

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ

УДК 593.93 : 546.7 : 615.916

ВЛИЯНИЕ МЕТАЛЛОВ НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ И ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТЬ МОРСКИХ ЗВЕЗД *ASTERIAS RUBENS*

В.А. Федюнин,
А.А. Поромов,
А.В. Смуров

Московский государственный
университет
им. М.В. Ломоносова, 119991,
г. Москва, Российская
Федерация

Исследовано влияние хлоридов некоторых металлов: кобальта, марганца, железа, свинца, кадмия и меди на различные аспекты жизнедеятельности морских звезд *Asterias rubens* в широком диапазоне концентраций. Эксперименты включали одновременную оценку выживаемости и поведенческих реакций (время переворота) морских звезд в течение семисуточного эксперимента. Показано, что медь является наиболее токсичным из исследованных металлов (полулетальная концентрация (ЛК₅₀) составила 0,062±0,01 мг/л, 96 часов экспозиции), далее, по убыванию токсичности, металлы можно распределить в следующем порядке: свинец (ЛК₅₀ = 1,99±0,08 мг/л), кадмий (ЛК₅₀ = 1,6±0,1 мг/л), кобальт (ЛК₅₀ = 57,7±2,1 мг/л), марганец (ЛК₅₀ = 79,7±4,3 мг/л). Железо в исследованных концентрациях не приводило к гибели морских звезд. Медь, свинец и кадмий приводили к значительному уменьшению скорости переворота уже через 96 часов после начала эксперимента. Все металлы, за исключением меди, проявляли токсические свойства в концентрациях, значительно превышающих ПДК для поверхностных вод.

Ключевые слова: *Asterias rubens*, металлы, токсичность, выживаемость.

Введение. Речная система бассейна Белого моря относится к Северному экономическому району с высокой плотностью промышленных объектов. В промышленности этого района основную роль играют предприятия цветной и черной металлургии. Такое интенсивное освоение водосбора Белого моря способствует формированию зон повышенного антропогенного воздействия, в том числе связанного с возможностью возникновения высокого уровня загрязненности природных вод неочищенными и недостаточно очищенными промышленными стоками, содержащими фенолы, формальдегид, фурфурол, лигносульфанаты и металлы, такие как медь, цинк, свинец, ртуть и другие [1, 2].

В научной литературе широко описано влияние металлов на морских моллюсков [3,4]. Малоиз-

вестно, однако, в каких концентрациях металлы могут представлять опасность для других бентосных организмов, вызывать функциональные изменения, не приводя при этом к немедленной гибели организма. Экспериментальные результаты, приведённые в токсикологических базах данных (US EPA ECOTOX Databases) и публикациях [5], показывают противоречивые данные о летальных и сублетальных концентрациях которые могут отличаться для одного металла в несколько раз.

Морские звезды *Asterias rubens* Linnaeus, 1758 – распространённый субарктический вид животных. В экосистемах морские звезды являются консументами второго и третьего порядков, а значит конечным звеном биоаккумуляции веществ в пищевых цепях. Их высокая экологиче-

Федюнин Владимир Александрович (Fedyunin Vladimir Alexandrovich), аспирант кафедры общей экологии биологического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, г. Москва, v-fedyunin@mail.ru

Поромов Артём Андреевич (Poromov Artem Andreevich), научный сотрудник кафедры общей экологии биологического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, г. Москва, aar1309@gmail.com

Смуров Андрей Валерьевич (Smurov Andrey Valerievich), профессор кафедры общей экологии биологического факультета, директор Музея Землеведения Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, г. Москва, smr49@mail.ru

ская пластичность обеспечивает широкое распространение и устойчивость к антропогенному воздействию [6,7], что обуславливает возможность их использования в качестве модельных организмов и объектов экологических исследований на большой территории и в условия высоких уровней антропогенной нагрузки.

Цель данной работы: изучить влияние ионов некоторых металлов на морских звезд *Asterias rubens* L.

Материалы и методы исследования. Экспериментальные работы были выполнены на базе Беломорской биологической станции им. Н.А. Перцова Московского Государственного Университета им. М.В. Ломоносова (ББС МГУ), расположенной на полуострове Киндо в районе Кандалакшского залива.

Сбор и содержание экспериментальных животных. Сбору подлежали только неповрежденные пятилучевые морские звезды диаметром 10-12 см. Морских звезд содержали в стеклянных аквариумах объемом 20 литров, температура воды составляла $15 \pm 2^\circ\text{C}$, соленость воды - 26‰, естественный световой цикл.

Реактивы. Были использованы растворы хлоридов кобальта ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), магния ($\text{MnCl}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), железа ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), свинца (PbCl_2), кадмия ($\text{CdCl}_2 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$) и меди ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).

Экспозиция в аквариумах. Концентрации металлов в экспериментальных аквариумах приведены в табл. 1. Концентрации, используемые в исследовании рассчитаны относительно единиц ПДК (предельно допустимые концентрации) для ионов металлов. [8]. Воду в аквариумах меняли ежедневно наполовину, добавляя в неё раствор соли до соответствующей концентрации. Поведенческую реакцию оценивали по изменению скорости переворота морских звезд *A. rubens* на 4 сутки после начала эксперимента. Выживаемость оценивалась ежедневно до 7-ых суток, включительно. Гибель морских звезд фиксировалась по невозможности перевернуться и отсутствию движения амбулакральных ножек. Для каждой концентрации экспозицию проводили в трех экспериментальных аквариумах, в каждом из которых содержали по 10 морских звезд ($n = 30$).

Определение времени переворота. Время переворота измеряли для 5 морских звезд, случайно выбранных из каждого экспериментального аквариума, в отдельном стеклянном контейнере (размером 30 см \times 30 см \times 24 см), наполненном 15 литрами фильтрованной морской воды. Каждая морская звезда была перевернута и помещена в центр контейнера так, чтобы ни один из её лучей не касался краев. Оценивали время, необходимое животному для переворота с аборальной на оральную сторону. Измерения проводили в трех повторах для каждой звезды.

Статистический анализ. Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета RStudio (version 1.0.143). Для количественных показателей результат представлен в виде среднего значения (стандартное отклонение). Для оценки выживаемости использовали нелинейную четырехпараметрическую логистическую регрессию (пакет «drc2»), и построение кривых выживаемости методом Каплана-Майера (пакет «survival»). Для оценки скорости переворота трехпараметрическую экспоненциальную модель (пакет «drc»). Полулетальные и эффективные концентрации (LK_{50} и ЭК_{50}) рассчитаны на основе анализа четырехпараметрической логистической модели на 4 сутки экспозиции (96 часов). Продолжительность эксперимента в 96 часов выбрана как наиболее широко используемая временная точка в стандартных токсикологических экспериментах, принятых в методах ISO и OECD. Уровень значимости принят как $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение.

Для оценки жизнеспособности морских звезд *Asterias rubens* L. в присутствии ионов металлов в различных концентрациях оценивалась смертность и изменение поведенческих реакций. Данные по выживаемости морских звезд в экспериментальных аквариумах представлены на рисунке 1.

Наибольшее токсическое действие среди исследуемых металлов наблюдали для хлорида меди, проявляемое в гибели морских звезд, начиная с первых суток эксперимента в концентрации 0,05 мг/л. Гибель всех животных наблюдали на 4-ые сутки эксперимента при концентрации меди в аквариуме равной 0,25 мг/л. Свинец в концентрациях от 1,5 до 2,5 мг/л приводил к смертности от 30 до 80% животных в течение 7 суток эксперимента, 100%-ную гибель морских звезд отмечали при концентрации свинца больше 2,75 мг/л. Похожие результаты получены для кадмия, однако, гибель всех животных в экспериментах с кадмием не наблюдали. Для марганца и кобальта токсическое действие наблюдали лишь при концентрациях, значительно превышающих ПДК, развитие токсического действия при этом также происходило дольше по сравнению с медью, свинцом и кадмием. Гибели морских звезд в присутствии всех исследуемых концентрациях железа не наблюдали. В аквариуме с концентрацией железа 40 мг/л происходило выпадение осадка, в связи с чем использование более высоких концентраций не проводили.

Полулетальные концентрации (LK_{50}) рассчитаны на основе четырехпараметрической логистической модели, представленной на рис. 2, на 4 сутки экспозиции (96 часов). По значению LK_{50} металлы можно ранжировать по уменьшению токсичности в следующем порядке:

Таблица 1

Содержание металлов в районе исследования и нормы ПДК

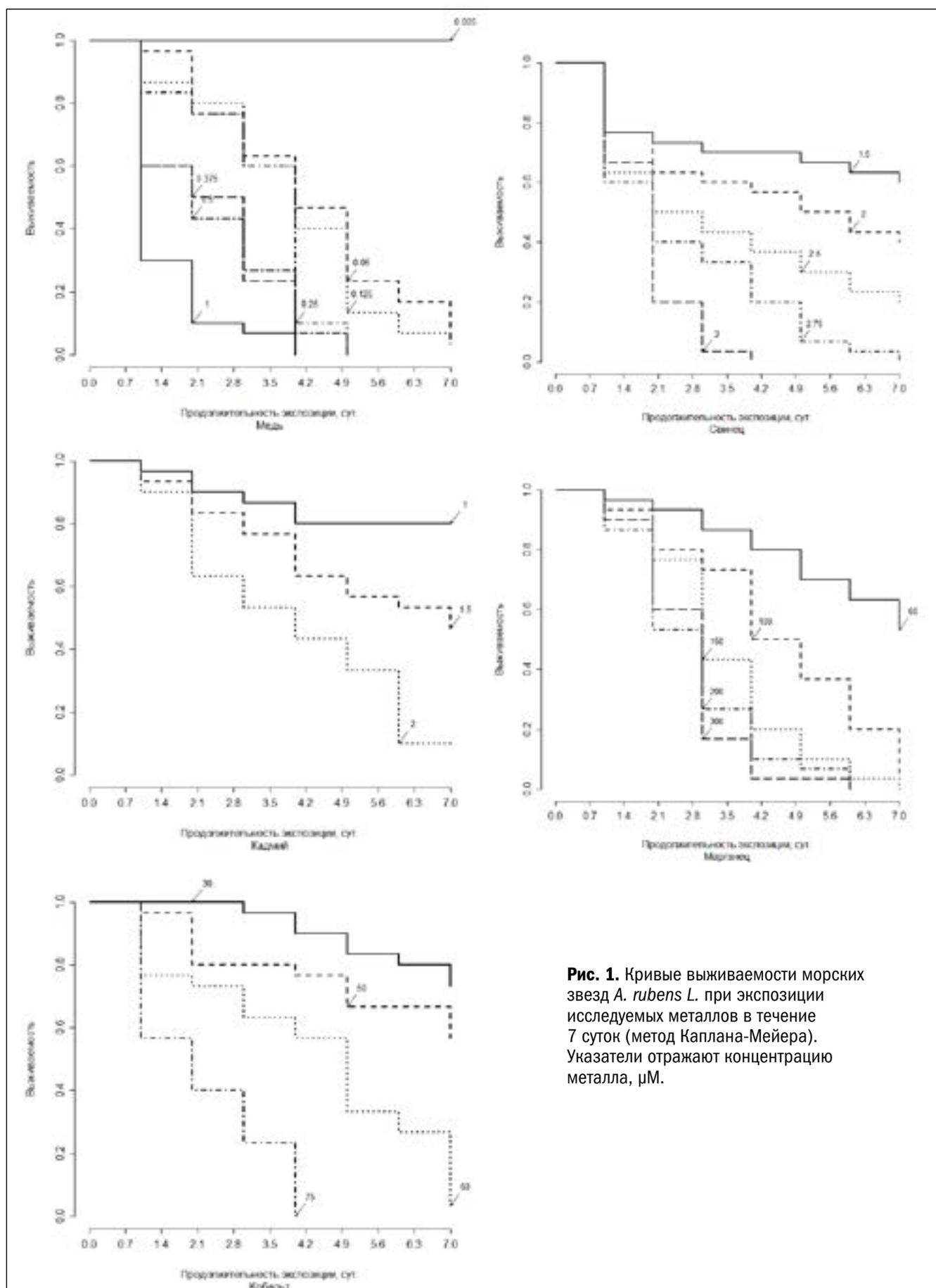
Концентрации	Cu ²⁺	Pb ²⁺	Cd ²⁺	Mn ³⁺	Fe ³⁺	Co ³⁺
Средняя концентрация металлов в Кандалакшском заливе, мг/л [2]	0,0055	0,0015	0,00019	0,00615	0,027	д.о.
Предельно Допустимая Концентрация (ПДК), мг/л [8]	0,005	0,01	0,01	0,05	0,05	0,005
Концентрации металлов в экспериментальных аквариумах, мг/л						
1*	0,005	-	-	-	-	-
10	0,05	-	0,1	-	0,5	-
25	0,125	-	0,25	-	-	-
50	0,250	-	0,5	-	2,5	-
75	0,375	-	-	-	-	-
100	0,5	-	1	-	5	-
150	-	1,5	1,5	-	-	-
200	1	2	2	-	10	-
250	-	2,5	-	-	-	-
275	-	2,75	-	-	-	-
300	-	3	-	-	-	-
400	-	-	-	20	20	2
800	-	-	-	40	40	4
1200	-	-	-	60	-	6
2000	-	-	-	100	-	10
3000	-	-	-	150	-	-
4000	-	-	-	200	-	20
6000	-	-	-	300	-	30
10000	-	-	-	-	-	50
12000	-	-	-	-	-	60
15000	-	-	-	-	-	75

Примечания: * – кратность значениям ПДК; «-» – концентрация не была использована; д.о. – данные отсутствуют

медь ($ЛК_{50} = 0,062 \pm 0,01$ мг/л), кадмий ($ЛК_{50} = 1,6 \pm 0,1$ мг/л), свинец ($ЛК_{50} = 1,99 \pm 0,08$ мг/л), кобальт ($ЛК_{50} = 57,7 \pm 2,1$ мг/л), марганец ($ЛК_{50} = 79,7 \pm 4,3$ мг/л).

Скорость переворота уменьшается в присутствии всех исследуемых металлов. Наиболее резко время переворота возрастает в ответ на воздействие растворами меди и свинца на 4-е

сутки эксперимента. Медь значительно снижает скорость переворота (на 50%, полуэффективная концентрация, $ЭК_{50}$) при концентрации $0,12 \pm 0,25$ мг/л, ионы свинца вызывают такой же эффект при концентрации $1,96 \pm 0,23$ мг/л. Воздействие кадмия в концентрации выше 0,1 мг/л приводит к резкому увеличению времени переворота ($ЭК_{50} = 0,21 \pm 0,46$ мг/л), и, в отличии



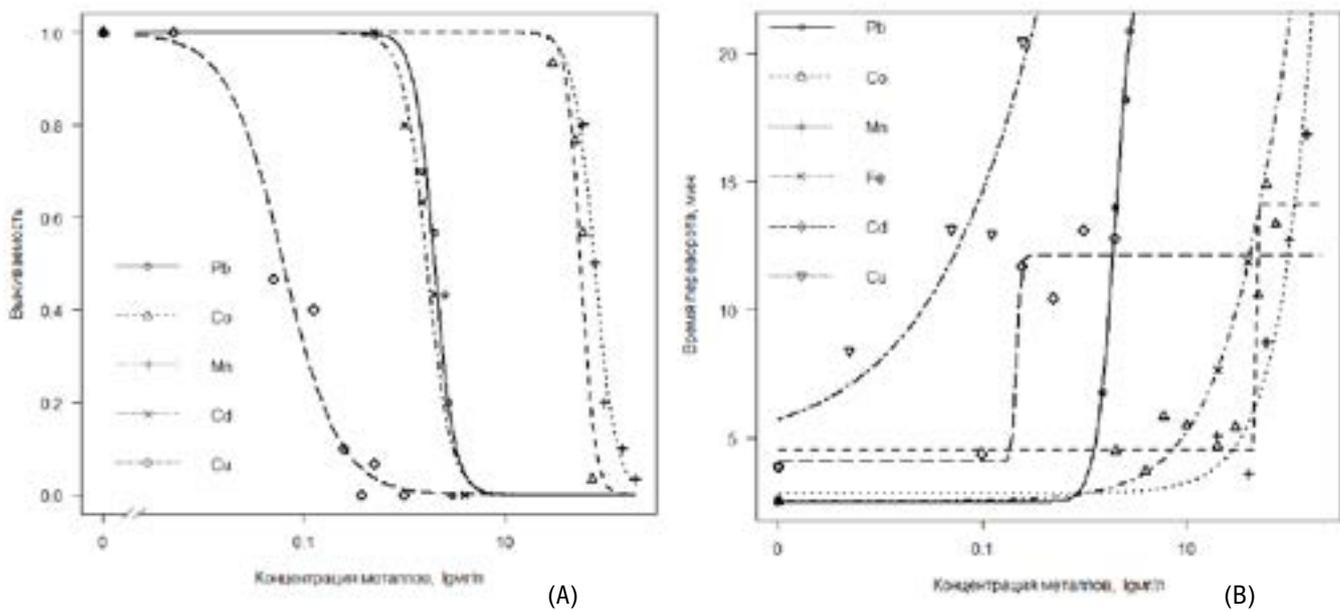


Рис. 2. Влияние металлов на выживаемость (4-х параметрическая логистическая модель) (А) и скорость переворота (3-х параметрическая экспоненциальная модель) (В) морских звезд *A. rubens* L. через 96 часов после начала экспозиции.

от остальных металлов, дальнейшее уменьшение скорости переворота не наблюдается, в диапазоне концентраций кадмия вплоть до летальных. Повышение концентрации железа, кобальта и марганца приводят к значительному снижению скорости переворота морских звезд в высоких концентрациях, ЭК₅₀ составила $205 \pm 4,3 \times 10^3$, $49,8 \pm 5,5$, $4,7 \times 10^3 \pm 1,7 \times 10^4$ мкг/л, соответственно.

Заключение. Результаты исследований позволяют заключить, что наибольшей токсичностью для морских бентосных организмов обладают ионы меди, приводящие как к снижению выживаемости, так и к изменению времени поведенческого ответа. ПДК меди для поверхностных вод составляет 0,005 мкг/л, при этом гибель морских звезд будет наблюдаться при достижении концентрации меди десятикратной ПДК или увеличении среднего содержания меди в морской воде для данного региона в два раза. Для остальных металлов среднее содержание в морской воде ниже ПДК, а токсические эффекты наблюдаются при увеличении концентрации в 50-100 раз по сравнению с ПДК для кадмия и свинца, и 1000 раз для марганца и кобальта. Таким образом, в программе мониторинга экологического состояния морских прибрежных экосистем, а также при контроле состава сточных вод, поступающих в моря, особое внимание следует уделять содержанию медьсодержащих компонентов и оценке распределения загрязненных водных масс.

Некоторые металлы в норме присутствуют в организме в различных концентрациях, кото-

рые зависят от степени их вовлеченности в биохимические процессы, а также от механизмов регуляции процессов выведения и распределения этих металлов организмом [3]. Таким образом, токсическое действие некоторых металлов, таких как кобальт и марганец, наступает при относительно более высоких концентрациях, в отличие от меди, свинца и кадмия, имеющих низкие токсические дозы.

Беспозвоночные животные широко применяются в эколого-токсикологических исследованиях и экологическом мониторинге для оценки состояния окружающей среды. Разработан широкий спектр методик (ОЕСД, ISO, ЕРА), использующих различные виды беспозвоночных и их биологические показатели (конечные точки), характеризующие действие факторов. Однако эти методы ограничены использованием относительно небольшого числа видов и базовыми биологическими характеристиками (выживаемость, плодовитость, скорость роста). Основные тенденции в области экологической токсикологии связаны с поиском и изучением наиболее релевантных видов беспозвоночных животных, с использованием новых экспериментальных методов, критериев и подходов к экстраполяции результатов, учитывающих воздействие факторов на нескольких уровнях биологической организации, с использованием молекулярных, физиологических, поведенческих, демографических и других конечных точек. При этом ключевым этапом в эколого-токсикологических исследованиях остается

определение летальных и сублетальных концентраций веществ как основа для дальнейшего применения прижизненных конечных точек. Результаты данной работы показывают возможность использования морских звезд как индикаторов загрязнения металлами, а полученные данные о летальных концентрациях позволяют разработать подходы и методы использования биомаркеров и других прижизненных показателей мор-

ских звезд при биотестировании и биоиндикации качества морской среды в условиях повышенной антропогенной нагрузки. Результаты возможно использовать для оценки экологического риска воздействия металлов на морские экосистемы.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-04-01143.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Обзор состояния и загрязнения окружающей среды в Российской Федерации за 2016 год. Под ред. Черногаева Г. М. М.: Росгидромет; 202016 с.
2. Качество морских вод по гидрохимическим показателям. 20Ежегодник. Под ред. Коршенко А. Н. М.: Наука; 20200 с.
3. Soto M., Mari Gomez I., Cancio I. Biological aspects of metal accumulation and storage. 20Available: www.ehu.es/europeanclass2003/biological_aspects_of_metal_accu.htm. Accessed on 25/01/2018.
4. Chiarelli R., Roccheri M. Marine Invertebrates as

- Bioindicators of Heavy Metal Pollution. Open Journal of Metal. 2014; 4; 93-1
5. Temara A., Ledent G., Warnau M., Paucot H., Jangoux M. Experimental cadmium contamination of *Asterias rubens* (Echinodermata). Mar. Ecol. Prog. Ser. 1996; 140: 83-90.
6. Binyon J. Salinity tolerance and permeability to water of the starfish *Asterias rubens* L. J. Mar. Biol. Assoc. United Kingdom. 1961; 41: 161-174.
7. Coteur G. et al. Field contamination of the starfish *Asterias Rubens* by metals. part 1: short- and long-term

accumulation along a pollution gradient. Environ. Toxicol. Chem. 2022(9): 2136-2144.

8. Приказ Федерального агентства по рыболовству от 18 января 2010 г. № 20 «Об утверждении нормативов качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения, в том числе нормативов предельно допустимых концентраций вредных веществ в водах водных объектов рыбохозяйственного значения». 2010.

REFERENCES:

1. State overview and environment pollution in the Russian Federation for 20Ed. Chernogaeva G.M. M.: Rosgidromet; 202016 p. (in Russian).
2. Sea water quality by hydrochemical parameters. 20Ezhegodnik. Ed. Korshenko A.N. M.: Nauka; 20200 p. (in Russian).
3. Soto M., Mari Gomez I., Cancio I. Biological aspects of metal accumulation and storage. 20Available:www.ehu.es/europeanclass2003/biological_aspects_of_metal_accu.htm. Accessed on 25/01/2018.

4. Chiarelli R., Roccheri M. Marine Invertebrates as Bioindicators of Heavy Metal Pollution. Open Journal of Metal. 2014; 4; 93-1
5. Temara A., Ledent G., Warnau M., Paucot H., Jangoux M. Experimental cadmium contamination of *Asterias rubens* (Echinodermata). Mar. Ecol. Prog. Ser. 1996; 140: 83-90.
6. Binyon J. Salinity tolerance and permeability to water of the starfish *Asterias rubens* L. J. Mar. Biol. Assoc. United Kingdom. 1961; 41: 161-174.

7. Coteur G. et al. Field contamination of the starfish *Asterias Rubens* by metals. part 1 : short- and long-term accumulation along a pollution gradient. Environ. Toxicol. Chem. 2022(9): 2136-2144.
8. Order of the Federal Agency for Fisheries of January 18, 2010 No. 20 "On the approval of water quality standards for water bodies of fishery importance, including standards for maximum permissible concentrations of harmful substances in the waters of water bodies of fishery importance" 2010.

V. A. Fedyunin, A.A. Poromov, A.V. Smurov

INFLUENCE OF METALS ON SURVIVAL AND LIFE ACTIVITY OF STARFISHES *ASTERIAS RUBENS*

M.V. Lomonosov Moscow State University, 119991, Moscow, Russian Federation

The effect of metals chlorides (cobalt, manganese, iron, lead, cadmium and copper) at wide range of concentrations on various aspects of the life of starfishes *Asterias rubens* has been studied. The experiments included a survival and behavioral responses (righting time) evaluation of starfishes during the seven-day exposure. Copper is the most toxic of the studied metals (half-lethal concentration $LC_{50} = 0,062 \pm 0,01$ mg/L, 96 hours of exposure), then toxicity decrease in the following order: lead ($LC_{50} = 1,99 \pm 0,08$ mg/L), cadmium ($LC_{50} = 1,6 \pm 0,1$ mg/L), cobalt ($LC_{50} = 57,7 \pm 2,1$ mg/L), manganese ($LC_{50} = 79,7 \pm 4,3$ mg/L). Iron at studied concentrations did not influence the starfish's survival. Copper, lead and cadmium led to a significant increase of the righting time after 96 hours of exposure. The toxic effects of these metals, except for copper, were revealed at higher concentration than Russian norms for surface waters.

Keywords: *Asterias rubens*, metals, toxicity, survival.

Переработанный материал поступил в редакцию 05.06.2018 г.