

На правах рукописи



Оськина Наталия Александровна

**ВЛИЯНИЕ ГАММА-ИЗЛУЧЕНИЯ И ТЯЖЕЛЫХ
МЕТАЛЛОВ НА ПОКОЯЩИЕСЯ ЯЙЦА ПРЕСНОВОДНОГО РАЧКА
*MOINA MACROSCOPA***

Специальность 03.02.10 – Гидробиология (биологические науки)

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Красноярск – 2021

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Сибирский федеральный университет», и в Институте биофизики СО РАН, обособленном подразделении Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр СО РАН».

Научный руководитель: кандидат биологических наук **Задереев Егор Сергеевич**

Официальные оппоненты: **Алексеев Виктор Ростиславович**, доктор биологических наук, профессор, заведующий отделением систематики лаборатории пресноводной и экспериментальной гидробиологии ФГБУН Зоологический институт Российской академии наук.

Афони́на Екатерина Юрьевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории водных экосистем ФГБУН Институт природных ресурсов, экологии и криологии Сибирского отделения Российской академии наук.

Ведущая организация: ФГБУН Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук

Защита состоится 13 апреля 2021 года в 14:00 часов на заседании диссертационного совета Д 999.119.02 на базе ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет», ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» по адресу: 660041, г. Красноярск, пр. Свободный 79, ауд. Р8-06.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет» и на сайте организации <http://www.sfu-kras.ru>.

Автореферат разослан «__» _____ 2021 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета



Глушченко Л.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность. Планктонные ракообразные являются важным звеном трофической сети водных экосистем. Питаясь микроводорослями представители зоопланктона сдерживают цветение водоема. В свою очередь рачки являются незаменимым стартовым кормом для рыб. Для поддержания жизнеспособности популяции в меняющихся условиях окружающей среды многие представители планктонных ракообразных формируют покоящиеся яйца, способные переносить экстремальные условия (Alekseev, 2007). Покоящиеся яйца скапливаются либо у поверхностной пленки водоема, либо в донных отложениях, где формируют банки покоящихся яиц, которые могут сохранять жизнеспособность десятки лет (Brendonck, Meester, 2003). Как известно, донные отложения могут накапливать различные антропогенные токсиканты, в том числе радиоактивные частицы и тяжелые металлы (Зотина и др., 2014; Никаноров, Страдомская, 2007; Болсуновский и др., 2016). Знания о влиянии тяжелых металлов и радиоактивных веществ на банки покоящихся яиц зоопланктона позволят оценить устойчивость водных экосистем к воздействию различных загрязняющих веществ, сделать прогноз уровней загрязнения после которых возможно восстановление системы, оценить эффективность мероприятий, направленных на очистку экосистемы от тяжелых металлов и радионуклидов, внесенных в водоем в результате деятельности человека.

Цель данной работы - оценить прямые и отложенные последствия воздействия ряда тяжелых металлов и гамма-излучения на покоящиеся яйца пресноводного планктонного рачка *Moina macrocopa*.

Задачи работы:

1. Определить влияние широкого диапазона доз гамма-облучения на способность покоящихся яиц *M. macrocopa* к реактивации. Оценить изменчивость параметров жизненного цикла и популяционных характеристик рачков *M. macrocopa*, вылупившихся из облученных яиц.
2. Сравнить чувствительность покоящихся яиц *M. macrocopa* к действию гамма-излучения в период глубокой диапаузы и во время реактивации.
3. Определить полулетальные и полуэффективные концентрации тяжелых металлов в острых и хронических тестах на токсичность с рачками *M. macrocopa*.
4. Определить последствия длительного нахождения покоящихся яиц *M. macrocopa* в растворах и искусственных донных отложениях с добавкой тяжелых металлов в широком диапазоне концентраций на их способность к реактивации. Оценить изменчивость параметров жизненного цикла рачков, вылупившихся из яиц после длительного контакта с тяжелыми металлами.

5. Сравнить критические концентрации тяжелых металлов для покоящихся яиц с ПДК и ЛК50 для активных стадий рачков. Сравнить критические дозы гамма-облучения для покоящихся яиц *M. macroscopa* с таковыми для активных стадий зоопланктона и покоящихся стадий других живых организмов.

6. Сравнить последствия воздействия тяжелых металлов и гамма-облучения на покоящиеся яйца и вылупившихся из них рачков.

Положения, выносимые на защиту:

Покоящиеся яйца ветвистоусого рачка *Moina macroscopa* обладают высокой устойчивостью к действию гамма-излучения и тяжелых металлов. Реактивация яиц подавляется лишь при дозах облучения выше 100 Гр и концентрациях металлов уровня десятков г/л, крайне редко встречающихся в природных экосистемах.

При действии гамма-излучения на покоящиеся яйца *Moina macroscopa* наблюдаются не только прямые (подавление реактивации), но и отложенные эффекты. Относительно низкие дозы облучения, не снижающие эффективность реактивации покоящихся яиц, оказывают негативное воздействие на репродуктивные параметры и численность популяции рачков, вылупившихся из облученных яиц.

Концентрации тяжелых металлов, не влияющие на реактивацию покоящихся яиц, также не оказывают отложенного воздействия на параметры жизненного цикла вышедших рачков.

Научная новизна работы.

Впервые исследована чувствительность покоящихся яиц модельного вида планктонных ракообразных к действию тяжелых металлов и гамма-излучения в широком диапазоне концентраций и доз облучения и определены критические уровни воздействия этих антропогенных факторов. Выявлены существенные различия между последствиями воздействия тяжелых металлов и гамма-излучения на покоящиеся яйца, проявляющиеся на уровне изменений параметров жизненного цикла вылупившихся рачков. Результаты исследования обогащают научную концепцию об устойчивости покоящихся стадий зоопланктона и раскрывают необходимость учета прямых и отложенных эффектов воздействия антропогенных факторов на покоящиеся стадии для понимания закономерностей сезонного развития планктонных сообществ.

Теоретическое и практическое значение.

Определение критических значений концентраций тяжелых металлов и доз гамма-облучения для реактивации покоящихся стадий рачков важно для выяснения пределов выживания обитателей водных экосистем. Результаты оценки устойчивости покоящихся яиц планктонных ракообразных и качества вылупившихся из них животных могут

применяться для прогнозов состояния экосистем в случае чрезвычайных ситуаций, сопровождаемых поступлением тяжелых металлов и радионуклидов в водоемы. Определение доли яиц, способных к реактивации после загрязнения исследуемыми токсикантами, важно для понимания общих закономерностей развития планктонных сообществ в водоемах и направлено на уточнение особенностей сезонного развития планктонных сообществ в водных экосистемах. Оценка устойчивости покоящихся яиц к кратковременному и долговременному воздействию тяжелых металлов позволит определить эффективность мероприятий по очистке водных экосистем от загрязнения тяжелыми металлами. На основе анализа чувствительности покоящихся яиц к тяжелым металлам и радиоактивному загрязнению возможна разработка нового способа биоиндикации качества воды и донных отложений. Результаты исследования могут применяться в учебном процессе при подготовке студентов биологических специальностей.

Личный вклад автора. Подготовка и проведение лабораторных экспериментов, выполненных в период с 2015 по 2017 годы. В том числе работы по подготовке покоящихся яиц к гамма-облучению; подготовка растворов солей тяжелых металлов для воздействия в водной среде в течение 1 месяца, отбор и подготовка проб для анализа; подготовка искусственных донных отложений, обогащение донных отложений солями тяжелых металлов, отбор и подготовка проб донных отложений для анализа; отбор и размещение покоящихся яиц в водные растворы и донные отложения с тяжелыми металлами на период воздействия; реактивация покоящихся яиц после воздействия гамма-излучения и солей тяжелых металлов; проведение индивидуальных и популяционных экспериментов; статистическая обработка данных, анализ полученных результатов; апробация результатов исследования на всероссийских и международных научных конференциях выполнялись автором.

Апробация работы и публикации. Основные результаты исследования были представлены на десяти международных (Чехия, Италия), всероссийских и региональных (Москва, Санкт-Петербург, Борок, Абакан, Красноярск) научных конференциях, посвященных гидробиологии и экологии и исследованию ракообразных. В частности, на 5-ой Международной конференции, посвященной памяти выдающегося гидробиолога Г.Г. Винберга (Санкт-Петербург, 12-17 октября 2015), XXIII Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» (Москва, 11-15 апреля 2016), Международной научной конференции «Ракообразные: разнообразие, экология, эволюция» (Москва, 30 октября – 2 ноября 2017), Научно-практической конференции «Актуальные проблемы изучения ракообразных», посвященной 90-летию Николая Николаевича Смирнова (Борок, 17-20 мая 2018).

Результаты диссертационной работы опубликованы в 5 научных статьях в изданиях, рекомендованных ВАК (из них 3 статьи в изданиях из списка ВАК и 4 статьи в изданиях, индексируемых Web of Science и Scopus). Одна глава в монографии. Работа выполнена при поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 15-04-05199 «Оценка чувствительности покоящихся яиц планктонных ракообразных к действию антропогенных токсикантов различной природы»); совместного гранта Российского фонда фундаментальных исследований, Правительства Красноярского края и Красноярского краевого фонда науки (проект № 16-44-243041 «Сравнительная оценка устойчивости покоящихся яиц ветвистоусых ракообразных во время физиологического покоя и в период реактивации к действию ионизирующего излучения»).

Структура работы. Диссертация состоит из введения, трех глав, выводов, заключения, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы. Работа изложена на 121 странице, содержит 21 рисунок, 10 таблиц. Список литературы состоит из 173 источников, из них 109 иностранных и 64 отечественных.

Благодарности. Автор приносит искреннюю благодарность за научное руководство и неоценимую помощь в течение всего периода работы своему руководителю, кандидату биологических наук Е.С. Задерееву. Автор также бескрайне благодарен к.б.н. Т.С. Лопатиной за вклад в проведение лабораторных работ. Автор искренне благодарен коллективу Аналитической лаборатории Института биофизики СО РАН и отдельно заведующей лабораторией, к.б.н. О.В. Барсуковой за измерения концентраций тяжелых металлов в растворах и грунтах, к.ф.-м.н., руководителю отдела радиационных исследований и радиационной безопасности Института ядерной физики им. Г.И. Будкера СО РАН М.В. Петриченко за предоставление возможностей проводить облучение покоящихся яиц. Автор признателен В.К. Чугунову и к.б.н. Я.Р. Галимову за любезно предоставленные популяции ветвистоусых ракообразных *M. macrocopa* в покоящемся состоянии, использованные в качестве тестируемых культур.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Введение. Во введении представлено описание основных экологических функций зоопланктона в водных экосистемах; отмечается, что покоящиеся стадии играют важную роль в поддержании и сохранении зоопланктонных сообществ; поднимается проблема недостаточной исследованности воздействия антропогенных токсикантов на покоящиеся яйца зоопланктона.

Глава 1. Обзор литературы

Первая часть обзора литературы посвящена биотестированию качества воды в водных экосистемах в целом и оценке состояния донных отложений в частности. Перечислены методы биотестирования и биоиндикации, описаны не только общепринятые методы, но и работы, посвященные поиску новых методов и организмов для биотестирования (Кучко и др., 2015; Томилина и др., 2011; Шашкова, Григорьев, 2013; Калинкина и др., 2013; Nikitin et al., 2018; Tuikka et al., 2011). Освещаются проблемы антропогенного загрязнения.

Вторая часть литературного обзора посвящена описанию действия тяжелых металлов на живые организмы, разделению их по степени токсичности (Wong, 1992; Wong, 1993; Zou, Bu, 1994; Ward, Robinson, 2005; Nadini et al., 2007; Шилова и др., 2010; Qu et al., 2013). Приводятся интервалы полулетальных доз наиболее токсичных тяжелых металлов для различных групп живых организмов (Мур, Рамамурти, 1987). Обсуждаются особенности поведения тяжелых металлов в водных экосистемах, изменчивость их токсичности под влиянием различных факторов окружающей среды (Bjerregaard, Andersen, 2007; Qu et al., 2013; Nystrand et al., 2012; Paiva et al., 2015; Butler et al., 2008; Анищенко и др., 2009). Поднимается вопрос о необходимости проведения биотестирования для оценки состояния водоемов при загрязнении тяжелыми металлами (Nadini et al., 2007; Пяткова и др., 2007). Приведены примеры работ по оценке влияния тяжелых металлов на зоопланктонные организмы и модификации их токсичности под действием разных факторов среды (Wong, 1993; Martinez-Tabche et al., 2000; Wang, 2009; Garcia et al., 2004; Zou, Bu, 1994; Schamphelaere et al., 2004).

Третья часть литературного обзора затрагивает проблемы радиоактивного загрязнения водных экосистем. Отмечается необходимость разработки нормативов, ориентированных на биоту (Крышев, Сазыкина, 2013), а не на человека и связанная с этим задача поиска различных живых объектов для биотестирования. Если говорить о ракообразных, то влияние радиоактивного излучения на покоящиеся и активные стадии животных исследовано недостаточно. В разделе приведен обзор работ (Сарапульцева и др., 2009; Gilbin et al., 2008; Marshall, 1962; Alonzo et al., 2008; Massarin et al., 2010) с активными стадиями ракообразных, в которых исследуются прямые эффекты малых доз, последствия облучения для потомков, хроническое воздействие радиоактивных загрязнений на рачков и их потомков.

В четвертой части обзора рассматриваются работы, посвященные исследованию влияния различных антропогенных токсикантов на покоящиеся стадии ракообразных. В разделе представлены данные об исследовании влияния органических загрязнителей на

покоящиеся яйца и на параметры жизненного цикла реактивировавшихся животных (Navis et al., 2015; Navis et al., 2013); устойчивости покоящихся яиц к воздействию различных токсикантов (Alekseev et al., 2010; Möst et al., 2015; Jiang et al., 2007); оценке влияния донных отложений на токсичность веществ для покоящихся яиц (Raikow et al., 2007).

В заключении отмечается недостаток работ и методик, посвященных оценке качества донных отложений, исследованиям реакции покоящихся яиц на антропогенные поллютанты и оценке изменений в жизненном цикле животных, реактивировавшихся из покоящихся яиц после контакта с загрязняющими веществами.

Глава 2. Материалы и методы

Объектом исследования был пресноводный планктонный рачок *Moina macroscopa* (Cladocera) в активной стадии и в стадии глубокого покоя (покоящиеся яйца). Как и многие другие представители ветвистоусых ракообразных, мойны широко используются в токсикологических исследованиях.

В качестве среды культивирования животных использовали отстоянную, аэрированную водопроводную воду. В качестве корма использовали одноклеточную водоросль *Chlorella vulgaris*, которую культивировали в накопительном режиме на среде Тамия. Перед применением водоросль отделяли от культивационной среды центрифугированием. Для подсчета количества клеток в используемой порции корма применяли счетчик частиц CASY TTC (SCHÄRFE SYSTEM GmbH, Германия). Покоящиеся яйца получали от лабораторной культуры мойн в накопительном режиме культивирования. В эксперименте использовали эфиппиумы с двумя полноценными покоящимися яйцами.

В экспериментах с тяжелыми металлами использовали соли $3\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$; $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; ZnCl_2 . В острых и хронических экспериментах применяли маточный раствор с концентрацией металлов 0.5 г/л дистиллированной воды. Для проведения эксперимента нужное количество маточного раствора добавляли в среду для культивирования. Для оценки надежности разбавлений в остром и хроническом тестах проводили контрольные замеры концентраций в опытных растворах при помощи эмиссионного спектрометра с индуктивно-связанной плазмой серии iCAP 6300 Duo ICP-OES (Thermo Scientific, England, 2010), по методике EPA 200.7 (2001) в аналитической лаборатории Института биофизики СО РАН. В опытах с покоящимися яйцами применяли концентрации от полулетальных до максимально-возможных при растворении. Концентрации металлов в экспериментах с покоящимися яйцами измеряли методом пламенной атомно-адсорбционной спектроскопии на атомно-адсорбционном спектрометре Квант 2А в аналитической лаборатории Института биофизики СО РАН. В работе оценивали

полулетальные и полуэффективные концентрации металлов для активных рачков и устойчивость покоящихся яиц *M. macrocopa* к действию солей тяжелых металлов в течение 1 месяца в водном растворе и в течение 6-8 месяцев в искусственных донных отложениях. Искусственные донные отложения были приготовлены согласно методике (OECD, 1984) из измельченного торфа (10%), промытого строительного песка (70%) и каолина (20%), увлажненного деионизированной водой до 35% влажности (рН – 6.0). Биодоступность металлов в искусственных донных отложениях оценили по концентрации в водных вытяжках. Водные вытяжки были приготовлены согласно методике (OECD, 1993).

Облучение покоящихся яиц проводили в Институте ядерной физики им. Г.И. Будкера СО РАН (Новосибирск) тремя источниками гамма-излучения: 1 — частица ^{137}Cs мощностью 4.15 мГр/ч на расстоянии 1.5 см от частицы; 2 — точечный закрытый источник на основе ^{137}Cs мощностью 37.7 мГр/ч на расстоянии 15 см от источника; 3 — промышленный высокоэффективный электронный ускоритель модель ИЛУ-6 с мощностью излучения 0.5 Гр/с.

Облучение проводили в период глубокого покоя и во время реактивации яиц. После облучения во время глубокого покоя яйца реактивировали и исследовали параметры жизненного цикла вылупившихся рачков в режиме индивидуального культивирования, а также наблюдали за развитием популяций в режиме проточно-накопительного культивирования, инициированных вылупившимися рачками. После облучения покоящихся яиц в период реактивации исследовали параметры жизненного цикла рачков.

При индивидуальном культивировании рачков помещали в стаканы с 20 мл среды с кормом *Chlorella vulgaris* в концентрации 200000 клеток/мл. Стаканы с животными помещали в климатический шкаф с постоянными температурой 25°C и фотопериодом 16 часов свет, 8 часов темнота. Эксперименты продолжались до гибели всех контрольных и опытных групп. В экспериментах измеряли длину тела рачков в первые сутки и за сутки до рождения самками первой кладки, отмечали продолжительность жизни, подсчитывали количество отрожденных кладок и потомков. Рассчитывали удельную скорость линейного роста (1/сут), чистую скорость воспроизводства (потомков/самку*время жизни), скорость роста популяции (1/сут).

Для проведения популяционных экспериментов использовали проточно-накопительный режим культивирования. Популяции развивались в стаканах объемом 600 мл с объемом культивационной среды 500 мл и концентрацией корма 200000 кл/мл среды. Обновление среды в стаканах осуществлялось в непрерывном режиме с помощью перистальтического насоса (ISMATEC, ISM934C) со скоростью 500 мл/сутки. Эксперименты продолжались 20 дней. Каждый четвертый день в популяциях подсчитывали

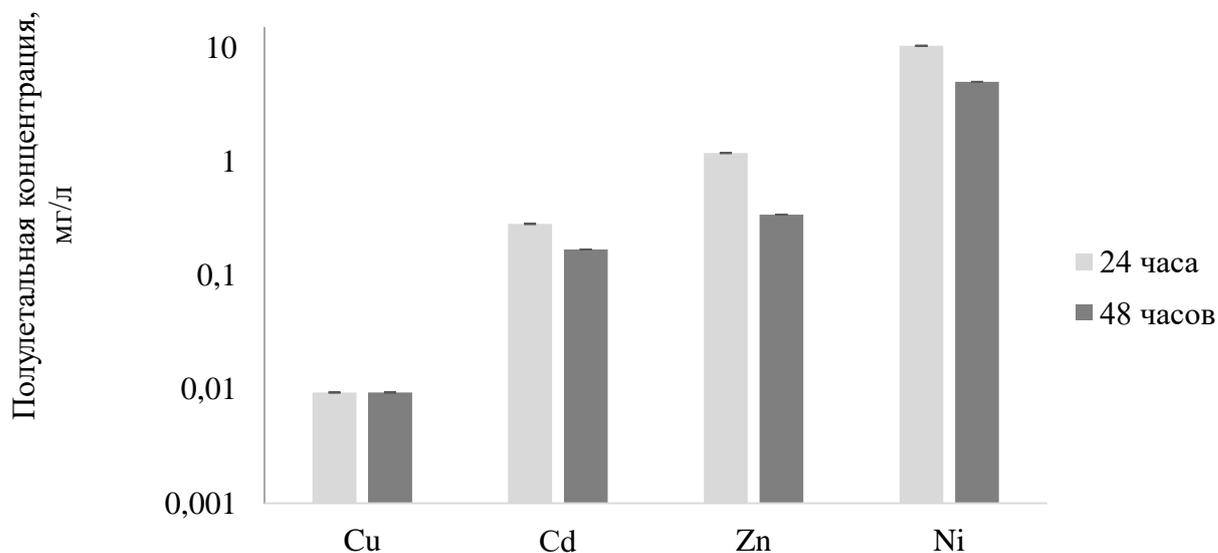
общую численность рачков, численность самок с эфиппидальными и партеногенетическими яйцами, самцов, ювенильных самок, количество сброшенных покоящихся яиц, измеряли размеры рачков для классификации их по размерным группам 0.40-0.60 мм, 0.61-0.80 мм, 0.81- 1.00 мм, 1.01-1.20 мм, 1.21-1.40 мм, 1.41 мм и больше.

Статистический анализ данных проводили в программе R пакетом drc, в программе STATISTICA 8.0 при помощи однофакторного дисперсионного анализа ANOVA, корреляционного анализа между фактором воздействия и зависимой переменной, критерия Краскела-Уоллиса.

Глава 3 Результаты и обсуждение.

Определение полулетальных концентраций тяжелых металлов для ювенильных самок *M. macroscopa* в острых опытах на токсичность

На основании результатов острых тестов на токсичность была определена полулетальная концентрация выбранных металлов для ювенильных самок *M. macroscopa*. Наибольшей токсичностью обладала медь (Рисунок 1), далее по убыванию степени токсичности металлы расположились в следующем порядке $Cd > Zn > Ni$.



Трушев

Рисунок 1. Полулетальные концентрации (LC_{50}) меди (Cu), кадмия (Cd), цинка (Zn) и никеля (Ni) для ювенильных самок *M. macroscopa* в острых тестах на токсичность.

Влияние хронического воздействия тяжелых металлов на параметры жизненного цикла самок *M. macroscopa*.

Наиболее чувствительными к хроническому воздействию солей тяжелых металлов оказались репродуктивные параметры рачков. Для всех металлов с увеличением концентрации наблюдалось снижение количества отрожденных кладок у самок *M. macroscopa*. Чистая скорость воспроизводства рачков также снижалась с увеличением концентрации металлов в среде. Концентрации загрязнителей, при которых чистая скорость воспроизводства снижалась вдвое, составила: для Cu – 0.007 мг/л, Cd – 0.005 мг/л, Zn – 0.25 мг/л, Ni – 0.25 мг/л.

Влияние нахождения покоящихся яиц *M. macroscopa* в растворах солей тяжелых металлов на их выживаемость и параметры жизненного цикла вылупившихся рачков

Воздействие растворов тяжелых металлов на покоящиеся яйца в течение 30 суток не влияло на способность покоящихся яиц к реактивации. Эффективность реактивации опытных групп рачков была сопоставима с контрольными (Рисунок 2).

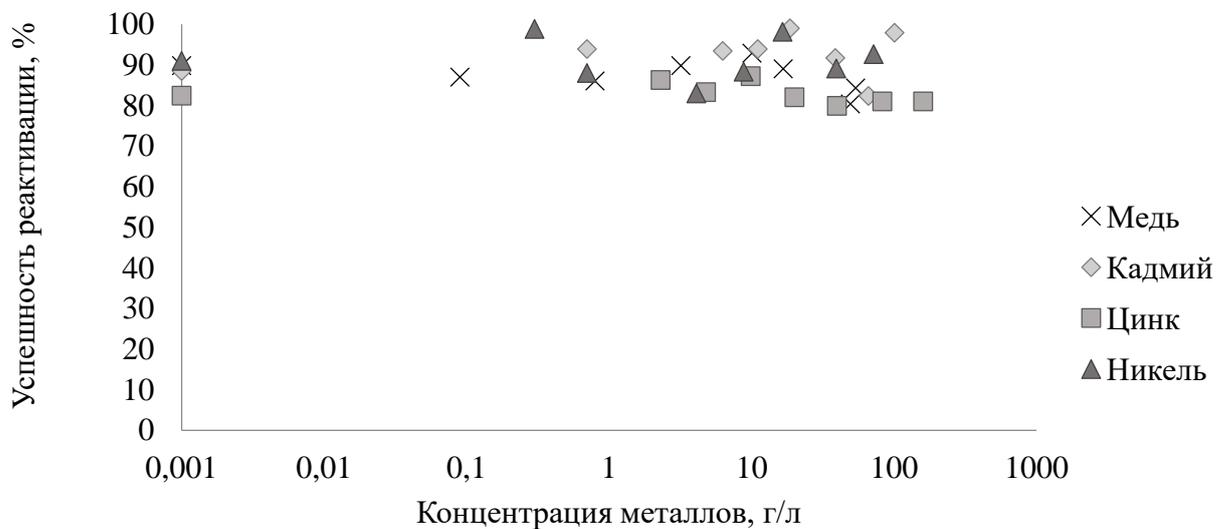


Рисунок 2. Успешность реактивации покоящихся яиц после контакта с растворами тяжелых металлов в течение 1 месяца.

При исследовании параметров жизненного цикла рачков, которые вылупились из яиц, подверженных воздействию тяжелых металлов, не было обнаружено отличий между ними и контрольной группой животных. Продолжительность жизни рачков, вылупившихся из яиц, подверженных воздействию водных растворов солей тяжелых металлов, удельная скорость линейного роста рачков, количество отрожденных кладок, а также чистая скорость

воспроизводства были сопоставимы со значениями этих параметров у животных контрольной группы (Рисунок 3). Важно отметить, что в острых опытах с ювенильными самками полуплетальные концентрации этих же металлов были в миллионы раз меньше. То есть эмбрионы в состоянии диапаузы, находясь в оболочке эфиппидального яйца, надежно защищены от воздействия тяжелых металлов.

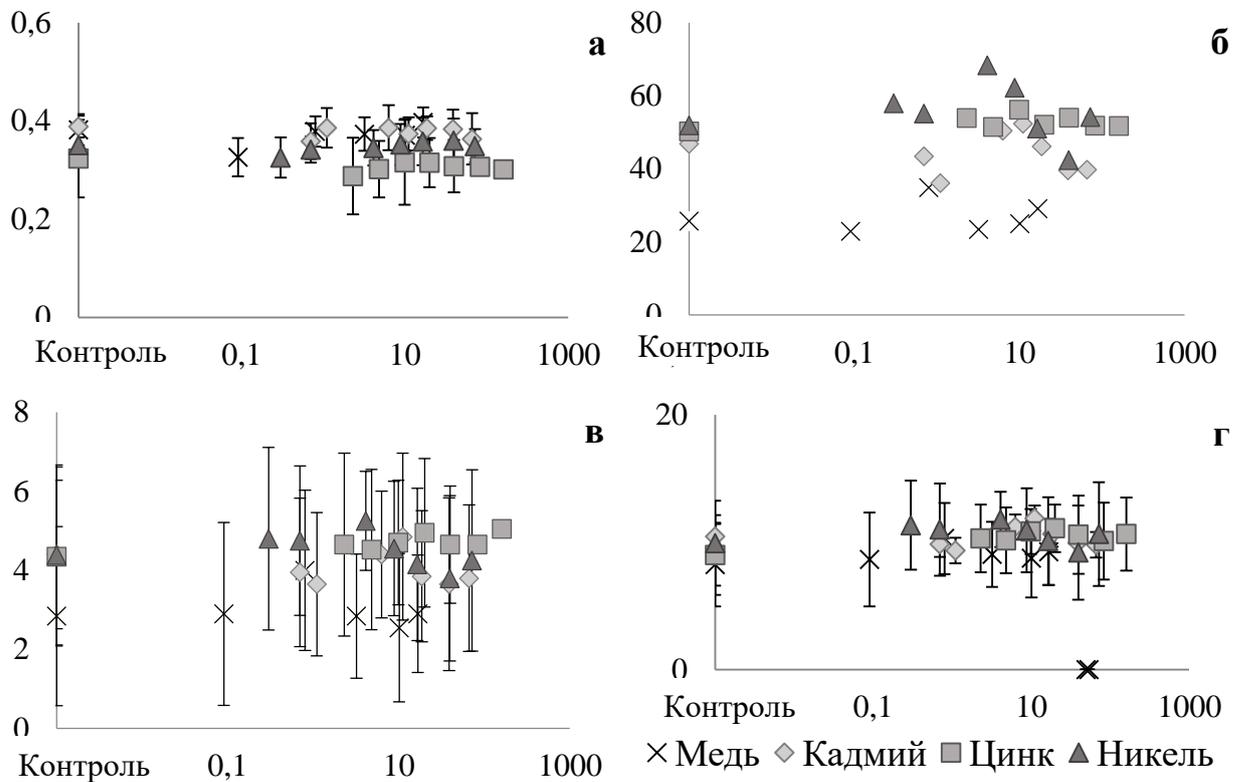


Рисунок 3. Параметры жизненного цикла рачков, вылупившихся из яиц, находившихся в контакте с растворами тяжелых металлов: а – удельная скорость линейного роста, 1/сут, б – чистая скорость воспроизводства, потомков/самку*время жизни; в – количество отрожденных кладок, шт; г – продолжительность жизни, сут.; ось X – концентрация металлов, г/л.

Влияние длительного контакта покоящихся яиц *M. macroscopa* с солями тяжелых металлов в искусственных донных отложениях на их выживаемость и параметры жизненного цикла вылупившихся рачков

При длительном контакте покоящихся яиц с тяжелыми металлами в донных отложениях нам удалось зафиксировать негативные эффекты. Снижение способности покоящихся яиц к реактивации наблюдалось после контакта с донными отложениями, в которых присутствовала медь в высоких концентрациях (33.6 и 67.4 г/кг сухого веса грунта). Покоящиеся яйца из этих образцов не реактивировались, внешние признаки пробуждения яиц отсутствовали. При этом донные отложения с более низкими

концентрациями меди (5.6; 11 и 16 г/кг сухого веса грунта) не приводили к снижению способности покоящихся яиц к реактивации. Донные отложения с менее токсичными кадмием, цинком и никелем в концентрациях практически до 100 г/кг не оказывали негативного воздействия на покоящиеся яйца (Рисунок 4). Развитие рачков, вылупившихся из яиц после длительного контакта с загрязненными донными отложениями, было сходным с таковым у животных контрольной группы. Значения всех параметров, в том числе наиболее чувствительных репродуктивных параметров, были сопоставимы между опытом и контролем (Рисунок 5). Биодоступные концентрации металлов в искусственных донных отложениях были в разы ниже (Рисунок 5, Таблица 1), чем их общее содержание, но значительно выше полулетальных концентраций этих же металлов для активных рачков.

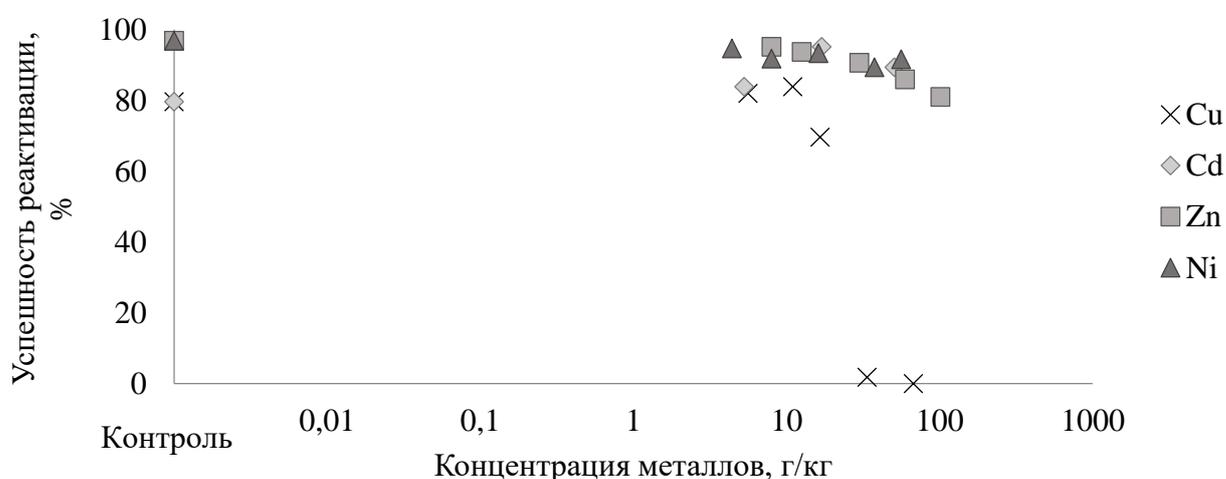


Рисунок 4. Успешность реактивации покоящихся яиц (%) после длительного контакта с искусственными донными отложениями с добавкой тяжелых металлов, ось X – концентрация металла г/кг сухого грунта.

Таблица 1. Общая концентрация металлов (Tot_{conc}) в искусственных донных отложениях, используемых в эксперименте, и рассчитанная на основе метода водных вытяжек биодоступная (BiO_{conc}) концентрация.

Cu		Cd		Zn		Ni	
Tot_{conc} , г/кг	BiO_{conc} , г/л						
5.60	0.32	5.30	0.77	8.00	2.32	4.40	1.20
11.00	0.93	17.00	2.98	12.60	4.12	8.00	3.34
16.60	1.56	50.70	9.35	30.00	10.92	16.20	8.22
33.60	3.47*			59.50	22.45	37.50	20.88

67.40	7.29*			101.20	38.94	56.20	32.00
-------	-------	--	--	--------	-------	-------	-------

* - рассчитанная биодоступная концентрация тяжелых металлов в искусственных донных отложениях при которой наблюдалась гибель яиц.

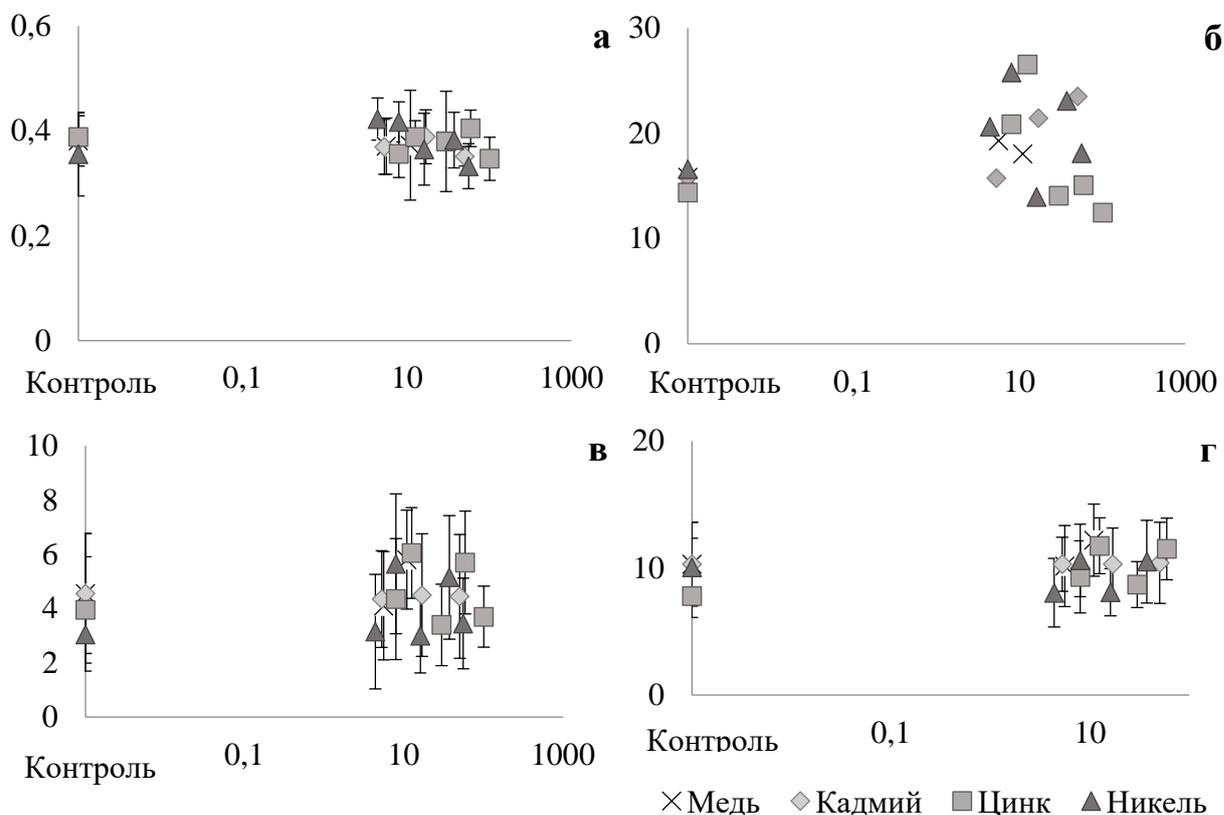


Рисунок 5. Параметры жизненного цикла рачков, вылупившихся из яиц, находившихся в контакте с загрязненными тяжелыми металлами искусственными донными отложениями: а – удельная скорость линейного роста, 1/сут; б – чистая скорость воспроизводства, потомков/самку*время жизни; в – количество кладок, шт; г – продолжительность жизни, дни; ось X – концентрация металлов г/кг сухого грунта.

Влияние гамма-излучения на рачков *Moina macroscopa* в период глубокой диапаузы

В экспериментах были определены критические дозы гамма-облучения для покоящихся яиц в состоянии глубокой диапаузы. В диапазоне доз облучения от фонового уровня до 100 Гр при использовании в качестве источника облучения точечного источника Cs^{137} средняя эффективность реактивации покоящихся яиц в контрольных группах составляла $90.25 \pm 6.34\%$. При облучении дозой 200 Гр при использовании в качестве источника излучения ускорителя покоящиеся яйца не реактивировались (Рисунок 6).

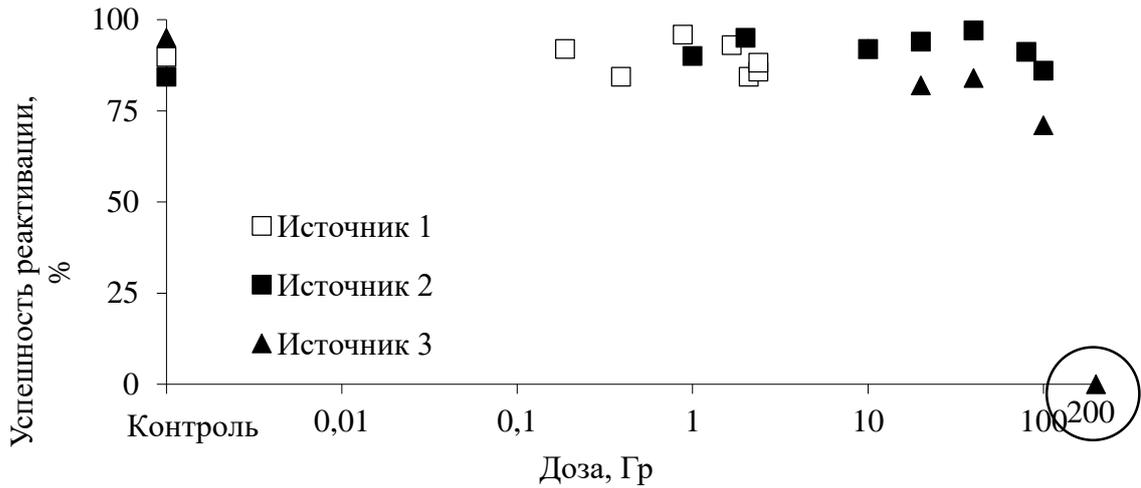


Рисунок 6. Зависимость успешности реактивации покоящихся яиц *M. macroscopa* от поглощенной дозы облучения.

При исследовании параметров жизненного цикла рачков, вылупившихся из облученных яиц, получены следующие результаты. Продолжительность жизни рачков, вылупившихся из яиц, облученных дозами до 100 Гр, была сопоставима ($p=0.09$) с продолжительностью жизни рачков из контрольных групп (Рисунок 7). Средняя продолжительность жизни рачков в контроле составила 9.69 ± 0.76 суток.

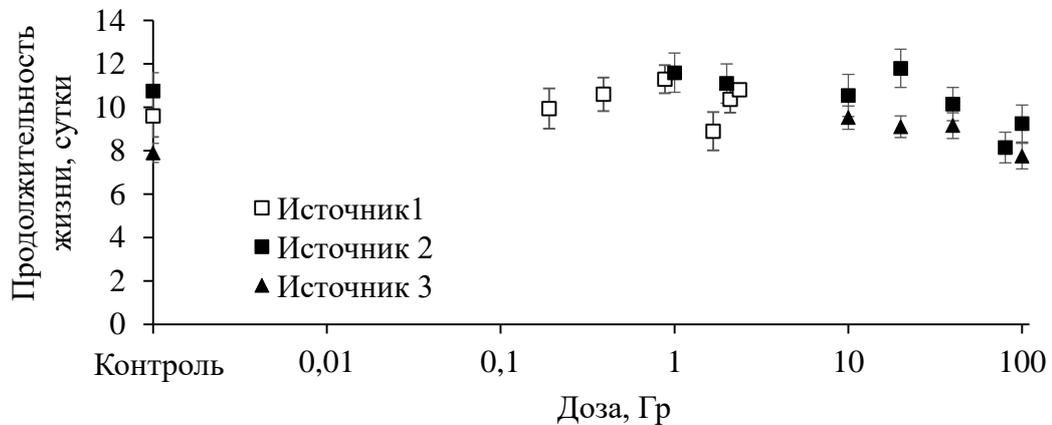


Рисунок 7. Продолжительность жизни рачков *M. macroscopa*, вылупившихся из облученных яиц.

Удельная скорость линейного роста рачков, вылупившихся из яиц, облученных источником на основе ^{137}Cs , не отличалась от скорости роста у контрольных групп (0.35 ± 0.03 1/сутки). При облучении покоящихся яиц электронным ускорителем ИЛУ-6 наблюдалось значимое (Краскел-Уоллис, $p < 0.0001$) отличие удельной скорости линейного роста у групп, получивших дозы облучения 40 и 100 Гр, от животных контрольной группы (Рисунок 8).

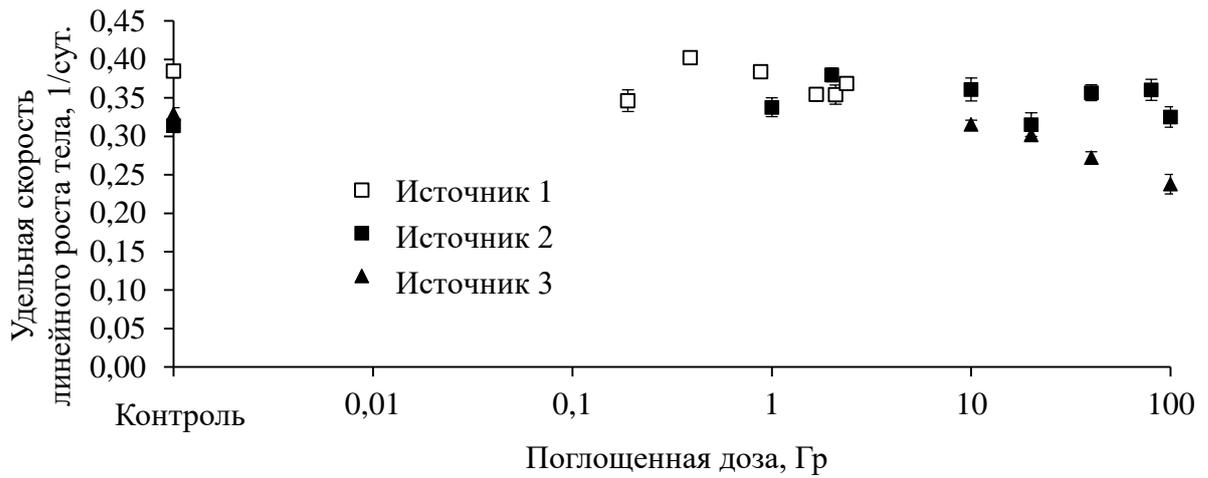
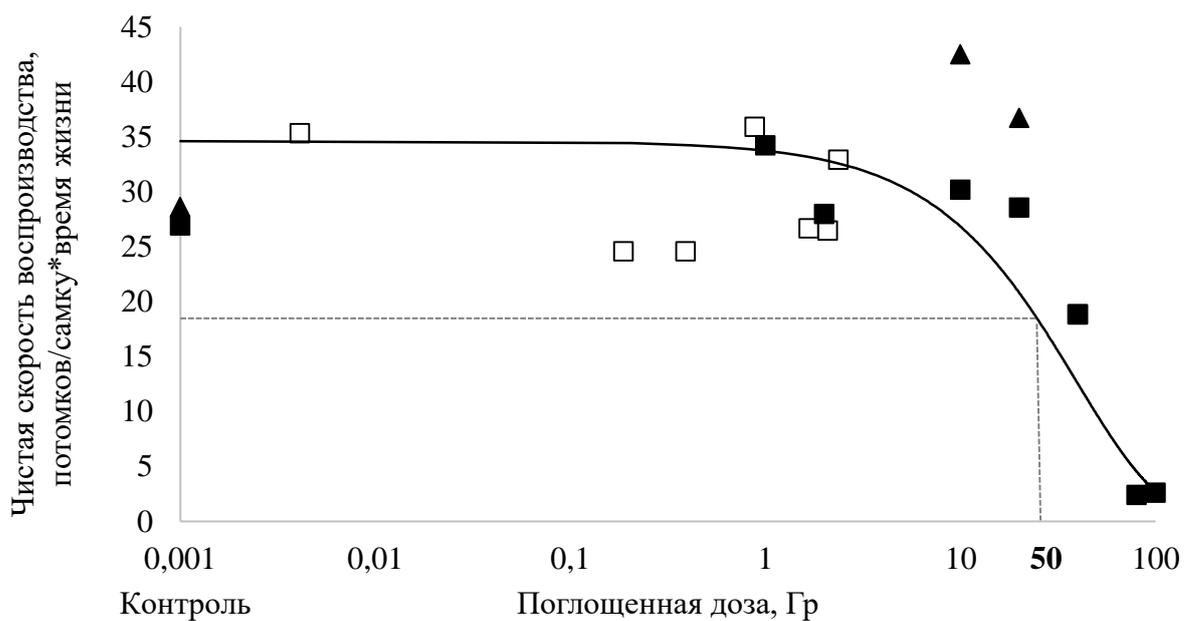


Рисунок 8. Удельная скорость линейного роста *M. macroscora* вылупившихся из облученных яиц.

Репродуктивные показатели были более чувствительны к гамма-облучению. Количество отрожденных кладок, чистая скорость воспроизводства (Net reproductive rate) и расчетная скорость роста популяции резко снижались при дозах облучения покоящихся яиц 80 и 100 Гр (Рисунок 9). Эффективная поглощенная доза облучения, при которой значение показателя снижается вдвое по сравнению с контролем, для количества отрожденных кладок составила 47 Гр, для чистой скорости воспроизводства – 50 Гр, для скорости роста популяции – 44 Гр.



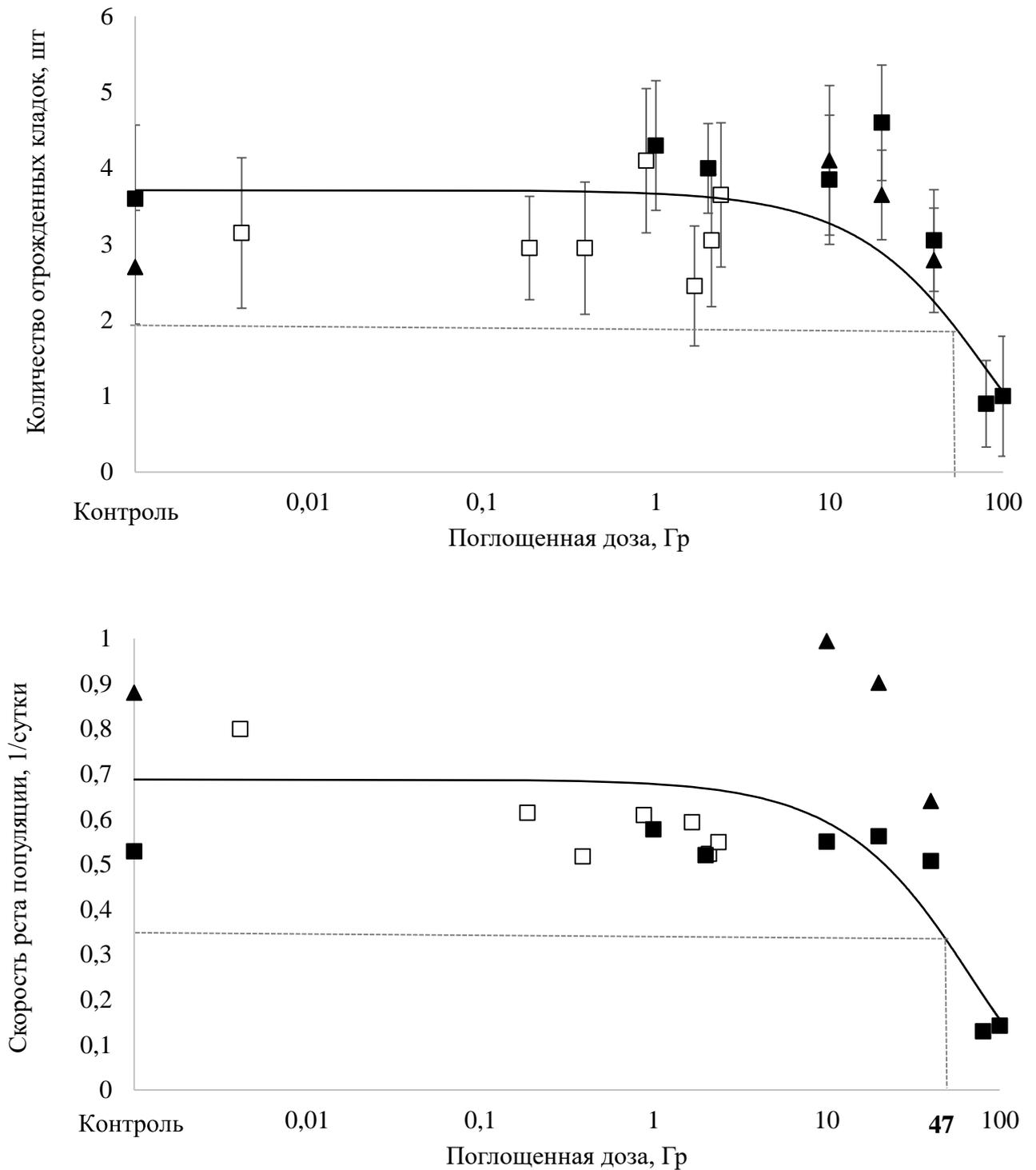


Рисунок 9. Влияние гамма-излучения на репродуктивные параметры рачков, облученных в период эмбриональной диапаузы.

Популяционные эффекты от воздействия радиации на покоящиеся яйца наблюдались при высоких дозах облучения яиц и проявлялись в изменении размера и структуры популяции. Размер популяции, стартовавшей из самок, вылупившихся из яиц, облученных дозой 80 Гр, был значительно ниже контрольной на 4 и 7 день, но позже размер

популяции стал сопоставим с контролем. Размер популяции, стартовавшей из яиц, облученных дозой 100 Гр, был значительно меньше на протяжении всего периода наблюдения (Рисунок 10а).

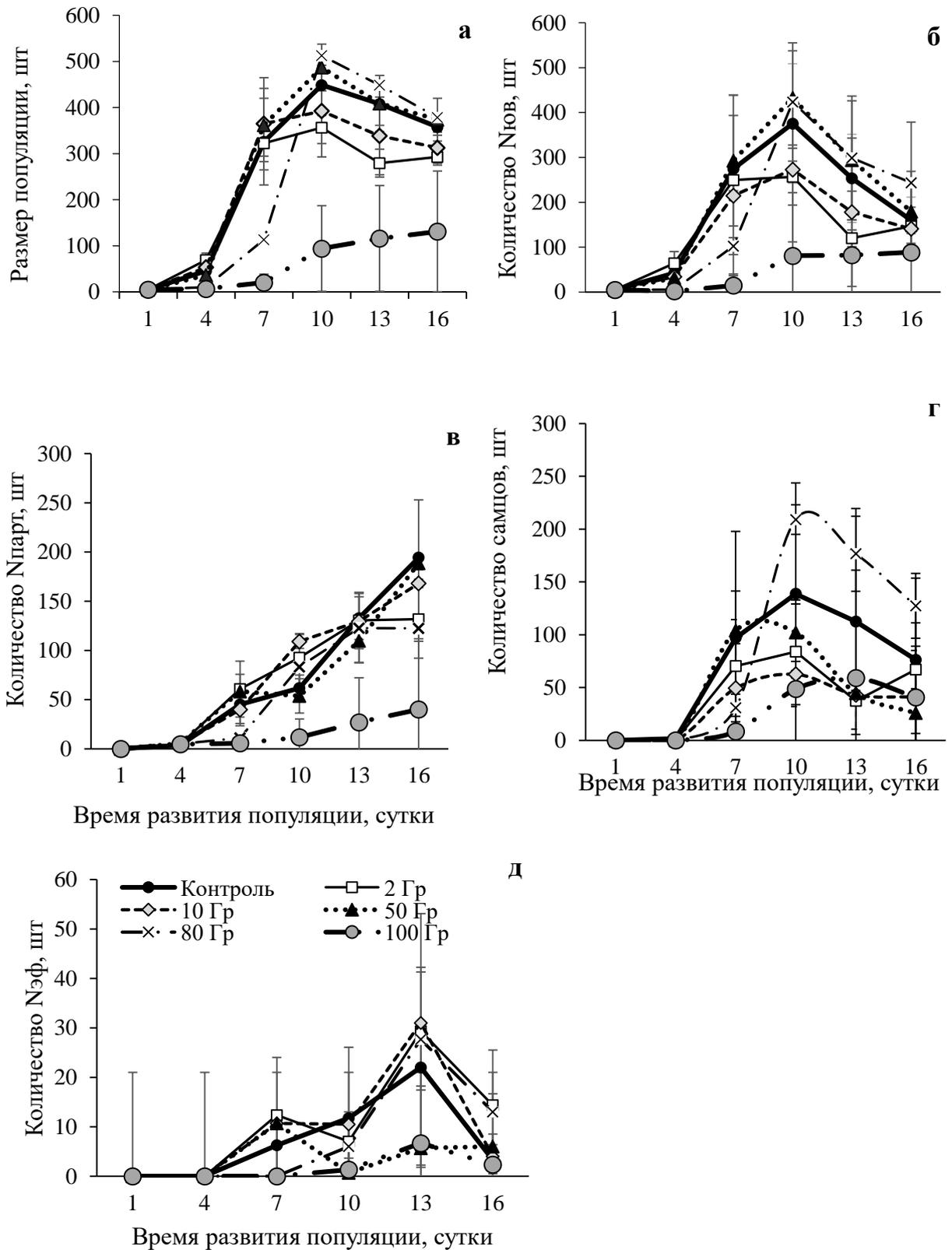


Рисунок 10. Изменчивость размера и структуры ($N_{\text{парт}}$ – партеногенетические самки, $N_{\text{эф}}$ – эфиппидальные самки, $N_{\text{юв}}$ – ювенильные самки) популяций, стартовавших из облученных яиц.

Влияние облучения на структуру популяции наблюдалось в изменении количества ювенильных и партеногенетических самок (Таблица 2). В начальном периоде развития популяций количество ювенильных самок в контрольной популяции было выше, чем в популяциях, стартовавших из яиц, облученных дозами 80 Гр (4 и 7 сутки) и 100 Гр (4, 7 и 10 сутки) (Рисунок 10б, Таблица 2). Количество партеногенетических самок в популяции, стартовавшей из яиц, облученных дозой 80 Гр, было ниже, чем в контроле только на 7 сутки наблюдения (Рисунок 10в, Таблица 2). В популяции, стартовавшей из яиц, облученных дозой 100 Гр, отличие в количестве партеногенетических самок от контроля наблюдалось на протяжении всего периода наблюдения за исключением 4 дня (Рисунок 10в). Количество самцов и эфиппидальных самок не отличалось во всех опытных популяциях по сравнению с контролем (Рисунок 10г, д).

Таблица 2. Уровни значимости (post-hoc Fisher test, ANOVA) отличий в размере и структуре популяции в контроле и опыте в различные дни наблюдения.

День наблюдения	Размер популяции		Количество ювенильных самок		Количество партеногенетических самок	
	80 Гр	100 Гр	80 Гр	100 Гр	80 Гр	100 Гр
4	p=0.04	p=0.03	p=0.03	p=0.02		
7	p=0.04	p=0.005	p=0.02	p=0.01	p=0.02	p=0.01
10		p=0.003		p=0.01		p=0.004
13		p=0.01				p=0.005
16		p=0.02				p=0.0006

Количество образованных покоящихся яиц – один из ключевых параметров, характеризующих развитие популяции. Воздействие дозы облучения было достоверным для этого параметра ($p=0.046$): количество покоящихся яиц, образованных в результате развития популяции, снижалось с ростом дозы облучения яиц, использованных для старта популяции. Наименьшее количество яиц было образовано популяциями, стартовавшими из покоящихся яиц, облученных дозами 50 и 100 Гр (Рисунок 11).

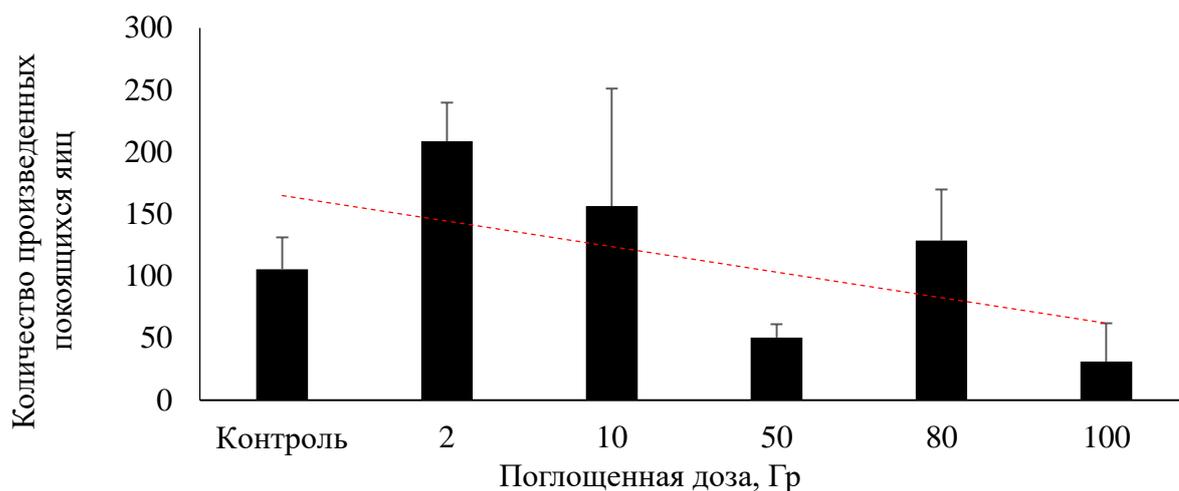


Рисунок 11. Образование покоящихся яиц популяциями *M. macroscopa*, инициированными из облученных покоящихся яиц. Столбики – среднее значение \pm стандартное отклонение. Пунктирная линия - линейная регрессия данных.

Влияние гамма-излучения на покоящиеся яйца в период реактивации

При облучении покоящихся яиц на стадии реактивации зафиксировано достоверное влияние дозы облучения на выход рачков из яиц. Для яиц, получивших во время реактивации дозы облучения 2, 64, 80 и 100 Гр, количество вылупившихся рачков достоверно отличалось от контроля. Наименьший процент выхода рачков из яиц зафиксирован для максимальной дозы облучения – 100 Гр (Рисунок 12). Можно отметить, что по сравнению с облучением в период глубокой диапаузы, при реактивации рачки более чувствительны к влиянию гамма-излучения.

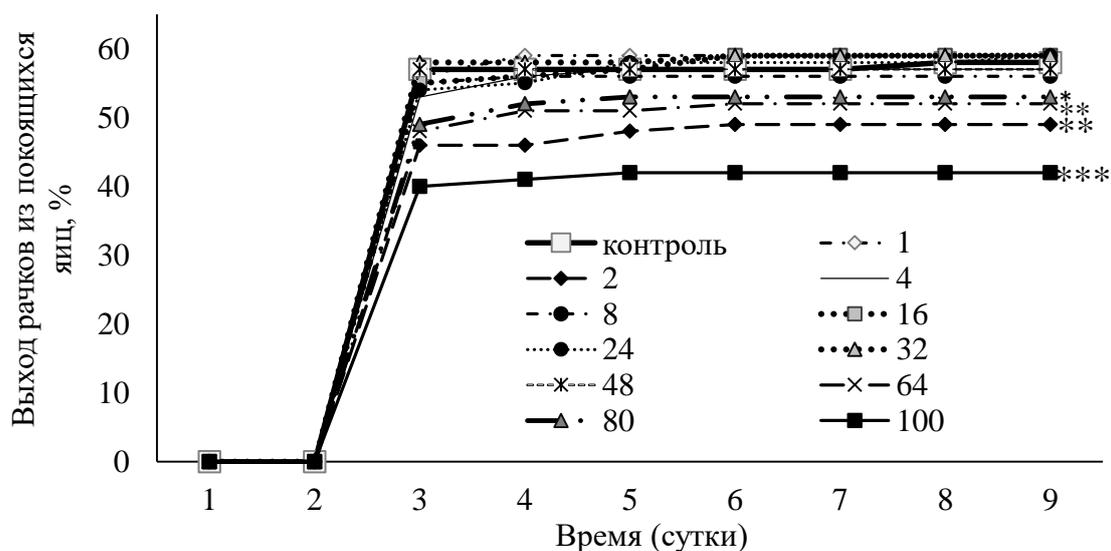


Рисунок 12. Влияние облучения точечным источником ^{137}Cs покоящихся яиц *M. macroscopa* во время их реактивации на выход рачков из яиц. * - $P < 0.05$, ** - $P < 0.01$, *** - $P < 0.000001$.

Ионизирующее излучение в исследованном диапазоне доз оказало значимое воздействие на удельную скорость линейного роста ювенильных самок, измеренные (плодовитость и количество образованных кладок) и расчетные (скорость роста популяции и чистая скорость воспроизводства (Net reproductive rate) репродуктивные параметры. Удельная скорость линейного роста ювенильных самок снижалась при дозах облучения яиц 24 Гр и выше; плодовитость и количество отрожденных кладок снижались при дозах облучения 64 Гр и выше. Ионизирующее излучение не оказало существенного влияния на пропорцию самцов в потомстве и среднюю продолжительность жизни самок в эксперименте (Таблица 3).

Таблица 3. Параметры жизненного цикла самок *M. macropsa*, облученных точечным источником ^{137}Cs во время реактивации из покоящихся яиц.

Доза, Гр	Параметры жизненного цикла, среднее \pm стандартное отклонение					Расчетные параметры	
	g	F	N _{кл}	MP	L	r	R ₀
0	0.35 \pm 0.05	46.6 \pm 27.3	5.3 \pm 2.7	27 \pm 23	1.4 \pm 3.5	0.79	46.5
1	0.35 \pm 0.04	56.6 \pm 25.0	5.2 \pm 2.1	26 \pm 20	11.0 \pm 3.1	0.86	56.6
2	0.35 \pm 0.03	45.7 \pm 24.0	4.2 \pm 2.1	31 \pm 24	10.2 \pm 3.0	0.83	45.7
4	0.36 \pm 0.04	52.4 \pm 24.5	4.8 \pm 2.2	29 \pm 23	10.6 \pm 3.2	0.82	52.4
8	0.31 \pm 0.07	53.0 \pm 21.9	5.3 \pm 2.1	29 \pm 13	11.6 \pm 2.8	0.85	53.0
16	0.34 \pm 0.05	51.1 \pm 21.6	4.6 \pm 2.0	29 \pm 20	10.8 \pm 2.1	0.88	51.1
24	0.27 \pm 0.06*	47.4 \pm 31.7	6.3 \pm 3.5	31 \pm 26	12.6 \pm 4.2	0.84	47.4
32	0.31 \pm 0.05	34.6 \pm 30.2	3.9 \pm 3.1	26 \pm 20	11.2 \pm 3.3	0.67	34.6
48	0.26 \pm 0.05*	20.4 \pm 24.8	3.3 \pm 3.3	25 \pm 23	10.2 \pm 3.7	0.55	20.4
64	0.25 \pm 0.03*	2.5 \pm 5.4*	0.6 \pm 1.0*	47 \pm 38	8.8 \pm 3.7	0.18	2.5
80	0.25 \pm 0.06*	7.8 \pm 18.8*	1.3 \pm 2.7*	8 \pm 12	10.6 \pm 3.6	0.31	7.8
100	0.27 \pm 0.04*	5.6 \pm 11.5*	1.4 \pm 2.5*	30 \pm 27	11.4 \pm 3.3	0.26	5.6
Достоверность отличий							
	Непараметрический критерий Краскела-Уоллеса					MPA	
	*	*	*	-	-	*	*

g -удельная соматическая скорость роста ювенильных самок, 1/сутки; F - плодовитость, потомков/самку; N_{кл} - количество отрожденных кладок, шт; MP - доля самцов в потомстве, %; L - средняя продолжительность жизни, сутки; r - скорость роста популяции, 1/сутки; R₀ - чистая скорость воспроизводства, потомков/самку*время жизни. MPA – множественный регрессионный анализ. Достоверность отличия значения параметра в опыте от контроля, достоверность эффекта дозы облучения: * - p<0.001

Выводы

1. Определены критические дозы гамма-облучения, при которых наблюдаются негативные эффекты на уровне облученных покоящихся яиц *Moina macroscopa*, вылупившихся из них одиночных животных и сформировавшихся из них популяций. Полное прекращение реактивации покоящихся яиц наблюдается при дозах облучения 200 Гр; снижение значений репродуктивных параметров в два раза по сравнению с контролем у вылупившихся рачков – при дозах облучения 50 Гр и выше; снижение численности популяции – при дозах облучения 100 Гр.

2. Показано, что в период реактивации покоящиеся яйца более уязвимы к действию гамма-излучения, чем в состоянии глубокой диапаузы. Облучение покоящихся яиц в период реактивации влияет на успешность их реактивации, ювенильную скорость роста и репродуктивные параметры вылупившихся рачков.

3. В экспериментах с ветвистоусым рачком *M. macroscopa* по определению острой и хронической токсичности получены значения полулетальных (LK_{50} : Cu – 0.009 ± 0.0002 , Cd – 0.17 ± 0.02 , Zn – 0.34 ± 0.02 , Ni – 5.01 ± 0.58 мг/л) и полуэффективных для чистой скорости воспроизводства ($ЭК_{50}$: Cu – 0.007 мг/л, Cd – 0.005 мг/л, Zn – 0.25 мг/л, Ni – 0.25 мг/л) концентраций исследуемых тяжелых металлов.

4. Зафиксированы пределы устойчивости покоящихся яиц *M. macroscopa* к действию тяжелых металлов. Длительное экспонирование покоящихся яиц в воде (1 месяц) и искусственных донных отложениях (6 месяцев) с добавкой тяжелых металлов в широком диапазоне концентраций (до 100 г/л или г/кг) не оказывает воздействия на параметры жизненного цикла вылупившихся рачков и приводит к прекращению реактивации только при длительном воздействии высоких концентраций (от 34 г/кг) меди.

5. Показано, что концентрации металлов, не оказывающие воздействия на покоящиеся яйца *M. macroscopa*, в миллионы раз превышают ПДК, LK_{50} и $ЭК_{50}$ для активных стадий рачков; дозы гамма-облучения, оказывающие прямые и отложенные эффекты на покоящиеся яйца, превышают полулетальные дозы для активных стадий планктонных ракообразных, но в целом сопоставимы с критическими дозами для покоящихся стадий других живых организмов.

6. Выявлены различия в токсичном эффекте тяжелых металлов и гамма-излучения на покоящиеся яйца *M. macroscopa*. Влияние тяжелых металлов проявляется только в снижении способности яиц к реактивации, тогда как гамма-излучение также влияет на индивидуальные и популяционные параметры, вылупившихся из облученных яиц животных.

7. Полученные результаты демонстрируют потенциал восстановления природных популяций ветвистоусых ракообразных из банков покоящихся яиц за счет высокой устойчивости яиц к действию тяжелых металлов и гамма-излучения в период глубокой диапаузы, даже в водоемах с высоким уровнем загрязнения в случае восстановления в них качества воды.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Статьи в изданиях, рекомендованных ВАК РФ:

1. Задереев Е.С. Влияние гамма-облучения на покоящиеся яйца и жизненный цикл ветвистоусого рачка *Moina macroscopa* / Е.С. Задереев, Т.С. Лопатина, Т.А. Зотина, Н.А. Оськина, Д.В. Дементьев, М.В. Петриченко // Доклады Академии Наук. 2016. Том 446. №5. С. 1-5.
2. Лопатина Т.С. Сравнительное исследование токсического воздействия никеля и кадмия на активные и покоящиеся стадии ветвистоусого рачка *Moina macroscopa* / Т.С. Лопатина, Н.П. Бобровская, Н.А. Оськина, Е.С. Задереев // Журнал Сибирского федерального университета, Биология. 2017. Том 10. № 3. С. 358-372.
3. Zadereev E. Gamma irradiation of resting eggs of *Moina macroscopa* affects individual and population performance of hatchlings / E. Zadereev, T. Lopatina, N. Oskina, T. Zotina, M. Petrichenkov, D. Dementyev // Journal of Environmental Radioactivity. 2017. V. 175-176. P. 126-134.
4. Лопатина Т.С. Чувствительность покоящихся яиц ветвистоусого рачка *Moina macroscopa* к облучению во время реактивации / Т.С. Лопатина, Е.С. Задереев, Н.А. Оськина, М.В. Петриченко // Доклады Академии Наук. 2018. Т 480. № 6. С. 169-172.
5. Oskina N. High resistance of resting eggs of Cladoceran *Moina macroscopa* to the effect of heavy metals / N. Oskina, T. Lopatina, O. Anishchenko, E. Zadereev // Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 2019. V. 102. P. 335-340.

Глава в монографии:

1. Zadereev E. Chapter 7. Resistance of Dormant Eggs of Cladocera to Anthropogenic Pollutants / E. Zadereev, T.S. Lopatina, N. Oskina // Dormancy in Aquatic Organisms. Theory, Human Use and Modeling / editors V. R. Alekseev, B. Pinel-Alloul – Springer Nature Switzerland AG. 2019. – P. 121-135.

Тезисы конференций:

1. Оськина Н. А. Оценка чувствительности покоящихся яиц пресноводного планктонного рачка *Moina macroscopa* к гамма-излучению / Н. А. Оськина // Конкурс-конференция научных работ молодых учёных ИБФ СО РАН. 2017. Красноярск. С.1.

2. Оськина Н. А. Токсичное действие тяжелых металлов на покоящиеся яйца ветвистоусого рачка *Moina macrocopa* / Н. А. Оськина, Т.С. Лопатина // Материалы Международного молодежного научного форума «ЛОМОНОСОВ-2016». 2016. Москва, С.1.
3. Оськина Н.А. Действие γ -излучения и тяжёлых металлов на покоящиеся яйца *Moina macrocopa* и параметры жизненного цикла вылупившихся рачков / Н.А. Оськина, Т.С. Лопатина, Е.С. Задереев // Конкурс-конференция научных работ молодых учёных ИБФ СО РАН. 2018. Красноярск. С.1.
4. Оськина Н.А. Действие гамма-излучения и тяжелых металлов на покоящиеся яйца *Moina macrocopa* и параметры жизненного цикла вылупившихся из них рачков / Н.А. Оськина, Т.С. Лопатина, Е.С. Задереев // Актуальные проблемы изучения ракообразных Сборник тезисов и материалов докладов научно-практической конференции, посвященной 90-летию со дня рождения Николая Николаевича Смирнова. 2018. Борок. С. 39.
5. Оськина Н.А. Действие гамма-облучения на планктонного рачка *Moina macrocopa* (Straus, 1820) в состоянии глубокой диапаузы и при реактивации /Н.А. Оськина, Т.С. Лопатина // Экология Южной Сибири и сопредельных территорий Материалы XXII Международной научной школы-конференции студентов и молодых ученых. В 2-х томах. 2018. Абакан. С. 160-162.
6. Оськина Н.А. Чувствительность покоящихся яиц планктонного рачка *Moina macrocopa* к действию тяжелых металлов /Н.А. Оськина, Т.С. Лопатина, Е.С. Задереев // Ракообразные: разнообразие, экология и эволюция Материалы международной научной конференции. 2017. Москва. С. 31-32.
7. Задереев Е.С. Устойчивость покоящихся яиц планктонных ракообразных к действию различных токсикантов / Е.С. Задереев, Т.С. Лопатина, Н.А. Оськина // Ракообразные: разнообразие, экология и эволюция Материалы международной научной конференции. 2017. Москва. С. 15-16.
8. The effect of γ -radiation on hatching success of resting eggs and life cycle of hatched females of cladoceran *Moina macrocopa* / Т. Lopatina, Т. Zotina, E. Zadereev, N. Oskina, D. Dementyev // 10th Symposium on Cladocera. 2014. Lednice, Czech Republic.
9. Zadereev E. The effect of gamma radiation and heavy metals on survival and hatching success of resting eggs and life cycle parameters of hatchlings from exposed eggs of cladoceran *Moina macrocopa* / E. Zadereev, Т. Lopatina, N. Oskina, Т. Zotina, D. Dementyev // Book of abstracts, 33rd SIL Congress. – 2016. – P. 306.
10. Лопатина Т.С. The evaluation of the sensitivity of resting eggs of Cladocera to the effect of anthropogenic toxicants / Т.С. Лопатина, Е.С. Задереев, Т.А. Зотина, Н.А. Оськина, Н.П. Бобровская, Д.В. Дементьев // В: Функционирование и динамика водных экосистем в условиях климатических изменений и антропогенных воздействий. Материалы 5-й Международной конференции, посвященной памяти выдающегося гидробиолога Г.Г. Винберга. – 2015. – С. 148-149.