

УДК 504.42

**БИОМОНИТОРИНГ АРКТИЧЕСКОГО ЗООПЛАНКТОНА  
НА ОСНОВЕ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО  
ЛАБОРАТОРНОГО ЭКСПЕРИМЕНТА****<sup>1</sup>Дудоркин Е.С., <sup>2</sup>Поважный В.В., <sup>1</sup>Дмитриев В.В.***<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург,  
e-mail: edudorkin1@gmail.com;**<sup>2</sup>Арктический и антарктический научно-исследовательский институт, Санкт-Петербург*

В современных условиях вопросы влияния загрязняющих веществ на арктические экосистемы, в частности, на механизмы поддержания биоразнообразия, процессы, регулирующие продукционные способности гидробионтов и их количественное распределение, представляются исключительно актуальными и требующими активного и глубокого изучения. Эксперименты по токсичному воздействию являются важными составляющими биомониторинга и оценки рисков техногенного загрязнения окружающей среды. Проведение таких экспериментов с видами, принадлежащими к различным трофическим уровням и таксономическим группам, необходимо для сбора информации о возможных последствиях попадания загрязняющих веществ в экосистему. Целью исследования является изучение ответной реакции веслоногих рачков на воздействие пестицидов на основе лабораторных экспериментов. Задачи исследования: 1 – обобщить методологические основы постановки лабораторных экспериментов; 2 – разработать методику проведения токсикологического лабораторного эксперимента; 3 – исследовать качественные и количественные изменения зоопланктонного сообщества под влиянием антропогенной нагрузки; 4 – оценить ответную реакцию гидробионтов на внешнее воздействие и выявить критические концентрации токсиканта. В результате работы проведена серия из трех токсикологических экспериментов с копеподами *Nitocra lacustris*, выполнен статистический анализ изменения их численности, а также исследовано влияние выбранного токсиканта на биологическую мишень при различных концентрациях пестицидов в воде.

**Ключевые слова:** зоопланктон, арктические экосистемы, влияние пестицидов, лабораторный эксперимент, токсикология, биомониторинг

**BIOMONITORING OF ARCTIC ZOOPLANKTON BASED  
ON TOXICOLOGICAL LABORATORY EXPERIMENT****<sup>1</sup>Dudorkin E.S., <sup>2</sup>Povazhnyi V.V., <sup>1</sup>Dmitriev V.V.***<sup>1</sup>Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, e-mail: edudorkin1@gmail.com;**<sup>2</sup>Arctic and Antarctic Research Institute, Saint Petersburg*

In modern conditions, the issues of the influence of pollutants on Arctic ecosystems, in particular, on the mechanisms of maintaining biodiversity, the processes regulating the productive abilities of hydrobionts and their quantitative distribution, seem extremely relevant and require active and comprehensive study. Experiments on toxic effects are important components of biomonitoring and risk assessment of technogenic environmental pollution. Conducting such experiments with species belonging to different trophic levels and taxonomic groups is necessary to collect information about the possible consequences of pollutants entering the ecosystem. The purpose of the research is to study the response of copepods to the effects of pesticides based on laboratory experiments. Research objectives: 1 – to summarize the methodological foundations of laboratory experiments; 2 – to develop a methodology for conducting a toxicological laboratory experiment; 3 – to investigate qualitative and quantitative changes in the zooplankton community under the influence of anthropogenic load; 4 – to assess the response of hydrobionts to external influences and identify critical concentrations of the toxicant. As a result of the work, a series of three toxicological experiments with *Nitocra lacustris* copepods was carried out, a statistical analysis of changes in their numbers was performed, and the effect of the selected toxicant on the biological target at different concentrations of pesticides in water was investigated.

**Keywords:** zooplankton, Arctic ecosystems, influence of pesticides, laboratory experiment, toxicology, biomonitoring

Арктический бассейн является уникальным регионом со своеобразными природными условиями и живыми организмами. Наличие ледового покрова и полярной ночи значительно ограничивают период, благоприятный для первичного продуци-

рования органического вещества гидробионтами и развития трофических сетей. Наземные и морские экосистемы развиваются в экстремальных условиях, отличающихся низкими температурами среды и видовым разнообразием. В результате морские экоси-

стемы здесь наиболее чувствительны и уязвимы к любому внешнему воздействию [1]. Именно поэтому в арктических экосистемах существует необходимость совершенствования и развития системы диагностического и прогностического мониторинга водных объектов для получения количественных показателей, характеризующих специфику, источник, степень и масштаб воздействия, и ответную реакцию отдельных организмов и природных экосистем в целом на оказанные воздействия [2]. Эксперименты по влиянию загрязняющих веществ на морские организмы являются одними из ключевых составляющих биомониторинга и оценки последствий попадания этих веществ в окружающую среду. Таким образом, совершенствование стандартов и разработка новых методов для биомониторинга экологически значимых видов является важной проблемой экотоксикологии [3].

Наиболее репрезентативным объектом (биологической мишенью) токсических экспериментов был выбран зоопланктон, а именно – веслоногие ракообразные (лат., *Copepoda*). Оценка воздействия на копепод представляет большой научный интерес, поскольку они играют значительную роль в водных экосистемах и экологии в целом. Эти организмы имеют наибольшую биомассу среди всех гидробионтов и занимают первое место в доле производства вторичной продукции водоемов. Также, копеподы занимают важное место в трофической цепи – они являются консументами первого порядка в водных экосистемах и основными потребителями фитопланктона с одной стороны, а с другой стороны служат основной пищей для других гидробионтов [4].

В русскоязычной литературе практически не встречается работ по токсикологическому воздействию на биологические или экологические мишени в данном регионе и на арктические экосистемы в целом. Однако, в англоязычной литературе токсические эксперименты с копеподами получили широкое распространение [5,6,7].

#### Материалы и методы исследования

Объектом исследования при проведении экспериментов стала бентосная копепода из отряда гарпактикоидов – *Nitocra lacustris*. Все эксперименты были выполнены на базе лаборатории полярных исследований им. О.Ю. Шмидта Арктического и Антарктического научно-исследовательского института (ААНИИ).

На данном этапе первым автором разработана методика проведения токсикологических экспериментов по внешнему воздействию на копепод. Проведение одного лабораторного эксперимента занимает достаточно большое количество времени и состоит из нескольких этапов (таблица).

После начальных приготовлений следует этап отбора самок с яйцевидными мешками в специальные контейнеры, где они будут находиться все время эксперимента. Один контейнер представлен 6 чашками Петри, в каждой из которых содержится по 3 самки с яйцевидными мешками. Количество контейнеров определяется целями эксперимента (например, сколько различных концентраций токсиканта следует рассмотреть). Кроме этого, всегда должен быть один контейнер с контрольной группой, на которую не будет оказано воздействие токсического вещества.

Методика проведения токсикологического эксперимента с копеподами

№, п/п	Название этапа	Время выполнения	Необходимое оборудование
1	Проверка копепод на наличие достаточного кол-ва самок	1 день	Бинокляр
2	Подготовка пищи в виде диатомовых водорослей	1-2 недели	Лабораторная посуда, микроскоп, магнитная мешалка, дозаторы, морская вода (или её эквивалент)
3	Отбор самок в контейнеры	1-2 дня	Контейнеры с ячейками, дозаторы, бинокляр
4	Подготовка раствора токсиканта, и добавление необходимой концентрации в контейнеры	1 час	Лабораторная посуда (емкости для раствора), токсикант, дозаторы
5	Наблюдение за копеподами (подсчет науплиусов и копеподитов)	От нескольких дней до нескольких месяцев или больше	Бинокляр
6	Обработка и визуализация результатов	2-3 дня	Компьютер и необходимое ПО

В данной серии экспериментов было необходимо изучить оценку воздействия пестицидов на арктическую экосистему. В качестве токсиканта был выбран дихлофос, поскольку в его составе содержится циперметрин – соединение, широко применяющееся в инсектицидах в аквакультуре для борьбы с рыбными паразитами, тем самым попадая в окружающую водную среду. Таким образом, важно проследить его токсическое воздействие на низшие уровни трофической цепи.

Следующий этап – наблюдение за развитием копепод. Время этого этапа зависит от целей исследований. В данной работе основная задача экспериментов – проследить, смогут ли самки *Nitocra* при определенной концентрации токсиканта дать потомство, которое доживет до стадии самок и само сможет произвести уже следующее поколение копепод.

Наблюдение за копеподами производилось раз в 2 дня под биноклем и заключалось в следующем:

- Осмотре состояния самок;
- Подсчете количества науплиусов (планктонная личинка копепод);
- Подсчете количества копеподитов (переходная стадия от личинки к взрослой особи);
- Регистрации температуры воды в день наблюдения с помощью термометра;
- Записи результатов наблюдения в лабораторный журнал.

#### Результаты исследования и их обсуждение

Традиционно при исследовании загрязнения водной среды нормальное её функционирование возможно лишь при непревышении т.н. ПДЭН (предельно допустимой экологической нагрузки). В качестве ПДЭН рекомендуется выбирать биологически допустимый (толерантный) для гидробионтов диапазон концентраций токсикантов в воде, в пределах которого организмы, их сообщества и популяции располагают возможностями оптимальной реализации своих физиологических, экологических и других функций. Критическими считаются такие концентрации загрязняющих веществ (ЗВ), при которых даже небольшое дополнительное воздействие может привести к необратимому изменению биологического процесса, выбранного в качестве экологической "мишени". Токсичной (ингибирующей) концентрацией считается такая концентрация токсиканта, при которой относительные (по сравнению с контролем) значения роста (плодовитости, скорости деления, фотосинтеза и др.) достоверно снижаются более чем на 50% от соответствующих по-

казателей в контрольном варианте в опытах длительностью не менее 2-4 суток. К пороговым относятся концентрации, которые изменяют аналогичные показатели в пределах до 50%, в т.н. хронических опытах, длительность которых соизмерима с продолжительностью жизненного цикла. Максимально недействующей (подпороговой) концентрацией (МНК) принимается такая концентрация, при которой основные показатели жизнедеятельности организмов в хронических опытах отклоняются не более чем на 25% от контроля [8,9].

Следуя существующим рекомендациям, было проведено 3 токсикологических лабораторных эксперимента. Первый эксперимент был начат 29 сентября 2022 года, в этот день самки копепод были пересажены в экспериментальные контейнеры. На 6 день (4 октября) был добавлен токсикант. Начальные концентрации токсиканта составляли 0.1 мг/л, 0.5 мг/л и 1 мг/л соответственно.

По итогам этого и последующих экспериментов результаты каждой исследуемой группы визуализировались с помощью диаграммы «ящик с усами» (набор данных о численности науплиусов в группе был осреднен по каждой чашке Петри в контейнере).

Таким образом, до добавления токсиканта все группы развивались в нормальном состоянии, однако после воздействия на них жизнедеятельность самок и уже родившихся науплиусов снизилась до нуля. Они все еще подавали признаки жизни (двигали сегментами тела), но были парализованы и вероятно, не могли питаться. Стоит отметить, что в контейнерах с токсикантом было замечено много родившихся науплиусов, однако они все быстро погибали.

В итоге, во всех трех контейнерах в эксперименте с нагрузкой все особи погибли через неделю после добавления токсиканта (11 октября). Контрольная группа продолжала активно развиваться.

Второй эксперимент был проведен с уменьшением концентраций токсиканта в 10 раз. Первый день эксперимента – 1.12.2022. Токсикант был добавлен на второй день (2.12.2022). Экспериментальных контейнеров было уже 3 – контрольная группа и 2 группы с концентрацией токсиканта 0.05 мг/л и 0.01 мг/л соответственно. Результаты представлены ниже (рис. 2).

Как видно из рисунка 2, численность науплиусов в контейнерах начала сильно снижаться к концу эксперимента. Впоследствии все особи, включая самок, погибли. Они также были парализованы и не могли продолжать свою жизнедеятельность.

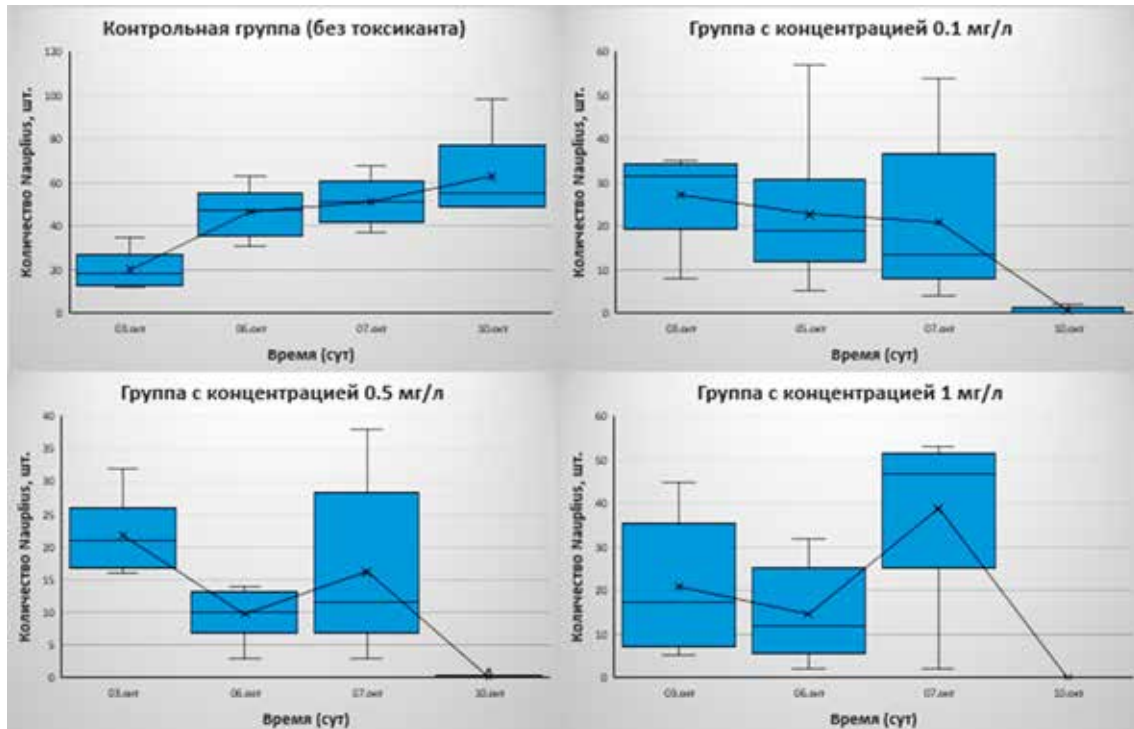


Рис. 1. Результаты первого эксперимента (29.09.22-11.10.22). Подсчет науплиусов в каждом из контейнеров на основе диаграммы «ящик с усами». Синий прямоугольник – квартильный размах; вертикальные линии – значения минимума и максимума; крест, соединенный линией – среднее значение численности особей

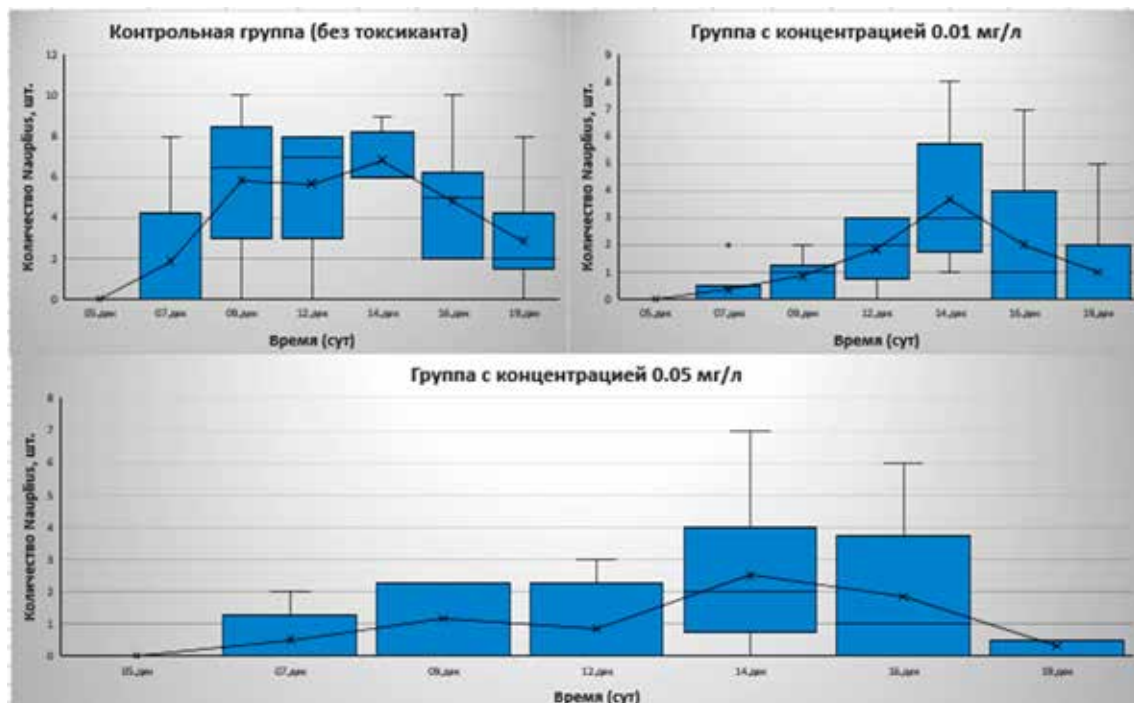


Рис. 2. Результаты второго эксперимента (1.12.2022-19.12.2022). Подсчет науплиусов в каждом из контейнеров на основе диаграммы «ящик с усами». Синий прямоугольник – квартильный размах; вертикальные линии – значения минимума и максимума; крест, соединенный линией – среднее значение численности особей

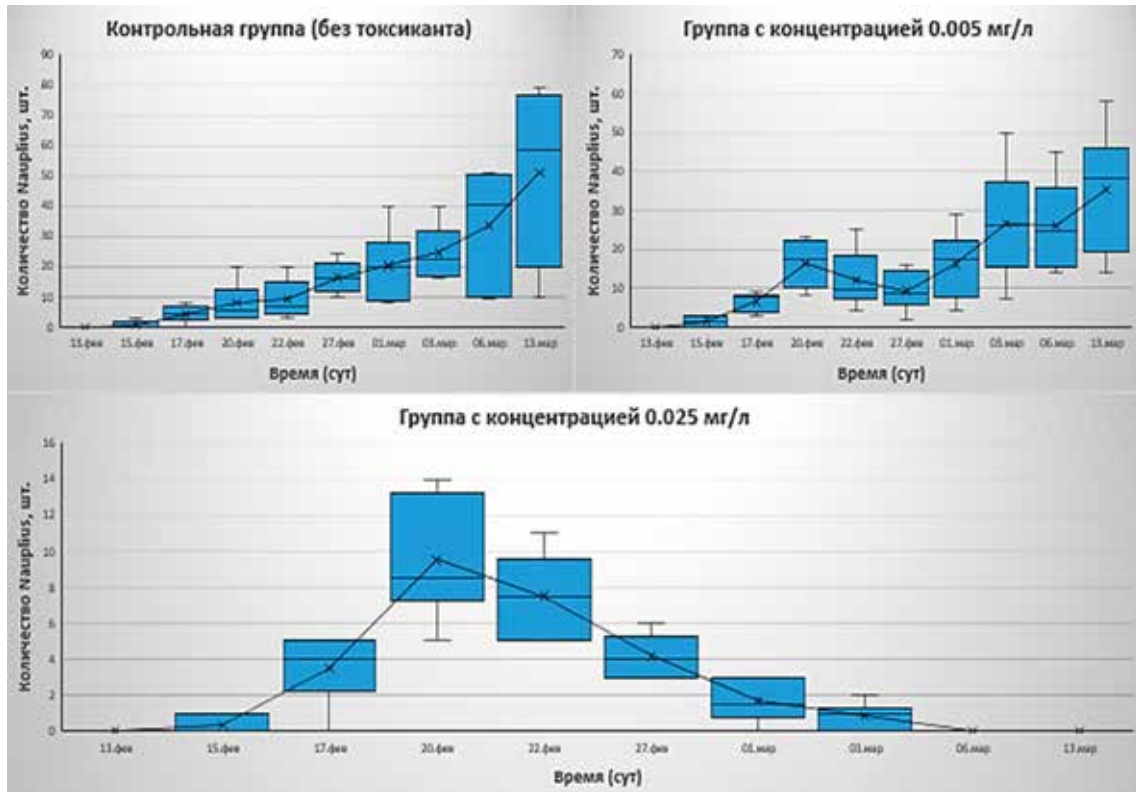


Рис. 3. Результаты третьего эксперимента (13.02.2023-13.03.2023). Подсчет науплиусов в каждом из контейнеров на основе диаграммы «ящик с усами». Синий прямоугольник – квартильный размах; вертикальные линии – значения минимума и максимума; крест, соединенный линией – среднее значение численности особей

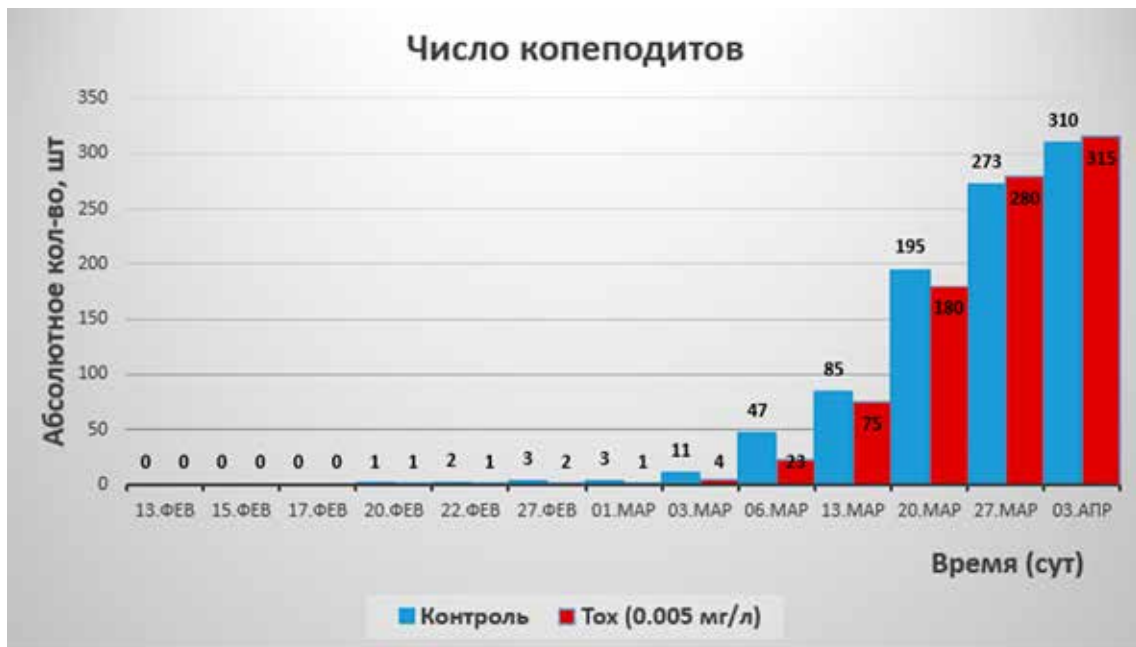


Рис. 4. Количество копеподитов в контрольной группе (синие столбцы) и в группе с концентрацией токсиканта 0.005 мг/л (красные столбцы)

Для третьего эксперимента концентрации токсиканта были снижены в два раза по сравнению со вторым экспериментом и составили 0.025 мг/л и 0.005 мг/л соответственно. Первый день эксперимента – 13.02.2023. Токсикант был добавлен на третий день (15.02.2023). Результаты самого эксперимента представлены ниже (рис. 3).

Третий эксперимент принес наиболее значимые результаты. Из рисунка видно, что группа с концентрацией 0.025 мг/л вся погибла. В тоже время контрольная группа и группа с наименьшей нагрузкой продолжали активно развиваться. Эксперимент продлился более месяца, однако подсчет науплиусов был остановлен 13 марта, так как дальнейший подсчет не представлялся возможным из-за значительного количества родившихся личинок.

На рисунке 3Б видно, что с 20 по 27 февраля происходило снижение количества науплиусов, вероятно связанное с влиянием токсиканта. В целом по визуальным наблюдениям была замечена более низкая активность в группе с нагрузкой в первой половине эксперимента. Однако, самки уже не были парализованы и могли нормально перемещаться, питаться и производить потомство. Были также замечены смерти науплиусов (около 30% от общего количества) в первой половине эксперимента.

Также в ходе третьего эксперимента особи доросли до стадий копепода (рис. 4), а затем некоторые из них до стадий самок и также смогли производить потомство.

Из диаграммы видно, что к началу появления копеподитов, их количество в контрольной группе было в 2 раза больше (3.03 и 6.03). К концу эксперимента их число выровнялось, что скорее всего может быть связано с улетучиванием токсиканта из воды.

### Заключение

В результате исследования разработана методика по подготовке и проведению лабораторного токсикологического эксперимента с биологической мишенью, распространенной в арктических экосистемах. Выполнена серия из трех экспериментов с колонией копепод *Nitocra lacustris*. На основе статистического анализа полученных результатов было оценено влияние дихлофоса на зоопланктон и выявлены критические концентрации токсиканта в воде. При концентрации 0.01 мг/л и выше все особи без исключения погибали, при этом

чем выше концентрация, тем процесс гибели наступал быстрее. При концентрации 0.005 мг/л было замечено некоторое влияние на копепод, однако колония продолжала активно развиваться – личинки достигли половозрелой стадии и смогли сами производить потомство. Эта концентрация отнесена нами к эффективной концентрации (ЕС), при которой организмы начинают реагировать на наличие токсиканта в воде.

Следующими этапами работы будет выявление критических концентраций токсиканта, рекомендованных для получения токсичных, пороговых, максимально недействующих (подпороговых) концентраций токсикантов с дополнительным учетом рисков попадания загрязняющих веществ в водную среду. Оценка влияния токсиканта на экосистему в целом будет выполняться с привлечением возможностей имитационного моделирования водных экосистем (модель AQUATOX) и концентраций токсикантов, определенных в экспериментах с *Nitocra lacustris*.

### Список литературы

1. Dmitriev V.V., Terleev V.V., Nikonorov A.O., Ogurtsov A.N., Osipov A.G., Sergeev Y.N., Kulesh V.P., Fedorova I.V. Global Evaluation of the Status and Sustainability of Terrestrial Landscapes and Water Bodies // Landscape Modelling and Decision Support. 2020. P. 231–253. DOI: 10.1007/978-3-030-37421-1\_12.
2. Архипов Д.Э., Едемский К.Е., Кожевникова С.И., Дмитриев В.В. Развитие мониторинга водных объектов на основе интегральной оценки экологического статуса и моделирования экологических функций // European Journal of Natural History. 2022. № 2. С. 31-37.
3. Raisuddin S., Kwok K.W.H., Leung K.M.Y., Schlenk D., Lee J. The copepod *Tigriopus*: A promising marine model organism for ecotoxicology and environmental genomics // Aquat Toxicol. 2007. № 83(3). P. 161-73. DOI: 10.1016/j.aquatox.2007.04.005.
4. Жирков И.А. Биogeография. Общая и частная: суши, моря и континентальных водоёмов. М.: Т-во научных изданий КМК, 2016. 566 с.
5. Lasley-Rasher R.S., Nagel K., Angra A., Yen J. Intoxicated copepods: ingesting toxic phytoplankton leads to risky behavior // Proc Biol Sci. 2016. № 283(1829). P. 20160176. DOI: 10.1098/rspb.2016.0176.
6. Koski M., Stedmon C., Trapp S. Ecological effects of scrubber water discharge on coastal plankton: Potential synergistic effects of contaminants reduce survival and feeding of the copepod *Acartia tonsa* // Mar Environ Res. 2017. № 129. P. 374-385. DOI: 10.1016/j.marenvres.2017.06.006.
7. Thor P., Granberg M.E., Winnes H., Magnusson K. Severe Toxic Effects on Pelagic Copepods from Maritime Exhaust Gas Scrubber Effluents // Environ Sci Technol. 2021. № 55(9). P. 5826-5835. DOI: 10.1021/acs.est.0c07805.
8. Израэль Ю.А., Цыбань А.В. Антропогенная экология океана. Л.: Гидрометеиздат, 1989, 528 с.
9. Исидоров В.А. Экологическая химия: учебное пособие для вузов. СПб.: ХИМИЗДАТ, 2022. 304 с.