

УДК 594-1.044:546.3/.7Т
ББК 28.691.9:2.4.115.1

Н. А. Каниева, В. В. Андреев, Н. Н. Фёдорова, О. В. Гольбина

**ВОЗДЕЙСТВИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ
НА ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ОРГАНИЗМА
ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ**

N. A. Kanieva, V. V. Andreev, N. N. Fedorova, O. V. Golbina

**EFFECT OF HEAVY METALS
ON CHEMICAL BODY STRUCTURE OF BIVALVES**

Представлены результаты исследований влияния тяжелых металлов на двустворчатых моллюсков рода *Unio*. Установлено, что содержание металлов в организме моллюсков находится в зависимости от концентрации и времени их воздействия. Определено антагонистическое воздействие кадмия на накопление свинца. Выявлено влияние поллютантов на количество белка в организме моллюсков – содержание формально титруемого азота заметно возрастает в зависимости от вида поллютанта или их совместного воздействия.

Ключевые слова: биотестирование, моллюски, тяжелые металлы, белковый обмен, экологическая обстановка.

The results of the research on the effect of heavy metals on bivalves of *Unio* kind are presented. It has been determined that the amount of metals in the bodies of shells depends on the concentration and the duration of their impact. Antagonistic influence of cadmium on the accumulation of lead has been defined. There has been also revealed the effect of pollutants on the quantity of protein in the shell bodies. The presence of nitrogen that can be titrated by formol is considerably increasing depending on the kind of pollutant or their joint effect.

Key words: biotesting, shells, heavy metals, protein metabolism, ecological environment.

Введение

Традиционно используемые при оценке качества водной среды величины предельно допустимых концентраций (ПДК) не позволяют ни предсказать эффекты всех возможных комбинаций поллютантов на биоту, ни выявить последствия импульсных воздействий. Они предназначены для предотвращения и контроля неблагоприятных последствий загрязнения на окружающую среду. Известны методики биотестирования с использованием культур ракообразных и микроводорослей, которые используются при анализе токсичности водной среды [1, 2]. Множество комбинаций синергических, антагонистических и маскирующих эффектов антропогенных факторов, а также необходимость соотнесения этих эффектов с изменениями в реальных сообществах выдвигают на первый план проблему дальнейшей разработки методов интегральной оценки влияния поллютантов на водные организмы [3, 4].

Основным методом оценки состояния пресноводных экосистем является биоиндикация – метод определения качества среды обитания по видовому составу и структуре сообществ, а также определения по показателям количественного развития видов-биоиндикаторов. Общеизвестно, что наиболее консервативными и пригодными для биомониторинга являются бентосные организмы. Однако для водоемов с нестабильной экологической обстановкой использование этого метода оказывается затруднительным. Так, в последние годы наблюдаются значительные изменения в структуре прибрежных экосистем. В результате бентоснопланктона взаимодействий наблюдаются значительные колебания численности и биомассы донных организмов [5, 6]. В связи с этим стало значительно сложнее выявить появление и динамику видов-биоиндикаторов, а также однозначно связать изменения в структуре сообществ с загрязнением. Кроме того, виды-биоиндикаторы развиваются в экосистемах в основном при хроническом загрязнении. Но возможность заливового загрязнения прибрежных акваторий водным транспортом и плохо контролируемыми бытовыми стоками остается важной проблемой. Именно поэтому в настоящее время рациональным и целесообразным представляется изучение физиологического состояния организма животных в ответ на воздействия различных поллютантов.

Целью исследований было выявление физиологических показателей в организме двустворчатых моллюсков, отражающих, с одной стороны, уровень антропогенной нагрузки на прибрежные экосистемы, а с другой – позволяющих диагностировать хроническое воздействие загрязняющих веществ.

Для достижения этой цели был проведен эксперимент по определению степени влияния свинца как отдельно, так и в комплексе с кадмием на организм моллюсков.

Материал и методы исследования

Объектом исследования служили двустворчатые моллюски рода *Unio*. Предварительно, до эксперимента, моллюски выдерживались в аквариумах с речной водой, смешанной с отстоянной водопроводной водой, в течение 7 суток. Опыты проводили в 70-литровых аквариумах при постоянной аэрации воды, при плотности посадки моллюсков 15 экз. на емкость. Эксперимент проводили в двух вариантах по общепринятым методикам [7]. В первом варианте концентрация раствора свинца (Pb) и во втором варианте – свинца и кадмия (Pb + Cd) в емкостях составляла 10 и 50 мг/л соответственно. Контрольным вариантом служили особи в аналогичных емкостях с отстоянной и аэрированной водой без добавления токсикантов. Через 10, 20, 30 суток пробы отбирали для определения содержания в организме моллюсков тяжелых металлов. Для проведения исследований раковину моллюсков отделяли от мягких тканей. Определение содержания свинца и кадмия в организме моллюсков проводили в соответствии с ГОСТ Р 51301-99, регламентирующим методику проведения испытания [8]. Определение химического состава (белок, общий азот, жир, минеральные вещества) в организме двустворчатых моллюсков проводилось стандартными методами [9]. В образцах фарша моллюсков определяли формально титруемый азот и свободную аминокислоту – тирозин [10]. Материалы исследований обработаны статистически [11] с использованием компьютерной программы Microsoft Excel. Достоверность полученных различий оценивали по *t*-критерию Стьюдента (при уровне зависимости 0,01–0,05).

Результаты исследований и их обсуждение

Исследования показали, что при добавлении в емкости с моллюсками раствора, содержащего 10 мг/л свинца, через 20 и 30 суток эксперимента количество металла в организме моллюсков увеличивалось в 2,0 и 3,6 раза соответственно относительно контроля ($p < 0,01$). В аквариумах с добавлением раствора, содержащего 50 мг/л свинца в теле двустворчатых моллюсков, количество металла возрастало в зависимости от экспозиции (10, 20 и 30 сут) относительно контрольного значения (в 1,9; 2,3 и 3,1 раза; $p < 0,01$).

При совместном действии растворов двух токсикантов (Cd + Pb – второй вариант эксперимента) в концентрациях 10 и 50 мг/л выявлена аналогичная динамика – значительное накопление в организме моллюсков этих металлов в зависимости от времени воздействия – от 10 до 30 суток, однако их фактические значения были ниже (в 1,03–1,04 раза) относительно контроля, чем в первом варианте эксперимента.

Во втором варианте содержание кадмия в теле моллюсков возрастало с увеличением концентраций и времени воздействия. Установлено более интенсивное накопление кадмия (от 5,7 до 9,9 раза больше, чем в контрольных организмах; $p < 0,01$).

Ряды концентрирования металлов в организме моллюсков при воздействии раствора свинца и совместного раствора (Cd + Pb) в концентрации 50 мг/л представлены следующим образом:

$$1,12 \text{ (Pb + Cd)} > 1,41 \text{ (Pb + Cd)} > 1,97 \text{ Pb} > 2,41 \text{ Pb} > 3,27 \text{ Pb}$$

Результаты экспериментов показали, что содержание металлов в организме моллюсков находится в прямой зависимости от концентрации металлов и времени воздействия этих поллютантов. При совместном добавлении растворов (Pb + Cd) во всех концентрациях уровень содержания свинца «тормозится» при добавлении кадмия. Следовательно, кадмий проявляет антагонистическое воздействие на накопление свинца в организме двустворчатых моллюсков.

Повышенная концентрация Pb и Cd в воде аквариумов сопровождалась не только статистически достоверной биокумуляцией ионов этих металлов в теле моллюсков, но и значительными изменениями минерального, липидного, белкового обмена, а также активности ферментов (табл.). Так, процентное содержание белка в организме моллюсков снижалось под воздействием свинца

и оставалось стабильным, близким к контролю, вне зависимости от длительности опыта при воздействии кадмия, и даже повышалось при совместном действии кадмия и свинца. Удельный вес общего азота колебался под воздействием этих поллютантов незначительно в сторону возрастания. Уровень содержания формольно титруемого азота заметно повышался в зависимости от вида поллютента – кадмия или свинца или при их совместном воздействии. Обращает на себя внимание разное снижение этого показателя при действии свинца через 30 суток от начала опыта и едва заметное повышение – при действии того же металла при больших концентрациях. Уровень тирозина, как и удельный вес жиров, незначительно снижался в зависимости от продолжительности опыта. Удельный вес влаги в организме моллюсков почти не отличался при всех условиях опыта от его количества в контрольных группах. Процентное содержание минеральных веществ повышалось под воздействием кадмия и под комплексным воздействием кадмия и свинца при продолжительности опыта в десять суток, в остальных опытах колебания минеральных веществ были незначительными.

**Изменения химического состава тела моллюсков
в зависимости от продолжительности эксперимента и концентрации токсикантов**

Экспозиция	Концентрация токсиканта	Белок, %	Общий азот, %	ФТА, мг/100 г	Тирозин, мг/100 г	Жир, %	Минеральные вещества, %
10 суток	Контроль	14,9207 ± ± 0,0972	2,3872 ± ± 0,0155	122,88 ± ± 0,5508	1,92 ± ± 0,0148	2,5233 ± ± 0,0803	2,024 ± ± 0,0739
	Pb 50	13,8541 ± ± 0,0896	2,2166 ± ± 0,0143	144,56 ± ± 0,6443	1,65 ± ± 0,0071	2,4437 ± ± 0,0974	2,2354 ± ± 0,0829
	Cd 50	14,5634 ± ± 0,1014	2,3300 ± ± 0,0162	137,34 ± ± 1,1597	1,19 ± ± 0,0058	2,1101 ± ± 0,1066	3,4757 ± ± 0,0755
	Cd 100	15,1135 ± ± 0,0581	2,4181 ± ± 0,0093	166,25 ± ± 0,7961	1,62 ± ± 0,0141	2,1414 ± ± 0,0885	3,5292 ± ± 0,0764
	Pb + Cd 50	15,1034 ± ± 0,1119	2,4165 ± ± 0,0179	148,18 ± ± 0,8429	1,34 ± ± 0,0070	2,5641 ± ± 0,0756	2,5020 ± ± 0,0662
20 суток	Контроль	14,9220 ± ± 0,0949	2,3875 ± ± 0,0151	108,42 ± ± 0,0968	1,52 ± ± 0,0141	2,5223 ± ± 0,0969	2,0237 ± ± 0,0651
	Pb 10	13,8438 ± ± 0,0601	2,2150 ± ± 0,0096	197,13 ± ± 1,0261	2,07 ± ± 0,0168	2,2876 ± ± 0,0859	2,1367 ± ± 0,0678
	Pb 50	14,0926 ± ± 0,0669	2,2548 ± ± 0,0107	122,88 ± ± 1,1371	1,29 ± ± 0,0104	2,4078 ± ± 0,0919	2,3120 ± ± 0,1017
	Pb 100	13,8725 ± ± 0,1192	2,2196 ± ± 0,0191	148,82 ± ± 0,9709	1,61 ± ± 0,0145	2,0832 ± ± 0,1043	2,3557 ± ± 0,0720
	Cd 10	13,5932 ± ± 0,1423	2,1749 ± ± 0,0290	79,51 ± ± 0,0772	1,3 ± ± 0,0089	2,1023 ± ± 0,0759	2,2383 ± ± 0,0726
	Pb + Cd 10	14,6144 ± ± 0,2092	2,3384 ± ± 0,0334	137,34 ± ± 0,8761	1,76 ± ± 0,0105	2,2919 ± ± 0,0667	2,6332 ± ± 0,0877
	Pb + Cd 50	15,2003 ± ± 0,1815	2,4320 ± ± 0,0290	148,18 ± ± 0,8953	1,93 ± ± 0,0104	2,4708 ± ± 0,0682	2,7798 ± ± 0,0550
	Pb + Cd 100	15,8041 ± ± 0,1893	2,5286 ± ± 0,0303	144,56 ± ± 0,9484	1,65 ± ± 0,0084	1,6223 ± ± 0,0788	2,9604 ± ± 0,1037
30 суток	Контроль	14,9241 ± ± 0,1724	2,3878 ± ± 0,0275	104,81 ± ± 0,5052	1,34 ± ± 0,0089	2,5222 ± ± 0,0720	2,0239 ± ± 0,0990
	Pb 10	14,1569 ± ± 0,1660	2,2651 ± ± 0,0265	83,12 ± ± 0,8626	1,29 ± ± 0,0100	2,0367 ± ± 0,0639	2,2507 ± ± 0,1075
	Pb 50	14,1509 ± ± 0,2093	2,2641 ± ± 0,0334	108,42 ± ± 0,7038	1,73 ± ± 0,0071	2,3685 ± ± 0,0840	2,5354 ± ± 0,0883
	Pb 100	14,0162 ± ± 0,1677	2,2429 ± ± 0,0269	122,88 ± ± 0,6116	1,41 ± ± 0,0105	1,9213 ± ± 0,0553	2,4296 ± ± 0,0754

Заключение

Таким образом, выявлено влияние поллютантов (свинца и кадмия) на количество белка в организме моллюсков, что особенно заметно по колебаниям уровня формольно титруемого азота.

Следовательно, воздействие тяжелых металлов на двустворчатых моллюсков, как отдельно, так и комплексно, позволяет выявить последствия загрязнений на их естественные популяции.

Хронические загрязнения среды различаются по вызываемым ими реакциям в организмах двустворчатых моллюсков и могут быть дифференцированы только с использованием физиологических показателей.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Филенко О. Ф. Биологические методы в контроле качества окружающей среды // Экологические системы и приборы. – 2007. – № 6. – С. 18–20.
2. Лукашев Д. В. Метод расчета фоновых концентраций тяжелых металлов в мягких тканях двустворчатых моллюсков для оценки загрязнения р. Днепр // Биология внутренних вод. – 2007. – № 4. – С. 97–106.
3. Комплексная оценка качества водной среды с помощью биомаркеров разного уровня / И. П. Руднева, Н. Ф. Шевченко, Л. С. Овен, И. Н. Залевская, Е. Н. Скуратовская // Актуальные проблемы водной токсикологии. – Борок: Ин-т биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина, 2004. – С. 124–150.
4. Никаноров А. М., Жулидов А. В. Биомониторинг металлов в пресноводных экосистемах. – Л.: Гидрометеоиздат, 1991. – 291 с.
5. Строганов Н. С. Допустимые уровни загрязнения водоемов // Влияние загрязняющих веществ на гидробионтов и экосистемы водоемов. – Л.: Наука, 1979. – С. 9–16.
6. Кучерук Н. В. Макрообентос Кавказского побережья Черного моря: влияние пелагических и донных видов-вселенцев // Материалы X науч. конф. Беломор. биол. станции им. Н. А. Перцова, 9–10 августа 2006 года. – С. 68–70.
7. Лукьяненко В. И., Карпович Т. А. Биотестирование на рыбах: Методические рекомендации / АН СССР, Ин-т биологии внутр. вод им. И. Д. Папанина. – Рыбинск, 1989. – 96 с.
8. ГОСТ Р 51301-99. Продукты пищевые и продовольственное сырье. Инверсионно-вольтамперометрические методы определения содержания токсичных элементов (кадмия, свинца, меди и цинка). – М., 1999.
9. Рогов И. А., Антипова Л. В., Дунченко Н. И. Химия пищи: учеб. для вузов. – М.: КолосС, 2007. – 700 с.
10. Черногорцев А. П., Разумовская Р. Г. Технология получения новых белковых продуктов: учеб. пособие для вузов. – Мурманск, 1999. – 76 с.
11. Плохинский Н. А. Биометрия. – М.: Изд-во МГУ, 1982. – 302 с.

REFERENCES

1. Filenko O. F. Biologicheskie metody v kontrole kachestva okruzhaiushchei sredy [Biological methods in control of the environment quality]. *Ekologicheskie sistemy i pribory*, 2007, no. 6, pp. 18–20.
2. Lukashev D. V. Metod rascheta fonovykh kontsentratsii tiazhelykh metallov v miagkikh tkaniakh dvustvorchatykh molliuskov dlja otsenki zagriaznenija r. Dnepr [Methods of calculation of background concentrations of heavy metals in soft tissues of bivalves to assess the pollution degree of the river Dnepr]. *Biologija vnutrennikh vod*, 2007, no. 4, pp. 97–106.
3. Rudneva I. P., Shevchenko N. F., Oven L. S., Zalevskaia I. N., Skuratovskaia E. N. Kompleksnaia otsenka kachestva vodnoi sredy s pomoshch'iu biomarkerov raznogo urovnija [Complex assessment of the water environment quality using biomarkers of different levels]. *Aktual'nye problemy vodnoi toksikologii*. Borok, Institut biologii vnutrennikh vod im. I. D. Papanina, 2004, pp. 124–150.
4. Nikanorov A. M., Zhulidov A. V. *Biomonitoring metallov v presnovodnykh ekosistemakh* [Biomonitoring of metals in freshwater ecosystems]. Leningrad, Gidrometeoizdat Publ., 1991. 291 p.
5. Stroganov N. S. *Dopustimye urovni zagriaznenija vodoemov* [Allowable levels of water basins pollution]. Vliianie zagriazniaiushchikh veshchestv na gidrobiontov i ekosistemy vodoemov [Influence of polluting substances on hydrobionts and water basins environment]. Leningrad, Nauka Publ., 1979, pp. 9–16.
6. Kucheruk N. V. Makrozoobentos Kavkazskogo poberezh'ia Chernogo moria: vliyanie pelagicheskikh i donnykh vidov-vselentsev [Macrozoobenthos of the Caucasian coast of the Black Sea: influence of pelagic and bottom species]. *Materialy X nauchnoi konferentsii Belomorskoi biologicheskoi stantsii im. H. A. Pertsova, 9–10 avgusta 2006 goda*, pp. 68–70.
7. Luk'yanenko V. I., Karpovich T. A. *Biotestirovanie na rybach. Metodicheskie rekomendatsii* [Fish bio-testing. Methodical recommendations]. Rybinsk, AN SSSR, Institut biologii vnutrennikh vod im. I. D. Papanina, 1989. 96 p.
8. ГОСТ Р 51301-99. *Produkty pishchevye i prodrovol'stvennoe syr'e. Inversionno-vol'tamperometricheskie metody opredeleniya soderzhanija toksichnykh elementov (kadmiia, svintsa, medi i tsinka)* [Foodstuff and productive raw material. Inversion voltammetric methods of determination of the toxic elements composition]. Moscow, 1999.
9. Rogov I. A., Antipova L. V., Dunchenko N. I. *Khimiia pishchi* [Food chemistry]. Moscow, KolosS, 2007. 700 p.
10. Chernogortsev A. P., Razumovskaia R. G. *Tekhnologija poluchenija novykh belkovykh produktov* [Technology of obtaining new protein products]. Murmansk, 1999. 76 p.
11. Plokhinskii N. A. *Biometriia* [Biometry]. Moscow, Izd-vo MGU, 1982. 302 p.

Статья поступила в редакцию 14.09.2012

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Каниева Нурия Абдрахимовна – Астраханский государственный технический университет; г-р биол. наук, профессор; профессор кафедры «Прикладная биология и микробиология»; kanievana52@mail.ru.

Kanieva Nuria Abdrrakhimovna – Astrakhan State Technical University; Doctor of Biological Sciences, Professor; Professor of the Department "Applied Biology and Microbiology"; kanievana52@mail.ru.

Андреев Виктор Викторович – Астраханский государственный технический университет; канд. биол. наук, доцент; доцент кафедры «Прикладная биология и микробиология»; v_andreev@list.ru.

Andreev Victor Victorovich – Astrakhan State Technical University; Candidate of Biological Sciences, Assistant Professor; Assistant Professor of the Department "Applied Biology and Microbiology"; v_andreev@list.ru.

Фёдорова Надежда Николаевна – Астраханский государственный технический университет; г-р мед. наук, профессор; профессор кафедры «Гидробиология и общая экология»; kanievana52@mail.ru.

Fedorova Nadezhda Nickolaevna – Astrakhan State Technical University; Doctor of Medical Sciences, Professor; Professor of the Department "Hydrobiology and General Ecology"; kanievana52@mail.ru.

Гольбина Ольга Владимировна – Астраханский государственный технический университет; аспирант кафедры «Прикладная биология и микробиология»; kanievana52@mail.ru.

Golbina Olga Vladimirovna – Astrakhan State Technical University; Postgraduate Student of the Department "Applied Biology and Microbiology"; kanievana52@mail.ru.