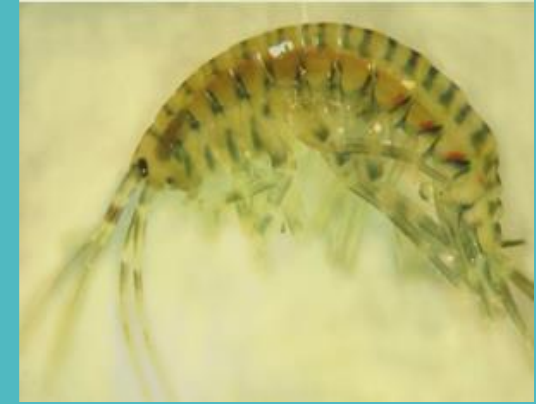


ЭМБРИОНАЛЬНЫЕ НАРУШЕНИЯ У АМФИПОД – БИОМАРКЕРЫ ЗАГРЯЗНЕНИЯ И НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ФАКТОРОВ СРЕДЫ

Н.А. Березина

*Лаб. Пресноводной и экспериментальной гидробиологии
Зоологический институт Российской академии наук*

Г. Санкт-Петербург,
nadezhda.berezina@zin.ru



Амфиподы обладают большим потенциалом для оценки токсичности отложений в эстуарных и морских районах, поскольку они тесно связаны с отложениями либо за счет своей роющей активности, либо за счет проглатывания частиц отложений. Они известны как типичные члены донных сообществ и как первые таксоны, исчезающие из этих сообществ на загрязненных участках или в условиях гипоксии.



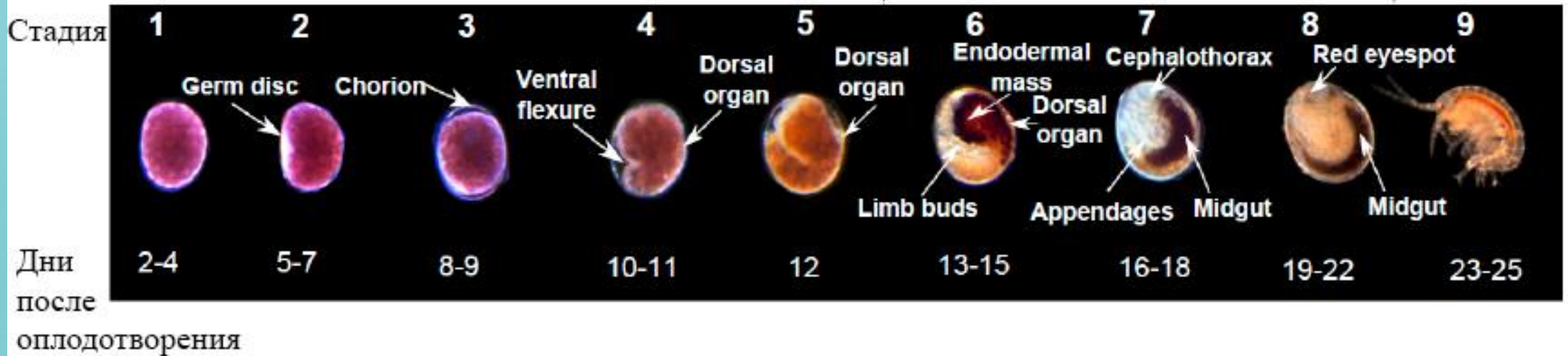
ЭМБРИОГЕНЕЗ ГАММАРИДНЫХ АМФИПОД

Первые классификации Weygoldt (1924) и Scadsheim (1982), модифицировано Röckl (1993), **семь стадий**
Позже в работах Sundelin et al., 2008; Arambourou et al., 2019 -- **9 стадий**

Конденсация зародышевого диска, гастрюляция, фиксация как передней/задней и дорсо/вентральной осей.

Формирование придатков тела, органогенез, нейрогенез

вылупление



Эмбриогенез – это наиболее чувствительный к воздействию неблагоприятных факторов период в жизни амфипод. Формирование органов и придатков (органогенез) соответствует стадиям 5/6 – 8. Длительность видоспецифична, зависит от факторов окружающей среды, прежде всего температуры.

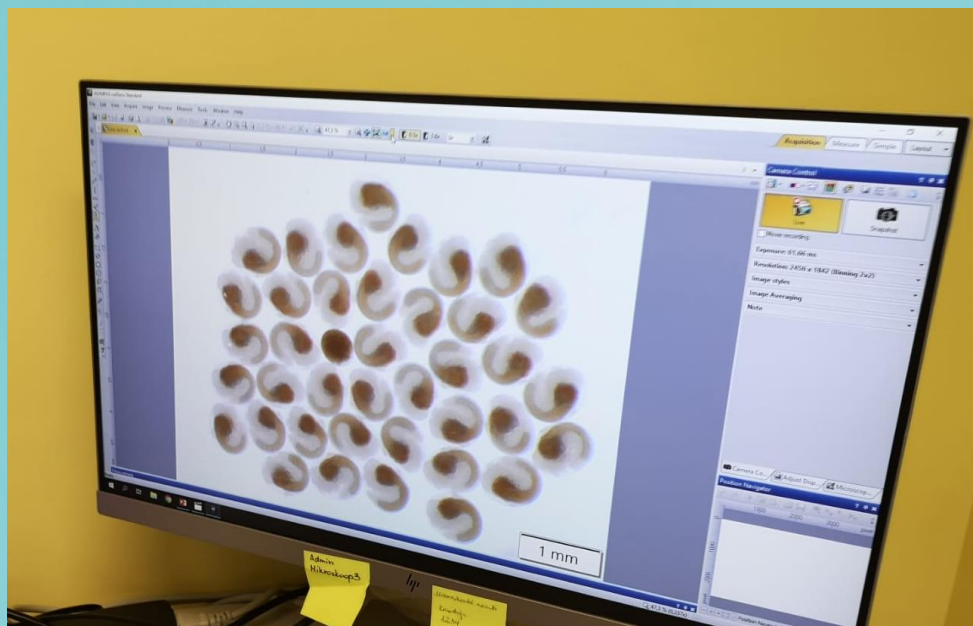


В последнее время активно развивается и внедряется в мониторинг качества морской среды в некоторых странах биомаркер, основанный на нарушениях в строении эмбрионов амфипод.

► Brita Sundelin, Стокгольмский университет
Репродуктивные показатели ракообразных для мониторинга состояния окружающей среды - частота встречаемости деформированных эмбрионов (Sundelin et al. 2008).

► HELCOM (2018). Reproductive disorders: malformed embryos of amphipods. HELCOM supplementary indicator report. Online.

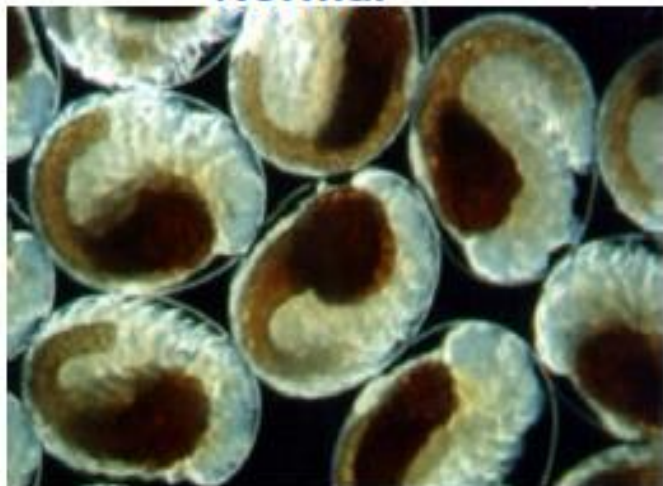
Эмбрионы из марзупиума самки амфипод *M. affinis* под стереомикроскопом, выведенные на экран компьютера



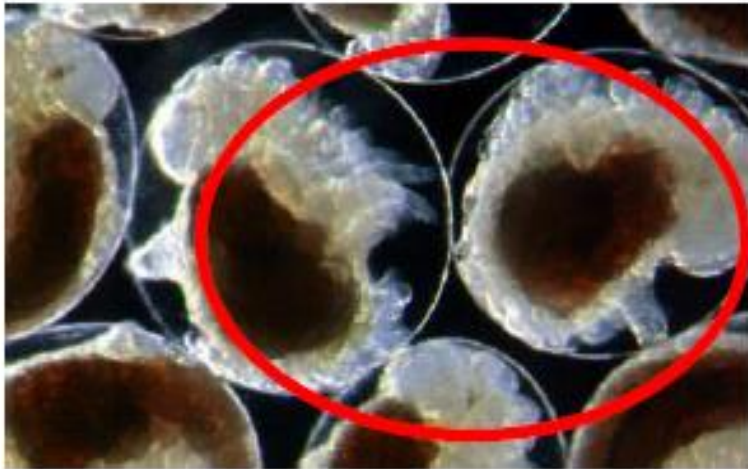
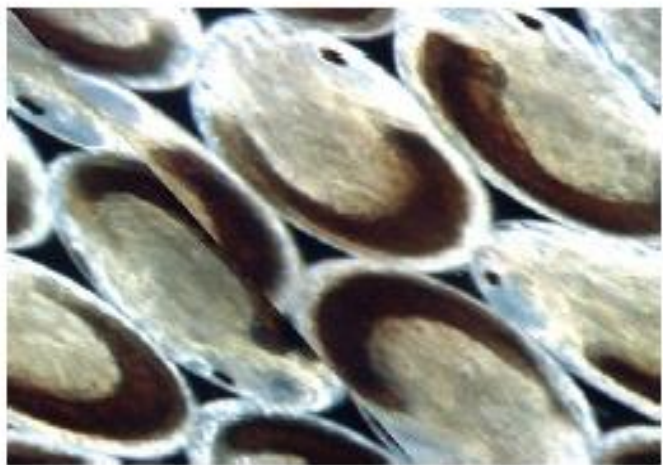
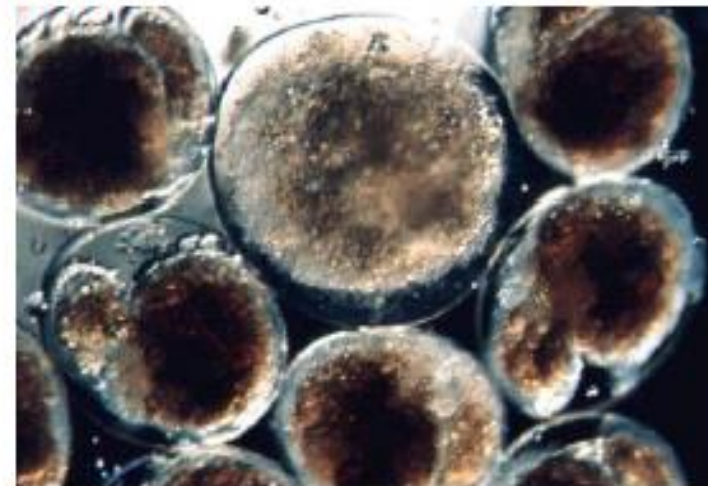
- % встречаемости в популяции аномально сформированных эмбрионов на стадии органогенеза
- % самок с 2 и более эмбрионов с нарушениями развития

Нормальные эмбрионы (А) и примеры уродливых эмбрионов (В–F), обнаруженные в сумке самок *Monoporeia affinis*

Normal



Malformed



Критерии оценки по % эмбрионов с нарушениями и самкам с >1 аберрантным эмбрионом

Thresholds table 1. Threshold value for the amphipod *Monoporeia affinis*. Background assessment criteria (BAC) and environmental assessment criteria (EAC) are adopted from Davies and Vethaak 2012.

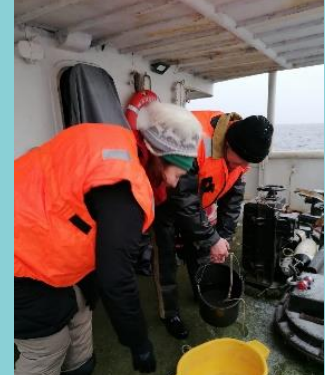
Assessment criteria	Mean	BAC	EAC	Threshold value
Proportion of malformed embryos	0.041	<0.059	>0.059	0.059
Proportion of females with >1 malformed embryo	0.23	<0.3	>0.3	0.3

Thresholds table 2. Secondary thresholds for the gammaridean amphipods *Gmelinoides fasciatus*, *Pontogammarus robustoides* and *Gammarus tigrinus* (based on Gulf of Finland monitoring data, Russia).

Assessment criteria	Mean	BAC	EAC	Threshold value
Proportion of malformed embryos	0.02	<0.05	>0.05	0.05
Proportion of females with >1 malformed embryo	0.15	<0.2	>0.2	0.2

Количество деформированных эмбрионов у *Monoporeia affinis* НИЗКОЕ

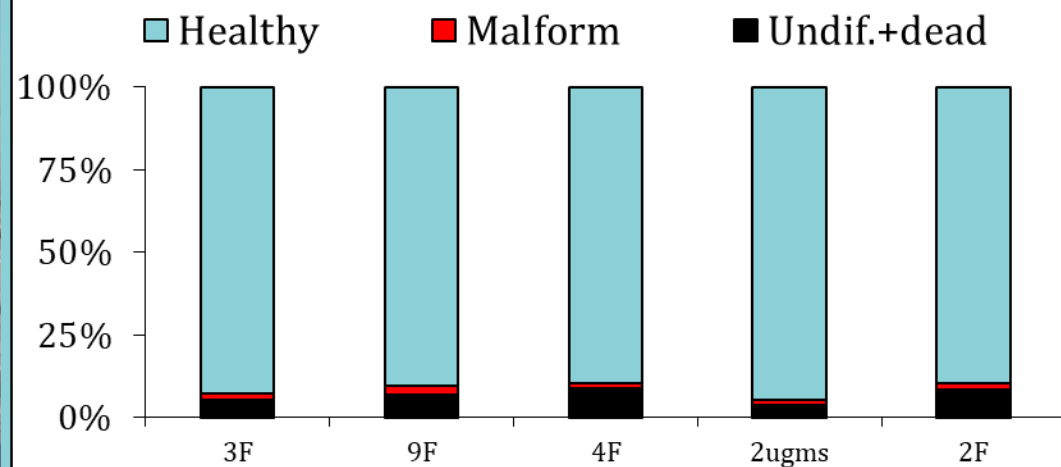
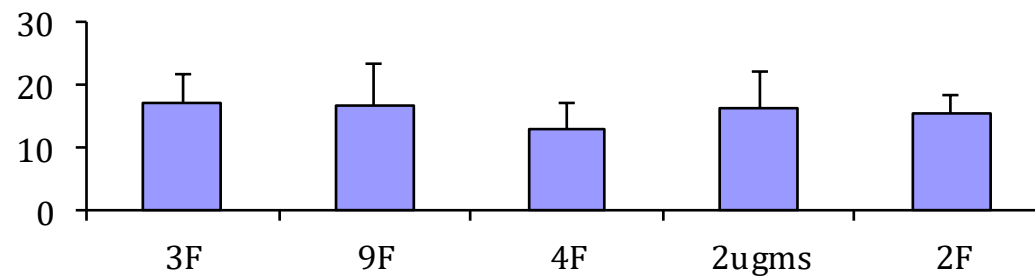
Зимне-размножающийся вид



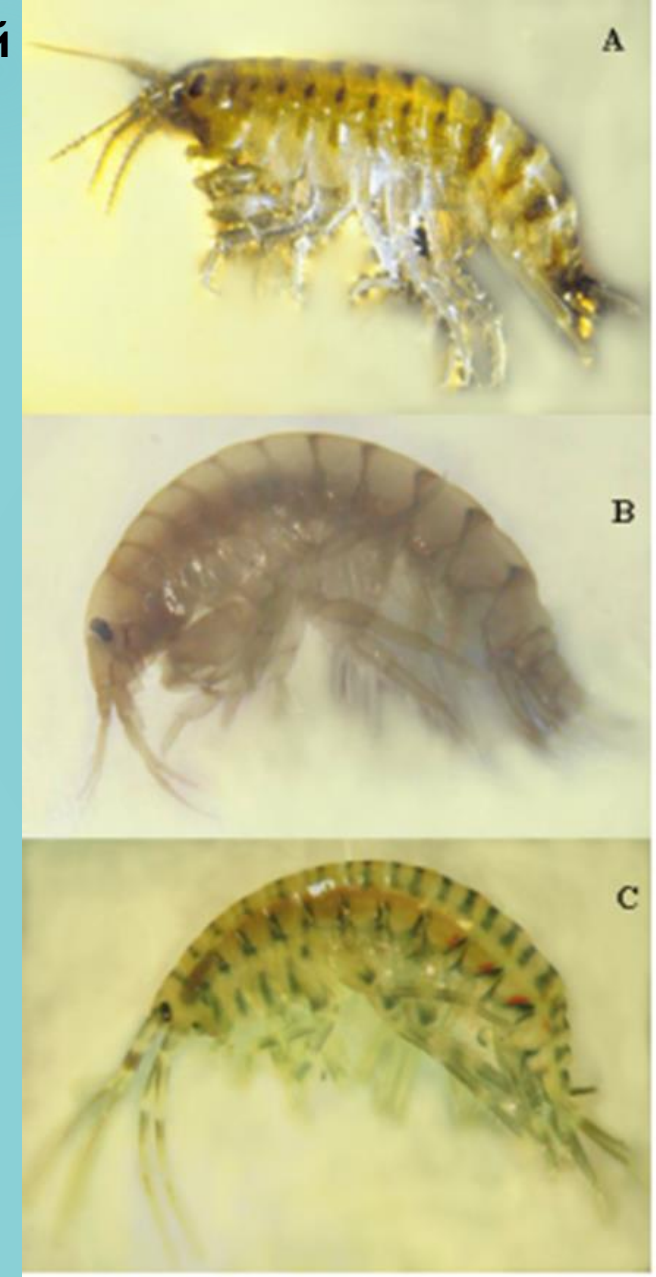
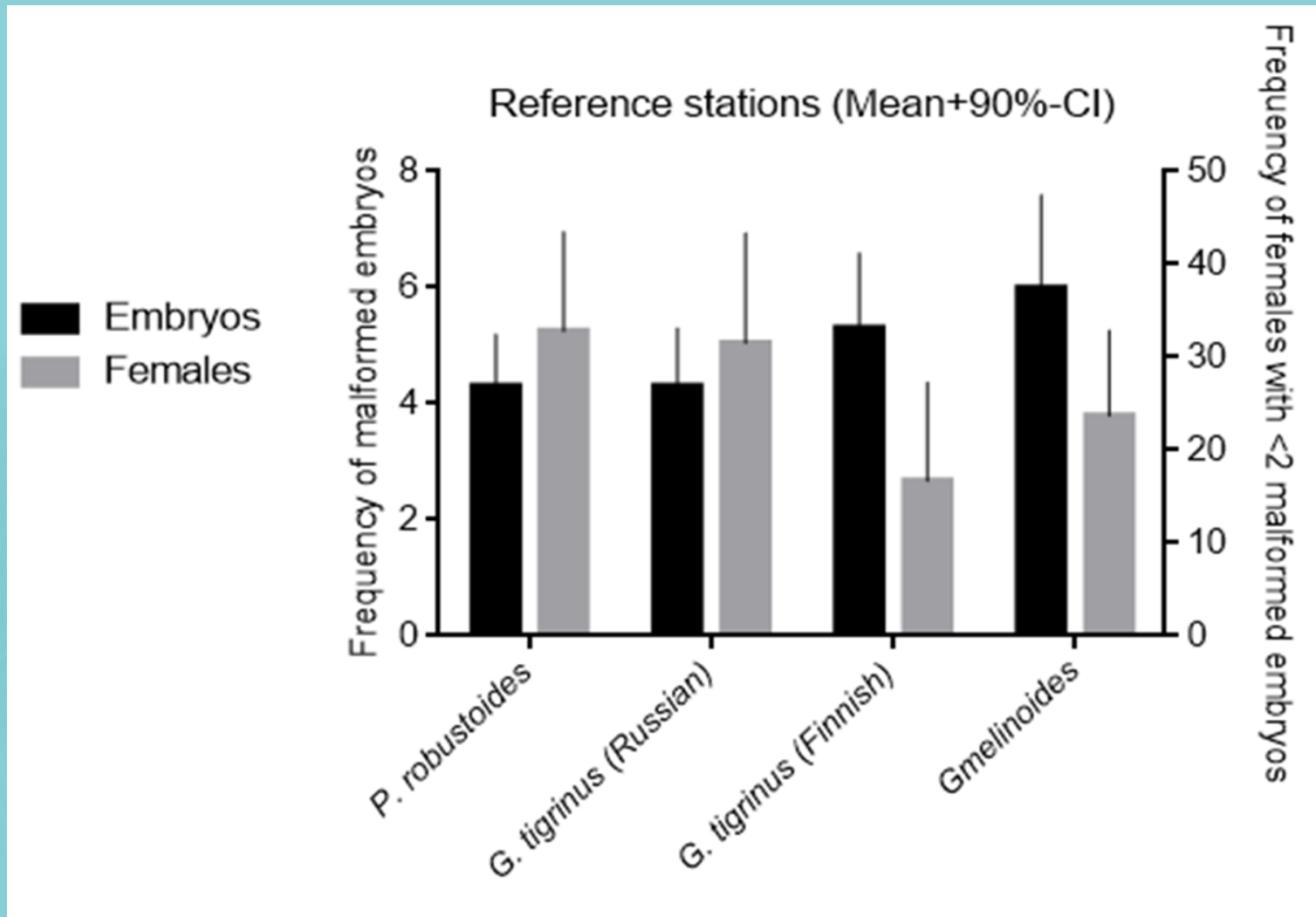
Station	N	E	Depth
3Fa	60,030	29,380	24
9F	60,033	28,583	35
4Fa	60,058	29,193	28
2ugms	60,083	28,717	38
2F	60,115	29,329	19



количество яиц в марзупиуме 1 самки



Уровень репродуктивных нарушений различных видов амфипод - **ФОНОВЫЙ**
 - % встречаемости в популяции аномально сформированных эмбрионов
 - % самок с 2 эмбрионами и более с нарушениями развития



A – *Gmelinoides fasciatus*, B – *Pontogammarus robustoides*, C – *Gammarus tigrinus*

Тестовые виды

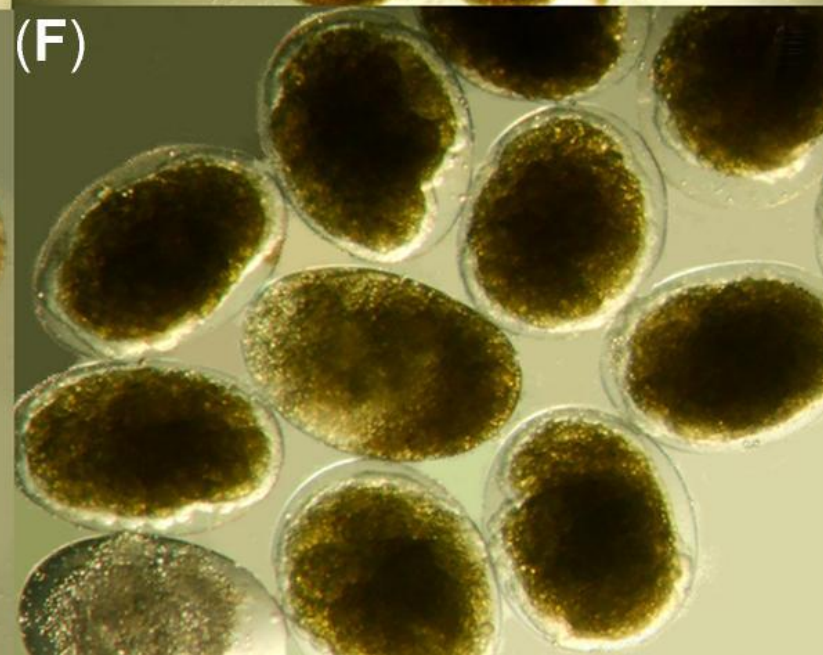
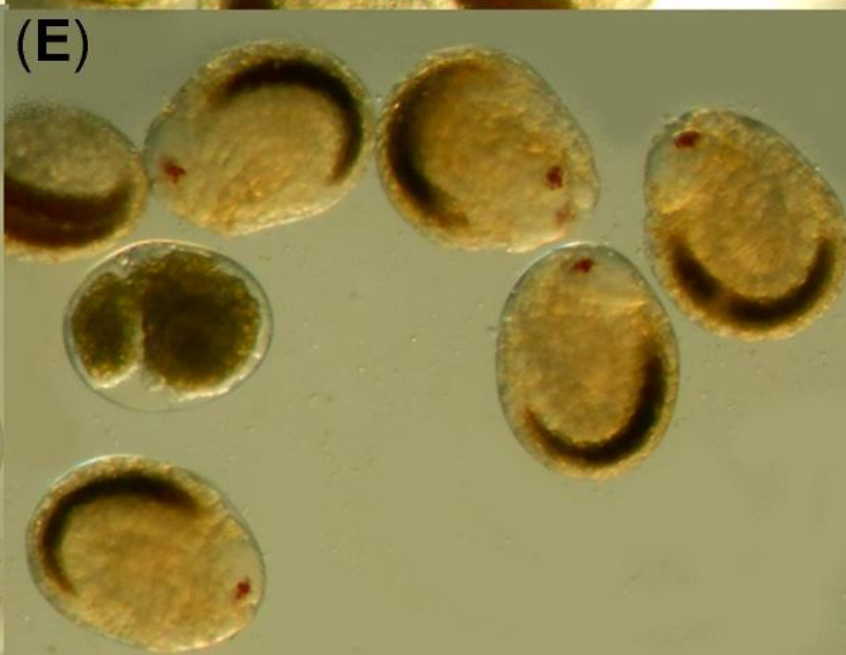
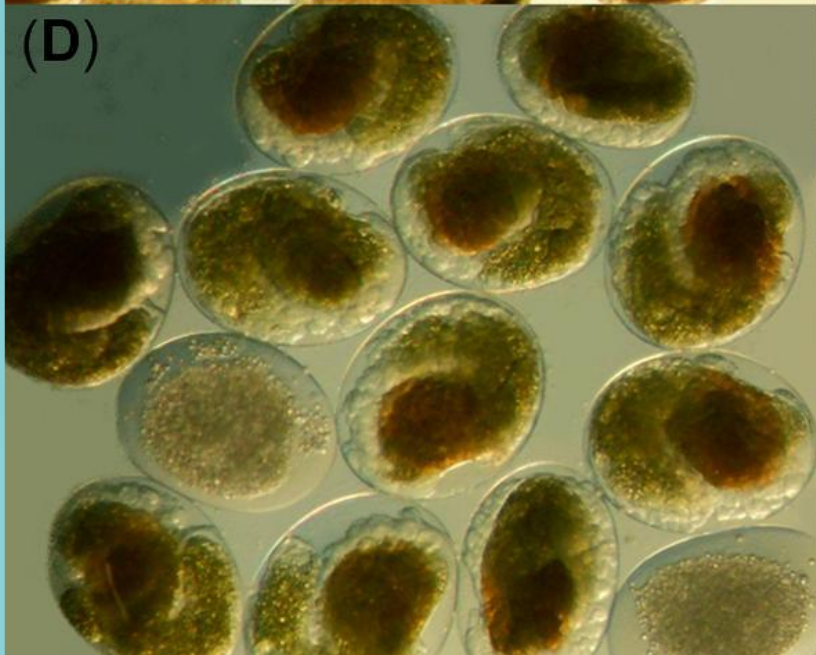
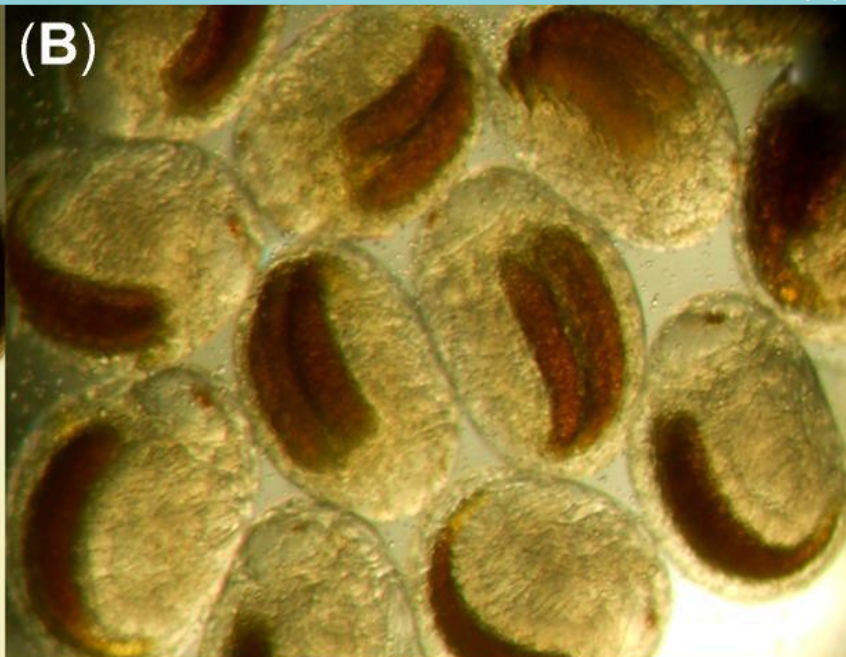
В представленной работе
обсуждаются

результаты
экспериментального
воздействия повышенных
концентраций различных
опасных веществ

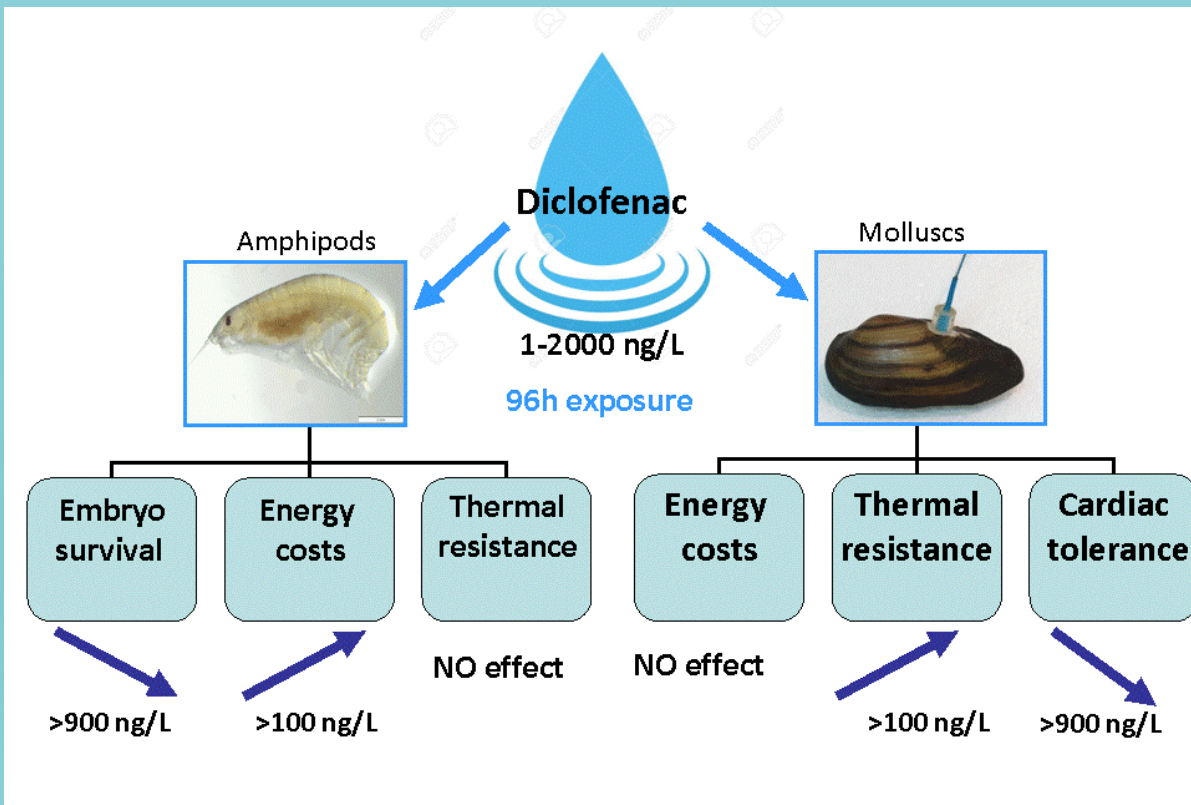
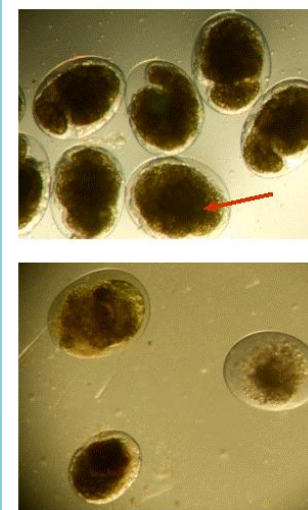
оловосодержащих
соединений (ТБТ),
диклофенака,
алкилфенолов,
токсинов цианобактерий
на состояние эмбрионов
различных амфипод.



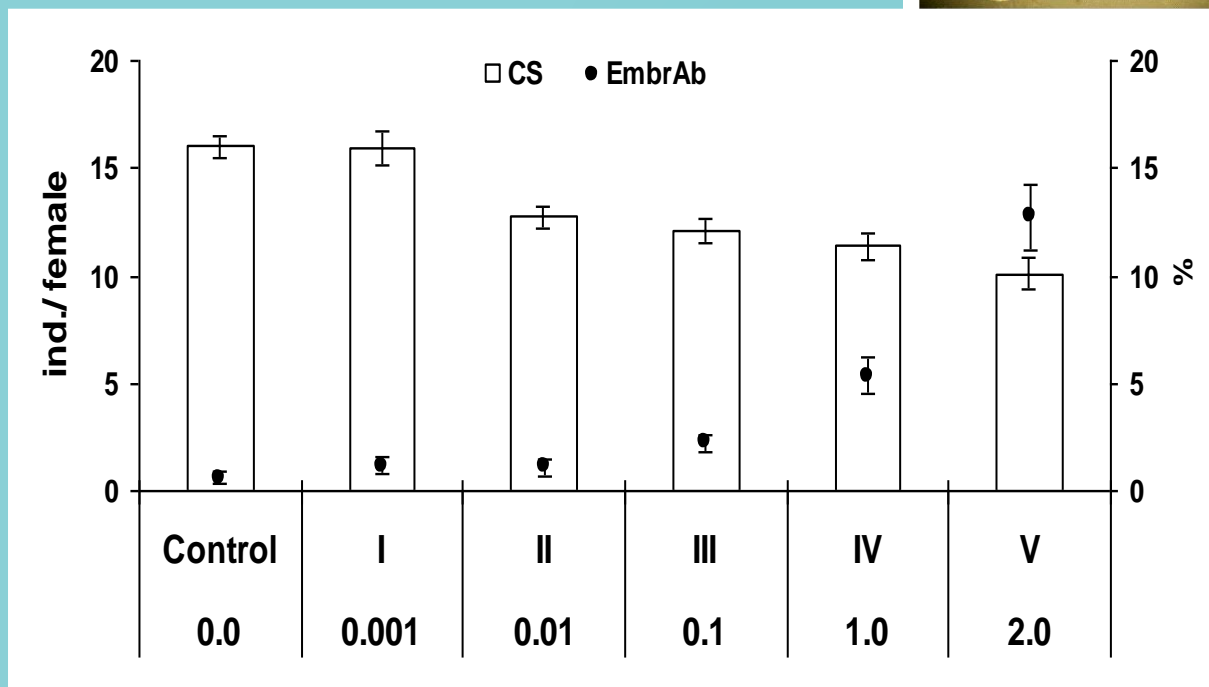
Нормальные эмбрионы (А) и примеры уродливых эмбрионов (В–F), обнаруженные в сумке самок *Gmelinoides fasciatus* после токсического воздействия (оловосодержащих донных отложений)



Влияние диклофенака на плодовитость и состояние эмбрионов. Возрастание до 12 % при увеличении концентрации диклофенака > 1 мкг/л

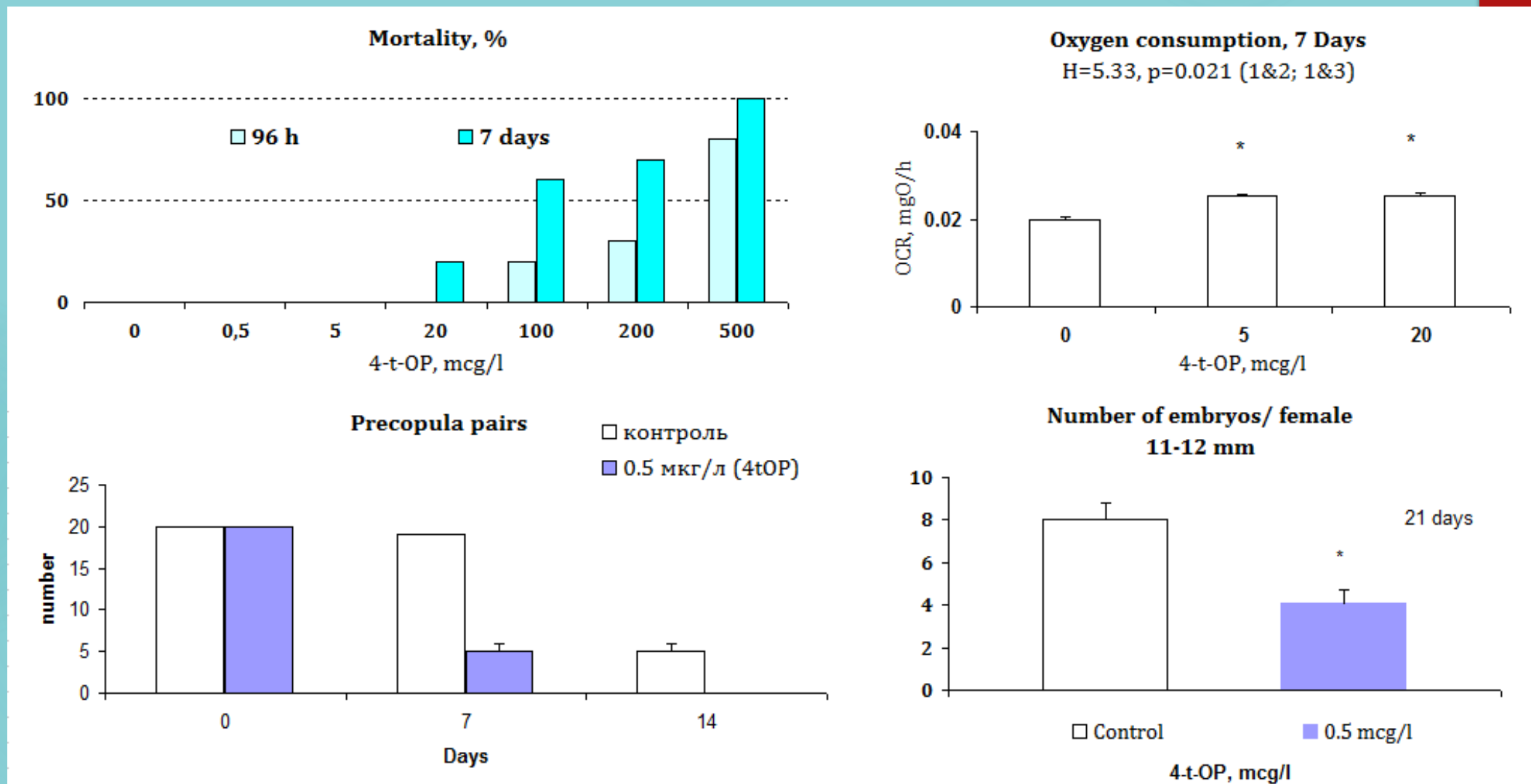


Плодовитость/абerrации



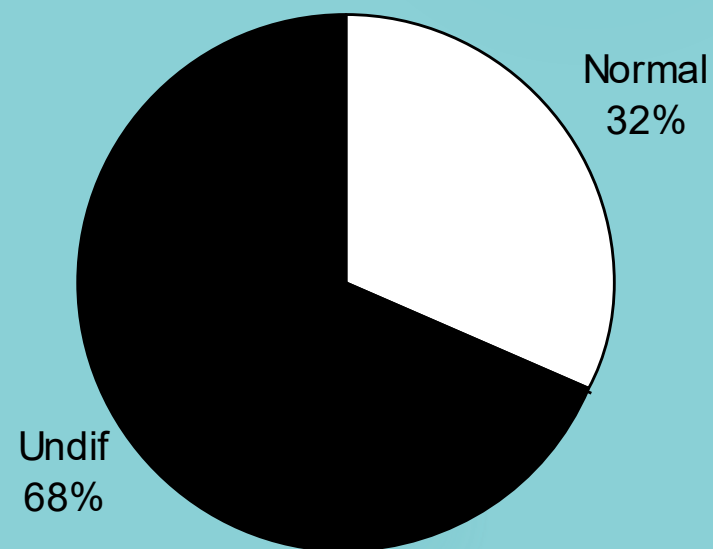
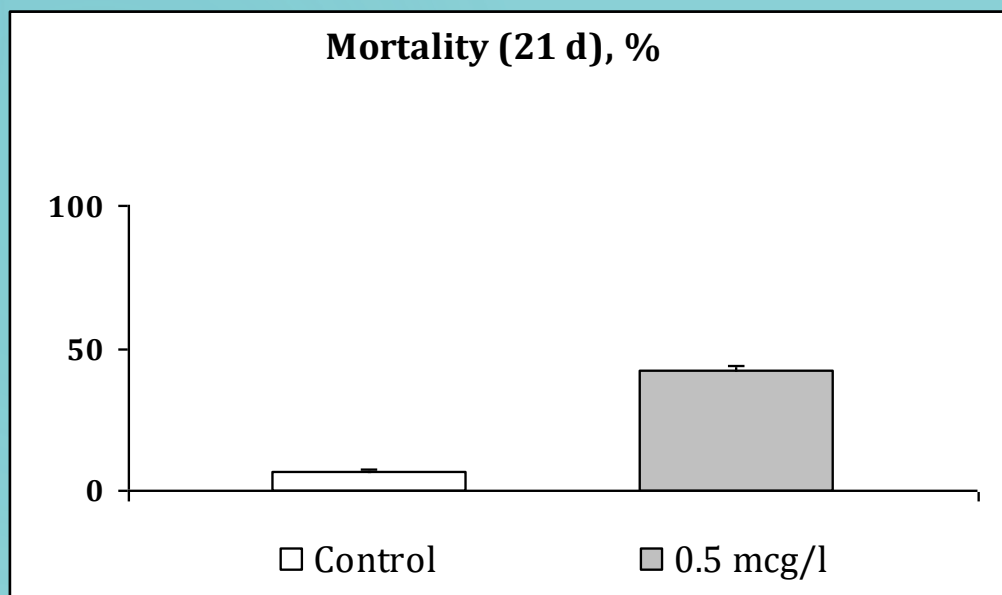
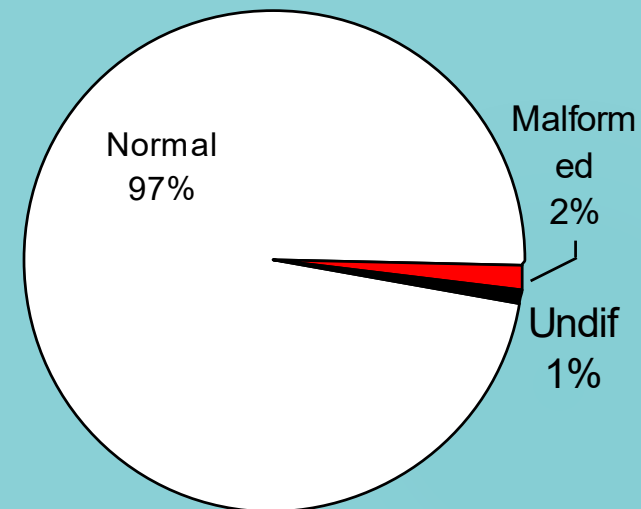
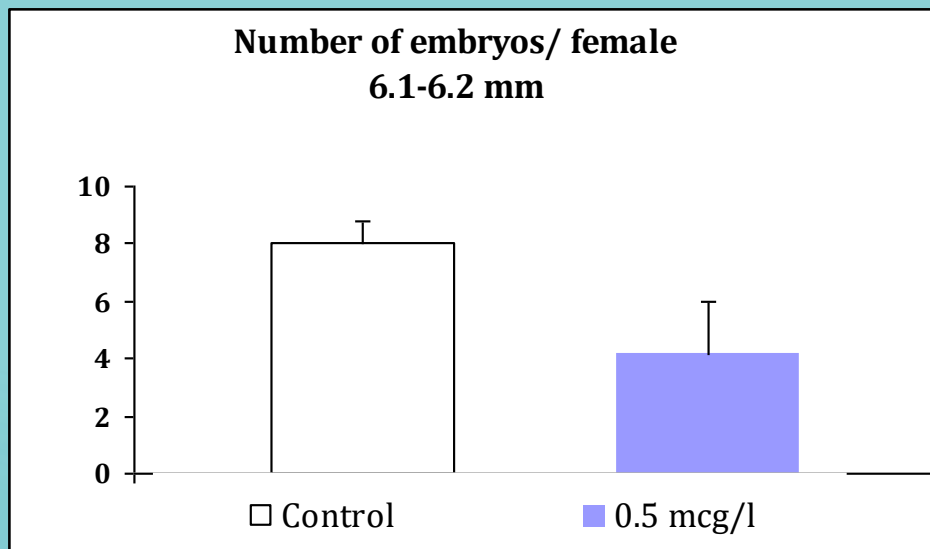
Berezina, N.; Sharov, A.; Chernova, E.; Malysheva, O. 2022. Effects of diclofenac on the reproductive health, respiratory rate, cardiac activity and heat tolerance of aquatic animal. *Environmental Toxicology and Chemistry* 41(3):677-686

Влияние 4-трет-октилфенола на смертность амфипод, плодовитость, потребление кислорода и успех спаривания (*Gmelinoides fasciatus*)



Группа поверхностно-активных веществ представляет собой промышленные загрязнители, в сточных водах. Октилфенол (OP) представляет собой примесь в нонилфеноле коммерческого качества.

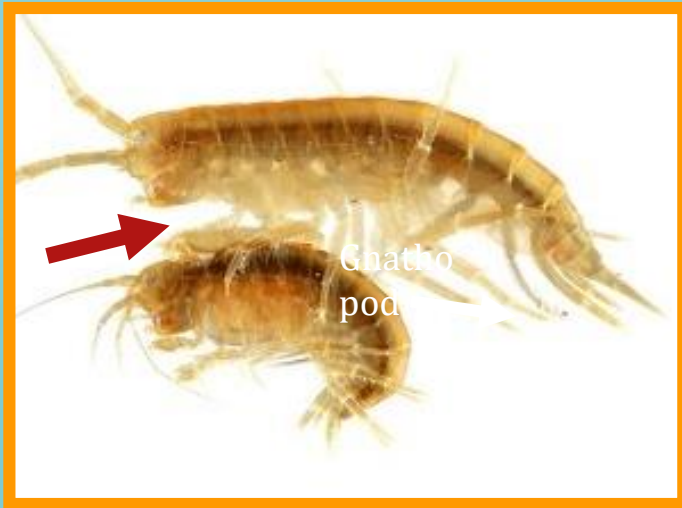
Состояние эмбрионов после экспозиции (21 сут) к 4-t-OP (*Gmelinoides fasciatus*)



Интерсекс и де-маскулинизация у амфипод при воздействии алкилфенолами

Гнатоподы I у самца амфипод нужны для успешного спаривания

Прекопулирующая пара



Precopula pairing

сравнивали пластические признаки у нормальных особей и подвергшихся воздействию 4-t-OP

- длина головы
- гнатоподы I,
- коксальная пластина IV глубина и ширина

%Intersex:

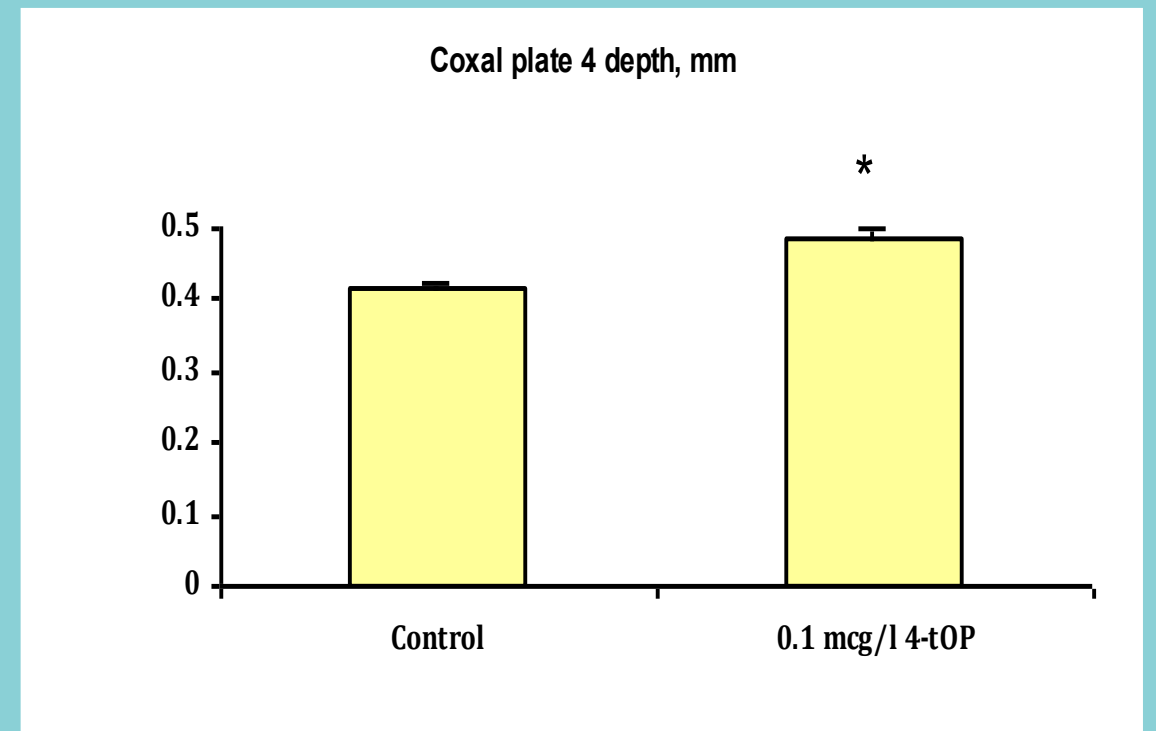
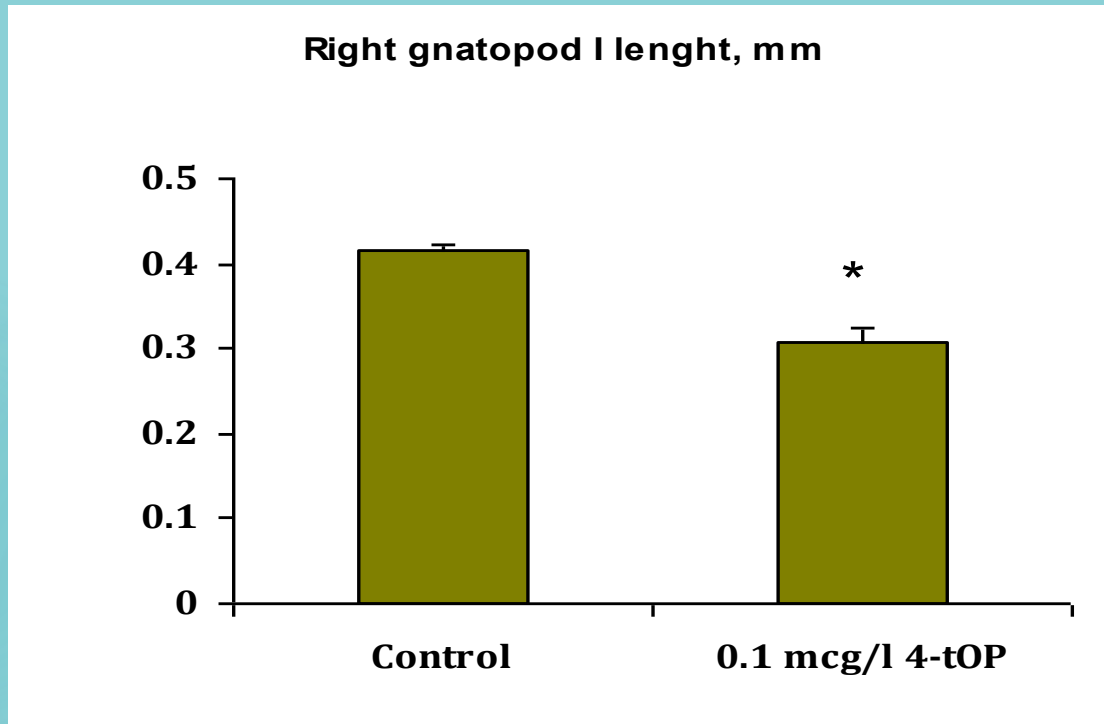
reference
<5-8%

polluted
>14-15%

A.T. Ford et al. 2004 / Marine
Environmental Research 58: 169-173

Признаки самцов амфипод после экспозиции к 4-t-OP (*G. fasciatus*)

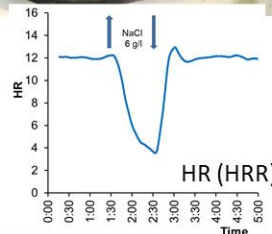
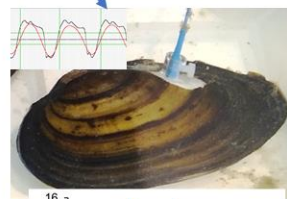
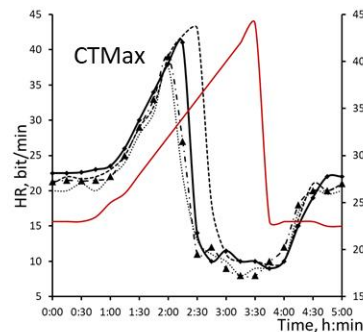
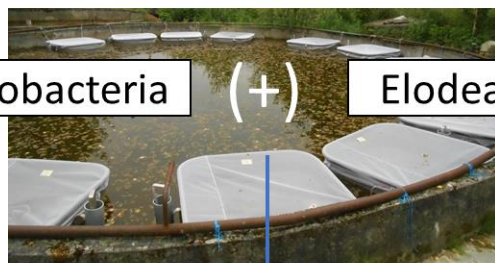
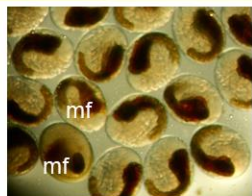
У «интерсексуальных» самцов- гнатоподы меньше и более глубокие тазовые пластины, чем у нормальных самцов.



Нет разницы в длине тела

Состояние эмбрионов амфипод по действию токсинов цианобактерий

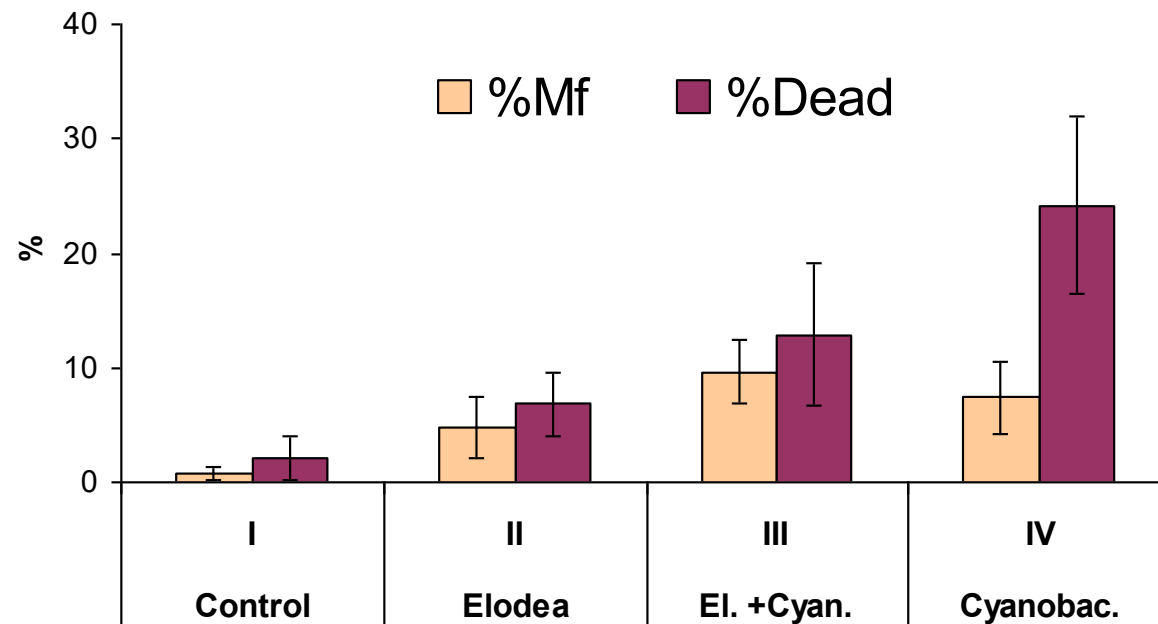
Цyanobacteria (+) Elodea beds



Embryos malformation test: % of malformed (mf)

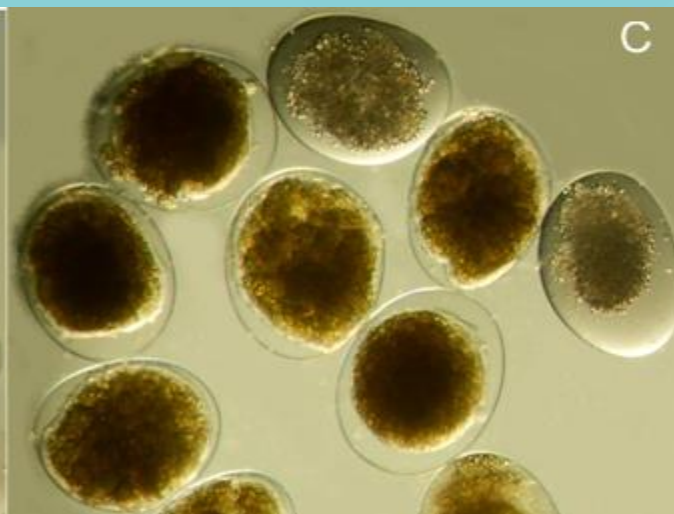
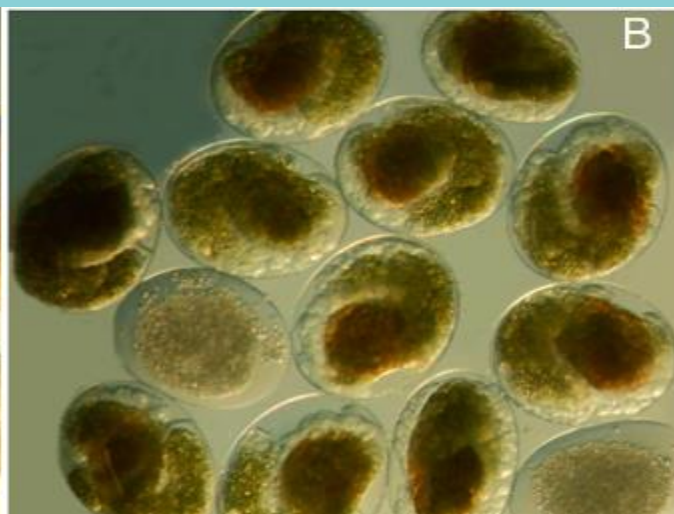
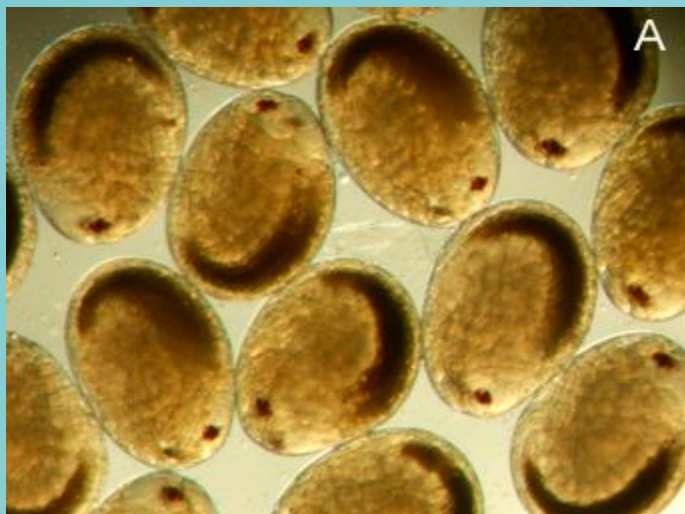
Heat tolerance

Heart rate (HR) and its recovery (HRR)

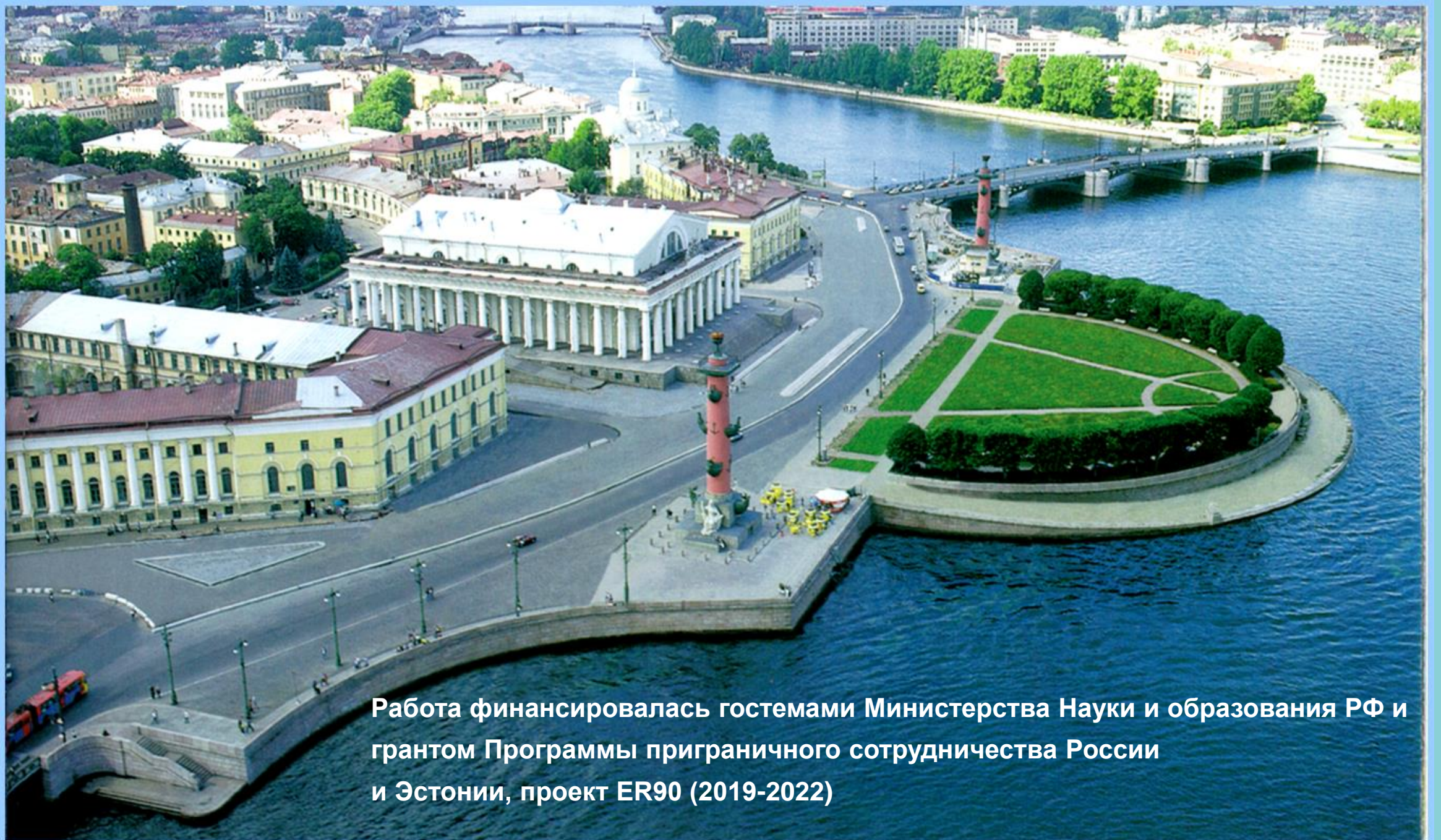


КОНТРОЛЬ

ЦИАНОТОКСИНЫ



- ▶ Предложены новые методы оценки среды обитания с использованием амфипод, основанные на репродуктивных нарушениях и состоянии эмбрионов.
- ▶ Полученные результаты способствуют разработке такого индикатора, как доля аберрантных эмбрионов амфипод, для оценки биологического действия микрополлютантов и состояния окружающей среды в прибрежных районах морей.



Работа финансировалась гостемами Министерства Науки и образования РФ и грантом Программы приграничного сотрудничества России и Эстонии, проект ER90 (2019-2022)