



УДК 594.124:577.1(262,5)

Н. С. Челядина, асп., **О. Ю. Вялова**, канд. биол. наук., н. с.,
Л. Л. Смирнова, канд. биол. наук, ст. н. с.

Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского Национальной академии наук Украины,
Севастополь, Украина

СОДЕРЖАНИЕ Zn, Cu, Pb, Cd В ГОНАДАХ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ *MYTILUS GALLOPROINCIALIS* LAM.

Показана сезонная изменчивость содержания Zn, Cu, Cd, Pb в гонадах самцов и самок. Концентрация Pb увеличивалась с ростом массы генеративной ткани моллюска, варибельность этого показателя выше у самцов. Медь в генеративной ткани самок содержалась в меньшем количестве, по сравнению с самцами, но её концентрирование стабильно на всех изучаемых стадиях гаметогенеза. Выявлены положительная корреляция между содержанием цинка и кадмия и отрицательная между содержанием цинка и свинца в гонадах мидий.

Ключевые слова: тяжёлые металлы, варибельность, мидия, гонады

Тяжёлые металлы – важный природный и антропогенный фактор морских экосистем, в связи с чем процессам накопления – выведения и действия на гидробионты этого экологического фактора посвящено много исследований [1, 3, 8, 15]. Цинк, как катализатор, принимает участие в ферментативных процессах, входит в состав энзимов, регулирующих клеточный метаболизм [8]. Кадмий необходим для углеводного обмена, влияет на некоторые ферменты и гормоны [5]. Медь, связываясь с азотом, кислородом, серой, является составной частью протеинов, обладает способностью стабилизировать серосодержащие радикалы [8]. Остаётся открытым вопрос, какая доля микроэлемента связана с физиологически активными соединениями. Токсическое действие тяжёлых металлов на структуры, ответственные за физиологическое состояние, биохимический состав, транскрипцию и трансляцию генетической информации, зависит не только от концентрации токсиканта в среде, но и от его физико-химического состояния (ионные гидролизованные формы, хелатные и взвесь).

Содержание цинка, меди, свинца, кадмия в прибрежных акваториях Чёрного моря редко достигает концентраций, негативно влияющих на жизнедеятельность гидробионтов [5, 16]. Моллюски – фильтраторы содержат металлы в концентрациях, на 2 – 4 порядка превышающие их концентрацию в воде [4, 8], на этом базируется их использование в качестве индикаторного объекта в программе «Мидиевый дозор» [12].

Накопление тяжёлых металлов моллюсками может происходить за счёт сорбции на поверхности раковины, поверхности клеточных мембран и в результате связывания металла с клеточными структурами, последующим его вовлечением в биохимические процессы. Многочисленные методики определения концентрации металлов в гидробионтах оценивают лишь общее содержание микроэлементов в тканях моллюска, при этом не всегда учитываются механизмы их депонирования.

Гонады – депо органического вещества, масса которых наращивается в результате «чистой генеративной продукции», куда могут

попасть лишь атомы металлов, вовлечённых в синтез физиологически и генетически значимых соединений. Индивидуальная вариабельность концентраций микроэлементов в генеративной ткани интересна для оценки полиморфизма, различий в процессах физиологической активности отдельных представителей популяции и необходимый этап в исследовании их генотоксичности.

Изучение вариабельности содержания кадмия, цинка, свинца и меди в генеративной ткани черноморской мидии *Mytilus galloprovincialis* в зависимости от пола и стадии зрелости гонад моллюсков и является целью настоящей работы.

Материал и методы. Сбор мидий проводился на экспериментальной ферме (г. Севастополь). Объектом исследования были моллюски с длиной раковины 50 – 55 мм, собранные на глубине 3 – 4 м с коллекторов в летне-осенний период 2003 – 2004 гг. Отбирали мидий на 3-й стадии зрелости гонад (в период активного накопления питательных веществ) и 4-й преднерестовой стадии зрелости (в период окончательного формирования половых клеток). У моллюсков определяли пол, стадию зрелости гонад, весовые характеристики (общий вес, массу сырых гонад). Для определения пола и стадии зрелости гонад использовали

методику визуального изучения мазков гонад под биноклем МБИ-3 [7].

При помощи пластмассового ножа гонады отделяли от створки, фильтровальной бумагой удаляли мантийную жидкость и взвешивали гонады на аналитических весах ВЛР-200. Одновременно с изучением изменения массы в гонадах исследуемых моллюсков определяли содержание цинка, меди, свинца, кадмия (Zn, Cu, Pb, Cd) методом атомно-абсорбционной спектроскопии после кислотной минерализации влажных гонад [16]. Для определения индивидуального содержания металлов в гонадах проанализировано 20 особей, собранных в июле и октябре 2004 г. Дополнительно определяли содержание меди в гонадах после их сжигания при 550°C спектрофотометрическим методом на Spacol-10. Проанализировано 60 особей, собранных с коллекторов в июне и августе 2003 г. Полученные результаты обработаны статистически [9].

Результаты и обсуждение. Формирование генеративной ткани у самцов и самок мидий в процессе гаметогенеза происходило неравномерно. При переходе от 3 к 4-й стадии зрелости наблюдалось увеличение массы гонад в 1.5 – 1.7 раза. В осенний период отмечены отличия в весовых показателях у моллюсков различного пола (табл. 1).

Табл. 1 Сырая масса гонад, содержание кадмия, меди, свинца, цинка в генеративной ткани в зависимости от стадии зрелости мидий (июль – 3-я и октябрь – 4-я стадии зрелости гонад) (M±SD)

Table 1 Row gonads mass, content of cadmium, zinc, lead and copper in generative tissues of mussels depending on maturity stage (July – 3th and October – 4th maturity stages) (M±SD)

Месяцы	Июль		Октябрь	
	♀	♂	♀	♂
Сырая масса гонад, г	0.248±0.08	0.298±0.09	0.366±0.11	0.500±0.14
Содержание Cd, мкг/г сырой массы	0.422±0.28	0.410±0.09	0.115±0.04	0.087±0.01
Содержание Cu, мкг/г сырой массы	5.886±4.33	8.526±3.61	5.304±1.78	5.17±1.38
Содержание Pb, мкг/г сырой массы	1.97±0.51	1.944±0.38	2.622±1.90	4.112±0.81
Содержание Zn, мкг/г сырой массы	19.64±3.34	19.98±5.54	10.256±1.97	5.106±0.99

При изучении содержания тяжёлых металлов (Zn, Cu, Pb, Cd) в гидробионтах показано, что металлы накапливаются в мягких тканях мидий в большем количестве, чем в створке [2, 8, 16]. Известно о мутагенном и токсическом действии Zn и Pb (при концентрации в морской среде 200.0 и 0.1 мкг/л соответственно) на ранние стадии развития личинок, митотическую активность клеток и скорость роста мидии [1]. Совместное влияние Zn и Cu при концентрации 0.1 – 3.3 мг/л приводит к разрушению структуры митохондрий, подавляет подвижность сперматозоидов [13], при возрастании концентрации Cd до 0.4 мкг/л увеличивается частота гаметообразований [14]. Ионы Cu могут влиять на структуру и функции нуклеиновых кислот, что, в свою очередь, отражается на интенсивности белкового синтеза [8].

С увеличением массы гонад и переходом моллюсков от 3 к 4-й стадии зрелости гонад в генеративной ткани наблюдалось возрастание концентрации Pb и уменьшение концентрации Cd, Cu и Zn (табл. 1). Содержание Cu в генеративной ткани самцов и самок изменялось с различной индивидуальной вариабельностью. У самок, в отличие от самцов, с увеличением массы гонад концентрация Cu изменялась незначительно. Полученные нами результаты выявили сезонную изменчивость концентрации тяжёлых металлов в генеративной ткани. Содержание Zn, Cu, Cd в гонадах возрастало в летний сезон. В этот период самцы концентрировали металлы интенсивнее самок. Повышение содержания тяжёлых металлов в мягких тканях представителей рода *Mytilus*, приходящееся на летний период, отмечалось ранее [8, 15]. Фитопланктон, благодаря большой удельной поверхности, эффективно концентрирует тяжёлые металлы. Содержание изучаемых микроэлементов в фитопланктоне прибрежных акваторий Чёрного моря может достигать значительных величин: Zn – 1188.0 мкг/г сухого веса, Cu – 102.4, Pb – 147.0 Cd – 1,3 [8]. В отличие от Zn, Cu, Cd, концентрация

Pb увеличивалась с изменением массы генеративной ткани мидий в процессе репродуктивного цикла (табл. 1). Отмеченная динамика в большей степени проявлялась у самцов, что не противоречило имеющимся данным [8].

Сравнивая содержание металлов в генеративной ткани культивируемых мидий, можно оценить концентрационную способность моллюсков, которая уменьшалась от цинка к кадмию: Zn → Cu → Pb → Cd.

Результаты изучения индивидуального содержания тяжёлых металлов в генеративной ткани самцов и самок мидий показаны на рис. 1. Обращает на себе внимание высокое содержание цинка в гонадах, а также отрицательная зависимость между содержанием цинка и массой гонад ($r^2 = 0.51$, $P < 0.05$) (рис. 1,D). Цинк способен легко вступать в реакции с органическим веществом, благодаря чему накапливается в гидробионтах в большем количестве, по сравнению с другими элементами [6]. По результатам наших исследований, максимальное содержание цинка в гонадах достигало 27 мкг/г. На 3-й стадии зрелости гонад индивидуальная вариабельность концентрации металла выражена, как у самцов, так и у самок. На 4-й стадии гаметогенеза содержание цинка в генеративной ткани моллюска уменьшалось в 2 – 2.5 раза, вариабельность в содержании цинка в большей степени проявлялась у самок.

Содержание кадмия в гонадах исследованных мидий не превышало 1 мкг/г сырой массы. Концентрирование металла отдельными особями происходило равномерно на каждой из изучаемых стадий, половых отличий в индивидуальном содержании кадмия не наблюдалось (рис. 1,A). К 4-й стадии гаметогенеза содержание кадмия у самцов и самок уменьшалось в 3.0 – 3.5 раза и составило 0.1 мкг/г сырой массы гонады.

Количество свинца в генеративной ткани моллюсков увеличивалось к 4-й стадии, с выраженной индивидуальной вариабельностью у самок (рис. 1,B) и изменялось в широком

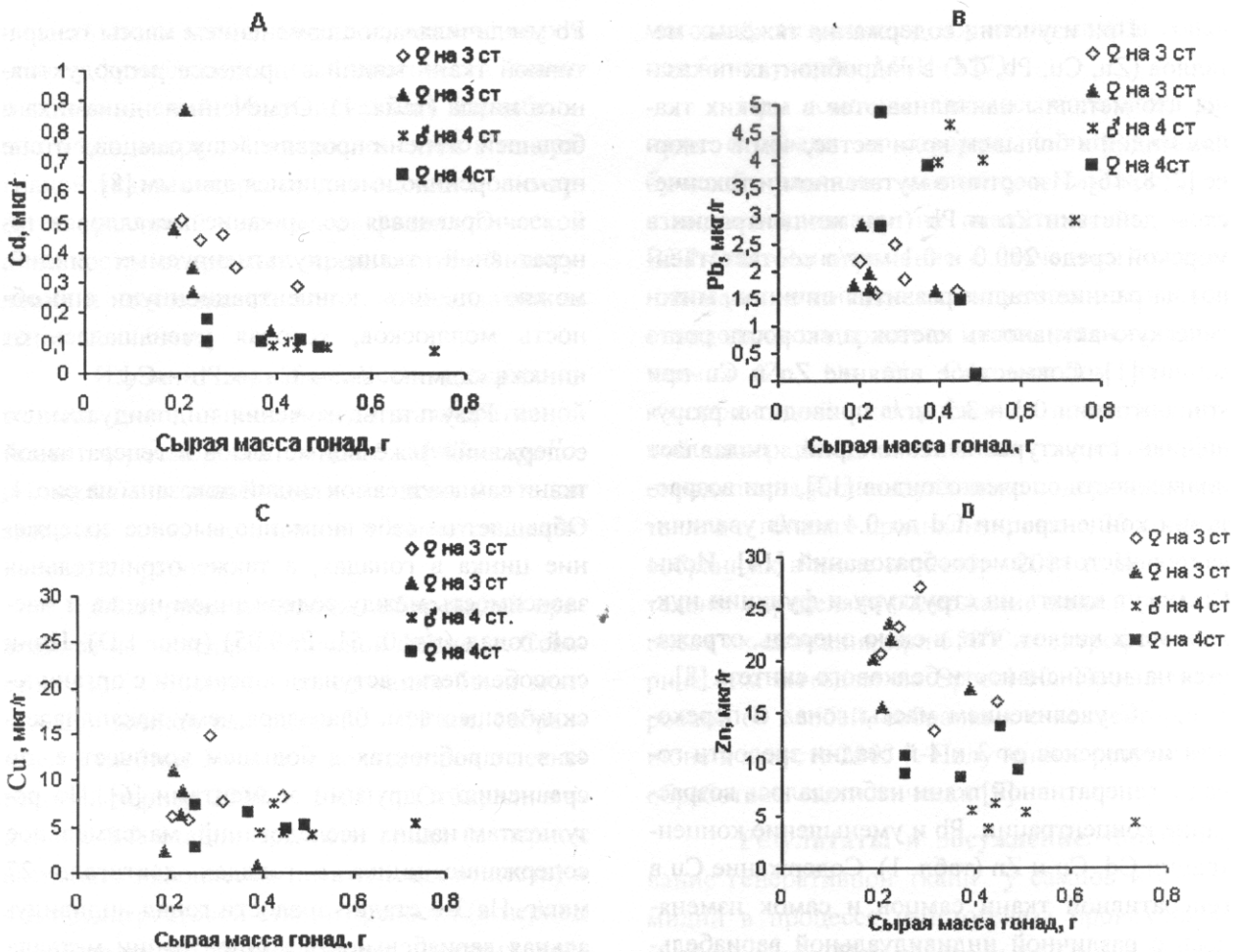


Рис. 1. Соотношение содержания кадмия (А), свинца (В), меди (С), цинка (D) и массы гонад у самок и самцов черноморской мидии на разных стадиях зрелости
 Fig. 1. Correlation of content of cadmium (A), lead (B), zinc (C), copper (D) and mass of female and male gonads of Black Sea mussels on different stages of maturity

диапазоне – от 0.1 до 5 мкг/г сырой массы гонад. Возможно, это связано с особенностями физиологического состояния моллюска и механизмом депонирования Pb в гонадах на преднерестовой стадии гаметогенеза. Концентрация Cu в генеративной ткани отдельных особей изменялась от 1 до 15 мкг/г сырой массы на 3-й стадии гаметогенеза (рис 1,С). На 4-й стадии зрелости гонад содержание Cu во всех исследуемых мидиях изменялось в диапазоне 3.5 – 7.5 мкг/г сырой массы. Согласно нашим расчетам, существует положительная корреляция между содержанием цинка и кадмия, $r^2 = 0.73$, $P < 0.01$, и отрицательная между содержанием цинка и свинца, $r^2 = 0.60$, $P < 0.01$ (рис. 122

2). Известно, что присутствие цинка может приводить к возрастанию концентрации кадмия во внутренних органах у *Mytilus edulis* [11].

Вариабельность в содержании меди в гонадах изучалась более подробно, так как этот металл влияет на структуру и функции нуклеиновых кислот [10] и может быть потенциальным мутагеном. Из рис. 3 видно, что самками медь аккумулируется в меньшем количестве, по сравнению с самцами. Однако с увеличением массы гонад (переход от 3 к 4-й стадии гаметогенеза) концентрация меди сохранялась на одном и том же уровне (5.8 – 5.3 мкг/г сырой массы гонад). На 4-й стадии

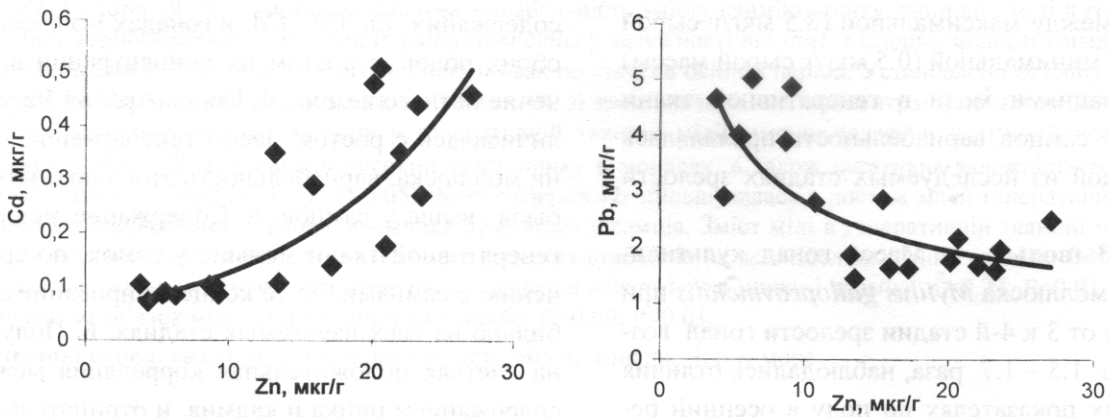


Рис. 2. Соотношение цинка, кадмия и свинца в гонадах мидий
Fig. 2. Correlation of zinc, cadmium and lead in gonads of mussels

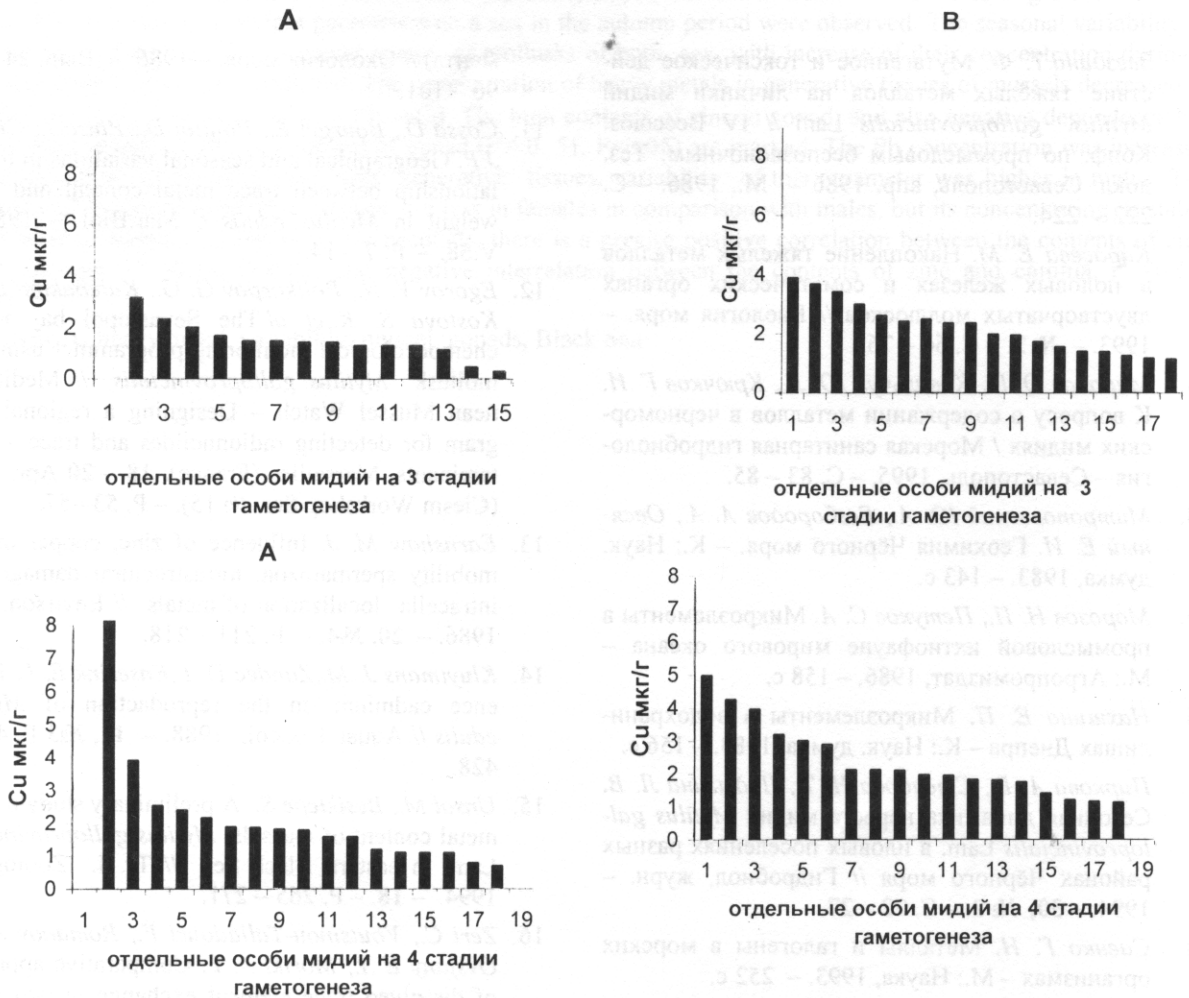


Рис. 3 Индивидуальная вариабельность концентрации меди в генеративной ткани, 2004 г. (А – самки; В – самцы)
Fig. 3 Individual variability of copper concentration in generative tissues, 2004 (A – females; B – males)

зрелости гонад следует отметить значительный разброс между максимальной (8.5 мкг/г сырой массы) и минимальной (0.5 мкг/г сырой массы) концентрациями меди в генеративной ткани самок. У самцов вариабельность проявлялась на каждой из исследуемых стадиях зрелости гонад.

Выводы. 1. Масса гонад культивируемого моллюска *Mytilus galloprovincialis* при переходе от 3 к 4-й стадии зрелости гонад возрасла в 1.5 – 1.7 раза, наблюдались отличия в весовых показателях по полу в осенний период. 2. Концентрация тяжёлых металлов в генеративной ткани мидий уменьшалась в следующей последовательности: Zn → Cu → Pb

→Cd. 3. Установлена сезонная изменчивость содержания Zn, Cu, Cd в гонадах моллюсков обоих полов, с ростом их концентрации в течение летнего сезона. 4. Концентрация Pb увеличивалась с ростом массы генеративной ткани моллюска, вариабельность этого показателя была выше у самцов. 5. Содержание меди в генеративной ткани меньше у самок, по сравнению с самцами, но её концентрирование стабильно на всех изучаемых стадиях. 6. Получена четкая положительная корреляция между содержанием цинка и кадмия, и отрицательная взаимосвязь между содержанием цинка и свинца в гонадах мидий.

1. Звездина Т. Ф. Мутагенное и токсическое действие тяжёлых металлов на личинки мидий *Mytilus galloprovincialis* Lam // IV Всесоюз. Конф. по промысловым беспозвоночным: Тез. докл. Севастополь, апр. 1986 – М., 1986. – С. 222 – 224.
2. Карасёва Е. М. Накопление тяжелых металлов в половых железах и соматических органах двусторчатых моллюсков // Биология моря. – 1993. – № 2. – С. 66 – 76.
3. Миронов О. Г., Ковальчук Ю. Л., Крючков Г. И. К вопросу о содержании металлов в черноморских мидиях / Морская санитарная гидробиология – Севастополь, 1995. – С. 83 – 85.
4. Митропольский Ю. А., Безбородов А. А., Овсяный Е. И. Геохимия Чёрного моря. – К.: Наук. думка, 1983. – 143 с.
5. Морозов Н. П., Петухов С. А. Микроэлементы в промысловой ихтиофауне мирового океана – М.: Агропромиздат, 1986. – 158 с.
6. Нахишина Е. П. Микроэлементы в водохранилищах Днепра – К.: Наук. думка, 1983. – 156 с.
7. Пиркова А. В., Столбова Н. Т., Ладыгина Л. В. Сезонная динамика нереста мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. в иловых поселениях разных районах Чёрного моря // Гидробиол. журн. – 1994. – 30, № 2. – С. 22 – 27.
8. Саенко Г. Н. Металлы и галогены в морских организмах – М.: Наука, 1993. – 252 с.
9. Урбах В. Ю. Биометрические методы – М.: Наука, 1964. – 416 с.
10. Шатице А. З., Звездовская Н. М. Об изменении содержания белка в тканях мидий при экспериментальных воздействиях (в условиях эксперимента) // Экология моря. – 1986. – Вып. 24. – С. 96 – 101.
11. Cossa D., Bourget E., Pouliot D., Piuze J., Chanut J.P. Geographical and seasonal variations in the relationship between trace metal content and body weight in *Mytilus edulis* // Mar.Biol. – 1980. – V.58. – P. 7 – 14.
12. Egorov V. N., Polikarpov G. G., Kulebakina L. G., Kostova S. K., et al. The Sevastopol bay radiochemoecological monitoring programmer using the mollusk *Mytilus galloprovincialis* // Mediterranean Mussel Watch – Designing a regional program for detecting radionuclides and trace – contaminants, Marseilles (France), 18 – 20 Apr. 2002 (Ciesm Workshop Ser. № 15). – P. 53 – 57.
13. Earnshaw M. J. Influence of zinc, copper on the mobility spermatozoa, ultrastructural damage and intracellular localization of metals // Environ. Res, 1986. – 20, №4. – P. 211 – 218.
14. Kluytmans J. M., Zandee D. I., Enserink E. L. Influence cadmium on the reproduction of *Mytilus edulis* // Aquat Toxicol, 1988. – 11, №3 P. 427 – 428.
15. Unsal M., Besiktepe S. A preliminary study on the metal content of mussels, *Mytilus galloprovincialis* Lam. in eastern Black Sea // Tr. J. Zoology. – 1994. – 18. – P. 265 – 271.
16. Zeri C., Voutsinou-Taliadouri F., Romanov A. S., Ovsjany E. I., Moriki A. F. Comparative approach of dissolved trace element exchange in two interconnected basins: Black Sea and Aegean Sea // Mar. Poll. Bull. – 2000. – 40, № 8. – P. 666 – 673.

Поступила 05 декабря 2005 г.

Зміст Zn, Cu, Pb, Cd в гонадах культивованих молюсків *Mytilus galloprovincialis* Lam. Н. С. Челядіна, О. Ю. Вялова, Л. Л. Смірнова. Вивчена варіабельність змісту кадмію, цинку, свинцю і міді в генеративній тканині чорноморської мідії *Mytilus galloprovincialis* у залежності від статі і стадіях зрілості гонад молюсків. Спостерігалися відмінності у вагових показниках по статті в осінній період. Установлено сезонну мінливість змісту Zn, Cu, Cd у гонадах молюсків обох статей, зі зростанням їхньої концентрації протягом літнього сезону. Концентрація важких металів у генеративній тканині мідії зменшувалася в наступній послідовності Zn→Cu →Pb→Cd. Відзначено високий зміст цинку в монадах, а також негативна залежність між змістом цинку і масою гонад ($r^2=0.51$, $P<0.05$). Концентрація Pb збільшувалася з ростом маси генеративної тканини молюска, варіабельність цього показника була вище у самців. Зміст міді в генеративній тканині менше у самок в порівнянні із самцями, але її концентрування стабільне на всіх досліджуваних стадіях. Відповідно до наших розрахунків, існує чітка позитивна кореляція між змістом цинку і кадмію, $r^2=0.73$, $P<0.01$ і негативний взаємозв'язок між змістом цинку та свинцю, $r^2=0.60$, $P<0.01$.

Ключові слова: важки метали, варіабельність, мідія, гонади, Чорне море

Contents of Zn, Cu, Pb, Cd in gonads of cultivated mussels *Mytilus galloprovincialis* Lam. N. S. Chelyadina, O. Y. Vyalova, L. L. Smirnova. Variability of the cadmium, zinc, lead and copper contents in generative of a tissues of the Black Sea mussel *Mytilus galloprovincialis* depending on a sex and stage of maturity gonad mussel is investigated. Weight of gonad cultivated mussel *Mytilus galloprovincialis* at transition from 3 to 4- grew in 1.5 – 1.7 times. The differences in weight parameters on a sex in the autumn period were observed. The seasonal variability of the contents of Zn, Cu, Cd, in gonad mussel of mollusks of both sex, with increase of their concentration during a years(summer) season is established. The concentration of heavy metals in generative tissues of mussels decreased in the following sequence Zn →Cu → Pb →Cd. The high contents of zinc in gonad, and also negative dependence between the contents of zinc and weight of gonad ($r^2= 0. 51$, $P<0.05$) are marked. The Pb concentration was increased with growth of weight of the mollusks' generative tissues, variability of this parameter was higher in males. The contents of copper in generative tissues are less in females in comparison with males, but its concentrating is stable at all studied stages. According to our accounts, there is a precise positive correlation between the contents of zinc and cadmium, $r^2 =0.73$, $P<0.01$, and negative interrelation between the contents of zinc and свинца, $r^2 =0.60$, $P<0.01$.

Key words: heavy metal, variability, mussel, gonads, Black Sea