

## ASSESSMENT OF STROBILURIN FUNGICIDES TOXICITY TO DAPHNIA

E.A. Fedorova

Azov Fisheries Research Institute (AzNIIRKH), Rostov-on-Don, Russia  
riasfp@aanet.ru

The acute and chronic toxicity of two strobilurin fungicides, belonging to the fourth generation, was determined for *Daphnia magna* Straus, and its effect on the physiological parameters was studied under conditions of acute and chronic tests. Judging by their acute toxicity, the strobilurins can be referred to the group of especially toxic pesticides to daphnia.

A 30-day exposure of the strobilurins caused a dose-dependant decrease in the fecundity and age structure over four generations of the population accompanied by less gain in weight of the organisms. The data obtained in the chronic test allowed us to assess non-effective and threshold concentrations of Dimoxistrobin and Fluoxastrobin. It has been concluded that in waterbodies these fungicides can be dangerous, first of all, for zooplankton which is a food base for young fish.

## МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ФОРМИРОВАНИЮ РЕФЕРЕНТНЫХ ГРУПП БЕНТОСНЫХ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ НА ОСНОВЕ КОМПЛЕКСА ОЦЕНОК ИХ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ

С.В. Холодкевич, Т.В. Кузнецова, С.В. Сладкова, Г.П. Удалова, В.А. Любимцев

Научно-исследовательский центр экологической безопасности РАН, Санкт-Петербург, Россия  
kholodkevich@mail.ru

При проведении биомониторинговых или экотоксикологических исследований часто приходится сталкиваться с тем, что даже в однородной группе тест-животных, взятых из одной природной микропопуляции, могут наблюдаться значительные количественные различия их реакций на одни и те же воздействия. Обычно при отборе тест-животных для токсикологических исследований применяют стандартные методы отбора животных одного вида: одной генетической линии, одного возраста и пола, сходных по морфометрическим характеристикам и без внешних повреждений. Однако, как показали наши исследования, такой подход является необходимым, но не достаточным. В результате многочисленных экспериментов на бентосных беспозвоночных: речных раках (*Astacus astacus*, *Pontastacus leptodactylus*) и моллюсках (*Mytilus edulis* L., *Mytilus galloprovincialis* Lam., *Littorina littorea* L. и др.) нами установлено, что различия в ответах тест-животных, отобранных по общепринятым показателям, могут достигать 40–50% по характеристикам кардиоактивности (ЧСС) и общему белку гемолимфы. Последнее обстоятельство диктует необходимость стандартизации отбора тест-организмов для получения достоверных результатов и облегчения дальнейшей интерпретации данных.

В связи с вышеизложенным нами предложено формировать референтные группы тест-организмов (биоиндикаторов) из животных, состояние здоровья которых, рассматриваемое как способность адаптации организма к изменениям среды обитания, определено и однородно по своим физиологическим показателям.

В качестве основного критерия отбора предложена оценка функционального состояния (ФС) животного. Принято выделять 2 класса состояний организма. Первое (здоровое) характеризуется адекватной мобилизацией функций организма при оптимальном уровне активности всех его систем. Второе состояние обусловлено динамическим рассогласованием функций, при которых рассматриваемая система (например, сердечно-сосудистая) работает с повышенным напряжением или не в полной мере обеспечивает деятельность организма. Животные в таком состоянии не пригодны для использования в качестве биоиндикаторов. Например, для раков таким состоянием, кроме болезни, являются некоторые стадии личиночного цикла.

Для оценки ФС животных нами предложен комплекс оценочных показателей, включающий в себя, кроме общепринятых морфометрических характеристик, биохимические и физиологические показатели (биомаркеры), характеризующие работу сердечно-сосудистой системы.

При этом биомаркерами состояния организма могут служить характеристики кардиоритма и его варибельности: частота сердечных сокращений (ЧСС) и параметр вариационной пульсометрии – стресс индекс (SI), характеризующий напряжение регуляторных систем, а в ряде случаев поведенческие реакции животных и концентрация общего белка в их гемолимфе. Применение разработанного в лаборатории метода неинвазивной регистрации кардиоактивности бентосных животных (*Decapoda* и *Mollusca*) в режиме реального времени позволило нам по вышеперечисленным характеристикам определять ФС животных-биоиндикаторов при естественной для них суточной ритмике в отсутствие необычных внешних стимулов. В результате анализа данных длительной регистрации кардиоактивности выявлены и количественно описаны: значения и пределы изменения ЧСС и SI, стабильность проявления циркадного ритма в кардиоактивности, наличие других ритмов в ЧСС, главным образом ультрадианного диапазона. Среди них важнейшими являются стабильное проявление циркадного ритма кардиоактивности и ЧСС в состоянии покоя. Характер циркадного ритма, генетически обусловленный для изучаемых видов, отражает особенности их поведения, а его устойчивое проявление свидетельствует о нормальном ФС. ЧСС покоя характеризует работу сердечно-сосудистой системы при энергетических затратах близких к уровню основного обмена. Концентрация общего белка в гемолимфе позволяет косвенно оценивать степень доставки кислорода к органам и тканям животного.

Для выявления адаптационных возможностей животного необходимо оценивать деятельность сердечно-сосудистой системы в условиях высоких энергетических затрат организма. С этой целью рядом авторов предлагается использовать функциональную нагрузку. В качестве функциональной нагрузки можно использовать неповреждающие механические, физические или химические, лимитированные по силе и продолжительности, кратковременные тест-стимулы. Изменение солёности и повышение температуры среды для гидробионтов – наиболее приемлемые тест-стимулы. Кроме того, поскольку в экспериментах на животных невозможно обойтись без хэндлинга, мы также предлагаем использовать его в качестве тест-воздействия, вызывающего генерализованную реакцию всего организма. Ответная реакция кардиосистемы животного на хэндлинг позволяет характеризовать предельные величины изменений ЧСС и максимальный уровень напряжения его регуляторных систем.

Такой комплексный подход к отбору тест-организмов позволяет формировать однородные по выбранному критерию группы раков, сходных по своим физиологическим показателям и, следовательно, наиболее подходящих для токсикологических исследований и для использования их в качестве биоиндикаторов в создаваемых системах биомониторинга в режиме реального времени. В качестве примера в таблице представлены диапазоны значений показателей функционального состояния отобранных раков (температура воды 16 °С).

Вес, г	Белок мг/мл	ЧСС покой уд/мин	Превышение ЧСС при хэндлинге над ЧСС покоя, %	SI покой отн.ед.	SI хэндлинг отн.ед.	Превышение ЧСС при изменении солёности на 1% над ЧСС покоя, %	Параметры циркадной ритмики	
							Длительность ночной активности, ч	Превышение ЧСС активности над ЧСС покоя, %
55–80	50–70	20–40	150–200	5–40	7000–15000	50	8–10	100–120%

Как показали наши исследования, раки сформированных таким образом референтных групп демонстрируют высокую однородность реакций на воздействие различных токсикантов (гидрохинона, тяжелых металлов и др.) При кратковременном воздействии гидрохинон временно вызывал увеличение ЧСС и стресс-индекса, но не оказывал заметного влияния на общий белок гемолимфы. При длительном (1 сутки) воздействии гидрохинон вызывал заметную тахикардию, нарушение циркадного ритма кардиоактивности, уменьшение общего белка гемолимфы на 40%.

В ходе дальнейших исследований предложенный перечень критериев может быть изменён или дополнен. Ясно, что при использовании других видов животных, критерии отбора референтных групп могут несколько отличаться, что будет отражать особенности биологии этих организмов.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант № 08-04-92424-BONUS\_a.*

## METHODOLOGICAL APPROACHES FOR SELECTION OF REFERENCE GROUPS OF BENTHIC INVERTEBRATES BASED ON COMPLEX OF ASSESSMENTS OF THEIR FUNCTIONAL STATE

S.V. Kholodkevich, T.V. Kuznetsova, S.V. Sladkova, G.P. Udalova., V.A. Lyubimtsev

Scientific Research Center for Ecological Safety RAS, Sankt-Petersburg, Russia  
kholodkevich@mail.ru

In the present study common criteria based on organism's functional state (FS) assessment were worked out to form reference groups of benthic animals for further biomonitoring and toxicological investigations. Cardiac activity characteristics: stable expression of circadian rhythm in heart rate and stress-index, and particular content of hemolymph total protein were suggested to be an essential parameters for functional state evaluation. Selected groups of crayfish demonstrated similar responses being exposed to organic toxicant (hydroquinone). It was shown that criteria and methods for selection of reference groups could increase the reliability of toxicological studies results.

## ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ИОНОВ ЦИНКА В ОРГАНИЗМЕ КАРАСЯ (*CARASSIUS CARASSIUS* L.)

В.А. Хоменчук, С.Р. Симчук, М.А. Миронюк, В.З. Курант

Тернопольский национальный педагогический университет имени Владимира Гнатюка, Тернополь, Украина  
vovanbox74@mail.ru

Рост содержания тяжелых металлов в водной среде в результате нерациональной хозяйственной деятельности человека приводит к избыточному аккумулярованию их водными организмами и нарушению нормального функционирования у них метаболических систем.

Значительный интерес представляет исследование механизмов связывания, перераспределения и экскреции в организме гидробионтов металлов при их чрезмерном поступлении. Поэтому целью работы стало изучение динамики распределения ионов цинка в организме рыб.

Исследование проведено на однолетках карася (*Carassius carassius* L.). Для этого ионы металла вводили внутримышечно в виде сульфата в дозе 1/20 от их ЛД<sub>50</sub>. Соль растворяли в растворе Рингера для хладнокровных. Изучали часовую динамику (3, 6, 12, 24 и 72 час) накопления цинка в печени, жабрах, кишечнике, коже и мышцах рыб. После отмеченного срока определяли содержание цинка в указанных тканях. Уровень накопления цинка исчисляли как разницу между содержанием металла в контрольной (без добавления ионов цинка) и опытных группах и выражали в мкг/г влажной ткани. Содержание металлов определяли с помощью атомно-абсорбционного спектрофотометра (С-115м), пробы ткани предварительно сжигали в концентрированной азотной кислоте в соотношении 1:5 (масса: объем). Все получены данные обработаны статистически с использованием критерия Стьюдента.

Как показали результаты исследований в печени карася основное количество цинка аккумуляруется уже в течение первых 3 часов инкубации (рис.). После этого количество металла остается практически неизменным в исследуемом часовом диапазоне и находится в пределах 6–7 мкг/г ткани. Отмечена тенденция к уменьшению количества аккумулярованного цинка через 3 суток после введения металла в организм, что, вероятно есть следствием его транспортировки к местам депонирования.

Полученные данные подтверждаются предыдущими исследованиями, в которых показано, что при долговременной акклимации карпа к повышенным концентрациям ионов цинка его накопления в печени не происходит (McGeer J.C. et al., 2000).

Можно допустить, что с увеличением времени инкубации, печень перестает играть доминирующую роль в перераспределении и депонировании цинка, поскольку этот металл является одним из самых подвижных в организме и активно выводится из него. Кроме того, сродство цинка к органическим лигандам, включая аминокислоты и белки, в организме животных является одним из наименьших в сравнении с ионами других тяжелых металлов (Мецлер Д., 1980).