ВЛИЯНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ

С.В. Сладкова[1,2], В.А. Любимцев[1], С.В. Холодкевич[1,3]

[1]Санкт–Петербургский научно–исследовательский центр экологической безопасности РАН – обособленное структурное подразделение ФГБУН «Санкт–Петербургский Федеральный исследовательский центр РАН»
197110, Санкт–Петербург, Корпусная ул., дом 18
[2]Санкт–Петербургский государственный университет,
199034, Санкт–Петербург, Университетская наб., дом 7–9, sladkova_sv1@mail.ru
[3]Институт биологии внутренних вод имени И.Д. Папанина РАН
152742, Ярославская обл., Некоузский р–н, п. Борок, 109

Проведено исследование влияния тяжелых металлов на функциональное состояние двустворчатых моллюсков *Dreissena polymorpha*. Получено, что токсическое действие тяжелых металлов (кадмия, меди, цинка) на функциональное состояние моллюсков, оцениваемое по интенсивности аэробного энергообмена, зависит от конкретного металла, его концентрации и длительности воздействия.

Загрязнение природных экосистем тяжелыми металлами (ТМ), особенно кадмием, продолжает оставаться одной из серьезных экологических проблем во всем мире. ТМ являются распространенными, не поддающимися биологическому разложению токсикантами. Моллюски, накапливающие ТМ в своих тканях, широко используются в качестве биоиндикаторов в мониторинге экологического состояния водных объектов. Однако накопление ТМ может вызывать нарушение клеточного метаболизма. В литературе есть данные о вредном воздействии кадмия и меди на пресноводных и морских моллюсков [1–4]. Изменение скорости аэробного дыхания является проявлением одного из наиболее общих физиологических ответов на стресс, вызванный вредными загрязнителями среды обитания, поскольку оно интегрирует в себе изменения скорости обменных процессов на молекулярном уровне. Поэтому, интенсивность аэробного дыхания моллюсков, которую можно оценивать по скорости потребления кислорода ими, можно рассматривать в качестве показателя функционального состояния.

Двустворчатые моллюски используются в качестве организмов–индикаторов для изучения токсического действия металлов в водных экосистемах [1, 5]. Находясь в неблагоприятных условиях антропогенного давления на водную среду, двустворчатые моллюски демонстрируют две стратегии поведения: либо пытаются адаптироваться с помощью компенсаторных механизмов, которые требуют дополнительной энергии, и поэтому они увеличивают скорость потребления кислорода; либо изолируются, увеличивая время нахождения в закрытом состоянии при этом резко уменьшая скорость потребления кислорода. Выбор стратегии поведения зависит от многих факторов, в том числе и от концентрации токсиканта в среде [2, 3, 4].Однако, обе стратегии, в конечном итоге, приводят к истощению энергетических резервов, что сказывается на функциональном состоянии животных. Это истощение можно выявить, применяя в качестве функциональной нагрузки вынужденную физическую активность, требующую максимальных затрат энергии. Максимальная скорость потребления кислорода обычно устанавливает верхний предел интенсивности работы (например, скорости передвижения), которую животное может выдержать без усталости и является критерием аэробной мощности. Подход, заключающийся в измерении потребления кислорода при максимальной физической нагрузке, широко используется для оценки функциональных возможностей кардиореспираторной системы животных и человека. Так, состояние кардиореспираторной системы человека, оцениваемое таким образом, используют в качестве клинического показателя жизнедеятельности.

Преимущество использования именно этого показателя для оценки функционального состояния двустворчатых моллюсков заключается в возможности обнаружения начальных эффектов влияния загрязнителей на живой организм, когда другие сублетальные эффекты воздействия еще не проявляются. Кроме того, измерение интенсивности аэробного метаболизма при вынужденной активности позволяет избежать характерного для физиологии чередования состояний фильтрационной активности и покоя, характеризующегося отсутствием потребления кислорода из среды при закрытых створках. Для зарывающихся в грунт моллюсков, например, для *Limecola balthica* (L), в качестве такой активности, можно рассматривать двигательную активность при зарывании в грунт. Ранее, применяя данный подход, нами показано, что Cd влияет на функциональное состояние, изменяя поведение и интенсивность аэробного метаболизма [4].

В настоящей работе проведено экспериментальное изучение влияния ТМ, а именно кадмия (Cd^{2+}), меди (Cu^{2+}) и цинка (Zn^{2+}) на физиологическое состояние двустворчатых моллюсков *Dreissena polymorpha,* оцениваемое по интенсивности аэробного метаболизма. Изучали действие ТМ на моллюсков *Dreissena polymorpha*, измеряя интенсивность аэробного метаболизма моллюсков сразу после экспозиции на воздухе, при перемещении их из загрязненной среды в чистую воду. Экспозиция на воздухе выполняла функцию стрессирующего фактора и приводила к закрытию створок, а опускание дрейссен в чистую воду приводило к открытию створок и интенсивной фильтрации, что рассматривали в качестве вынужденной активности. ТМ использовались в двух концентрациях, минимальные значения их выбирались исходя из содержания этих

металлов в сточных водах на входе Юго–Западных очистных сооружений Санкт–Петербурга по данным многолетних наблюдений.

После недельной акклимации к лабораторным условиям при температуре 17^0С моллюски брались в эксперимент. Дрейссен помещали в пластиковые контейнеры (объем 20л) с отстоянной водопроводной водой и раздельной концентрацией в ней Cd^{2+}: 0 − контроль, 0,1 и 0,5 мг/л; Zn^{2+}: 0 − контроль, 0,2 и 2 мг/л; Cu^{2+}: 0 − контроль, 0,035 и 0,35 мг/л. Кормили дрейссен водорослями раз в три дня, меняя воду на следующий день после кормления. Все эксперименты проводились в климатической комнате при указанной выше температуре. Воздействие ТМ на двустворчатых моллюсков изучалось как при кратковременной экспозиции (24−72 часа), так и при длительной – 10 суток. Скорость потребления кислорода моллюсками измерялась в начале и в конце экспозиции.

Для измерения скорости дыхания дрейссен, после выдержки их на воздухе в течение 5 минут, индивидуально помещали в пластиковые прозрачные измерительные контейнеры объемом 100 мл. Контейнеры заполняли аэрированной (более 90% насыщения кислородом) водой без пузырей и герметично закрывали крышками, в которые кроме полярографического электрода была встроена лопасть для механического перемешивания воды. Измерения концентрации кислорода в контейнере начинали сразу после закрытия крышкой. Длительность нахождения в измерительном контейнере (респирометре) составляла 2 часа, концентрация кислорода в респирометре измерялась через каждые 5 минут в первые 30 минут, далее каждые 10 минут. Концентрацию кислорода измеряли портативным оксиметром HI 9142 (Hanna Instruments, Германия) с автоматической температурной компенсацией и погрешностью измерения 2.5%. В момент измерения производили перемешивание для равномерного распределения растворенного кислорода в респирометре в течение 2 минут. За это время показания оксиметра стабилизировались. После окончания экспериментов моллюски извлекались из раковины, взвешивались, и рассчитывалась интенсивность потребления кислорода по формуле:

$$V\,O_2 = 60\,[C(t_1) - C(t_2)]\,v\,/(t_1 - t_2)w,$$

где $V\,O_2$ – скорость потребления кислорода ($мгO_2/г*час$), t_1, t_2 – время начала и конца интервала (мин), C(t) – концентрация кислорода в среде в момент времени t (мг/л),v – объем сосуда (л), w – влажный вес (г). $C(t_2)$– корректируется на величину фона, если величина фона не превышает 5%.

Результаты экспериментов по воздействию Cd^{2+}, Zn^{2+} и Cu^{2+} на максимальную скорость потребления кислорода дрейссенами представлены в таблице. Видно, что биологический эффект зависел от концентрации и длительности воздействия металлов, однако дозозависимый эффект наблюдался только при воздействии Cd^{2+}. Так, после суточного воздействия Cd^{2+} в концентрации 0,1 мг/л на моллюсков *Dreissena polymorpha* эффекта еще не наблюдалось, поскольку скорость потребление кислорода достоверно не отличалась от контроля. При этом все моллюски закрывались при вытаскивании их из воды на воздух и снова открывались в первые несколько минут после помещения их обратно в воду измерительной камеры. Продолжение воздействия до 72 часов, вероятно, приводит к нарушению наблюдаемой в контроле реакции открытия створок при помещении в чистую воду после 5–минутной воздушной экспозиции, и поэтому регистрируемое изменение концентрации кислорода в респирометре с дрейссенами не отличается от фона. Тот же эффект наблюдается и при увеличении времени экспозиции до 10 суток, все моллюски (n=7) закрыты и не потребляют кислород из воды в респирометре. Сходная картина наблюдалась и при воздействии 0,5мг/л Cd^{2+}, только уменьшение скорости потребления кислорода происходило уже после 24 часов.

Таблица. Воздействие Cd^{2+}, $Cu2^{+}$ и Zn^{2+}на потребление кислорода моллюсками *Dreissena polymorpha.*

Виды загрязнителей	24ч		72ч		10суток	
	VO_2 $мгO_2/ч\times г_{в.в}$	Кол–во дышащих моллюсков	VO_2 $мгO_2/ч\times г_{в.в.}$	Кол–во дышащих моллюсков	VO_2 $мгO_2/ч\times г_{в.в.}$	Кол–во дышащих моллюсков
Контроль	0.448±0.105	6 из 6	0.441±0.091	6 из 6	0.413±0.021	6 из 6
Cd^{2+}0,1 мг/л	0.350±0.124	5 из 5	–	0 из 7	–	0 из 7
Cd^{2+} 0,5 мг/л	0.245±0.028	5 из 5	–	0 из 7	–	0 из 7
Cu^{2+} 0,035мг/л	0.378±0.154	5 из 5	0.413±0.112	5 из 5	–	0 из 5
Cu^{2+} 0,35 мг/л	0.224±0.105	5 из 5	0.287±0.119	4 из 5	–	0 из 5
Zn^{2+} 0,2 мг/л	0.406±0.133	5 из 5	0.119±0.070	3 из 6	–	0 из 6
Zn^{2+} 2 мг/л	0.217±0.109	5 из 5	0.161±0.117	3 из 6	–	0 из 6

В целом можно сделать вывод, что острое (до 72 часов) и особенно длительное (10 суток) воздействие ТМ приводит к ухудшению функционального состояния моллюсков исходя из того, что аэробная мощность уменьшается вплоть до невозможности ее оценить при полном смыкании створок. Полное смыкание створок при воздействии тяжелых металлов у моллюсков связано не с физиологическими реакциями адаптации, а является результатом токсического действия металлов на молекулярном уровне, приводящим к нарушению систем регуляции и угнетению аэробного метаболизма. В работе Шаланки [2] показано, что ТМ (Cu^{2+}, Hg^{2+}, Cd^{2+}, Pb^{2+}, Zn^{2+}) влияют на проницаемость различных ионных каналов, приводя к выраженному изменению

активности аддуктора приводящих мышц, которые поддерживают фильтрующую активность, закрывая и открывая раковины.

Анализ всех полученных нами результатов позволяет сказать, что кадмий наиболее токсичен для двустворчатых моллюсков, что согласуется с литературными данными. Так, например, показано, что пороговая концентрация, приводящая к полному смыканию створок у перловицы обыкновенной *Unio pictorum* в течение 2 часов, для ионов меди составляет 68 мг/л, а для кадмия 1,8 мг/л [6]. Наши результаты подтверждают гипотезу, что в сублетальных концентрациях эссенциальные металлы Cu^{2+} и Zn^{2+} действуют на дыхательную систему преимущественно за счет нарушения функции жабр, что приводит к развитию внутренней гипоксии, однако репарация может быть осуществлена даже при «высоких» сублетальных концентрациях. Более токсичный металл Cd^{2+} воздействует на дыхательную систему на всех уровнях организации, включая само клеточное дыхание [7]. Возможно, это объясняется тем, что атомный радиус кадмия практически полностью совпадает с радиусом ионов двухвалентного кальция (Ca^{2+}), поэтому кадмий, «маскируясь» под кальций, который является важнейшим регулятором многих внутриклеточных процессов, осуществляет свое токсическое воздействие наиболее выражено, вызывая гибель клеток и организма в целом. Также показано, что загрязнения различной природы, особенно тяжелые металлы, оказывают ингибирующее влияние на отдельные группы ферментов, главным образом, кислородтранспортной и кислородакцепторной систем, приводящее к глубокой перестройке метаболизма в целом [1, 3].

Список литературы:

1. Naimo T.J. A review of the effects of heavy metals on freshwater mussels // Ecotoxicology. 1995. Vol.4. P. 341–362.
2. Salanki J. Heavy metal induced behaviour modulation in mussels: possible neural correlates // Acta Biol. Hungaria. 1992. № 43. P. 375–386.
3. Molnar, N., Fong P.P. Toxic effects of copper, cadmium, and methoxychlor shown by neutral red retention assay in two species of freshwater mollusks //The Open Environmental Pollution and Toxicology Journal. 2012. Vol.3. P. 65–71.
4. Шаров А.Н., Березина Н.А., Куприянов И., Сладкова С. В., Камардин Н. Н., Шигаева Т.Д., Кудрявцева В.А., Холодкевич С. В. Кадмий в восточной частит Финского залива. Содержание и воздействие на моллюсков *Limecola Baltica* // Геохимия. 2022. Т. 67. № 7. С. 686–695.
5. Byrne RA, O'Halloran J. The role of bivalve mollusks as tools in estuarine sediment toxicity testing: a review // Hydrobiologia. 2001. Vol. 465. P. 209–217.
6. Попов. А.Н., Фоминых А.С., Ушакова О.С., Мухутдинов В.Ф., Сечкова Н.А. Определение чувствительности моллюсков, инсталлированных в системе оперативного мониторинга токсичности воды «Simbio» к воздействию загрязняющих веществ. Сообщение 1. Ионы тяжелых и цветных металлов в интервале концентраций 0–20 ПДК для культурно–бытовых водных объектов. Водное хозяйство России. 2011. № 2. С. 72.
7. Spicer J.I., Weber R.E. Respiratory impairment in crustaceans and molluscs due to exposure to heavy metals // Comp. Biochem. Physiol. C. 1991. Vol. 100. № 3. P. 339–342.

ЛЕТНИЙ ФИТОПЛАНКТОН РАЙОНА КИЖСКИХ ШХЕР ОНЕЖСКОГО ОЗЕРА И ЕГО ИЗМЕНЕНИЯ В РЕЗУЛЬТАТЕ АНТРОПОГЕННОГО ВЛИЯНИЯ

В.С. Смирнова

Институт водных проблем Севера КарНЦ РАН,
185030 г. Петрозаводск, Республика Карелия, SmirnovaLera24@yandex.ru

Дана количественная и структурная характеристика летнего фитопланктона района Кижских шхер Онежского озера в современный период. Отмечено увеличение количественных показателей развития фитопланктона в летний период по сравнению с многолетними исследованиями.

Кижские шхеры располагаются в северо–западной части Онежского озера и отличаются уникальным геологическим строением от всех других районов водоема [1]. На данной территории благодаря геологическим и ландшафтным особенностям сформировались особые условия для развития биоценозов, как наземных, так и водных [1, 2]. На Кижском архипелаге располагаются Государственный заказник «Кижский» и музей–заповедник «Кижи» [1, 2]. Из–за большого количества водного транспорта, и хозяйственно–бытовых сточных вод, акватория данного района испытывает большую антропогенную нагрузку [2, 3].

Являясь первичным продуцентом органического вещества и начальным звеном в трофической цепочке, фитопланктон быстро реагирует на различные изменения в водной среде, тем самым являясь одним из главных индикатором состояния окружающей среды [4, 5]. В фитоценозе Онежского озера наиболее высоким видовым разнообразием отличается летний фитопланктон.

Целью исследования являлось оценить современное состояние летнего фитопланктона района Кижских шхер Онежского озера и его возможные изменения в результате антропогенного влияния.