

УДК 539.16+57.044:582.284

НАКОПЛЕНИЕ ТЕХНОГЕННЫХ РАДИОНУКЛИДОВ РАЗНЫМИ ВИДАМИ МАКРОМИЦЕТОВ В ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ

© 2013 Д.В. Дементьев, Н.С. Мануковский, А.Я. Болсуновский, Ю.В. Александрова

Институт биофизики СО РАН, Красноярск

Поступила в редакцию 17.05.2013

В работе исследовали накопление техногенных радионуклидов, в том числе трансурановых, в мицелии и плодовых телах макромицетов в лабораторных условиях. Получена высокая степень аккумуляции ^{241}Am из раствора мицелием грибов *Pleurotus ostreatus* и *Neonothopanus nambi* в лабораторных условиях. В биомассу мицелия данных видов переходило 85-97% ^{241}Am от общего содержания в культивационной среде. В плодовых телах *Pleurotus ostreatus*, выращенных на субстрате из пойменных почв и донных отложений р. Енисей, загрязнённых техногенными радионуклидами, регистрировался только ^{137}Cs . Коэффициент накопления (КН) ^{137}Cs для плодовых тел грибов, выращенных на субстрате из донных отложений, на порядок выше КН ^{137}Cs для плодовых тел, выращенных на почвенном субстрате, что может объясняться различной долей биодоступного цезия.

Ключевые слова: грибы, мицелий, радионуклиды, коэффициент накопления, почва, донные отложения

Наземные экосистемы планеты в результате интенсивного использования делящихся материалов загрязнены техногенными радионуклидами. В связи с этим радиоэкологические исследования территорий вокруг предприятий ЯТЦ и их ремедиация как никогда актуальны. В пойменных почвах р. Енисей, на правом берегу которого расположен Горно-химический комбинат (ГХК) Росатома, регистрируется широкий перечень техногенных радионуклидов, в том числе трансурановых, которые могут накапливаться живыми организмами. Макромицеты способны накапливать техногенные радионуклиды и тяжёлые металлы на порядки больше, чем растения и, следовательно, грибы можно использовать для биоремедиации загрязнённых территорий [5, 11].

Цель работы: исследование накопления техногенных радионуклидов, в том числе трансурановых, в мицелии и плодовых телах макромицетов в лабораторных условиях.

Дементьев Дмитрий Владимирович, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории радиоэкологии. E-mail: dementyev@gmail.com

Мануковский Николай Сергеевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории управления биосинтезом фототрофов. E-mail: mana49@mail.ru

Болсуновский Александр Яковлевич, доктор биологических наук, заведующий лабораторией радиоэкологии. E-mail: radecol@ibp.ru

Александрова Юлия Владимировна, ведущий инженер лаборатории радиоэкологии. E-mail: yuliyana_aleksandrova@mail.ru

Материалы и методы. Накопление техногенных радионуклидов макромицетами изучали в два этапа. На первом этапе объектами исследования накопления ^{241}Am мицелием, культивируемым на жидком субстрате, были взяты виды: шампиньон (*Agaricus bisporus*), вешенка (*Pleurotus ostreatus*) и гриб *Neonothopanus nambi*. Для каждого вида готовили жидкие среды объёмом по 100 мл с тремя вариантами активности ^{241}Am (100, 200 и 400 Бк/л) и контрольный опыт без ^{241}Am . В раствор инокулировали зерновой мицелий и инкубировали в термостате 14-30 дней при температуре 25°C. Содержание ^{241}Am в приготовленных пробах определяли на сцинтилляционном γ -счётчике Wallac Wizard 1480 (PerkinElmer, Финляндия). На втором этапе для оценки накопления техногенных радионуклидов из загрязнённых почв и донных отложений поймы р. Енисей в лабораторных условиях были проведены эксперименты по культивированию вида *Pleurotus ostreatus*. Работы проводились с двумя вариантами субстрата: 1) на основе пойменной почвы и целлюлозы и 2) донных отложений и целлюлозы в соотношении 1:1 по сухой массе. Удельная активность (на сухую массу) техногенных радионуклидов в подготовленных субстратах приведена в табл. 1.

Подготовленные почвоподобные субстраты (в трёх повторностях) укладывали в пластиковые банки и стерилизовали в термостате при 70°C в течение 5 ч. Затем в субстрат инокулировали зерновой мицелий и инкубировали в термостате 14 дней при температуре 27°C. После

разрастания мицелия в субстрате для стимуляции плодоношения банки помещали во влажную климатическую камеру с температурой 16-18°C и относительной влажностью 95-99%. Через 30 дней после инокулирования мицелия в субстрат были получены плодовые тела *Pleurotus ostreatus*.

Таблица 1. Содержание радионуклидов в почвоподобном субстрате, Бк/кг

	Co-60	Cs-137	Eu-152
Почва+целлюлоза	4,4	2900	27
Д/о+целлюлоза	45	170	260

Для определения содержания техногенных радионуклидов плодовые тела были высушены. Удельную активность γ -излучающих радионуклидов в подготовленных навесках определяли на γ -спектрометре Canberra (США) с полупроводниковым германиевым детектором. Для оценки накопления радионуклидов в макромицетах из субстрата рассчитывали коэффициент накопления (КН), который равен отношению удельной активности радионуклида в биомассе макромицета к удельной активности радионуклида в субстрате в конце эксперимента.

Накопление трансуранового радионуклида мицелием из жидкого субстрата. Проведенные лабораторные эксперименты по культивированию грибного мицелия на жидкой среде с внесённым ^{241}Am показали высокую степень накопления радионуклида. Для двух видов грибов *Pleurotus ostreatus* и *Neonothopanus nambi* удельная активность ^{241}Am , накопленного в мицелии, линейно возрастала с увеличением его концентрации в среде (табл. 2). В ходе экспериментов в биомассу грибов переходило 85-97% ^{241}Am от общего содержания в культивационном растворе. Мицелий *Agaricus bisporus* плохо развивался на жидкой среде, и для него были получены недостоверные данные по накоплению ^{241}Am . Рассчитанные коэффициенты накопления ^{241}Am мицелием *N. nambi* из культивационного раствора в конце эксперимента (табл. 2) достигали 2000 л/г и были выше, чем для *P. ostreatus*.

Таблица 2. Удельная активность и КН ^{241}Am в сырой биомассе мицелия

Вид	Внесено, Бк/л	Биомасса, Бк/г	КН, л/г
<i>Pleurotus ostreatus</i>	100	1,2	67
	200	2,6	120
	400	3,9	63
<i>Neonothopanus nambi</i>	100	1,9	260
	200	4,3	2000
	400	14	230

В настоящее время в пойменных почвах и донных отложениях р. Енисей ниже по течению от ГХК, кроме активационных радионуклидов и продуктов деления, содержатся изотопы трансурановых элементов: ^{238}Pu , $^{239,240}\text{Pu}$, ^{241}Am и $^{243,244}\text{Cm}$ [4]. Для трансурановых радионуклидов, которые являются новыми для биосферы, отсутствуют стабильные изотопы. Вместе с тем, как видно из проведенных экспериментов, а также из работ других авторов [1, 2, 8] трансурановые элементы накапливаются в биомассе живых организмов. С учётом того, что поступление техногенных радионуклидов в экосистему р. Енисей происходит с жидкими сбросами, полученная высокая степень аккумуляции ^{241}Am в лабораторных условиях позволяет использовать биомассу макромицетов для биоремедиации загрязнённых растворов. Ранее разными авторами была отмечена возможность использования грибов как биоиндикаторов загрязнения трансурановыми радионуклидами [2], так и с целью биоремедиации [5, 8, 9, 11].

Накопление техногенных радионуклидов макромицетами из почвоподобного субстрата. В лабораторных условиях на почвоподобном субстрате, содержащем техногенные радионуклиды, были выращены плодовые тела *Pleurotus ostreatus*. В ходе эксперимента плодоношение *P. ostreatus* продолжалось 60 дней в несколько этапов (волн) с уменьшением урожайности в каждой волне по мере потребления питательных веществ из субстрата и старения мицелия (рис. 1). Полученная к концу эксперимента общая биомасса плодовых тел на субстрате из почвы и донных отложений практически не отличалась и составила 12,4 г и 11,2 г сухой массы, соответственно. По результатам γ -спектрометрического анализа в плодовых телах *P. ostreatus* содержался ^{137}Cs в обоих вариантах субстрата (рис. 2). Для почвы и донных отложений характерно увеличение удельной активности ^{137}Cs в плодовых телах грибов от первого к третьему урожаю, в то время как урожайность к третьей волне наоборот падала (рис. 1). Это может быть объяснено тем, что мицелий грибов в процессе питания выделяет экзоферменты для расщепления питательных веществ в субстрате [12] и, таким образом, доля биодоступного цезия со временем может возрастать. В донных отложениях содержание ^{152}Eu было выше содержания ^{137}Cs (табл. 1), однако в грибах он не регистрировался. В плодовых телах, полученных на донных отложениях, был зарегистрирован ^{60}Co на пределе обнаружения (10 Бк/кг).

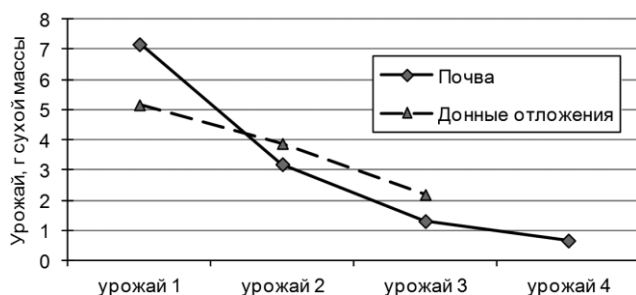


Рис. 1. Урожайность плодовых тел *Pleurotus ostreatus* в эксперименте на субстратах из почвы и донных отложений

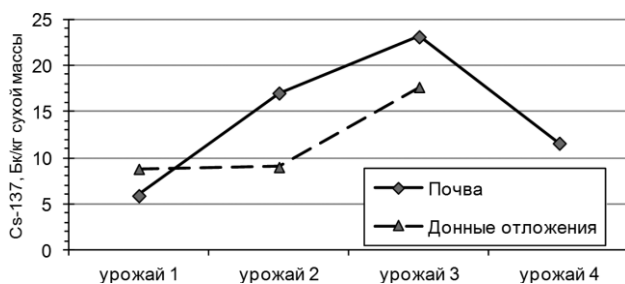


Рис. 2. Удельная активность ¹³⁷Cs в плодовых телах *Pleurotus ostreatus* на субстратах из почвы и донных отложений

Характер изменения рассчитанных коэффициентов накопления (КН) ¹³⁷Cs плодовыми телами *P. ostreatus* на разных субстратах частично повторяет изменения удельной активности ¹³⁷Cs в грибах. Однако сами значения КН ¹³⁷Cs для грибов, выращенных на разных субстратах, значительно отличаются (рис. 3). КН ¹³⁷Cs для грибов, выращенных на субстрате на основе донных отложений, возрастает от первого к третьему урожаю с 0,05 до 0,1. КН ¹³⁷Cs для грибов, выращенных на субстрате на основе почвы, возрастает от 0,002 до 0,008, что на порядок ниже, чем для варианта с донными отложениями. Такое отличие значений КН для разных субстратов может быть вызвано различной биодоступностью ¹³⁷Cs в почве и донных отложениях. Для проверки данного предположения было проведено последовательное химическое фракционирование почвы и донных отложений по схеме, описанной в работе [3]. По содержанию ¹³⁷Cs в получившемся нерастворённом остатке после фракционирования можно оценить потенциальную биодоступность ¹³⁷Cs для живых организмов. Доля ¹³⁷Cs в нерастворённом остатке после фракционирования образцов пойменной почвы р. Енисей составила 94%, в донных отложениях – 82%, и, следовательно, потенциальная биодоступность ¹³⁷Cs в почве 6%, в донных отложениях 18%. Известно, что межвидовые вариации накопления радионуклидов в плодовых телах грибов могут достигать нескольких порядков [6, 7], также накопление радионуклидов может

значительно меняться для одного вида в зависимости от условий произрастания. В наших экспериментах с почвоподобными субстратами максимальный КН ¹³⁷Cs существенно меньше единицы, то есть отсутствует аккумуляция радионуклида в плодовых телах грибов. В дальнейшем планируется расширить перечень видов грибов и оптимизировать условия их выращивания для получения более высоких значений КН техногенных радионуклидов. Так, в работах по биоремедиации территорий с помощью растений показано, что добавление в почву лимонной кислоты может увеличивать накопление урана в растениях на два порядка, а введение аммония увеличивает накопление цезия до двух раз [10].

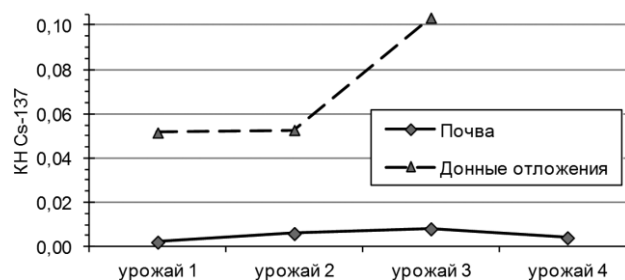


Рис. 3. Коэффициент накопления ¹³⁷Cs в плодовых телах *Pleurotus ostreatus* на субстратах из почвы и донных отложений

Выводы: получена высокая степень аккумуляции ²⁴¹Am из раствора мицелием грибов *P. ostreatus* и *N. nambi* в лабораторных условиях. В биомассу мицелия данных видов переходило 85-97% ²⁴¹Am от общего содержания в культивационной среде, коэффициент накопления (КН) ²⁴¹Am достигал 2000 л/г, что позволяет использовать данные виды для биоремедиации загрязнённых радионуклидами растворов. В лабораторных экспериментах по выращиванию вида *P. ostreatus* на субстрате из пойменных почв и донных отложений р. Енисей, загрязнённых техногенными радионуклидами, в плодовых телах достоверно регистрировался только ¹³⁷Cs. Коэффициент накопления ¹³⁷Cs для плодовых тел грибов, выращенных на субстрате из донных отложений (0,05-0,1) на порядок выше КН ¹³⁷Cs для плодовых тел, выращенных на почвенном субстрате (0,002-0,008), что вызвано различной биодоступностью ¹³⁷Cs в почве и донных отложениях.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 12-04-00915.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Зотина, Т.А. Накопление ²⁴¹Am карасем серебряным из пищи и воды / Т.А. Зотина, Е.А. Трофимова, Д.В. Дементьев, А.Я. Болсуновский // Доклады академии наук. 2011. Т. 439. № 5. С. 708-712.

2. Baeza, A. Soil-to-fungi transfer of ^{90}Sr , $^{239+240}\text{Pu}$, and ^{241}Am / A. Baeza, J. Guillen, J.W. Mietelski, P. Gaca // *Radiochim. Acta*. 2006. No. 94. P. 75-80.
3. Bolsunovsky, A. Actinides and other radionuclides in sediments and submerged plants of the Yenisei River / A. Bolsunovsky, L. Bondareva // *J. Alloy. Compd.* 2007. No. 444-445. P. 495-499.
4. Bolsunovsky, A. New data on transuranium elements in the ecosystem of the Yenisei River floodplain / A. Bolsunovsky, A. Ermakov, A. Sobolev // *Radiochim. Acta*. 2007. No. 95(9). P. 547-552.
5. Bystrzejewska-Piotrowska, G. Pilot Study of Bioaccumulation and Distribution of Cesium, Potassium, Sodium and Calcium in King Oyster Mushroom (*Pleurotus Eryngii*) Grown Under Controlled Conditions / G. Bystrzejewska-Piotrowska, D. Pianka, M.A. Bazala et al. // *International Journal of Phytoremediation*. 2008. Vol. 10. P. 503-514.
6. Dementyev, D.V. Accumulation of artificial radionuclides by edible wild mushrooms and berries in the forests of the central part of the Krasnoyarskii Krai / D.V. Dementyev, A.Ya. Bolsunovsky // *Radioprotection*. 2009. Vol. 44, No. 5. P. 115-120.
7. Gillett, A.G. A review of ^{137}Cs transfer to fungi and consequences for modelling environmental transfer / A.G. Gillett, N.M.J. Crout // *J. Environ. Radioactivity*. 2000. Vol. 48. P. 95-121.
8. Liu, N. Biosorption of ^{241}Am by *Rhizopus arrhizus*: preliminary investigation and evaluation / N. Liu, Yu. Yang, Sh. Luo et al. // *Appl. Radiat. Isotopes*. 2002, No. 57. P. 139-143.
9. Liu, N. Biosorption of ^{241}Am by *Saccharomyces cerevisiae*: Preliminary investigation on mechanism / N. Liu, J. Liao, Yu. Yang et al. // *J. Radioanal. Nucl. Chem*. 2008. Vol. 275, No. 1. P. 173-180.
10. Morel, J.-L. Phytoremediation of Metal-Contaminated Soils / J.-L. Morel et al. – Springer. 2006. 356 p.
11. Steiner, M. The role of fungi in the transfer and cycling of radionuclides in forest ecosystems / M. Steiner, I. Linkov, S. Yoshida // *J. Environ. Radioact.* 2002. Vol. 58. P. 217-241.
12. Gow, N.A.R. The Growing Fungus / N.A.R. Gow, M.G. Gadd (eds.). – Chapman & Hall, 1995. 473 p.

ACCUMULATION OF TECHNOGENIC RADIONUCLIDES BY DIFFERENT TYPES OF MACROMYCETES *IN VITRO*

© 2013 D.V. Dementyev, N.S. Manukovskiy, A.Ya. Bolsunovskiy, Yu.V. Aleksandrova

Institute of Biophysics SB RAS, Krasnoyarsk

In work investigated accumulation of technogenic radionuclides, including transuranium, in a mycelium and fruit bodies of macromycetes *in vitro*. High extent of accumulation ^{241}Am from solution by a mycelium of *Pleurotus ostreatus* and *Neonothopanus nambi* fungus *in vitro* is received. To a biomass of mycelium of these types passed 85-97% ^{241}Am from the general contents in cultivate medium. In fruit bodies of *Pleurotus ostreatus* which have been grown up on a substratum from inundated soils and ground deposits of Enisey River, polluted by technogenic radionuclides, was registered only ^{137}Cs . The accumulation coefficient (AC) of ^{137}Cs for fruit bodies of fungus, which have been grown up on a substratum from ground deposits, 10 times more, than AC of ^{137}Cs for the fruit bodies, which have been grown up on a soil substratum, that can speak a various share of bioavailable Cs.

Key words: *fungus, mycelium, radionuclides, accumulation coefficient, soil, ground deposits*

Dmitriy Dementyev, Candidate of Biology, Research Fellow at the Radioecology Laboratory. E-mail: dementyev@gmail.com

Nikolay Mabukovskiy, Candidate of Biology, Senior Research Fellow at the Laboratory of Controlled Biosynthesis of Phototrophs. E-mail: mana49@mail.ru

Alexander Bolsunovskiy, Doctor of Biology, Chief of the Radioecology Laboratory. E-mail: radecol@ibp.ru

Yuliana Alexandrova, Leading Engineer at the Radioecology Laboratory. E-mail: yuliyana_aleksandrova@mail.ru