

Наталья ИРХА, Хенн КУКК

РОЛЬ НЕКОТОРЫХ МАКРОФИТОВ БАЛТИЙСКОГО МОРЯ В ТРАНСФОРМАЦИИ КАНЦЕРОГЕНОВ

Донная растительность, являясь существенным звеном экосистемы Балтийского моря, синтезирует органические вещества, обогащает воду кислородом, участвует в процессе самоочищения, дает приют бентическим животным, служит местом их размножения, а также субстратом для нереста многих промысловых видов рыб. Видовой состав донной растительности Балтийского моря скуден, что обусловлено низкой соленостью воды, которая понижается в восточном направлении. В прибрежных водах Финского залива (в пределах СССР) обнаружено 56 видов водорослей — макрофитов, из которых: синезеленых — 16, бурых — 14, красных — 10, зеленых — 14 и харовых 2 таксона (Кукк, 1978, 1979, 1980). У побережья западной Эстонии обнаружено 69 таксонов водорослей, из которых синезеленых — 32, бурых — 12, красных — 12, зеленых — 13 и харовых — 5 таксонов (Трей, 1976, 1977).

Известно, что водные растения способны аккумулировать различные вещества, в том числе бенз(а)пирен (БП). По данным литературы (Veldge и др., 1981), содержание БП в разных видах водорослей Финского залива у полуострова Суурупи разное: в *Furcellaria lumbricalis* — в пределах $0,181 \pm 0,069$ мкг/кг, в *Fucus vesiculosus* — 0,485 мкг/кг. Отсюда следует, что содержание БП варьирует и зависит от вида и места отбора макрофита. Закономерен вопрос о возможностях трансформации названного вещества макрофитами различных видов. Немногочисленные публикации по этой проблеме в основном посвящены изучению аккумуляции и метаболизма БП высшими растениями (Kirchuth, 1970; Угрехелидзе, 1976; Harms и др., 1977; Растения и химические канцерогены, 1979; Итра и др., 1982) и пресноводных водорослей (Kirso и др., 1981; Белых и др., 1981). Как следует из литературных данных, изучение трансформации БП макрофитами Балтийского моря в лабораторных условиях до настоящего времени не проводилось. Целью настоящего исследования было изучение возможностей адаптации некоторых макрофитов к лабораторным условиям, а также их ответной реакции на загрязнение воды БП.

Материал и методика исследования

Использованные в опыте зеленые водоросли видов *Enteromorpha intestinalis* и *Cladophora glomerata* растут в основном в литоральной зоне и предпочитают защищенные и загрязненные бытовыми стоками местобитания; они были собраны в районе Меривяля г. Таллина. Харовые водоросли растут на мягких грунтах в защищенных бухтах. Для исследования использовали водоросли вида *Chara aspera*, собранные в прибрежных районах бухт Унду и Кыйгусте. Бурые водоросли вида *Fucus vesiculosus* населяют сублитораль и доминируют в открытых прибойных местах побережья; в опыте использованы водоросли, собранные у побережья Кабернеэме.

Свежесобранные талломы промывали морской водой и помещали на 7—10 дней в аквариумы с водой, отобранной в районе произрастания макрофитов. Талломы бурых водорослей закрепляли в вертикальном положении, энтероморфу и кладофору не отделяли от естественного места прикрепления. В этом случае биомассу водорослей определяли визуально, а после опыта — путем соскабливания и взвешивания. Харовые водоросли помещали в аквариумы без прикрепления. Для поддержки жизнедеятельности водорослей и их лучшей адаптации к лабораторным условиям в аквариумы вносили питательные вещества (Определитель, 1980), г/л: NaNO_3 — 0,1; NaHPO_4 — 0,02; почвенный отвар — 50,00.

Водоросли адаптировались в условиях аэрации при температуре $20 \pm 2^\circ \text{C}$ и освещении лампой накаливания в течение 8—10 ч (освещенность 2600 лк), установленной на высоте 40 см. В опыте соблюдали рН 7,5. Доводку рН осуществляли фосфатным буфером (0,02 М) на «рН-340». Физиологическое состояние водорослей оценивали по внешнему виду талломов и их развитию. Опыты с адаптированными водорослями проводили в аналогичных условиях.

В сосуды из темного стекла, емкостью 2 л, содержащие модельный раствор морской воды (Справочник химика, 1968), вводили спиртовой раствор БП (0,01 мл) для получения раствора концентрацией $0,5 \pm 0,07$ нМ. Раствор интенсивно перемешивали магнитной мешалкой в течение 15 мин. После извлечения мешалки в раствор помещали водоросли (10—20 г/л), предварительно адаптированные к модельному раствору в течение 7—10 дней в описанных выше условиях. Момент помещения водорослей в опытные сосуды считали началом опыта. Пробы раствора по 100 мл отбирали через определенные промежутки времени в течение опыта. Продолжительность опытов варьировали от 3,5 до 240,0 ч. БП экстрагировали диэтиловым эфиром (2×30 мл), экстракт высушивали безводным Na_2SO_4 и упаривали на водяной бане. Водоросли после окончания опыта промывали дистиллированной водой в течение 30 мин и сушили на фильтровальной бумаге, предварительно очищенной диэтиловым эфиром. Сухие талломы мелко нарезали и измельчали до порошкообразного состояния. Талломы бурых водорослей, отличающиеся жесткостью, замораживали жидким азотом, а

Таблица 1

Результаты статистической обработки данных изменения концентрации БП в воде в присутствии макрофитов (условия: концентрация БП $0,5 \pm 0,07$ нМ; рН 7,5; $t = 20 \pm 2^\circ \text{C}$)

Вид макрофита	Биомасса, г/л	Продолжительность опыта, ч	Константа скорости, нМ/л ⁻¹ ·ч ⁻¹ $M \pm m^{**}$	Коэффициент корреляции	Количество точек
<i>Fucus vesiculosus</i>	10,0	240,0	$0,002 \pm 0,0004$	0,83	10
	20,0	72,0	$0,003 \pm 0,0002$	0,97	10
<i>Enteromorpha intestinalis</i>	18,0	144,0	$0,0034 \pm 0,0003$	0,96	10
	20,0	6,5	$0,0168 \pm 0,016$	0,98	6
<i>Cladophora glomerata</i>	19,0	144,0	$0,0022 \pm 0,0005$	0,82	10
	19,0	6,5	$0,025 \pm 0,011$	0,84	5
<i>Chara aspera</i>	10,0	*48,0	$0,015 \pm 0,002$	0,94	10
	20,0	3,3	$0,028 \pm 0,004$	0,95	20

* Общая продолжительность опыта 118 ч.

** М — среднее значение; m — среднее квадратичное отклонение.

затем измельчали. Полученный сухой порошок экстрагировали 200 мл бензола в аппарате Сокслета в течение 8 ч. Экстракт концентрировали до 2—3 мл и дважды наносили на стеклянную пластинку $18 \times 12,5$ см с тонким слоем окиси алюминия (по Брокману, II); подвижными фазами служили соответственно: петролейный эфир (фракция 40—70°) : хлороформ в объемном соотношении 9 : 1 и бензол : ацетон в объемном соотношении 9 : 1. Расположение БП на пластинке определяли по веществу-свидетелю (раствор БП в гексане 10^{-7} г/мл). Сорбированный БП элюировали смесью бензол : ацетон в соотношении 1 : 1, полученный экстракт упаривали досуха. Количество БП определяли по квазилинейчатым спектрам флуоресценции на спектрометре ДФС-12 (Хесина, 1977). Внутренним стандартом служил раствор 1,12-бензперилена в *n*-октане ($5 \cdot 10^{-8}$ г/мл). Чтобы избежать возможных ошибок, достигали статистической достоверности результатов путем осуществления параллельных определений на каждом этапе эксперимента. Каждой серии опытов соответствовал контрольный опыт, в котором БП вносили в воду при отсутствии водорослей. Условия опыта соответствовали приведенным выше.

При обработке результатов учитывали данные о возможном содержании БП в водорослях и на стенках опытного сосуда.

Результаты исследования и их обсуждение

В условиях лабораторной культивации макрофиты всех использованных в опыте видов продолжали свою нормальную жизнедеятельность. Как показали наблюдения, оптимальным временем для адаптации к опытным условиям является начало вегетации. Талломы, собранные осенью, хуже приспосабливались к новым условиям и значительно раньше прекращали свою жизнедеятельность. В условиях опыта наибольшей приспособленностью отличались энтероморфа и кладофора, при этом отмечалось разрастание их талломов. Роста и развития фукуса и хары не наблюдалось.

Изменение количества БП в растворе в присутствии макрофитов представлено графически на рисунке. Как видно из опытных данных, фукус активно способствует уменьшению содержания БП в воде (табл. 1). В течение первых 10—20 ч опыта фукус сорбировал более 50% БП: при биомассе фукуса 10 г/л за 240 ч концентрация БП снижалась на $0,483 \pm 0,0085$ нмоль. Из системы выводили $0,48 \pm 0,16$ нмоль вещества при накоплении его в талломах $0,358 \pm 0,003$ нмоль. В опыте с биомассой фукуса 20 г/л количество аккумулированного БП увеличилось до $0,637 \pm 0,004$ нмоль, а количество выведенного практически равнялось нулю (табл. 2). Очевидно, что этот макрофит преимущественно сорбирует БП, который аккумулируется в талломах и сохраняется в непревращенном виде.

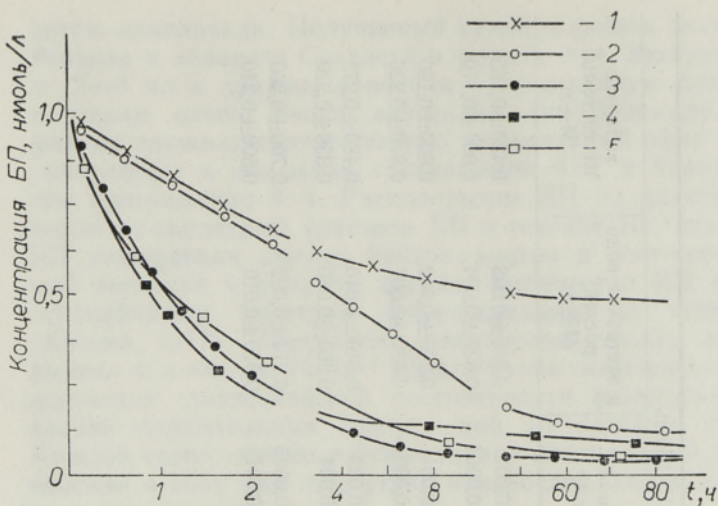
Сравнение данных распределения БП в опыте в присутствии энтероморфы также свидетельствует о процессе аккумуляции. При биомассе 18—20 г/л через 6,5 ч опыта в талломах водорослей обнаруживалось $0,039 \pm 0,007$ нмоль вещества, а при длительности опыта 144 ч $0,208 \pm 0,002$ нмоль БП. Следует отметить, что в присутствии энтероморфы в первые часы опыта происходит не только активная сорбция БП, но и его трансформация. В течение 6,5 ч опыта при биомассе водорослей 20 г/л из системы выводили $0,87 \pm 0,095$ нмоль вещества. Далее этот процесс замедлялся. В клетках энтероморфы в конце опыта обнаруживали непревращенный БП (табл. 2).

Накопление БП наблюдалось и у водорослей видов *Cladophora glomerata* и *Chara aspera* (табл. 1, 2). При биомассе кладофоры 19 г/л в течение 6,5 ч опыта в талломах водорослей обнаруживали $0,26 \pm 0,01$,

Таблица 2

Распределение БП в опыте в присутствии макрофитов Балтийского моря
(условия: концентрация БП $0,5 \pm 0,07$ нМ; рН 7,5 (0,02 М фосфатный буфер;
 $t = 20 \pm 2^\circ \text{C}$; освещенность 2600 лк).

Вид макрофита	Биомасса	Продолжительность опыта, ч	Количество БП, нмоль					выведено из системы $M \pm m$
			в пробах $M \pm m$	в конце опыта $M \pm m$	в смыве $M \pm m$	в экстракте водорослей $M \pm m$		
<i>Fucus vesiculosus</i>	10,0	240,0	$0,110 \pm 0,020$	$0,040 \pm 0,020$	$0,006 \pm 0,001$	$0,358 \pm 0,003$	$0,480 \pm 0,265$	
	20,0	72,0	$0,146 \pm 0,057$	$0,0013 \pm 0,0001$	$0,003 \pm 0,0004$	$0,637 \pm 0,004$	$0,000 \pm 0,170$	
<i>Enteromorpha intestinalis</i>	18,0	144,0	$0,112 \pm 0,001$	$0,026 \pm 0,005$	$0,056 \pm 0,001$	$0,208 \pm 0,002$	$0,600 \pm 0,180$	
	20,0	6,5	$0,062 \pm 0,009$	$0,018 \pm 0,002$	$0,0100 \pm 0,0002$	$0,039 \pm 0,007$	$0,870 \pm 0,230$	
<i>Cladophora glomerata</i>	19,0	144,0	$0,126 \pm 0,004$	$0,050 \pm 0,002$	$0,022 \pm 0,003$	$0,340 \pm 0,040$	$0,480 \pm 0,270$	
	19,0	6,5	$0,070 \pm 0,010$	$0,185 \pm 0,007$	$0,157 \pm 0,004$	$0,260 \pm 0,010$	$0,330 \pm 0,320$	
<i>Chara aspera</i>	10,0	118,0	$0,062 \pm 0,005$	$0,014 \pm 0,001$	$0,012 \pm 0,0003$	$0,214 \pm 0,002$	$0,700 \pm 0,260$	
	20,0	3,3	$0,258 \pm 0,0370$	$0,140 \pm 0,060$	$0,024 \pm 0,001$	$0,070 \pm 0,010$	$0,500 \pm 0,340$	



Кинетические кривые убыви БП в присутствии водорослей Балтийского моря. 1 — автоокисление; 2 — фукус; 3 — энтероморфа; 4 — кладофора; 5 — хара.

а из системы выводили $0,33 \pm 0,185$ нмоль вещества. При увеличении продолжительности опыта существенного изменения количества аккумулярованного и выведенного из системы БП не наблюдалось. Анализ статистических данных позволяет предположить незначительную роль этих водорослей в трансформации БП.

В присутствии хары (20 г/л) в течение первых 3 ч опыта наблюдалось снижение концентрации БП в воде до $0,145 \pm 0,001$ нмоль, при этом в талломах водорослей обнаружено незначительное количество вещества ($0,07 \pm 0,01$), что указывает на активную трансформацию БП. С увеличением продолжительности опыта при биомассе водорослей 10 г/л количество аккумулярованного вещества увеличилось до $0,214 \pm 0,002$ нмоль.

Таким образом, установлено, что макрофиты Балтийского моря способствуют интенсивному снижению концентрации БП в воде. Количество БП, выведенное из системы, зависит от вида макрофита. Следовательно, при поступлении канцерогенных полициклических ароматических углеводородов в водоемы их накопление и трансформация во многом зависят от видового состава макрофитов, произрастающих в районе загрязнения.

Выводы

1. Эксперимент показал возможность использования морских макрофитов для изучения распределения и трансформации бенз(а)пирена в опытных условиях.
2. Рост и нормальная жизнедеятельность водорослей в опытных условиях зависят от времени вегетации.
3. При концентрации БП в воде, близкой к пределу растворимости, его аккумуляция и выведение из системы в присутствии макрофитов наиболее интенсивны в первые часы опыта.
4. Виды *Fucus vesiculosus* и *Cladophora glomerata* преимущественно аккумуляруют БП из среды. Высокой аккумуляционной способностью отличается *Fucus vesiculosus*.
5. Виды *Enteromorpha intestinalis* и *Chara aspera* не только аккумуляруют, но и трансформируют БП.

Авторы благодарят У. Кирсо за ценную помощь при обработке результатов экспериментов.

ЛИТЕРАТУРА

- Белых Л. И., Стом Д. И., Курсо У. Э. О трансформации бенз(а)пирена в смеси с фенолами под влиянием водорослей и их ферментных препаратов. — Водные ресурсы, 1981, 185.
- Итра А., Велдре И., Паальме Л. Распределение бенз(а)пирена в экосистеме озера Выртсъярв. Проблемы современной экологии. (Тез. II респ. экологической конф., Тарту, 8—10 апреля 1982 г.). Тарту, 1982, 104.
- Кукк Х. А. Макрофиты южного побережья Финского залива. — В кн.: Новости систематики низших растений. Л., 1978, 15, 26—29.
- Определитель пресноводных водорослей СССР. Л., 1980, вып. 13.
- Растения и химические канцерогены. Л., 1979.
- Справочник химика. Л., 1968, 22.
- Трей Т. Я. Бурье и красные водоросли в прибрежных водах Западной Эстонии. Рига, 1976.
- Трей Т. Я. Зеленые и харовые водоросли в прибрежных водах Западной Эстонии. М., 1977, 124, 27—30.
- Угрехелидзе Д. Х. Метаболизм экзогенных алканов и ароматических углеводов в растениях. Тбилиси, 1975.
- Хесина А. Я. Методика количественного определения в экстрактах полициклических ароматических углеводов (ПАУ) и некоторых их производных. — В сб.: Синтез, метаболизм и роль углеводов в живых системах. (Тез. докл., 27—28 октября, Пушкино). Пушкино, 1977, 17—18.
- Harms, H., Dehnen, W., Möch, W. Benzo(a)pyrene metabolites formed by plant cells. — Z. Naturforsch., 1977, 32, Ser. C, 321—326.
- Kirchkuth, R. Aufnahme. Anabolismus und Katabolismus von Organika durch höhere Pflanzen. — Vom Wasser (Weinheim), 1970, 184—189.
- Kirso, U., Belykh, L., Stom, D. Oxidation of benzo(a)pyrene catalyzed by phenol oxidases of *Alga nitella* sp. and potato tubers. — Acta hydrochim. hydrobiol., 1981, 9, 401—406.
- Veldre, I., Itra, A., Kukk, H., Paalme, L. Bensopüreeeni sisaldusest vetikates. — ENSV TA Toim. Biol., 1981, 30, 51—53.

Институт химии
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
21/V 1982

Таллинское отделение БалтНИИРХ

Natalja IRHA, Henn KUKK

MÕNINGATE LÄÄNEMERE MAKROFÜÜTIDE OSAST KANTSEROGEENIDE TRANSFORMATSIOONIS

Artiklis on käsitletud benso(a)püreeeni kuhjumist Läänemere makrofüütidesse ja nende transformatsiooni katsetingimustes. On kindlaks tehtud, et makrofüüdid soodustavad kantseroogeneid sisalduse langust vees. Liigid *Cladophora glomerata* ja *Fucus vesiculosus* põhiliselt akumuleerivad, liigid *Enteromorpha intestinalis* ja *Chara aspera* lisaks ka transformeerivad benso(a)püreeeni. Intensiivne benso(a)püreeeni akumulatsioon ja transformatsioon toimub põhiliselt esimeste katsetundide jooksul.

Natalya IRHA, Henn KUKK

THE SHARE OF SOME BALTIC SEA MACROPHYTES IN THE TRANSFORMATION OF CANCEROGENS

The present paper deals with the possibilities of accumulation and transformation of benzo(a)pyrene by Baltic Sea macrophytes belonging to the species *Fucus vesiculosus*, *Enteromorpha intestinalis*, *Cladophora glomerata*, *Chara aspera* under experimental conditions. It is shown that the above macrophytes may be used for the study of the distribution and transformation of benzo(a)pyrene in experimental conditions. It is also established that macrophytes lead to an intensive decrease of the concentration of benzo(a)pyrene in water. The species *Cladophora glomerata* and *Fucus vesiculosus* prevailingly accumulate benzo(a)pyrene, whereas *Enteromorpha intestinalis* and *Chara aspera* both accumulate and transform it. In the presence of macrophytes the accumulation and transformation of benzo(a)pyrene is most intensive during the first hours of experiment.