

## Содержание тяжелых металлов в талломах лишайника *Hurogymnia physodes*: источники гетерогенности

И. Н. МИХАЙЛОВА, И. А. КШНЯСЕВ

Институт экологии растений и животных УрО РАН  
620144, Екатеринбург, ул. 8 Марта, 202  
E-mail: mikhailova@i-pae.uran.ru

### АННОТАЦИЯ

В районе Среднеуральского медеплавильного завода в двух контрастных зонах атмосферного загрязнения оценены размерные и репродуктивные характеристики талломов эпифитного лишайника *Hurogymnia physodes* (L.) Nyl. и определены концентрации тяжелых металлов (Cu, Fe, Cd, Zn, Pb) в них. Показана неоднородность популяций как по размерным и репродуктивным характеристикам, так и по содержанию металлов. Обнаружена высокая гетерогенность субпопуляций, произрастающих на различных форофитах. Рекомендовано оптимизировать сбор данных путем отбора образцов с большего количества деревьев (20–30) при меньшем количестве талломов (10–20) с одного форофита.

**Ключевые слова:** эпифитные лишайники, популяции, гетерогенность, аккумуляция поллютантов, лишеноиндикация, промышленное загрязнение, медеплавильный завод, тяжелые металлы, Средний Урал.

При проведении работ по аккумулятивной лишеноиндикации внимание исследователей неоднократно обращалось на высокую изменчивость концентраций токсикантов в талломах [1]. Ряд авторов связывает ее с разным поступлением поллютантов вследствие пространственной неоднородности различного масштаба: высоты местности над уровнем моря [2, 3], особенностей локальной топографии и структуры растительности [4, 5], положения талломов на стволе дерева [6, 7]. Следующие источники изменчивости упоминаются существенно реже – “индивидуальные” различия: возраст талломов и их частей, их морфологические и анатомические особенности, определяющие способность к захвату и удержанию поллютантов. Так, для нескольких видов листоватых лишайников обнаружено более высокое содержание эле-

ментов в старых частях одного и того же таллома [8–10]. Однако даже при стандартизированных методиках отбора из относительно гомогенных популяций обнаруживается высокая необъясненная изменчивость концентраций элементов в талломах [11].

Ранжирование важности эффектов, определяющих накопление металлов в талломах, необходимо для корректного решения методических вопросов аккумулятивной лишеноиндикации. От того, какой фактор в большей степени определяет аккумуляцию – особенности форофитов или талломов, зависит выбор экспериментального плана, т. е. схема отбора образцов и их количество. Цель работы – сопоставить несколько источников изменчивости содержания металлов в эпифитном лишайнике *Hurogymnia physodes* (L.) Nyl. в условиях контрастной токсической нагрузки.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования проведены в зоне атмосферного загрязнения выбросами Среднеуральского медеплавильного завода (СУМЗа), расположенного около г. Ревда Свердловской области. Основные ингредиенты выбросов –  $\text{SO}_2$  и тяжелые металлы. В качестве модельного объекта выбран вид *H. physodes*, доминирующий в эпифитных лишайниковых сообществах района. Пробные площади заложены в пихтово-еловых лесах фоновой (30 км к западу от СУМЗа) и импактной (5 км) зон загрязнения. Талломы отбирали со стволов пихты на высоте от 5 до 50 см. В фоновой зоне с 5 деревьев на участке коры  $20 \times 20$  см собраны все (от 8 до 57 на дерево) талломы (всего 124). В импактной зоне, где плотность лишайников значительно ниже, собраны все (от 1 до 49) талломы с 12 деревьев (всего 158). Возрастные состояния у 282 талломов *H. physodes* определены на основе количества и степени развития соралей (ординальный признак): 1) AS – асоредиозные, 2) CS – криптосоредиозные, 3) S1 – гипосоредиозные, 4) S2 – мезосоредиозные, 5) S3 – гиперсоредиозные [12]. Талломы всех возрастных состояний отмечены в каждой из исследуемых популяций, но не на всех форофитах.

После определения возрастного состояния талломы очищали от кусочков коры, сушили в сушильном шкафу в течение 48 ч при температуре  $40^\circ\text{C}$  и взвешивали на аналитических весах с точностью 0,1 мг. Разложение образцов проводили в микроволновых лабораторных печах (“Урал-Гефест”, Россия). Валовое содержание Cu, Fe, Cd, Zn и Pb определено индивидуально в каждом талломе на атомно-абсорбционном спектрометре AAS Vario 6 (“Analytik Jena AG”, Германия) с пламенным или электротермическим вариантами атомизации. Аналитическая лаборатория аккредитована на техническую компетентность (аттестат РОСС.RU0001.515630).

Поскольку отдельные исследованные талломы нельзя считать независимыми (они группированы форофитом), для анализа данных использована модель иерархического дисперсионного анализа со смешанными эффектами. Популяции двух зон рассмотрены как уровни фактора с фиксированными эффектами, а субпопуляции (талломы, заселя-

ющие одно дерево) – как случайные уровни фактора “форофит”, вложенные в уровни первого [13, 14]. Для оценки влияния размерных и репродуктивных характеристик талломов на содержание металлов использован ковариационный анализ для каждой из двух популяций отдельно. Для стабилизации внутригрупповых дисперсий зависимые переменные предварительно логарифмированы  $\lg(y)$ , описательные статистики (медиана, среднее геометрическое и его 95 % доверительный интервал – ДИ) приведены после обратного преобразования. Для оценки устойчивости статистического вывода при сравнении двух зон по выборкам субпопуляций также использованы: статистика Манна-Уитни и точный (2-сторонний) критерий Фишера (ТКФ) как аналог медианного теста. Для оценки неоднородности двух популяций по возрастным состояниям талломов анализировали стандартизованные отклонения  $r_{st} = (N_{\text{наблюдаемое}} - N_{\text{ожидаемое}}) / (N_{\text{ожидаемое}})^{0,5}$ ;  $r_{st} \approx N(0;1)$  как компоненты статистики Пирсона  $X^2 = \Sigma(r_{st})^2$  [16], после коллапсирования однородных классов оценивали отношение шансов – ОШ [14].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Средние концентрации металлов для субпопуляций *H. physodes*, отдельных форофитов, приведены в табл. 1. Как и ожидалось, средние концентрации металлов, вычисленные по выборкам талломов или субпопуляций (средние значения для отдельных форофитов), в 2–6 раз выше в импактной популяции. Но если для концентрации меди, свинца и цинка статистический вывод устойчив (все использованные статистики согласованы), то для содержания железа и кадмия – нет (табл. 1, 2). Концентрация железа имеет полимодальное распределение, и для субпопуляций как фоновой, так и импактной зон характерна существенная гетерогенность. Для кадмия обнаружена высокая гетерогенность между субпопуляциями импактной зоны.

Согласно результатам дисперсионного анализа (табл. 2) и оценкам внутрикласовой корреляции, существенный вклад в накопление металлов вносит не только удаление от источника выбросов, но и особенности форофитов ( $\rho = 0,15-0,65$ ), отражающие, очевид-

Масса таллома (мг) и содержание металлов (мкг/г) в талломах *H. physodes*, описательные статистики

Популяция	Число стволов (талломов)*	Медиана	Среднее геометрическое	95 % ДИ	
Масса таллома					
Фон ( $Z^{**} = 1,79$ )	5	21,3	14,2	3,6	56,4
Импакт	12	4,3	4,7	3,0	7,4
Фон ( $Z = 5,79$ )	(124)	14,4	12,0	9,6	15,0
Импакт	(158)	3,8	4,5	3,8	5,5
Cu					
Фон ( $Z = 3,16$ )	5	37,0	35,0	24,3	50,3
Импакт	12	222,9	202,0	151,8	268,6
Фон ( $Z = 13,44$ )	(122)	37,8	36,4	34,6	38,3
Импакт	(147)	126,1	132,9	122,0	144,7
Fe					
Фон ( $Z = 1,58$ )	5	103,4	171,3	38,7	758,9
Импакт	12	464,5	367,0	210,7	639,3
Фон ( $Z = 4,31$ )	(123)	586,8	283,8	223,5	360,4
Импакт	(145)	749,9	543,2	459,4	642,4
Pb					
Фон ( $Z = 3,16$ )	5	25,2	25,8	15,6	42,6
Импакт	12	88,8	93,1	73,9	117,3
Фон ( $Z = 12,48$ )	(110)	28,7	25,1	21,6	29,3
Импакт	(152)	93,9	93,2	86,1	100,8
Zn					
Фон ( $Z = 2,95$ )	5	103,3	114,9	56,1	235,4
Импакт	12	296,0	314,1	249,6	395,3
Фон ( $Z = 5,19$ )	(115)	146,7	145,5	124,6	169,9
Импакт	(136)	258,2	244,1	219,9	271,0
Cd					
Фон ( $Z = 1,69$ )	5	0,370	0,440	0,245	0,778
Импакт $p(\text{ТКФ})^{\#} = 0,03$	12	1,836	1,100	0,466	2,580
Фон ( $Z = -3,06$ )	(117)	<u>0,509</u>	<u>0,523</u>	<u>0,447</u>	<u>0,612</u>
Импакт	(146)	<u>0,270</u>	<u>0,279</u>	<u>0,211</u>	<u>0,368</u>

П р и м е ч а н и е. \* Курсивом выделено сравнение средних без учета их группировки форофитом, представляющее случай так называемых псевдоповторностей – “pseudoreplication” [15, 13]; \*\* Z-аппроксимация критерия Манна–Уитни для сравнения популяций двух зон по средним значениям субпопуляций, жирным шрифтом выделено  $p < 0,05$ . # ТКФ использован как аналог медианного теста. Подчеркнуты “парадоксальные” значения, пример ситуации, когда пренебрежение зависимостью наблюдений приводит к некорректным оценкам.

но, как пространственную неоднородность выпадения металлов в масштабе единиц – десятков метров, так и характеристики отдельных деревьев (размер и форма кроны, структура коры, возраст и т. д.). В использованной схеме анализа дифференцировать

эффекты указанных источников изменчивости не представляется возможным.

Субпопуляции различных форофитов гетерогенны по возрастным состояниям талломов:  $\text{возраст} \times \text{форофит } X^2(64) = 185,19$ . Неоднородна и структура популяций двух

Результаты иерархического дисперсионного анализа со смешанными эффектами и оценки ( $\rho$ ) внутрикласовой корреляции

Источник изменчивости	SS	Эффект		Остаток		F	p $\leq$	$\rho$
		df	MS	df	MS			
Lg(“возраст”)								
<b>Зона</b>	<b>11,24</b>	<b>1</b>	<b>11,241</b>	<b>19,1</b>	<b>1,058</b>	<b>10,62</b>	<b>0,004</b>	
<b>Форофит(зона)</b>	<b>28,14</b>	<b>15</b>	<b>1,876</b>	<b>264</b>	<b>0,241</b>	<b>7,77</b>	<b>0,000</b>	<b>0,325</b>
Lg(масса таллома)								
<b>Зона</b>	<b>5,68</b>	<b>1</b>	<b>5,675</b>	<b>17,4</b>	<b>1,233</b>	<b>4,60</b>	<b>0,046</b>	
<b>Форофит(зона)</b>	<b>34,35</b>	<b>15</b>	<b>2,290</b>	<b>264</b>	<b>0,178</b>	<b>12,88</b>	<b>0,000</b>	<b>0,458</b>
Lg[Cu]								
<b>Зона</b>	<b>13,86</b>	<b>1</b>	<b>13,862</b>	<b>16,7</b>	<b>0,172</b>	<b>80,71</b>	<b>0,001</b>	
<b>Форофит(зона)</b>	<b>4,73</b>	<b>15</b>	<b>0,316</b>	<b>252</b>	<b>0,018</b>	<b>17,32</b>	<b>0,001</b>	<b>0,547</b>
Lg[Fe]								
Зона	2,7	1	2,702	16,1	1,526	1,77	0,202	
<b>Форофит(зона)</b>	<b>42,39</b>	<b>15</b>	<b>2,826</b>	<b>250</b>	<b>0,108</b>	<b>26,06</b>	<b>0,001</b>	<b>0,652</b>
Lg[Pb]								
<b>Зона</b>	<b>7,32</b>	<b>1</b>	<b>7,322</b>	<b>25</b>	<b>0,148</b>	<b>49,49</b>	<b>0,001</b>	
<b>Форофит(зона)</b>	<b>3,36</b>	<b>15</b>	<b>0,224</b>	<b>244</b>	<b>0,069</b>	<b>3,27</b>	<b>0,001</b>	<b>0,148</b>
Lg[Zn]								
<b>Зона</b>	<b>4,31</b>	<b>1</b>	<b>4,307</b>	<b>20,6</b>	<b>0,257</b>	<b>16,74</b>	<b>0,001</b>	
<b>Форофит(зона)</b>	<b>6,36</b>	<b>15</b>	<b>0,424</b>	<b>233</b>	<b>0,079</b>	<b>5,4</b>	<b>0,001</b>	<b>0,262</b>
Lg[Cd]								
Зона	3,81	1	3,809	16,5	1,836	2,07	0,168	
<b>Форофит(зона)</b>	<b>50,87</b>	<b>15</b>	<b>3,391</b>	<b>245</b>	<b>0,182</b>	<b>18,63</b>	<b>0,001</b>	<b>0,574</b>

П р и м е ч а н и е. Жирным шрифтом показано  $p < 0,05$ .

контрастных зон загрязнения: *возраст*  $\times$  *зона*  $X^2(4) = 55,56$ . Анализ стандартизованных отклонений показывает, что в фоновой популяции наблюдается относительный избыток, а в импактной – недостаток гиперсорециозных ( $n_{\text{фоновая}}/n_{\text{импактная}} = 40/16$ ;  $r_{\text{st}}^{\text{фоновая}}/r_{\text{st}}^{\text{импактная}} = 3,10/-2,74$ ) и мезосорециозных (34/12; 3,06/-2,71), и наоборот – дефицит/избыток асорециозных (17/63; -3,06/2,72) талломов соответственно. После коллапсирования двух последних и трех первых классов возрастных состояний {S2 + S3}/{AS + CS + S1}: для фоновой популяции – 130/50, импактной – 28/74,  $X^2(1) = 52,97$  ( $p(\text{ГКФ}) = 2,5E - 13$ ) оценка шансов обнаружения гипер- и мезосорециозных {S2 + S3} талломов в фоновой популяции оказалась в 6,9 (95 % ДИ 4,0–11,8) раз выше, чем в импактной. Этот результат соответствует ранее полученным данным [12] о смещении возрастного спектра на импактной территории в сто-

рону менее фертильных и/или стерильных талломов.

Импактная популяция характеризуется в 3–5 раз меньшей средней массой таллома (см. табл. 1). Масса и репродуктивное состояние таллома не являются независимыми признаками, о чем свидетельствуют высокие значения коэффициентов парной корреляции как для фоновой ( $r = 0,76$ ), так и для импактной ( $r = 0,70$ ) популяций. Оценка влияния размерных и репродуктивных характеристик талломов на содержание тяжелых металлов с помощью ковариационного анализа (случайный фактор – “форофит”) оказалась возможной лишь для субпопуляций тех форофитов, для которых получены выборки достаточного размера по всем возрастным состояниям. Затруднения, связанные с коллинеарностью предикторов, преодолены их поочередным включением в исследуемую модель и/или селекцией моделей. Лишь для содержания кад-

мия в импактной популяции добавление логарифма массы таллома к набору предикторов увеличивало на 5 % долю объясненной дисперсии ( $R^2$ ). Неожиданным оказалось отсутствие однозначной зависимости накопления металлов от массы таллома: так, в двух субпопуляциях импактной зоны более крупные талломы характеризовались более высоким содержанием кадмия, а в третьей наблюдали его снижение. На основе результатов анализа можно заключить, что размерные и репродуктивные характеристики талломов в значительно меньшей степени влияют на содержание тяжелых металлов, чем эффекты расстояния от источника выбросов и особенности субпопуляций.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, существенный вклад в изменчивость содержания тяжелых металлов в талломах эпифитных лишайников в условиях повышенного атмосферного загрязнения вносят как удаление от источника выбросов, так и особенности форофитов. Последние, очевидно, связаны с пространственной вариабельностью выпадения металлов в масштабе единиц – десятков метров и с характеристиками деревьев (возраст, размер и форма кроны, структура коры и др.), что и объясняет сходство ( $\rho_{\text{среднее}} = [\sum(\rho_i^2)/5]^{0,5} = 0,48$ ) содержания металлов в талломах внутри одной субпопуляции. Слабыми эффектами размерных и репродуктивных характеристик отдельных талломов можно пренебречь, поскольку они в существенно меньшей степени влияют на содержание тяжелых металлов по сравнению с расстоянием до источника выбросов и различиями между форофитами.

В имеющейся методической литературе нет четких указаний на количество исследуемых деревьев, необходимое для получения надежных результатов. В ряде работ [17] рекомендуют собирать талломы по меньшей мере с трех деревьев. Наши результаты показывают, что число исследуемых форофитов должно быть в 5–10 раз больше. Выявленная нами структура изменчивости содержания тяжелых металлов в талломах позволяет рекомендовать для работ по аккумулятивной лихеноиндикации с целью увеличения

мощности статистического вывода при фиксированной или даже меньшей стоимости исследований оптимизировать сбор данных путем отбора образцов с большего количества деревьев (20–30) при меньшем числе талломов (10–20) с одного форофита. Равенство количества образцов, а также сбалансированность различных размерных и репродуктивных характеристик талломов и учет их эффектов желательны, но менее важны для корректного статистического вывода.

Авторы выражают глубокую признательность канд. биол. наук И. П. Шаруновой за сбор и камеральную обработку материала, Э. Х. Ахуновой за измерение содержания металлов в лишайниках, д-ру биол. наук Е. Л. Воробейчику за обсуждение результатов. Работа завершена при поддержке Программы развития научно-образовательных центров (контракт 02.740.11.0279) и Президиума УрО РАН (проекты 09-И-4-2002 и 09-М-2345-2001).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Bargagli R., Mikhailova I. Accumulation of inorganic contaminants // Monitoring with Lichens / P. L. Nimis, C. Scheidegger, P. A. Wolseley eds. Netherlands: Kluwer Acad. Publ., 2002. P. 65–84.
2. Král R., Kryzová L., Ližka J. Background concentrations of lead and cadmium in the lichen *Hypogymnia physodes* at different altitudes // Sci. Total Environ. 1989. Vol. 84. P. 201–209.
3. Zechmeister H. G. Correlation between altitude and heavy metal deposition in the Alps // Environmental Pollution. 1995. Vol. 89. P. 73–80.
4. Goyal R., Seaward M. R. D. Lichen ecology of the Scunthorpe heathlands. II. Industrial metal fallout pattern from lichen and soil assays // Lichenologist. 1981. Vol. 13. P. 289–300.
5. Söchting U. Lichens as monitors of nitrogen deposition // Cryptogamic Botany. 1995. Vol. 5. P. 264–269.
6. Takala K., Kauranen P., Olkkonen H. Fluorine content of two lichen species in the vicinity of a fertilizer factory // Ann. Bot. Fenn. 1978. Vol. 15. P. 158–166.
7. Solberg Y. Studies on the chemistry of lichens, XX. The element concentration of the lichen species *Alectoria fremontii* and its associated bark substrate of *Pinus silvestris* // Z. Naturf. 1979. Vol. 34. P. 1275–1277.
8. Hale M. E., Lawrey J. D. Annual rate of lead accumulation in the lichen *Pseudoparmelia baltimorensis* // Bryologist. 1985. Vol. 88. P. 5–7.
9. Schwartzman D., Kasim M., Stieff L., Johnson J. H. Jr. Quantitative monitoring of airborne lead pollution by a foliose lichen // Water, Air, and Soil Pollution. 1987. Vol. 32. P. 363–378.
10. Bargagli R., Iosco F. P., D'Amato M. L. Zonation of trace metal accumulation in three species of epiphytic lichens belonging to the genus *Parmelia* // Cryptogamie, Bryologie et Lichenologie. 1987. Vol. 8. P. 331–337.

11. Nimis P. L., Castello M., Perotti M. Lichens as bioindicators of heavy metal pollution: a case study at La Spezia (N. Italy) // *Plants as Biomonitors. Indicators for Heavy Metals in the Terrestrial Environment* / В. Markert (ed.). VCH. Weinhamen, 1993. P. 265–284.
12. Михайлова И. Н., Воробейчик Е. Л. Размерная и возрастная структура популяций эпифитного лишайника *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. в условиях атмосферного загрязнения // *Экология*. 1999. Т. 2. С. 130–137.
13. Hurlbert S. H., White M. D. Experiments with invertebrate zooplanktivores: Quality of statistical analyses // *Bulletin of Marine Science*. 1993. Vol. 53. P. 128–153.
14. Quinn G. P., Keough M. J. *Experimental design and data analysis for biologists*. Cambridge UP., UK, 2002. 520 p.
15. Hurlbert S. H. Pseudoreplication and the design of ecological field experiments // *Ecological Monographs*. 1984. Vol. 54. P. 187–211.
16. Agresti A. *Analysis of ordinal categorical data*. John Wiley & Sons, Inc., USA, 1984. 287 p.
17. Bargagli R., Nimis P. L. Guidelines for the use of epiphytic lichens as biomonitors of atmospheric deposition of trace elements // *Monitoring with Lichens* / Eds. P. L. Nimis, C. Scheidegger, P. A. Wolseley Netherlands: Kluwer Acad. Publ., 2002. P. 295–299.

## **Heavy Metals Content in the Thalli of *Hypogymnia physodes* Lichen: Sources of Heterogeneity**

I. N. MIKHAILOVA, I. A. KSHNYASEV

*Institute of Ecology of Plants and Animals Ural Branch of the RAS  
620144, Ekaterinburg, 8 Marta str., 202  
E-mail: mikhailova@i pae.uran.ru*

In the region of the Middle Urals copper smelting plant, in two contrast zones of atmospheric pollution we evaluated the dimensional and reproductive characteristics of the thalli of epiphytic lichen *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. and determined the concentrations of heavy metals (Cu, Fe, Cd, Zn, Pb) in them. The nonuniformity of populations both over the dimensional and reproductive characteristics and over metal content was demonstrated. The high heterogeneity of subpopulations growing on different photophytes was discovered. It is recommended to optimise data collection by taking the samples from a large number of trees (20–30) with smaller number of thalli (10–20) from one photophyte.

**Key words:** epiphytic lichens, populations, heterogeneity, accumulation of pollutants, lichen indication, industrial pollution, copper smelting plant, heavy metals, the Middle Urals.