

УДК 574.5

СПОСОБНОСТЬ БРЮХОНОГИХ МОЛЛЮСКОВ оз. БАЙКАЛ К ПОГЛОЩЕНИЮ И ВЫВЕДЕНИЮ ЧАСТИЦ МИКРОПЛАСТИКА С РАЗНОЙ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРОЙ

© 2024 г. С. А. Бирицкая^а, Е. М. Долинская^а, М. А. Масленникова^а, Л. Б. Бухаева^а,
В. А. Пушница^а, Я. К. Ермолаева^а, А. В. Лавникова^а, Д. И. Голубец^а, С. А. Назарова^б,
Д. Ю. Карнаухов^{а, *}, Е. А. Зилов^а

^аИркутский государственный университет, Иркутск, Россия

^бЗоологический институт Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: karnaukhovdmiriii@gmail.com

Поступила в редакцию 10.10.2022 г.

После доработки 29.11.2023 г.

Принята к публикации 01.12.2023 г.

Исследования загрязнения оз. Байкал частицами микропластика начаты совсем недавно. Почти все работы сосредоточены на оценке загрязнения поверхностных вод, однако влияние микропластика на байкальские организмы остается неизученным. В лабораторных условиях проведен эксперимент с участием трех видов брюхоногих моллюсков — палеарктических *Lymnaea stagnalis* (L., 1758) и *Radix auricularia* (L., 1758) и байкальского эндемика *Benedictia baicalensis* (Gerstfeldt, 1859). В эксперименте использовали два типа микропластика: фрагменты полистирола и волокна полиэстера, приготовленные самостоятельно в лабораторных условиях. Частицы пластика вместе с кормовой смесью размещали в аквариумах с моллюсками. В результате эксперимента получено 386 препаратов с экскрементами моллюсков (144 препарата для *Radix auricularia*, 176 для *Lymnaea stagnalis* и 67 для *Benedictia baicalensis*). Эксперимент с последним видом проводили только с фрагментами микропластика. Все препараты анализировали по степени флуоресценции. Данные статистически обрабатывали с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Выявлено, что моллюски исследованных видов способны поглощать частицы микропластика и выводить их из организма. Скорость выведения частиц микропластика из организма моллюска может носить видоспецифичный характер, а также зависит от морфологической структуры частиц микропластика.

Ключевые слова: микропластик, брюхоногие моллюски, волокна микропластика, фрагменты микропластика, загрязнение воды, оз. Байкал

DOI: 10.31857/S0320965224030098, **EDN:** ZPKIQE

Озеро Байкал занимает первое место по объему воды среди всех пресноводных озер мира, в нем сосредоточено ~20% всех запасов пресной озерной воды. Однако озеро подвергается высокой антропогенной нагрузке, и воды озера загрязнены микропластиком. Изучение загрязнения оз. Байкал частицами микропластика началось совсем недавно — первые исследования были проведены в 2015 г. (Meyer et al., 2022), а первые опубликованные данные появились лишь в 2020 г. (Karnaukhov et al., 2020). Загрязнение вод оз. Байкал микропластиком, вероятно, сопоставимо с загрязнением Великих американских озер, хотя количество населения, проживающего вблизи последних, превышает таковое в водосборном бассейне оз. Байкал почти в 10 раз (Piña et al., 2021). Наблюдения, проведенные на оз. Байкал, сосредоточены на количественных оценках за-

грязнения поверхностных вод и касаются только летнего периода, за исключением единичного исследования льда озера (Karnaukhov et al., 2022). Накопление частиц микропластика в донных отложениях и влияние частиц на жизнедеятельность различных групп гидробионтов исследованы слабо (в основном неопубликованные данные и тезисы). Поскольку в водоемах частицы микропластика концентрируются именно в донных отложениях, наибольшей опасности подвержены бентосные беспозвоночные, такие как моллюски, ракообразные, личинки амфибиотических насекомых (Annenkov et al., 2021; Moore et al., 2022). При этом, многие бентосные организмы используют как модельные объекты и индикаторы различных типов загрязнений (Климова и др., 2020; Ehlers et al., 2020).

В оз. Байкал насчитывают ~150 видов брюхоногих моллюсков, из них 117 эндемики (Русинек и др., 2012). Брюхоногие моллюски в озере представляют одну из доминантных по биомассе и субдоминантную по численности группу организмов (Русинек и др., 2012). Учитывая это, цель настоящей работы — изучить процессы поглощения и выведения частиц микропластика с разной морфологической структурой (фрагменты полистирола и волокна полиэстера) тремя видами брюхоногих моллюсков.

В лабораторных экспериментах использовали следующих брюхоногих моллюсков-соскребателей: широко распространенных в Палеарктике *Radix auricularia* (L., 1758) и *Lymnaea stagnalis* (L., 1758), а также байкальского эндемика *Benedictia baicalensis* (Gerstfeldt, 1859). Вид *R. auricularia* населяет открытую литораль оз. Байкал совместно с байкальскими эндемиками (Schniebs et al., 2022), *L. stagnalis* встречается в мелководных заливах озера. Данные виды выбраны из-за сходных стратегий питания, а также достаточно крупных размеров, удобных для проведения лабораторных экспериментов. В исследовании участвовало по 20 особей моллюсков *R. auricularia* и *L. stagnalis*, их разделяли на две равные группы (по 10 особей) для участия в экспериментах с двумя разными типами микропластика, моллюски *B. baicalensis* (13 особей) участвовали в эксперименте только с фрагментами микропластика. Моллюсков первых двух видов собирали вручную в летнее время (июнь 2021 г.): *R. auricularia* у береговой линии в районе пос. Большие Коты (Южный Байкал), *L. stagnalis* у береговой линии в заливе р. Ангара (в районе пос. Молодежный). Моллюсков *B. baicalensis* ловили в летнее время с помощью ловушки, установленной на глубине 30 м в районе пос. Большие Коты. Лабораторные условия для содержания моллюсков приближали к естественным, во всех аквариумах воду аэрировали, соблюдали световой режим дня и ночи, обеспечивали постоянный уровень температуры: 15 °C для особей *R. auricularia* и *L. stagnalis*, и 6 °C для *B. baicalensis*. В экспериментах использовали байкальскую бутилированную воду. До начала экспериментов моллюсков акклиматизировали в течение 7 сут и не кормили в течение 24 ч.

Все эксперименты проводили по методике, описанной в работе (Ehlers et al., 2020). К началу экспериментов готовили специальную смесь для кормления, состоящую из 0.15 г пищи (корм в виде хлопьев из водорослей спирулина, нори и хлорелла для аквариумных рыб), 0.15 г желатина и 5 мг микропластика. Смесь наносили на предметное стекло. Частицы микропластика для эксперимента готовили самостоятельно в лабораторных условиях. Фрагменты полистирола получали из флуоресцентной канцелярской линейки, волокна полиэстера — из флуоресцентных швейных ниток (наименования полимеров определены

по данным от производителей). Фрагменты микропластика просеивали через мелкодисперсное сито, верхняя граница размеров фрагментов микропластика была 160 мкм. Максимальный размер волокон микропластика достигал 2000 мкм.

Эксперимент длился в течение 7 сут, каждого моллюска во время эксперимента содержали в индивидуальном аквариуме с подключенной аэрацией и постоянной температурой воды. В первые сутки в 9:00 моллюски получили подготовленную пищу, в 13:00 воду в аквариумах заменили на чистую. Далее моллюсков в течение всего эксперимента не кормили. В 15:00 и 17:00 были собраны фекалии моллюсков для подготовки препаратов. Затем экскременты собирали в 9:00, 11:00, 13:00, 15:00 и 17:00 на 2-е, 3-и и 4-е сут; и в 15:00 на 7-е сут эксперимента. После каждого сбора фекалий воду в аквариумах заменяли на чистую.

Экскременты моллюсков изымали из аквариума с помощью пинцета и помещали на предметное стекло. Затем со стекла удаляли лишнюю воду, покрывали экскременты глицерином и накрывали покровным стеклом. Всего за время эксперимента было подготовлено 386 препаратов с экскрементами моллюсков. Каждый из полученных препаратов фотографировали на цифровую камеру для оценки наличия микропластика в препаратах и степени его флуоресценции. Степень флуоресценции подразделяли на сильную, среднюю, слабую, либо полностью отсутствующую по визуальной оценке яркости флуоресценции (рис. 1) в соответствии с методикой (Ehlers et al., 2020).

Для оценки остаточного количества микропластика в организме животных моллюсков по окончании эксперимента фиксировали в 96%-ном спирте, затем их мягкие ткани растворяли в индивидуальных пробирках при помощи 36.6%-ной перекиси водорода и фильтровали через фильтровальную бумагу. Полученные фильтры исследовали под флуоресцентным микроскопом при увеличении $\times 100$. Количество микропластика подсчитывали во всех 53 препаратах с фильтрами.

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программного обеспечения “RStudio”. Для корреляционного анализа использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена (R_s).

В эксперименте с улитками *R. auricularia* было получено 144 препарата с экскрементами моллюсков (73 — с фрагментами полистирола, 71 — с волокнами полиэстера). В эксперименте с фрагментами микропластика флуоресценция чаще всего была средней или слабой, в эксперименте с волокнами в большинстве случаев отсутствовала (табл. 1). В эксперименте с особями *L. stagnalis* исследовали 175 препаратов (91 с фрагментами микропластика, 84 с волокнами). У этого вида и в эксперименте с фрагментами, и в экспери-

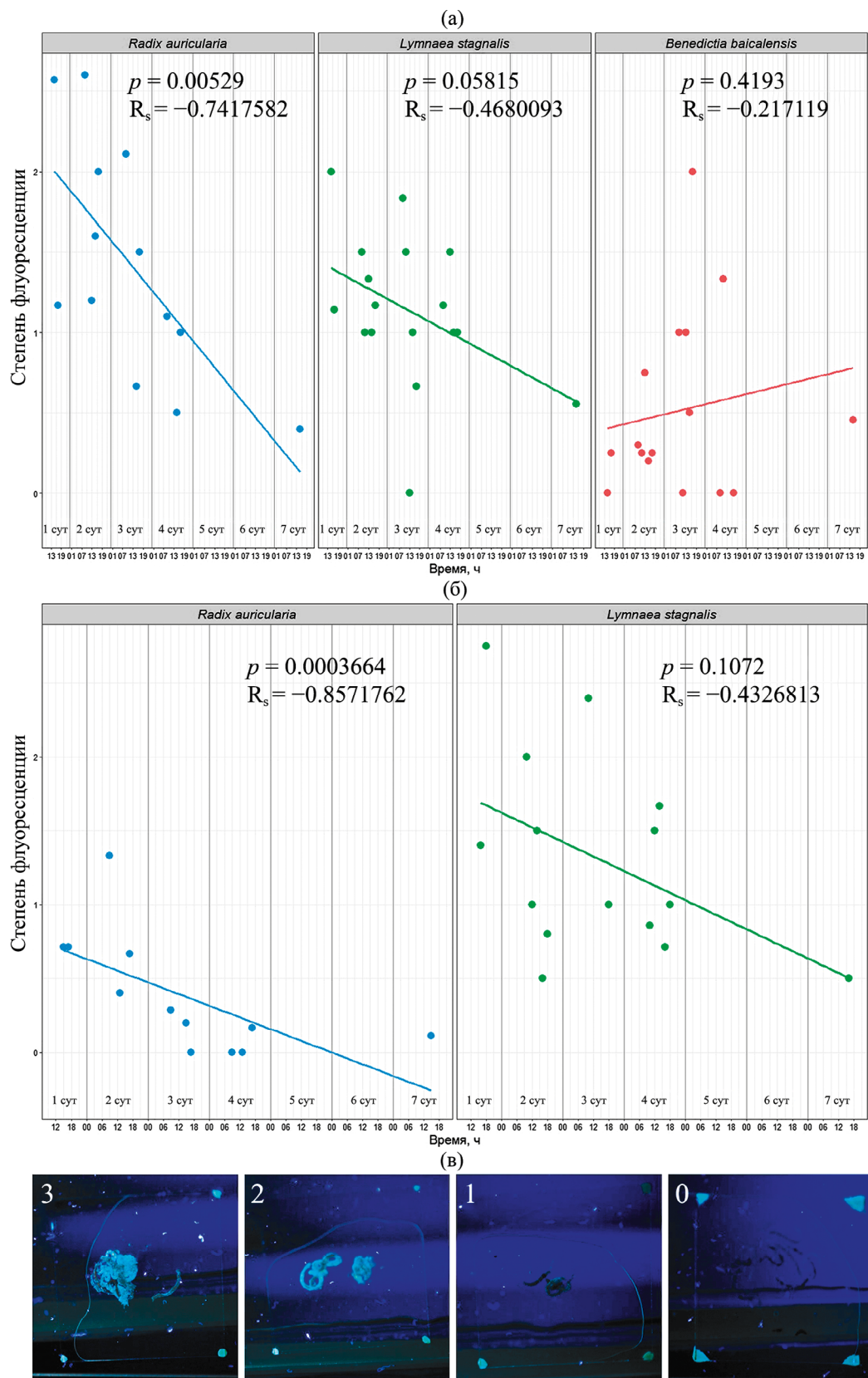


Рис. 1. Корреляционный анализ данных эксперимента по выведению фрагментов (а) и волокон (б) микропластика (R_s — коэффициент корреляции) и степень флуоресценции полученных препаратов (в): 3 — сильная, 2 — средняя, 1 — слабая, 0 — отсутствует).

менте с волокнами в основном наблюдали слабую флуоресценцию. За время эксперимента с *B. baicalensis* (67 препаратов) в большинстве случаев флуоресценция отсутствовала (табл. 1).

Корреляционный анализ показал статистически достоверную отрицательную связь между количеством частиц микропластика в фекалиях моллюсков и течением времени только у особей *R. auricularia* ($R_s = -0.74$, $p = 0.005$) (рис. 1а). Для *L. stagnalis* получена недостоверная отрицательная корреляция ($R_s = -0.47$, $p = 0.058$), а для *B. baicalensis* корреляция была положительна и недостоверна ($R_s = 0.2$, $p = 0.42$), что, возможно, связано с особенностями эндемичного вида. У *B. baicalensis* как у эндемика холодноводного водоема могут замедляться процессы метаболизма, по сравнению с двумя относительно теплолюбивыми видами. В опытах с волокнами микропластика для особей *R. auricularia* выявлена достоверная отрицательная корреляция ($R_s = -0.86$, $p = 0.0004$), а для особей *Lymnaea stagnalis* — отрицательная и недостоверная ($R_s = -0.43$, $p = 0.11$) (рис. 1).

Следует отметить, что в эксперименте, проведенном с особями *R. balthica* (L., 1758) были получены аналогичные результаты (Ehlers et al., 2020). Моллюски воспринимали частицы микропластика (фрагменты полистирола, волокна полиакрила) в качестве пищи и выводили их из организма естественным путем. По визуальной оценке флуоресценции частиц микропластика в препаратах с экскрементами моллюсков, количество микропластика в ходе эксперимента постепенно уменьшалось. После растворения моллюсков, участвовавших в эксперименте, в их организме также были обнаружены остаточные частицы микропластика.

Исследования, проведенные с участием моллюсков разных размеров и стратегий питания, собранных в полевых условиях, свидетельствуют, что брюхоногие моллюски аккумулируют в своем организме больше частиц микропластика, чем двусторчатые (Naji et al., 2018). В моллюсках, собранных в их естественных условиях обитания, были обнаружены частицы микропластика раз-

ных размеров и типов (Naji et al., 2018). Большая часть микропластика состояла из волокон (>50%) и фрагментов (26%). Из выделенных трех размерных групп микропластиков наибольший процент приходился на микропластики наименьшего размера — от 10 до 25 мкм, что вполне логично, если учитывать последние исследования. Например, в оз. Байкал зарегистрирован высокий уровень загрязнения частицами микропластика мелкого размера (до 330 мкм), который ранее не учитывали (Moore et al., 2022). По результатам другого исследования (Abidli et al., 2019), в брюхоногих моллюсках, на примере видов *Bolinus brandaris* (L., 1758) и *Hexaplex trunculus* L., 1758, в естественных условиях чаще всего встречаются именно волокна микропластика, однако их размер существенно больше — от 0.1 до 1 мм. Следует отметить, что обнаружение в моллюсках волокон микропластика не зависит от уровня урбанизации и управления отходами на отдельных территориях, они встречаются в моллюсках, обитающих в водоемах и Африки, и Германии (Akindele et al., 2019).

Таким образом, самым часто встречаемым типом пластика в моллюсках из естественных мест обитания можно назвать именно волокна. Однако результаты нашего исследования после растворения моллюсков показали, что волокна полностью вывелись (табл. 2), за исключением случая, где наблюдали одно волокно размером 1100 мкм. На это могло повлиять несколько факторов: недостаточно большое количество волокон в пище, приготовленной для моллюсков; слишком большой размер волокон, из-за чего их поглощалось мало; либо за счет своей продолговатой формы они легко покидали организм (по сравнению с фрагментами, которые могли повреждать стенки желудочно-кишечного тракта). С учетом данного анализа и проведенных экспериментов, вероятно, для дальнейших лабораторных экспериментов следует выбирать волокна (и частицы микропластика в целом) меньшего размера, либо проводить эксперименты, ранжируя частицы по размерам с учетом как наиболее мелких фракций, так и наиболее крупных. Также, в дальнейшем

Таблица 1. Степень флуоресценции микропластика у разных видов брюхоногих моллюсков

Тип МП	Таксон	Степень флуоресценции				Всего препаратов
		сильная	средняя	слабая	отсутствует	
Ф	<i>Radix auricularia</i>	12	25	24	12	73
	<i>Lymnaea stagnalis</i>	3	25	53	10	91
	<i>Benedictia baicalensis</i>	0	8	17	42	67
В	<i>Radix auricularia</i>	2	7	13	49	71
	<i>Lymnaea stagnalis</i>	13	20	34	18	85

Примечание. МП — микропластик, Ф — фрагменты, В — волокна.

следует уделить внимание процессам накопления и фрагментирования частиц микропластика, поскольку из-за процесса фрагментации поглощенные более крупные частицы будут измельчены, и в таком виде смогут проникнуть сквозь стенки пищеварительного тракта и накопиться в тканях (Mateos-Cárdenas et al., 2020; Annenkov et al., 2021). Это может привести к длительному воздействию микропластика на моллюска, которое может вызвать негативные физиологические последствия для организма (Horton et al., 2020).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные лабораторные эксперименты показали, что брюхоногие моллюски исследованных видов способны поглощать частицы микропластика, воспринимая их в качестве пищи (не исключено, что это может быть результатом неизбирательного поглощения), и выводить их из организма естественным путем. Частицы микропластика присутствовали в фекалиях через 4 ч с момента кормления микропластиком, на 2-е сут при отсутствии кормления количество частиц по оценке степени флуоресценции было максимальным, далее с каждым днем уменьшалось. По визуальной оценке, в препаратах с экскрементами моллюсков хорошо прослеживалось уменьшение количества микропластика с течением времени. Однако статистический анализ подтвердил эти наблюдения только

для вида *Radix auricularia* ($R_s = -0.74, p = 0.005$), что может свидетельствовать о видоспецифичном характере скорости выведения частиц микропластика и невозможности экстраполировать полученные результаты даже на близкородственные виды. Учитывая полученные коэффициенты корреляции, данное утверждение носит предположительный характер и нуждается в дальнейшей проверке. После окончания опытов в теле моллюсков оставались фрагменты микропластика. По-видимому, времени, выделенного для эксперимента, было недостаточно для полного выведения частиц из организма, причем, различные по морфологической структуре частицы выводятся с разной скоростью.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при поддержке Проекта Министерства науки и высшего образования РФ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Климова Я.С., Чуйко Г.М., Песня Д.С. и др. 2020. Биомаркеры окислительного стресса пресноводных двустворчатых моллюсков (обзор) // Биология внутр. вод. № 6. С. 612.
<https://doi.org/10.31857/S0320965220060091>
Русинек О.Т., Тахтеев В.В., Ходжер Т.В. и др. 2012. Байкаловедение. Новосибирск: Наука.

Таблица 2. Количество микропластика, оставшегося в мягких тканях моллюсков разных видов (в частицах)

№ моллюска	Фрагменты			Волокна	
	<i>Radix auricularia</i>	<i>Lymnaea stagnalis</i>	<i>Benedictia baicalensis</i>	<i>Radix auricularia</i>	<i>Lymnaea stagnalis</i>
1	200	449	859	0	0
2	158	318	660	0	0
3	405	299	683	0	0
4	244	207	935	0	0
5	467	1263	659	0	0
6	498	636	1173	0	0
7	203	1353	1235	0	0
8	135	1155	781	0	1
9	69	707	924	0	0
10	453	1789	839	0	0
11	—	—	958	—	—
12	—	—	693	—	—
13	—	—	427	—	—
Среднее значение	283	818	833	0	0.1
Ошибка среднего	±49.6	±170.5	±61.1	0	±0.1

Примечание. “—” — данные отсутствуют.

- Abidli S., Lahbib Y., el Menif N.T. 2019. Microplastics in commercial molluscs from the lagoon of Bizerte (Northern Tunisia) // Mar. Pollut. Bull. V. 142. P. 243. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.03.048>
- Akindele E.O., Ehlers S.M., Koop J.H.E. 2019. First empirical study of freshwater microplastics in West Africa using gastropods from Nigeria as bioindicators // Limnologia. V. 78. e125708. P. 1. <https://doi.org/10.1016/j.limno.2019.125708>
- Annenkov V.V., Danilovtseva E.N., Zelinskiy S.N. et al. 2021. Submicro- and nanoplastics: How much can be expected in water bodies? // Environ. Pollut. V. 278. e116910. P. 1. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116910>
- Ehlers S.M., Maxein J., Koop J.H.E. 2020. Low-cost microplastic visualization in feeding experiments using an ultraviolet light-emitting flashlight // Ecol. Res. V. 35. P. 265. <https://doi.org/10.1111/1440-1703.12080>
- Horton A.A., Newbold L.K., Palacio-Cortés A.M. et al. 2020. Accumulation of polybrominated diphenyl ethers and microbiome response in the great pond snail *Lymnaea stagnalis* with exposure to nylon (polyamide) microplastics // Ecotoxicol. Environ. Saf. V. 188. e109882. P. 1. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109882>
- Il'ina O.V., Kolobov M.Y., Il'inskii V.V. 2021. Plastic pollution of the coastal surface water in the middle and southern Baikal // WARE. V. 48(1). P. 56. <https://doi.org/10.1134/S0097807821010188>
- Karnaukhov D., Biritskaya S., Dolinskaya E. et al. 2020. Pollution by macro- and microplastic of large lacustrine ecosystems in Eastern Asia // Pollut. Res. V. 36(2). P. 440.
- Karnaukhov D., Biritskaya S., Dolinskaya E. et al. 2022. Distribution features of microplastic particles in the Bolshiye Koty Bay (Lake Baikal, Russia) in winter // Pollution. V. 8(2). P. 435. <https://doi.org/10.22059/POLL.2021.328762.1159>
- Mateos-Cárdenas A., O'Halloran J., van Pelt F.N.A.M. et al. 2020. Rapid fragmentation of microplastics by the freshwater amphipod *Gammarus duebeni* (Lillj.) // Sci. Rep. V. 10. e12799. P. 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69635-2>
- Meyer M.F., Ozersky T., Woo K.H. et al. 2022. A unified dataset of colocated sewage pollution, periphyton, and benthic macroinvertebrate community and food web structure from Lake Baikal (Siberia) // Limnol. Oceanogr. Lett. V. 7. P. 62. <https://doi.org/10.6073/pasta/9554b7f19ddd4a614e854f18be978dca>
- Moore M.V., Yamamuro M., Timoshkin O.A. et al. 2022. Lake-wide assessment of microplastics in the surface waters of Lake Baikal, Siberia // Limnology. V. 23. P. 265. <https://doi.org/10.1007/s10201-021-00677-9>
- Naji A., Nuri M., Vethaak A.D. 2018. Microplastics contamination in molluscs from the northern part of the Persian Gulf // Environ. Pollut. V. 235. P. 113. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.12.046>

The Ability of Gastropods of Lake Baikal to the Feeding and Excretion of Microplastic Particles with Different Morphological Structures

S. A. Biritskaya¹, E. M. Dolinskaya¹, M. A. Maslennikova¹, L. B. Bukhaeva¹,
V. A. Pushnitsa¹, Ya. K. Ermolaeva¹, A. V. Lavnikova¹, D. I. Golubets¹, S. A. Nazarova²,
D. Yu. Karnaukhov^{1,*}, E. A. Silow¹

¹Irkutsk State University, Irkutsk, Russia

²Zoological Institute Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia

Studies of the pollution of Lake Baikal with microplastic particles have been started quite recently. Almost all research is focused on the assessment of surface water pollution, while the impact of microplastics on Baikal organisms remains unexplored. We conducted a laboratory experiment involving three species of gastropod mollusks, the Palearctic *Lymnaea stagnalis* (L., 1758) and *Radix auricularia* (L., 1758), as well as the Baikal endemic *Benedictia baicalensis* (Gerstfeldt, 1859). Two types of microplastics were used in the experiment: fragments of polystyrene and polyester fibers, prepared independently in the laboratory. These plastic particles, along with the food mixture, were placed in aquariums with mollusks. In total, as a result of the experiment, 386 preparations with mollusk excrement were obtained, of which 144 preparations were for the *Radix auricularia* species, 176 for the *Lymnaea stagnalis* species, and 67 for the *Benedictia baicalensis* species, the experiment with the latter species was carried out only with microplastic fragments. All preparations were analyzed according to the degree of fluorescence. The data were statistically processed using Spearman's rank correlation coefficient. The data obtained allowed us to conclude that gastropods of these species are able to absorb microplastic particles and remove them from the body. However, the rate of removal of microplastic particles from the body of a mollusk is species-specific, and also directly depends on the morphological structure of microplastic particles.

Keywords: microplastics, gastropods, microplastic fibers, microplastic fragments, water pollution, Lake Baikal