

Д.Ю.Нохрин

*Челябинский государственный университет, Россия
(E-mail: nokhrin8@mail.ru)*

Источники изменчивости и видовые особенности микроэлементного состава рыб из минерализованного водоёма

Автором изучен химический состав костной и мышечной тканей у плотвы и окуня из минерализованного озера Челябинской области. Отмечено, что в ходе многомерного оптимального шкалирования полученных данных методом нелинейного анализа главных компонент (nonlinear Principal Component Analysis) по алгоритму CATPCA выявлены особенности видовой и тканевой специфики накопления металлов, а также паттерн наиболее вероятных ксенобиотиков: природные Ni, Co, Cr и техногенные Pb и Cd.

Ключевые слова: рыбы, паттерн, химическое загрязнение, геохимический фон, минерализация воды, концентрации металлов, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Sr, Cd, Pb, ПДК, биоматериал, атомно-абсорбционный спектрофотометр.

Несмотря на обилие фактического материала, перспектива выработки цельного и структурированного взгляда на характер изменений микроэлементного состава тканей рыб весьма неопределённая. Отчасти это связано с многочисленностью и сложным характером взаимодействия факторов, влияющих на поведение эссенциальных и ксенобиотических микроэлементов в организме. Применительно к рыбам к таким факторам относят: концентрацию металла в среде и пище, размер и темпы роста, физиологическое состояние, предпочитаемые места кормления и др. [1, 2]. Полагаем, что сложность систематизации обнаруженных закономерностей связана во многом с недостаточной разработанностью методологий, позволяющих выявлять из всего многообразия связей интересующие паттерны конкретных форм изменчивости: видовой, географической, возрастной, половой, индивидуальной. В предыдущих работах [3, 4] нами было показано, каким образом многомерная техника оптимального шкалирования помогает находить ассоциации элементов, связанные с географической и видовой изменчивостью. Цель данной работы заключалась в выявлении видовой и тканевой специфики содержания металлов в рыбе минерализованного водоёма и выделении паттерна наиболее вероятных элементов-ксенобиотиков по результатам оптимального шкалирования.

Материал и методы

Отбор проб биоматериала (10 экз. плотвы и 10 экз. окуня) проводили в сентябре 2012 г. на оз. Чебакуль (Челябинская обл., Россия, координаты: 55°39' с.ш., 61°25' в.д.). Это — крупный водоём с площадью озёрного зеркала 19,8 км² и объёмом около 97 млн м³. С 1989 г. озеро относится к памятникам природы областного значения в категории «гидрологический»: озеро ценно своими бальнеологическими свойствами. Оно находится в окружении пресноводных озёр, но имеет высокую минерализацию: в 2012 г. её величина составила в среднем 4171 мг/дм³. По классификации О.А.Алекина, вода оз. Чебакуль относится к хлоридному классу, группе натрия, хлоридно-магниевому типу Ша. Техногенное загрязнение водоёма минимально, однако высокий геохимический фон, обусловленный минерализацией воды, проявляется в виде повышенных концентраций металлов в воде: из 10 изученных нами в 2012 г. металлов (Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Sr, Cd, Pb) превышения ПДК_{вр} были зарегистрированы по всем элементам, кроме Fe и Cr.

Пробоподготовка биоматериала (мышечная и костная ткань рыб) велась методом сухой минерализации [5], анализ — на атомно-абсорбционном спектрофотометре «AAS-1» («Carl Zeiss Jena», Германия; аналитик — доктор ветеринарных наук Ю.Г.Грибовский).

Сравнение средних концентраций металлов в рыбе двух видов проводили с использованием *U*-критерия Манна-Уитни, поиск связей между показателями — с помощью корреляционного анализа по Спирмену. 95 %-ные доверительные интервалы для средних значений (95 % ДИ) рассчитывали с помощью процедуры бутстрепа ($n = 9999$). Расчёты выполнены в пакете PAST (v. 2.17c; [6]).

Для выявления наиболее общих закономерностей содержания металлов в тканях рыб данные подвергали процедуре многомерного оптимального шкалирования по алгоритму CATPCA (Categori-

cal Principal Component Analysis), реализованной в пакете SPSS for Windows (v. 15.0., SPSS Inc.) и позволяющей задействовать в анализе главных компонент (АГК) одновременно количественные и качественные показатели [7]. При этом концентрации металлов обрабатывали как количественные переменные с последующим ранжированием, а метки видовой и тканевой принадлежности — как номинальные категории. При выборе числа латентных переменных в анализе руководствовались критериями Кайзера и «сломанного стержня» («broken stick») [8], а для упрощения полученного решения использовали вращение «варимакс» по технологии, описанной в [9]. Графические построения выполнены в пакете KyPlot (v. 2.0 beta 15; [10]).

Во всех случаях результаты признавали статистически значимыми при $p \leq 0,05$, незначимыми — при $p > 0,10$; в промежуточных случаях ($0,05 < p \leq 0,10$) обсуждали тенденции к различиям.

Результаты и их обсуждение

1. Сравнение видов

В таблице 1 представлены результаты сравнения плотвы и окуня по содержанию 9 элементов в тканях, которое было проведено в целях обнаружения видовой специфики накопления металлов.

Таблица 1

Среднее содержание металлов (95 % ДИ) в тканях рыб оз. Чебакуль в 2012 г, мг/кг сух. вещ-ва

Элемент	Мышечная ткань			Костная ткань		
	Плотва (n = 10)	Окунь (n = 10)	U-критерий; p	Плотва (n = 10)	Окунь (n = 10)	U-критерий; p
Cr	3,1 (1,5–4,1)	4,8 (3,8–5,5)	10; 0,001	10,7 (3,5–15,7)	15,9 (5,5–22,1)	27,5; 0,093
Mn	0,46 (0,34–0,57)	0,97 (0,78–1,2)	10; 0,001	7,9 (0,82–13,0)	5,4 (0,56–8,3)	50; >0,999
Fe	9,7 (7,6–11,6)	10,6 (8,1–13,0)	45,5; 0,756	28,2 (21,9–34,1)	39,3 (18,1–53,0)	41; 0,516
Co	2,5 (0,49–3,8)	3,5 (2,4–4,4)	22; 0,035	9,9 (3,6–14,3)	13,5 (4,1–19,5)	35,5; 0,289
Ni	0,64 (0,25–0,99)	0,45 (0,36–0,51)	40; 0,465	1,0 (0,32–1,5)	1,5 (0,51–2,1)	27,5; 0,093
Cu	0,74 (0,62–0,85)	0,91 (0,70–1,1)	37; 0,342	3,5 (0,95–5,1)	4,4 (0,95–6,4)	37; 0,353
Zn	29,6 (23,7–34,8)	33,3 (21,1–42,9)	50; >0,999	86,2 (70,7–99,4)	70,0 (31,9–95,4)	21; 0,029
Cd	0,74 (0,27–1,0)	0,73 (0,60–0,85)	32,5; 0,195	1,8 (0,56–2,8)	2,7 (0,77–3,8)	33; 0,210
Pb	1,0 (0,54–1,4)	1,7 (1,3–2,1)	18; 0,014	3,2 (0,82–4,8)	6,4 (1,1–9,3)	19; 0,019

Примечание. Жирным шрифтом выделены различия при $p < 0,10$.

Для обоих видов было характерно концентрирование всех изученных элементов в костной ткани (на рис. 1 отношение более 1).

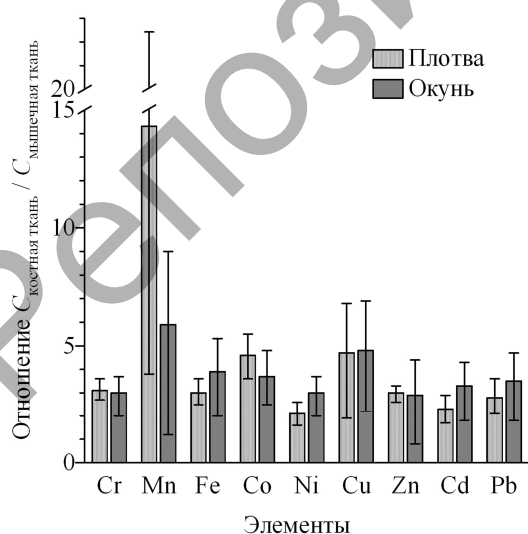


Рисунок 1. Тканевая специфика содержания металлов в рыбе оз. Чебакуль (усы — 95 %-ные доверительные интервалы)

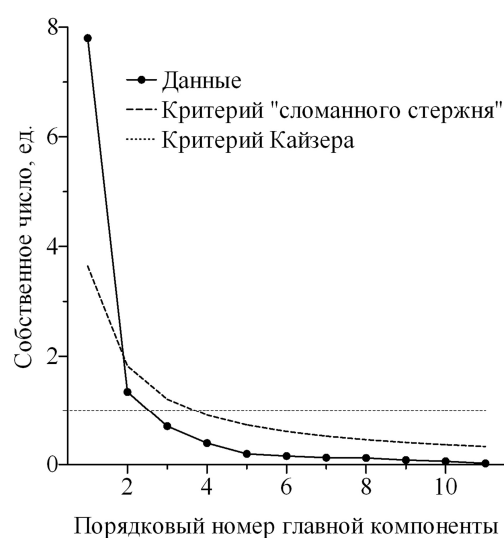


Рисунок 2. График «осыпи Кэттелла» для главных компонент, выделенных в ходе оптимального шкалирования

У окуня в мышечной ткани была обнаружена более высокая концентрация Cr, Mn, Co, Pb, а в костной — Pb и, вероятно, Cr и Ni, для которых различия были близки к статистически значимым. У плотвы наблюдалось только более высокое содержание Zn в костной ткани. Таким образом, общей для обеих тканей особенностью было более высокое накопление окунем Pb и Cr. Известно, что свинец является типичным ксенобиотиком [11], поэтому вполне закономерно, что хищный вид накапливает его в больших количествах. Хром является микроэлементом, для которого у рыб существуют регуляторные механизмы поступления в организм [12]. Обычно он не накапливается, а, напротив, его становится меньше в цепях питания в водоемах, и хищные виды рыб содержат его в меньших концентрациях [13]. Учитывая невысокие концентрации Cr в воде (<0,003 мг/дм³) и донных отложениях (<5 мг/кг сух. вещ-ва) оз. Чебакуль, причины его повышенного содержания у окуня остаются неизвестными.

2. Выявление элементов-ксенобиотиков в ходе оптимального шкалирования

Ранее нами был предложен подход, позволяющий выявлять элементы-ксенобиотики с помощью многомерных ординационных техник типа оптимального шкалирования и анализа избыточности [4]. Суть его заключается в том, что совместный анализ данных, содержащих как концентрации микроэлементов, так и метки потенциальных источников их изменчивости (видовые, тканевые, возрастные различия и т.п.), позволяет специфически «связать» первый набор со вторым. При этом появляется возможность интерпретации как паттернов элементов, задаваемых метками инструментальных переменных, так и остаточной изменчивости, представляющей собой неупорядоченный «шум» концентраций элементов-ксенобиотиков. В попытке выявить вероятные ксенобиотики эта техника была применена к данным по рыбам оз. Чебакуль.

Как видно из рисунка 2, критерий «сломанного стержня» указывал на необходимость выделения одного источника нетривиальной изменчивости, а критерий Кайзера — двух. Однако для решения задачи выделения паттерна ксенобиотиков необходимо, чтобы число латентных переменных, по меньшей мере, на единицу превосходило число инструментальных переменных (виды, ткани). Поэтому в окончательном варианте анализа были оставлены 3 главные компоненты, объясняющие в сумме 89,6 % всей наблюдаемой изменчивости (дисперсии) концентраций элементов.

Т а б л и ц а 2

Факторные нагрузки показателей на нелинейные главные компоненты при совместном анализе видов рыб

Показатели	Главные компоненты		
	ГК 1	ГК 2	ГК 3
Индикаторные переменные			
Вид (плотва — окунь)	-0,003	0,155	0,964
Ткань (мышечная — костная)	0,923	0,241	-0,029
Элементы			
Cr	0,606	0,738	0,251
Mn	0,726	0,570	0,125
Fe	0,847	0,385	0,012
Co	0,637	0,690	0,119
Ni	0,291	0,908	-0,057
Cu	0,839	0,396	0,122
Zn	0,666	0,472	-0,336
Cd	0,371	0,857	0,156
Pb	0,458	0,766	0,353
Доля объясняемой дисперсии, %	40,4	37,3	11,9

Примечание. Жирным шрифтом выделены нагрузки >0,25.

Как видно из таблицы 2, первая главная компонента (ГК 1), объясняющая 40,4 % микроэлементной изменчивости, была сформирована тканевыми различиями. На неё дали высокие положительные нагрузки все 9 элементов, что указывает на рост концентрации всех металлов в направлении от мышечной ткани к костной. Элементами, по которым у обоих видов тканевые различия проявились максимально, были Fe, Cu и Mn, минимально — Cd и Ni. Следует подчеркнуть, что это положение лишь отчасти согласуется с данными таблицы 1 и рисунка 1. Так, по степени концентрирования в костной

ткани относительно мышечной (рис. 1) изученные элементы образуют следующий убывающий ряд: Fe > Cu > Mn > Zn > Co > Cr > Pb > Cd > Ni, в то время как по нагрузке на ГК 1 этот ряд выглядит иначе: Mn > Cu > Co > Fe > Pb > Cr > Zn > Cd > Ni. Причина такого несовпадения кроется в различии способов оценки тканевых различий. При обычном сравнении данные по каждому элементу анализируются отдельно от других, при этом индивидуальная изменчивость не снижает величины самих различий и проявляется только увеличением границ доверительных интервалов. В АГК все элементы анализируются совместно, при этом выделяется паттерн металлов, проявляющих сходные тканевые различия, а индивидуальная изменчивость ослабляет корреляции, что проявляется в снижении величины факторной нагрузки. Именно поэтому вариабельный Mn, по которому ткани различались в 6–14 раз, оказался лишь на третьем месте в паттерне ГК 1. Тем не менее оба рассматриваемых ряда обнаруживают больше сходства, чем различий: наибольшие тканевые различия проявляются по эссенциальным Cu, Mn, Fe, а наименьшие — по ксенобиотическим Cd и Ni. Таким образом, в целом данные по ГК 1 соответствуют данным таблицы 1 и рисунка 1, но представляют их в более обобщённом и очищенном от «шума» случайной изменчивости виде.

Видовые различия микроэлементного состава проявились в ГК 3. Она объясняла всего 11,9 % общей изменчивости, из чего можно заключить, что тканевые различия были в целом в 3,4 раза больше видовых. С положительными нагрузками в неё вошли Pb и Cr, а с отрицательными — Zn, что полностью согласуется с выводом по таблице 1 и обсуждалось выше.

Необъяснённая изменчивость вошла в ГК 2, которая лишь немного уступала по важности компоненте тканевых различий. Из нескольких наборов данных по рыбам из пресноводных водоёмов, проанализированных нами таким образом [4, 14], здесь впервые компонента остаточной изменчивости вобрала в себя все микроэлементы. Это даёт основания предположить, что в условиях повышенной минерализации воды и геохимического фона практически все микроэлементы, включая эссенциальные, ведут себя подобно ксенобиотикам, т.е. не в полной мере контролируются организмом. Тем не менее по значениям факторных нагрузок можно увидеть, что эссенциальные Fe, Cu, Zn, Mn вошли в фактор ксенобиотиков с нагрузками менее 0,5, в то время как Ni, Cd, Pb, Cr, Co — с нагрузками более 0,5. Вероятнее всего, последние 5 элементов и представляют собой собственно ксенобиотики, тем более, что в этом наборе присутствуют 2 паттерна микроэлементов, которые мы наблюдали ранее в других водоёмах.

Первый паттерн включает Ni, Co и Cr. На Урале эти элементы входят в состав широко распространённых здесь продуктов выветривания древних ультраосновных гипербазитовых массивов [15]. В водоёмы данные элементы поступают с почвенной составляющей стоков, и данный паттерн элементов неоднократно обнаруживался нами в ходе анализа почв и донных отложений на территории Челябинской области [16, 17]. Совместное присутствие Pb и Cd в водоёмах маркирует обычно продукты сжигания углеводородов и автотранспортное загрязнение [11]; данный паттерн также обнаруживался нами ранее [18, 19]. Учитывая невысокую техногенную нагрузку на оз. Чебакуль, единственным объяснением наличия данного паттерна в водоёме является местами полное затопление прибрежных территорий вместе с окружающими озеро грунтовыми автодорогами, произошедшее в последние годы в результате высокого подъёма уровня воды. Таким образом, исходя из результатов многомерного анализа, а также предшествующего опыта работы на других уральских водоёмах, наиболее вероятными источниками поступления ксенобиотиков в озеро следует признать природный геохимический фон и автотранспортное загрязнение.

Подводя итог проведённому исследованию, необходимо констатировать высокую информативность многомерного подхода к анализу данных. В ходе одного анализа на малых выборках удалось одновременно выявить те же закономерности тканевой и видовой микроэлементной специфики, что и традиционный анализ, а также выделить группу наиболее вероятных элементов-ксенобиотиков и интерпретировать пути их поступления в водоём. Это в очередной раз доказывает перспективность использования ординационных техник в экологических исследованиях для выявления различных источников микроэлементной изменчивости и разграничения паттернов элементов на преимущественно природные или техногенные.

Список литературы

- 1 Chapman P.M., Allen H.E., Godfredsen K.Z., Graggen M.N. Evaluation of bioaccumulation factors in regulating metals // Environ. Sci. Technol. — 1996. — № 30. — P. 448–452.

- 2 Allen-Gil S.M., Gubala C.P., Landers D.H., Lasorsa B.K., Crecelius E.A., Curtis L.R. Heavy metal accumulation in sediment and freshwater fish in U.S. Arctic lakes // *Environ. Toxicol. and Chem.* — 1997. — Vol. 16. — P. 733–741.
- 3 Сокол Э.В., Нигматулина Е.Н., Нохрин Д.Ю. Пылевая эмиссия хрома из мест складирования шлаков феррохромового производства: на примере окрестностей г. Красногорска, Челябинская область // *Сибирский экологический журнал.* — 2010. — № 6. — С. 851–863.
- 4 Нохрин Д.Ю., Грибовский Ю.Г., Давыдова Н.А. Использование необъясненной изменчивости химического состава организмов для идентификации ксенобиотиков в экологических исследованиях // *Экология.* — 2011. — № 4. — С. 369–375.
- 5 Методические указания по атомно-абсорбционным методам определения токсичных элементов в пищевых продуктах и пищевом сырье. — М.: Гос. ком. санэпид. надзора РФ, 1992. — 27 с.
- 6 Hammer Ø., Harper D.A.T., Ryan P.D. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis // *Palaeontologia Electronica.* — 2001. — № 1. — P. 9.
- 7 Van der Kooij A.J., Meulman J.J. Categorical Principal Components Analysis // *SPPS Categories 10.0 / J.J.Meulman, W.J.Heiser, and SPSS Inc. Eds.* — Chicago: SPSS Inc., 1999. — P. 103–126, 221–237.
- 8 Jackson D.A. Stopping rules in principal component analysis: a comparison of heuristical and statistical approaches // *Ecology.* — 1993. — No. 8. — P. 2204–2214.
- 9 Manisera M., Van der Kooij A.J., Dusseldorp E. Identifying the component structure of satisfaction scales by nonlinear principal components analysis // *Quality technology & quantitative management.* — 2010. — № 2. — P. 97–115.
- 10 Yoshioka K. KyPlot — a user-oriented tool for statistical data analysis and visualization // *Computational Statistics.* — 2002. — No. 3. — P. 425–437.
- 11 Мур Дж.В., Рамамурти С. Тяжелые металлы в природных водах. — М.: Мир, 1987. — 288 с.
- 12 Calamari D., Solbé J.F., Howells G. Report on chromium and freshwater fish // *Water quality for freshwater fish / Ed. by G.Howells.* — Singapore: Gordon and Breach Science Publishers, 1994. — P. 1–30.
- 13 Nriagu J.O., Nieboer E. Chromium in the natural and human environments. — N.-Y.: John Wiley & Sons Inc., 1988. — 571 p.
- 14 Давыдова Н.А., Нохрин Д.Ю., Грибовский Ю.Г. Металлы в рыбе реки Миасс (г. Челябинск) // *Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии.* — 2012. — № 2. — С. 54–59.
- 15 Никеленозные коры выветривания Урала / Под ред. Н.В.Павлова. — М.: Наука, 1970. — 278 с.
- 16 Нохрин Д.Ю., Грибовский Ю.Г. Опыт идентификации происхождения повышенных концентраций тяжелых металлов в объектах окружающей среды (на примере почв г. Челябинска) // *Геохимическая экология и биогеохимическое изучение таксонов биосферы.* — М.: Наука, 2003. — С. 299–302.
- 17 Нохрин Д.Ю., Грибовский Ю.Г., Давыдова Н.А. Подходы к идентификации происхождения тяжелых металлов в донных отложениях и проблемы нормирования на примере двух Уральских водохранилищ ГРЭС // *Водные ресурсы.* — 2008. — № 5. — С. 1–8.
- 18 Нохрин Д.Ю., Грибовский Ю.Г., Давыдова Н.А., Торчицкий А.Н., Хасанова Г.И. Состав и качество воды крупных водохранилищ Челябинской области // *Охрана водных объектов Челябинской области. Современные технологии водопользования: Сб. тезисов обл. науч.-практ. конф. [Электронный ресурс]* — 1 электрон. опт. диск (CD-ROM): зв., цв.; 12 см. — Челябинск: Мин-во по радиац. и экол. безопасности Челяб. обл., 2010. — С. 102–104.
- 19 Нохрин Д.Ю., Грибовский Ю.Г., Сокол Э.В., Давыдова Н.А., Нигматулина Е.Н. Микроэлементный состав донных отложений Магнитогорского водохранилища: методические аспекты и парагенетические ассоциации // *Сибирский экологический журнал.* — 2010. — № 4. — С. 671–680.

Д.Ю.Нохрин

Минералданған су қоймасындағы балықтардың микроэлементтік құрамының түрлілік ерекшеліктері мен өзгергіштік көзі

Челябі облысындағы минералданған көлдегі шабақ пен алабұға балықтарының сүйек және бұлшық ет тінінің химиялық құрамы зерттелді. Басты компоненттерден (nonlinear Principal Component Analysis) сызықсыз талдау әдісімен алынған мәліметтер көпөлшемді қолайлы бөлу барысында CATPCA алгоритмі бойынша металдардың қор ерекшеліктері, сонымен қатар табиғи Ni, Co, Cr және техногендік Pb и Cd жиі ұшырасатын ксенобиотиктер түрлері анықталды.

D.Yu.Nokhrin

Sources of variation and species of the features microelement from mineralized fish pond

The chemical composition of bone and muscle tissue in roach and perch from the mineralized lake of Chelyabinsk region were studied. During the multivariate optimal scaling of the data in the nonlinear Principal Component Analysis, using the algorithm CATPCA, peculiarities of species and tissue specificity of metal accumulation were shown, as well as the most likely pattern of xenobiotics: natural Ni, Co, Cr, and man-made Pb and Cd.

References

- 1 Chapman P.M., Allen H.E., Godtfredsen K.Z., Graggen M.N. *Environ. Sci. Technol.*, 1996, 30, p. 448–452.
- 2 Allen-Gil S.M., Gubala C.P., Landers D.H., Lasorsa B.K., Crecelius E.A., Curtis L.R. *Environ. Toxicol. and Chem.*, 1997, 16, p. 733–741.
- 3 Falcon E.V., Nigmatullin E.N., Nokhrin D.Yu. *Siberian ecological magazine*, 2010, 6, p. 851–863.
- 4 Nokhrin D.Yu., Gribovsky Yu.G., Davydova N.A. *Ecology*, 2011, 4, p. 369–375.
- 5 *Methodical instructions on nuclear and absorbing methods of definition of toxic elements in foodstuff and food raw materials*, Moscow: State. lump. sanitary station. supervision of the Russian Federation, 1992, 27 p.
- 6 Hammer Ø., Harper D.A.T., Ryan P.D. *Palaeontologia Electronica*, 2001, 1, p. 9.
- 7 Van der Kooij A.J., Meulman J.J. *SPPS Categories 10.0*, Chicago: SPSS Inc., 1999, p. 103–126, 221–237.
- 8 Jackson D.A. *Ecology*, 1993, 8, p. 2204–2214.
- 9 Manisera M., Van der Kooij A.J., Dusseldorp E. *Quality technology & quantitative management*, 2010, 2, p. 97–115.
- 10 Yoshioka K. *Computational Statistics*, 2002, 3, p. 425–437.
- 11 Moore J.V., Ramamurti S. *Heavy metals in natural waters*, Moscow: Mir, 1987, 288 p.
- 12 Calamari D., Solbé J.F., Howells G. *Water quality for freshwater fish*, Singapore: Gordon and Breach Science Publishers, 1994, p. 1–30.
- 13 Nriagu J.O., Nieboer E. *Chromium in the natural and human environments*, N.-Y.: John Wiley & Sons Inc., 1988, 571 p.
- 14 Davydova N.A., Nokhrin D.Yu., Gribovsky Yu.G. *Problems of veterinary sanitation, hygiene and ecology*, 2012, 2, p. 54–59.
- 15 *Nickel-bearing weathering crust of the Urals*, Ed. by N.V.Pavlov, Moscow: Nauka, 1970, 278 p.
- 16 Nokhrin D.Yu., Gribovsky Yu.G. *Geochemical ecology and biogeochemical studying taxson of biospheres*, Moscow: Nauka, 2003. — P. 299–302.
- 17 Nokhrin D.Yu., Gribovsky Yu.G., Davydova N.A. *Water resources*, 2008, 5, p. 1–8.
- 18 Nokhrin D.Yu., Gribovsky Yu.G., Davydova N.A., Torchitsky A.N., Khasanova G.I. *Protection of water objects of Chelyabinsk region. Modern technologies of water use: Region scientific-pract. conf. Proc.*, Chelyabinsk: Ministry of radiation and ecological safety, 2010, p. 102–104.
- 19 Nokhrin D.Yu., Gribovskiy Yu.G., Sokol E.V., Davydova N.A., Nigmatulina E.N. *Siberian ecological magazine*, 2010, 4, p. 671–680.