

молодых ученых. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2008. С. 18–24.

Справочник по климату СССР. Вып. 3. Ветер. Л.: Гидрометеиздат, 1966. 267 с.

Справочник по климату СССР. Вып. 3. Влажность воздуха, атмосферные осадки, снежный покров. Л.: Гидрометеиздат, 1968. 327 с.

Филатов Н. Н. Изменения климата Восточной Фенноскандии. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 1997. 147 с.

Хромов С. П., Мамонтова Л. И. Метеорологический словарь. Л.: Гидрометеиздат, 1974. 568 с.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТЕСТ-ОБЪЕКТА *CERIODAPHNIA AFFINIS* LILLIJEBORG ПРИ БИОТЕСТИРОВАНИИ ТЕХНОГЕННЫХ ВОД ГОРНОРУДНОГО ПРОИЗВОДСТВА

Н. М. Калинкина

Институт водных проблем Севера КарНЦ РАН

ВВЕДЕНИЕ

Важной проблемой в природоохранных исследованиях является поиск чувствительных тест-объектов, использование которых позволит заблаговременно оценить опасность сточных вод и принять необходимые меры для предотвращения загрязнения природной среды. Важно, чтобы эти организмы были представителями местной флоры или фауны, поскольку экстраполяция экспериментальных данных на полевые условия была бы в этом случае наиболее точной. В литературе содержатся примеры, когда стандартный тест-объект в силу своей недостаточной чувствительности не позволил обнаружить опасность загрязняющих веществ для природных экосистем. Так, оценка опасности техногенных вод Костомукшского горно-обогатительного комбината, расположенного на севере Карелии, была выполнена в опытах на ветвистоусых рачках *Daphnia magna* Straus. Этот вид – общепринятый тест-объект в токсикологических исследованиях (Лесников, 1971; Строганов, 1971; Брагинский, 2000). На протяжении 30 сут опыта дафнии выживали в неразбавленных техногенных водах (Дубровина и др., 1995; Калинкина, 2003). В то же время рачки из карельских водоемов (например, *Eudiaptomus gracilis* Sars) погибали в техногенных водах в течение нескольких часов (Калинкина и др., 2003).

Новым, более чувствительным тест-объектом, который предлагается использовать при оценке потенциальной опасности сточных вод для водоемов Карелии, может стать вид *Ceriodaphnia affinis* Lillijeborg (цериодафния). Впервые тест с использованием цериодафнии был разработан в 1984 г. в США. По сравнению с тест-объектом *Daphnia magna* новый тест позволяет за более короткий срок (7 сут вместо 24) дать оценку хронической токсичности тес-

тируемого образца воды. Под руководством Б. А. Флерова в Институте биологии внутренних вод РАН им. В. Д. Папанина тест с использованием цериодафний была адаптирован для целей экологического контроля в России (Флеров и др., 1988; Флеров, Жмур, 1991; Жмур, 2001). Тест с использованием вида *Ceriodaphnia affinis* проявил себя как экспрессный и информативный метод оценки токсичности сточных вод и их компонентов (Чалова, 2007; Чалова, Крылов, 2007).

В 2009 г. культура *Ceriodaphnia affinis* была любезно предоставлена старшим научным сотрудником ИБВВ Ириной Васильевной Чаловой для использования в научных исследованиях в Институте водных проблем Севера КарНЦ РАН.

Цель настоящей работы – оценить опасность техногенной воды Костомукшского ГОКа для нового тест-объекта *Ceriodaphnia affinis* и сравнить его устойчивость с устойчивостью ранее используемого вида *Daphnia magna*.

Задачи, которые решали в ходе исследования: разработать методы культивирования вида *Ceriodaphnia affinis* в новых условиях; оценить опасность техногенных вод Костомукшского ГОКа для видов *Ceriodaphnia affinis* и *Daphnia magna*; сравнить устойчивость двух видов к действию минеральных веществ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Полученный образец культуры *Ceriodaphnia affinis* адаптировали к новой среде в течение 7 месяцев. В качестве контрольной среды использовали грунтовую воду, отобранную из источника на территории г. Петрозаводска, на левом берегу р. Неглинки, по ул. Вольной. Ее химический состав удовлетворяет требованиям, предъявляемым к контрольным средам в «Методике определения токсичности воды...»

(Жмур, 2001). Ионный состав контрольной воды (мг/л): Na⁺ – 7–19; K⁺ – 2–4; Ca²⁺ – 12–24; Mg²⁺ – 4–11; HCO₃⁻ – 31–58; Cl⁻ – 8–21; SO₄²⁻ – 15–40; NO₃⁻ – 4–28; pH – 6,2–6,7 (Водные ресурсы..., 2006). Рачков кормили одноклеточными зелеными водорослями *Scenedesmus quadricauda*. В качестве подкормки для рачков можно использовать дрожжевую суспензию. Для ее подготовки 1 мг сырых дрожжей разводят в 100 мл воды и выдерживают при комнатной температуре сутки. Кормить суспензией можно из расчета: 1–2 капли на 100 мл среды 1–2 раза в неделю. В дальнейшем суспензию дрожжей необходимо обновлять. Другой вид корма – водный настой почвы (Anderson, 1980). 30 г почвы (с органическими включениями, можно компост) поместить в 1 л контрольной воды, размешать и выдержать при комнатной температуре 1–2 дня. Настой профильтровать через хлопчатобумажную ткань. Подкармливать культуру из расчета: 1–2 капли настоя на 100 мл среды каждый день.

Исследовали действие на рачков *Ceriodaphnia affinis* техногенной воды, отобранной из хвостохранилища Костомукшского горно-обогадательного комбината. В опытах использовали неразбавленную техногенную воду, а также ее 2-кратное, 5-кратное и 10-кратное разведения. В качестве контроля применяли воду из источника на ул. Вольной. Все опыты ставили в 15 повторностях, в каждый сосуд наливали по 15 мл исследуемой среды, в которую помещали по 1 экз. цериодафний. Продолжительность опыта – 7 сут. Температура воды – 18–20 °С. Учитывали выживаемость и плодовитость рачков.

Одновременно изучали действие воды Костомукшского хвостохранилища на стандартный тест-объект – рачков *Daphnia magna*. В хроническом опыте продолжительностью 10 сут исследовали влияние неразбавленной воды хвостохранилища на выживаемость и плодовитость дафний. Опыты вели в трех повторностях, в каждый сосуд наливали по 100 мл воды и помещали по 5 экз. дафний.

В отдельной серии экспериментов изучали действие кальция, натрия и калия (основных компонентов воды хвостохранилища) на *Ceriodaphnia affinis* и *Daphnia magna*. Все растворы готовили в пересчете на катионы. В 10-суточных опытах исследовали выживаемость и плодовитость рачков в растворах калия (концентрации 10–600 мг/л), натрия (концентрации 40–1000 мг/л) и кальция (концентрации 10–800 мг/л). Методом пробит-анализа (Прозоровский, 1962; Коросов, Калинкина, 2003) определяли среднесмертельные концентрации ионов калия, натрия и кальция для двух ви-

дов рачков. Температура воды во всех опытах варьировала в пределах 18–21 °С.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Вода хвостохранилища оказалась нетоксичной для *Daphnia magna*. В неразбавленной воде рачки полностью выживали в экспериментах продолжительностью 10 сут. Однако плодовитость дафний была достоверно ($p < 0,05$) снижена по сравнению с контрольными показателями. Так, в контроле плодовитость рачков составляла 5,7 экз./самку, в то время как в воде хвостохранилища – 3,7 экз./самку (табл. 1).

Таблица 1. ВЫЖИВАЕМОСТЬ И ПЛОДОВИТОСТЬ *DAPHNIA MAGNA* В КОНТРОЛЬНОЙ СРЕДЕ И ВОДЕ ХВОСТОХРАНИЛИЩА

Вариант	Выживаемость, %	Плодовитость, экз./самку		
		M	m	t
Контроль	100	5,72	0,61	–
Вода хвостохранилища	100	3,73	0,13	3,20*

Примечание. Здесь и в табл. 2–5: * – отличие от контроля достоверно ($p < 0,05$).

Рачки *Ceriodaphnia affinis* оказались гораздо чувствительнее к действию техногенной воды. Их выживаемость в неразбавленной воде составила всего 40%, в двукратном разбавлении – 60, в пятикратном – 67, в десятикратном – 87%. Плодовитость цериодафний была достоверно снижена в неразбавленной воде хвостохранилища и двукратном ее разведении. При увеличении кратности разбавления (5- и 10-кратное) показатели плодовитости рачков достоверно не отличались от контроля (табл. 2). Таким образом, два вида ракообразных проявили различную реакцию на один и тот же вид загрязнения. Для вида *C. affinis* вода хвостохранилища оказалась значительно более токсичной, чем для вида *D. magna*. Это позволяет в дальнейшем использовать более чувствительный вид *C. affinis* для контроля за опасностью техногенной воды хвостохранилища Костомукшского ГОКа.

Таблица 2. ВЫЖИВАЕМОСТЬ И ПЛОДОВИТОСТЬ *CERIODAPHNIA AFFINIS* В КОНТРОЛЬНОЙ СРЕДЕ, В ВОДЕ ХВОСТОХРАНИЛИЩА И РАЗЛИЧНЫХ ЕЕ РАЗВЕДЕНИЯХ

Вариант	Выживаемость, %	Плодовитость, экз./самку		
		M	m	t
Контроль	100	18,07	1,05	–
10-кратное	87	19,62	1,31	–0,92
5-кратное	67	14,33	1,92	1,42
2-кратное	60	10,10	1,77	3,88*
Неразбавленная вода хвостохранилища	40	3,17	0,70	11,80*

Для этой воды хвостохранилища характерно высокое содержание калия (до 150 мг/л), а также повышенные концентрации ионов натрия, кальция и магния (Поверхностные воды..., 2001). В литературе (Дубровина и др., 1995; Калинкина, Дубровина, 1995; Регеранд, Федорова, 2000) содержатся указания, что токсичное действие воды хвостохранилища на гидробионтов связано именно с высокими концентрациями ионов калия.

Нами было сделано предположение, что большая чувствительность вида *C. affinis* к воде хвостохранилища связана с его большей уязвимостью к основным компонентам техногенной воды. Для проверки этого предположения были проведены эксперименты по изучению сравнительной устойчивости двух видов рачков к действию солей калия, натрия и кальция.

Исследования показали, что при концентрации 600 мг/л ионы калия оказали остро токсичное действие на рачков двух видов. Рачки *D. magna* погибали в растворах на 6-е сутки, *C. affinis* – на 4-е сутки опыта (табл. 3). В растворах с концентрацией 200 мг/л выживали, соответственно, 73% *D. magna* и 42% *C. affinis*. В растворах с концентрацией 150 мг/л выживаемость рачков возрастала: к концу опыта выжило 86% *D. magna* и 71% *C. affinis*. В общем, процент выживания дафний был выше, чем количество выживших цериодафний, что указывает на большую чувствительность к калию именно вида *C. affinis*. Однако различие двух показателей по величине критерия F (соответственно, 1,9 и 0,7) было недостоверным ($p < 0,05$).

Наибольшее различие в реакции двух видов на действие ионов калия проявилось при анализе данных по их плодовитости (см. табл. 3). Так, у вида *C. affinis* функция размножения была полностью подавлена при концентрациях калия 150–200 мг/л, в то время как у самок *D. magna* в этих растворах отмечали появление молоди, хотя суммарная плодовитость рачков была достоверно ниже контрольных показателей. Минимальная из исследованных концентраций ионов калия (10 мг/л) вызывала резкое снижение плодовитости рачков *C. affinis* (до 3 экз./самку против 24 экз./самку в контроле). В то же время растворы с концентрацией калия 10 мг/л не влияли на плодовитость рачков *D. magna*.

Ионы натрия оказали влияние на выживаемость рачков при концентрации 1000 мг/л. Выживаемость дафний в этих растворах к концу эксперимента составила 87%, цериодафний – лишь 29%. Различие между этими величинами по критерию F (7,7) достоверно. В растворах с концентрацией натрия 800 мг/л выживаемость обоих видов существенно выше – 93% *D. magna* и 100% *C. affinis*. В диапазоне концентраций 40–600 мг/л натрия не оказывал влияние на выживаемость рачков (табл. 4). Как видно из данных опытов, вид *C. affinis* вновь проявил большую чувствительность, чем *D. magna*. При концентрации натрия 1000 мг/л погибает достоверно больше цериодафний, чем дафний. Эта же тенденция сохраняется и при сравнении плодовитости двух видов рачков. Так, в диапазоне концентраций натрия 400–600 мг/л плодовитость дафний достоверно снижена относительно контроля и составляет 35–56%. Плодовитость же

Таблица 3. ВЛИЯНИЕ ИОНОВ КАЛИЯ НА ПОКАЗАТЕЛИ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ ДВУХ ВИДОВ РАКООБРАЗНЫХ

Вариант	<i>Daphnia magna</i>				<i>Ceriodaphnia affinis</i>			
	Выживаемость, %	Плодовитость, экз./самку			Выживаемость, %	Плодовитость, экз./самку		
		М	m	t		М	m	t
Контроль	100	5,72	0,61	–	100	24,0	1,29	–
10 мг/л	100	4,60	0,61	1,3	100	3,00	0,95	13,1*
100 мг/л	100	4,07	0,33	2,4*	100	0,86	0,34	17,3*
150 мг/л	86	1,00	0,46	6,2*	71	0	–	–
200 мг/л	73	0,33	–	–	42	0	–	–
600 мг/л	0	0	–	–	0	0	–	–

Таблица 4. ВЛИЯНИЕ ИОНОВ НАТРИЯ НА ПОКАЗАТЕЛИ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ ДВУХ ВИДОВ РАКООБРАЗНЫХ

Вариант	<i>Daphnia magna</i>				<i>Ceriodaphnia affinis</i>			
	Выживаемость, %	Плодовитость, экз./самку			Выживаемость, %	Плодовитость, экз./самку		
		М	m	t		М	m	t
Контроль	100	5,72	0,61	–	100	24,00	1,29	–
40 мг/л	100	4,53	0,29	1,77	100	10,14	1,50	6,99*
400 мг/л	100	3,20	0,31	3,71*	100	7,86	1,18	9,22*
600 мг/л	100	2,02	0,12	6,01*	100	1,71	0,92	14,07*
800 мг/л	93	0	–	–	100	0	–	–
1000 мг/л	87	0	–	–	29	0	–	–

Таблица 5. ВЛИЯНИЕ ИОНОВ КАЛЬЦИЯ НА ПОКАЗАТЕЛИ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ ДВУХ ВИДОВ РАКООБРАЗНЫХ

Вариант	<i>Daphnia magna</i>				<i>Ceriodaphnia affinis</i>			
	Выживаемость, %	Плодовитость, экз./самку			Выживаемость, %	Плодовитость, экз./самку		
		M	m	t		M	m	t
Контроль	100	5,72	0,61	–	100	24,00	1,29	–
10 мг/л	100	4,93	0,37	1,11	100	6,00	0,85	11,67*
100 мг/л	100	3,73	0,29	2,96*	100	4,14	0,77	13,21*
150 мг/л	100	0,20	–	–	100	0,43	0,30	17,79*
200 мг/л	100	0	–	–	71	0	–	–
400 мг/л	93	0	–	–	57	0	–	–
800 мг/л	80	0	–	–	29	0	–	–

цериодафний также достоверно отличается, однако отклонение от контроля более существенно – 7–33%. Растворы с концентрацией натрия 40 мг/л не влияют на плодовитость дафний, однако количество молоди цериодафний в этих растворах достоверно снижено по сравнению с контрольным показателем и составляет всего 42%.

Ионы кальция снижали выживаемость вида *D. magna* в диапазоне концентраций 400–800 мг/л, вида *C. affinis* – в диапазоне 200–800 мг/л (табл. 5). В растворах с концентрациями 200 мг/л и 800 мг/л цериодафний выжило достоверно меньше, чем дафний. Величины критерия F составили, соответственно, 6,2 и 8,4. В диапазоне концентраций кальция 10–200 мг/л отмечали стопроцентное выживание дафний. Цериодафнии полностью выживали в диапазоне концентраций кальция 10–150 мг/л. При анализе данных по выживаемости вновь отчетливо прослеживается большая устойчивость вида *D. magna* к действию минеральных веществ, чем вида *C. affinis*. Эти выводы полностью подтверждаются результатами исследования влияния кальция на плодовитость рачков. Так, растворы кальция с концентрацией 100–150 мг/л достоверно снижали плодовитость дафний, а в растворах с концентрацией 10 мг/л влияния кальция на плодовитость не проявилось (см. табл. 5). В то же время плодовитость цериодафний оказалась достоверно сниженной даже при минимальной из исследованных концентраций кальция – 10 мг/л.

В литературе содержатся указания, что из трех катионов (калий, натрий и кальций) для водных организмов наиболее токсичным является калий (Дубровина и др., 1995; Калинин и др., 2005; Калинин, Куликова, 2009). Представляло интерес сравнить токсичность этих катионов для дафний и цериодафний. Для этой цели рассчитывали среднесмертельные концентрации (CL50) ионов для двух видов рачков по методу пробит-анализа. Использовали данные по смертности рачков в разных растворах трех катионов на 9 сутки опыта. Значения концентраций

логарифмировали, а значения смертности рачков переводили в пробиты. Расчеты величины CL50 представлены в табл. 6. Ионы калия характеризуются наибольшей токсичностью. Величины CL50 калия для двух видов рачков оказались наименьшими и составили 215–248 мг/л. Далее следуют ионы кальция, величины CL50 которых составили 443–836 мг/л. Эти значения достоверно больше, чем среднесмертельные концентрации ионов калия. Наименьшей токсичностью характеризуются ионы натрия. Величины CL50 натрия составляют для двух видов 980–1084 мг/л. Это наибольшие значения среднесмертельных концентраций среди трех исследованных катионов. Таким образом, исследованные катионы можно расположить в ряд снижения токсичности: $K > Ca > Na$.

Таблица 6. ЗНАЧЕНИЯ СРЕДНЕСМЕРТЕЛЬНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ КАЛИЯ, НАТРИЯ И КАЛЬЦИЯ ДЛЯ ДВУХ ВИДОВ РАЧКОВ

Катион	<i>Daphnia magna</i>		<i>Ceriodaphnia affinis</i>	
	CL50	m	CL50	m
Калий	247,7	21,2	214,8	29,9
Кальций	835,6	71,1	442,6	73,8
Натрий	1083,9	36,0	979,5	45,3

Полученные факты хорошо согласуются с литературными данными о наибольшей токсичности именно ионов калия для различных видов водных организмов (Чекунова, 1960; Лозовик, Дубровина, 1998). Из двух видов меньшей резистентностью к действию трех катионов характеризуется *C. affinis*. Эти факты объясняют и малую устойчивость вида *C. affinis* по сравнению с *D. magna* к действию воды хвостохранилища, основными компонентами которой являются калий, натрий и кальций.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, вид *Ceriodaphnia affinis* проявил низкую резистентность к действию воды хвостохранилища, а также солей калия, натрия и кальция. По результатам подострых опытов на цериодафниях вода хвостохранилища может

быть охарактеризована как сильно токсичная. Для двух изученных видов (*Ceriodaphnia affinis* и *Daphnia magna*) наибольшей токсичностью обладают ионы калия, затем ионы кальция, натрий

ЛИТЕРАТУРА

Брагинский Л. П. Методологические аспекты токсикологического биотестирования на *Daphnia magna* Straus и других ветвистоусых ракообразных (критический обзор) // Гидробиологический журнал. 2000. Т. 36, № 5. С. 50–70.

Водные ресурсы Республики Карелия и пути их использования для питьевого водоснабжения / Ред. Н. Филатов, А. Литвиненко, А. Сяркиоя, Р. Порттикиви, Т. Регеранд. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2006. 263 с.

Дубровина Л. В., Калинкина Н. М., Лозовик П. А. Факторы токсичности для гидробионтов техногенных вод Костомукшского ГОКа // Влияние техногенных вод горно-обогатительного комбината на водоемы системы реки Кенти. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 1995. С. 15–25.

Жмур Н. С. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости цериодафний. М.: АКВАРОС, 2001. 52 с.

Калинкина Н. М. Экологические факторы формирования толерантности планктонных ракообразных к минеральному загрязнению (на примере водоемов северной Карелии): Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Петрозаводск: ПетрГУ, 2003. 48 с.

Калинкина Н. М., Дубровина Л. В. Сравнительная устойчивость планктонных ракообразных к действию неорганических компонентов и техногенных вод горнообогатительного комбината // Биологические ресурсы Белого моря и внутренних водоемов Европейского Севера: Междунар. конф. Тез. докл. Петрозаводск, 1995. С. 134–135.

Калинкина Н. М., Куликова Т. П. Эволюционная обусловленность реакции гидробионтов на изменение ионного состава воды (на примере пресноводного зоопланктона) // Известия РАН, сер. Биологическая. 2009. № 2. С. 243–248.

Калинкина Н. М., Куликова Т. П., Морозов А. К., Власова Л. И. Причины техногенного изменения сообщества пресноводного зоопланктона // Известия АН, сер. Биологическая. 2003. № 6. С. 747–753.

Калинкина Н. М., Коросов А. В., Морозов А. К. Оценка критических уровней минерального загрязнения речной системы с использованием имитационного моделирования // Экология. 2005. № 6. С. 477–480.

Коросов А. В., Калинкина Н. М. Количественные методы экологической токсикологии: Методическое пособие. Петрозаводск: ПетрГУ, 2003. 53 с.

Лесников Л. А. Методика оценки влияния воды из природных водоемов на *Daphnia magna* Straus

для них наименее токсичен. Вид *Ceriodaphnia affinis* рекомендуется в качестве нового тест-объекта для контроля за токсичностью воды хвостохранилища Костомукшского ГОКа.

// Методики биологических исследований по водной токсикологии. М.: Наука, 1971. С. 157–166.

Лозовик П. А., Дубровина Л. В. Влияние соотношения катионов и минерализации воды на токсичность ионов калия // Экологическая химия. 1998. № 4. С. 243–249.

Поверхностные воды Калевальского района и территории Костомукши в условиях антропогенного воздействия / Отв. ред. П. А. Лозовик, С.-Л. Маркканен, Т. И. Регеранд. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2001. 168 с.

Прозоровский В. Б. Использование метода наименьших квадратов для пробит-анализа кривых летальности // Фармакология и токсикология. 1962. № 1. С. 115–119.

Регеранд Т. И., Федорова Н. В. Дисбаланс природного соотношения катионов в воде как фактор воздействия на синтез липидов и жирных кислот яйцеклеток рыб // Онтогенез. 2000. Т. 31, № 1. С. 21–26.

Строганов Н. С. Методика определения токсичности водной среды // Методики биологических исследований по водной токсикологии. М.: Наука, 1971. С. 14–60.

Флеров Б. А., Жмур Н. С. Биотестирование с использованием цериодафний // Методическое руководство по биотестированию воды. РД-118-02-90. М., 1991. С. 19–28.

Флеров Б. А., Жмур Н. С., Очирова М. Н., Чалова И. В. Метод биотестирования природных и сточных вод с использованием рачка *Ceriodaphnia affinis* // Методы биотестирования вод. Черноголовка, 1988. С. 111–114.

Чалова И. В. Использование биотеста на *Ceriodaphnia affinis* Lillijeborg в экотоксикологических исследованиях // Физиология и токсикология пресноводных животных. Рыбинск: Рыбинский дом печати, 2007. С. 252–268.

Чалова И. В., Крылов А. В. Оценка качества природных и сточных вод методами биотестирования с использованием ветвистоусых ракообразных (Cladocera, Crustacea): Научно-методическое издание. Рыбинск: Рыбинский дом печати, 2007. 73 с.

Чекунова В. И. Влияние различных концентраций калия и кальция на *Pontogammarus robustoides* в связи с его акклиматизацией // Акклиматизация рыб и кормовых организмов в морях СССР. Вып. 1. М.: Пищепромиздат, 1960. С. 235–242.

Anderson B. G. Aquatic invertebrates in tolerance investigations from Aristotle to Naumann // Aquatic Invertebrates Bioassays. ASTM STP 715. A.L. Buikema, Jr., and John Cairns, Jr. Eds. American Society for Testing and Materials, 1980. P. 3–35.