

Динамика численности популяции *Daphnia magna* S и *Artemia salina* I при воздействии водных систем, содержащих наночастицы оксидов металлов

Сурикова В.Е., Егорова М.А.

Томский государственный университет систем управления и радиоэлектроники (ТУСУР)

Научный руководитель: доцент кафедры РЭТЭМ, к.х.н. Екимова И.А.

Развитие и внедрение нанотехнологий во многие отрасли производства увеличивает вероятность воздействия наночастиц на людей и окружающую среду. Отличаясь от привычных для окружающей среды размерностей поступающих поллютантов, а также имея широкий спектр вариации размерностей, наночастицы многообразны по своим физико-химическим и биологическим свойствам. Доказано, что частицы одних и тех же веществ в микро и нано размерном состоянии способны вызывать различные биологические эффекты, в связи с этим, многочисленные исследования токсического воздействия веществ и разработанные на их основе классы опасности, не целесообразны применительно к тем же веществам в наноразмерном состоянии. Это определяет актуальность исследований в области нанотоксикологии, изучение потенциальной опасности наночастиц, установлении допустимых концентраций.

Широкое распространение в среде биотестирования получило биотестирование в водной среде, что обусловлено объемами поступления различных веществ именно в водную среду и достоверной реакцией гидробионтов на меняющиеся факторы среды. Многочисленными исследованиями доказана достоверность использования рачков в качестве тест-объектов. Они способны отражать негативные изменения среды обитания под воздействием загрязнителей. Проявляя чувствительность и вместе с тем способность быстро увеличивать численность популяции, дафнии и артемии становятся благоприятными организмами для проведения биотестирования, где основными показателями служит динамика их численности, морфологические особенности и двигательная активность.

Существует множество методик определения токсичности веществ, в том числе на используемых тест – объектах, в первую очередь при проведении исследования нами были приняты к рассмотрению наиболее приемлемые из них, дальнейшие исследования проводились на базе данных методик.

Целью данной научно-исследовательской работы было исследование воздействия растворов, содержащих наночастицы оксидов Zn, Ti и Mg на динамику численности популяций солоноводных и пресноводных тест – объектов (*Daphnia magna* S и *Artemia salina* I) и установление степени устойчивости гидробионтов соленых и пресных водоемов к одному и тому же спектру веществ.

Для получения достоверных результатов была проведена адаптация дафний к среде культивирования в течение трех поколений. В отношении артемий исследовался уровень проклева цист и выживаемости науплиев в различных средах культивирования. При установлении оптимальных условий был проведен острый, а затем на его базе и хронический эксперимент.

В результате проделанной работы были получены следующие закономерности:

1. Будучи легко приспособляемыми к изменениям факторов обитания, рачки проявляют различную степень устойчивости во время проведения острого и хронического эксперимента, реагируя снижением численности в первом и задержкой в развитии, с последующей вспышкой численности во втором, что характеризует их как особей, придерживающейся р-стратегии.

2. Реакцию рачков в остром эксперименте можно разделить на этапы: резистентность в первые часы, сохранение численности – изменение двигательной активности и окраски – вспышка смертности тест-объектов с постепенным ее снижением к концу эксперимента.

3. В отношении хронического эксперимента можно выделить следующие этапы: устойчивость рачков, сопровождающаяся замедлением развития – снижение пищевой активности – вспышка численности потомства – стабилизация популяции.

Рассмотрим более подробно результаты лабораторных экспериментов по определению острой токсичности для *Daphnia magna* S, которые состояли из двух опытов – предварительного и основного.

Предварительный эксперимент проводили с набором восьми концентраций в течение 48 часов, после чего был определен порядок остролетальных концентраций вещества. В опыте было задействовано по 40 особей для каждой концентрации, по три повторности. Результаты для оксида цинка представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Определение острой токсичности ZnO в предварительном эксперименте.

Час	Концентрация ZnO, мг/л	Контроль, выжившие особи, ед.	Повторность, выжившие особи, ед			Количество погибших особей за три повторности, %	Пробиты	Логарифмические выражения концентрации
			1	2	3			
48	50,0	40	14	13	13	66	5,41	1,6990
48	12,5	40	17	14	15	62	5,30	1,0969
48	6,25	40	19	17	18	55	5,13	0,7959
48	3,15	40	9	5	8	82	5,88	0,4983
48	1,6	40	9	8	8	79	5,81	0,2041
48	0,8	40	11	14	14	68	5,47	-0,0969
48	0,1	40	30	30	30	25	4,33	-1
48	0,01	40	23	24	27	38	4,69	-2

На основании данных таблицы строили график зависимости количества погибших особей от концентрации вещества (рисунок 1).

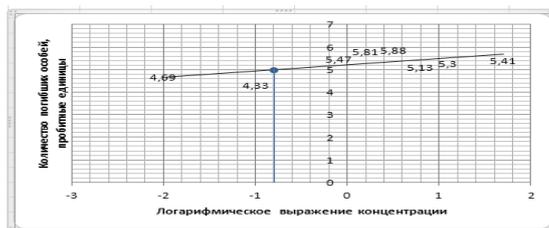


Рисунок 1 – График определения средней ЛК50 для ZnO графическим методом.

Из графического изображения видно, что логарифм концентрации вещества, соответствующий среднему 50% показателю смертности тест - популяции составляет -0,8, что соответствует концентрации вещества, равной 0,5 мг/л. Выбирали диапазон концентраций ZnO для основного опыта, исходя из имеющихся данных. Для проведения основного опыта были выбраны пять различных концентраций*, для каждой представлено по три повторности. Использовались односуточные тест – объекты *Daphnia magna* S, в количестве 40 штук для каждой повторности. Данные основного эксперимента представлены в таблице 2.

По данным таблицы 2 построили график (рисунок 2) зависимости численности дафний от концентрации оксида цинка в основном опыте.



Рисунок 2 – Графический способ определения ЛК50 в основном эксперименте.

Таблица 2 – Определение острой токсичности ZnO в основном эксперименте

Час	Концентрация ZnO, мг/л	Контроль, выжившие особи, ед.	Повторность, выжившие особи, ед.			Количество погибших особей за три повторности, %	Пробиты	Логарифмические выражения концентрации
			1	2	3			
48	7	20	7	9	9	58	5,20	0,8451
48	3	20	7	7	7	55	5,13	0,4771
48	1,5	20	9	11	10	50	5,00	0,1761
48	0,5	20	17	14	16	22	4,22	-0,1549
48	0,1	20	20	19	18	5	3,35	-1

Исходя из графика 2 острая токсичность оксида цинка, размерностью 500 нм, в основном опыте составляет 2,82 мг/л.

Аналогично эксперименту по определению летальной концентрации для оксида цинка, проводили серию опытов для диоксида титана. Данные представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Данные для определения летальной концентрации диоксида титана в предварительном опыте.

Час	Концентрация TiO ₂ , мг/л	Контроль, выжившие особи, ед.	Повторность, выжившие особи, ед.			Количество погибших особей за три повторности, %	Пробиты	Логарифм концентрации вещества
			1	2	3			
48	25,0	40	21	26	20	56	5,15	1,6990
48	12,5	40	21	19	20	50	5,00	1,0969
48	6,25	40	26	26	26	35	4,61	0,7959
48	3,15	40	25	30	32	28	4,42	0,4983
48	1,6	40	30	31	31	23	4,26	0,2041
48	0,8	40	33	35	31	17	4,05	-0,0969
48	0,1	40	34	37	37	10	3,72	-1
48	0,01	40	36	39	37	7	3,52	-2

На основании данных таблицы 3 строили график зависимости смертности дафний от концентрации диоксида титана (рисунок 3).



Рисунок 3 – График зависимости смертности дафний от концентрации диоксида титана.

Согласно данным предварительного опыта, концентрация, при которой гибнет 50 % популяции, составляет 25 мг, исходя из этого, для основного опыта выбирались концентрации 6,25; 12,5; 25; 50¹.

¹ * концентрация вещества для основного опыта является выборкой концентраций, вызывающих 10-90% гибель или реакцию тест-объектов в предварительном опыте

Данные основного эксперимента определения острой токсичности представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Данные основного эксперимента определения ЛД50 для диоксида титана.

Час	Концентрация TiO ₂ , мг/л	Контроль, выжившие особи, ед.	Повторность, выжившие особи, ед			Количество погибших особей за три повторности, %	Пробиты	Логарифм концентрации вещества
			1	2	3			
48	50	40	13	11	16	67	5,44	1,6990
48	25	40	21	23	19	48	4,95	1,3979
48	12,5	40	31	33	32	20	4,16	1,0969
48	6,25	40	35	34	39	10	3,72	0,7959

На основании данных таблицы 4 строили график зависимости численности дафний от концентрации диоксида титана в основном опыте (рисунок 4).

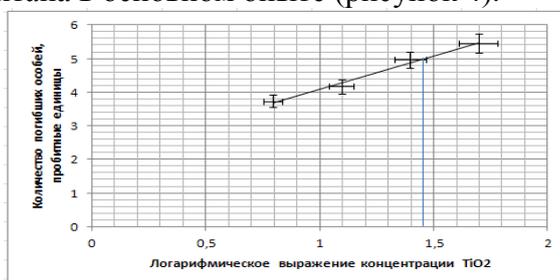


Рисунок 4 – Графическое определение ЛД50 для диоксида титана в основном опыте.

Согласно рисунку 4 летальная 50% концентрация диоксида титана, размерностью 500 нм, составляет 28,2 мг/л.

Данные предварительного эксперимента для оксида магния представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Данные предварительного эксперимента для оксида магния.

Час	Концентрация MgO, мг/л	Контроль, выжившие особи, ед.	Повторность, выжившие особи, ед			Количество погибших особей за три повторности, %	Пробиты	Логарифмическое выражение концентрации
			1	2	3			
48	50,0	40	17	18	21	53	5,05	1,6990
48	25	40	22	29	24	38	4,69	1,3990
48	12,5	40	34	35	33	15	3,96	1,0969
48	6,25	40	32	30	33	21	4,16	0,7959
48	3,15	40	34	32	32	18	4,08	0,4983
48	1,6	40	40	40	39	1	2,67	0,2041
48	0,8	40	40	40	38	2	2,95	-0,0969
48	0,1	40	39	36	36	8	3,59	-1
48	0,01	40	39	40	40	1	2,67	-2

На основании данных таблицы 5 строили график зависимости численности дафний от концентрации оксида магния (рисунок 5).



Рисунок 5 – График зависимости численности дафний от концентрации оксида магния в предварительном эксперименте.

Исходя из данных графика 5, для основного эксперимента выбирали концентрации оксида магния, равные 25, 37,5, 50, 75, 100 мг/л*.

Основной опыт проводили на основании предварительного, данные его для оксида магния представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Данные основного эксперимента для оксида магния.

Час	Концентрация MgO, мг/л	Контроль, выжившие особи, ед.	Повторность, выжившие особи, ед.			Количество погибших особей за три повторности, %	Пробиты	Логарифмическое выражение концентрации
			1	2	3			
48	100,0	40	11	17	17	63	5,33	2
48	75	40	23	27	23	39	4,72	1,8751
48	50	40	23	26	29	35	4,61	1,6990
48	37,5	40	34	30	33	19	4,12	1,5740
48	25	40	37	32	34	14	3,92	1,3979

На основании данных таблицы 6 строили график зависимости численности дафний от концентрации вещества.

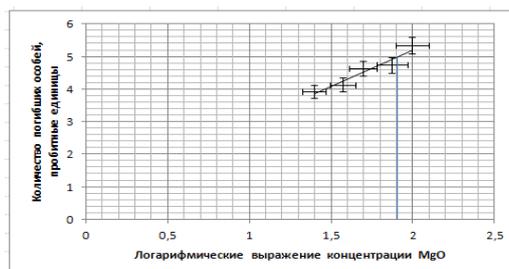


Рисунок 6 – Графическое определение ЛД50 для оксида магния в основном опыте.

Исходя из графика 6 ЛД50 для оксида магния в основном эксперименте составляет 80,0 мг/л.

Таким образом, растворы с изучаемыми оксидами оказывают различные воздействия на гидробионтов соленых и пресных экосистем. Хронические эксперименты показали способность популяций восстанавливать свою численность через некоторое время воздействия загрязнителей, реагируя вспышкой численности потомства. Таким образом, артемии, будучи обитателями среды с более жесткими условиями существования, доказали высокую степень толерантности по отношению к факторам воздействия в большей степени, чем дафнии – обитатели пресных водоемов.