содержание диссертационной работы можно сформулировать следующим образом: изучение накопления радиоизотопов химических элементов типичными представителями пресноводных водорослей в свете биогеохимических и биогеоценологических идей, а также в связи с проблемой судьбы радиоактивных загрязнений биосферы.

Диссертационная работа состоит из следующих основных разделов:

I. Введение.

II. Материал и методика.

III. Результаты опытов и их обсуждение.

IV. Заключение.
V. Выводы.
VI. Литература.

Объем диссертации 104 страницы с 15 рисунками и 25 таблицами. Список литературы включает 170 работ (95 русских и 75 иностранных).

Ниже изложено основное содержание диссертации.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В качестве материала для определения коэффициентов накопления 14 химических элементов было взято 12 видов пресноводных зеленых водорослей, 6 одноклеточных (Chlamydomonas gyrus Pasch, Chlorella vulgaris Beyer., Lagerheimia sp., Scenedesmus acuminatus Chodat, Scenedesmus quadricauda Brèb. и Stichococcus bacillaris Naeg.) и 6 нитчатых (Ulotrix sp., Cladophora fracta Kütz., Vaucheria terrestris Lyngb., Spirogyra crassa Kützing, Spirogyra sp. и Mougeotia sp.). Изучались коэффициенты накопления радиоизотопов следующих химических элементов: фосфора (P^{32}), серы (S^{35}), кальция (Ca^{45}), кобальта (Co^{60}), цинка (Zn^{65}), рубидия (Rb^{86}), стронция (Sr^{90}), иттрия (Y^{91}), рутения (Ru^{106}), кадмия (Cd^{115}), цезия (Cs^{137}), церия (Ce^{144}), прометия (Pm^{147}) и ртути (Hg^{203}). Экспериментальные растворы готовились на фильтрованной озерной воде (содержание Ca — 26 *мг/л*, Mg — 8,5 *мг/л*, Na — 6 *мг/л*, K — 4 *мг/л*, SO_4 — 15 *мг/л*, pH=8). Радиоактивные изотопы вносились в воду из расчета примерно 1000 *имп/мин/мл*, что соответствует приблизительно 10^{-5} Cu/л. Весовая концентрация химических элементов в растворе (радиоактивный изотоп+стабильные) составляла $5 \cdot 10^{-10}$M для прометия, 10^{-9}M для иттрия, рутения и церия, 10^{-8}M для цезия, 10^{-6}M для фосфора, кобальта, рубидия и стронция, 10^{-5}M для цинка, кадмия и ртути, 10^{-4}M для серы и 10^{-3}M для кальция. Объем растворов составлял 0,5 *л* в случае нитчатых водорослей и 0,2 *л* в случае одноклеточных. Сырой вес водорослей, помещаемых в опытные растворы, составлял около 0,5% от веса воды. Опыты ставились в двух повторностях. Динамика накопления всех химических элементов была изучена на примере водоросли Cladophora fracta; в этих опытах пробы отбирались через 3, 10, 30, 100, 300, 1000, 3000, 10 000 и 25 000 минут с начала опыта. В экспериментах с другими видами водорослей пробы воды и растений (по три из каждой повторности) отбирались через 8 и 16 суток (после установления равновесия в системе раствор элемента — растение). Водные пробы выпаривались, а пробы растений после промывания в озерной воде высушивались до постоянного веса; затем те и другие просчитывались на радиометре типа Б-2 со счетчиком МСТ-17. Отношение радиоактивности 1 *г* сухого веса водоросли к радиоактивности 1 *мл* воды давало коэффициент накопления.

В опытах по влиянию концентрации химических элементов в растворе на накопление их кладофорой весовая концентрация элементов изменялась путем добавления различных количеств солей стабильных изотопов соответствующих элементов или (в экспериментах с рутением, прометием и ртутью) — путем внесения разных количеств активности. Растворы разной концентрации приготовлялись на фильтрованной озерной воде, за исключением опытов с кальцием и стронцием, которые ставились на бидистилляте, и серой, где применялась дистиллированная вода. В этих случаях использовался разбавленный в 5 раз питательный раствор Кнопа, видоизменявшийся соответствующим образом. Опыты по зависимости накопления стронция и цезия кладофорой от концентрации кальция и калия в растворе также ставились на бидистилляте с применением той же питательной смеси Кнопа. pH растворов разной концентрации был одинаков в пределах вариантов каждого опыта. Пробы воды и растений отбирались через 1, 2 и 4 суток. В опытах по влиянию формы нахождения иттрия в растворе на его накопление кладофорой pH варьировался путем добавления различных количеств HNO_3 и KOH. Для снижения концентрации иттрия в растворе до 10^{-12} M в качестве радиоактивной метки использовался Y^{90}, отделенный по соответствующей радиохимической методике от Sr^{90}.

В экспериментах по десорбции химических элементов из кладофоры около 6 г водоросли (сырой вес) помещалось в раствор изотопа; затем через 3, 10, 30, 100, 300, 1000, 3000, 10 000 и 25 000 минут с начала опыта из раствора извлекались небольшие порции водорослей, часть которых использовалась для определения в них радиоактивности, а другая часть помещалась на 24 часа в озерную воду, служившую десорбентом. После десорбции водоросли высушивались, взвешивались и просчитывались для определения оставшейся в них активности. В конце опыта (через 25 000 мин., т. е. примерно 18 суток) часть растений убивалась путем выдерживания в течение 5 мин. при температуре 95° и помещалась в озерную воду на 1 месяц. Одновременно на месячную десорбцию помещалась и небольшая порция живых водорослей, после чего определялась радиоактивность живых и мертвых растений.

Во всех опытах по влиянию концентрации и формы нахождения элементов в растворе на накопление их кладофорой, а также в опытах по десорбции методика отбора и просчета проб была такой же, как при определении коэффициентов накопления.

РЕЗУЛЬТАТЫ ОПЫТОВ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изложение результатов опытов и их обсуждение будет производиться по разделам, соответствующим отдельным главам экспериментальной части диссертации.

1. Динамика коэффициентов накопления химических элементов кладофорой

Прежде чем приступать к систематическому изучению коэффициентов накопления химических элементов водорослями необходимо было исследовать ход накопления во времени, вплоть до достижения равновесия в системе раствор элемента — растение (иными словами, до установления постоянных коэффициентов накопления), т. к. лишь данные, полученные в условиях равновесия, дают точное представление об аккумулятивной способности организма по отношению к тому или иному элементу. Динамика коэффициентов накопления фосфора, серы, кальция, кобальта, цинка, рубидия, стронция, иттрия, рутения, кадмия, цезия, церия, прометия и ртути была изучена на примере Cladophora fracta. По всем элементам, за исключением кальция и стронция, была получена сходная картина, поэтому в качестве примера мы приведем лишь данные по стронцию и церию (таблица 1). Из таблицы видно, что коэффициенты накопления стронция (то же самое имеет место и для кальция) достигают постоянного уровня уже к 3 мин. с начала опыта и затем лишь колеблются вокруг среднего. Вопрос о причинах столь быстрого установления равновесия по кальцию и стронцию будет обсуждаться ниже, в главе о десорбции элементов из кладофоры.

Таблица 1

Динамика коэффициентов накопления стронция и церия кладофорой

Элемент	Время в минутах с начала опыта								
	3	10	30	100	300	1000	3000	10 000	25 000
Стронций .	1470	1520	1670	1350	1290	1530	1700	1485	1645
Церий . . .	210	280	470	985	1830	3790	13 720	27 500	21 740

Остальные изученные элементы (как это видно на примере церия) поглощаются с наибольшей интенсивностью в первые 30—100 минут с начала опыта. Затем накопление их замедляется, и коэффициенты накопления постепенно достигают постоянного уровня, варьируя в дальнейшем вокруг среднего значения. Обычно стабилизация коэффициентов накопления наступает к 7 суткам с начала опыта. В экспериментах с водорослью Scenedesmus quadricauda (проведенных с четырьмя элементами) равновесие достигалось через 2 суток.

Таким образом, коэффициенты накопления химических элементов изученными водорослями, как правило, следуют в своей

Таблица 2

Коэффициенты накопления 14 химических элементов 12 видами пресноводных зеленых водорослей. В соответствующей таблице диссертационной работы после каждого значения коэффициента накопления указаны границы доверительного интервала для 5% уровня значимости

Элемент \ Вид водоросли	Одноклеточные						Нитчатые						Среднее по видам
	Chlamydomonas gyrus	Chlorella vulgaris	Lagerheimia sp.	Scenedesmus acuminatus	Scenedesmus quadricauda	Stichococcus bacillaris	Ulotrix sp.	Cladophora fracta	Vaucheria terrestris	Spirogyra sp.	Spirogyra crassa	Mougeotia sp.	
Фосфор	545	370	310	7590	2960	5350	12300	76750	28950	9300	1715	2100	12350
Сера	160	80	145	400	500	15	280	2600	3800	790	650	420	820
Кальций	155	130	4120	45	80	75	470	1610	420	200	190	155	640
Кобальт	640	220	17500	250	390	635	6250	8750	3150	5640	17000	238000	24870
Цинк	17450	12500	45300	5200	775	56300	6330	6290	18600	31500	1945	37000	19900
Рубидий	1050	285	—	260	420	610	1310	2300	5040	2330	340	4720	1700
Стронций	165	150	1530	105	130	135	285	1910	500	550	235	190	490
Иттрий	38600	85100	25400	1530	24000	72200	26600	155000	35000	13990	6870	15600	41650
Рутений	975	930	9000	760	3615	1135	12500	3080	22300	3200	2175	9300	5315
Кадмий	2600	17100	—	5900	6170	17100	—	16200	6000	—	3520	2810	8600
Цезий	1440	175	315	390	270	95	445	1500	585	1920	275	2645	830
Церий	5150	51600	44300	38500	20700	130300	28800	38100	16350	12800	44200	5420	36350
Прометий	—	10460	22050	—	76300	20500	61500	72750	44400	3000	34000	29900	34450
Ртуть	—	35100	62600	—	74650	23350	27800	46000	70200	272000	22700	35000	66940

динамике кривым насыщения и достигают постоянного уровня к 2—7 суткам с начала опыта, т. е. быстрее, чем в случае водных животных и высших растений (Тимофеева-Ресовская, 1963). С другой стороны, бактерии обнаруживают более высокую скорость установления равновесия при накоплении химических элементов, чем водоросли. Быстрота стабилизации коэффициентов накопления у бактерий и водорослей связана, вероятно, с тем, что эти гидробионты обладают большей относительной клеточной поверхностью и более высоким темпом обмена веществ, чем высоко организованные растения и животные.

На основании описанных выше экспериментов была определена стандартная продолжительность опытов по изучению коэффициентов накопления (16 суток) и время отбора проб (8 и 16 суток с начала опыта). Для всех изученных элементов и видов водорослей коэффициенты накопления через 8 и 16 суток оказались примерно одинаковыми и были усреднены.

2. Коэффициенты накопления химических элементов водорослями

Результаты опытов по изучению коэффициентов накопления 14 химических элементов 12 видами водорослей приведены в таблице 2. Из таблицы видно, что пресноводные зеленые водоросли обладают весьма высокими коэффициентами накопления всех изученных химических элементов. Сопоставление наших результатов с данными других авторов (Виноградова, Тимофеевой-Ресовской, Моргана и др.) показывает, что пресноводные водоросли накапливают почти все изученные химические элементы более интенсивно, чем другие водные организмы (животные, высшие растения и бактерии). Следует особо подчеркнуть, что водные бактерии, имеющие бо́льшую относительную клеточную поверхность по сравнению с водорослями, обладают меньшей концентрирующей способностью по отношению к химическим элементам, чем водоросли. В связи с этим интересно сравнить накопление химических элементов водорослями, относящимися к двум разным морфологическим группам — одноклеточным и нитчатым, т. к. известно, что отношение клеточной поверхности к объему у одноклеточных водорослей больше, чем у нитчаток. Такое сравнение, проведенное с помощью дисперсионного анализа, показало, что нитчатые водоросли накапливают большинство элементов (фосфор, серу, кальций, кобальт, рубидий, стронций, рутений и цезий) сильнее, чем одноклеточные ($p<0{,}001$). В накоплении же цинка, иттрия, кадмия, церия, прометия и ртути достоверной разницы между одноклеточными и нитчатыми не обнаружено ($p>0{,}05$). По-видимому, размеры относительной клеточной поверхности не являются определяющим фактором по отношению к степени концентрации химических элементов нитчатыми

и одноклеточными водорослями и водными бактериями, и причины различий в уровне накопления химических элементов этими группами организмов следует, по-видимому, искать в специфических особенностях их обмена веществ.

Говоря о различиях в накоплении химических элементов крупными систематическими группами гидробионтов, нельзя забывать о том, что и внутри этих групп имеются виды, отличающиеся необычно высокой способностью концентрировать тот или иной элемент. Такие организмы играют особенно важную роль в судьбе ряда химических элементов, и одной из задач биогеохимии является выделение и изучение этих «специфических накопителей». При общем высоком уровне накопления всех элементов изученными нами водорослями некоторые виды выделяются особенно интенсивной аккумуляцией одного или нескольких элементов. В качестве примера можно назвать Cladophora fracta, давшую чрезвычайно высокие коэффициенты накопления фосфора (76 750) и иттрия (155 000), а также Spirogyra sp. (коэффициент накопления ртути 272 000), Mougeotia sp. (коэффициент накопления кобальта 238 000) и т. д.

Таким образом, разные группы и виды водорослей обнаруживают вполне реальные различия в степени накопления одного и того же химического элемента, однако, как видно из таблицы 2, соотношение коэффициентов накопления разных элементов сохраняется при переходе от вида к виду. Поэтому возникает возможность дать классификацию химических элементов по степени их накопления, общую для всех изученных видов водорослей. Исследованные нами элементы можно разделить на следующие группы:

1. Группа относительно слабо накапливаемых элементов (коэффициенты накопления исчисляются сотнями): сера, кальций, стронций и цезий.

2. Промежуточная группа (коэффициенты накопления, в основном, порядка тысяч): фосфор, кобальт, рубидий, рутений и кадмий.

3. Группа наиболее интенсивно накапливаемых элементов (коэффициенты накопления порядка десятков тысяч): цинк, иттрий, церий, прометий и ртуть.

Интересно, что химически близкие элементы, как правило, находятся в одной и той же группе этой условной классификации (щелочноземельные металлы кальций и стронций; редкоземельные иттрий, церий и прометий). Даже в тех случаях, когда элементы-аналоги отнесены к разным группам (цезий и рубидий; цинк, кадмий и ртуть), их коэффициенты накопления достаточно близки.

Как было указано выше, сера, кальций, стронций и цезий дают наиболее низкие коэффициенты накопления из всех изученных элементов. По-видимому, одним из факторов, снижающих их от-

носительное накопление водорослями, является сравнительно высокое содержание в использованной для наших опытов озерной воде этих элементов (в случае серы и кальция) и их аналогов: кальций может снижать накопление стронция, калий — накопление цезия. Действительно, в специальных опытах было показано, что снижение концентрации в растворе химических элементов (серы, кальция и стронция) и их аналогов (кальция в случае стронция и калия в случае цезия) в 10—100 раз по сравнению с содержанием их в озерной воде повышает накопление серы, кальция, стронция и цезия в 4—10 раз.

В ходе дальнейшего обсуждения приведенной выше классификации химических элементов по степени накопления их водорослями интересно сопоставить ее с результатами других авторов (Виноградов, Тимофеева-Ресовская, Морган), работавших с рядом различных объектов. Такое сопоставление показывает, что, несмотря на значительные различия в абсолютных величинах коэффициентов накопления химических элементов разными группами организмов, соотношение между накоплением различных элементов в целом одинаково для всех исследованных морских и пресноводных организмов: животных, высших растений, водорослей и бактерий. Иными словами, предложенная нами классификация в общем применима к накоплению химических элементов всеми изученными в настоящее время группами гидробионтов.

3. Влияние концентрации и формы нахождения химических элементов в растворе на накопление их кладофорой

Одним из физико-химических факторов, весьма значительно варьирующих в природных водах и существенно влияющих на накопление химических элементов гидробионтами, является концентрация элементов в растворе. В связи с этим было изучено влияние концентрации 14 химических элементов (фосфора, серы, кальция, кобальта, цинка, рубидия, стронция, иттрия, рутения, кадмия, цезия, церия, прометия и ртути) в растворе на накопление их кладофорой. Несмотря на то, что изученные нами диапазоны концентраций были различны для разных элементов, общая картина зависимости накопления от концентрации была одинакова для всех элементов. Поэтому в качестве примера мы приведем лишь данные по рубидию (таблица 3). Результаты опытов показали, что в области микроконцентраций (от 10^{-12}М до 10^{-5}М—10^{-3}М) наблюдается линейная зависимость между концентрацией элементов в среде и абсолютным накоплением их кладофорой. В этом интервале концентраций коэффициенты накопления химических элементов независимы от содержания элемента в растворе. Иными словами, накопление водорослями химических элементов из рас-

Таблица 3

Накопление кладофорой рубидия из растворов с разной его концентрацией

	Концентрация рубидия в растворе в М			
	$5 \cdot 10^{-6}$	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}
Концентрация Rb в кладофоре в М на 1 кг сухого веса	$8,72 \cdot 10^{-3}$	$1,62 \cdot 10^{-2}$	$1,05 \cdot 10^{-1}$	$1,85 \cdot 10^{-1}$
Коэффициент накопления	1745	1625	2100	1850

	Концентрация рубидия в растворе в М		
	$5 \cdot 10^{-4}$	10^{-3}	$5 \cdot 10^{-3}$
Концентрация Rb в кладофоре в М на 1 кг сухого веса	$3,25 \cdot 10^{-1}$	$3,85 \cdot 10^{-1}$	$5,50 \cdot 10^{-1}$
Коэффициент накопления	650	385	110

творов, содержащих эти элементы в микроконцентрациях, подчиняется закону Генри:

$$\frac{C_1}{C_2} = \text{const},$$

где C_1 — концентрация элемента в твердой фазе (растение), а C_2 — концентрация его в жидкой фазе. В дальнейшем изложении этот вывод будет уточнен и несколько расширен. При повышении концентрации элемента в среде выше 10^{-5}М — 10^{-3}М коэффициенты накопления начинают падать; при этом абсолютное накопление (содержание элемента на 1 г сухого веса водоросли) сначала продолжает расти, хотя и непропорционально росту концентрации элемента в растворе. При достаточно высоком содержании химического элемента в среде может наступить «насыщение» им растения (абсолютное накопление не возрастает при увеличении концентрации элемента в растворе). Такое «насыщение» было получено, например, для фосфора, при концентрации его в среде 10^{-3}М. Таким образом, типичная кривая зависимости накопления кладофорой химических элементов от концентрации их в растворе в общем сходна с изотермой адсорбции Лангмюра. Однако необходимо отметить, что механизмы поступления ионов в растительные клетки не исчерпываются адсорбцией, и сходство полученных

Таблица 4

Накопление кладофорой иттрия из растворов с разной его концентрацией

	Концентрация иттрия в растворе в М					
	10^{-12}	10^{-11}	10^{-10}	10^{-9}	10^{-8}	10^{-7}
Концентрация Y в кладофоре в М на 1 кг сухого веса	$2,07 \cdot 10^{-8}$	$2,25 \cdot 10^{-7}$	$2,18 \cdot 10^{-6}$	$2,84 \cdot 10^{-5}$	$2,18 \cdot 10^{-4}$	$2,26 \cdot 10^{-3}$
Коэффициент накопления	20700	22500	21800	28400	21800	22600

	Концентрация иттрия в растворе в М				
	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}
Концентрация Y в кладофоре в М на 1 кг сухого веса	$1,12 \cdot 10^{-2}$	$7,39 \cdot 10^{-2}$	$5,00 \cdot 10^{-1}$	$2,10 \cdot 10^{0}$	$1,50 \cdot 10^{0}$
Коэффициент накопления	11200	7390	5000	2100	150

нами кривых с изотермой Лангмюра может носить лишь формальный характер.

Из таблицы 4 видно, что независимость коэффициентов накопления иттрия кладофорой от концентрации его в растворе наблюдается лишь до концентрации 10^{-6}М, в то время как коэффициенты накопления большинства других элементов начинают падать лишь с концентрацией 10^{-4}М — 10^{-3}М. Можно предполагать, что снижение коэффициентов накопления иттрия при концентрации 10^{-6}М объясняется образованием коллоидов гидроокиси $Y(OH)_3$, произведение растворимости которой, равное 10^{-26}, достигается в нашем случае именно при концентрации иттрия 10^{-6}М (pH растворов равнялся 7). Для проверки этого предположения было поставлено две серии опытов по влиянию pH среды на накопление иттрия кладофорой. В первой серии концентрация иттрия в растворах составляла 10^{-9}М, во второй — 10^{-12}М. Известно, что поглощение растением катионов растет с увеличением

Таблица 5

Влияние pH среды на коэффициенты накопления иттрия кладофорой из растворов двух разных концентраций

Концентрация иттрия в растворе	pH растворов					
	5	6	7	8	9	10
10^{-9}	22360	35800	53850	27400	19200	16200
10^{-12}	34250	53250	55400	54600	19275	15800

pH. Подобной же зависимости накопления иттрия от pH среды можно было бы ожидать и в нашем случае; однако, если образование коллоидов действительно снижает доступность этого элемента клеткам кладофоры, в опыте должно наблюдаться падение коэффициентов накопления иттрия: в первой серии (концентрация иттрия в растворе 10^{-9}M) при pH=8 и во второй серии (концентрация иттрия 10^{-12}M) — при pH=9, т. к. именно при этих pH достигается произведение растворимости $Y(OH)_3$. Результаты опытов, представленные в таблице 5 (каждая цифра которой является усреднением из 12 повторностей), находятся в полном соответствии с нашим предположением о влиянии образования коллоидов гидроокиси иттрия на накопление его кладофорой. Повышение pH раствора от 7 до 8 в первой серии и от 8 до 9 во второй вызывало снижение коэффициентов накопления иттрия примерно в два раза. Сдвиг переходных значений pH при разной концентрации иттрия в растворе свидетельствует о том, что падение коэффициентов накопления объясняется не прямым воздействием изменяющегося pH, а образованием коллоидов гидроокиси. Статистическая обработка (с помощью дисперсионного анализа и критерия t) показала высокую достоверность полученных нами результатов. Таким образом, физико-химическое состояние элемента в растворе оказывает влияние на накопление его водорослями. Явление пониженной доступности для растений коллоидной формы химических элементов по сравнению с ионной может представлять интерес с точки зрения исследования механизмов поступления минеральных веществ в клетку (например, при оценке роли диффузии).

Возвращаясь к предыдущей части этого раздела, нужно подчеркнуть, что утверждение о постоянстве коэффициентов накопления химических элементов растениями в области микроконцентраций будет справедливо лишь при условии неизменности формы нахождения элемента в растворе. В самом деле, все изученные нами элементы, накопление которых в диапазоне микроконцентраций подчиняется закону Генри, находились в одной и той же форме при всех концентрациях. Следовательно, более точной будет следующая формулировка: коэффициент накопления мож-

но считать постоянной характеристикой накопления данного элемента данным видом во всем диапазоне микроконцентраций при неизменности формы нахождения элемента в растворе и прочих равных условиях.

Как указывалось выше, результаты опытов по сравнительному изучению накопления водорослями ионной и коллоидной форм химических элементов могут быть использованы при обсуждении механизмов поступления минеральных веществ в растительную клетку. В этом же физиологическом аспекте представляет интерес рассмотрение вопроса о возможной роли комплексообразования в процессах связывания растениями химических элементов. Известно, что многие органические соединения, образующиеся в клетках, способны давать комплексы с металлами. В связи с этим нам кажется возможным существование связи между степенью накопления химического элемента и его способностью к комплексообразованию. Характеристикой этой способности являются константы устойчивости образуемых данным элементом комплексов. Исходя из этого было проведено сравнение (методом регрессионного анализа) средних коэффициентов накопления восьми из изученных нами элементов (активных комплексообразователей) и констант устойчивости водорастворимых хелатных комплексов этих элементов с пятью аддендами (использованные данные по константам устойчивости дают достаточно полное представление о сравнительной способности рассматриваемых элементов к комплексообразованию). Коэффициенты накопления восьми химических элементов, усредненные по 12 видам водорослей, и логарифмы констант устойчивости соответствующих элементов с аланином, гликоколом, щавелевой кислотой, нитрилотриуксусной кислотой и ЭДТА (этилендиаминтетраацетатом) приведены в таблице 6. В последней графе таблицы даны значения критерия р, показывающие степень достоверности статистической связи между значениями коэффициентов накопления и констант устойчивости. Из таблицы видно, что между коэффициентами накопления рассматриваемых элементов и константами устойчивости комплексов этих же элементов с разнообразными аддендами существует строгий параллелизм. Иными словами, чем более активным комплексообразователем является элемент, чем прочнее даваемые им комплексные соединения, тем выше его «биотропность», тем сильнее он концентрируется водорослями. Этот факт является еще одним свидетельством (правда, косвенным) в пользу того, что ионы металлов связываются клеткой путем образования комплексных соединений с биокомплексонами.

4. Десорбция химических элементов из кладофоры

Изучение десорбции химических элементов из водных организмов представляет интерес в свете ряда проблем, как теоре-

Таблица 6

Средние коэффициенты накопления восьми химических элементов водорослями и логарифмы констант устойчивости комплексов, образуемых этими элементами

		Элемент								Критерий p
		Sr	Ca	Cd	Zn	Co	Ce	Y	Hg	
Логарифмы констант устойчивости комплексов с соответствующими аддендами	Аланин	0,73	1,24	2,80	5,20	4,50				$p<0,05$
	Гликокол	0,91	1,40	4,50	5,30	4,50			10,30	$p<0,01$
	Щавелевая кислота	2,54	3,00	3,50	4,80	4,70				$p<0,05$
	Нитрилотриуксусная кислота	6,00	7,50	8,90	10,30	10,50	10,71	11,41		$p<0,01$
	ЭДТА	8,70	10,60	16,40	16,00	16,10	16,00	18,00	21,60	$p<0,01$
Средний коэффициент накопления элемента водорослями		490	640	8600	19900	24870	36350	41650	66940	

Таблица 7

Процент десорбции стронция, иттрия и цезия из кладофоры в зависимости от продолжительности предшествующего периода накопления. Время десорбции — 24 часа

Элемент	Продолжительность периода предшествующего десорбции накопления в минутах								
	3	10	30	100	300	1000	3000	10 000	25 000
Стронций . .	87	92	92	91	92	88	89	90	87
Иттрий	17	32	16	33	35	28	30	28	16
Цезий	65	52	70	78	47	40	31	12	12

тических (в первую очередь, биогеохимического, биогеоценологического и физиологического характера), так и прикладных (например, в плане выяснения судьбы накопленных гидробионтами радиоизотопов после полного или частичного удаления радиоактивности из воды). В этом аспекте интересно изучение степени десорбции поглощенных веществ как из живых, так и из отмерших организмов (детрита).

Результаты опытов по десорбции девяти элементов (кальция, кобальта, цинка, рубидия, стронция, иттрия, кадмия, цезия и церия) частично приводятся в таблице 7. Эксперименты показали, что процент десорбции кальция, стронция, иттрия и церия остается практически постоянным в течение всего опыта. Высокий процент десорбции кальция и стронция (более 90%) в сочетании с чрезвычайной быстротой установления равновесия в системе раствор изотопа — растение при накоплении заставляет предполагать, что основным механизмом поступления этих элементов в кладофору является ионный обмен, существенная роль которого в процессах поглощения ионов растительными клетками была показана Скоттом, Эпстейном и др. В случае иттрия и церия процент десорбции значительно ниже (18—35%), что свидетельствует о высокой прочности связывания этих элементов кладофорой. Механизмы их поступления в водоросли пока неясны и требуют дальнейшего изучения.

Данные по десорбции кобальта, цинка, рубидия, кадмия и цезия показывают, что процесс накопления этих элементов кладофорой состоит из двух фаз. Первые 100—300 минут с начала опыта характеризуются значительной обратимостью накопления (процент десорбции в этот период постоянен и равен 50—70%). Затем степень десорбции элементов падает до 12—20% (к 2—7 суткам сначала опыта) и остается на этом уровне до конца эксперимента. Таким образом, вторая фаза процесса накопления

отличается от начального периода повышенной прочностью закрепления элемента в клетках водоросли. Исходя из наиболее распространенных в настоящее время представлений о механизмах поступления минеральных ионов в растительную клетку, можно предполагать, что первая фаза быстрого и в значительной степени обратимого накопления связана, в основном, с процессами диффузии, ионного обмена и адсорбции, а в последующий промежуток времени преобладают реакции, ведущие к более прочному связыванию элементов водорослью и требующие затраты энергии клеточного метаболизма.

Опыты по десорбции девяти элементов из живой и мертвой кладофоры показали, что в течение месяца из живых водорослей десорбируется не более половины накопленного ранее количества химических элементов. Исключением являются кальций и стронций, десорбирующиеся более чем на 90%. Отмершие водоросли удерживают накопленные элементы (за исключением рубидия и цезия) не менее прочно, чем живые растения, а в некоторых случаях (для кальция, кобальта и церия) процент десорбции из мертвой кладофоры значительно ниже, чем в опытах с живыми водорослями. Таким образом, изученная в наших опытах нитчатая водоросль Cladophora fracta обладает способностью весьма прочно связывать химические элементы, что, как уже отмечалось выше, может оказаться важным с практической точки зрения.

Заключение

Изложенные выше экспериментальные данные могут быть использованы при обсуждении некоторых общих проблем, в первую очередь, биогеохимических и биогеоценологических.

Как уже указывалось, пресноводные зеленые водоросли оказались мощными концентраторами химических элементов из воды, более мощными, чем другие пресноводные гидробионты. Это обстоятельство, наряду со способностью водорослей к быстрому размножению и созданию огромной биомассы, составляющей значительную часть первичной продукции водоемов, делает водоросли активнейшими участниками биогеохимических процессов в природных водах, в частности — по отношению к редким и рассеянным элементам. Пока не имеется достаточного количества данных для решения вопроса о геохимической роли отдельных экологических и систематических групп зеленых водорослей. В связи с этим можно лишь заметить, что планктонные одноклеточные водоросли образуют в водоемах, как правило, значительно большие (в десятки раз) количества органического вещества, чем нитчатые водоросли. Поэтому, несмотря на несколько пониженное (по сравнению с нитчатками) накопление одноклеточными водорослями изученных элементов, их роль в процессах миг-

рации атомов химических элементов в природных водоемах должна быть весьма значительной.

В свое время В. И. Вернадский указывал, что одной из задач биогеохимии является установление закономерностей, определяющих химический состав живого вещества; им были намечены некоторые пути исследования этих закономерностей. В частности, он предполагал, что живое вещество тесно и неразрывно связано в своем составе с составом земной коры. В дальнейшем рядом авторов (Виноградов, 1935; Тиссен, 1942) было показано, что между химическим составом живого вещества и составом косной материи земной коры действительно намечается ряд количественных и качественных соответствий. К их числу относится положительная корреляция между содержанием химических элементов в организмах и окружающей их среде, обнаруженная, например, при изучении концентрации ряда редких и рассеянных элементов в наземных растениях. По-видимому, такая прямо пропорциональная зависимость между содержанием элементов в среде и накоплением их растениями может иметь место и в природных водоемах для элементов с достаточно низкими кларками. Об этом свидетельствуют результаты наших экспериментов, показавшие, что в области микроконцентраций водоросли накапливают химические элементы пропорционально содержанию этих элементов в воде. Однако перенесение такого рода данных на природные процессы должно производиться с осторожностью вследствие большого числа факторов, влияющих на ход накопления организмами химических элементов в природных условиях. Одним из таких факторов является физико-химическое состояние элементов в растворе. Рядом авторов было высказано предположение, что повышенное накопление редкоземельных элементов морскими организмами связано с нахождением этих элементов в морской воде в коллоидной форме, в то время как другие элементы, концентрируемые гидробионтами менее интенсивно, присутствуют в воде в виде ионов. Наши эксперименты по влиянию физико-химического состояния иттрия в растворе на накопление его кладофорой приводят к противоположному выводу — о меньшей доступности для живых организмов коллоидной формы химических элементов по сравнению с ионной. По-видимому, причины интенсивной аккумуляции редкоземельных элементов гидробионтами следует искать среди других физико-химических характеристик этих элементов.

Как было указано выше, водоросли представляют собой одну из весьма важных в биогеоценологическом отношении групп гидробионтов, являясь основными продуцентами органического вещества в водоеме и начальным звеном пищевых цепей водных организмов. Поэтому накопление водорослями химических элементов из воды в значительной степени определяет характер и количество элементов, поступающих в биологический круговорот

вещества в водных биогеоценозах. Активная аккумуляция многих редких и рассеянных элементов пресноводными водорослями, безусловно, ведет к извлечению из воды больших количеств этих элементов и связыванию их дальнейшей судьбы с органическим веществом водоема. В этом плане интересен вопрос о судьбе накопленных растением элементов при отмирании организма. Наши опыты по десорбции химических элементов из кладофоры показали, что отмершие водоросли удерживают значительные количества накопленных ими элементов. По-видимому, это обстоятельство весьма существенно для перехода элементов в иловые отложения и миграции их по пищевым цепям природных водных биогеоценозов, т. к. детрит является главным компонентом питания многих гидробионтов.

Результаты наших опытов могут быть использованы при обсуждении некоторых проблем физиологии минерального питания растений. Выше было показано, что предложенная нами классификация химических элементов по степени накопления их водорослями в общих чертах справедлива для всех изученных групп гидробионтов, иными словами, соотношение между накоплением отдельных элементов самыми разнообразными организмами в целом одинаково. Поэтому можно предполагать, что реакции связывания определенного элемента различными, даже весьма далекими в систематическом отношении организмами, в значительной мере однотипны. Это, конечно, не исключает существования целого ряда процессов и реакций, специфических для отдельных видов и групп видов. Примеры таких организмов, выделяющихся на общем уровне накопления того или иного элемента исключительно высокой способностью к его аккумуляции, были приведены выше. Другим вопросом, представляющим интерес в свете задач физиологии, является сравнительное изучение способов поступления различных элементов в организмы. По-видимому, они могут быть весьма разнообразны даже у одного и того же вида, о чем свидетельствуют, в частности, результаты опытов по десорбции химических элементов из кладофоры.

Как уже подчеркивалось во введении, исследование накопления химических элементов и их радиоактивных изотопов живыми организмами представляет интерес в свете ряда практических проблем, связанных в первую очередь с загрязнением биосферы радиоактивностью. Изложенный выше экспериментальный материал дает основания считать пресноводные водоросли одной из важнейших групп гидробионтов, влияющих на судьбу радиоизотопов — загрязнителей континентальных водоемов. По-видимому, водоросли являются активными участниками процессов, ведущих к самоочищению природных вод от химических и радиоактивных загрязнений. В связи с этим водоросли, наряду с иловыми отложениями, служат наилучшими индикаторами загрязнений воды и могут быть рекомендованы в качестве компонентов искусствен-

ных биогеоценозов, предназначенных для очистки промышленных сточных вод.

Выводы

1. Коэффициенты накопления химических элементов водорослями следуют в своей динамике кривым насыщения и достигают постоянного уровня через 2—7 суток с начала опыта.

2. Пресноводные зеленые водоросли являются весьма активными концентраторами химических элементов из среды, более активными, чем другие изученные к настоящему времени гидробионты (животные, высшие растения и бактерии).

3. Нитчатые водоросли концентрируют большинство изученных элементов интенсивнее, чем одноклеточные.

4. Среди водорослей, так же, как и внутри других групп организмов, выделяются виды, способные к необычно высокому накоплению одного или нескольких элементов — так называемые специфические накопители.

5. Все изученные элементы могут быть разделены на три группы по степени накопления их водорослями, и эта классификация в общем применима и к коэффициентам накопления химических элементов другими водными организмами.

6. Кривая зависимости накопления химических элементов кладофорой от концентрации их в растворе сходна с изотермой адсорбции Лангмюра. В области микроконцентраций коэффициенты накопления химических элементов не зависят от содержания элемента в среде (при неизменности его формы нахождения в растворе и прочих равных условиях).

7. Накопление химических элементов водорослями зависит от физико-химического состояния элементов в растворе. Так, иттрий в коллоидной форме менее доступен клеткам кладофоры, чем в ионном.

8. На основании сравнения коэффициентов накопления химических элементов водорослями с константами устойчивости комплексов, образуемых этими элементами с рядом аддендов, представляется весьма вероятной важная роль комплексообразования в процессах связывания металлов растительной клеткой.

9. Как живые, так и мертвые водоросли при помещении их в десорбирующий раствор обнаруживают способность весьма прочно удерживать накопленные ранее элементы (за исключением кальция и стронция).

10. Пресноводные водоросли являются весьма важной в биогеохимическом и биогеоценологическом отношении группой организмов, вовлекая в биологический круговорот большие количества атомов химических элементов. Это обстоятельство позволяет рекомендовать водоросли для использования в почвенно-биологических системах, предназначенных для очистки промышленных сточных вод.

Пользуюсь случаем выразить искреннюю благодарность моему научному руководителю Н. В. Тимофееву-Ресовскому и Е. А. Тимофеевой-Ресовской за постоянную помощь в проведении и оформлении работы, а также Н. В. Лучнику за ценные консультации.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ СОИСКАТЕЛЕМ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Гилева Э. А. 1960. О коэффициентах накопления радиоизотопов пресноводными водорослями. ДАН СССР, т. 132, № 3.
2. Тимофеева-Ресовская Е. А., Н. В. Тимофеев-Ресовский, А. Б. Гецова, Э. А. Гилева, Т. В. Жарова, Г. М. Куликова и Г. А. Милютина. 1961. О коэффициентах накопления радиоизотопов стронция, рутения, цезия и церия пресноводными организмами. Зоол. журн., т. 39, вып. 10.
3. Тимофеева-Ресовская Е. А., Н. В. Тимофеев-Ресовский и Э. А. Гилева. 1961. О специфических накопителях отдельных радиоизотопов среди пресноводных организмов. ДАН СССР, т. 140, № 6.
4. Гилева Э. А. 1961. О накоплении протококковой водорослью Scenedesmus quadricauda двенадцати радиоизотопов из водного раствора. Тезисы докладов Всес. совещания по культивированию одноклеточных водорослей, Ленинград.
5. Гилева Э. А. 1962. О накоплении радиоизотопов пресноводными водорослями. Доклады первой научн. конф. молодых специалистов-биологов, Свердловск.
6. Гилева Э. А. 1963. О накоплении семи радиоизотопов четырьмя пресноводными водорослями. ДАН СССР, т. 149, № 5.

НС 23007 17/I 1964 г. Тираж 200 Заказ 63.

Типография изд-ва «Уральский рабочий», Свердловск, проспект Ленина, 49.