

УДК 594.124:577.1(262.5)

Н. С. Челядина, Н. В. Поспелова, Ю. П. Копытов

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ МЕДИ В ТКАНЯХ САМЦОВ И САМОК МИДИИ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*

Обсуждаются особенности накопления меди в раковине, гепатопанкреасе, жабрах, гонадах, половых клетках и межстворчатой жидкости мидии *Mytilus galloprovincialis*, культивируемой в Черном море, в летний и осенний периоды, с учетом половой принадлежности моллюска. Проанализированы возможные причины различной аккумулирующей способности тканей мидий по отношению к меди. Определен вклад каждого из исследуемых органов и тканей в суммарное содержание меди у моллюска.

Ключевые слова: *Mytilus galloprovincialis*, медь, Черное море, гепатопанкреас, раковина, межстворчатая жидкость, половые клетки.

Современное состояние прибрежных акваторий Черного моря, испытывающих антропогенный пресс, приводит к нарушению природного фона токсичных элементов в морской среде, что негативно влияет на существование гидробионтов. Токсичные элементы группы тяжелых металлов (Pb, Zn, Cd, Cu) способны накапливаться в тканях морских организмов, что приводит к ухудшению качества биоресурсов. Среди тяжелых металлов (ТМ) медь отличается высокой токсичностью в отношении живых организмов [11]. И в то же время ионы меди выступают кофакторами некоторых ферментативных систем, обеспечивая их функционирование [8, 15]. Минимальные количества этого иона оказывают стимулирующий эффект на полифенолоксидазную, аскорбатоксидазную и другие ферментные системы. Избыточное поступление в организм этого металла вызывает повреждение указанных систем, а также структур и мембран клеток [7].

Двустворчатые моллюски — фильтраторы часто рассматриваются в качестве индикаторов острого и хронического загрязнения среды их обитания, однако, сведения о содержании ионов меди в организме двустворчатых моллюсков разрозненны и относятся к разным регионам [4, 6, 11, 15, 19]. Ввиду того, что мидии являются важным функциональным звеном прибрежных морских экосистем Черного моря и перспективным объектом для культивирования, актуальным остается вопрос об особенностях тканевого распределения меди у *M. galloprovincialis*, культивируемой на Черном море.

Целью работы было выявить особенности распределения меди в раковине, гепатопанкреасе, жабрах, гонадах, половых клетках и межстворчатой

© Н. С. Челядина, Н. В. Поспелова, Ю. П. Копытов, 2015

жидкости *M. galloprovincialis* с учетом половой принадлежности моллюска. Выбор перечисленных тканей связан с тем, что каждая из них характеризуется различными депонирующими возможностями.

Материал и методика исследований. Экспериментальную часть работы проводили в летний и осенний периоды 2003 и 2012 гг. Материал отбирали с веревочных коллекторов мидийных ферм (с глубины 3—4 м), расположенных в бухте Мартынова и на внешнем рейде г. Севастополя. Объектом исследования была коллекторная мидия *M. galloprovincialis* с длиной раковины $50,30 \pm 0,04$ мм. Всего проанализировано 300 особей. Моллюсков очищали от обрастаний, межстворчатую жидкость сливали в пробирку, мидий выдерживали в течение 2 ч в профильтрованной морской воде (для очищения кишечника). Для определения пола мидии использовали методику визуального наблюдения мазков гонад под микроскопом Jenaval (x125) [9]. Весовые характеристики моллюсков (сырую и сухую массу) определяли на аналитических весах ВЛР-2 с точностью до 0,5 мг. Для определения содержания тяжелых металлов использовали межстворчатую жидкость, раковину и мягкие ткани: гепатопанкреас, жабры, гонады, а также выметанные половые клетки (сперматозоиды и яйцеклетки). Сбор и подготовку половых продуктов для определения содержания меди проводили по методике [3]. Другие органы и ткани были объединены в одну пробу — «остальные ткани». Количественное определение меди в органах и тканях моллюска проводили методом атомно-абсорбционной спектроскопии после кислотной минерализации тканей [10] и выражали: в мягких тканях и раковине — в мкг/г сухой ткани, в межстворчатой жидкости — в мкг/см³, абсолютное содержание меди во всех органах и тканях — в мкг/ос. Данные для суммарной мягкой ткани рассчитывали, как среднее значение для всех мягких тканей, данные выражали в мкг/г сухой массы. Результаты обработаны статистически [14]. Сравнение средних значений содержания меди в органах и тканях мидии по критерию Стьюдента (t_{st}) проводили только для моллюсков с наиболее различающимися средними значениями.

Результаты исследований и их обсуждение

Установлено неравномерное распределение ионов меди в различных органах и тканях *M. galloprovincialis*. Содержание Cu в створке мидий не зависело от пола моллюска и сезона сбора проб и сохранялось в диапазоне 5,3—6,6 мкг/г (таблица). Ранее нами было отмечено, что величина этого показателя не зависела от размера моллюска и окраски раковины [16]. В раковине в процессе ее роста и развития происходит депонирование Cu, этот металл прочно связывается и накапливается в составе органических и неорганических компонентов в створках моллюсков [17].

Содержание Cu в суммарных мягких тканях самцов и самок не выявило отличий по полу. Сезонный фактор более значим в концентрировании меди в мягких тканях. Моллюски более интенсивно накапливали Cu в мягких тканях в летний период — после весеннего нереста, в процессе последующего соматического роста, что ранее отмечалось нами и другими авторами [10, 11, 15, 19]. Эта закономерность, по-видимому, связана с гидрологическими особенностями акватории расположения фермы. В летний период года на взмо-

Особенности распределения меди (мкг/г сухой ткани, мкг/см³) в органах и тканях *M. galloprovincialis* в летний и осенний сезоны ($\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$)

Пол	Раковина	Мягкие ткани (суммарно)	Гонады	Гепатопанкреас	Жабры	Половые клетки	Межстворчатая жидкость
Лето							
♀	6,2 ± 0,8	90,0 ± 6,3	26,5 ± 17,1	134,0 ± 72,6	72,7 ± 22,8	—	0,05 ± 0,01
♂	6,6 ± 0,7	88,1 ± 6,5	38,4 ± 14,2			—	0,07 ± 0,02
Осень							
♀	5,7 ± 0,4	23,9 ± 1,5	21,2 ± 6,3	32,7 ± 5,8	6,7 ± 1,2	15,5 ± 6,7	0,07 ± 0,01
♂	5,3 ± 0,3	24,1 ± 3,6	20,7 ± 4,3			4,9 ± 1,9	0,07 ± 0,01

рье г. Севастополя часто отмечаются сгонные явления, после чего наблюдаются «вспышки» развития фитопланктона — важной составляющей рациона мидий [12], который является аккумулятором соединений меди и других тяжелых металлов благодаря высокой площади поверхности организмов [1, 13]. При разложении биомассы фитопланктона в воду выделяются растворенные ионы меди, сгонные явления также способствуют переходу меди из донных отложений в водную толщу [8]. В летний сезон антропогенная нагрузка на акватории г. Севастополя возрастает, это касается и токсичных металлов. Возможно, что и этот фактор внес определенный вклад в более высокое содержание меди у мидий в этот период.

Анализ полученных данных показал, что аккумулирующая способность различных органов моллюска неодинакова и зависит от их функциональных и морфологических особенностей. Такие отличия в накоплении и распределении меди, по-видимому, связаны с особенностями метаболических процессов, происходящих в разных органах гидробионта, а также со специфической гистологической структурой тканей, выстилающих эти органы. Максимальные значения содержания меди за время исследования отмечены осенью в гепатопанкреасе, в летний период — в гепатопанкреасе и жабрах (см. таблицу). Известно, что при повышении концентрации металлов в воде увеличивается их содержание в органах, выполняющих барьерные функции — жабрах, желудочно-кишечном тракте [5]. При этом печень играет основную роль в накоплении и детоксикации токсикантов группы металлов за счет связывания синтезируемыми в ней специфическими белками — металлопротеинами. Гепатопанкреас у моллюсков может выполнять одну из функций печени, а именно — является депо ряда микроэлементов, прежде всего меди [4].

Известно, что содержание тяжелых металлов у гидробионтов зависит не только от экологических, но и от внутренних факторов организма, основной из которых — генетический контроль [11]. Влияние этого фактора проявля-

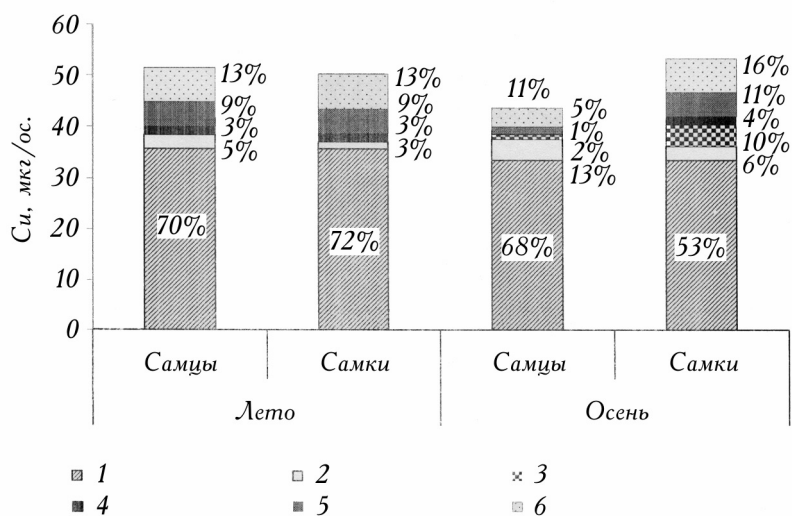
ется на уровне всех тканей организма. Однако генотоксичность тяжелых металлов в большей степени может проявляться при их повышенном содержании в генеративной ткани и в половых продуктах, поскольку масса гонад наращивается в результате «чистой генеративной продукции», и туда могут попасть лишь атомы элементов, которые вовлекаются в синтез физиологически и генетически значимых соединений. Поэтому определение содержания Cu в генеративной ткани — необходимый этап в исследовании генотоксичности этого микроэлемента. Среднее содержание меди в гонадах не выявило достоверных отличий по полу (различия между средними значениями для самцов и самок в летний период недостоверны: для уровня значимости $P = 0,05$ и числа степеней свободы $k = 16$, $t_{\text{ф}} = 5,4 < t_{\text{ст}} = 5,84$). Отмечены сезонные отличия в содержании меди в гонадах моллюска — в летний сезон этот показатель был выше, чем осенью (см. таблицу). Результаты по содержанию меди в половых продуктах (яйцеклетках и сперматозоидах) приведены только для осеннего периода, когда отмечается массовый нерест черноморской мидии. Содержание Cu в выметанных сперматозоидах в 2—3 раза ниже, чем в яйцеклетках. В половых клетках Cu связывается с аминокислотами белков и нуклеиновыми кислотами, обладая высоким сродством к этим соединениям [18], и накапливается в значительных количествах, особенно в яйцеклетках, которые крупнее сперматозоидов. Аналогичная закономерность наблюдалась и ранее для коллекторных мидий с длиной раковины 75 мм из бух. Ласпи [2].

Межстворчатая жидкость играет важную роль посредника в обмене веществ между клетками тканей и циркулирующей кровью, в связи с чем состав ее непрерывно обновляется. Содержание меди в межстворчатой жидкости характеризовалось стабильностью ($0,07 \text{ мкг/см}^3$) и не выявило отличий по полу в летне-осенний период года. Необходимо отметить, что концентрация меди в межстворчатой жидкости на один-два порядка превышает концентрацию этого элемента в воде [10].

Таким образом, среднее содержание меди в органах и тканях *M. galloprovincialis* увеличивалось в следующей последовательности: раковина → половые клетки → гонады → жабры → гепатопанкреас.

Чтобы определить вклад каждой из исследуемых тканей в суммарное содержание меди у *M. galloprovincialis*, рассчитали абсолютные значения содержания Cu в $\text{мкг} \cdot \text{ос.}^{-1}$ (рисунок).

Отмечено, что содержание этого металла не отличалось у самцов и самок в исследуемые сезоны года. При этом показано, что максимальное количество меди (53—72%) аккумулируется в створке, так как раковина моллюска составляет значительную часть его массы. В мягких тканях медь распределяется по-разному. В летний период года у мидий обоих полов доля меди увеличивалась в следующей последовательности: жабры → гонады → гепатопанкреас. Осенью долевое соотношение меди было другим, в связи с аккумуляцией и выведением определенного количества металла с половыми продуктами, при этом выводящая функция яйцеклеток была выше, чем сперматозоидов (соответственно 10 и 2%) (см. рисунок).



Тканевое распределение меди у *M. galloprovincialis* в осенне-летний сезон, мкг/ос.: 1 — створка; 2 — гонады; 3 — половые продукты; 4 — жабры; 5 — гепатопанкреас; 6 — остальные ткани.

Заключение

Отмечено неравномерное распределение меди по органам и тканям культивируемой *M. galloprovincialis*. Содержание Cu у моллюска увеличивалось в следующей последовательности: раковина → половые клетки → гонады → жабры → гепатопанкреас. Концентрирование Cu в раковине, гонадах, гепатопанкреасе, жабрах и межстворчатой жидкости *M. galloprovincialis* не выявило различий между самцами и самками. Содержание Cu в яйцеклетках мидий в 2—3 раза выше, чем в сперматозоидах. Отмечена зависимость концентрирования меди от сезона года в суммарных мягких тканях, гепатопанкреасе и жабрах мидий: содержание Cu увеличивается в летний период.

Долевое соотношение Cu в органах и тканях моллюска *M. galloprovincialis* было неравномерным: максимальное количество меди (53—72%) аккумулировалось в раковине, минимальное — в жабрах (1—4%); значительную роль в концентрировании меди играют половые клетки самок мидий в период осеннего нереста (10%).

**

Обговорюються особливості накопичення іонів міді в черепашці, гепатопанкреасі, зябрах, гонадах, статевих клітинах і міжстулковій рідині мідії *Mytilus galloprovincialis*, яка культивується в Чорному морі, в літньо-осінній період, з урахуванням статеві належності моллюска. Проаналізовано можливі причини різної здатності тканин мідій до акумуляції міді. Визначено внесок кожної з досліджуваних тканин в сумарний вміст міді у моллюска.

**

*Features of copper ions accumulation in the shell, hepatopancreas, gills, gonads, reproductive cells and perivisceral fluid of mussel *Mytilus galloprovincialis* cultivated in the Black Sea, taking into account the mollusk sex, in the summer-autumn period are discussed. Possible reasons of varying capacity of mussel tissues to accumulate copper are analyzed. There are determined the contribution of each of the studied tissues in the total copper content of the mollusk.*

**

1. Егоров В. Н., Кулебакина Л. Г. Закономерности поглощения Mn, Zn, Co и Hg морскими водорослями и взвешенным веществом // Биология моря. — 1987. — № 4. — С. 42—46.
2. Караванцева Н. В., Бобко Н. И. Концентрация металлов — микроэлементов в сухих пробах яйцеклеток, сперматозоидов и гонад черноморских мидий // VII междунар. науч.-практ. конф. молодых ученых по проблемам водных экосистем «Pontus Euxinus — 2011», посвященной 140-летию Института биологии южных морей НАН Украины: Тез. докл., Севастополь, 24—27 мая 2011 г. — Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2011. — С. 119—121.
3. Караванцева Н. В., Поспелова Н. В., Бобко Н. И., Нехорошев М. В. Методика отбора половых продуктов мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. // Системы контроля окружающей среды: сб. науч. тр. — Вып. 17. — Севастополь: МГИ НАН Украины, 2012. — С. 184 — 187.
4. Киричук Г. Е. Особенности накопления ионов тяжелых металлов в организме двустворчатых моллюсков / Гидробиол. журн. — 2003. — Т. 39, № 3. — С. 45—55.
5. Ковековдова Л. Т., Симоконь М. В., Куку Д. П. Токсичные элементы в промысловых гидробионтах прибрежных акваторий северо-западной части Японского моря // Вопросы рыболовства. — 2006. — Т. 7, № 1 (25). — С. 185—190.
6. Козинцев А. Ф. Сезонная динамика содержания тяжелых металлов в мидии (*Mytilus galloprovincialis*) из бухты Казачья Черного моря // Мор. экол. журн. — 2006. — Т. 5, № 4. — С. 41—47.
7. Линник П. Н. Формы миграции меди в пресных и солоноватоводных водоемах // Гидробиол. журн. — 1984. — Т. 20, № 1. — С. 69—75.
8. Митропольский О. Ю., Наседкина Е. И., Осокина Н. П. Экогеохимия Черного моря. — К.: Академперіодика, 2006. — 278 с.
9. Пиркова А. В. Размножение мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. и элементы биотехнологии ее культивирования: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Севастополь, 1994. — 25 с.
10. Поликарпов Г. Г. Егоров В. Н. Морская динамическая радиохемология — М.: Энергоатомиздат, 1986. — 176 с.
11. Саенко Г. Н. Металлы и галогены в морских организмах — М.: Наука, 1993. — 252 с.
12. Сеничева М. И., Куфтаркова Е. А., Ковригина Н. П. Условия формирования кормовой базы мидий в районе экспериментального марихозия в районе Севастополя // Еколого-функціональні та фауністичні аспекти дослідження моллюсків і роль у біоіндикації стану навколишнього сере-

- довища: зб. наук. пр. — Вип 2. — Житомир: Вид-во Житомир. ун-та, 2006. — С. 317—320.
13. Скрипник И. А., Секундяк Л. Ю., Кирсанова Е. В. Реакция фитопланктонных сообществ на локальное загрязнение медью // Наук. зап. Терноп. гос. пед. ун-ту. Сер. Біологія. — 2005. — Вип. 4 (27). — С. 225—227.
 14. Урбах В. Ю. Биометрические методы. — М.: Наука, 1964. — 416 с.
 15. Христофорова Н. К., Шулькин В. М., Кавун В. Я., Чернова Е. Н. Тяжелые металлы в промышленных и культивируемых моллюсках залива Петра Великого. — Владивосток: Даль-наука, 1994. — 296 с.
 16. Челягина Н. С., Смирнова Л.Л. Сезонные изменения содержания меди в створках и мягких тканях *Mytilus galloprovincialis* Lam. // Еколого-функціональні та фауністичні аспекти дослідження молюсків, їх роль у біоіндикації стану навколишнього середовища: зб. наук. пр. — 2006. — Вип. 2. — Житомир: Вид-во Житомир. ун-ту. — С. 339—341.
 17. Челягина Н. С., Смирнова Л. Л. Вариабельность морфометрических показателей и содержания меди в раковинах коллекторных *Mytilus galloprovincialis* Lam. // Экология моря. — 2009. — Вып. 78. — С. 90—94.
 18. Яцимирский К. Б., Крисс Е. Е., Ахrameева Т. И. Изучение комплекса ионов меди с дезоксирибонуклеиновой кислотой // Докл. АН СССР. — 1966. — Т. 168, № 4. — С. 840—843.
 19. Unsal M., Besiktepe S. A preliminary study on the metal content of mussels, *Mytilus galloprovincialis* Lam. in eastern Black Sea // Tr. J. Zoology. — 1994. — Vol. 18. — P. 265—271.