

*На правах рукописи*

*Скребнева*

**СКРЕБНЕВА ЛЮДМИЛА АНАТОЛЬЕВНА**

**ОЦЕНКА ЗАКОНОМЕРНОСТЕЙ НАКОПЛЕНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ  
В МЕДОНОСНЫХ ПЧЕЛАХ И ПРОДУКТАХ ПЧЕЛОВОДСТВА  
ДЛЯ РАЗРАБОТКИ БИОИНДИКАЦИОННЫХ КРИТЕРИЕВ  
ЗАГРЯЗНЕНИЯ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА**

Специальность 03.02.08 – экология (биология)

**Автореферат**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

**Тольятти – 2016**

Диссертационная работа выполнена в отделе «Лакпам»  
научно-производственного центра и на кафедре прикладной экологии  
Института экологии и природопользования ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский)  
федеральный университет»

#### **Научные**

**руководители:** **Билалов Фарид Сабирович**, кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник научно-производственного центра Института экологии и природопользования ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»;  
**Латыпова Венера Зиннатовна**, доктор химических наук, профессор, член-корреспондент АН РТ, профессор кафедры прикладной экологии Института экологии и природопользования ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»

#### **Официальные оппоненты:**

**Голуб Виктор Борисович**, доктор биологических наук, профессор кафедры экологии и систематики беспозвоночных животных Воронежского государственного университета;  
**Аникин Василий Викторович**, доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры экологии и морфологии животных Саратовского государственного университета им. Н.Г. Чернышевского

#### **Ведущая**

**организация:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Нижегородский государственный университет имени Н.И. Лобачевского» (национальный исследовательский университет)

Защита состоится **26 мая 2016 г. в 14.00 ч.** на заседании диссертационного совета Д 002.251.02 при Институте экологии Волжского бассейна РАН по адресу: 445003, Самарская обл., г. Тольятти, ул. Комзина, 10.

Телефон +7(8482)489977, тел./факс: +7(8482)489504 E-mail: ievbras2005@mail.ru

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Института экологии Волжского бассейна РАН (ievbras.ru) и на сайте ВАК.

Автореферат разослан «\_\_\_» марта 2016 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета



А.Л. Маленев

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность.** Определение уровня накопления поллютантов биологическими объектами, в том числе насекомыми, является важнейшей составляющей биологической индикации состояния окружающей среды. Наиболее приоритетными являются поллютанты антропогенного происхождения, среди которых доминируют тяжелые металлы (ТМ) в связи с их важной ролью в жизнедеятельности организмов и высокой миграционной способностью в окружающей среде. Как микроэлементы, ТМ входят в состав ферментов – биокатализаторов и регуляторов наиболее важных физиологических процессов, но в высоких концентрациях токсичны для живых организмов. Возможность аккумуляции в клетках живых организмов обусловлена их способностью к образованию стойких комплексов органических соединений. Фундаментальным отличием ТМ от других поллютантов является то, что они не разлагаются и сохраняются в экосистемах, перераспределяясь в процессах миграции в биотических и абиотических компонентах и накапливаясь по трофическим цепям.

Возрастающий интерес для решения задач биологического мониторинга наземных экосистем имеет апимониторинг, обеспечивающий охват больших территорий. Термин «Апимониторинг» впервые был предложен в 1990 году (Билалов и др., 1990) и определен как биологический мониторинг с использованием биоиндикации на основе характеристик функционирования пчелиных семей и показателей накопления загрязняющих веществ в организме пчел и продуктах пчеловодства. Широкий ареал распространения медоносной пчелы (*Apis mellifera* L.), некоторые особенности функционирования пчелиных семей (прежде всего известный рабочий радиус лета), а также непосредственное отношение к человеку и сельскохозяйственному производству делает пчел и продукты пчеловодства чрезвычайно удобными и экономичными объектами исследования.

В значительной степени изучены закономерности аккумуляции в продуктах пчеловодства (прежде всего в меде), в связи с их важностью для здоровья человека (Altmann, 1985; Jones, 1987; Celli et al., 1988; Билалов и др., 1990, 1991а, 1991б; Лебедев, Мурашова, 2003; Русакова и др., 2001, 2006; Gallina et al., 2005; Raeymaekers, 2006; Garcia et al., 2006; Bogdanov, 1989, 2006; Bogdanov et al., 2003, 2007; Билалов и др., 2010). До настоящего времени нет единого мнения в отношении возможности использования меда в качестве биоиндикатора, по-видимому, во многом это связано с низкими значениями обнаруживаемых концентраций и их сильной вариабельностью в зависимости от ботанического происхождения. Так, ряд исследователей считают мед непригодным для этих целей (Jones, 1987; Bogdanov, 1989; Bogdanov et al., 2003, 2007; Максимов, 1998; Лебедев, Мурашова, 2003; Русакова и др., 2006), в то время как другие авторы придерживаются противоположной точки зрения (Bornus, 1975; Altmann, 1985; Voget, 1989; Mercuri, Porrini, 1991; Leita et al., 1996).

Имеется небольшое количество публикаций (Höffel, Müller, 1983, 1985; Leita et al. 1996; Conti, Botre, 2001; Porrini et al., 2003; Лебедев, Мурашова, 2003; Еськова и др., 2007, 2008; Zhelyazkova et al., 2004, 2012), свидетельствующих о накоплении ТМ в тканях пчел. Несмотря на то, что пчелы признаны большинством авторов наиболее показательным биологическим объектом для контроля загрязнения территорий ТМ, в литературе практически отсутствует информация о различиях в их накоплении особями различных категорий рабочих пчел, либо она крайне противоречива, что может быть результатом определенных методических и технических трудностей при отборе образцов в сравнении с более простой процедурой отбора продуктов пчеловодства.

**Целью** данной работы было обоснование алгоритма проведения апимониторинга, выявление закономерностей накопления ТМ в медоносных пчелах (*Apis mellifera* L.) различных сезонных генераций и функционально-возрастных групп, а также в продуктах пчеловодства (меде и перге) для разработки биоиндикационных критериев уровня загрязнения атмосферного воздуха.

В соответствии с целью работы были поставлены следующие **задачи**:

1. Определить содержание ТМ в образцах пчел трех сезонных генераций (зимних, летних и осенних) и продуктах пчеловодства (меде и перге) на территории Республики Татарстан (РТ) и Приволжского федерального округа (ПФО).
2. Выявить закономерности аккумуляции ТМ в образцах пчел и продуктах пчеловодства, отобранных в районах с различной степенью антропогенного загрязнения и определить биоиндикационную значимость пчел и продуктов пчеловодства.
3. Выявить различие ассоциаций ТМ, характерных для пчел, обитающих в фоновых и загрязненных районах, для оценки микроэлементного баланса в организме пчел в зонах экологической напряженности.
4. Провести сравнительный анализ содержания ТМ в пчелах различных функционально-возрастных групп (внутриульевых и фуражирующих), отобранных из одного местообитания.
5. Обосновать алгоритм проведения полевых исследований в ходе апимониторинга ТМ.
6. Обосновать информативные биоиндикационные критерии на основе выявленных закономерностей накопления ТМ в исследуемых объектах для адекватной оценки уровня загрязнения атмосферного воздуха.

#### **Научная новизна работы.**

На основе результатов систематического многолетнего мониторинга содержания ТМ (Cd, Pb, Ni, Cr, Co, Cu, Zn, Mn, Fe) в образцах медоносных пчел (*Apis mellifera* L.), отобранных на территории РТ и ПФО, обоснован алгоритм проведения полевых исследований, позволяющий поэтапно снижать влияние физиологических особенностей организма пчел, особенностей функционирования пчелиных семей и геохимических факторов на интерпретацию результатов апимониторинга. Установлена зависимость содержания данных элементов в организме пчел от сезона отбора образцов и принадлежности к функционально-возрастной группе.

Впервые с использованием методов математической статистики на основе полученной совокупности данных показано, что содержание ТМ в организме пчел зимней генерации превышает характерное для пчел летне-осенней генерации; в рамках летней генерации пчел наибольшее содержание выявлено для фуражирующих пчел в сравнении с внутриульевыми.

Сравнительный анализ обнаруженных парных ассоциаций элементов, характерных для организма пчел, обитающих в фоновых и загрязненных районах, выявил нарушение естественного баланса микроэлементов в условиях антропогенного воздействия.

Впервые научно обоснован приведенный биоиндикационный показатель для оценки уровня загрязнения атмосферного воздуха водорастворимыми формами ТМ, не зависящий от геохимических особенностей региона, ботанического происхождения потребляемого пчелами корма (нектара и пыльцы) и расовой принадлежности медоносных пчел, опробованный на примере некоторых пчеловодных хозяйств РТ.

### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Разработанный в работе алгоритм, характеризующий совокупность и последовательность этапов апимониторинга, позволяет обеспечить надежность информации о закономерностях накопления ТМ в организме медоносных пчел.
2. Абсолютное содержание ТМ в организме медоносных пчел (*Apis mellifera* L.) зависит от принадлежности к сезонной генерации (зимней, летней, осенней) и функционально-возрастной группе (внутриульевых и фуражирующих) и не может в явном виде использоваться для целей биоиндикации.
3. Содержание ТМ в организме пчел зимней генерации превышает характерное для пчел летне-осенней генерации; в рамках летней генерации пчел наибольшее содержание выявлено для фуражирующих пчел в сравнении с внутриульевыми.
4. Приведение содержания химического элемента в образце фуражирующих пчел относительно его содержания в образце внутриульевых пчел для исключения влияния физиологических особенностей обеспечивает получение биоиндикационного показателя загрязнения атмосферного воздуха ТМ и повышает его информативность в сравнении с абсолютным содержанием химического элемента в образце объекта.

**Практическая значимость.** Результаты исследований переданы в ГБУ «Управление по пчеловодству» для использования и развертывания системы апимониторинга на территории Республики Татарстан. Материалы исследований, выполненных в рамках государственного задания, переданы в Департамент развития приоритетных направлений науки и технологий Министерства образования и науки Российской Федерации (Номер государственной регистрации НИР 01201158145; 01201259648; 01201364020).

Материалы диссертационной работы используются в учебном процессе Казанского (Приволжского) федерального университета при чтении курсов «Экологический мониторинг», «Апимониторинг», «Методы физико-химического мониторинга» и «Методы биоиндикации» для студентов по специальности 020801 Экология и бакалавров по направлению 05.03.06 Экология и природопользование.

Материалы ряда разделов защищены патентом (Пат. РФ 2428716 РФ).

**Апробация работы.** Результаты работы представлены и обсуждены на Всесоюзной научной конференции «Экологические проблемы охраны живой природы» (Москва, 1990), на Всесоюзной конференции «Экологические проблемы фармакологии и токсикологии» (Казань, 1990), Международной научно-практической конференции «Биотехнология: токсикологическая, радиационная и биологическая безопасность» (Казань, 2010), на итоговой научной конференции КФУ (Казань, 2011), Международной научно-практической конференции «Биотехнологии в решении экологических проблем природы, общества и человека в Евразии: взгляд молодых ученых и специалистов» (Казань, 2013), Второй Всероссийской научной конференции с международным участием «Окружающая среда и устойчивое развитие регионов» (Казань, 2013), на XXXXIII Международном конгрессе Апимондии (Киев, 2013) и Международном научном форуме «Бутлеровское наследие – 2015» (Казань, 2015).

**Публикации.** Материалы диссертации изложены в 18 научных публикациях, в том числе - 5 статей, опубликованных в журналах из списка ВАК, коллективная монография, 1 статья в журнале, включенная в базу цитирования Scopus и патент РФ на изобретение.

**Структура и объем работы.** Диссертационная работа состоит из Введения, 3-х глав, Выводов, Списка использованной литературы и Приложений. Объем работы составляет 158 страниц машинописного текста, включает 32 таблицы, 36 рисунков.

Список литературы включает 148 наименований, в том числе 57 работ иностранных авторов.

**Личный вклад автора.** Постановка задач исследования. Аналитический обзор литературы. Участие в ежегодных отборах образцов в течение сезона летной активности пчел. Подготовка образцов биологических материалов для элементного анализа (высушивание, озоление, экстракция). Статистическая обработка полученных результатов, их обобщение и интерпретация, участие в написании статей, формулировке выводов.

**Благодарности.** Автор приносит глубокую благодарность своим научным руководителям к.ф.-м.н. Билалову Ф.С. и д.х.н, профессору Латыповой В.З.; сотрудникам КФУ (д.б.н. Мукминову М.Н., к. б. н. Мухарамовой С.С., к.г.н. Никитину О.В., к.ф.-м.н. Григорьевой И.С.) и профессору Поволжского государственного технологического университета (г. Йошкар-Ола) д.б.н. Колупаеву Б.И. за полезные обсуждения, а также сотрудникам Института проблем экологии и недропользования АН РТ к.б.н. Сибгатуллиной М.Ш. и к.б.н. Иванову Д.В. за помощь в проведении анализов образцов методом атомно-абсорбционной спектроскопии.

## **ГЛАВА 1 СОСТОЯНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ В ОБЛАСТИ КОНТРОЛЯ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПОКАЗАТЕЛЕЙ НАКОПЛЕНИЯ В БЕСПОЗВОНОЧНЫХ ОРГАНИЗМАХ (Обзор литературы)**

Обзор литературы посвящен рассмотрению экологической значимости медоносных пчел вида *Apis mellifera* L. как важнейшего звена наземных экосистем, повреждение которого может привести к нарушению их функционирования; вопросам аккумуляционной биоиндикации с использованием беспозвоночных животных; особенностям аккумуляции ТМ в организме медоносных пчел; характеристике соответствия медоносных пчел основным биоиндикационным критериям. Проанализировано современное состояние исследований в области контроля загрязнения окружающей среды с использованием показателей накопления в организме медоносных пчел и продуктах пчеловодства для оценки уровня загрязнения наземных экосистем. Обоснована постановка задач исследования.

## **ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **2.1 Характеристика района исследования**

Отбор образцов осуществляли в 2008–2012 гг. на 42 пасеках РТ и прилегающих территорий ПФО (Кировской, Самарской областей и Республики Марий Эл) (рисунок 1), в районах, различных по уровню антропогенного воздействия: в загрязненных районах и фоновых (условно чистых) районах, удаленных от городов на расстояние более 30 километров и от крупных автомагистралей на расстояние более 10 километров. Выбор местоположения контрольных пасек осуществлялся с учетом того, что активный радиус лета пчел составляет в среднем 2–3 км и редко превышает 5 км. Исследования по выявлению различий в закономерностях аккумуляции пчелами различных функциональных групп проводили на пасеке в п. Рудник Верхнеуслонского района. Поселок расположен на правом берегу Волги, напротив устья Свияги. Расстояние до Казанского промузла по прямой через Волгу составляет 15 км; до г. Зеленодольск – 14 км; до автомобильной магистрали федерального значения (М7) – 7 км; до трассы Казань – Ульяновск (Р241) – 13 км. От магистрали пасека отделена лиственным лесом, а также

остепенными склонами и сельскохозяйственными полями. Апробация методического подхода оценки уровня загрязнения атмосферного воздуха проводилась на примере ряда пасек, расположенных в некоторых районах РТ, различающихся по уровню антропогенного загрязнения.

## 2.2 Материалы и методы исследования

2.2.1 Отбор образцов. На пасеках из колоний медоносных пчел отбирали образцы пчел различных сезонных генераций (зимние, летние, осенние): внутриульевые и смешанные (внутриульевые и фуражирующие), отдельно внутриульевые и фуражирующие летней генерации, а также образцы сотового меда и перги. Каждый образец пчел содержит примерно 100 особей пчел, отобранных из одного улья (колонии) и объединенных после высушивания. Зимние пчелы (подмор) собирали со дна улья. Летние и осенние внутриульевые пчелы стряхивали с рамки, вынутой из улья в пластиковые пакеты в дневные часы. Фуражирующие летние пчелы собирали у летка во время интенсивного взятка с 12 до 15 часов дня при помощи специального устройства из полиэтилена. Всего было отобрано 137 образцов пчел и 102 образца продуктов пчеловодства.



Рисунок 1 – Карта-схема отбора образцов медоносных пчел на территории РТ и некоторых областей ПФО

2.2.2 Обоснование алгоритма проведения полевых исследований в ходе апимониторинга. Помимо антропогенного фактора, на аккумуляцию ТМ в организме пчел влияет и множество других факторов (Покаржевский, 1985): биотические (вид, пол, возраст, питание, орган (ткань) и абиотические (локальное загрязнение металлами, геохимические провинции, температура), что затрудняет интерпретацию результатов мониторинга на основе показателей накопления данных элементов.

Проведенные нами многолетние исследования позволили обосновать алгоритм проведения полевых исследований в ходе апимониторинга, включающий в себя три этапа, последовательно снижающие влияние многочисленных факторов, определяющих

аккумуляцию металлов в медоносных пчелах (рисунок 2). Данный алгоритм опробован в пчеловодных хозяйствах на территории РТ и ПФО.

На первом этапе для исследования влияния сезона и места отбора образцов на содержание ТМ в организме пчел предусмотрен отбор образцов внутриульевых пчел трех сезонных генераций из загрязненных и фоновых районов.

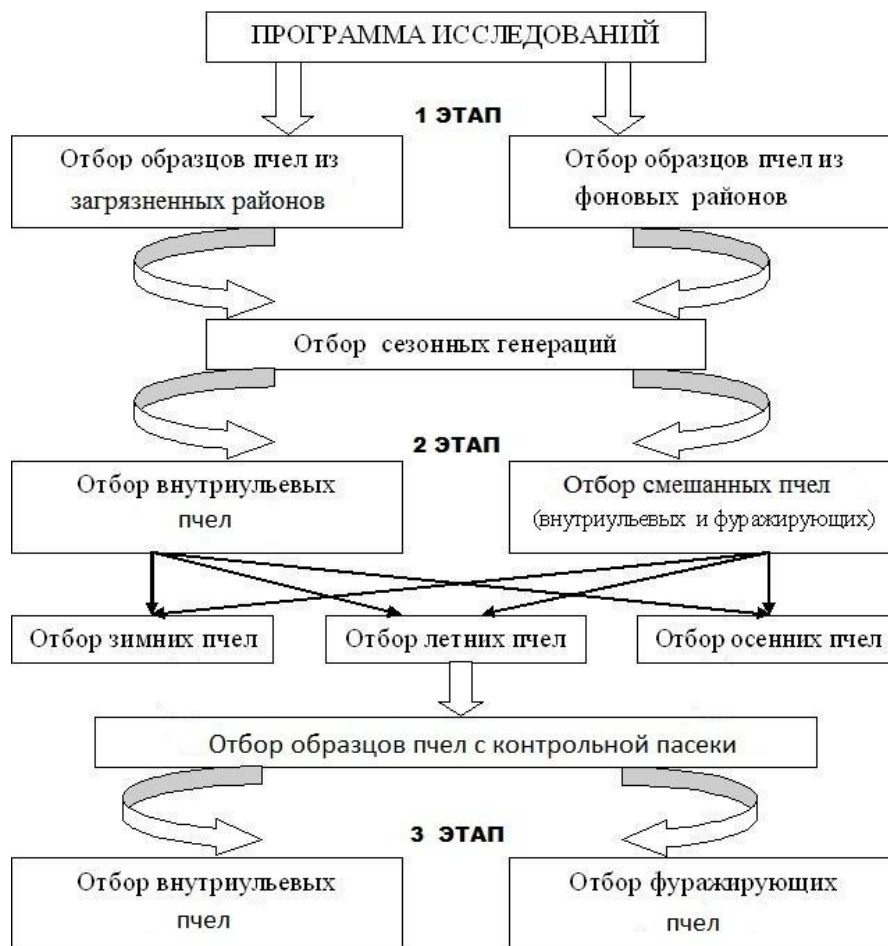


Рисунок 2 – Алгоритм проведения полевых исследований в ходе апимониторинга

На следующем этапе проведения апимониторинга предусмотрен отбор образцов смешанных образцов летней генерации пчел, состоящей из пчел двух функциональных групп (внутриульевых и фуражирующих). Этот этап имеет целью проявить различия, связанные преимущественно с атмосферным компонентом, поскольку в летнюю генерацию в этом случае входят фуражирующие пчелы, активно контактирующие с воздухом в процессе сбора корма. На предыдущем этапе исследований атмосферный компонент загрязнения учитывался опосредованно – через загрязненный корм (нектар и пыльцу). Третий этап предполагает отбор образцов двух функционально-возрастных групп летней генерации из одного местообитания. Целью данного этапа исследования являлся отдельный анализ содержания ТМ во внутриульевых и фуражирующих пчелах, поскольку можно предположить, что вследствие разницы в физиологии и продолжительности контакта с атмосферным воздухом припасечной зоны эти две группы пчел будут отличаться по содержанию в их организме ТМ.



2.2.3 Методика исследования. Пробоподготовку образцов пчел для элементного анализа проводили по методике А.М. Никанорова и А.В. Жулидова (1991), разработанной для беспозвоночных организмов. Минерализацию меда и перги проводили в соответствии с ГОСТ 26929-86 (1986). Экстракцию после минерализации проводили в соответствии с Методическими указаниями «Атомно-абсорбционные методы определения токсичных элементов в пищевых продуктах и пищевом сырье» (1992). Количественное определение содержания ТМ (Cd, Pb, Ni, Cr, Co, Cu, Zn, Mn, Fe) в образцах проводили методом атомно-абсорбционной спектрометрии на приборе AAnalyst 400 Perkin Elmer с пламенной атомизацией.

При обсуждении полученных результатов использовали данные по антропогенной нагрузке на территорию РТ Министерства экологии и природных ресурсов (Государственный доклад..., 2009). Использованы материалы снеговых съемок, выполненные в 2003-2005 годах в отдельных районах РТ (Валетдинов и др., 2006; 2008). Показателем содержания водорастворимых форм ТМ в атмосферном воздухе районов РТ служила величина суммарного индекса (СИЗ<sub>5</sub>) загрязненности снежного покрова территории несколькими (пятью) приоритетными загрязняющими металлами (Mn, Zn, Cu, Ni и Pb). Величина СИЗ<sub>5</sub> рассчитывается по формуле:  $СИЗ_5 = \sum_{i=1}^5 K_i$ , где  $K_i = C_i / ПДП_i$  ( $C_i$  – фактическое поступление  $i$ -того металла; ПДП <sub>$i$</sub>  – предельно-допустимое поступление – количество металла, поступающего на определенную площадь в единицу времени в количествах, образующих концентрации, не превышающие установленные ПДК) (Валетдинов и др., 2006; 2008).

### 2.3 Обработка результатов

Статистическую обработку данных проводили с использованием программ язык R и Statistica 8.0. Оценку различий между выборками проводили с использованием непараметрического критерия Вилкоксона-Манна-Уитни (Wilcoxon-Mann-Whitney U Test). Для визуализации различий между местообитаниями, сезонными генерациями и функциональными группами использовали метод главных компонент (PCA). Матрицы с данными ранговой корреляции Спирмена (Spearman's rank correlation coefficient) использовались в методе многомерного шкалирования (Multidimensional scaling (MDS)). Критический уровень значимости принимался равным 0,05 (Наглядная статистика..., 2012; Боровиков, 1998).

## ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### 3.1 Особенности аккумуляции тяжелых металлов в организме внутриульевых пчел различных сезонных генераций

Сезонные генерации пчел по своей физиологии принципиально отличаются друг от друга. В конце лета происходят изменения состояния внутренних органов: гипофарингеальных желез, жирового тела и яичников. Так, у пчел осенней генерации жировое тело развито в 2–2,5 раза сильнее, чем у пчел летней генерации. В средней полосе России процесс формирования физиологически молодых осенних пчел протекает в августе – сентябре. Эти пчелы не участвуют в выкармливании расплода, а также в сборе корма и его переработке. Продолжительность жизни идущих на зимовку осенних пчел наивысшая и составляет 5–7 месяцев. Зимние пчелы характеризуются пониженным обменом веществ (летная активность в их жизни отсутствует). В течение зимнего периода они питаются медом, специфической особенностью зимних пчел является накопление в ректуме

непереваренных остатков. Их количество может достигать половины массы пчелы. Рассмотренные физиологические особенности пчел имеют непосредственное отношение к разработке методики аккумуляционной индикации. Известно, что ТМ накапливаются преимущественно в жировом теле и ректуме пчел (Raes et al., 1987, 1992; Железкова и др., 2002; Zhelyazkova et al., 2004; Еськов и др., 2008), причем можно предположить, что содержание ТМ в зимних и осенних пчелах будет выше, чем в летних.

Полученные данные (таблица 1) обнаружили различия между содержанием ТМ в образцах зимних и объединенной группы летне-осенних пчел для Cu, Ni, Zn и Mn ( $P \leq 0,05$ ). Однако не было выявлено значимых различий ни по одному из элементов между летними и осенними пчелами.

Таблица 1 – Содержание тяжелых металлов (мг/кг сухого вещества) в образцах внутриульевых пчел различных сезонных генераций

|  | <b>Cd</b>          | <b>Pb</b>          | <b>Co</b>          | <b>Cu</b>         | <b>Ni</b>          | <b>Zn</b>           | <b>Cr</b>          | <b>Mn</b>          | <b>Fe</b>            |
|--|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------|--------------------|---------------------|--------------------|--------------------|----------------------|
| Среднее арифметическое значение $\pm$ SD |                    |                    |                    |                   |                    |                     |                    |                    |                      |
| Зима<br>n=8                              | 0,23<br>$\pm 0,14$ | 1,90<br>$\pm 1,18$ | 0,84<br>$\pm 0,66$ | 20,8<br>$\pm 5,3$ | 1,03<br>$\pm 0,38$ | 117,3<br>$\pm 16,8$ | 1,23<br>$\pm 1,35$ | 71,8<br>$\pm 42,2$ | 211,6<br>$\pm 117,4$ |
| Лето-<br>осень<br>n=45                   | 0,20<br>$\pm 0,21$ | 1,43<br>$\pm 1,17$ | 0,88<br>$\pm 0,43$ | 16,4<br>$\pm 4,3$ | 0,50<br>$\pm 0,48$ | 97,6<br>$\pm 51,4$  | 0,55<br>$\pm 0,77$ | 47,6<br>$\pm 50,3$ | 208,2<br>$\pm 139,8$ |
| Критический уровень значимости (P-value) |                    |                    |                    |                   |                    |                     |                    |                    |                      |
|  | 0,15               | 0,31               | 0,71               | <b>0,04</b>       | <b>0,00025</b>     | <b>0,018</b>        | 0,14               | <b>0,024</b>       | 0,93                 |
| Среднее арифметическое значение $\pm$ SD |                    |                    |                    |                   |                    |                     |                    |                    |                      |
| Лето<br>n=22                             | 0,19<br>$\pm 0,21$ | 1,38<br>$\pm 1,26$ | 0,90<br>$\pm 0,50$ | 16,1<br>$\pm 4,1$ | 0,52<br>$\pm 0,46$ | 93,2<br>$\pm 51,3$  | 0,46<br>$\pm 0,73$ | 45,9<br>$\pm 50,4$ | 220,7<br>$\pm 114,7$ |
| Осень<br>n=23                            | 0,24<br>$\pm 0,16$ | 1,57<br>$\pm 1,23$ | 0,82<br>$\pm 0,40$ | 17,1<br>$\pm 4,9$ | 0,44<br>$\pm 0,25$ | 108,6 $\pm$<br>31,5 | 0,77<br>$\pm 0,80$ | 51,9<br>$\pm 30,5$ | 177,5<br>$\pm 134,2$ |
| Критический уровень значимости (P-value) |                    |                    |                    |                   |                    |                     |                    |                    |                      |
|  | 0,12               | 0,63               | 0,61               | 0,67              | 0,65               | 0,055               | 0,18               | 0,56               | 0,45                 |

Примечание. n – число объединенных образцов; SD – стандартное отклонение; выделены значимые различия.

Визуализация различий между сезонными генерациями пчел (рисунок 3) обнаруживает обособленное расположение данных для образцов пчел зимней генерации в сравнении с образцами летней и осенней генераций.

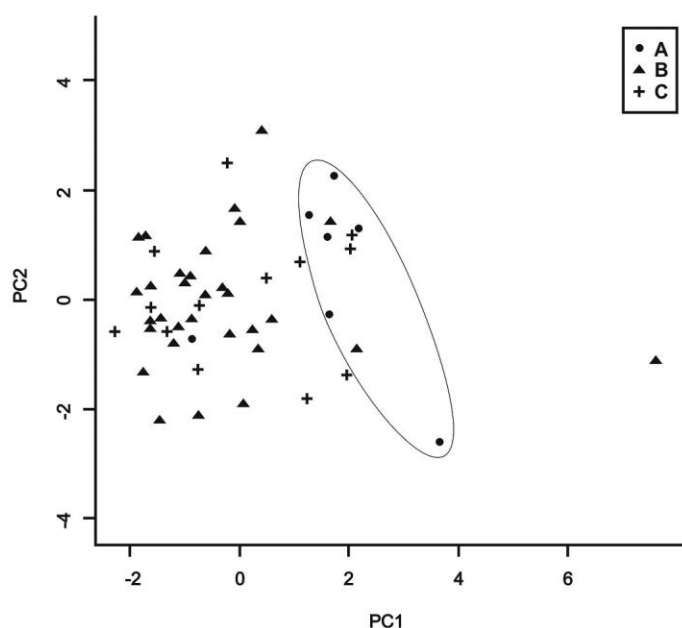


Рисунок 3 – Визуализация различий между сезонными генерациями пчел:

- – зимние пчелы (А)
- ▲ – летние пчелы (В)
- ⊕ – осенние пчелы (С)

Таким образом, для оценки уровня загрязненности исследованных припасечных зон целесообразно использовать более однородную группу летне-осенних пчел, между которыми не были выявлены различия по сезонному фактору, исключив из общей выборки зимних пчел. Результаты проверки различий между содержанием ТМ в образцах, отобранных в фоновых и загрязненных зонах, представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Содержание тяжелых металлов (мг/кг сухого вещества) в образцах внутриульевых летне-осенних пчел из фоновых и загрязненных районов РТ и ПФО

|  | Cd            | Pb            | Co            | Cu           | Ni            | Zn             | Cr            | Mn            | Fe              |
|--|---------------|---------------|---------------|--------------|---------------|----------------|---------------|---------------|-----------------|
| Загрязненные (n=33)                      |               |               |               |              |               |                |               |               |                 |
| Max                                      | 0,89          | 5,00          | 1,79          | 26,3         | 2,44          | 310,4          | 3,57          | 251,7         | 641,2           |
| M±SD                                     | 0,23<br>±0,21 | 1,84<br>±1,19 | 0,93<br>±0,44 | 16,6<br>±4,8 | 0,54<br>±0,41 | 104,7<br>±46,8 | 0,81<br>±0,86 | 53,6<br>±46,4 | 215,5<br>±129,9 |
| Me                                       | 0,16          | 1,60          | 0,95          | 15,4         | 0,45          | 96,7           | 0,48          | 40,8          | 180,3           |
| Min                                      | 0,03          | 0,03          | 0,10          | 7,9          | 0,13          | 54,9           | 0,01          | 12,3          | 27,7            |
| Фоновые (n=12)                           |               |               |               |              |               |                |               |               |                 |
| Max                                      | 0,22          | 0,90          | 1,51          | 22,3         | 0,70          | 107,9          | 1,00          | 65,3          | 355,0           |
| M±SD                                     | 0,12<br>±0,05 | 0,43<br>±0,32 | 0,74<br>±0,47 | 15,7<br>±3,6 | 0,37<br>±0,17 | 78,1<br>±18,8  | 0,36<br>±0,31 | 31,1<br>±14,2 | 188,0<br>±105,3 |
| Me                                       | 0,12          | 0,43          | 0,79          | 14,2         | 0,28          | 78,1           | 0,36          | 31,1          | 178,0           |
| Min                                      | 0,05          | 0,11          | 0,01          | 9,6          | 0,21          | 46,5           | 0,01          | 13,1          | 11,7            |
| Критический уровень значимости (P-value) |               |               |               |              |               |                |               |               |                 |
|  | 0,62          | <b>0,001</b>  | 0,24          | 0,67         | 0,14          | <b>0,021</b>   | <b>0,054</b>  | 0,098         | 0,62            |

Примечание. М – среднее арифметическое значение; SD – стандартное отклонение; Me – медиана; Max, Min – максимальное и минимальное значение; n – число объединенных образцов; выделены значимые различия.

Обнаружены значимые различия в содержании Pb, Zn и Cr ( $P \leq 0,05$ ) в образцах пчел, отобранных в фоновых и загрязненных районах. На рисунке 4 можно видеть, что данные для образцов из фоновых районов характеризуются более компактным расположением в сравнении с данными из загрязненных районов.

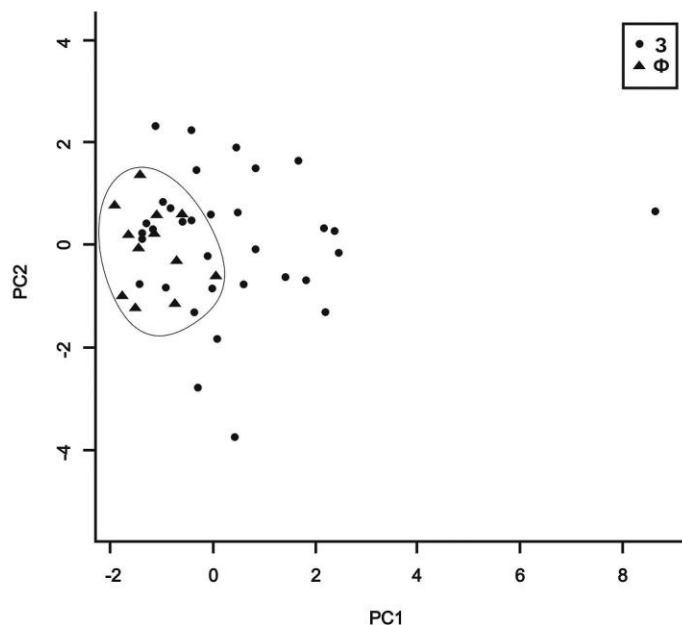


Рисунок 4 – Визуализация различий между двумя типами местообитаний:

- – загрязненные зоны (З)
- ▲ – фоновые зоны (Ф)

В недавнем прошлом основным источником поступления Pb в окружающую среду был автотранспорт. Согласно Федеральному закону N 34-ФЗ от 22.03.2003 производство и оборот этилированного бензина в России запрещен с 1 июля 2003 года. Причиной различий в содержании Pb в образцах пчел, отобранных из двух групп припасечных зон может быть миграция этого элемента по цепочке почва – медоносные растения – пыльца, нектар. Косвенным подтверждением этого могут служить данные о повышенном содержании Pb в почвах (Воскресенский, 2011), а также о передаче Pb по трофической цепи (Cozmuta et al., 2012; Еськов и др., 2011; Leita et al., 1996).

Очевидно, что при использовании показателей накопления в организме пчел для мониторинга необходимо учитывать принадлежность к сезону и сравнивать между собой только однотипные генерации. Полученные результаты подтверждают данные van der Steen et al. (2012) о большей значимости временных различий в содержании металлов, нежели различий, связанных с местообитанием.

Несмотря на то, что было выявлено однозначное влияние антропогенного фактора на содержание Pb ( $P 0,001$ ) и Cr ( $P 0,05$ ) во внутриульевых летне-осенних пчелах, этого недостаточно, чтобы судить о пригодности данной группы пчел для использования в качестве биоиндикаторов.

### 3.2 Содержание тяжелых металлов в смешанной выборке пчел (внутриульевых и фуражирующих)

Дальнейшие исследования касались выявления различий в содержании ТМ в зависимости от сезона с включением в летнюю генерацию наряду с внутриульевыми пчелами (не работающими на сборе корма и практически не покидающими улей) также и фуражирующих пчел (активно контактирующих с атмосферным воздухом и другими

компонентами окружающей среды). Поэтому методика отбора образцов летних пчел была изменена. В предыдущем исследовании образцы внутриульевых пчел отбирались из улья в дневные часы, когда фуражирующие пчелы находились в поле. В данном исследовании отбор проводили в вечерние часы, когда все пчелы находились в улье.

Результаты анализа образцов (таблица 3) позволяют сделать следующие выводы:

- в образцах пчел в отдельных выборках из фоновых и загрязненных местообитаний не обнаружено значимых различий между содержанием элементов в зимних, летних и осенних пчелах. Однако при рассмотрении объединенной выборки (из фоновых и загрязненных районов) содержание Cd, Cu и Zn в зимних пчелах оказалось выше, чем в осенних и сгруппированных летне-осенних. При этом для Zn и Cu медиана в зимних образцах оказалась больше в 1,3 раза, чем в осенних, а для Cd – в 1,6 раза.

- в образцах зимних (Pb, Zn), летних (Pb, Mn), осенних (Fe) и летне-осенних (Pb, Fe) пчел, отобранных из загрязненных районов, содержание указанных элементов было выше, чем в соответствующих категориях образцов, отобранных из фоновых районов.

- для объединенной выборки можно говорить о превышении содержания Cd, Pb, Zn, Mn и Fe в образцах из загрязненных областей над содержанием из фоновых в 1,2–3,9 раза. Для Cu не установлено загрязнения образцов во всех категориях медоносных пчел. Аномальные значения, отклоняющиеся более чем на 1,5·IQR (умеренные выбросы) и на 3·IQR (экстремальные выбросы), обнаруживаются в образцах из загрязненных районов: для Cd – в зимних и летних; для Zn – в летних и осенних; для Pb – в зимних; Mn – в зимних и осенних; для Fe – в летних образцах пчел.

Таблица 3 – Содержание тяжелых металлов (мг/кг сухого вещества) в смешанных образцах пчел (внутриульевых и фуражирующих)

| Элемент            |     | Cd            | Pb            | Cu            | Zn            | Mn            | Fe           |
|--------------------|-----|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|--------------|
| <b>A</b><br>n=18   | Me  | 0,22          | 1,85          | 19,0          | 113,7         | 48,0          | 175,7        |
|                    | IQR | 0,14          | 2,37          | 9,6           | 17,8          | 36,3          | 150,7        |
| <b>B+C</b><br>n=36 | Me  | 0,13          | 1,37          | 15,1          | 84,5          | 38,2          | 186,2        |
|                    | IQR | 0,05          | 1,01          | 6,2           | 40,4          | 26,2          | 92,3         |
| P-value            |     | <b>0,0188</b> | 0,4927        | <b>0,0417</b> | <b>0,0087</b> | 0,2790        | 0,2553       |
| <b>A</b><br>n=18   | Me  | 0,21          | 1,42          | 17,9          | 113,1         | 47,9          | 172,0        |
|                    | IQR | 0,14          | 2,37          | 9,6           | 17,8          | 36,3          | 150,7        |
| <b>C</b><br>n=18   | Me  | 0,13          | 1,21          | 14,1          | 87,1          | 40,5          | 163,1        |
|                    | IQR | 0,06          | 1,00          | 4,5           | 29,7          | 27,9          | 92,3         |
| P-value            |     | <b>0,0148</b> | 0,6679        | <b>0,0268</b> | <b>0,0044</b> | 0,2057        | 0,4477       |
| <b>З</b><br>n=27   | Me  | 0,16          | 2,64          | 18,9          | 108,0         | 48,0          | 204,1        |
|                    | IQR | 0,16          | 1,65          | 9,7           | 59,1          | 50,6          | 196,9        |
| <b>Ф</b><br>n=27   | Me  | 0,13          | 0,68          | 14,2          | 83,2          | 35,0          | 165,6        |
|                    | IQR | 0,08          | 1,02          | 4,2           | 37,1          | 30,4          | 111,5        |
| P-value            |     | <b>0,0326</b> | <b>0,0000</b> | 0,088         | <b>0,0144</b> | <b>0,0313</b> | <b>0,022</b> |

Примечание. n – число объединенных образцов; А – зимние, В – летние, С – осенние; З – загрязненные районы, Ф – фоновые районы; Me – медиана; IQR – интерквартильный диапазон; выделены значимые различия.

Таким образом, для объединенной выборки смешанных образцов пчел были выявлены более значимые различия в отношении антропогенного фактора по сравнению с внутриульевыми пчелами. Очевидно, что смешанные образцы пчел в большей степени отражают уровень загрязнения атмосферного воздуха ТМ.

### 3.3 Особенности аккумуляции тяжелых металлов в организме пчел различных функционально-возрастных групп летней генерации

Особи летней генерации живут в пределах 35-42 дней и состоят из двух основных функционально-возрастных групп: внутриульевых и фуражирующих (летных). Внутриульевые и фуражирующие пчелы отбирались отдельно и одновременно. Отбор проводили с начала июня до начала сентября с двухнедельным интервалом. Эти две группы отличаются друг от друга по возрасту, видам выполняемых работ в соответствии с разделением функций внутри пчелиной семьи, питанию и степени контакта с атмосферным воздухом. Возраст внутриульевых пчел не превышает 19 дней. Они практически не покидают улья, вылетают на короткое время, в утренние часы на расстояние не более 3–5 метров. Начиная примерно с 20-го дня своей жизни, пчелы приступают к сбору нектара и пыльцы с территории в радиусе 2–3 км от пасеки. Загрязняющие вещества могут поступать в организм пчел не только с кормом. Фуражирующие пчелы, благодаря высокой летной активности, контактируют с большой территорией вокруг улья и интенсивно накапливают поллютанты из окружающей среды.

Таблица 4 – Содержание тяжелых металлов (мг/кг сухого вещества) в организме пчел различных функционально-возрастных групп летней генерации

|  | Fe             | Mn             | Zn             | Cu           | Ni            | Co            | Cr            | Cd            | Pb            |
|--|----------------|----------------|----------------|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| Внутриульевые (n=8)                      |                |                |                |              |               |               |               |               |               |
| Max                                      | 217,1          | 207,7          | 101,7          | 20,5         | 1,05          | 0,45          | 1,97          | 0,45          | 2,09          |
| Min                                      | 61,5           | 43,7           | 67,6           | 12,5         | 0,15          | 0,05          | 0,13          | 0,16          | 0,53          |
| M±SD                                     | 116,0<br>±54,3 | 143,4<br>±60,7 | 82,1<br>±10,1  | 15,7<br>±2,6 | 0,48<br>±0,30 | 0,14<br>±0,13 | 0,85<br>±0,59 | 0,32<br>±0,09 | 1,36<br>±0,68 |
| Me                                       | 98,1           | 172,1          | 79,2           | 15,9         | 0,42          | 0,10          | 0,78          | 0,33          | 1,48          |
| Фуражирующие (n=8)                       |                |                |                |              |               |               |               |               |               |
| Max                                      | 366,3          | 309,0          | 127,5          | 23,3         | 2,44          | 0,75          | 3,48          | 1,26          | 4,83          |
| Min                                      | 107,2          | 113,4          | 95,4           | 15,7         | 0,51          | 0,12          | 0,59          | 0,54          | 1,02          |
| M±SD                                     | 221,6<br>±90,7 | 240,7<br>±61,6 | 108,2<br>±12,6 | 19,1<br>±2,6 | 0,99<br>±0,65 | 0,37<br>±0,24 | 1,74<br>±0,99 | 0,82<br>±0,27 | 2,55<br>±1,23 |
| Me                                       | 200,7          | 250,4          | 105,6          | 18,4         | 0,70          | 0,28          | 1,63          | 0,73          | 2,68          |
| Критический уровень значимости (P-value) |                |                |                |              |               |               |               |               |               |
|  | <b>0,01</b>    | <b>0,005</b>   | <b>0,001</b>   | <b>0,02</b>  | <b>0,04</b>   | <b>0,02</b>   | 0,07          | <b>0,001</b>  | <b>0,05</b>   |

Примечание. M – среднее арифметическое значение; SD – стандартное отклонение, Me – медиана, Max, Min – максимальное и минимальное значение, n – число объединенных образцов; выделены значимые различия.

Во время длительных и активных перемещений в воздушной среде аэрозоли воздуха адсорбируются на поверхности опушенного тела пчел, проникают через хитиновый

покров, а также могут поступать внутрь организма при дыхании (Bromenshenk, 1985). Оказавшись в теле пчелы, они частично удаляются с экскрементами и частично аккумулируются в жировом теле и других структурах тела насекомого (Raes et al., 1988). Было обнаружено (Raes et al., 1992), что Pb, введенный перорально, аккумулируется медленнее в молодых (внутриульевых) пчелах и интенсивнее в фуражирующих. Можно предположить, что вследствие разницы в физиологии и степени контакта с атмосферным воздухом, эти две группы пчел будут отличаться по содержанию в их организме ТМ. В результате проверки данного предположения было обнаружено, что содержание ТМ в образцах фуражирующих пчел статистически выше в сравнении с содержанием в образцах внутриульевых (таблица 4). Наиболее сильно эта закономерность проявляется для Cd, Zn, Mn и Fe ( $P \leq 0,01$ ) и в меньшей степени – для Pb, Co, Cu и Ni ( $P \leq 0,05$ ). Разница в содержании ТМ варьирует в зависимости от даты отбора образцов.

Визуализация результатов анализа содержания ТМ в образцах представлена на рисунке 5. Можно сделать вывод, что кластеризация отражает определенную общность внутри двух функциональных групп медоносных пчел. Причем кластер внутриульевых пчел в левой части графика более компактен, а следовательно, более однороден по сравнению с кластером фуражирующих пчел, что свидетельствует о меньшем влиянии антропогенного фактора на накопление ТМ внутриульевыми пчелами.

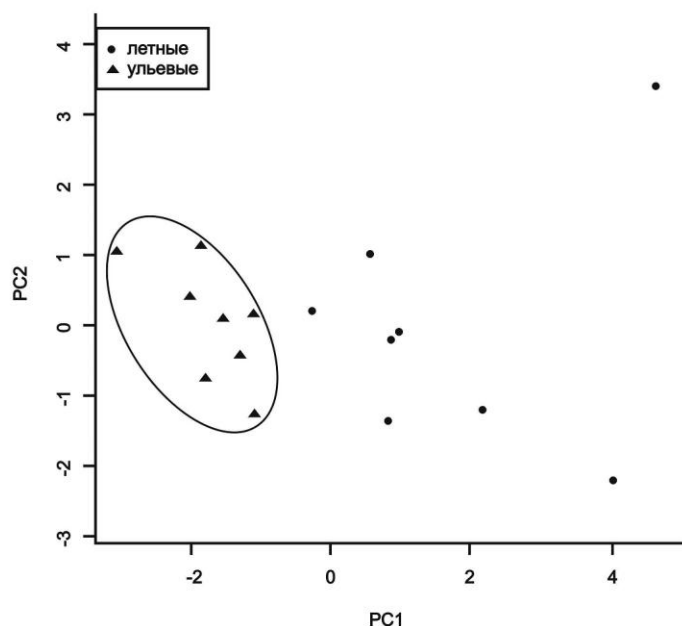


Рисунок 5 – Расположение образцов на графике двух первых главных компонент.  
 ▲ – внутриульевые пчелы  
 ● – фуражирующие пчелы (летные)

Анализ доступных публикаций по теме показал, что данные по содержанию ТМ в медоносных пчелах различных категорий крайне ограничены и касаются в основном четырех элементов: Zn, Cu, Pb и Cd. На рисунке 6 представлены сравнительные диаграммы содержания Pb в образцах фуражирующих и внутриульевых пчел, обнаруженные в данном исследовании и другими авторами. Полученные результаты хорошо согласуются с результатами, описанными в литературе. Так, по данным сотрудников Института пчеловодства (г. Рыбное Рязанской обл.) В. Лебедева и Е. Мурашовой (2003), содержание ТМ в организме пчел резко возрастает в первые две недели жизни, когда они выполняют цикл внутриульевых работ. Переход пчел к сбору нектара и пыльцы приводит к дальнейшему увеличению содержания ТМ, но не столь резко. Сильные различия в содержании Pb и Cd в теле 21-дневных молодых пчел и 40-дневных старых

фуражирующих пчел, отобранных в области с высокой степенью техногенной нагрузки (Саарбрюкен, ФРГ), обнаружили I. Höffel и P. Müller (1983).

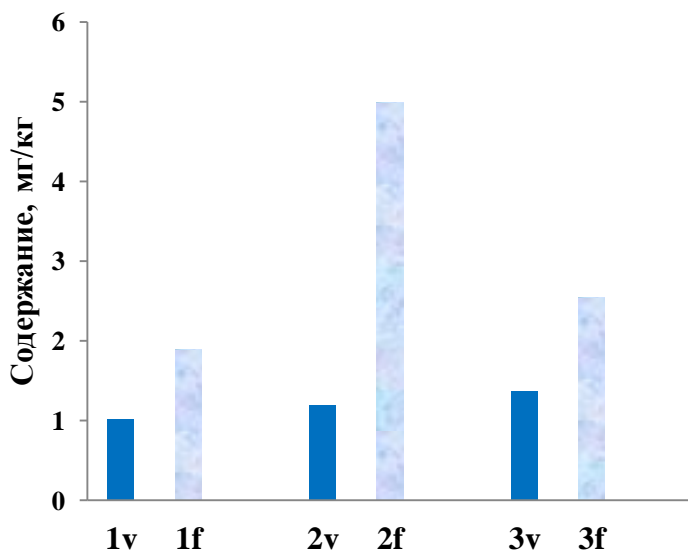


Рисунок 6 – Содержание свинца в фуражирующих (f) и внутриульевых (v) пчелах по разным данным:  
 1 – Лебедев, Мурашова, 2003 (Рязанская область)  
 2 – Höffel, Müller, 1983 (Германия, Саарбрюкен)  
 3 – Скребнева и др, 2012 (Верхнеуслонский район РТ)

#### 3.4 Микроэлементный баланс в организме пчел, обитающих в условиях различной антропогенной нагрузки

Содержание микроэлементов в живых организмах определяется их физиологической ролью, поэтому в норме они поглощаются и накапливаются взаимозависимо (Ковальский, 1974; Добровольский, 2003). Нарушение соотношений микроэлементов (в т. ч. ТМ) необходимо учитывать при выявлении и оценке зон экологической напряженности, связанных с загрязнением (Биогеохимические..., 1993).

В данном исследовании были обнаружены различия в соотношении микроэлементов в смешанных образцах медоносных пчел (внутриульевых и фуражирующих), отобранных из фоновых и загрязненных районов. Визуализация различий методом многомерного шкалирования на основе коэффициентов ранговой корреляции Спирмена представлена на рисунке 7. Для фоновых местообитаний статистически значимая парная ассоциация выявлена только для Cu и Zn ( $R=0,46$ ). Для загрязненных местообитаний выявлены тесные парные ассоциации четырех из шести элементов: Cd-Zn ( $R=0,41$ ); Cd-Mn ( $R=0,68$ ); Cu-Zn ( $R=0,43$ ); Zn-Mn ( $R=0,49$ ). Эти элементы образуют на рисунке компактный кластер. Железо и свинец не обнаружили корреляции с другими металлами в обоих типах местообитаний. Как было показано (раздел 3.2), для объединенной выборки данных (по трем сезонным генерациям) можно говорить о статистически значимом превышении содержания Cd, Pb, Zn, Mn и Fe в образцах пчел из загрязненных областей по сравнению с образцами из фоновых в 1,2–3,9 раза. Содержание Cu не включает антропогенной составляющей для образцов медоносных пчел всех сезонных генераций.

Таким образом, выявленные различия парных ассоциаций элементов, характерные для пчел, обитающих в фоновых и загрязненных районах, свидетельствуют о нарушении естественного баланса микроэлементов в условиях антропогенного воздействия.



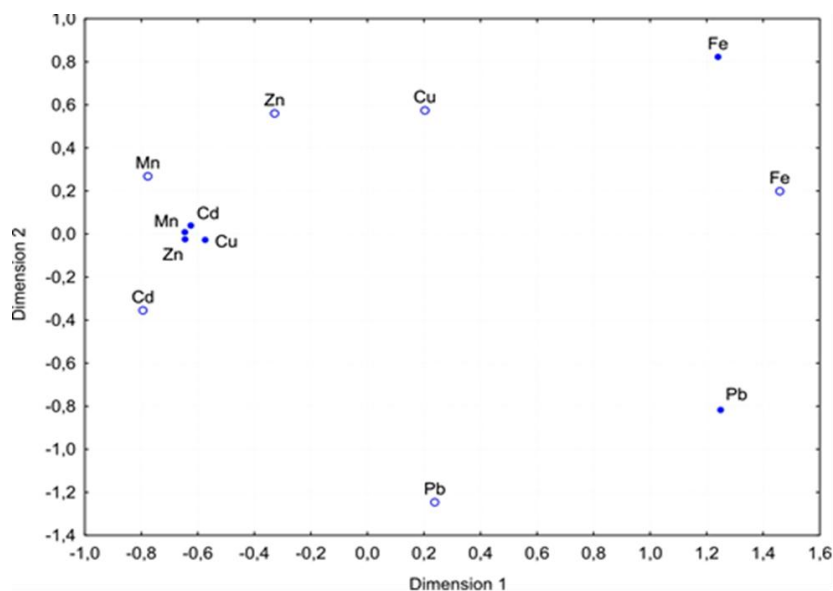


Рисунок 7 – Пространственное изображение ассоциаций элементов в образцах пчел из фоновых (открытые круги) и загрязненных (темные круги) районов

### 3.5 Особенности аккумуляции тяжелых металлов в продуктах пчеловодства (мед и перга) в районах с различной антропогенной нагрузкой

Как отмечалось, в литературе нет единого мнения в отношении возможности использования меда в качестве биоиндикатора. В связи с этим, для разъяснения ситуации было проведено исследование 58 образцов сотового меда, отобранных на 25 пасеках РТ и ПФО. Результаты анализа образцов меда представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Содержание тяжелых металлов (мг/кг сырого вещества) в образцах меда из фоновых и загрязненных районов РТ и ПФО

|                     | Zn         | Cu        | Ni         | Pb         | Cd         |
|---------------------|------------|-----------|------------|------------|------------|
| Фоновые (n=18)      |            |           |            |            |            |
| Max – Min           | 3,3 - 0,1  | 1,1 - 0,3 | 0,60 – н/о | 0,10 - н/о | 0,05 - н/о |
| M±SD                | 1,6±0,9    | 0,5±0,3   | 0,34±0,15  | 0,08±0,03  | 0,02±0,02  |
| Me                  | 1,5        | 0,5       | 0,31       | 0,05       | 0,02       |
| Загрязненные (n=40) |            |           |            |            |            |
| Max – Min           | 15,9 - 0,2 | 1,5 - 0,2 | 0,90 – н/о | 0,89 - н/о | 0,12 - н/о |
| M±SD                | 3,2±3,4    | 0,7±0,3   | 0,40±0,22  | 0,26±0,22  | 0,04±0,04  |
| Me                  | 2,2        | 0,7       | 0,32       | 0,10       | 0,02       |
| Нормативы           |            |           |            |            |            |
| Швейцария           | -          | -         | -          | 1,0        | 0,1        |
| Россия              | 3,0        | 10,0      | -          | 1,0        | 0,05       |

Примечание. M – среднее арифметическое значение, Me – медиана; SD – стандартное отклонение, n – число образцов, н/о – ниже предела обнаружения прибора.

Полученные значения по содержанию ТМ в образцах меда анализировали в сравнении с данными Швейцарского центра исследования меда (Bogdanov et al., 2007); данные по содержанию Pb и Cd анализировали в сравнении с санитарно-гигиеническими нормативами (СанПиН 2.3.2.1078-01), а по содержанию Zn и Cu - со значениями ПДК, рекомендованными НИИ пчеловодства (Кривцов, Шагун, 2000). Превышение перечисленных нормативов выявлено по содержанию Zn, Pb и Cd для нескольких

образцов меда. Из-за отсутствия нормативов содержания ТМ в перге для оценки использовали правило «трех сигм». Аномальные значения для содержания в перге Pb, Zn и Cu, отличающиеся от среднего более чем на три стандартных отклонения, отмечаются лишь эпизодически (таблица 6).

Таблица 6 – Содержание тяжелых металлов (мг/кг сырого вещества) в образцах перги из фоновых и загрязненных районов РТ и ПФО

|                     | Zn          | Cu         | Ni          | Pb         | Cd         |
|---------------------|-------------|------------|-------------|------------|------------|
| Фоновые (n=9)       |             |            |             |            |            |
| Max – Min           | 51,4 – 20,3 | 14,4 – 3,5 | 1,72 – 0,30 | 1,24 – н/о | 0,16 – н/о |
| M±SD                | 29,4±9,2    | 8,6±3,3    | 0,93±0,52   | 0,60±0,43  | 0,08±0,06  |
| Me                  | 27,1        | 8,9        | 1,05        | 0,60       | 0,08       |
| Загрязненные (n=35) |             |            |             |            |            |
| Max – Min           | 40,4 – 19,0 | 8,6 – 3,5  | 2,71 – 0,10 | 3,44 – н/о | 0,39 – н/о |
| M±SD                | 28,6±5,1    | 6,3±1,3    | 1,01± 0,57  | 0,88±0,73  | 0,12±0,12  |
| Me                  | 27,5        | 6,5        | 0,93        | 0,75       | 0,07       |

Примечание. Обозначения соответствуют приведенным в таблице 5.

Для того чтобы сделать заключение о возможности использования продуктов пчеловодства для контроля загрязнения территорий ТМ, было проведено сопоставление данных для образцов из двух групп припасечных зон. Сравнение выборок образцов меда из загрязненных и фоновых районов не выявило значимых различий в содержании практически всех исследуемых ТМ, за исключением содержания Pb ( $P < 0,01$ ). Для образцов перги различие обнаруживается только по содержанию Cu ( $P < 0,05$ ), что является трудно объяснимым фактом, с учетом данных, полученных при анализе образцов меда и медоносных пчел, не обнаруживающих наличия загрязнения этим элементом. Полученные результаты могут быть связаны с полифлорностью меда и перги, что согласуется с данными В. И. Коркиной (2009) о большей значимости влияния ботанического происхождения на содержание ТМ в пыльцевой обножке (основном компоненте перги) в сравнении с влиянием месторасположения пасеки. Таким образом, очевидно, что в качестве биондикаторов возможно использование преимущественно монофлорных образцов меда и перги.

### 3.6 Разработка и апробация биоиндикационного показателя загрязнения атмосферного воздуха в системе апимониторинга

В работе предложено оперировать не абсолютным содержанием  $i$ -того металла в образцах фуражирующих (f) пчел, а величиной, приведенной относительно характерного для внутриульевых (v). Получаемый при этом показатель ( $K_{с,i} = C_{i,f}/C_{i,v}$ ), рассчитывается как отношение содержания ( $C_{i,f}$ ) элемента в образце фуражирующих пчел к содержанию ( $C_{i,v}$ ) того же элемента в образце внутриульевых пчел. По своему физическому смыслу показатель  $K_{с,i}$  практически свободен от физиологических особенностей организмов (в т. ч. от расовой (породной) принадлежности медоносных пчел, от особенностей функционирования пчелиных семей (в т. ч. от ботанического происхождения потребляемого пчелами корма (нектара и пыльцы), а также от геохимических факторов и вычленяет отклик организма пчелы на уровень загрязнения атмосферного воздуха водорастворимыми формами ТМ.

Значение показателя  $K_{с,i}$  имеет четкую тенденцию к росту при возрастании концентрации ТМ в атмосферном воздухе. Для обоснования этого положения в данной

работе использованы результаты многолетних исследований загрязненности снежного покрова тяжелыми металлами на территории РТ в первом десятилетии XXI в. (Валетдинов и др, 2006; 2008.). В принципе снежный покров как естественный планшет-накопитель сухих и влажных выпадений из атмосферного воздуха характеризует степень загрязнения, как самих атмосферных осадков, так и атмосферного воздуха и последующего загрязнения наземных и водных экосистем. Поэтому количество ТМ, поступающих в процессах «мокрого вымывания снегом» и «сухого» выпадения пылевых и аэрозольных частиц, содержащихся в атмосферном воздухе, на подстилающую поверхность, является косвенным показателем совокупного загрязнения среды обитания (растений, атмосферного воздуха, почвы, почвенной влаги) как водорастворимыми, так и взвешенными формами ТМ.

Для решения поставленной задачи в работе использована величина суммарного индекса загрязненности (СИЗ<sub>5</sub>) снежного покрова водорастворимыми формами пяти ТМ (Cu, Mn, Zn, Ni и Pb), которая является показателем суммарного загрязнения атмосферного воздуха водорастворимыми формами ТМ и рассчитывается по формуле:  $СИЗ_5 = \sum_{i=1}^5 K_i$ , где  $K_i = C_i/ПДП_i$  (ПДП<sub>i</sub> - (Валетдинов и др., 2006; 2008). Предельно-допустимое поступление (ПДП) – это количество загрязняющего вещества, поступающего на определенную площадь в единицу времени в количествах, образующих концентрации, не превышающие установленные ПДК.

Суммарный биоиндикационный показатель (Кс) для всех исследованных пяти элементов  $K_c = \sum_{i=1}^5 K_{c,i}$  представляет собой безразмерную величину и изменяется в интервале от 6,00 до 17,00.

Значения биоиндикационного показателя Кс и показателя СИЗ<sub>5</sub>, отражающего суммарное загрязнение атмосферного воздуха водорастворимыми формами ТМ для исследованных населенных пунктов муниципальных районов РТ, приведены в таблице 7.

Таблица 7 – Значения биоиндикационного показателя (Кс) и показателя (СИЗ<sub>5</sub>) загрязненности снежного покрова водорастворимыми формами тяжелых металлов (Pb, Ni, Cu, Zn и Mn)

| № | Пункт контроля (район РТ)  | СИЗ <sub>5</sub> | Кс    |
|---|----------------------------|------------------|-------|
| 1 | п. Муслумо (Муслумовский)  | 2,18             | 6,23  |
| 2 | п.Тетеево (Лаишевский)     | 4,72             | 11,77 |
| 3 | п. Бимери (Арский)         | 8,26             | 13,78 |
| 4 | п. Актюба (Азнакаевский)   | 10,98            | 9,18  |
| 5 | п. Морты (Елабужский)      | 13,95            | 14,29 |
| 6 | г. Наб. Челны (Тукаевский) | 14,31            | 12,63 |
| 7 | п. Давлят (Альметьевский)  | 16,62            | 16,90 |

Взаимосвязь между приведенным биоиндикационным показателем (Кс) и суммарным индексом загрязненности снежного покрова водорастворимыми формами ТМ (СИЗ<sub>5</sub>) выражается уравнением регрессии:  $K_c = 0,49 СИЗ_5 + 7,09$ . Коэффициент корреляции ( $r = 0,75$ ) является значимым на уровне  $\alpha = 0,05$ .

**Заключение.** Таким образом, в данной работе разработан новый методический подход к оценке уровня загрязнения атмосферного воздуха ТМ методом апимониторинга на основе использования информативного биоиндикационного показателя ( $K_c = C_{i,f}/C_{i,v}$ ), не зависящего от геохимических особенностей региона, от ботанического происхождения

потребляемого пчелами корма (нектара и пыльцы) и расовой (породной) принадлежности медоносных пчел. Его величина зависит преимущественно от уровня загрязнения атмосферного воздуха. Использование данной методики на практике, дополняя существующие методы мониторинга, позволит снизить влияние физиологических особенностей организмов, особенностей функционирования пчелиных семей, геохимических аномалий и других факторов на интерпретацию результатов исследования, связанных с атмосферным компонентом загрязнения. Это существенно повышает объективность и надежность оценки экологической ситуации при обследовании и картировании больших территорий. Результаты исследований, включающие пространственно распределенные данные, могут стать теоретической основой для последующей разработки шкалы для разграничения территорий по степени загрязнения ТМ с градацией значений от слабого и умеренного уровней до среднего и высокого.

## ВЫВОДЫ

1. На основе результатов многолетнего апимониторинга на территории РТ и некоторых районов ПФО обоснован алгоритм проведения полевых исследований, основные этапы которого последовательно снижают влияние геохимических особенностей региона, ботанического происхождения потребляемого пчелами корма (нектара и пыльцы) и расовой (породной) принадлежности медоносных пчел на интерпретацию результатов биоиндикации. Определены диапазоны содержания тяжелых металлов в пчелах и продуктах пчеловодства. Выявлены следующие ряды по возрастанию содержания элементов в организме пчел: Cd<Cr<Ni<Co<Pb<Cu<Mn<Zn<Fe; в меде и перге: Cd<Pb<Ni<Cu<Zn.

2. Выявлены значимые различия в содержании Cu, Ni, Zn, Mn (P 0,0003 - 0,04) в организме внутриульевых пчел зимней и летне-осенней генерации. Для летне-осенней группы данной категории пчел было выявлено, что индикативным значением в отношении антропогенного загрязнения обладают Pb (P 0,001), Zn (P 0,02) и Cr (P 0,05). Для смешанных образцов (внутриульевых и фуражирующих) пчел индикативное значение имеет большее число тяжелых металлов (Cd (P 0,033), Pb (P 0,0000), Zn (P 0,014), Mn (P 0,031), Fe (P 0,022)) по сравнению с внутриульевыми пчелами.

3. Обнаружены статистически значимые различия в содержании Fe, Zn, Mn, Cu, Pb, Co, Ni и Cd в образцах пчел различных функционально-возрастных групп, отобранных из одного местообитания (P 0,001-0,05): содержание тяжелых металлов в организме фуражирующих пчел превышает характерное для внутриульевых.

4. Продукты пчеловодства (мед, перга) могут быть рекомендованы в качестве биоиндикаторов состояния окружающей среды с учетом их ботанического происхождения. Сравнение образцов, отобранных на пасеках в загрязненных и фоновых районах, не выявило значимых различий между ними практически по всем тяжелым металлам, за исключением Pb (P<0,01) для меда и Cu (P<0,05) для перги, что может быть связано с их полифлорностью. Обнаруженное превышение санитарно-гигиенических нормативов по Pb и Cd для пищевых продуктов в нескольких образцах меда позволяет рекомендовать анализ тяжелых металлов в образцах меда в качестве дополнительного (проверочного) теста для подтверждения информации, полученной при анализе образцов пчел.

5. Выявлены различия парных ассоциаций элементов, характерные для организма пчел, обитающих в фоновых (Cu-Zn, R=0,46) и загрязненных (Cd-Zn, Cd-Mn, Cu-Zn, Zn-Mn, R=0,41–0,68) районах, свидетельствующие о нарушении естественного баланса микроэлементов в условиях антропогенного воздействия.

6. На основе выявленных в работе закономерностей накопления тяжелых металлов в медоносных пчелах и продуктах пчеловодства разработан методический подход к биоиндикации загрязнения атмосферного воздуха. В качестве информативного показателя предложен приведенный биоиндикационный показатель ( $K_{с,i}$ ), рассчитываемый как отношение содержания ( $C_{i,f}$ ) элемента в образце фуражирующих пчел к содержанию ( $C_{i,v}$ ) того же элемента в образце внутриульевых пчел:  $K_{с,i} = C_{i,f}/C_{i,v}$  адекватно характеризующий уровень атмосферного загрязнения водорастворимыми формами тяжелых металлов.

## СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

### *Статьи в журналах из списка ВАК*

1. **Скрёбнева, Л. А.** Использование медоносных пчел для биоиндикации уровня загрязнения атмосферного воздуха тяжелыми металлами / Л.А. Скрёбнева, Ф.С. Билалов, В.З. Латыпова, А.П. Шлычков // Вестник технологического университета. – 2015. – Т.18. – №17. – С. 248–252.
2. **Скрёбнева, Л. А.** Особенности аккумуляции тяжелых металлов в медоносных пчелах различных временных генераций / Л.А. Скрёбнева, Ф.С. Билалов, М.Н. Мукминов, В.З. Латыпова, И.С. Григорьева // Ученые записки Казанского университета. Серия Естественные науки. – 2012. – Т. 154. – Кн. 1. – С. 133–145.
3. **Скрёбнева, Л. А.** Биогеохимическая индикация загрязнения окружающей среды методом апимониторинга / Л.А. Скрёбнева, Ф.С. Билалов, И.С. Григорьева // Вестник Казанского технологического университета. – 2012. – № 13. – С. 201–205.
4. Билалов, Ф. С. Компьютерное сопровождение апи-мониторинга / Ф. С. Билалов, С. С. Мухарамова, **Л. А. Скрёбнева** // Казанский медицинский журнал. – 1992. – Т. 73. – № 4. – С. 292–295.
5. Билалов, Ф.С. Пчелопродукты и контроль окружающей среды / Ф.С. Билалов, Б.И. Колупаев, Ю.С. Котов, С.С. Мухарамова, **Л. А. Скрёбнева** // Пчеловодство. – 1992. – № 9/12. – С. 4–6.

### *Статья в журнале, включенная в базу цитирования Scopus*

6. Bilalov F. Seasonal Variation in Heavy-Metal Accumulation in Honey Bees as an Indicator of Environmental Pollution / F. Bilalov, **L. Skrebneva**, O. Nikitin, E. Shuralev, M. Mukminov // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. – 2015. – N 6(4) – P. 215–221.

### *Коллективная монография*

7. Апимониторинг в системе контроля загрязнения окружающей среды / Ф. С. Билалов, **Л. А. Скрёбнева**, В. З. Латыпова // Казань: Изд-во КГУ, 2010. – 264 с.

### *Статьи в других журналах, научных сборниках и материалах конференций*

8. Билалов Ф.С. Биогеохимическая индикация уровня загрязнения атмосферного воздуха тяжелыми металлами с использованием медоносных пчел различных функционально-возрастных групп / Ф. С. Билалов, **Л.А. Скрёбнева**, В.З. Латыпова // Тезисы докладов на Международном Научном Форуме “Бутлеровское наследие - 2015” (БН-2015), г. Казань 17-22 мая 2015 г. Симпозиум: Химия и экология продуктов пчеловодства, апимониторинг. – С. 52.

9. **Скробнева, Л.А.** Способ биогеохимической индикации с использованием медоносных пчел / Л. А. Скробнева, Ф.С. Билалов // Материалы Международной научно-практической конференции «Биотехнологии в решении экологических проблем природы, общества и человека в Евразии: взгляд молодых ученых и специалистов». – Казань, 2013. – С. 122–124.
10. **Скробнева, Л.А.** Использование показателей накопления тяжелых металлов в медоносных пчелах различных функциональных групп для оценки уровня загрязнения атмосферного воздуха / Л.А. Скробнева, Ф.С. Билалов // Труды Второй Всероссийской научной конференции с международным участием «Окружающая среда и устойчивое развитие регионов». – Казань, 2013. – С. 155–157.
11. Кольцова, Т.Г. Особенности аккумуляции тяжелых металлов в медоносных пчелах как элементе биогеоценоза / Т.Г. Кольцова, **Л.А. Скробнева**, Ф.С. Билалов // Труды Казанского отделения Русского энтомологического общества. Материалы докладов Чтений памяти профессора Эдуарда Александровича Эверсмманна, посвященных 220-летию со дня его рождения. Выпуск 3. – Казань: ООО "Новое знание", 2014. – С.43–49.
12. Bilalov, F.S. Development Of Bioindication Criteria With The Use Of Heavy Metals Accumulation Indexes In Honey Bees For Assessment Of Terrestrial Ecosystems Contamination / **L.A. Skrebneva**, F.S. Bilalov // XXXXIII International Apicultural Congress, Scientific Program “Beyond The Hive: Beekeeping & Global Challenges”. – Kyiv, Ukraine, 2013. – P. 338.
13. Билалов, Ф.С. Способ оценки уровня загрязнения наземных экосистем методом апимониторинга / Ф.С. Билалов, О.Р. Бадрутдинов, **Л.А. Скробнева**, Р.С. Тюменев // В Сб. материалов Международной научно-практической конференции «Биотехнология: токсикологическая, радиационная и биологическая безопасность». – Казань, 2010. – С. 197–200.
14. Билалов, Ф.С. Контроль загрязнения окружающей среды с помощью пчел и продуктов пчеловодства (апи-мониторинг) / Ф.С. Билалов, Б.И. Колупаев, Ю.С. Котов, С.С. Мухарамова, **Л.А. Скробнева** // В Сб. статей: Эколого-токсикологическая характеристика г. Казани и пригородной зоны. – Казань: Изд-во КГУ, 1991. – С. 130–137.
15. Билалов, Ф.С. Определение загрязнения окружающей среды с помощью апи-мониторинга / Ф.С. Билалов, Б.И. Колупаев, **Л.А. Скробнева** // В Сб. статей: Эколого-токсикологическая характеристика г. Казани и пригородной зоны. – Казань: Изд-во КГУ, 1991. – С.78–86.
16. Билалов, Ф.С. Использование пчел и продуктов пчеловодства для мониторинга антропогенного воздействия / Ф.С. Билалов, **Л.А. Скробнева**, Б.И. Колупаев / Тезисы докладов научной конференции «Экологические проблемы охраны живой природы». – М., 1990. – Ч. 3. – С. 108–109.
17. Билалов, Ф.С. Определение загрязнения окружающей среды методами апи-мониторинга / Ф.С. Билалов, С.А. Лучкина, **Л.А. Скробнева**, И.В. Овчинников, Ю.С. Котов // Тезисы докладов Всесоюзной конференции «Экологические проблемы фармакологии и токсикологии». – Казань, 1990. – С. 15–16.

#### *Патент*

18. Патент 2428716 Российская Федерация, МПК9 G1T 1/169. Способ оценки загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами с использованием продуктов пчеловодства / Билалов Ф.С. **Скробнева Л.А.**; заявитель и патентообладатель ГОУ ВПО КГУ – № 2010117444/28; заявл. 30.04.2010; опубл. 10.09.2011, Бюл. № 25. – 6 с.