

Н. Д. Шамаев, Д. Р. Дубина, Э. А. Шуралев

**ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ КАДМИЯ И СВИНЦА
В ОТНОШЕНИИ *GALLERIA MELLONELLA* С ВЫЯВЛЕНИЕМ
ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ БЕЛКОВЫХ МАРКЕРОВ НАСЕКОМОГО**

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

Поступила в редакцию 01.03.2025 г.

Принята к публикации 22.06.2025 г.

doi: 10.5922/vestniknat-2025-3-10

140

Для цитирования: Шамаев Н.Д., Дубина Д.Р., Шуралев Э.А. Оценка токсичности кадмия и свинца в отношении *Galleria mellonella* с выявлением потенциальных белковых маркеров насекомого // Вестник Балтийского федерального университета им. И. Канта. Сер.: Естественные науки. 2025. №3. С. 140–146. doi: 10.5922/vestniknat-2025-3-10.

Тяжелые металлы кадмий и свинец являются одними из широко распространенных в окружающей среде в результате деятельности промышленного, животноводческого и аграрного секторов. Эти тяжелые металлы могут привести к возникновению серьезных физиологических и биохимических нарушений у позвоночных и беспозвоночных, в связи с чем актуальными остаются биоиндикация и оценка токсичности тяжелых металлов по показателям специфических белковых маркеров. Для насекомых как наиболее распространенной в экосистемах группы беспозвоночных животных загрязнение экосистем следами тяжелых металлов приводит к элиминации в первую очередь. В связи с этим повышенная чувствительность насекомых к уровню загрязнения учитывается в лабораторных тестах по оценке токсичности тяжелых металлов. Из числа существующих видов для оценки токсичности был выбран организм *Galleria mellonella*. Оценка токсичности тяжелых металлов Cd и Pb позволила предположить наличие специфических белковых маркеров токсичности, а именно белков с массой 25 и 70 кДа.

Ключевые слова: *Galleria mellonella*, тяжелые металлы, кадмий-индуцированный белок, L-фибронин

Введение

Ускоренные темпы индустриализации ведут к значительному увеличению загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами. Основными источниками ионов тяжелых металлов являются добыча полезных ископаемых, выбросы от транспортных средств, сельскохозяйственные стоки, промышленные отходы и сжигание ископаемого топлива [1]. Одни из наиболее опасных ионов тяжелых металлов, которые могут оказывать негативное влияние на органы при попадании в организм, — это кадмий (Cd) и свинец (Pb) [2–4].

Исходя из темпов снижения биоразнообразия в пострадавших от загрязнения тяжелыми металлами районах, тяжелые металлы могут влиять на структуру сообществ, где центральное место занимают насе-



комые. Несмотря на то что лабораторные тесты на токсичность, как правило, свидетельствуют о нечувствительности насекомых к металлам, они часто оказываются одними из первых видов, которые исчезают в загрязненных тяжелыми металлами районах. Фактически при проведении лабораторных исследований на насекомых они реагируют только на растворенные металлы в концентрациях на порядки выше тех, которые присутствуют в наиболее загрязненных районах, где нет насекомых. Уровни загрязнения экосистем в основном зависят от значений токсичности, полученных при кратковременном воздействии только растворенных металлов, несмотря на растущие доказательства, отражающие явное несоответствие между лабораторными тестами на токсичность и полевыми наблюдениями относительно токсичности металлов для насекомых. Однако если выявить белковые маркеры токсичности у насекомых, возможно проводить анализ с использованием концентраций тяжелых металлов порядком ниже. В данной работе мы использовали личинки большой восковой моли *Galleria mellonella* [5] как тестовый объект для изучения токсичности тяжелых металлов Cd и Pb и выявления белковых маркеров токсичности.

Материалы и методы

Для изучения токсичности сублетальных доз тетрагидрата кадмия при проведении эксперимента был приготовлен исходный 1М водный раствор соли кадмия ($\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) (ГОСТ 6262-79) концентрацией 0,01 г/л ($m=0,077$ г, $V=25$ мл), далее разведением приготовили растворы концентрацией 0,001 г/л и 0,0001 г/л. Для изучения токсичности солей свинца (II) азотнокислого был приготовлен 1М водный раствор соли свинца ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$) (ГОСТ 4236-77) концентрацией 0,01 г/л ($m=0,0828$ г, $V=25$ мл). Для подготовки образца под номером 5 (рис. 1) соединяли по 1 мл раствора соли кадмия ($\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) концентрацией 0,001 г/л и раствора соли свинца ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$) концентрацией 0,01 г/л. Сублетальные дозы тяжелых металлов были экспериментально изучены ранее [6].

Чашки Петри с личинками инкубировали в течение 48 часов при 23°C с размещенным внутри листом фильтровальной бумаги, пропитанным 2 мл раствора солей Cd и/или Pb соответствующей концентрации. Наряду с опытными образцами для контрольных значений были использованы личинки, в чашке Петри с которыми на фильтровальную бумагу наносили 2 мл дистиллированной воды (1 группа = 10 особей, всего 6 групп). Забор гемолимфы, подготовку компонентов и проведение электрофореза в 10 % полиакриламидном геле осуществляли согласно протоколу [7]. Анализ и документирование результатов электрофореза проводили с использованием программного обеспечения ImageLab 6 [8].

Результаты и обсуждение

Визуальная оценка результатов проведенного эксперимента выявила различия в белковом профиле под воздействием интоксикации растворами солей тяжелых металлов (рис.).

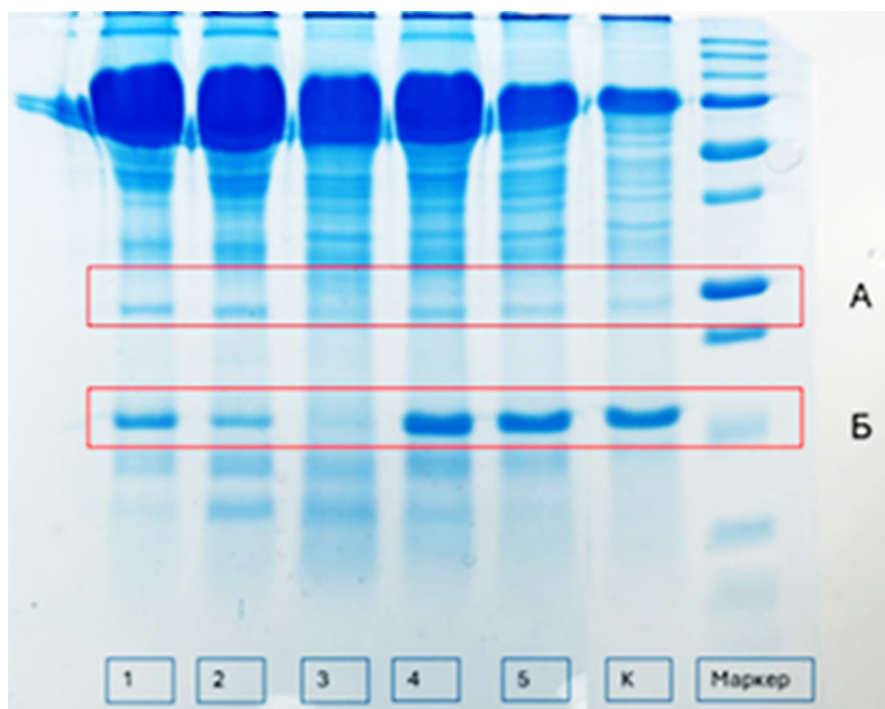


Рис. Электрофорез в полиакриламидном геле.

Полосы 1–5 – опытные группы личинок:

1 – применяли Cd в концентрации 0,0001 г/л; 2 – применяли Cd в концентрации 0,001 г/л; 3 – применяли Cd в концентрации 0,01 г/л; 4 – применяли Pb в концентрации 0,01 г/л; 5 – применяли Cd и Pb в концентрациях 0,001 г/л и 0,01 г/л соответственно; К – контрольная группа личинок; Маркер – маркер молекулярной массы белка, где размер в 70 кДа указан буквой «А», а размер в 25 кДа – буквой «Б».

Красной рамкой обозначены полосы геля, которые использовались в ходе визуальной оценки токсичности Cd и/или Pb

Известно, что продукция Cd-индуцированного белка связана с защитой организма от воздействия тяжелого металла Cd. Потенциально обнаруженный нами белок со схожей массой может относиться к группе белков теплового шока, а именно к белку теплового шока 70 (HSP70) насекомых [9]. В соответствии с зарубежными исследованиями, при воздействии Cd происходит увеличение продукции данного Cd-индуцированного белка, который связывает Cd и выводит его из организма, не позволяя вызывать повреждения клеток насекомого [10; 11]. В ходе эксперимента белок визуально обнаруживался при концентрациях соли Cd 0,0001, 0,001 и 0,01 г/л, что потенциально указывает на отсутствие эффекта использованных доз Cd на продукцию белка. Использование сублетальной дозы Pb не показало визуальных изменений. Однако в результате интоксикации сублетальными дозами Cd были обнаружены визуальные отличия в количестве белка массой 25 кДа в гемолимфе. При увеличении дозы Cd с 0,0001 до 0,01 г/л белок массой 25 кДа пере-



стал быть визуально различим при 0,01 г/л. Кроме того, при интоксикации водным раствором соли Pb наблюдается визуальное увеличение количества белка массой 25 кДа. Потенциально обнаруженный нами белок со схожей массой может быть L-фибрином [12]. При этом параллельное использование водного раствора соли Cd потенциально не приводит к изменению количества L-фибрина в гемолимфе. *G. mellonella* и другие насекомые со схожим жизненным циклом постоянно синтезируют L-фибрин, входящий в состав нитей паутины и коконов [13; 14]. Вероятно, данный эффект связан с тем, что фибрин шелка может адсорбировать ионы тяжелых металлов, в том числе свинца [15].

Заключение

143

Данное исследование подчеркивает важность изучения белкового состава гемолимфы личинок *G. mellonella*. Понимание молекулярных механизмов, связанных с токсичностью Cd и Pb, может помочь в разработке новых стратегий для борьбы с загрязнением окружающей среды и защиты экосистем. Если обнаруженные белки массой 25 кДа и 70 кДа действительно связаны с механизмом токсичности Cd и Pb, то они могут оказывать прямое воздействие на ферменты, которые участвуют в клеточных метаболических процессах. Известно, что ненормальное закисление среды в культурах, обработанных низкими концентрациями Cd, связано с увеличением продукции молочной кислоты. В сочетании с морфологическими наблюдениями при изучении энтомотоксичности в зарубежных исследованиях это свидетельствует о нарушении аэробного метаболизма, вызванном действием Cd [10]. Например, у азиатского тигрового комара *Aedes albopictus* выявлена несимметричная зависимость жизнеспособности клеточных культур при увеличении концентрации солей Cd. Несмотря на то что данное явление сопровождалось увеличением синтеза белков, относящихся к группе белков теплового шока у *A. albopictus* [11], у *G. mellonella* аналогичные белки не показали визуальных отличий при воздействии разных доз Cd. Полученные данные не исключают ключевую роль белков теплового шока в защите клеток насекомых от токсического воздействия Cd, но предполагают различия в механизме токсичности у *G. mellonella*. В отличие от белка массой 70 кДа, белок массой 25 кДа (предположительно, L-фибрин) визуальным образом находится в меньших количествах в гемолимфе *G. mellonella* при воздействии Cd. Кроме того, использование Cd и Pb и только Pb визуальным образом увеличивает содержание данного белка в гемолимфе. Результаты зарубежных исследований подчеркивают, что однократная сублетальная доза Pb негативно сказывается на содержании белков, проявлении окислительного стресса и развитии личинок водных насекомых семейств Chironomidae, Ephemeroptera, Plecoptera и Trichoptera [16; 17]. Механизм токсичности у *G. mellonella* при использовании Pb отличается применительно к белку массой 25 кДа от опубликованных данных и потенциально может быть связан с индуцированной адсорбцией ионов тяжелых металлов.



Список литературы

1. Vareda J.P., Valente A.J.M., Durães L. Assessment of heavy metal pollution from anthropogenic activities and remediation strategies: A review // Journal of Environmental Management. 2019. №246. P. 101–118. doi: 10.1016/j.jenvman.2019.05.126.
2. Rahman Z., Singh V.P. The relative impact of toxic heavy metals (THMs) (arsenic (As), cadmium (Cd), chromium (Cr)(VI), mercury (Hg), and lead (Pb)) on the total environment: an overview // Environmental Monitoring and Assessment. 2019. №191. doi: 10.1007/s10661-019-7528-7.
3. Alengebawy A., Abdelkhalek S.T., Qureshi S.R., Wang M.Q. Heavy Metals and Pesticides Toxicity in Agricultural Soil and Plants: Ecological Risks and Human Health Implications // Toxics. 2021. №9. doi: 10.3390/toxics9030042.
4. Vukašinović E.L., Čelić T.V., Kojić D. et al. The effect of long term exposure to cadmium on *Ostrinia nubilalis* growth, development, survival rate and oxidative status // Chemosphere. 2020. №243. doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.125375.
5. Coates C.J., Lim J., Harman K. et al. The insect, *Galleria mellonella*, is a compatible model for evaluating the toxicology of okadaic acid // Cell Biology and Toxicology. 2019. №35. P. 219–232. doi: 10.1007/s10565-018-09448-2.
6. Мукминов М.Н., Дубина Д.Р., Юркова Е.М. и др. Восковая моль *Galleria mellonella* как тест-объект при биотестировании (на примере кадмия и свинца) // Фундаментальные и прикладные решения приоритетных задач пчеловодства : сб. науч.-практ. материалов Междунар. науч.-практ. конф. Казань, 2023. С. 139–143.
7. Taszłow P., Wojda I. Changes in the hemolymph protein profiles in *Galleria mellonella* infected with *Bacillus thuringiensis* involve apolipoprotein III. The effect of heat shock // Archives of Insect Biochemistry and Physiology. 2015. №88. С. 123–143. doi: 10.1002/arch.21208.
8. Шамаев Н.Д., Шуралев Э.А., Ефимова М.А. Анализ и документирование гелей и мембран в программном обеспечении «Image Lab» при электрофорезе и блоттинге : учеб.-метод. пособие. Казань, 2021. EDN: TTTJAW.
9. Park K., Kwak I.S. Cadmium-induced developmental alteration and upregulation of serine-type endopeptidase transcripts in wild freshwater populations of *Chironomus plumosus* // Ecotoxicology and Environmental Safety. 2020. №192. doi: 10.1016/j.ecoenv.2020.110240.
10. Braeckman B., Brys K., Rzeznik U., Raes H. Cadmium pathology in an insect cell line: ultrastructural and biochemical effects // Tissue and Cell. 1999. №31. P. 45–53. doi: 10.1054/tice.1998.0019.
11. Braeckman B., Smagghe G., Brutsaert N. et al. Cadmium uptake and defense mechanism in insect cells // Environmental Research. 1999. №80. P. 231–243. doi: 10.1006/enrs.1998.3897.
12. Zurovec M., Vasková M., Kodrík D. et al. Light-chain fibroin of *Galleria mellonella* L. // Molecular Genetics and Genomics. 1995. №247. P. 1–6. doi: 10.1007/BF00425815.
13. Chaitanya R.K., Dutta-Gupta A. Light chain fibroin and P25 genes of *Corcyra cephalonica*: Molecular cloning, characterization, tissue-specific expression, synchronous developmental and 20-hydroxyecdysone regulation during the last instar larval development // General and Comparative Endocrinology. 2010. №167. P. 113–121. doi: 10.1016/j.ygcen.2010.02.007.
14. Zurovec M., Kodrík D., Yang C. et al. The P25 component of *Galleria* silk // Molecular Genetics and Genomics. 1998. №257. P. 264–270. doi: 10.1007/s004380050647.



15. Pilley S., Kaur H., Hippargi G. et al. Silk fibroin: a promising bio-material for the treatment of heavy metal-contaminated water, adsorption isotherms, kinetics, and mechanism // Environmental Science and Pollution Research. 2022. №29. P. 56606–56619. doi: 10.1007/s11356-022-19833-4.

16. Schmarsow R., Moliné M.P., Damiani N. et al. Toxicity and sublethal effects of lead (Pb) intake on honey bees (*Apis mellifera*) // Chemosphere. 2023. №344. doi: 10.2478/jas-2020-0009.

17. Lidman J., Jonsson M., Berglund Å.M.M. The effect of lead (Pb) and zinc (Zn) contamination on aquatic insect community composition and metamorphosis // Science of The Total Environment. 2020. №734. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.139406.

Об авторах

Николай Дмитриевич Шамаев — канд. биол. наук, доц., Казанский (Приволжский) федеральный университет, Россия.

E-mail: nikolai.shamaev94@mail.ru

ORCID: 0000-0002-0575-3760

SPIN-код: 2602-2764

Диана Равильевна Дубина — асп., ассист., Казанский (Приволжский) федеральный университет, Россия.

E-mail: dubinadiana97@mail.ru

ORCID: 0000-0003-3003-0369

Эдуард Аркадьевич Шуралев — канд. биол. наук, доц., Казанский (Приволжский) федеральный университет, Россия.

E-mail: eduard.shuralev@mail.ru

ORCID: 0000-0003-0650-3090

SPIN-код: 6450-1470

N. D. Shamaev, D. R. Dubina, E. A. Shuralev

CADMIUM AND LEAD TOXICITY ASSESSMENT USING GALLERIA MELLONELLA WITH POTENTIAL INSECT PROTEIN MARKERS IDENTIFICATION

Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia

Received 1 March 2025

Accepted 22 June 2025

doi: 10.5922/vestniknat-2025-3-10

To cite this article: Shamaev N.D., Dubina D.R., Shuralev E.A, 2025, Cadmium and lead toxicity assessment using *Galleria mellonella* with potential insect protein markers identification, *Vestnik of Immanuel Kant Baltic Federal University. Series: Natural Sciences*, №3. P. 140–146. doi: 10.5922/vestniknat-2025-3-10.

Heavy metals cadmium and lead are among the widely distributed pollutants in the environment due to the activities of the industrial, livestock, and agricultural sectors. These heavy metals can cause serious physiological and biochemical disturbances in vertebrates and invertebrates, which makes bioindication and the assessment of heavy metal toxicity using specific protein markers highly relevant. For insects, as the most widespread group of invertebrates in ecosystems, contamination with traces of heavy metals primarily leads to elimination. There-



fore, the heightened sensitivity of insects to pollution levels is considered in laboratory tests for evaluating heavy metal toxicity. Among the existing species, *Galleria mellonella* was selected for toxicity assessment. The evaluation of cadmium (Cd) and lead (Pb) toxicity suggested the presence of specific protein markers of toxicity, namely proteins with molecular weights of 25 and 70 kDa.

Keywords: *Galleria mellonella*, heavy metals, cadmium-induced protein, L-fibroin

The authors

Dr Nikolai D. Shamaev, Associate Professor, Kazan (Volga Region) Federal University, Russia.

E-mail: nikolai.shamaev94@mail.ru

ORCID: 0000-0002-0575-3760

SPIN-код: 2602-2764

Diana R. Dubina, PhD student, Assistant Professor, Kazan (Volga Region) Federal University, Russia.

E-mail: dubinadiana97@mail.ru

ORCID: 0000-0003-3003-0369

Dr Eduard A. Shuralev, Associate Professor, Kazan (Volga Region) Federal University, Russia.

E-mail: eduard.shuralev@mail.ru

ORCID: 0000-0003-0650-3090

SPIN-код: 6450-1470