

Краткое сообщение

УДК 57.044

<https://doi.org/10.35885/1684-7318-2022-4-483-490>

ПОТЕНЦИРОВАНИЕ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ МЕДИ В ПРИСУТСТВИИ ЛАНТАНА В БИОТЕСТАХ НА *DAPHNIA MAGNA* STRAUS (CLADOCERA, CRUSTACEA)

М. А. Сысолятина ✉, А. С. Олькова

Вятский государственный университет
Россия, 610000, г. Киров, ул. Московская, д. 36

Поступила в редакцию 02.04.2022 г., после доработки 13.09.2022 г., принята 13.09.2022 г.

Аннотация. Имеющиеся данные о совместном действии редкоземельных элементов и тяжелых металлов противоречивы. Следовательно, актуальна цель представленной работы – определить эффекты растворов солей меди, лантана и их эквимольных смесей в контролируемых условиях для *Daphnia magna* Straus. Установлено, что гибель *D. magna* свыше 50% в растворах, содержащих Cu^{2+} , наблюдается при расчетной концентрации 0.05 мг/л (0.0008 ммоль/л), а аналогичный эффект растворов с La^{3+} наступает при концентрации 50 мг/л (0.36 ммоль/л). Показано потенцирование летального действия меди в присутствии лантана. Так, в растворах смесей солей Cu и La, сумма металлов в которых эквимольна нелетальным концентрациям Cu^{2+} (0.00016 и 0.0008 ммоль/л), наблюдается 100%-ная гибель *D. magna* через 96 и 24 ч соответственно. В биотесте по оценке двигательной активности *D. magna* эффект потенцирования подтвержден. Растворы, содержащие смесь « Cu^{2+} и La^{3+} » (1:1), угнетают двигательную активность дафний аналогично эквимольным растворам, содержащим только Cu^{2+} . Таким образом, несмотря на разницу в 1000 раз действующих летальных и нелетальных концентраций Cu^{2+} и La^{3+} , установлено, что при совместном действии эквимольных доз металлов наблюдается усиление токсичности меди в присутствии лантана.

Ключевые слова: лантан, медь, биотестирование, *Daphnia magna*, двигательная активность, совместное действие, синергизм, потенцирование

Для цитирования. Сысолятина М. А., Олькова А. С. Потенцирование токсического действия меди в присутствии лантана в биотестах на *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) // Поволжский экологический журнал. 2022. № 4. С. 483 – 490. <https://doi.org/10.35885/1684-7318-2022-4-483-490>

В XXI в. возрастает добыча и использование соединений редкоземельных элементов (РЗЭ), необходимых для катализа, производства компьютеров, новейших оптических приборов, медицинской техники и других высокотехнологичных отраслей. Использование других металлов, в том числе высокотоксичных тяжелых

✉ Для корреспонденции. Кафедра экологии и природопользования Вятского государственного университета.

ORCID и e-mail адреса: Сысолятина Мария Александровна: <https://orcid.org/0000-0002-7671-3993>, usr22523@vyatsu.ru; Олькова Анна Сергеевна: <https://orcid.org/0000-0002-5798-8211>, usr08617@vyatsu.ru.

металлов (ТМ), также остается на высоком уровне. В итоге совместное загрязнение компонентов окружающей среды РЗЭ и ТМ встречается как в районах добычи и переработки руд (Krasavtseva et al., 2021), так и в недобывающих районах (Wang, Li, 2013). Так, согласно (Козлов, 2003) суммарное загрязнение РЗЭ подземных и поверхностных вод Забайкалья и Дальнего Востока достигает 0.217 мг/л. Значительное антропогенное обогащение лантаном имеет р. Рейн – 49 мг/кг (350 ммоль/л) на протяжении 447 км от производства катализаторов жидкостного крекинга (Kulaksız, Bau, 2011). В этой же реке обнаруживали содержание меди, равное 0.0019 мг/л или 0.03 ммоль/л (Kramer et al., 2004).

Сведения о совместном действии РЗЭ и ТМ противоречивы. Синергизм смеси различных РЗЭ и Zn показан в работе по генотоксичности и повышению лабильности Zn в жабрах радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*) (Hanana et al., 2021). Различные сочетания РЗЭ (La, Ce, Nd) с Cd приводили к уменьшению накопления Cd корнями рапса, но одновременно увеличивали перенос ТМ в надземные части растения (Ma et al., 2004). Показан антагонизм Fe и РЗЭ (Y и Ce) по показателям биодоступности за счет образования осадка (Gong et al., 2021).

Таким образом, определение индивидуальных эффектов РЗЭ и совместных эффектов ТМ и РЗЭ с помощью классических тест-организмов внесёт ясность в эту область.

Цель работы – экспериментальное установление предлетальных и летальных эффектов лантана при индивидуальном действии и с совместном влиянии лантана и меди на *Daphnia magna* Straus.

Материал и методы. В воду вносили соли $\text{La}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, а также эквимоллярные смеси солей La и Cu (в расчете на ионы металлов). Для контроля и приготовления опытных вариантов использовали артезианскую воду питьевого качества торговой марки «Ключ здоровья». Согласно еженедельным кратким и ежемесячным развернутым химическим анализам воды, содержание металлов, в том числе меди, ниже предела обнаружения – менее 0.001 мг/л (по данным ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Кировской области», атомно-абсорбционный метод). В подземных водах Кировской области редкоземельные элементы, в том числе лантан, не обнаружены (Энциклопедия земли Вятской, 1997).

В модельных растворах устанавливали гибель *D. magna* по полной иммобилизации (ФР 1.39.2007.03222, 2007): время эксперимента – 96 ч, количество дафний – 10 в каждой повторности, повторность трехкратная, кормление 1 раз в сутки суспензией *Chlorella vulgaris* Beijerinck. Двигательную активность дафний определяли визуальным способом с помощью палетки за 5 мин (Olkova, Zimonina, 2020). После экспозиции 1 и 24 ч из каждой параллели опыта, состоящей из 3 дафний, опытных особей по одной переносили в отдельную ёмкость для подсчёта движений.

При статистической обработке полученных данных определяли средние значения (M), стандартное отклонение (δ) и размах варьирования ($\min - \max$). Проверку выборки на нормальность осуществляли при помощи теста Шапиро – Уилка. Зависимость наблюдаемых эффектов от концентрации токсикантов и их смесей устанавливали по коэффициенту корреляции Пирсона (r). Достоверность отличий между сравниваемыми рядами данных оценивали по t -критерию Стьюдента. Ста-

тистическую обработку материала проводили в пакете программ MS Excel 2010 (Microsoft Corp., USA).

Результаты. На рис. 1 показано, что под воздействием La^{3+} уже через 1 ч экспозиции происходит закономерное угнетение двигательной активности *D. magna* в ответ на повышение дозы токсиканта ($r = -0.98$, $p = 0.015$). Отличия от контроля достоверны (p от 0.002 до 0.02). Через сутки строгой закономерности «доза – эффект» не наблюдается ($r = 0.08$, $p = 0.1$). Однако угнетение тест-функции остается на значительном уровне (от 1.7 до 2.8 раз), индивидуальные колебания реакций организмов снижаются, в результате чего все исследуемые растворы оказывают достоверное угнетение двигательной активности *D. magna* ($p < 0.01$). Нелетальные концентрации Cu^{2+} были на 3 порядка меньше, чем аналогичные La^{3+} . За исключением этого факта, эффекты были аналогичными (см. рис. 1). Ослабевание связи «доза – эффект» в течение времени свидетельствует об активации внутренних защитных механизмов организмов, что приводит к сглаживанию эффектов через 24 ч по сравнению с острыми реакциями через 1 ч.

На рис. 2 показаны эффекты смесей солей La и Cu (1:1) по сравнению с контролем (чистой водой) и эквимоллярными растворами сульфата меди (в расчёте на Cu^{2+}).

Через 1 ч эксперимента тестируемые растворы действовали на *D. magna* одинаково: с увеличением концентрации двигательная активность закономерно угнеталась, но различия между вариантами «Cu» и «Cu+La» наблюдались не всегда ($p = 0.12$, 0.0001, 0.19 – для возрастающих концентраций соответственно). Через сутки наблюдали усиление эффектов во всех опытных вариантах, значимой разницы между вариантами также не выявлено ($p = 0.10$ и 0.15 для концентраций 0.00016 и 0.0016 ммоль соответственно). Одинаковый эффект растворов меди и растворов со смесью солей, где меди как наиболее сильного токсиканта

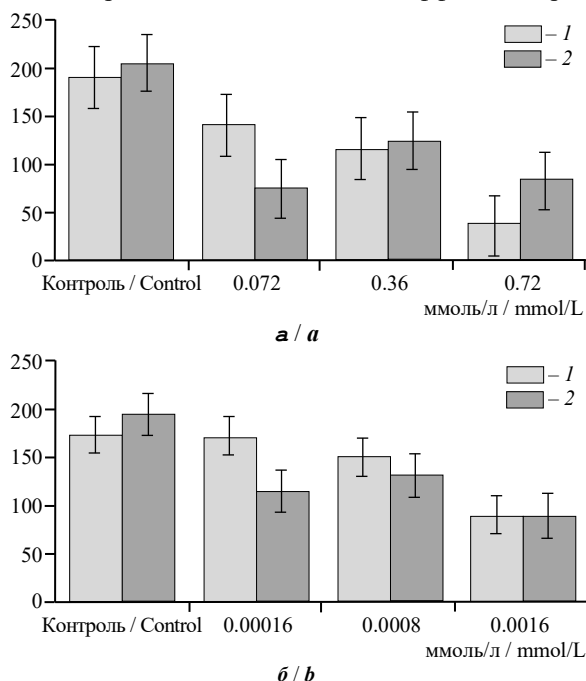


Рис. 1. Двигательная активность *D. magna* под воздействием солей La^{3+} (а) и Cu^{2+} (б) вне смеси: 1 – 1 ч, 2 – 24 ч; по оси ординат указано количество пересечений линий палетки

Fig. 1. Motor activity of *D. magna* under the influence of La^{3+} (а) and Cu^{2+} (b) salts outside the mixture: 1 – 1 h, 2 – 24 h; the y-axis indicates the number of intersections of the palette lines

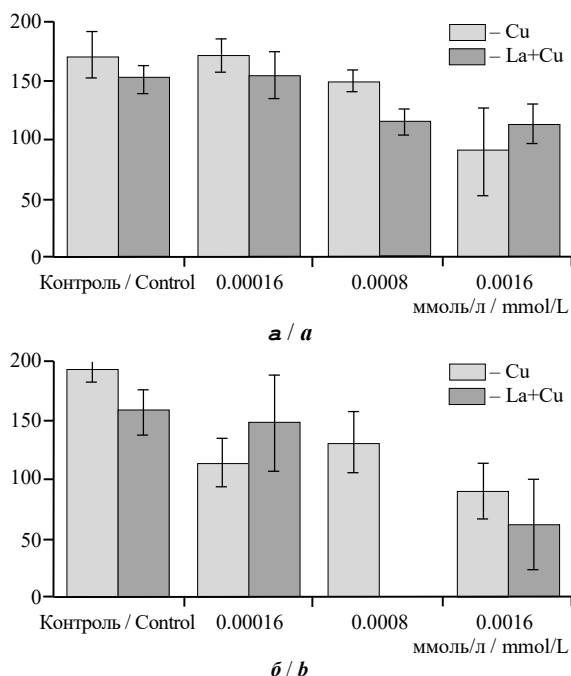


Рис. 2. Двигательная активность *D. magna* под воздействием Cu и смеси солей Cu и La (1:1): а – 1 ч, б – 24 ч; по оси ординат указано количество пересечений линий палетки

Fig. 2. Motor activity of *D. magna* under the influence of Cu salts and a mixture of Cu and La salts (1:1): а – 1 h, б – 24 h; the y-axis indicates the number of intersections of the palette lines

Обсуждение результатов. Имеются сведения о негативном влиянии лантана на живые организмы в более низких концентрациях, чем испытанные в представленной работе. Например, в работе (Koval, Olkova, 2022) установлено, что при концентрации La^{3+} 0.001 мг/л количество хлорофилла а у *Nostoc linckia* снизилось в 4.2 раза по сравнению с контролем, одновременно интенсивность процессов перекисного окисления липидов возросла в 2.2 раза. Такие различия в действующих концентрациях связаны с оценкой летальных и нелетальных эффектов и использованием тест-организмов разных уровней организации.

Показано, что La^{3+} потенцирует действие Cu^{2+} , что выявлено как по поведенческим, так и летальным эффектам у *D. magna*. Такие синергетические эффекты возникают, когда рецепторы, реагирующие на токсическое действие разных веществ, одни и те же (Куценко, 2004). Известно, что основные молекулярные механизмы воздействия РЗЭ и ТМ схожи и связаны с формированием окислительного

содержалось в 2 раза меньше по сравнению с «индивидуальным» раствором медного купороса, означает, что La^{3+} потенцирует действие Cu^{2+} . Гибель всех особей *D. magna* в варианте «Cu+La – 0.0008 ммоль/л» хоть и выбивается из общей закономерности эффектов, но подтверждает предположение о потенцировании Cu^{2+} в присутствии La^{3+} .

Гипотеза подтвердилась при повышении концентраций и определении летальных эффектов. Так, смесь солей La и Cu летальна при концентрациях 0.0008 ммоль/л, а раствор, содержащий Cu^{2+} в концентрации, эквимольной сумме металлов, не приводит к гибели *D. magna*. При уменьшении концентрации токсикантов в 2 раза (в расчёте на металлы – 0.00016 ммоль/л) эффект аналогичный, но проявляется слабее: в растворе, содержащем только Cu^{2+} , гибели дафний не наблюдается, тогда как в растворе со смесью « $\text{La}^{3+}+\text{Cu}^{2+}$ » через 96 ч гибнет 33% особей.

ПОТЕНЦИРОВАНИЕ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ МЕДИ

стресса за счет активации образования активных форм кислорода (Pagano et al., 2015).

Ограничением результатов исследования является то, что они были получены в стандартных лабораторных условиях на конкретном тест-организме – *D. magna*. Известно, что многие экологические факторы модифицируют ответные реакции организмов на токсический стресс (Олькова, Ашихмина, 2021). Например, в отношении La известно, что его негативное действие на пшеницу снижается в присутствии Са и нитрилтриуксусной кислоты (Li et al., 2020). Следовательно, еще предстоит уточнить совместное действие соединений РЗЭ и ТМ при разных условиях и для более разнообразного перечня тест-организмов.

Заключение. Угнетение двигательной активности *D. magna* и иммобилизация особей происходили при воздействии расчётных доз Cu^{2+} на 3 порядка меньших, чем La^{3+} . Однако, если заменить 50% меди эквимоллярным количеством лантана, то наблюдаются нелетальные и летальные эффекты, аналогичные действию «индивидуальных» растворов, содержащих ионы Cu^{2+} . Поскольку соли меди являются более токсичными, чем соли лантана, то можно говорить о потенцировании действия меди в присутствии лантана.

В дальнейших работах предстоит выяснить влияние смесей солей La и Cu в низких нелетальных концентрациях на хроническую токсичность для *D. magna*. В частности, с экологической точки зрения всегда важна оценка влияния токсикантов на способность особей к размножению.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Козлов С. А. Редкоземельные элементы как индикаторы загрязнения пресных природных вод (на примере Дальневосточного региона) // Проблемы поисковой и экологической геохимии Сибири : материалы научной конференции. Томск : Изд-во Томского политехнического университета, 2003. С. 232 – 234.

Куценко С. А. Основы токсикологии. СПб. : Фолиант, 2004. 715 с.

Олькова А. С., Ашихмина Т. Я. Факторы получения репрезентативных результатов биотестирования водных сред (обзор) // Теоретическая и прикладная экология. 2021. № 2. С. 22 – 30. <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2021-2-022-030>

ФР 1.39.2007.03222. Биологические методы контроля. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний. М. : АКВАРОС, 2007. 52 с.

Энциклопедия земли Вятской : в 10 т. Т. 7. Природа / сост. А. Н. Соловьев. Киров : Вятка, 1997. 607 с.

Gong B., He E., Romero-Freire A., Ruan J., Yang W., Zhan P., Qiu H. Do essential elements (P and Fe) have mitigation roles in the toxicity of individual and binary mixture of yttrium and cerium to *Triticum aestivum*? // Journal of Hazardous Materials. 2021. Vol. 416. Article number 125761. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125761>

Hanana H., Kleinert C., Gagné F. Toxicity of representative mixture of five rare earth elements in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles // Environmental Science and Pollution Research. 2021. Vol. 28, iss. 25. P. 28263 – 28274. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-12218-5>

Koval E., Olkova A. Determination of the sensitivity of Cyanobacteria to rare earth elements La and Ce // Polish Journal of Environmental Studies. 2022. Vol. 31, № 1. P. 985 – 988. <https://doi.org/10.15244/pjoes/139375>

Kramer K. J., Jak R. G., Van Hattum B., Hooftman R. N., Zwolsman J. J. Copper toxicity in relation to surface water-dissolved organic matter: Biological effects to *Daphnia magna* // Environmental Toxicology and Chemistry. 2004. Vol. 23, iss. 12. P. 2971 – 2980. <https://doi.org/10.1897/03-501.1>

Krasavtseva E., Maksimova V., Makarov D. Conditions affecting the release of heavy and rare earth metals from the mine tailings Kola Subarctic // Toxics. 2021. Vol. 9, № 7. Article number 163. <https://doi.org/10.3390/toxics9070163>

Kulaksız S., Bau M. Rare earth elements in the Rhine River, Germany: First case of anthropogenic lanthanum as a dissolved microcontaminant in the hydrosphere // Environment International. 2011. Vol. 37, iss. 5. P. 973 – 979.

Li J. Q., He E. K., Romero-Freire A., Cao X. D., Zhao L., Qiu H. Coherent toxicity prediction framework for deciphering the joint effects of rare earth metals (La and Ce) under varied levels of calcium and NTA // Chemosphere. 2020. Vol. 254. Article number 126905. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126905>

Ma J., Zhang S., Zhu J., Wu H. Alleviation effects of rare earth on Cd stress to rape Journal of Rare Earths // Journal of Rare Earths. 2004. Vol. 22, iss. 6. P. 909 – 912.

Olkova A., Zimonina N. Assessment of the toxicity of the natural and technogenic environment for motor activity of *Daphnia magna* // Journal of Ecological Engineering. 2020. Vol. 21, iss. 7. P. 11 – 16. <https://doi.org/10.12911/22998993/125459>

Pagano G., Guida M., Tommasi F., Oral R. Health effects and toxicity mechanisms of rare earth elements-Knowledge gaps and research prospects // Ecotoxicology and Environmental Safety. 2015. Vol. 115. P. 40 – 48. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.01.030>

Wang X. J., Li Y. M. Rare earth element content in fructus sophorae from different areas // Asian Journal of Chemistry. 2013. Vol. 25, № 4. P. 1790 – 1792. <https://doi.org/10.14233/ajchem.2013.13021>

Potential of the toxic action of copper in the presence of lanthanum in bioassays for *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea)

M. A. Sysolyatina ✉, A. S. Olkova

Vyatka State University
36 Moskovskaya St., Kirov 610000, Russia

Received: 2 April 2022 / revised: 13 September 2022 / accepted: 13 September 2022

Abstract. The available data on the combined action of rare earth elements and heavy metals are contradictory. Therefore, the goal of the presented work is relevant – to determine the effects of solutions of copper, lanthanum salts and their equimolar mixtures under controlled conditions for *Daphnia magna* Straus. It has been established that the death of *D. magna* over 50% in solutions containing Cu^{2+} is observed at a calculated concentration of 0.05 mg/L (0.0008 mmol/L), and a similar effect of solutions with La^{3+} occurs at a dose of 50 mg/L (0.36 mmol/L). The potentiation of the lethal effect of copper in the presence of lanthanum is shown. E.g., in solutions of mixtures of Cu and La salts, where the sum of metals is equimolar to non-lethal concentrations of Cu^{2+} (0.00016 and 0.0008 mmol/L), 100% death of *D. magna* is observed after 96 and 24 hours, respectively. Further, the potentiation effect was confirmed in bioassays evaluating the locomotor activity of *D. magna*. Solutions containing a mixture of “ Cu^{2+} and La^{3+} ” (1:1) inhibit the motor activity of daphnia similarly to equimolar solutions containing only Cu^{2+} . Thus, despite the significant difference between the effective lethal and non-lethal concentrations of Cu^{2+} and La^{3+} (by 1,000), it was found that under the combined action of equimolar doses of the metals, an increase in the toxicity of copper in the presence of lanthanum is observed.

Keywords: lanthanum, copper, bioassay, *Daphnia magna*, locomotor activity, joint action, synergism, potentiation

For citation: Sysolyatina M. A., Olkova A. S. Potential of the toxic action of copper in the presence of lanthanum in bioassays for *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea). *Povolzhskiy Journal of Ecology*, 2022, no. 4, pp. 483–490 (in Russian). <https://doi.org/10.35885/1684-7318-2022-4-483-490>

REFERENCES

- Kozlov S. A. Rare earth elements as indicators of pollution of fresh natural waters (on the example of the Far East region). In: *Problemy poiskovoy i ekologicheskoy geokhimii Sibiri: materialy nauchnoy konferentsii* [Problems of Prospecting and Ecological Geochemistry of Siberia: Materials of a Scientific Conference. Tomsk, Izdatel'stvo Tomskogo politekhnicheskogo universiteta, 2003, pp. 232–234 (in Russian).
- Kutsenko S. A. *Osnovy toksikologii* [Fundamentals of Toxicology]. Saint Petersburg, Foliant Publ., 2004. 715 p. (in Russian).
- Olkova A. S., Ashikhmina T. Ya. Factors of obtaining representative results of bioassay of aquatic environments (review). *Theoretical and Applied Ecology*, 2021, no. 2, pp. 22–30 (in Russian). <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2021-2-022-030>

✉ Corresponding author. Department of Ecology and Nature Management of the Vyatka State University, Russia.

ORCID and e-mail addresses: Maria A. Sysolyatina: <https://orcid.org/0000-0002-7671-3993>, usr22523@vyatsu.ru; Anna S. Olkova: <https://orcid.org/0000-0002-5798-8211>, usr08617@vyatsu.ru.

Federal'nyy reyestr 1.39.2007.03222. Biologicheskiye metody kontrolya. Metodika opredele-niya toksichnosti vody i vodnykh vytyazhek iz pochv, osadkov stochnykh vod, otkhodov po smertnosti i izmeneniyu plodovitosti dafniy [Federal Register 1.39.2007.03222. Biological Methods of Control. Methodology for Determining the Toxicity of Water and Water Extracts from Soils, Sewage Sludge, Waste by Mortality and Changes in the Fertility of Daphnia]. Moscow, AQUAROS Publ., 2007. 52 p. (in Russian).

Entsiklopediya zemli Viatskoi: v 10 t. T. 7. Priroda. Sost. A. N. Solov'ev [A. N. Solovyov, ed. Encyclopedia of the Vyatka Land: in 10 vols. Vol. 7. Nature]. Kirov, Vyatka Publ., 1997. 607 p. (in Russian).

Gong B., He E., Romero-Freire A., Ruan J., Yang W., Zhan P., Qiu H. Do essential elements (P and Fe) have mitigation roles in the toxicity of individual and binary mixture of yttrium and cerium to *Triticum aestivum*? *Journal of Hazardous Materials*, 2021, vol. 416, article number 125761. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125761>

Hanana H., Kleinert C., Gagné F. Toxicity of representative mixture of five rare earth elements in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles. *Environmental Science and Pollution Research*, 2021, vol. 28, iss. 25, pp. 28263–28274. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-12218-5>

Koval E., Olkova A. Determination of the sensitivity of Cyanobacteria to rare earth elements La and Ce. *Polish Journal of Environmental Studies*, 2022, vol. 31, no. 1, pp. 985–988. <https://doi.org/10.15244/pjoes/139375>

Kramer K. J., Jak R. G., Van Hattum B., Hooftman R. N., Zwolsman J. J. Copper toxicity in relation to surface water-dissolved organic matter: Biological effects to *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2004, vol. 23, iss. 12, pp. 2971–2980. <https://doi.org/10.1897/03-501.1>

Krasavtseva E., Maksimova V., Makarov D. Conditions affecting the release of heavy and rare earth metals from the mine tailings Kola Subarctic. *Toxics*, 2021, vol. 9, no. 7, article number 163. <https://doi.org/10.3390/toxics9070163>

Kulaksız S., Bau M. Rare earth elements in the Rhine River, Germany: First case of anthropogenic lanthanum as a dissolved microcontaminant in the hydrosphere. *Environment International*, 2011, vol. 37, iss. 5, pp. 973–979.

Li J. Q., He E. K., Romero-Freire A., Cao X. D., Zhao L., Qiu H. Coherent toxicity prediction framework for deciphering the joint effects of rare earth metals (La and Ce) under varied levels of calcium and NTA. *Chemosphere*, 2020, vol. 254, article number 126905. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126905>

Ma J., Zhang S., Zhu J., Wu H. Alleviation effects of rare earth on Cd stress to rape. *Journal of Rare Earths*, 2004, vol. 22, iss. 6, pp. 909–912.

Olkova A., Zimonina N. Assessment of the toxicity of the natural and technogenic environment for motor activity of *Daphnia magna*. *Journal of Ecological Engineering*, 2020, vol. 21, iss. 7, pp. 11–16. <https://doi.org/10.12911/22998993/125459>

Pagano G., Guida M., Tommasi F., Oral R. Health effects and toxicity mechanisms of rare earth elements-Knowledge gaps and research prospects. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2015, vol. 115, pp. 40–48. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.01.030>

Wang X. J., Li Y. M. Rare earth element content in fructus sophorae from different areas. *Asian Journal of Chemistry*, 2013, vol. 25, no. 4, pp. 1790–1792. <https://doi.org/10.14233/ajchem.2013.13021>