

УДК 574.34

ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ МИКРОПЛАСТИКА СУПРАЛИТОРАЛИ БАРЕНЦЕВА МОРЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕСТ-ОБЪЕКТОВ РАЗНЫХ ТРОФИЧЕСКИХ УРОВНЕЙ

© 2024 г. А. М. Лазарева^{а, *}, А. Н. Рак^а, Д. М. Гершкович^а,
О. В. Ильина^а, В. И. Ипатова^а

^аМосковский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*e-mail: lazanna1998@mail.ru

Поступила в редакцию 11.10.2022 г.

После доработки 02.02.2023 г.

Принята к публикации 07.06.2023 г.

Исследовано влияние разных видов микропластика (МП) и золы после сжигания смеси макропластиков, отобранных на супралиторали Баренцева моря, на развитие традиционных тест-объектов культуры зеленой микроводоросли *Scenedesmus quadricauda* и культуры ветвистоусых ракообразных *Daphnia magna* в хронических экспериментах. По показателю ингибирования роста водоросли в концентрации 3 мг/л МП наибольшую токсичность демонстрировал образец PU, далее в порядке убывания токсичности располагались HDPE (белый), HDPE (красный) и старый EPS. PP был нетоксичен. Зола в интервале концентраций 0.01–1000 мг/л значимого ингибирования роста *Scenedesmus quadricauda* не оказывала. Для *Daphnia magna* отмечено более выраженное снижение среднего линейного размера при добавках свежего EPS, стимуляция плодовитости была значительно выше в присутствии старого EPS. Обнаружена гибель всех особей *D. magna* под воздействием свежего PU, при добавлении старого PU выживаемость сохранялась на уровне контроля. Частицы МП и зола влияют на трофическую активность дафний при кормлении ее хлореллой, но этот эффект при длительном наблюдении не влечет за собой изменения плодовитости и роста.

Ключевые слова: микропластик, зола от сжигания пластика, биотестирование, *Scenedesmus quadricauda*, *Daphnia magna*

DOI: 10.31857/S0320965224020074 EDN: xthyhq

ВВЕДЕНИЕ

Свежий пластик и пластиковый мусор в окружающей среде подвергаются механической, химической деградации и биоразложению, превращаясь в микро- и наночастицы (Cau et al., 2020; Debroas et al., 2019), в том числе и через пищевые сети, оказывая неблагоприятное влияние на всех обитателей и функционирование водных экосистем в целом (Michels et al., 2018). Частицы МП могут адсорбировать стойкие загрязнения благодаря высокой площади поверхности и пористости (Alimi et al., 2018) и переносить микроорганизмы на значительные расстояния (Rosato et al., 2020).

В литературе данные о токсическом воздействии МП на первичных продуцентов водных экосистем разрозненны и редки. Для подавляющего

числа разных видов МП не определены величины полуметальных концентраций по изменению численности микроводорослей вследствие высоких концентраций для индукции токсичности. Тем не менее, было установлено, что МП может вызывать как торможение роста (Besseling et al., 2014), так и его стимуляцию (Yokota et al., 2017).

МП может влиять и на функциональные характеристики микроводорослей и приводить к снижению содержания хлорофилла (Zhang et al., 2017) и фотосинтетической активности (Mao et al., 2018; Лазарева и др., 2021). Показаны и морфологические изменения клеток (Mao et al., 2018), интернализация МП во время деления клеток (Chae et al., 2018), захват частиц миксотрофными организмами (Long et al., 2017), накопление их в экзополимерных веществах, что приводит к уменьшению доступности света, изменению биодоступности углерода. МП может служить субстратом для роста вредоносных видов водорослей и усиливать цветение воды (Yokota et al., 2017).

Сокращения: МП — микропластик, EPS — вспененный полистирол или пенополистирол, HDPE — полиэтилен низкого давления или полиэтилен высокой плотности, PP — полипропилен, PU — пенополиуретан.

На токсичность МП влияет их концентрация, тип и размер полимера, наличие добавок, химический состав и заряд. Мелкие и положительно заряженные частицы, как правило, более токсичны для микроводорослей (Nolte et al., 2017).

Зоопланктон — важный источник пищи для более крупных организмов. Небольшой размер МП, сравнимый с естественными пищевыми частицами, повышает вероятность их случайного проглатывания водными организмами.

Для оценки влияния МП на жизненные функции тест-объектов чаще используют промышленные образцы МП. В то же время, в окружающей среде содержится значительно больше частиц МП, образованных из макроизделий под влиянием факторов окружающей среды. Потенциальная токсичность сферических образцов и фрагментов вторичного МП различна (Ogonowski et al., 2016). Выживаемость *Daphnia magna* при воздействии вторичных МП оказывается ниже, чем при воздействии первичных МП (An et al., 2021), что, возможно, связано с более длительным нахождением гетерогенных волокон вторичного МП в пищеварительном тракте дафний, приводящему к уменьшению эффективности питания. Эти данные подтверждаются снижением трофической активности дафний при добавлении в среду частиц МП (Ogonowski et al., 2016; Rist et al., 2017).

Исследования влияния МП чаще проводятся в виде острых тестов с использованием первичных МП, что нельзя считать реалистичным сценарием происходящего в окружающей водной среде (Li et al., 2020). В то же время, немногочисленные результаты хронических тестов указывают на наличие угнетения репродуктивной способности, накопления питательных веществ и выживаемости кладоцер (Jaikumar et al., 2019).

Сжигание отходов пластика приводит к загрязнению окружающей среды и концентрированию токсичных продуктов горения в зольных остатках. В составе воздушных выбросов и золы от сжигания пластиковых отходов обнаружены многие высокотоксичные вещества (Nakao et al., 2006; Valavanidis et al., 2008), однако отсутствуют данные по токсичности продуктов горения пластика для гидробионтов.

Цель настоящей работы — исследовать влияние разных видов МП и его золы на развитие традиционных тест-объектов различных трофических уровней: культуры зеленой микроводоросли *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Vreb. (= *Desmodesmus communis* (E. Hegew.) E. Hegew.) и культуры ветвистоусых ракообразных *Daphnia magna* Straus, 1820 в хронических экспериментах.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ходе исследования определяли влияние на тест-объекты пяти образцов МП, полученных из макрообразцов, отобранных на супралиторали Баренцева моря (условно названные старые образцы или вторичные): EPS, размер частиц 18.9 ± 12.6 мкм, происхождение — упаковочный пенопласт; PU, размер частиц 76.7 ± 18.9 мкм, происхождение — монтажная пена; HDPE белый пищевой, размер частиц 208.3 ± 72.3 мкм, происхождение — тара из-под молочных продуктов; HDPE красный пищевой, размер частиц 220 ± 74 мкм, происхождение — тара из-под пищевых продуктов; PP, диаметр волокон 171.3 ± 17.7 мкм, происхождение — судовой канат. Место отбора: Баренцево море, супралитораль, материковая часть напротив западной оконечности о. Кильдин. Дата отбора: 30.08.2020 г.

Кроме того, оценивали токсичность двух свежих образцов (первичные), не подвергавшихся атмосферному влиянию: EPS, размер частиц 130.2 ± 35.9 мкм, происхождение — упаковка от бытовой техники для лаборатории 2019 г.; PP, размер частиц МП 421 ± 207 мкм, происхождение — монтажная пена 2020 г.

МП получали из макрообразцов, для обработки которых применяли абразив и сито из нержавеющей стали с размером ячеек 300 мкм. Микрочастицы пластика отделяли от остатков абразивного материала плотностной сепарацией в дистиллированной воде. Размеры частиц определяли по микрофотографиям с применением программы “КОМПАС-3D v. 14” (ЗАО “Аскон”, Россия).

Также изучали действие золы, полученной при сжигании смеси макропластиков, отобранных на супралиторали Баренцева моря. Зольный остаток получали при сжигании в печи типа Bülletpan (ЗАО “Лаотерм”, Россия) при температуре $\sim 400^\circ\text{C}$ смеси пластиков в соотношениях, близких к наблюдаемым на побережье Баренцева моря. Состав смеси пластиков для получения зольного остатка был следующим (массовая доля, %): PP (промышленная рыболовная сеть) — 24.2; HDPE (фрагменты канистры, ящиков) — 22.5; EPS плотный (буй) — 14.4; PP (пищевая пленка) — 9.8; HDPE (бутылки пищевые) — 8.4; EPS крупнозернистый (пенопласт) — 6.1; LDPE (пленка, пакеты) — 4.8; C/PAP (упаковка пищевая “тетрапак”) — 4.6; HDPE (пленка, пакеты) — 2.8; PU (монтажная пена) — 2.4.

Отдельно исследовали золу от сжигания PU (монтажная пена, место сбора: зал. Пенелухт, август 2020 г.) с размером частиц 159 ± 131 мкм, поскольку именно при добавлении PU наблюдали наибольшее угнетение физиологических показателей и численности исследуемых тест-объектов.

Объекты исследования. В биотестировании используют планктонные виды ветвистоусых

ракообразных, в том числе отдельные виды дафний и цериодафний. Из-за относительно короткого жизненного цикла, быстрого и активного размножения и экологической значимости *Daphnia magna* является стандартным модельным объектом для оценки сублетальных последствий при воздействии загрязняющих веществ (OECD, 2012).¹

В качестве тест-объекта, относящегося к группе первичных продуцентов, выбрана альгологически чистая культура зеленой микроводоросли *Scenedesmus quadricauda*.

Тест на токсичность МП для *S. quadricauda*. Культуру *S. quadricauda* выращивали на среде Успенского № 1 (состав, г/л: 0.025 KNO₃; 0.025 MgSO₄; 0.1 KH₂PO₄; 0.025 Ca(NO₃)₂; 0.0345 K₂CO₃; 0.002 Fe₂(SO₄)₃; pH 7.0–7.3) в люминистате при освещенности 3 клк со сменой дня и ночи (12 : 12 ч), температуре 22 ± 2 °С и перемешивании 2 раза в сут.

Выбор концентрации 3 г/л образцов МП был обусловлен результатами предварительного опыта, показавшего отсутствие их токсичности для культуры *S. quadricauda* при 1 г/л.

Опыты длительностью 21 сут проводили в конических колбах емкостью 100 мл, в которые добавляли 50 мл среды, в трех повторностях для каждого опытного образца МП и контроля.

Основным показателем для оценки состояния популяции *S. quadricauda* служило изменение численности клеток, которую подсчитывали в камере Горяева под световым микроскопом. Определение живых и мертвых клеток в культуре осуществляли с помощью люминесцентного микроскопа Axioscop 2 FSPlus (CarlZeiss, Германия), подсчитывая по 200 клеток в каждой повторности каждой концентрации.

Тест на токсичность золы для *S. quadricauda*. Оценку действия золы, полученной в результате сжигания смеси макропластиков с супралиторами Баренцева моря, на культуру *S. quadricauda* оценивали в концентрациях 0.01; 0.1; 1; 10; 100 и 1000 мг/л. Условия постановки опыта были идентичны эксперименту по оценке действия образцов МП.

Тест на токсичность первичного и вторично-полистирола для *D. magna*. Хронический тест проводили с использованием аквариумной воды и суспензии старого и свежего EPS с концентрацией 100 мг/л. Исследовали 3 группы: контрольную (не содержащую МП) и группы с добавлением свежего и старого EPS в четырех повторностях каждая. Общее количество особей — 60. В течение 21 сут учитывали показатели выживаемости, плодовитости и линейного роста на 7-е и 21-е сут наблюдения.

Тест на токсичность образцов МП и золы для *D. magna*. Опыт проводили с использованием аквариумной воды и суспензии PU (свежий, старый, зола), HDPE (красный, белый), золы смеси пластиков в концентрации 50 мг/л. Исследовали 7 групп в четырех повторностях каждая, общее количество особей — 140. В течение 21 сут учитывали показатели выживаемости, трофической активности, плодовитости и линейного роста на 7-е и 21-е сут наблюдения.

Трофическую активность рачков *D. magna* определяли по изменению концентрации кормовой культуры хлореллы в среде за определенный период инкубации совместно с тест-объектом (Конюхов, Воробьева, 2013). Для этого дафний после 96 час инкубации с исследуемым веществом перемещали в среду, содержащую известную концентрацию хлореллы, которую определяли с помощью флуориметра (“МЕГА-25”, Россия). Спустя 2 ч дафний возвращали в хронический эксперимент, а плотность хлореллы снова определяли с помощью флуориметра и делали вывод об интенсивности трофической активности дафний.

Линейный рост рачков измеряли под бинокуляром с помощью окуляр-микрометра, помещая дафнию с каплей воды на предметное стекло. Затем полученные значения окуляр-микрометра переводили в мкм, используя объект-микрометр для калибровки.

Статистическую обработку результатов экспериментов на всех тест-объектах проводили в программе STATISTICA v.10 (StatSoft Inc., USA) и с применением пакета Microsoft Office Excel 2016. Нормальность распределения значений параметров оценивали с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. Статистическую значимость различий контрольной и опытных выборок оценивали по критерию Манна–Уитни (применяя поправку Бонферрони в модификации Холма) и критерию Даннета. Различия считали значимыми при $p < 0.05$ и при $q_{\text{критич}} < q$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Влияние МП на культуру *Scenedesmus quadricauda*. Исследовали изменение численности клеток в культуре *S. quadricauda* на фоне действия МП (рис. 1). Значимое влияние на ее рост оказывали все виды МП в концентрации 3 г/л. Угнетение роста отмечено для четырех видов МП: EPS (старый) на 30% на 3-и сут, PU на 27–79% в течение всего опыта, HDPE (белый) на 41% на 3-и сут, HDPE (красный) на 37% на 7-е сут. Стимуляцию наблюдали однократно для PP на 6% на 21-е сут, для EPS (свежий) на 29% на 7-е сут и для HDPE (белый) на 23–27% на 14-е и 21-е сут. В остальные сроки наблюдений численность клеток при воз-

¹ OECD. 2012. Test No. 211: *Daphnia magna* Reproduction Test. OECD Publishing.

<https://doi.org/10.1787/9789264070127-en>

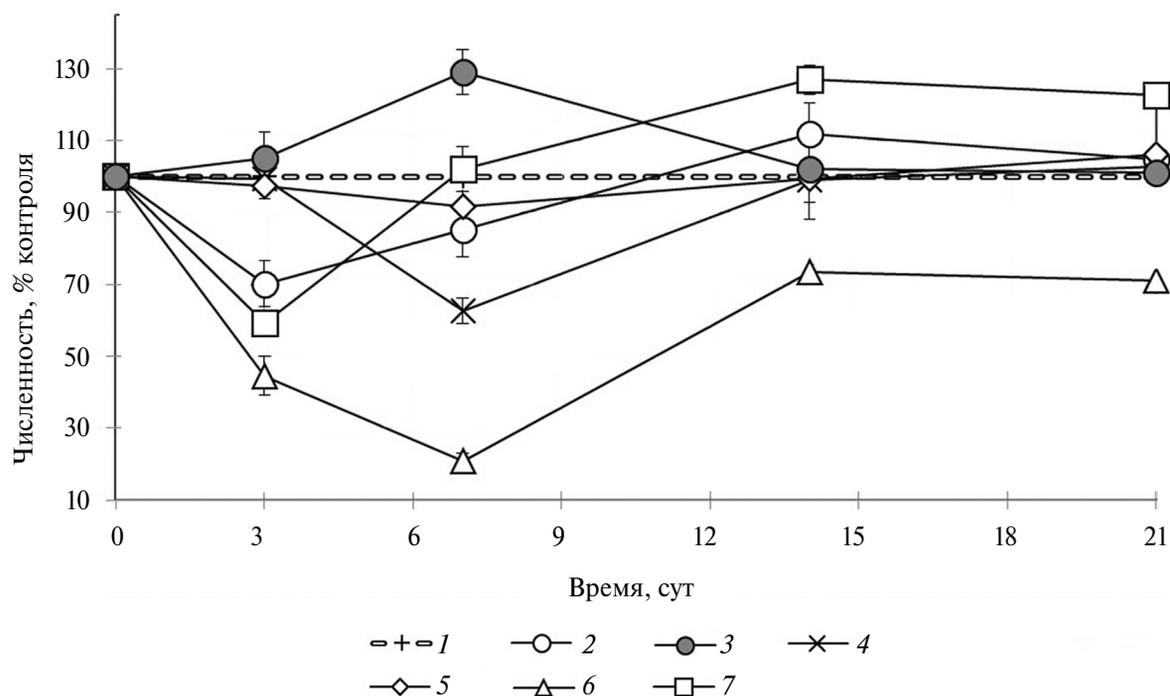


Рис. 1. Относительная численность клеток *Scenedesmus quadricauda* (% контроля) в присутствии разных видов микропластика. 1 – контроль, 2 – EPS контактный, 3 – EPS интактный, 4 – HDPE красный, 5 – PP, 6 – PU, 7 – HDPE белый.

действию шести видов МП была на уровне контроля.

При добавлении PP рост *S. quadricauda* находился на уровне контроля в течение 21 сут эксперимента. Свежий EPS вызывал однократную, но довольно значительную и достоверную стимуляцию роста (на 29%), что может указывать на его токсичность, хотя и слабую.

Таким образом, по структурному показателю состояния лабораторной популяции микроводоросли *S. quadricauda* для пяти образцов МП, отобранных на супралиторали Баренцева моря, и одного свежего образца МП получен следующий ряд токсичности в порядке ее убывания: PU > HDPE (белый) > HDPE (красный) > EPS > EPS (свежий) > PP.

По данным люминесцентной микроскопии (табл. 1), наибольшее угнетение относительной численности живых клеток наблюдали при добавлении PU (до 42% общей численности). Также слабую токсичность продемонстрировал образец МП, полученного из красного HDPE, — до 15% мертвых клеток в культуре в начале опыта. В остальных испытанных образцах численность мертвых клеток в культуре не превышала 5% на протяжении эксперимента.

Также были исследованы изменения роста культуры при действии зольного остатка от сжигания смеси макропластиков в весовых соотношениях, близких к наблюдаемым на супралиторали Баренцева моря. Значимого угнетения роста *S. quadricauda* в интервале концентраций 0.01–1000 мг/л не выявлено, значимая стимуляция на 16–19% отмечена только при 1000 мг/л

Таблица 1. Изменение относительной численности живых клеток *S. quadricauda* (% общей численности) под воздействием различных видов микропластика

Сутки	Контроль	Вид микропластика					
		EPS старый	PU	HDPE белый	HDPE красный	PP	EPS свежий
3	99	97	62	97	85	95	99
7	99	98	58	97	82	96	99
14	99	98	67	97	92	98	99
21	98	97	87	98	96	97	98

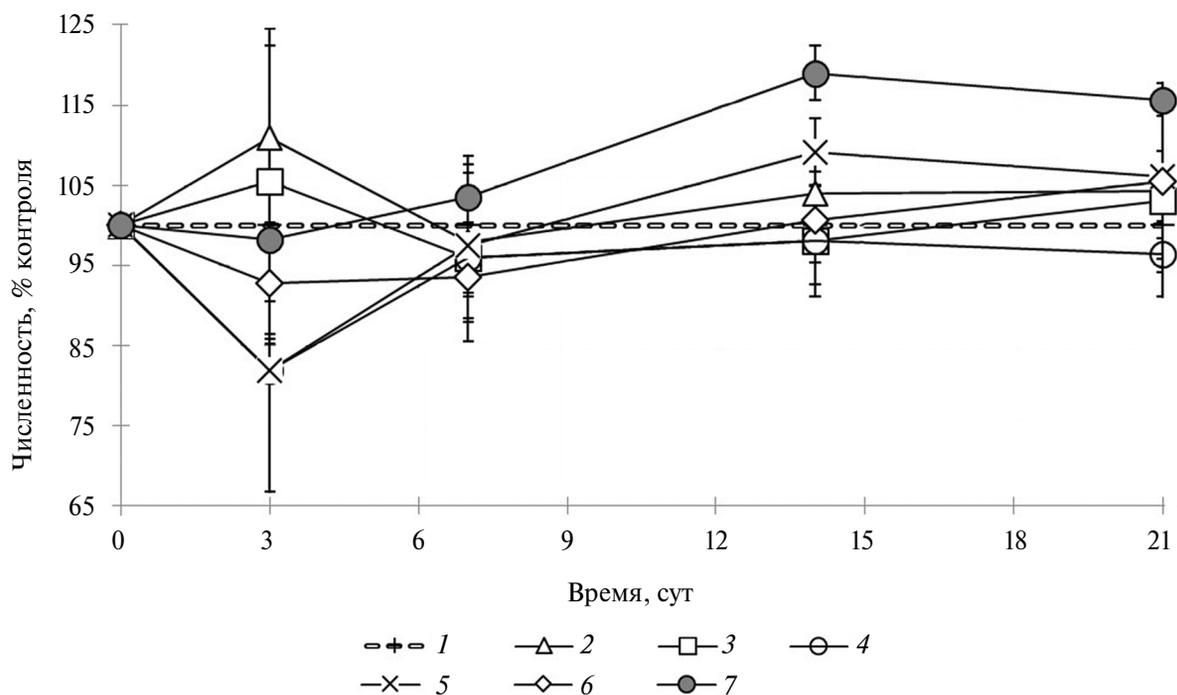


Рис. 2. Изменение относительной численности клеток *S. quadricauda* (% контроля) в присутствии зольного остатка смеси разных видов макропластика. 1 – контроль, 2 – 0.01 мг/л, 3 – 0.1 мг/л, 4 – 1 мг/л, 5 – 10 мг/л, 6 – 100 мг/л, 7 – 1000 мг/л.

на 14-е и 21-е сут, что может свидетельствовать о присутствии в золе компонентов, влияющих на темп деления клеток (рис. 2, табл. 2).

Отсутствие выраженного токсического эффекта зола в интервале исследованных концентраций на тест-культуру *S. quadricauda* по показателю численности клеток может быть связано с рядом причин. Пластик на супралитерали подвергается деградации и окислению, что приводит к образованию окисленных продуктов иной токсичности, чем у свежих образцов. Соотношение массовой доли разных видов пластика для получения зола показывает небольшой процент самой токсичной монтажной пены (2.4%). Большая часть пластикового мусора на супралитерали Баренцева моря состоит

из различной тары и рыболовных сетей. Кроме того, при сжигании пластика улетучиваются некоторые токсичные компоненты (например, диоксины и фураны).

Влияние МП на культуру *D. magna*. При концентрации 100 мг/л старого и свежего EPS значимые отклонения от контроля выявлены в линейных размерах *D. magna* на 21-е сут в группе EPS свежий и в средней плодовитости в группе EPS старый (табл. 3). Можно предположить, что снижение линейных размеров связано с ограничением питания из-за присутствия в среде частиц МП. С другой стороны, размер частиц свежего EPS близок с размерами привычных пищевых объектов дафний, что может способствовать поглощению этих частиц,

Таблица 2. Изменение относительной численности живых клеток *S. quadricauda* (% общей численности) под воздействием зольного остатка смеси полимеров

Сутки	Контроль	Концентрация зольного остатка, мг/л					
		0.01	0.1	1	10	100	1000
3	99	97	99	98	98	99	97
7	98	99	98	97	98	97	96
14	99	99	99	99	97	98	98
21	98	98	97	99	98	98	99

Таблица 3. Биологические показатели *D. magna* в средах с содержанием EPS свежего и старого (100 мг/л)

Показатель	Контроль	EPS свежий	EPS старый
Линейный размер на 7-е сут: среднее \pm SD, мм	1.91 \pm 0.08	1.85 \pm 0.16	1.90 \pm 0.09
по сравнению с контрольной группой, %	—	97	99
отношение q_t и $q_{кр}$.	—	0.7 < 2.3	0.1 < 2.3
Линейный размер на 21-е сут: среднее \pm SD, мм	3.72 \pm 0.10	3.61 \pm 0.11	3.66 \pm 0.21
по сравнению с контрольной группой, %	—	97	98
отношение q_t и $q_{кр}$	—	2.5 > 2.3	1.2 < 2.3
Плодовитость: среднее \pm SD, особей/самка	32.05 \pm 3.08	34.30 \pm 5.55	46.93 \pm 12.30
по сравнению с контрольной группой, %	—	107	146
отношение q_t и $q_{кр}$.	—	0.4 < 2.6	2.7 > 2.6

Примечание. Жирным шрифтом выделены статистически значимые отличия по критерию Даннета (различия считали значимыми при $q_{табличное} (q_t) > q_{критическое} (q_{кр.})$ при уровне значимости $p < 0.05$).

не являющихся питательными. Отмечено (Rist et al., 2017), что частицы МП не всегда покидают кишечник дафний.

Особое внимание уделяли изменению выживаемости особей (рис. 3), начиная с 10-х сут наблюдения, поскольку ранее снижения выживаемости по сравнению с контролем не наблюдали. Вторичные МП при высоких концентрациях в среде подвергаются агрегации чаще, чем первичные (Ogonowski et al., 2016), что приводит к нарушению питания и даже гибели дафний. Это объясняет, почему при высокой концентрации 100 мг/л выживаемость снижается в группе, на которую влияет старый EPS.

Целью другого опыта было выявить возможные различия в действии МП разного состава и происхождения (табл. 4). В результате наблюдали гибель группы, находившейся в среде со свежим PU.

Данные по трофической активности оказались схожи с результатами работы, в которой отмечено увеличение трофической активности дафний на 29% по сравнению с контролем при воздействии частиц полиэтилена (Ogonowski et al., 2016). Нами получены значимые отличия от контроля в группах со старым PU (увеличение на 79%) и красными частицами HDPE (увеличение на 39%). Для группы, испытывающей влия-

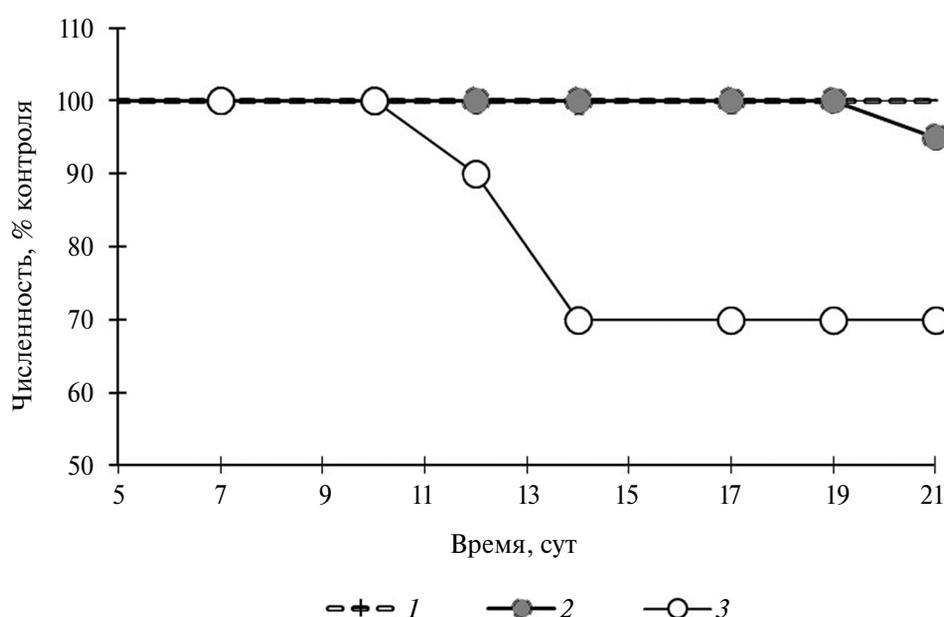


Рис. 3. Выживаемость *Daphnia magna* в среде с частицами старого и свежего EPS (100 мг/л). 1 – контроль, 2 – EPS свежий, 3 – EPS старый.

Таблица 4. Биологические показатели *Daphnia magna* в средах с содержанием различных видов МП и золы (50 мг/л)

Показатель	Контроль	PU инт.	PU конт.	PU зола	HDPE белый	HDPE красн.	Зола смеси
Размер частиц, мкм ± SD	—	421 ± 207	119 ± 49	159 ± 131	421 ± 223	338 ± 137	264 ± 73
Выживаемость на 21-е сут, %	95	0	95	100	95	95	100
Плодовитость: среднее ± SD, особей/самка по сравнению с контрольной группой, %	19.23 ± 2.01	—	21.38 ± 0.39	18.70 ± 3.96	24.7 ± 1.30	22.51 ± 6.07	23.60 ± 2.97
отношение q_T и $q_{кр}^*$	—	—	111	97	128	117	123
Линейный размер на 7-е сут: среднее ± SD, мм по сравнению с контрольной группой, %	—	—	0.9 < 2.8	0.2 < 2.8	2.3 < 2.8	1.4 < 2.8	1.8 < 2.8
отношение q_T и $q_{кр}$	—	—	—	—	—	—	—
Линейный размер на 21-е сут: среднее ± SD, мм по сравнению с контрольной группой, %	2.37 ± 0.19	2.24 ± 0.14	2.57 ± 0.10	2.46 ± 0.51	2.44 ± 0.24	2.52 ± 0.15	2.29 ± 0.16
отношение q_T и $q_{кр}$	—	95	108	103	103	106	97
отношение q_T и $q_{кр}$	—	1.6 < 2.6	2.5 < 2.6	1.1 < 2.7	0.9 < 2.6	1.9 < 2.6	1.0 < 2.6
Линейный размер на 21-е сут: среднее ± SD, мм по сравнению с контрольной группой, %	3.24 ± 0.04	—	3.25 ± 0.11	3.19 ± 0.06	3.32* ± 0.11	3.28 ± 0.14	3.26 ± 0.09
отношение q_T и $q_{кр}$	—	—	100	98	102	101	101
отношение q_T и $q_{кр}$	—	—	0.3 < 2.6	1.7 < 2.6	2.6 > 2.5	1.3 < 2.5	0.7 < 2.5
Трофическая активность: среднее ± SD, мл/(особь · ч) по сравнению с контрольной группой, %	1.56 ± 0.1	1.87 ± 0.36	2.69 ± 0.23	1.14 ± 0.23	1.54 ± 0.35	2.17 ± 0.15	0.76 ± 0.26
отношение q_T и $q_{кр}$	—	120	172	73	99	139	49
отношение q_T и $q_{кр}$	—	1.7 < 2.8	6 > 2.8	2.1 < 2.7	0.1 < 2.7	3.3 > 2.8	3.9 > 2.8

Примечание. Жирным шрифтом выделены статистически значимые различия по критерию Даннета — различия считали значимыми при $q_{табличное}(q_T) > q_{критическое}(q_{кр})$, $p < 0.05$.

ние золы смеси пластиков, трофическая активность снижалась на 51%. Следовательно, частицы МП влияют на трофическую активность, но этот эффект при длительном наблюдении не влечет за собой изменения плодовитости и роста. Таким образом, можно предположить, что наибольшее действие оказывают выщелачивающиеся токсические вещества.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

МП относятся к новым экотоксикантам как отдельно, так и в смесях с различными загрязнителями. Наши исследования показали, что разные виды МП способны негативно воздействовать на микроводоросли и ракообразных, подавляя их численность и изменяя функциональные показатели. При этом свежие образцы полимеров и микропластики, полученные из макрообразцов, собранных в природных условиях, вызывали различный эффект.

Экологическое старение МП происходит под действием биотических и абиотических факторов.

Разницу в токсичности между пробой EPS, отобранной на супралитерали Баренцева моря, и свежим образцом можно объяснить большей токсичностью первой пробы вследствие ее изменения в естественных условиях супралитерали Баренцева моря в ходе окисления и адсорбции веществ. Для *Scenedesmus quadricauda* старый EPS повлиял сильнее и на численность, и на соотношение живых и мертвых клеток, при этом в обоих случаях наблюдали угнетение роста культуры. Состаренный МП вызывал более сильное ингибирование клеток, чем свежий МП, и у микроводоросли *Chlorella vulgaris* (Wang et al., 2021). В то же время, для *Daphnia magna* нами отмечено более выраженное снижение среднего линейного размера при добавках свежего EPS, а стимуляция плодовитости была значительно выше в присутствии старого EPS.

При сравнении действия свежего и старого PU на *D. magna* происходила гибель всех ракообразных под воздействием свежего PU к концу опыта, при добавлении старого PU выживаемость тест-объекта сохранялась на уровне контроля. Вероятно, это связано с наличием в составе монтажной пены токсичных низкомолекулярных высокореактивных соединений изоцианатов, содержание которых выше в свежем полимере.

Добавление золы от сжигания смеси пластикового мусора в культуры *Scenedesmus quadricauda* и *Daphnia magna* показало, что сжигание — неэффективный и опасный способ утилизации пластикового мусора, поскольку зола негативно влияла на численность *Scenedesmus quadricauda* и некоторые физиологические параметры *Daphnia magna*. Сжигание старого PU также увеличивало уровень его воздействия на физиологические показатели ракообразных.

Мелкие частицы МП микронного размера могут представлять значительный экологический риск для водных организмов. Так, мелкие фрагменты МП (17.23 и 34.43 мкм) снижали потребление водорослей, длину тела и число потомков у *D. magna*, по сравнению с более крупными, вероятно, из-за их более длительного времени удерживания и большего воздействия на пищеварительный тракт (An et al., 2021). Исследованный нами EPS (Баренцево море) имел сходные размеры частиц (18.9 ± 12.6 мкм) и был более токсичен по сравнению с более крупными частицами свежего EPS. Эти эффекты указывают на роль МП в механическом взаимодействии с животным на уровне питания (закупорка фильтрационного аппарата), пищеварения (кишечник, заполненный пластиковыми частицами) и/или другого поведения животного.

Снимки электронной микроскопии позволили понять возможную причину токсического эффекта МП полистирола на микроводоросль *Chlorella vulgaris*, поскольку частицы МП адсорбировались и внедрялись в клетки водоросли (Tunali et al., 2020).

Для оценки токсичности МП необходимо проводить хронические испытания, поскольку в острых опытах можно ее не выявить. Так, в острых экспериментах МП частицы полистирола не оказывали токсического воздействия на *Daphnia magna* в течение 48 ч, но вызывали дополнительную смертность в течение 120 ч (Eltemsah, Vohn, 2019), при этом молодые особи были на 50% более чувствительны, чем взрослые.

Из-за размера частиц МП, часто сопоставимого с размерами клеток фитопланктона, водные организмы, особенно питающиеся не избирательно, могут потреблять их. Нами показано снижение линейных размеров дафний в среде с частицами свежего EPS, близкими по размеру к клеткам хлореллы — пищевых объектов дафний. Данные нашей работы свидетельствуют, что частицы МП

влияют на трофическую активность дафний при кормлении ее хлореллой, но этот эффект при длительном наблюдении не влечет за собой изменения плодовитости и роста.

Исследовано (Aljaibachi, Callaghan, 2018) поглощение, удержание и воздействие частиц PS на *Daphnia magna* в присутствии *Chlorella vulgaris*, при этом размер частиц МП соответствовал размеру клеток водорослей (2 мкм). Дафнии активно поглощали частицы PS, однако в присутствии водорослей этот показатель снижался, что свидетельствует об избирательном потреблении пищевых частиц. Результаты, полученные Ogonowski et al. (2016) при изучении воздействия на дафнию МП или каолина с низкой и высокой концентрацией пищи также показали, что особенности жизненного цикла дафний связаны с концентрацией пищи в большей степени, чем с микрочастицами.

Наши данные согласуются с результатами работ, в которых показано, что МП, с одной стороны, мало влияет на изменение численности клеток фитопланктона (Prata et al., 2019), с другой стороны, влияние на физиологические параметры микроводорослей может быть весьма значительным. Соответственно, в будущих исследованиях помимо структурных показателей состояния популяций растительных микроорганизмов необходимо включать и функциональные параметры, характеризующие физиологическое состояние тест-объекта, для более реалистичной оценки токсичности МП. Будущие эксперименты с МП с использованием разных тест-объектов в лабораторных условиях, в полевых микро- и мезокосмах помогут выявить потенциальные экологические риски и разработать реабилитационные меры для конкретных районов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Существующие концентрации МП в окружающей водной среде значительно ниже таковых, испытанных в настоящем исследовании с помощью растительного тест-объекта *Scenedesmus quadricauda*, и вряд ли они вызовут значительные изменения численности фитопланктона. Однако МП может сильно изменять физиологические показатели развития микроводорослей даже в малых концентрациях, что, в конечном счете, представляет потенциальную угрозу для развития фитопланктона и других звеньев пищевой цепи в долгосрочной перспективе. В настоящей работе показано, что МП воздействует на выживаемость и размеры тела представителя зоопланктона *Daphnia magna* в меньших концентрациях, чем на изменение численности микроводоросли *Scenedesmus quadricauda*. Это снижает их пищевую значимость для основных потребителей в водных экосистемах. Особую опасность представляет попадание частиц МП в пищеварительный тракт

животных, удерживание их в организме с последующей передачей по пищевой цепи. Оценка риска потенциальной токсичности МП должна проводиться с учетом размера его частиц, концентрации, наличия других загрязняющих веществ и условий нахождения пластика в природных условиях на чувствительных тест-объектах — представителях всех звеньев трофической цепи.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках Государственного задания Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова (тема № 121032300131-9) при поддержке Междисциплинарной научно-образовательной школы МГУ имени М.В. Ломоносова “Будущее планеты и глобальные изменения окружающей среды”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Конюхов И.В., Воробьева О.В. 2013. Определение трофической активности рачков *Daphnia magna* Straus на флуориметре Мега-2 // Вода: химия и экология. № 12. С. 79.
- Лазарева А.М., Ипатов В.И., Ильина О.В. и др. 2021. Токсическое влияние микрочастиц пластика на культуру *Scenedesmus quadricauda*: взаимодействие между микрочастицами пластика и водорослью // Вестн. Москов. ун-та. Сер. 16: Биология. Т. 76. № 4. С. 225.
- Alimi O.S., Farner Budarz J., Hernandez L.M. et al. 2018. Microplastics and nanoplastics in aquatic environments: aggregation, deposition, and enhanced contaminant transport // Environ. Sci. Technol. V. 52. № 4. P. 1704.
https://doi.org/10.1021/acs.est.7b05559
- Aljaibachi R., Callaghan A. 2018. Impact of polystyrene microplastics on *Daphnia magna* mortality and reproduction in relation to food availability // PeerJ 6:e4601.
https://doi.org/10.7717/peerj.4601
- An D., Na J., Song J., Jung J. 2021. Size-dependent chronic toxicity of fragmented polyethylene microplastics to *Daphnia magna* // Chemosphere. V. 271. P. 129591.
https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129591
- Besseling E., Wang B., Lüring M. et al. 2014. Nanoplastic affects growth of *S. obliquus* and reproduction of *D. magna* // Environ. Sci. Technol. V. 48. № 20. P. 12336.
https://doi.org/10.1021/es503001d
- Cau A., Avio C.G., Dessi C. et al. 2020. Benthic crustacean digestion can modulate the environmental fate of microplastics in the deep sea // Environ. Sci. Technol. V. 54. № 8. P. 4886.
https://doi.org/10.1021/acs.est.9b07705
- Chae Y., Kim D., Kim S.W. et al. 2018. Trophic transfer and individual impact of nanosized polystyrene in a four-species freshwater food chain // Sci. Rep. V. 8. P. 284.
https://doi.org/10.1038/s41598-017-18849-y
- Debroas D., Mone A., Ter Halle A. 2019. Plastics in the North Atlantic garbage patch: a boat-microbe for hitchhikers and plastic degraders // Sci. Total Environ. V. 599. P. 1222.
https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.05.059
- Eltemseh Y.S., Bohn T. 2019. Acute and chronic effects of polystyrene microplastics on juvenile and adult *Daphnia magna* // Environ. Pollut. V. 254 (PtA). P. 112919.
https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.07.087
- Jaikumar G., Brun N.R., Vijver M.G. et al. 2019. Reproductive toxicity of primary and secondary microplastics to three cladocerans during chronic exposure // Environ. Pollut. V. 249. P. 638.
https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.03.085
- Li C., Busquets R., Campos L.C. 2020. Assessment of microplastics in freshwater systems: A review // Sci. Total Environ. V. 707. P. 135578.
https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135578
- Long M., Paul-Pont I., Hégaret H. et al. 2017. Interactions between polystyrene microplastics and marine phytoplankton lead to species-specific hetero-aggregation // Environ. Pollut. V. 228. P. 454.
https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.05.047
- Mao Y., Ai H., Chen Y. et al. 2018. Phytoplankton response to polystyrene microplastics: perspective from an entire growth period // Chemosphere. V. 208. P. 59.
https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.05.170
- Michels J., Stippkugel A., Lenz M. et al. 2018. Rapid aggregation of biofilm-covered microplastics with marine biogenic particles // Proc. Royal Soc. B: Biol. Sci. V. 285. P. 1885.
https://doi.org/10.1098/rspb.2018.1203
- Nakao T., Aozasa O., Ohta S. et al. 2006. Formation of toxic chemicals including dioxin-related compounds by combustion from a small home waste incinerator // Chemosphere. V. 62. P. 459.
https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.04.060
- Nolte T.M., Hartmann N.B., Kleijn J.M. et al. 2017. The toxicity of plastic nanoparticles to green algae as influenced by surface modification, medium hardness and cellular adsorption // Aquat. Toxicol. V. 183. P. 11.
https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2016.12.005
- Ogonowski M., Schür C., Jarsén A. et al. 2016. The Effects of Natural and Anthropogenic Microparticles on Individual Fitness in *Daphnia magna* // PLOS ONE. V. 11(5). P. e0155063.
https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155063
- Prata J.C., da Costa J.P., Lopes I. et al. 2019. Effects of microplastics on microalgae populations: A critical review // Sci. Total Environ. V. 665. P. 400.
https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.132
- Rist S., Baun A., Hartmann N.B. 2017. Ingestion of micro- and nanoplastics in *Daphnia magna* — Quantification of body burdens and assessment of feeding rates and reproduction // Environ. Pollut. V. 228. P. 398.
https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.05.048
- Rosato A., Barone M., Negroni A. et al. 2020. Microbial colonization of different microplastic types and biotransformation of sorbed PCBs by a marine anaerobic bacterial community // Sci. Total Environ. V. 705. P. 135790.
https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135790

- Tunali M., Uzoefuna E., Tunali M.M. et al. 2020. Effect of microplastics and microplastic-metal combinations on growth and chlorophyll a concentration of *Chlorella vulgaris* // Sci. Total Environ. V. 743. P. 140479. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140479>
- Valavanidis A., Iliopoulos N., Gotsis G. et al. 2008. Persistent free radicals, heavy metals and PAHs generated in particulate soot emissions and residue ash from controlled combustion of common types of plastic // J. Hazard. Mater. V. 156. № 1–3. P. 277. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.12.019>
- Wang Z., Fu D., Gao L. et al. 2021. Aged microplastics decrease the bioavailability of coexisting heavy metals to microalga *Chlorella vulgaris* // Ecotoxicol. Environ. Saf. V. 217. P. 112199. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112199>
- Yokota K., Waterfield H., Hastings C. et al. 2017. Finding the missing piece of the aquatic plastic pollution puzzle: interaction between primary producers and microplastics // Limnol., Oceanogr. Lett. V. 2. № 4. P. 91. <https://doi.org/10.1002/lol2.10040>
- Zhang C., Chen X., Wang J. et al. 2017. Toxic effects of microplastics on marine microalgae *Skeletonema costatum*: interactions between microplastics and algae // Environ. Pollut. V. 220. P. 1282. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.11.005>

Evaluation of the Toxicity of Microplastics in the Supralittoral of the Barents Sea using Test Objects of Different Trophic Levels

A. M. Lazareva^{1,*}, A. N. Rak¹, D. M. Gershkovich¹, O. V. Ilyina¹, V. I. Ipatova¹

¹Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

*e-mail: lazanna1998@mail.ru

The influence of different types of microplastics (MP) and ash after burning a mixture of macroplastics selected in the supralittoral of the Barents Sea on the development of traditional test objects of the culture of the green microalgae *Scenedesmus quadricauda* and the culture of cladocerans *Daphnia magna* in chronic experiments was studied. In terms of inhibition of algal growth at a concentration of 3 mg/L MP, the PU sample showed the highest toxicity, followed by HDPE (white), HDPE (red) and contact EPS in descending order of toxicity. PP was non-toxic. Ash in the concentration range of 0.01–1000 mg/L did not significantly inhibit the growth of *Scenedesmus quadricauda*. For *Daphnia magna* a more expressed decrease in the average linear size was noted with the addition of intact EPS, and the stimulation of fertility was significantly higher in the presence of contact EPS. When comparing the effect of intact and contact PU on *D. magna*, the death of all individuals under the influence of intact PU was found, while adding PU, survival remained at the control level. MP particles and ash affect the trophic activity of daphnia when fed with chlorella, but this effect does not lead to changes in fertility and growth during long-term observation.

Keywords: microplastics, plastic incineration ash, bioassay, *Scenedesmus quadricauda*, *Daphnia magna*