

УДК 595.324.089.1

ВЛИЯНИЕ ЛАНТАНА НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ВЕТВИСТОУСОГО РАЧКА *Ceriodaphnia affinis* В ХРОНИЧЕСКОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Р.А. Ложкина, И.И.Томилина

ИБВВ РАН, Федеральное государственное бюджетное учреждение Институт биологии внутренних вод (ФГБУ ИБВВ)
им. И.Д. Папанина РАН, 152742 пос. Борок, Ярославская обл., Российская Федерация

Исследовано влияние летальных и сублетальных концентраций лантана на выживаемость, рост и репродуктивные показатели ветвистоусого рачка *Ceriodaphnia affinis* в остром и хроническом экспериментах.

Ключевые слова: редкоземельные элементы, лантан, токсичность, цериодафнии.

Введение. Интенсивное развитие новых технологий на основе использования редкоземельных элементов (РЗЭ) и все более возрастающая потребность в них привели в последнее время к заметному расширению масштабов их производства, а также расширению ассортимента содержащей их продукции и областей её применения. РЗЭ используются в различных отраслях техники: радиоэлектронике, приборостроении, машиностроении, химической промышленности, металлургии, сельском хозяйстве и др. [1].

Крупнейшими запасами РЗЭ (около 80%) в мире обладает Китай [2]. Россия является вторым по счету поставщиком РЗЭ, владея 20% мировых запасов. В последние десятилетия резко возросли добыча РЗЭ и их использование в промышленности и быту [3]. В связи с этим возросли масштабы их поступления в окружающую среду, в первую очередь в водоемы [4]. Увеличение содержания лантана и других РЗЭ в результате их использования для повышения урожайности сельскохозяйственных растений зарегистрировано в поверхностных водах Китая [3]. На площади более 1 млн га в течение 1993 года было применено в качестве удобрения более 1030 тонн РЗЭ [5]. Лантан и другие РЗЭ были обнаружены и в отходах сточных вод при добыче золота и урана, т.е. эти элементы могут попадать в водные экосистемы [6].

Несмотря на широкое использование РЗЭ, информации об их токсичности для водных организмов недостаточно [7,8,9]. В России установлены ПДК для питьевой воды для Eu (0,3 мг/л) и Sm

(0,024мг/л) [10], для пресной воды – La (0,01 мг/л) [11].

Цель исследования – оценить жизнеспособность представителя пресноводного зоопланктона ветвистоусого рачка *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg при действии водорастворимых форм лантана.

Материалы и методы исследования. В работе использовали лантан сернокислый 8-водный $La_2(SO_4)_3 \cdot 8H_2O \cdot H_2O$. Исследуемые концентрации в диапазоне 0,16 – 3,53 мкг La/л получали путем последовательного разведения отстоянной водопроводной водой (рН 7.0-7.5, общая жесткость 4.0-4.5 мМэкв/л Ca_2+ и Mg_2+) насыщенного раствора сернокислого лантана с концентрацией 446,88 мкг La/л, приготовленного на дистиллированной воде. Растворимость лантана в воде – 2,33 г/100 см³ при 20°C [12]. Реальные концентрации лантана на момент постановки опыта измеряли при помощи масс-спектрометра с индуктивно связанной плазмой ICP-MS DRC-e [13].

В качестве тест-объекта использовали ветвистоусых рачков из лабораторной культуры *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg. Эксперименты проводили в соответствии со стандартной методикой [14].

Предварительно определяли летальные концентрации La (диапазон от 1,79 – 30,9 мкг La/л) при экспозиции 48 ч в остром опыте в 3-х кратной повторности. Для этого в каждый стаканчик с 50 мл раствора отсаживали по 10 экземпляров молоди, возраст которой составлял < 24 ч. Сред-

Ложкина Роза Андреевна (Lozhkina Roza Andreevna), старший лаборант лаборатории физиологии и токсикологии водных животных ФГБУ ИБВВ им. И.Д.Папанина РАН, 152742, пос. Борок, Ярославская обл., Российская Федерация, lozhkina.roza@yandex.ru

Томилина Ирина Ивановна (Tomilina Irina Ivanovna), кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физиологии и токсикологии водных животных ФГБУ ИБВВ им. И.Д.Папанина РАН, 152742, пос. Борок, Ярославская обл., Российская Федерация, tomi@ibiw.yaroslavl.ru

нюю летальную концентрацию LC_{50} устанавливали графически с использованием пробит-анализа [14].

Действие сублетальных концентраций лантана исследовали в хроническом эксперименте, охватывающем весь жизненный цикл рачков. Генетически однородных рачков в первые сутки от рождения рассаживали в стеклянные стаканчики с 9 мл раствора по 1 экз. в каждый и наблюдали на протяжении 70 суток. Исследовали выживаемость, время наступления первого помета, продолжительность жизненного цикла и индивидуальную плодовитость животных. Рассчитывали максимальную и среднюю продолжительность жизни, суммарную плодовитость (общее количество молоди, полученное от одной самки в течение всей жизни), интенсивность размножения (суммарная плодовитость самки, отнесенная к ее продолжительности жизни в сутках) [15]. В ходе эксперимента животных кормили раз в два дня в момент смены воды зелеными водорослями *Chlorella vulgaris* в концентрации 250–300 тыс. кл/мл [14].

Хронические эксперименты выполняли в двух повторностях. Поддерживали оптимальные условия среды: температуру воды – $21 \pm 3^\circ\text{C}$, pH 7,5 – 8,0, растворенный кислород – на уровне насыщения, световой режим при освещении лампами дневного света – 16 ч свет: 8 ч ночь. Контрольную группу тест-животных содержали в аналогичных условиях в отстоянной водопроводной воде без добавления La.

Данные представляли в виде средних значений и их ошибок ($\bar{x} \pm SE$). Достоверность различий оценивали методом дисперсионного анализа (ANOVA, LSD-тест) при уровне значимости $p \leq 0.05$. Результаты обрабатывали статистически с использованием программного обеспечения

Microsoft Office Excell и STATGRAPHICS Plus 2.1.

Результаты и обсуждение. Предварительные исследования позволили установить LC_{50} за 48 ч экспозиции для *C. affinis*, которая составила 4,28 мкг La/л. В первые сутки хронического эксперимента интенсивная гибель цериодафний отмечена в растворах с концентрациями 3,53 и 0,62 мкг La/л, в то время как при 0,35, 0,21 и 0,16 мкг La/л гибели не наблюдали (рис. 1). Наиболее полным отражением степени комфортности условий существования и их адекватности биологическим потребностям организма служит продолжительность его жизни [15]. В эксперименте наблюдали широкую вариабельность сроков продолжительности жизни от 3 до 68 суток. Наименьшая вариабельность этого показателя зарегистрирована для самой низкой концентрации серноокислого лантана (табл.1). Средняя продолжительность жизни рачков в его растворах с концентрациями 3,53 и 0,62 мкг La/л была наименьшей (табл. 1). Достоверных отличий данного показателя от контрольных значений в растворах с концентрациями 0,16–0,35 мкг La/л не зарегистрировано. Средняя продолжительность жизни зависела от концентрации вещества и с её увеличением снижалась ($r = -0.35$, $p = 0.0001$).

Линейные размеры половозрелых особей при действии растворов серноокислого лантана в концентрациях 3,53, 0,62 и 0,21 мкг La/л были достоверно ниже контрольных в 1-ю (рис. 2а) и 3-ю неделю эксперимента. Особенно существенные различия просматривались в самой высокой концентрации лантана, в которой размеры взрослых особей не достигали контрольных на всем протяжении эксперимента. В ходе дальнейшего эксперимента при влиянии остальных концентраций разница уменьшалась, к концу 5-й недели размеры выравнивались. Можно предположить, что

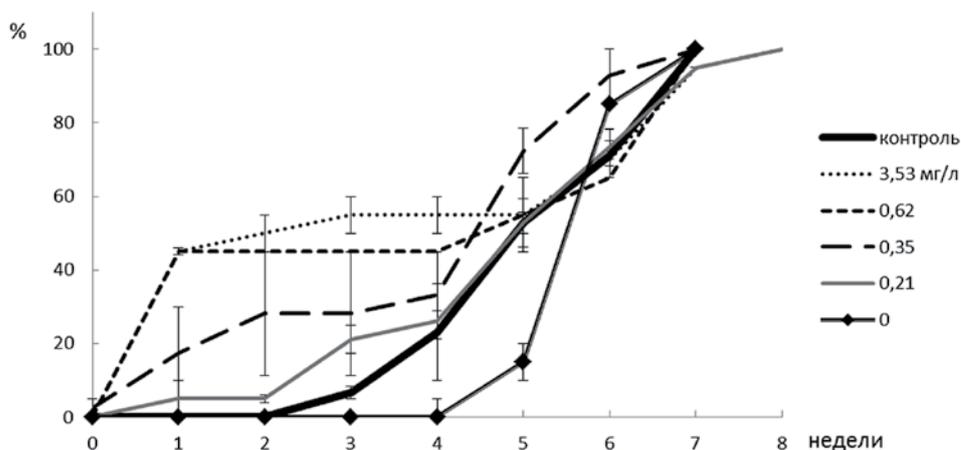


Рис.1. Влияние лантана на смертность цериодафний в условиях хронического эксперимента
Примечание: по оси абсцисс – недели, по оси ординат – процент гибели.

это является следствием фенотипической адаптации организма к продолжающемуся токсическому воздействию. Линейные размеры вылупляющейся молодежи отличались только в 1-ю неделю эксперимента (рис. 26). Отмечена достоверная стимуляция размеров молодежи в 1-3-ю неделю эксперимента в низких концентрациях лантана. Поскольку промеры проводили в первые сутки после рождения, можно предположить, что малые концентрации оказывали стимулирующее действие на стадии эмбрионов.

Растворы сернокислого лантана влияли и на репродуктивные показатели цериодафний. У особей, экспонированных в растворах токсиканта с концентрациями 3,53 и 0,62 мкг La/л, отмечено увеличение продолжительности периода до первого вымета потомства на 2 суток по сравнению с контрольными экземплярами и особями, экспонированными в растворах с более низкими концентрациями. Максимальная суммарная плодовитость за время наблюдения зарегистрирована в растворах токсиканта с концентрацией 0,16 мкг La/л, минимальная – 3,53 мкг La/л (табл.1). Статистических отличий от контроля не зарегистрировано при экспонировании рачков в 0,62, 0,35 и 0,21 мкг La/л. Таким образом, раствор сернокислого лантана с концентрацией 3,53 мкг La/л оказывает угнетающее действие на репродуктивную функцию рачков *C. affinis*. Максимальная интенсивность размножения обнаружена в растворах

с концентрациями 0,16 и 0,21 мкг La/л, минимальная – 3,53 мкг La/л (табл. 1).

При попадании в водоемы РЗЭ могут поступать в водные организмы. Выбор в качестве тест-объекта цериодафний для оценки токсических свойств этих элементов представляется оправданным, т.к. ветвистоусые рачки относятся к организмам-фильтраторам, наиболее чувствительным к действию загрязняющих веществ. В литературе имеется мало данных о влиянии РЗЭ на функционирование водных организмов. Известно, что жесткость воды может изменять способность гидробионтов усваивать РЗЭ, воздействуя на растворимость, форму и физико-химические свойства соединений элементов, и как следствие, влияет на их биодоступность [17]. В большинстве случаев карбонатная жесткость способствует снижению токсичности РЗЭ вследствие образования нерастворимых карбонатов. Так для *Daphnia carinata* 48-ч LC₅₀ лантана составила 43 мкг/л при концентрации CaCO₃ 22 мг/л по сравнению с 1180 мкг/л при содержании CaCO₃ 160 мг/л [7]. В настоящем исследовании 48-часовая LC₅₀ лантана для *C. affinis*, составила 4,28 мкг La/л, что может быть связано как с видовой чувствительностью тест-организма, так и жесткостью питьевой водопроводной воды на уровне 72,4 – 90,5 мг/л по данным аналитического центра ИБВВ РАН (аттестат аккредитации № РОСС RU.0001.512040).

Таблица 1

Влияние растворов лантана на продолжительность жизни и репродуктивные показатели рачков *Ceriodaphnia affinis*

| Концентрация, мг/л | Продолжительность жизни, сут | Суммарная плодовитость, экз | Интенсивность размножения, экз/сут |
|--------------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------------|
| Контроль | 40,4±1,6 17,0-62,0 | 196,3±8,4 20,0-295,0 | 4,9±0,2 1,2-7,0 |
| 0,16 | 42,0±1,0 31,0-48,0 | 228, 5±8,6 167,0-291,0 | 5,5±0,2 3,6-6,6 |
| 0,21 | 36,6±2,9 9,0-56,0 | 194,5±16,2 34,0-300,0 | 5,3±0,2 3,8-6,6 |
| 0,35 | 36,7±2,9 7,0-68,0 | 170,0±14,9 5,0-286,0 | 4,4±0,2* 0,7-6,8 |
| 0,62 | 27,3±4,9* 3,0-54,0 | 202,0±22,0 4,0-295,0 | 4,4±0,4 0,6-6,3 |
| 3,53 | 24,8±4,9* 3,0-60,0 | 107,8±16,3* 2,0-186,0 | 2,6±0,3* 0,4-3,4 |

Примечание: числитель – средние значения и их ошибки, знаменатель – минимальное и максимальное значения, * - достоверное отличие значений от контроля при p=0.05

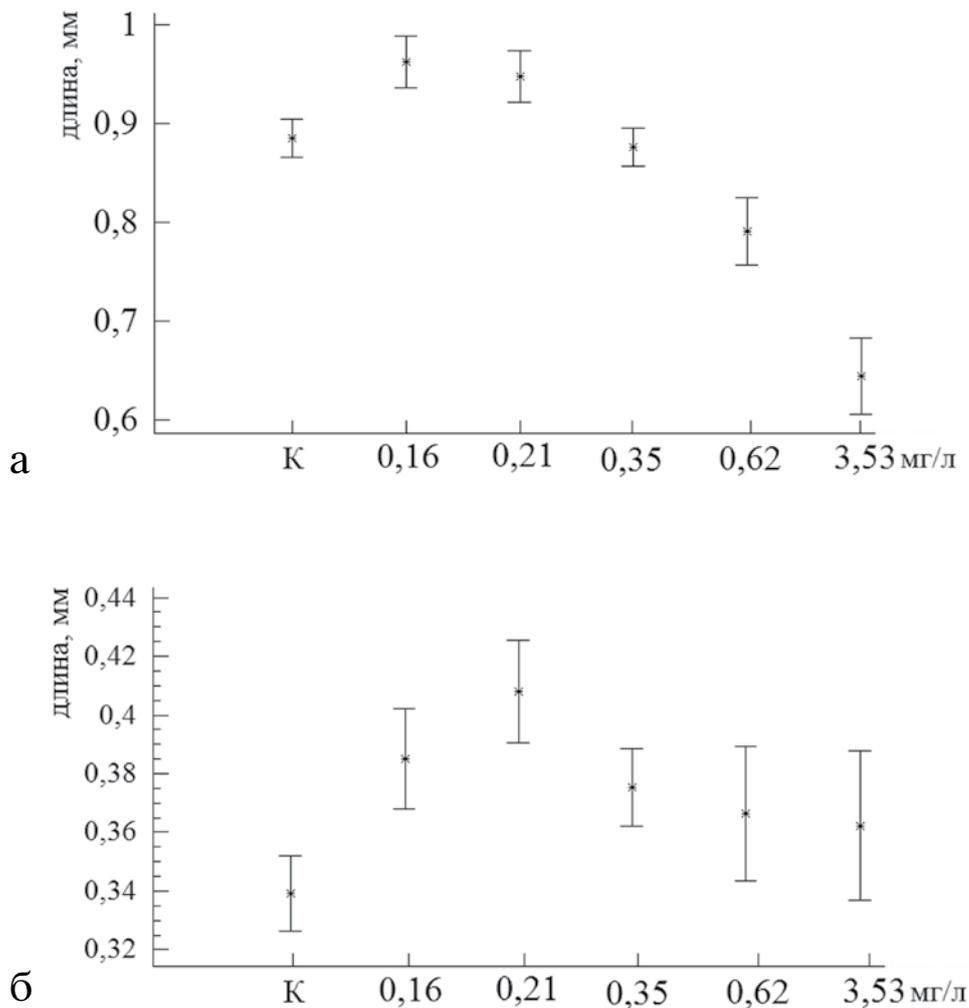


Рис.2. Линейные размеры цериодафний в первую неделю эксперимента
Примечание: а - взрослые, б - молодь.

Существует несколько потенциальных механизмов токсического воздействия РЗЭ на водные организмы, однако его точный механизм остается до конца неясным [7]. К основным факторам, определяющим экологическую опасность РЗЭ, относятся их концентрации в окружающей среде и биодоступность для организмов. Известно, что для ветвистоусых рачков основной путь поглощения РЗЭ – поступление через карапакс. Рачки активно поглощают кальций во время каждого цикла линьки до полного затвердения панциря, и то обстоятельство, что механизм поглощения La₃₊ в биологических системах сходен с таковым для Ca₂₊, может приводить к нарушению нормального течения процесса линьки. Это, скорее всего, способствует проникновению La₃₊ во внутреннюю среду и возникновению токсических эффектов для организма [18]. Увеличение периода между линьками впоследствии может влиять на плодовитость рачков [7], приводить к увеличению возраста половой зрелости и уменьшению максимальной плодовитости [19].

Таким образом, проведенное исследование показало, что лантан в исследуемых концентрациях, в особенности 3,53 мкг La/л, влияет на продолжительность жизни и репродуктивные показатели *Ceriodaphnia affinis*.

Заключение. Сернокислый лантан в концентрациях 0,16 до 3,53 мкг La/л влиял на выживаемость, продолжительность жизни, рост, развитие, плодовитость рачков *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg в сроки естественной продолжительности их жизни до 68 суток. LC₅₀ за 48 ч составила 4,28 мкг La/л. Концентрации 0,62 и 3,53 мкг La/л снижали выживаемость и среднюю продолжительность жизни рачков, увеличивали срок первого вымета. Замедление роста отмечено в концентрациях 0,21-3,53 мкг La/л, однако на протяжении всего периода наблюдения оно имело место только в 3,53 мкг La/л. Эта же концентрация статистически достоверно снижала репродуктивную функцию рачков, в то время как концентрация 0,16 мкг La/л стимулировала размножение цериодафний.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баренбойм Г.М., Авандеева О.П., Коркина Д.А. Редкоземельные элементы в водных объектах (экологические аспекты) // Вода: химия и экология. 20№ С. 42-56.
2. Brown P.H., Rathjen A.H., Graham R.D., Tribe D.E. Rare earth elements in biological systems. In: Handbook on the Physics and Chemistry of Rare Earths. Gschneidner Jr., K.A., Eyring, L. (Eds.). 19Elsevier, Amsterdam. P. 423 - 452.
3. Li Z.J., Zhang Z.Y., Wang Y, Li F.L. Zhao Y.L., Chai Z.F. Uptake and elimination of lanthanum by exised roots of *Triticum aestivum* L. // Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry. 20V. 272 (3). P. 523-5
4. Pavlov D.F., Frontasyeva M.V., Pavlov S.S., Pancratova Yu. Distribution of trace elements in freshwater ecosystem compartments of man-made Rybinsk Reservoir (Central Russia) using epithermal neutron activation analysis. *Ovidius University Annals of Chemistry*. 2005.N P.72-75.
5. Tribe D.E., Robards K.H., Reghenzani J.R., Asher C.J. Rare earth in Chinese agriculture. Part B: application of lanthanum to agricultural plants. In: Proceedings of the Rare Earths in Agriculture Seminar, Australian Academy of Technological Sciences and Engineering, 19National Sciences and Technology Centre, Canberra. 25 p.
6. Noller B.N. The identification of constituents in waste waters from gold mining using ICP-MS // *Int. J. Surface Mining Reclam. Environ.* 19V. P. 95 - 99.
7. Barry M.J., Meehan B.J. The acute and chronic toxicity of lanthanum to *Daphnia carinata* // *Chemosphere*. 20V. P. 1669-1674.
8. Jin X., Chu Z., Yan F., Zen Q. Effects of lanthanum(III) and EDTA on the growth and competition of *Microcystis aeruginosa* and *Scenedesmus quadricauda* // *Limnologica*. 20V. P. 86-93.
9. Sun H., Wang X.-R., Wang L.-S. Bioconcentration of rare earth elements lanthanum, gadolinium and yttrium in algae *Chlorella vulgaris* Beijerinck: influence of chemical species. *Chemosphere*. 19V. P. 1753-1760.
10. СанПин 2.1.4.1074-Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества. 20http://www.stroyoffis.ru/sanpin_sanitar/sanpin_2_1_4_1074_01/sanpin_2_1_4_1074_01.php
11. Рыбальский Н.Г. Экологические аспекты экспертизы изобретений: справочник эксперта и изобретателя. – М.:ВНИИПИ, 19- Ч.- С.139.
12. Таблица растворимости солей, кислот и оснований при разных температурах, http://dictionary.sensagent.com/Solubility_table/en-en/
13. Taylor H.E. Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry. Practices and Techniques. San Diego: Academic Press, 20 294 p.
14. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодovitости цериодафний. Федеральный реестр (ФР). Ф.Р.1.39.2007.032М., АКВАРОС, 20- 56 с.
15. Томилина И.И., Гремячих В.А., Гребенюк Л. П., Клевлева Т. Р. Влияние нано-, микрочастиц и ионов цинка на пресноводных гидробионтов разных трофических уровней // Биология внутр. вод. 20№ С.93-102.
16. Filenko O.F., Isakova E.F. Gershkovich D.M. The lifespan of the cladoceran *Ceriodaphnia affinis* Lilleborg in a laboratory culture // *Inland water biology*. 20V. P. 283-286.
17. Cooney J.D. Freshwater tests. In: Fundamentals of Aquatic Toxicology. Rand G.M. (Ed.). 19Environmental Fate and Risk Assessment, second ed. Taylor & Francis, London. P. 71-98.
18. Das T., Sharma A., Geeta T. Effects of lanthanum in cellular systems // *Biol. Trace Element Res.* 19V.P. 201- 228.
19. Caswell H., Hastings A. Fecundity, developmental time, and population growth rate: an analytical solution // *Theoret. Population Biol.* 19V.P. 71- 79.

REFERENCES:

1. Barenboym G.M., Avandeeva O.P., Korkina D.A. Rare earth elements in water bodies (environmental aspects) // *Water: chemistry and ecology*, 20№ S. 42-(in Russian).
2. Brown P.H., Rathjen A.H., Graham R.D., Tribe D.E. Rare earth elements in biological systems. In: Handbook on the Physics and Chemistry of Rare Earths. Gschneidner Jr., K.A., Eyring, L. (Eds.). 19Elsevier, Amsterdam. P. 423 - 452.
3. Li Z.J., Zhang Z.Y., Wang Y, Li F.L. Zhao Y.L., Chai Z.F. Uptake and elimination of lanthanum by exised roots of *Triticum aestivum* L. // *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. 20V. 272 (3). P. 523-5
4. Pavlov D.F., Frontasyeva M.V., Pavlov S.S., Pancratova Yu. Distribution of trace elements in freshwater ecosystem compartments of man-made Rybinsk Reservoir (Central Russia) using epithermal neutron activation analysis. *Ovidius University Annals of Chemistry*. 2005.N P.72-75.
5. Tribe D.E., Robards K.H., Reghenzani J.R., Asher C.J. Rare earth in Chinese agriculture. Part B: application of lanthanum to agricultural plants. In: Proceedings of the Rare Earths in Agriculture Seminar, Australian Academy of Technological Sciences and Engineering, 19National Sciences and Technology Centre, Canberra. 25 p.
6. Noller B.N. The identification of constituents in waste waters from gold mining using ICP-MS // *Int. J. Surface Mining Reclam. Environ.* 19V. P. 95 - 99.
7. Barry M.J., Meehan B.J. The acute and chronic toxicity of lanthanum to *Daphnia carinata* // *Chemosphere*. 20V. P. 1669-1674.
8. Jin X., Chu Z., Yan F., Zen Q. Effects of lanthanum(III) and EDTA on the growth and competition of *Microcystis aeruginosa* and *Scenedesmus quadricauda* // *Limnologica*. 20V. P. 86-93.
9. Sun H., Wang X.-R., Wang L.-S. Bioconcentration of rare earth elements lanthanum, gadolinium and yttrium in algae *Chlorella vulgaris* Beijerinck: influence of chemical species. *Chemosphere*. 19V. P. 1753-1760.
10. СанПин 2.1.4.1074- Drinking water. Hygienic requirements for water quality of centralized drinking water supply systems. Quality control. 2010 http://www.stroyoffis.ru/sanpin_sanitar/sanpin_2_1_4_1074_01/sanpin_2_1_4_1074_01.php (in Russian).
11. Rybal'skiy N.G. Environmental aspects of examination of inventions: a guide expert and inventor. – М.:ВНИИПИ, 19- Ч.- S.1(in Russian).
12. Table solubility of salts, acids and bases at various temperatures, http://dictionary.sensagent.com/Solubility_table/en-en/
13. Taylor H.E. Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry. Practices and Techniques. San Diego: Academic Press, 20 294 p.
14. Methods of determining the toxicity of water and aqueous extracts from soils, sewage sludge, waste mortality and fertility change ceriodaphnia. Federal reestr (FR). FR.1.39.2007.032M., АКВАРОС, 20- 56 s. (in Russian).
15. Tomilina I.I., Gremyachikh V.A., Grebenyuk L. P., Klevleeva T. R. Influence of nano- and microparticles of zinc ions on freshwater aquatic organisms of different trophic levels // *Biologiya vnutr. vod.* 20№ S.93-1(in Russian).
16. Filenko O.F., Isakova E.F. Gershkovich D.M. The lifespan of the cladoceran *Ceriodaphnia affinis* Lilleborg in a laboratory culture // *Inland water biology*. 20V. P. 283-286.
17. Cooney J.D. Freshwater tests. In: Fundamentals of Aquatic Toxicology. Rand G.M. (Ed.). 19Environmental Fate and Risk Assessment, second ed. Taylor & Francis, London. P. 71-98.
18. Das T., Sharma A., Geeta T. Effects of lanthanum in cellular systems // *Biol. Trace Element Res.* 19V.P. 201- 228.
19. Caswell H., Hastings A. Fecundity, developmental time, and population growth rate: an analytical solution // *Theoret. Population Biol.* 19V.P. 71- 79

R.A. Lozhkina, I.I. Tomilina

THE EFFECT OF LANTHANUM ON BIOLOGICAL PARAMETERS OF CRUSTACEANS CERIODAPHNIA AFFINIS LILLJEBORG IN CHRONIC EXPERIMENTS

I.D. Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences, 152742, settlement Borok, Yaroslavl region, Russian Federation

The effect of lethal and sub-lethal concentrations of lanthanum on the survival, growth and reproductive parameters of cladoceran *Ceriodaphnia affinis* in acute and chronic experiments are presented.

Keywords: rare earth elements, lanthanum, toxicity, *Ceriodaphnia*

Переработанный материал поступил в редакцию 18.08.2015 г.