

ВЛИЯНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ МОРСКИХ ГИДРОБИОНТОВ КАК БИОИНДИКАТОРОВ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ СРЕДЫ

Силкина Е.Н.¹, Силкин Ю.А.¹, Силкин М.Ю.¹, Столбов А.Я.², Силкина А.Ю.³

¹ФГБУН «Карадагская научная станция имени Т.И. Вяземского – Природный заповедник РАН» Феодосия, e-mail: ysilkin@mail.ru;

²ФГБУН «Институт природно-технических систем», Севастополь;

³Сванси Университет, Центр Экологически рациональных Водных Исследований (ЦЭВИ), Сванси

Цель данной работы состояла в поиске физиолого-биохимических биоиндикаторов состояния среды, используя для этого определение накопления тяжелых металлов в тканях прибрежных моллюсков и изменение проницаемости плазматических мембран цельных эритроцитов для одновалентных катионов (K^+ , Na^+) при воздействии разных концентраций Cd^{2+} и Pb^{2+} . Для решения поставленной задачи были выбраны оседлые формы морских организмов с низкой миграционной способностью, обитающих в прибрежной зоне. В соответствии с целью исследования методом атомно-адсорбционной спектрофотометрии изучали накопление тяжелых металлов (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+}) в мягких тканях 1,5-годовалых двухстворчатых моллюсков: мидий (*Mytilus galloprovincialis*) и устриц (*Crassostrea gigas*). Исследовали токсическое воздействие кадмия и свинца на перераспределение Na^+ и K^+ в эритроцитах скорпены (*Scorpaena porcus* L.). В результате проведенных исследований показано, что превышение содержания Cu^{2+} и Zn^{2+} в мягких тканях дальневосточной устрицы выше предельно допустимой нормы не может служить биоиндикатором состояния качества морской среды вследствие накопления этих элементов, обусловленных биохимическими потребностями существования данного вида. Cd^{2+} в концентрации 20–200 мкМ вызывал достоверное падение внутриклеточной концентрации K^+ и рост Na^+ . Pb^{2+} при концентрации в среде 1–50 мкМ вызывал аналогичные потери клетками ионов K^+ , которые достигали 75% от содержания K^+ в необработанных эритроцитах. Наши наблюдения и работы других исследователей убедительно свидетельствуют о том, что эритроциты рыб могут быть использованы как надежные биоиндикаторы для выявления токсического воздействия тяжелых металлов при мониторинге прибрежной акватории моря.

Ключевые слова: биоиндикация, тяжелые металлы, моллюски, рыбы, эритроциты, одновалентные катионы, K^+ , Na^+

STUDY OF HEAVY METALS IN THE FUNCTIONAL AND BIOCHEMICAL INDICATORS MARINE AS HYDROBIONTS BIOINDICATORS ENVIRONMENTAL PROTECTION STATUS

Silkina E.N.¹, Silkin Yu.A.¹, Silkin M.Yu.¹, Stolbov A.Y.², Silkina A.Yu.³

¹ «Karadag scientific station — T.I. Vyazemsky — Nature reserve RAS», Feodosia, e-mail: ysilkin@mail.ru;

² «Institute of natural and technical systems», Sevastopol;

³ «Swansea University, Centre for Sustainable Aquatic Research (CSAR)», Swansea

The aim of this study was to search physiological and biochemical bioindicators of the environment state using the definition of heavy metals accumulation in coastal shellfish tissues and plasma membrane permeability changes of whole erythrocytes for monovalent cations (K^+ , Na^+) upon exposure to different concentrations of Cd^{2+} and Pb^{2+} . To solve this problem have been chosen sedentary forms of marine organisms with weak migration ability, living in the coastal zone. In accordance with the purpose of the study, by the method of atomic absorption spectrophotometry we studied the accumulation of heavy metals (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+}) in the soft tissues of 1.5 year-old clam: mussels (*Mytilus galloprovincialis*) and oysters (*Crassostrea gigas*). We investigated the toxic effects of cadmium and lead on redistribution of Na^+ and K^+ in the erythrocytes scorpion fish (*Scorpaena porcus* L.). The studies showed that the excess concentration Cu^{2+} and Zn^{2+} in the soft tissues of the Far Eastern oysters above the maximum permissible norms can not serve as an accurate status quality bioindicator of the marine environment, due to the accumulation of these elements caused by biochemical needs of the existence of the species. Cd^{2+} ions in a concentration of 20–200 mkM caused a significant drop in intracellular K^+ concentration and increase in Na^+ . Pb^{2+} ions at a concentration in the medium 1–50 mkM caused similar loss of K^+ ions by cells that have reached 75% of the K^+ content in untreated erythrocytes. Our observations and the work of other researchers, strongly suggest that fish erythrocytes can be used as bioindicators for reliable detection of the heavy metals toxic effects in the coastal sea area monitoring.

Keywords: bioindication, heavy metals, shellfish, fish, red blood cells, monovalent cations, K^+ , Na^+

Анализ черноморских прибрежных вод последних десятилетий свидетельствует о том, что концентрация кадмия, свинца, меди, цинка и других ионов тяжелых металлов в результате работы промышленных предприятий и сельскохозяйственной деятельности постоянно растет [4, 5]. Особую опасность в этой связи представляют ионы двухвалентного кадмия (Cd^{2+}). Опасность ионов Cd^{2+} заключается в том, что их атомный радиус практически полностью совпадает с радиусом ионов двухвалентного кальция (Ca^{2+}) [16]. Поэтому кадмий, «маскируясь» под кальций, который является важнейшим регулятором многих внутриклеточных процессов, осуществляет свое разрушающее, токсическое воздействие, вызывает гибель клеток, тканей и организма в целом. Не менее токсичным воздействием наделены ионы свинца (Pb^{2+}), которые быстро аккумулируются в организме и вызывают деструкцию мембран клеток, нарушают работу ферментов, приводят к тканевой дисфункции и в конечном итоге к гибели организма. В этой связи способность осуществлять мониторинг состояния прибрежной морской акватории принадлежит гидробионтам, которые постоянно обитают в этой зоне моря, не совершая миграционных перемещений. В этом отношении выбор оседлых видов моллюсков и малоподвижных рыб является удачным сочетанием, способным объективно отражать состояние среды. Для моллюсков, достаточно толерантных к тяжелым металлам и способных накапливать их в своих тканях [3, 8, 9], этот период определяется их возрастным статусом. Для оценки состояния прибрежной акватории моря мы исследовали накопление катионов четырех тяжелых металлов, таких как Cd^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , у полуторагодовалых мидий (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck) и гигантских устриц (*Crassostrea gigas* Thunberg), недавно интродуцированных в Черноморском регионе [15].

Для прибрежных рыб, менее толерантных к действию поллютантов, влияние того или иного токсиканта точнее исследовать в экспериментальных условиях, где можно вычленить влияние именно этого фактора, с последующей возможностью экстраполяции полученных результатов на натурные объекты [11]. Для этого мы изучали воздействие Cd^{2+} и Pb^{2+} на проницаемость эритроцитов скорпены для одновалентных катионов Na^+ и K^+ . Как известно, внутриклеточное содержание K^+ является важнейшим показателем «благополучия» клетки. Калий в клетке осуществляет поддержание осмотического давления и кислотно-щелочного равновесия; участвует в ферментативных реакциях, т.е. необходим для синтеза протеинов (на 1 г синтезированного протеина требуется 20 мг K^+), АТФ, гликогена; принимает участие в формировании потенциала покоя, действия, вызывает конформационные перестройки протеинов, способствуя активации ферментов. Калий вместе с натрием участвует в создании на мембране электрохимического потенциала [10]. Поэтому в основные задачи настоящего исследования входило определение содержания некоторых тяжелых металлов в тканях двух видов двухстворчатых моллюсков и исследование перераспределения Na^+ и K^+ в

эритроцитах придонной костистой рыбы скорпены при воздействии различных концентраций ионов Cd^{2+} и Pb^{2+} .

Материал и методы

Объектами исследования были моллюски – средиземноморская мидия (*Mytilus galloprovincialis* Lamark) и дальневосточная устрица (*Crassostrea gigas* Thunberg), а также костистая рыба – скорпена (*Scorpaena porcus* Linnaeus) – донный малоподвижный, устойчивый к дефициту кислорода вид. Для исследования накопления тяжелых металлов в мягких тканях моллюсков животных в возрасте 1,5 года отбирали с коллекторов, установленных в море на глубине 17–20 м, в зимнее время (декабрь). Рыб отлавливали ставным неводом и дифномом в районе Карадага — восточного побережья Крыма — в весенне-летний (май–июнь) период. Перед опытом рыб в течение суток выдерживали без кормления в бассейнах с проточной морской водой при температуре от +18 до +20°C.

Исследование накопления тяжелых металлов в мягких тканях моллюсков

Для анализа с коллекторов, выставленных в Карадагской бухте, отбирали по 12 экз. одноразмерных 1,5–2-годовалых животных: мидий весом в 25–30 г и устриц весом в 60–70 г. Навески мягких тканей осушали бумажными фильтрами и доводили при 50–60°C в термостате до постоянного веса. Определение содержания тяжелых металлов в тканях моллюсков проводили в измерительной лаборатории завода «Море» (пгт. Приморский, г. Феодосия). Содержание тяжелых металлов в мягких тканях моллюсков (мг/кг) определяли на атомно-абсорбционном спектрофотометре ААС–1 (Австрия) в пламени пропан-бутан после обработки проб методом «мокрого» озоления в смеси азотной и хлорной кислот [12].

Приготовление клеточных суспензий эритроцитов скорпены

Пробы крови скорпены получали пункцией хвостовой артерии стеклянной пипеткой и вносили в охлажденную стандартную среду, содержащую гепарин. Эритроциты отделяли центрифугированием (1800 g, 10 мин, 4°C), надосадочную жидкость и верхний слой клеток удаляли, а оставшиеся клетки промывали этим же раствором трижды. Стандартная среда имела следующий состав в мМ: 180 NaCl, 10 трис-HCl, (pH 7,4 при 20°C). Суспензию эритроцитов в этой среде (30–40%) сохраняли при 4°C и использовали в течение 1–2 ч, гематокрит определяли на гематокритной центрифуге.

Определение содержания ионов натрия и калия в эритроцитах скорпены

Для исследования транспорта ионов клетки инкубировали при 20°C в ультратермостате МК–70 (Германия). Суспензию эритроцитов добавляли к инкубационным средам до конечного гематокрита 1–2%. Стандартная инкубационная среда дополнительно содержала 10 мМ глюкозы. В опытах по воздействию ионов кадмия концентрация $CdCl_2$ составляла в инкубационной среде 20 мкМ и 200 мкМ, а продолжительность инкубации

клеток — 2 ч. Концентрация $Pb(NO_3)_2$ в инкубационной среде составляла 1, 2, 5, 10, 20 и 50 мкМ, время инкубации — 20 мин. После инкубации клеточную суспензию центрифугировали (1800g, 1 мин, 4°C), среду удаляли, эритроциты дважды промывали холодным отмывочным раствором. Отмывочный раствор имел следующий состав, мМ: 120 $MgCl_2$, 10 трис-НСl (рН 7,4 при 4°C). Отмытые клетки лизировали бидистиллированной водой, в лизатах определяли концентрацию ионов калия и натрия на пламенном фотометре. Концентрацию ионов рассчитывали в ммоль на 1 литр упакованных клеток (ммоль/л).

Все полученные данные обработаны статистически и представлены в виде средней \pm стандартная ошибка $\bar{x} \pm S\bar{x}$ [14].

Результаты и обсуждение

Содержание тяжелых металлов в мягких тканях гигантской устрицы и средиземноморской мидии

Мидии и устрицы по способу питания являются активными фильтраторами. Как и другие двустворчатые моллюски, они питаются взвешенным в толще воды детритом (мельчайшими остатками отмерших растений и животных) и микропланктоном (одноклеточными водорослями, бактериями и очень мелкими животными). Двустворчатые моллюски профильтровывают очень большие объемы воды. Так, гигантская устрица массой в 60 г может профильтровать за 1 ч около 10 л воды, или 87,6 м³ в год [7]. За год одна мидия массой в 2 г при средней концентрации взвеси 5 мг/л-1 профильтровывает 2,8 м³, массой в 10 г — 5,8 м³ и весом в 30 г — 9,8 м³ воды. Образуя плотные скопления на прибрежных камнях (банках), мидии и устрицы могут профильтровать за сутки от 50 до 280 м³ воды на 1 м² популяции [17]. Таким образом, большие поселения моллюсков представляют собой мощный биофильтр, всасывающий из окружающей воды большое количество взвеси, как минеральной, так и органической [18]. Мидии и устрицы являются перспективными объектами прибрежной марикультуры [15]. В этой связи исследование содержания тяжелых металлов в мягких тканях этих видов моллюсков имело вполне прикладной аспект. Изучение содержания тяжелых металлов осуществлялось в мягких тканях 1,5–2-летних мидий и устриц, взятых с коллекторов в зимний период. Результаты этих исследований представлены в таблице 1.

Таблица 1

Содержание тяжелых металлов в мягких тканях мидий (*M. galloprovincialis*) и дальневосточной устрицы (*C. gigas*) (в мг/кг сырого веса ткани), находящихся на коллекторах в море

Вид	медь	цинк	свинец	кадмий
<i>C.gigas</i>	79,2 ± 5,4	227,9 ± 10,8	0,09 ± 0,01	0,8 ± 0,03
<i>M.galloprovincialis</i>	0,04 ± 0,01	24,1 ± 3,6	0,2 ± 0,02	0,3 ± 0,02

	30,0*	200,0*	10,0*	2,0*
--	-------	--------	-------	------

Примечание: * — предельно допустимые концентрации (ПДК) в морской воде для тяжелых металлов по ГОСТ – 26931-86; число исследованных животных в каждой серии опытов составляло 10–12 особей.

Полученные результаты показали, что содержание свинца и кадмия в тканях исследованных видов было незначительным и много ниже установленных уровней ПДК. Как известно, мидии относятся к организмам, способным быстро и в больших количествах накапливать кадмий и другие тяжелые металлы. Так, было показано, что 3-суточное содержание беломорской мидии (*Mytilus edulis*) в аквариумах с 500 мкг/л $CdCl_2$ приводило к 30-кратному увеличению концентрации поллютанта в мягких тканях моллюска [3]. Поэтому полученные нами результаты по содержанию этих тяжелых металлов в тканях моллюсков свидетельствовали об относительной чистоте среды их обитания. Кроме того, в наших исследованиях был получен результат значительного накопления устрицами меди и цинка. Так, в тканях устрицы содержание меди в 2,6 раза превышало установленную ГОСТом ПДК и было выше в 2000 раз, чем в тканях мидии. Концентрация цинка у устриц практически совпадала с ПДК и была на порядок выше, чем содержание этого элемента в мягких тканях исследованных мидий (табл. 1).

Ранее было показано, что устрицы по сравнению с мидиями имеют высокую эффективность ассимиляции и медленное выведение из организма металлов [21]. Возможно, этим и объясняются различия в содержании этих металлов в исследуемых моллюсках. Кроме этого, устрицы уже давно известны как медийно-цинковые концентраторы, способные в норме накапливать огромные количества этих металлов [2]. Наши данные по содержанию цинка сопоставимы с данными, полученными по накоплению этого металла гигантскими устрицами из Амурского залива, которое составило 875–1262 мг/ кг сухого веса ткани [8]. Диапазон концентрации меди в устрицах из Уссурийского залива колебался в пределах 79–135 мг/кг сухого веса ткани [9], что также соответствовало нашим результатам по накоплению этого поллютанта в тканях моллюска. Причины столь высокой избирательности накопления цинка и меди в тканях моллюсков неясны. На наш взгляд, существенное различие по содержанию меди и цинка в тканях исследованных моллюсков кроется в различной «востребованности» этими видами указанных двухвалентных ионов. Медь и цинк входят в металлопротеиновые комплексы большого числа ферментов и белков гемолимфы. Возможно, потребности в этих металлах можно связать также с высокой репродуктивной способностью моллюсков. Так, одна женская особь *C. gigas* во время нереста способна выметать в среду за несколько часов до 100 млн яйцеклеток, а одна мужская – до 500 млн сперматозоидов. Плодовитость мидий тоже достаточно велика и оценивается в несколько

миллионов яйцеклеток за один нерестовой цикл [7]. Как мы полагаем, накопление меди и цинка у устриц и цинка у мидий обусловлено биохимическими потребностями их организма.

Таким образом, несмотря на ухудшение состояния морской среды, в районе Карадага полученное нами низкое накопление кадмия и свинца (табл. 1) мидиями и устрицами (с учетом их высокой способности к накоплению меди и цинка) не свидетельствует о драматическом характере загрязнений прибрежной акватории заповедника. Эти показатели могут быть надежными тестами в пользу развития в регионе марикультурных хозяйств.

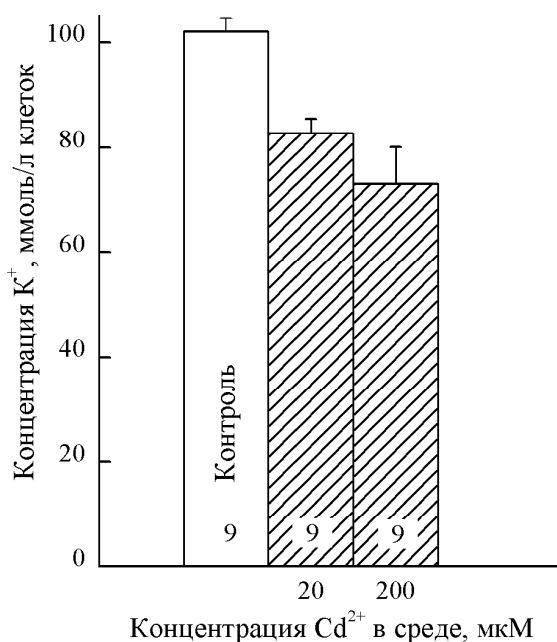


Рис. 1. Снижение концентрации K^+ в эритроцитах под влиянием Cd^{2+} . Цифры внутри столбиков показывают число измерений. Все величины, полученные в присутствии Cd^{2+} , достоверно отличаются от контроля ($p < 0,01$). Влияние Cd^{2+} и Pb^{2+} на транспорт Na^+ и K^+ в эритроцитах скорпены

В отмытых эритроцитах скорпены перед инкубацией выявились высокое содержание ионов K^+ ($102 \pm 2,5$ ммоль/л клеток) и низкая концентрация Na^+ ($8,9 \pm 1,9$ ммоль/л клеток). По ионному составу эритроциты скорпены не отличались существенно от красных клеток крови человека [13]. В серии экспериментов по влиянию Cd^{2+} на транспорт ионов через мембрану эритроцитов скорпены оценивали после двухчасовой инкубации в средах, содержащих 20 μM и 200 μM токсиканта (рис. 1).

Как видно из представленных данных, Cd^{2+} значительно стимулировал потерю K^+ из эритроцитов. На эритроцитах человека показано, что Cd^{2+} может транспортироваться внутрь клетки, но данные о нарушении транспорта одновалентных катионов отсутствуют [20]. Снижение внутриклеточной концентрации K^+ после 2-часовой инкубации эритроцитов скорпены в среде с Cd^{2+} было значительным. При концентрации Cd^{2+} в 20 μM это падение составляло 19% от исходного уровня, а при концентрации Cd^{2+} в 200 μM – 28% (рис. 1). Однако остается не ясным, является ли этот вход открытием специфического ионного канала

или обусловлен общим увеличением проницаемости мембраны для K^+ , вызванным деструктивными действиями Cd^{2+} . Вход Na^+ в эритроциты под действием токсического стресса не был значимым при 20 мкМ Cd^{2+} ($14,6 \pm 1,8$ ммоль/л клеток), а при 200 мкМ Cd^{2+} — достоверно более высоким по сравнению с контролем ($20,9 \pm 1,9$ ммоль/л клеток).

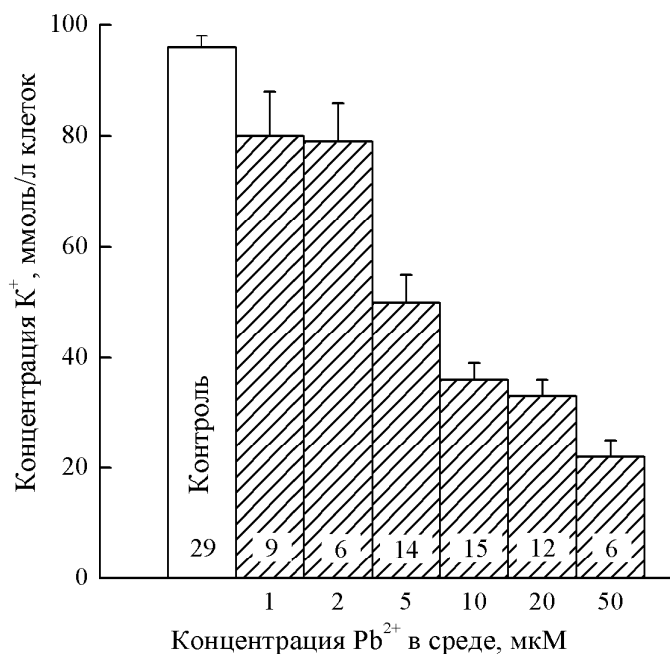


Рис. 2. Снижение концентрации K^+ в эритроцитах под влиянием Pb^{2+} . Цифры внутри столбиков показывают число измерений. Все величины, полученные в присутствии Pb^{2+} , достоверно отличаются от контроля ($p < 0,01$)

Действие ионов Pb^{2+} на выход K^+ из эритроцитов скорпены сходно с действием ионов Cd^{2+} (рис. 2). Как показали исследования на эритроцитах человека, выход ионов K^+ обусловлен способностью ионов Pb^{2+} вызывать в плазматических мембранах активизацию K^+ -каналов [22]. В отношении механизма действия ионов Pb^{2+} на мембрану эритроцитов рыб данные практически отсутствуют. Мы предприняли попытку выявить эту способность на эритроцитах скорпены. Эритроциты скорпены инкубировали в стандартной среде, не содержащей Ca^{2+} , в присутствии различных концентраций Pb^{2+} в течение 20 мин при 20–22°C. Как видно из рисунка 2, инкубация эритроцитов в средах с низкими концентрациями Pb^{2+} (1 и 2 мкМ) сопровождалась статистически значимым уменьшением содержания K^+ в клетках (в среднем на 17%). При дальнейшем повышении концентрации Pb^{2+} в среде потери клетками ионов K^+ существенно возрастали, достигая 75% от содержания K^+ в необработанных эритроцитах. Как и в случае с Cd^{2+} , наблюдали относительно небольшое увеличение внутриклеточной концентрации Na^+ при обработке эритроцитов скорпены 5–50 мкМ Pb^{2+} . По сравнению с контрольным уровнем (в этой серии опытов, равной $21,0 \pm 5,2$ ммоль/л клеток) содержание Na^+ возрастало до $25,0 \pm 2,1$ и $37,2 \pm 5,2$ ммоль/л клеток в присутствии 5 и 50 мкМ Pb^{2+} соответственно. Прирост содержания Na^+ в эритроцитах

составлял только 15% от потерь внеклеточного K^+ , и суммарное содержание обоих катионов уменьшалось приблизительно на 50% после 20 мин инкубации клеток в присутствии Pb^{2+} . Прямым доказательством открытия ионами Pb^{2+} в эритроцитах скорпены K^+ -каналов было использование блокатора этих каналов – хинидина. Хинидин в концентрации 1 мМ полностью блокировал вызываемый ионами Pb^{2+} выход ионов K^+ из эритроцитов скорпены. Полученные нами данные свидетельствуют, что активация K^+ -каналов ионами Pb^{2+} происходит в концентрационном диапазоне (1–50 мкМ), близком для эритроцитов человека [19]. Механизм индуцирования каналов остается неясным, хотя нами предполагается, что ионы Pb^{2+} участвуют в их образовании, т.е. можно говорить о Pb^{2+} -активируемых K^+ -каналах. По всей вероятности, образование Pb^{2+} -активируемых K^+ -каналов происходит после проникновения Pb^{2+} в эритроциты. Известно, что вход Pb^{2+} в эритроциты человека происходит через анион-транспортные пути в виде отрицательно заряженных комплексов [23]. Возможно, аналогичным образом это происходит и в эритроцитах скорпены, хотя для более точного подтверждения требуются дополнительные исследования.

Способность Cd^{2+} и Pb^{2+} вызывать значительные потери K^+ эритроцитами имеет далеко идущие последствия, связанные с их морфофункциональными изменениями. Потеря эритроцитами таких количеств K^+ может вызывать уменьшение объема клетки, гиперполяризацию мембраны и сдвиг внутриклеточного рН. Исследования на эритроцитах крыс показали, что Cd^{2+} вызывал снижение диаметра, периметра и площади клеток; увеличение их фазовой высоты, микроцитоз, увеличение интенсивности перекисного окисления липидов и кислотной резистентности клеток; эхиноцитоз и снижение деформируемости клеток, т.е. типичные признаки развития токсической анемии [6]. В эритроцитах сеголеток карпа под действием Cd^{2+} и Pb^{2+} происходят уменьшение гемоглобина и эритроцитов в целом, снижение их кислотной резистентности и нарастание анемии [1]. Эти исследования и наши наблюдения убедительно свидетельствуют, что эритроциты рыб могут быть использованы как надежные тест-системы для выявления токсического воздействия тяжелых металлов при мониторинге прибрежной акватории моря.

Заключение

В результате проведенных исследований показано, что превышение уровня (ПДК) Cu^{2+} и Zn^{2+} в мягких тканях дальневосточной устрицы не может служить биоиндикатором состояния качества морской среды вследствие накопления этих элементов, обусловленных биохимическими потребностями существования данного вида. Напротив, накопления по кадмию и свинцу у моллюсков могут быть хорошими биомаркерами, которые показали относительную чистоту прибрежной акватории Карадагского заповедника. Эти показатели являются весомыми аргументами в пользу развития в регионе марикультурных хозяйств.

Наши наблюдения и работы других исследователей [19, 22, 23] убедительно свидетельствуют о том, что перераспределение Na^+ и K^+ в эритроцитах рыб может быть использовано как надежный биоиндикатор для выявления токсического воздействия тяжелых металлов при мониторинге прибрежной акватории моря.

Список литературы

1. Абдуллаева Н.М. Цитологическое исследование рыб при воздействии тяжелых металлов и сырой нефти [Текст]: автореф дис. ... канд. биол. наук. – Махачкала, 2007. – 22 с.
2. Виноградов А.П. Химический элементный состав организмов моря. Ч. 2 [Текст]: / А.П. Виноградов. – Тр. Биогехим. лаб. АН СССР. – 1937. – Т. 4. – 225 с.
3. Высоцкая Р.У., Такшеев С.А., Скидченко В.С. Накопление тяжелых металлов и их влияние на активность некоторых ферментов в органах беломорской мидии *Mytilus edulis* // Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов: материалы III Междунар. конф. с элементами школы для молодых ученых, аспирантов и студентов (Петрозаводск, Карельск. научн. центр РАН, 22–26 июня 2010 г.). – Петрозаводск, 2013. – С. 24–24.
4. Гончарук В.В., Лапшин В.Б., Самсоны-Тодоров А.О., Коваленко В.Ф., Морозова А.Л., Зарицкий К.О., Сыроешкин А.В. Комплексная оценка токсичности морской воды в акватории Карадагского природного заповедника // Химия и технология воды. – 2013. – Т. 35, № 3. – С. 229–239.
5. Гончарук В.В., Самсоны-Тодоров А.О., Савченко О.А., Лапченко В.А., Коваленко В.Ф. Комплексная оценка токсичности воздуха и морской воды в акватории Карадагского природного заповедника // под ред. Гаевской А.В., Морозовой А.Л.; 100 лет Карадагской научной станции им. Т.И. Вяземского, сб. науч. трудов. – Симферополь: Новая Орианда, 2015. – С. 727–733.
6. Досымбетова М.И., Такебаева Г.К., Усенова А.А., Шарипова С.А., Утегалиева Р.С. Влияние кадмия на морфофункциональные характеристики эритроцитов // Вестник КазНУ Серия экологическая. – 2012. – № 3 (35). – С. 33–39.
7. Жиликова И.Г. Промышленное разведение мидий и устриц [Текст] / И.Г. Жиликова – М.: ООО «Издательство АСТ»; Донецк: Сталкер, 2004. – 110 с.
8. Кикун Д.П., Ковековдова Л.Т. Оценка содержания микроэлементов в устрицах гигантских (*Crassostrea gigas*) из зал. Петра Великого (Японское море) // Известия ТИНРО. – 2007. – Т. 150. – С. 400–407.

9. Ковековдова Л.Т., Симоконь М.В. Тенденции изменения химико-экологической ситуации в прибрежных акваториях Приморья. Токсичные элементы в донных отложениях и гидробионтах // Известия ТИНРО. – 2004. – Т. 134. – С. 310–320.
10. Мецлер Д. Биохимия Т. 1. [Текст] /Д. Мецлер. – М.: Мир, 1980. – 407 с.
11. Немова Н.Н., Высоцкая Р.У. Биохимическая индикация состояния рыб [Текст] /Н.Н. Немова, Р.У. Высоцкая – М.: Наука, 2004. — 215 с.
12. Никаноров А.М., Жулидов А.В., Покаржевский А.Д. Биомониторинг тяжелых металлов в пресноводных экосистемах [Текст] / А.М. Никаноров, А.В. Жулидов. – Л.: Гидрометеоздат, 1985. – 144 с.
13. Орлов С.Н. Транспорт одновалентных катионов через плазматическую мембрану клеток электрически невозбудимых тканей // Успехи современной биологии. – 1985. — Т. 100. – С. 203–218.
14. Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика [Текст] / П.Ф. Рокицкий. — Минск: Высшая школа, 1973. – 320 с.
15. Силкин Ю.А., Силкина Е.Н., Давидович Н.А., Орленко А.Н., Давидович О.И. Интродукция устрицы *Crossostrea gigas* в районе Карадага // Карадаг. История, биология, археология (Сб. науч. трудов, посвящ. 85-летию Карадагской биологической станции им. Т.И. Вяземского). – Симферополь: Сонат, 2001. – С. 273–280.
16. Скульский И.А., Глазунов В.В., Коротков С.М. Действие кадмия на мембраны эритроцитов и митохондрий // Вопросы эволюционной физиологии: материалы девятого совещания по эволюционной физиологии. (Ленинград, 22–24 октября 1986 г.). – Л.: Наука, 1986. – С. 261.
17. Финенко Г.А., Романова З.А., Аболмасова Г.И. Экологическая энергетика черноморской мидии // Биоэнергетика гидробионтов // под ред. Шульмана Г.Е., Финенко Г.А. – Киев: Наукова думка, 1990. – С. 32–71.
18. Чуприна Е.В., Щеголькова Н.М. Эколого-экономическая оценка потенциала развития аквакультуры моллюсков на побережье Черного моря // Водное хозяйство России. – 2015. – № 5. – С. 79–92.
19. Alvarez J., Garcia-Sancho J., Herreros B. All or non cell rsponses of Ca^{2+} dependent K^{+} channels elicited by calcium or lead in human red cells can be explained heterogeneity of agonist distribution // The Journal of Membrane Biology. – 1988. – V. 104, (2). – P. 129–138.
20. Nquyen Q. Chien P.K. Cadmium upteke kinetics in human erythrocytes // Biological Trace Element Research. –1989. – V. 22. – P. 119–129.

21. Reinfelder J.R., Wang W.X., Luoma S.N., Fisher N.S. Assimilation efficiencies and turnover rates of trace elements in marine bivalves a comparison of oyster, clams and mussels // *Marine Biology*. – 1997. – V. 129. – P. 443–452.
22. Shields M., Grygorczyk R., Fuhrmann G.F., Swarz W., Passow H. Lead-induced activation and inhibition of potassium-selective channels in the human red blood cells // *Biocimica et Biophysica Acta*. – 1985. – V. 815, (2). – P. 223–232.
23. Simons T.J. Passive transport and binding of lead by human red blood cells // *The Journal of Physiology*. – 1986. – V. 378. – P. 267–286.