

## СОДЕРЖАНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ТКАНЯХ ГОЛОТУРИЙ *EUPENTACTA FRAUDATRIX* В ЗАЛИВЕ ПЕТРА ВЕЛИКОГО

© 2010 Л.С. Долматова, Е.Н. Слинько, Л.Ф. Колосова

Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН, г. Владивосток

Поступила в редакцию 14.05.2010

Представлены данные двухгодичных исследований содержания тяжелых металлов в тканях голотурий *Eupentacta fraudatrix* в двух бухтах залива Петра Великого Японского моря, отличающихся по степени загрязнения. Установлены особенности распределения тяжелых металлов (ТМ) в различных органах животного. Выявлено наличие двух морфологических форм голотурий, «розовой» и «оранжевой», отличающихся размерными характеристиками и яркостью окраски тела, по-видимому, обусловленную разным содержанием каротиноидов в тканях. Выявлена способность «оранжевой» морфоформы более эффективно по сравнению с «розовой» снижать содержание ТМ в стенке тела и гонадах. Полученные результаты свидетельствуют об относительно низком уровне аккумуляции ТМ в тканях голотурий *E. fraudatrix* в условиях антропогенных загрязнений в б. Алексеева и значительно более высоких флуктуациях содержания ТМ в тканях голотурий в б. Витязь, связанную, по-видимому, с периодическим заносом загрязнений водами реки Туманган.

Ключевые слова: голотурии, тяжелые металлы, экологический мониторинг

Морские беспозвоночные голотурии (Holothuroidea) широко используются в традиционной медицине народов Юго-Восточной Азии. Из дальневосточных видов этого класса животных наиболее изучен трепанг (*Apostichopus japonicus*), обладающий широким спектром биологической активности, в том числе, антистрессовой и иммуномодулирующей [5]. Трепанг остается основным промысловым видом голотурий, однако истощение его запасов в дальневосточных морях вынуждает фармакологов исследовать и другие виды голотурий, являющихся обычными обитателями шельфовых вод Японского моря. Так, для голотурии *Eupentacta fraudatrix* показаны выраженный противогрибковый и иммуномодулирующий эффекты [2]. Перспективность использования этого вида в качестве фармакологического сырья и возможности выращивания его в марикультуре обуславливает повышение интереса к биологии этого вида, до сих пор мало изученной. Учитывая возможности использования этих животных в медицине, особое значение имеет изучение содержания в тканях животных тяжелых металлов (ТМ), превышение предельных концентраций которых опасно для человека. Увеличение содержания ТМ в морской воде и донных осадках при увеличении антропогенной нагрузки может сопровождаться аккумуляцией ТМ в тканях морских гидробионтов. Голотурии *Eupentacta fraudatrix* ведут малоподвижный образ

жизни, прячась под камнями и обломками ракушек. Эта особенность их поселений позволяет проводить многолетние исследования в относительно константных биотопах, что в свою очередь, представляет интерес для исследований по мониторингу экологического состояния среды. Масштабные строительные работы, развернувшиеся на о. Русском вблизи г. Владивостока в связи с предстоящим саммитом АТЭС 2012 г., сопровождаются определенным загрязнением морской среды, обуславливая необходимость контроля за изменением состояния гидробионтов, в том числе содержания ТМ в их тканях. Ранее проведенные единичные исследования содержания ТМ в тканях некоторых съедобных голотурий [13] носили отрывочный характер, затрагивали узкий спектр ТМ, не выявляли особенности распределения ТМ в тканях животных и их зависимость от загрязнения морской среды.

**Цель работы:** сравнительное исследование уровня ТМ в тканях голотурий *E. fraudatrix* на двух научно-исследовательских станциях Тихоокеанского океанологического института ДВО РАН в заливе Петра Великого Японского моря: в бухте Алексеева (о. Попов), находящейся в непосредственной близости от о. Русского, и в бухте Витязь, расположенной вблизи от Дальневосточного государственного морского биосферного заповедника.

**Материал и методы.** Сбор голотурий производился в мае-сентябре в бухтах Алексеева и Витязь залива Петра Великого на глубинах 0,5-2 м с использованием легководолазного снаряжения (трубка, маска, ласты). Отбор проб грунта производили с помощью пластиковых емкостей, используя в качестве транспортного

Долматова Людмила Степановна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биофизики. E-mail: dolmatova@poi.dvo.ru

Слинько Елена Николаевна, научный сотрудник лаборатории морской экотоксикологии. E-mail: eslinko@rambler.ru

Колосова Людмила Федоровна, старший инженер сектора физико-химического анализа. E-mail: kolosova@poi.dvo.ru

средства резиновую лодку. Обработку проб грунта проводили согласно стандартным рекомендациям [12]. Для выделения наиболее тонкодисперсной фракции грунтов (ил) пробу грунта взмучивали в отфильтрованной морской воде, отстаивали 30 мин, центрифугировали и в полученном осадке определяли содержание ТМ. Определение ТМ (Cd, Co, Cu, Zn, Fe, Mn и Pb) в тканях *E. fraudatrix* проводили методом атомно-абсорбционной спектrophотометрии в воздушно-ацетиленовом пламени с использованием атомно-абсорбционного спектrophотометра Shimadzu 6800 (Япония). Для подготовки проб к анализу применяли метод кислотной минерализации. Образцы (тушки животных или их отдельные органы) высушивали до постоянной массы при температуре 85°C. Затем навеску ткани (0,2-1,0 г) помещали в тefлоновый стакан и добавляли смесь 16 М HNO<sub>3</sub> и 11,3 М HClO<sub>4</sub> (3:1, об/об). Пробы выдерживали при комнатной температуре 24 часа, затем нагревали до тех пор, пока раствор не становился прозрачным [9]. Пределы обнаружения для Cd и Zn были 0,06 мкг/г сухой массы, для Cu и Mn – 0,2 мкг/г, Co и Fe – 0,4 мкг/г и для Pb – 0,8 мкг/г. Результаты представлены средними значениями 4-8 измерений ± средняя ошибка. Разницу между группами считали

достоверной при P не более 0,05 (ANOVA для повторных измерений, тест Стьюдента-Неймана-Коля).

**Результаты и обсуждение.** Измерение уровня ТМ в тканях голотурий, проведенное в конце мая 2008 г., представлено в табл. 1. Сравнение содержания металлов в грунте б. Алексева и в тушках животных показывает (данные за 2008 г.), что голотурии, по-видимому, не накапливают ТМ из грунта, за исключением Cd. Содержание этого металла в голотуриях в 2 раза превышало его содержание в грунте. При этом сравнение полученных данных с результатами работы Жадана и др. [3] свидетельствует о том, что содержание ТМ в грунте б. Алексева значительно возросло за 4 года (2004-2008 гг.): содержание Cu – в 4,3 раза, Zn – в 1,25 раза, Fe – в 2 раза, Mn – в 3,2 раза.

Последующие измерения уровня ТМ в июне выявили наличие сезонных изменений в содержании ТМ в тушках голотурий (табл. 2). Так, в июне по сравнению с маем в 5 раз возрастало содержание Zn, но снижалось содержание Fe, Mn, Co, Cd и Pb в 2, 2,3, 1,8, 2,6 и 1,6 раза, соответственно. Уровень Cu не изменялся. Наличие сезонных изменений в содержании ТМ в тканях морских гидробионтов описано ранее [4].

**Таблица 1.** Содержание ТМ в цельных тушках голотурий *E. fraudatrix* и в грунте б. Алексева (май 2008 г.)

Образцы	Концентрация тяжелых металлов, мкг/г сухой массы						
	Cu	Zn	Fe	Mn	Co	Cd	Pb
<i>E. fraudatrix</i>	2,8±0,1*	6,0±0,2*	136±3*	21,5±0,1*	0,72±0,13*	0,41±0,11	15,60±0,61*
грунт	97,0±29,0	127,5±18,5	60000±6700	465,5±46,5	24,0±1,5	0,21±0,04	39,0±2,0

**Таблица 2.** Распределение тяжелых металлов в органах голотурий *E. fraudatrix* (июнь 2008).

Образцы	Концентрация ТМ, мкг/г сухой массы						
	Cu	Zn	Fe	Mn	Co	Cd	Pb
<i>E. fraudatrix</i> , цельная тушка	2,8±0,07	30,1±2,7	68,9±7,5	9,3±1,2	0,4±0,03	0,16±0,02	9,6±0,9
<i>E. fraudatrix</i> , кишка	36,3±4,7	149±16,1	1793±165,9	36,3±1,8	0,74±0,05	1,28±0,06	6,1±0,2
<i>E. fraudatrix</i> , гонады	3,07±0,1	62,0±4,8	53,0±3,9	0,7±0,02	0,48±0,03	0,25±0,02	2,39±0,08
<i>E. fraudatrix</i> , стенка тела	1,85±0,08	22,4±1,9	26,8±2,9	17,1±1,1	0,14±0,01	0,23±0,01	20,6±1,5

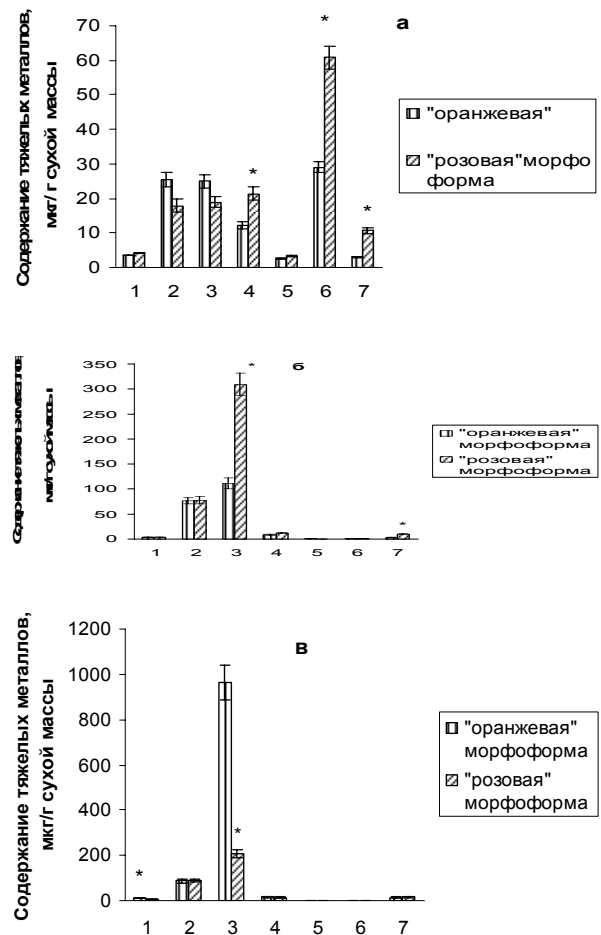
Исследование уровней ТМ в отдельных органах *E. fraudatrix*, также проведенное в июне, выявило, что содержание металлов в стенке тела было преимущественно наименьшим, за исключением свинца и марганца, уровни которых в стенке тела были примерно в 2 раза выше, чем в целом животном. Содержание металлов в кишке, за исключением свинца, напротив, было максимальным по сравнению с другими органами и целым животным, наибольшее значение имело

содержание железа, в 26 раз превышая его среднее содержание а тушке животного. Гонады по содержанию ТМ занимали промежуточное положение между стенкой тела и кишкой. Наименьшие величины содержания Mn и Pb отмечены именно в гонадах.

Исследование биотопов голотурий *E. fraudatrix* (длина тела до 8,5-9 см, единичные экземпляры-до 10 см) в бухтах Алексева и Витязь выявило распределение животных по

субпопуляциям, различающимся по средней размерности и окраске тела. При этом в бухте Алексеева животные с ярким цветом тела, красно-оранжевым, образуют поселения на относительно больших глубинах (2-5 м) с каменистым грунтом, в то время как окраска тела животных на глубине 0,5 м с илисто-песчаным дном с примесью битой ракушки была преимущественно розовой. В б. Витязь на дне, образованном свалом камней, преобладали голотурии оранжевого цвета, которые образовывали компактные скопления уже на глубинах 0,5 м. Наличие двух форм животных, установленное в данной работе для голотурий *E. fraudatrix*, ранее было показано и для трепанга [6]: две морфоформы *Apostichopus japonicus* различаются как по цвету («зеленая» и «красная»), так и распределением и темпами роста.

Было проведено сравнение содержания ТМ в обнаруженных 2 морфоформах голотурий *E. fraudatrix* («оранжевой» и «розовой») в сентябре 2008 г. в б. Витязь. Поскольку существуют данные о влиянии размера тела/возраста на накопление ТМ в тканях гидробионтов [4], для исследований в группы сравнения отбирались голотурии со средней длиной тела (4-5 см). Было показано, что голотурии двух морфоформ отличались избирательностью в аккумуляции ряда ТМ (рис. 1). Так, в стенках тела «оранжевой» морфоформы содержание Zn в 1, 7 раз превышало его уровень в «розовой», и, напротив, животные с розовой окраской тела содержали в 3 раза больше Co и в 2 раза – Pb (рис. 1а). Содержание других ТМ варьировало недостоверно. В гонадах «розовой» морфоформы (рис. 1б) установлено значительное увеличение по сравнению с «оранжевой» формой содержания таких металлов, как Fe (в 3 раза) и Co – в 2 раза. По другим элементам существенной разницы не отмечено. В кишке значительная разница отмечена по содержанию Cu и Fe (в «оранжевых» животных их было в 2 и 3 раза, соответственно, больше, чем в «розовых»). По-видимому, повышенное содержание в «оранжевых» животных каротиноидов, предположительно обуславливающих их более яркую окраску по сравнению с «розовыми», вызывает снижение содержания ТМ в жизненно важных органах по сравнению с таковым в «розовых» голотуриях. Подобное снижение может быть связано со способностью каротиноидов увеличивать синтез металл-связывающих белков металлотеинеинов в отдельных органах, вызывая перераспределение металлов в органах, приводящее к их накоплению в детоксицирующем органе и снижению в других, как это было показано в отношении ретинол-индуцируемой толерантности к кадмию у крыс [11]. Необходимо отметить, что работы, указывающие на связь каротиноидов с перераспределением/выведением ТМ из организма голотурий и других морских гидробионтов в литературе практически не встречаются.



**Рис. 1.** Содержание тяжелых металлов (1 – Cu, 2 – Zn, 3 – Fe, 4 – Mn, 5 – Cd, 6 – Pb, 7 – Co) в стенке тела (а), гонадах (б) и кишке (в) двух морфоформ («оранжевой» и «розовой») голотурий *E. fraudatrix* (длина тела 4-5 см) в б. Витязь (зал. Петра Великого) в сентябре 2008 г. \* -  $P < 0,05$  по сравнению с другой морфоформой.

Несмотря на чрезвычайно высокое содержание свинца в стенке тела голотурий, особенно, «розовой» морфоформы, в б. Витязь в 2008 г., измерения уровня ТМ в оранжевых животных в 2009 г. выявили его низкую концентрацию, в 3 раза меньшую, чем в тот же период наблюдений в 2008 г. (табл. 3). Значительно снизилось также содержание Mn и Cd (на 85% и 70%, соответственно) по сравнению с их величинами в 2008 г., однако резко возросло содержание железа, более чем в 6 раз. Содержание Cu в стенке тела «оранжевых» голотурий в 2009 г. оставалось на уровне 2008 г, не варьировало оно и между исследованными морфоформами в 2008 г. Слабая вариабельность содержания Cu, участвующей, как и ряд других металлов (Zn, Fe, Mn) в регуляции многих физиологических процессов организма, но являющейся более токсичной, показана и для мидии *Mytilus edulis* [7] и связана, по-видимому, с наличием строгих систем поддержания ее уровня [10].

Измерения содержания ТМ в грунте в б. Витязь в 2009 г. показали, что концентрации исследованных ТМ в грунте этой бухты значительно ниже, чем в б. Алексеева (по данным 2008 г.). Однако уровень содержания ТМ в тканях голотурий в б. Витязь был равен или превышал таковой для отдельных ТМ (Cu, Fe, Co) в голотуриях в б. Алексеева. Таким образом, несмотря на возрастающее антропогенное загрязнение б. Алексеева, существенного возрастания уровня ТМ в тканях обитающих в этой бухте голотурий не отмечено. В б. Витязь, тем не менее, на фоне низкой загрязненности грунта ТМ, в тканях голотурий отмечено значительное возрастание содержания таких металлов, как Pb (в 2008 г.) и Fe (в 2009 г.). По-видимому, такие

колебания в уровнях ТМ связаны с поступлением в юго-западную часть зал. Петра Великого вод реки Туманган, несущей в российскую акваторию различные загрязняющие вещества с предприятий Северной Кореи и Китая [1]. Голотурии *E. fraudatrix*, в отличие от трепанга, являющегося детритофагом [5], поглощают частицы пищи, распределенные в воде. Вследствие этого, загрязняющие выбросы могут приводить к периодическим колебаниям в уровнях ТМ в тканях голотурий в б. Витязь. Полученные данные соответствуют предположению Arun and Achyuthan [8] о том, что многие виды морских беспозвоночных поглощают ТМ в большей мере из пищи, чем из воды и грунта.

**Таблица 3.** Содержание тяжелых металлов в стенке тела голотурий *E. fraudatrix* («оранжевая» морфоформа, длина тела 4-5 см) в б. Витязь и б. Алексеева и в грунте б. Витязь (сентябрь 2009 г.)

Образцы	Концентрация тяжелых металлов, мкг/г сухой массы						
	Cu	Zn	Fe	Mn	Co	Cd	Pb
<i>E. frau-datrix</i> , б. Витязь	4,18±0,20	28,03±5,20	159±8,53	18,72±0,89	1,75±0,47	0,40±0,13	7,65±2,70
грунт	17,1±1,2	65±5,5	15092±400	184±16,5	1,99±0,05	Не/опред	27,0±1,8
<i>E. frau-datrix</i> , б. Алексеева	0,08±0,03	19,2±1,12	54,6±10,4	25,94±3,25	0,38±0,13	0,46±0,02	5,75±1,27

**Выводы:** полученные результаты свидетельствуют об относительно низком уровне аккумуляции ТМ в тканях голотурий *E. fraudatrix* в условиях антропогенных загрязнений в б. Алексеева и значительно более высоких флуктуациях содержания ТМ, особенно Pb и Fe, в б. Витязь. Вместе с тем отмечена способность тканей животных снижать повышенный уровень ТМ в отдельных органах, чему, по-видимому, способствует высокое содержание каротиноидов в тканях голотурий. Роль каротиноидов в этих процессах будет исследована в дальнейших работах.

Работа выполнена при частичной поддержке грантов ДВО РАН № 08-04-99141 и № 10-III-Д-07-030.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Вышкварцев, Д.И. Трансграничный поток загрязнений с водами реки Туманной // Вестн. ДВО РАН. – 1997. - № 2. – С. 88-91.
2. Долматова, Л.С. Характеристика состава и медико-биологические исследования комплекса биологически активных веществ из дальневосточных видов голотурий / Л.С. Долматова, Н.Ф. Тимченко, Н.Я. Стасенко // Дальневосточные моря России. Книга 2. Исследование морской экологии и биоресурсов / под. ред. В.А. Акуличева и В.П. Челомина. – М.: Наука, 2007. – С. 684-694.
3. Жадан, П.М. Оценка состояния прибрежных экосистем на основе морфофункциональных патологий у донных беспозвоночных / П.М. Жадан, М.А. Ващенко, Т.Н. Альяшова и др. // Дальнево-

- сточные моря России. Книга 2. Исследование морской экологии и биоресурсов / под. ред. В.А. Акуличева и В.П. Челомина. – М.: Наука, 2007. – С. 591-615.
4. Кавун, В.Я. Возрастная динамика микроэлементного состава тканей долгоживущих митилид *Crenomytilus grayanus* и *Modiolus kurilensis* // Биология моря. – 1994. – Т. 20, № 1. – С. 62-67.
5. Левин, В.С. Дальневосточный трепанг. – Владивосток: Дальневосточное книжн. изд-во, 1982. – 191 с.
6. Селин, Н.И. Особенности распределения, состав поселений и рост дальневосточного трепанга в заливе Восток Японского моря / Н.И. Селин, М.Ж. Черняев // Биология моря. – 1994. – Т. 20, № 1. – С. 73-81.
7. Чернова, Е.Н. Изменение концентрации металлов в тканях мидии *Mytilus edulis* из Белого моря в ходе репродуктивного цикла // Биология моря. – 2010. – Т. 36, № 1. – С. 63-69.
8. Arun, K.K. Heavy metal accumulation in certain marine animals along the East Coast of Chennai, Tamil Nadu, India / K.K. Arun, H. Achyuthan // Journal of Environmental Biology. – 2007. – V. 28, No. 3. – P.637-643.
9. Belcheva, N.N. Relationship between shell weight and cadmium content in digestive gland of Japanese scallop *Patinopecten yessoensis* (Jay) / N.N. Belcheva, M. Zakhartsev, A.V. Silina et al. // Marine Environmental Research. –2006. – V. 61. – P. 396-409.
10. Lyngby, J.E. Monitoring of heavy metal contamination in the Limford, Denmark, using biological indicators and sediment / J.E. Lyngby, H. Brix // Sci. Total. Environ.–1987. – V. 64, No 3. – P. 239-252.

11. Sauer, J.M. Tolerance induced by all-trans-retinol to the hepatotoxic effects of cadmium in rats: role of metallothionein expression / J.M. Sauer, M.P. Waalkes, S.B. Hooser et al. // Toxicol Appl Pharmacol. – 1997. – V. 1. – P.110-119.
12. Walton, A.G. Methods for sampling and analysis of marine sediments and dredged materials. – Ottawa: Dept. of Fisheries and Environment, 1978. – 74 p.
13. Wang, F. Nutrient analysis of frozen sea cucumber (*Acaudina molpadioidea*) // Donghai Marine Science. – 1997. – V. 15, No 4. – P. 65-67.

## **THE CONTENTS OF HEAVY METALS IN TISSUES OF HOLOTHURIAS *EUPENTACTA FRAUDATRIX* IN PETER THE GREAT GULF**

© 2010 L.S. Dolmatova, E.N. Slinko, L.F. Kolosova

Pacific Oceanologic Institute named after V.I. Ilyichev FEB RAS, Vladivostok

Data of biennial researches of heavy metals contents in tissues of holothuria *Eupentacta fraudatrix* in two bays of Peter the Great gulf of Japanese sea, differing on contamination level are presented. Features of distribution the heavy metals (HM) in various organs of animal are established. Presence of two morphological forms of holothurias, "pink" and "orange", differing by dimensional characteristics and brightness of body painting, apparently, caused by the different contents of carotenoids in tissues is revealed. Ability of "orange" morphoform more effectively in comparison with "pink" is revealed to reduce HM contents in a body-wall and gonads. The received results would testify to rather low level of HM accumulation in tissues of holothurias *E. fraudatrix* in conditions of anthropogenic pollutions in Alekseev bay and much higher fluctuations of HM contents in tissues of holothurias in Vityaz bay, connected, apparently, with periodic drift of pollution by waters of the river Tumangan.

Key words: *holothurias, heavy metals, ecological monitoring*