

УДК 574.24+669.018.674-026.86

Е.П. ЖИВИЦКАЯ

старший преподаватель кафедры экологической медицины и радиобиологии¹
E-mail: alena.zhyvitskaya@gmail.com

А.Г. СЫСА, канд. хим. наук, доцент,
доцент кафедры биохимии и биоинформатики²
E-mail: aliaksei.sysa@iseu.by

А.К. ГАЛАХ
студент¹

А.П. ЯКОВЛЕВА
студент¹

¹Международный государственный экологический институт им. А.Д. Сахарова
Белорусского государственного университета, г. Минск, Республика Беларусь

И.Э. БУЧЕНКОВ, канд. с.-х. наук, доцент,
доцент кафедры биохимии и биоинформатики²
E-mail: butchenkow@mail.ru

В.О. ЛЕМЕШЕВСКИЙ, канд. с.-х. наук, доцент,
заведующий кафедрой биохимии и биоинформатики²
E-mail: lemeshonak@mail.ru

²Полесский государственный университет, г. Пинск, Республика Беларусь

Статья поступила 24 сентября 2024 г.

**ХАРАКТЕРИСТИКА ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ТЯЖЕЛЫХ
МЕТАЛЛОВ НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ БОЛЬШОЙ ДАФНИИ
(*DAPHNIA MAGNA*)¹**

В работе исследовано влияние элементов группы тяжелых металлов меди (II), железа (II), свинца и никеля на острую иммобилизацию организмов *Daphnia magna*. Для построения моделей доза-эффект в настоящей работе использована лог-логистическая модель с четырьмя параметрами LL.4 библиотеки *drt* в среде статистических вычислений R. Характер кривых изменения иммобилизации большой дафнии (*Daphnia magna*) в области исследованных концентраций свидетельствует о том, что эффективность угнетения двигательной активности снижается в ряду $Cu^{2+} > Cd^{2+} > Pb^{2+} > Ni^{2+}$, что подтверждается рассчитанными значениями EC_{50} : $EC_{50} Cu^{2+}$ (0,11 мг/л) $\approx EC_{50} Cd^{2+}$ (0,14 мг/л) $< EC_{50} Pb^{2+}$ (1,41 мг/л) $< EC_{50} Ni^{2+}$ (2,84 мг/л). Также исследовано влияние на подвижность *Daphnia magna* бинарных смесей катионов. Показано для ионов Pb^{2+} и Cd^{2+} в области низких концентраций (0,05-0,7 мг/л и 0,05-0,1 мг/л соответственно), что при добавлении Cu^{2+} наблюдался синергетический эффект, а в области высоких концентраций совместный эффект менялся на антагонистический. Что касается ионов Ni^{2+} , то во всем диапазоне концентраций наблюдался антагонистический эффект при добавлении Cu^{2+} . При исследовании эффектов смеси катионов Ni^{2+} с ионами Cu^{2+} , Cd^{2+} и Pb^{2+} все изученные смеси ионов металлов приводили к усилению угнетения подвижности рачков дафнии, т.е. наблюдается синергетический эффект. Порядок токсичности смесей для *Daphnia magna* уменьшался в ряду $Cd+Ni > Cu+Ni > Pb+Ni$.

¹Работа выполнена при финансовой поддержке и в рамках проекта 10.3.05.09 ГПНИ «Природные ресурсы и окружающая среда» подпрограмма 3 «Радиация и биологические системы» на 2021–2025 годы (№ ГР 20211863).

Ключевые слова: гидробионты, биоиндикация, токсичность, экологический мониторинг, угнетение подвижности.

ZHYVITSKAYA Alena P.

Senior Lecturer of the Department of Environmental Medicine and Radiobiology¹

SYSA Aliaksei G., PhD in Biochemistry Sc., Associate Professor,
Associate Professor of the Department of Biochemistry and Bioinformatics²

HALAKH Anastasia K., Student, Environmental Medicine Faculty¹

YAKOVLEVA Alina P., Student¹

¹International Sakharov Environmental Institute of Belarusian State University,
Minsk, Republic of Belarus

BUCHENKOV Igor E., PhD in Agriculture Sc., Associate Professor
Associate Professor of the Department of Biochemistry and Bioinformatics²

LEMIASHEUSKI Viktor A., PhD in Agriculture Sc., Associate Professor,
Head of the Department of Biochemistry and Bioinformatics²

²Polesky State University, Pinsk, Republic of Belarus

CHARACTERISTICS OF THE TOXICOLOGICAL EFFECTS OF HEAVY METALS ON THE PHYSIOLOGICAL PARAMETERS OF *DAPHNIA MAGNA*

The effects of heavy metals copper (II), iron (II), lead and nickel on the acute immobilization of Daphnia magna were studied. To build dose-effect models in this work, a log-logistic model with four parameters LL.4 of the drm library in the statistical computing environment R is used. The shapes of dose-effect curves of the immobilization of Daphnia magna in the area of the studied concentrations indicates that the effectiveness of inhibition of motor activity decreases in the range $Cu^{2+} > Cd^{2+} > Pb^{2+} > Ni^{2+}$, which is confirmed by the calculated values of EC_{50} : $EC_{50} Cu^{2+}$ (0.11 mg/l) $\approx EC_{50} Cd^{2+}$ (0.14 mg/l) $< EC_{50} Pb^{2+}$ (1.41 mg/l) $< EC_{50} Ni^{2+}$ (2.84 mg/l). The effect of binary mixtures of cations on the mobility of Daphnia magna has also been investigated. It was shown for Pb^{2+} and Cd^{2+} ions at low concentrations (0.05-0.7 mg/l and 0.05-0.1 mg/l, respectively) that the addition of Cu^{2+} had a synergistic effect, and at high concentrations the combined effect changed to antagonistic. As for Ni^{2+} ions, an antagonistic effect was observed in the entire concentration range when Cu^{2+} was added. When studying the effects of a mixture of Ni^{2+} cations with Cu^{2+} , Cd^{2+} and Pb^{2+} ions, all the studied mixtures of metal ions led to increased inhibition of the mobility of daphnia crustaceans, i.e. a synergistic effect is observed. The order of toxicity of mixtures for Daphnia magna decreased in the series $Cd+Ni > Cu+Ni > Pb+Ni$.

Keywords: hydrobionts, bioindication, toxicity, environmental monitoring, specific growth rate.

Научная новизна

В работе впервые рассматриваются совместные токсические эффекты нескольких ионов металлов на физиологические показатели *Daphnia magna* в условиях, характерных для водоемов Республики Беларусь.

What this paper adds

For the first time the joint toxic effects of several metal ions on physiological parameters of *Daphnia magna* in conditions typical for water bodies of the Republic of Belarus are considered in this work.

Введение. Токсичность ионов металлов по отношению к водным организмам изучается на протяжении многих десятилетий [1-3], но понимание того, как различные присутствующие в водных системах ионы ме-

таллов вызывают токсичность, по настоящее время остается недостаточным. Отсутствие точного понимания механизмов воздействия затрудняет количественный прогноз токсичности ионов металлов как по отдельности,

так и в различных их комбинациях [4]. Промышленные сточные воды, как правило, содержат смесь токсичных и вредных веществ, которые могут оказывать неблагоприятное воздействие на здоровье человека и водные экосистемы. Ежегодно большое количество сточных вод, содержащих тяжелые металлы, сбрасывается предприятиями автомобильной, горно-обогатительной и металлургической промышленности [5]. Они могут вносить значительный вклад в риск для окружающей среды и загрязнение принимающей водной системы [6]. Указанные загрязнители вызывают экологические проблемы из-за их высокой токсичности даже при низких концентрациях [7], поэтому наличие металлов (Cr, Ni, Fe, Cu) в таких сточных водах необходимо строго контролировать. Тяжелые металлы токсичны, они, как правило, не удаляются рутинными способами очистки сточных вод и не подвергаются биологическому разложению в окружающей среде, поэтому их воздействие даже в низких концентрациях на человека, наземные и водные организмы может иметь серьезные неблагоприятные последствия. Острое воздействие некоторых из этих тяжелых металлов на животных и окружающую среду может вызывать тошноту, рвоту, поражение почек и печени, раздражение кожи и рак легких [8].

В настоящее время важными инструментами для оценки негативных последствий и предотвращения деградации окружающей среды считаются подходы, основанные на биоиндикации. Одним из наиболее широко используемых в мире биоиндикаторных тестов для мониторинга токсичности водных ресурсов является тест на острую токсичность, проводимый с *Daphnia magna*. Этот тест стандартизирован, относительно легко выполним, и в то же время экологически значим.

Обоснованием его использования является широкий диапазон местообитания дафний, их относительно короткий жизненный цикл, небольшие размеры, высокая чувствительность к загрязнению окружающей среды, а также тот факт, что их относительно легко культивировать в лабораторных условиях [9, 10]. Доказанная эффективность тестов с использованием дафний привела к стандартизации процедур проведения испытаний несколькими национальными и международ-

ными организациями, занимающимися охраной окружающей среды [11-15]. В Республике Беларусь объекты *Daphnia magna* также рекомендованы для использования в качестве биоиндикатора в тестах на токсичность. Дафнии подвергаются воздействию изучаемого экотоксиканта, добавляемого в воду в различных концентрациях, в течение 24 или 48 часов. В тестах используется статическая система, в которой растворы не обмениваются во время воздействия. При воздействии стрессоров окружающей среды у дафний наблюдается значительное снижение репродукции, нарушение вертикальной подвижности и моделей поведения и, в конечном итоге, фенотипичность [16-18].

К настоящему времени накоплено большое количество данных, особенно для отдельных соединений (отдельных ионов металлов), однако исследований, проведенных с использованием смесей различных ионов металлов, меньше, хотя подобные исследования чрезвычайно важны с практической точки зрения с учетом возможных взаимодействий между различными металлами. Это может привести к уменьшению или увеличению диапазона безопасных для живых организмов концентраций в смесях металлов по сравнению с диапазонами для отдельных элементов.

Цель работы – определить влияние вод, содержащих элементы группы тяжелых металлов меди (II), железа (II), свинца и никеля, на острую иммобилизацию организмов *Daphnia magna*.

Новизна настоящего исследования заключается в том, что в работе впервые рассматриваются совместные токсические эффекты нескольких ионов металлов на физиологические показатели *Daphnia magna* в условиях, характерных для водоемов Республики Беларусь. Важно отметить, что результаты данного исследования помогут более точно оценить экологические риски и разработать рекомендации по охране водных ресурсов страны.

Практическая значимость исследований заключается в их применении для мониторинга качества водоемов, оценки воздействия тяжелых металлов на экосистемы и разработки эффективных методов очистки сточных вод. Полученные данные могут быть использованы для формирования экологической

политики и установления норм для контроля загрязнения водных ресурсов в Республике Беларусь, что, в свою очередь, будет способствовать улучшению состояния здоровья населения и экосистемы в целом.

Материалы и методы исследования. В работе использованы разведения стандартных водных растворов $Pb(NO_3)_2$, $Cu(NO_3)_2$, $Cd(NO_3)_2$, $Ni(NO_3)_2$ (с содержанием тяжелых металлов 1 мг/мл).

В качестве контроля использовали искусственную пресную воду, которую готовили с использованием деионизированной воды с добавлением KCl (1,2 мг/л), $NaHCO_3$ (13,0 мг/л), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (24,7 мг/л), $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ (58,5 мг/л) [19]. Учитывая, что значение pH природной пресной воды обычно составляет 6-8 [20], начальное значение pH водного раствора, используемого в качестве контроля, было скорректировано до $7,0 \pm 0,1$ с использованием раствора $NaHCO_3$.

Определение острой токсичности с использованием *Daphnia magna*

В работе был проведен 48-часовой тест на острую иммобилизационную токсичность *Daphnia magna*. Для каждой повторности пять особей *Daphnia magna* в возрасте менее 24 часов помещали в 10 мл искусственной пресной среды (контроль) и раствор тестируемого загрязнителя в контрольной среде.

После 48-часового воздействия визуально оценивали количество иммобилизованных организмов, подвергшихся воздействию каждого тестируемого раствора. Токсический эффект выражали как средний процент иммобилизации организмов. Организмы считались неподвижными, когда они не могли плыть вперед в течение 15 с после встряхивания образца, даже если они все еще могли двигать своими усиками. Тесты, которые не соответствовали критерию валидности – максимальной 10% иммобилизации в контрольных группах (содержащие только контрольную среду), считались недействительными и исключались из оценки.

Острая токсичность по отношению к организмам *Daphnia magna* определялась как средняя концентрация, которая вызывала иммобилизующий эффект у 50% тестируемых организмов (EC_{50}). На основании проведенного исследования были определены значения EC_{50} , которые, в свою очередь, определяют концентрацию вещества, вызвавшего

эффект иммобилизации у 50% тестируемых организмов.

Статистический анализ

Для построения моделей доза-эффект в настоящей работе использована логлогистическая модель с четырьмя параметрами (b , c , d , e) LL.4 библиотеки `drm` в среде статистических вычислений R (GraphPad Software, Inc.), которая имеет вид:

$$\varphi(x) = c + \frac{d-c}{1 + e^{b(\log x - \log e)}}$$

где c и d – параметры, определяющие нижнюю и верхнюю горизонтальные асимптоты сигмоидной кривой,

e – соответствует положению точки перегиба,

b – соответствует коэффициенту угла наклона в области переходного состояния.

Оцениваемые параметры моделей имеют вполне определенный физический смысл.

Подгонка параметров моделей к анализируемым эмпирическим данным осуществлялась с использованием метода наименьших квадратов с учетом специально подбираемых весовых коэффициентов.

Статистический анализ оцениваемых параметров проводился с использованием t -критерия Стьюдента, с помощью которого проверялась гипотеза о равенстве каждого коэффициента нулю и рассчитывались p -значения, определяющие достигнутый уровень значимости. Проверка статистической значимости модели в целом осуществлялась путем ее сравнения с моделью простой линейной регрессии, имеющей нулевой коэффициент наклона (горизонтальная линия регрессии соответствует отсутствию зависимости доза-эффект).

Результаты и обсуждение. Количество иммобилизованных организмов – основной параметр, используемый при тестировании воды на токсичность с использованием *Daphnia magna*, при этом рекомендуемая продолжительность воздействия – 48 часов. Результаты исследований приведены на рисунке 1.

Катионы кадмия и меди оказывали более выраженный эффект на двигательную активность рачков дафний.

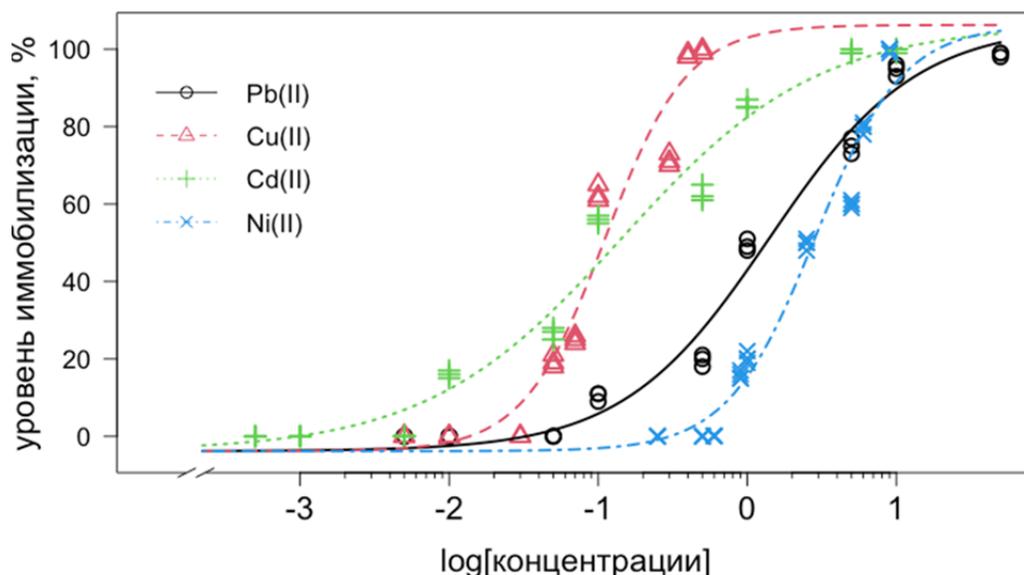


Рисунок 1. – Уровень иммобилизации больших дафний (*Daphnia magna*) в зависимости от концентрации изученных катионов по итогам 48-часового культивирования после воздействия

Таблица 1. – Оценка параметров модели влияния катионов кадмия (II), меди (II), свинца и никеля на уровень иммобилизации рачков дафнии (*Daphnia magna*)

Параметр	Значение параметра	Ст. ошибка	t-критерий	p-значение
b: наклон области перегиба (Cd ²⁺)	-0,7	0,07	-9,4724	6,5*10 ^{-16***}
b: наклон области перегиба (Cu ²⁺)	-1,6	0,2	-8,1238	7,3*10 ^{-13***}
b: наклон области перегиба (Ni ²⁺)	-1,5	0,1	-12,4583	< 2,2*10 ^{-16***}
b: наклон области перегиба (Pb ²⁺)	-0,9	0,1	-7,9053	2,2*10 ^{-12***}
c: нижний предел, %	-3,8	1,7	-2,222	0,028*
d: верхний предел, %	106,3	4,08	26,0306	< 2,2*10 ^{-16***}
e: EC ₅₀ (Cd ²⁺), (мг/л)	0,14	0,03	5,3526	4,8*10 ^{-7***}
e: EC ₅₀ (Cu ²⁺), (мг/л)	0,11	0,01	10,6609	< 2,2*10 ^{-16***}
e: EC ₅₀ (Ni ²⁺), (мг/л)	2,84	0,22	12,9283	< 2,2*10 ^{-16***}
e: EC ₅₀ (Pb ²⁺), (мг/л)	1,41	0,21	6,7513	7,2*10 ^{-10***}

Примечание – Уровень значимости * – p < 0,05; *** – p < 0,001

Так, уже при концентрации ионов 0,05 мг/л наблюдалась иммобилизация 26,6±1,5% организмов модельного объекта в случае ионов кадмия и 19,6±1,4% – в случае ионов меди. Для катионов Pb²⁺ и Ni²⁺ подобный эффект наблюдался при концентрациях 0,7 мг/л и 1,0 мг/л соответственно.

Статистический анализ значимости оцененных параметров модели для исследуемых

соединений по t-критерию представлен в таблице 1.

Установлено, что коэффициенты наклона (b), верхнего и нижнего пределов (c и d), а также значений ED₅₀ статистически значимы для всех изученных катионов. Зависимость уровня иммобилизации от концентрации катионов через 48 часов описываются уравнениями:

1) для иона Cu²⁺:

$$\begin{aligned} & \text{уровень иммобилизации} \\ & = -3,8 \\ & + \frac{106,3 + 3,8}{1 + e^{-1,6 * (\log C(\text{мг/л}) - \log 0,11)}} \\ 2) \text{ для катиона } \text{Cd}^{2+}: \\ & \text{уровень иммобилизации} \\ & = -3,8 \\ & + \frac{106,3 + 3,8}{1 + e^{-0,7 * (\log C(\text{мг/л}) - \log 0,14)}} \\ 3) \text{ для иона } \text{Pb}^{2+}: \\ & \text{уровень иммобилизации} \\ & = -3,8 \\ & + \frac{106,3 + 3,8}{1 + e^{-0,9 * (\log C(\text{мг/л}) - \log 1,41)}} \\ 4) \text{ для катиона } \text{Ni}^{2+}: \\ & \text{уровень иммобилизации} \\ & = -3,8 \\ & + \frac{106,3 + 3,8}{1 + e^{-1,5 * (\log C(\text{мг/л}) - \log 2,84)}} \end{aligned}$$

Характер кривых изменения иммобилизации большой дафнии (*Daphnia magna*) в области исследованных концентраций свидетельствует о том, что эффективность угнетения двигательной активности особей большой дафнии снижается в ряду $\text{Cu}^{2+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Pb}^{2+} > \text{Ni}^{2+}$, что подтверждается рассчитанными значениями EC_{50} : $\text{EC}_{50} \text{Cu}^{2+}$ (0,11 мг/л) $\approx \text{EC}_{50} \text{Cd}^{2+}$ (0,14 мг/л) $< \text{EC}_{50} \text{Pb}^{2+}$ (1,41 мг/л) $< \text{EC}_{50} \text{Ni}^{2+}$ (2,84 мг/л).

Далее в работе исследованы эффекты бинарных смесей изучаемых тяжелых металлов. Исследовано влияние на подвижность *Daphnia magna* смеси катиона, показавшего максимальную эффективность: Cu^{2+} в концентрации равной EC_{50} (0,11 мг/л) – и ионов кадмия, свинца и никеля в концентрациях как в случае моноэкспериментов (рисунок 2). Аналогичным способом исследованы эффекты смеси катионов никеля (самый неэффективный с точки зрения угнетения подвижности) в концентрации равной EC_{50} (2,84 мг/л) с ионами меди, кадмия и свинца (рисунок 3).

Как следует из данных, представленных на рисунке 2, для ионов свинца и кадмия в области низких концентраций (0,05-0,7 мг/л и 0,05-0,1 мг/л соответственно) с добавлением меди наблюдался синергетический эффект (совместный эффект больше суммы эффектов при их независимом действии), т.е. низкие концентрации Pb и Cd потенцировали угнетение подвижности рачков ионами меди. В тоже время в области высоких концентраций совместный эффект менялся на антагонистический (общий эффект меньше суммы эффектов каждого фактора). Что касается ионов никеля, то во всем диапазоне концентраций наблюдался антагонистический эффект.

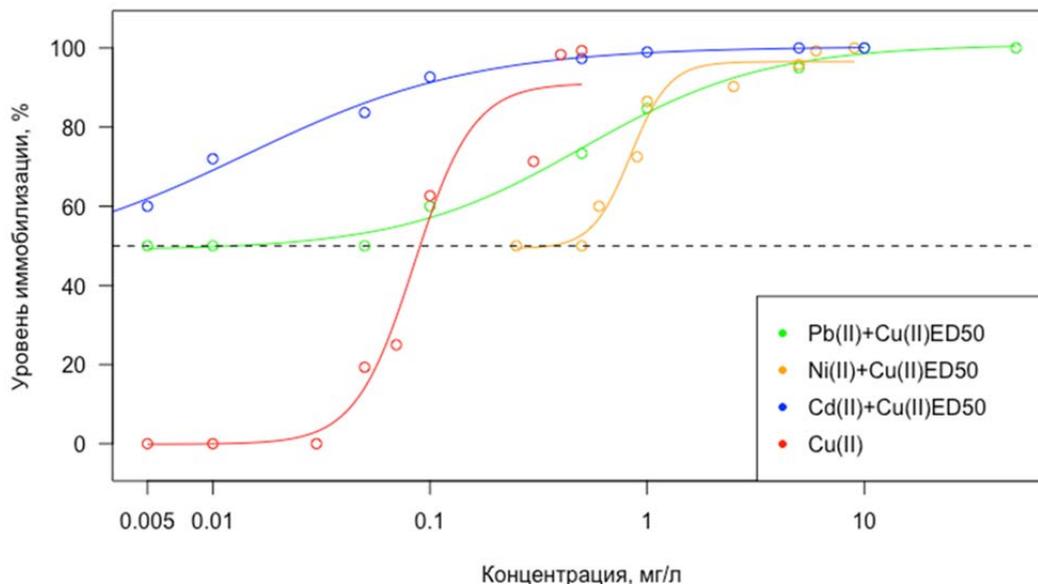


Рисунок 2. – Логарифмические кривые зависимости доза-эффект влияния на подвижность *Daphnia magna* металлов Pb, Ni и Cd в присутствии Cu

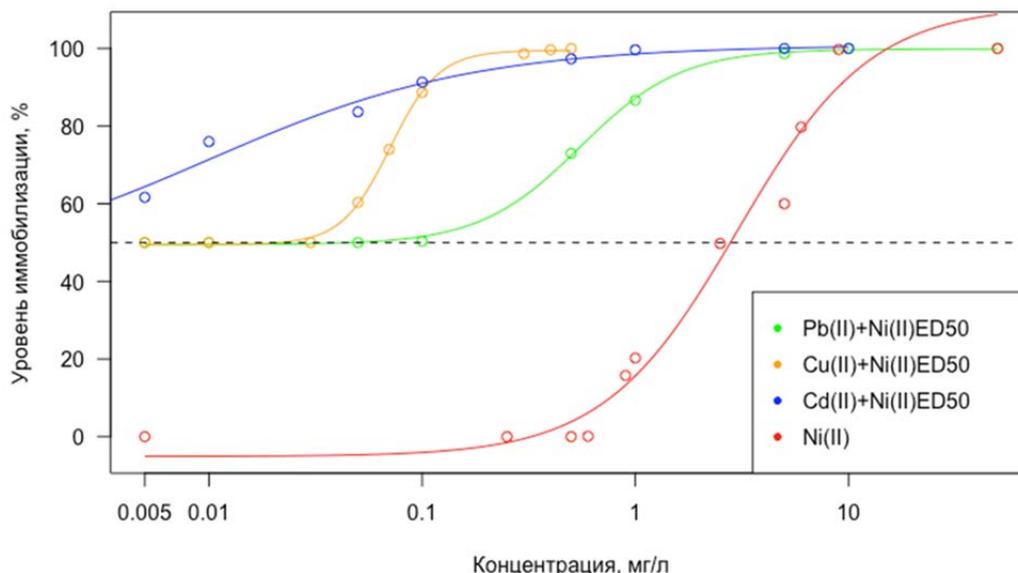


Рисунок 3. – Логарифмические кривые зависимости доза-эффект влияния на подвижность *Daphnia magna* металлов Pb, Cu и Cd в присутствии Ni

Совершенно иные результаты получены при исследовании эффектов смеси катионов никеля (самый неэффективный с точки зрения угнетения подвижности) в концентрации, равной EC_{50} с ионами меди, кадмия и свинца. Как следует из данных, представленных на рисунке 3, все изученные смеси ионов металлов приводят к усилению угнетения подвижности рачков дафнии, т.е. наблюдается синергетический эффект. Порядок токсичности смесей для *Daphnia magna* уменьшался в ряду $Cd+Ni > Cu+Ni > Pb+Ni$.

В ряду исследований показано, что тяжелые металлы взаимодействуют друг с другом, вызывая синергетические, антагонистические и аддитивные эффекты при попадании в водные организмы.

Например, воздействие смеси Cd и Zn на четырех различных дафнид (*Ceriodaphnia dubia*, *Daphnia magna*, *Daphnia ambigua* и *Daphnia pulex*) вызывало антагонистические эффекты из-за конкуренции этих двух элементов за сайты связывания у всех этих видов, за исключением *D. magna* [21].

Аналогичным образом токсичность смеси Cd и Zn была слабее, чем токсичность отдельных металлов для мангрового барвинка, *Tytrantonus fuscatus var radula* [22].

Однако в исследовании, проведенном Meng et al. [23], было обнаружено, что смесь Hg, Cd, Cu, Pb и Cr синергически взаимодей-

ствует с *D. magna*. Кроме того, Nagopian-Schlekat et al. [24] показали, что смесь Cd, Cu, Ni, Pb и Zn оказывала более сильное токсическое воздействие, чем воздействие отдельных металлов на моллюсков *Amphiascus tenuiremis*. Эти результаты свидетельствуют о том, что комбинированное воздействие различных смесей металлов является сложным и нуждается в дальнейшем изучении у различных водных видов.

Заключение. В работе изучено влияние вод, содержащих элементы группы тяжелых металлов меди (II), железа (II), свинца и никеля, на острую иммобилизацию организмов *Daphnia magna*. Показано, что:

1) эффективность угнетения двигательной активности особей большой дафнии (*Daphnia magna*) снижается в ряду $Cu^{2+} > Cd^{2+} > Pb^{2+} > Ni^{2+}$;

2) при исследовании эффектов смеси катионов меди (самый эффективный с точки зрения угнетения подвижности) для ионов свинца и кадмия в области низких концентраций (0,05-0,7 мг/л и 0,05-0,1 мг/л, соответственно) с добавлением меди в концентрации, равной EC_{50} , наблюдался синергетический эффект, а в области высоких концентраций совместный эффект менялся на антагонистический. Что касается ионов никеля, то во всем диапазоне концентраций наблюдался антагонистический эффект;

3) при исследовании эффектов смеси катионов никеля (самый неэффективный с точки зрения угнетения подвижности) в концентрации, равной EC_{50} с ионами меди, кадмия и свинца все изученные смеси ионов металлов приводили к усилению угнетения подвижности рачков дафнии, т.е. наблюдается синергетический эффект. Порядок токсичности смесей для *Daphnia magna* уменьшался в ряду $Cd+Ni > Cu+Ni > Pb+Ni$.

Список литературы

1. Ali, H. Bioaccumulation of non-essential hazardous heavy metals and metalloids in freshwater fish / H. Ali, E. Khan // Risk to human health. Environ. Chem. Lett. – 2018. – № 16. – P. 903–917.
2. Tchounwou, P. B. Heavy Metal Toxicity and the Environment / P. B. Tchounwou, C. G. Yedjou, A. K. Patlolla [et al.] // Molecular, Clinical and Environmental Toxicology. – 2012. – № 101. – P. 133–164.
3. Tepanosyan, G. Continuous impact of mining activities on soil heavy metals levels and human health / G. Tepanosyan, L. Sahakyan, O. Belyaeva [et al.] // Sci. Total Environ. – 2018. – № 639. – P. 900–909.
4. Nys, C. Systematic evaluation of chronic metal-mixture toxicity to three species and implications for risk assessment / C. Nys, L. Versieren, K.I. Cordery [et al.] // Environ. Sci. Technol. – 2017. – № 51. – P. 4615–4623.
5. Kim, T. K. Removal of heavy metals in electroplating wastewater by powdered activated carbon (PAC) and sodium diethyldithiocarbamate-modified PAC. / T. K. Kim, T. Kim, W. S. Choe [et al.] // Environ. Eng. Res. – 2018. – № 23(3). – P. 301–308.
6. Jaishankar, M. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals / M. Jaishankar, T. Tseten, N. Anbalagan [et al.] // Interdiscipl. Toxicol. – 2014. – № 7. – P. 60–72.
7. Sall, M. L. Toxic heavy metals: impact on the environment and human health, and treatment with conducting organic polymers, a review / M. L. Sall, A. K. D. Diaw, D. Gningue-Sall [et al.] // Environ. Sci. Pollut. Control Ser. – 2020. – № 27 (24). – P. 29927–29942.
8. Jan, A. T. Heavy metals and human health: mechanistic insight into toxicity and counter defense system of antioxidants / A. T. Jan, M. Azam, K. Siddiqui [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2015. – № 16. – P. 29592–29630.
9. Bacchetta, R. Chronic toxicity effects of $ZnSO_4$ and ZnO nanoparticles in *Daphnia magna* / R. Bacchetta, N. Santo, M. Marelli [et al.] // Environ. Res. – 2017. – № 152. – P. 128–140.
10. Methneni, N. Persistent organic and inorganic pollutants in the effluents from the textile dyeing industries: ecotoxicology appraisal via a battery of biotests / N. Methneni, J. A. Morales-González, A. Jaziri [et al.] // Environ. Res. – 2021. – 196. – 110956 p.
11. Determination of the Inhibition of the Mobility of *Daphnia Magna* Straus (Cladocera, Crustacea) – Acute Toxicity Test. ISO standard 6341; 1996. – URL.: <https://cdn.standards.iteh.ai/samples/54614/bc25430113c94dcab3ccdb6e6a097e6c/ISO-6341-2012.pdf> (accessed 18 March 2024).
12. Methods for the Determination of Ecotoxicity: L 383 A/172 – Acute Toxicity for *Daphnia*. Official Journal of the European Communities; 1992. – URL.: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/HTML/?uri=CELEX%3A31992L0069> (accessed 18 March 2024).
13. Biological Test Method: EPS 1/RM/11 – Acute Lethality Test Using *Daphnia* Spp. Environment Canada; 1996. – URL.: <https://www.canada.ca/content/dam/eccc/migration/main/faunescience-wildlifescience/dfad4a5b-4216-4ed8-af90-98a6de8f7b6b/rm11e.pdf> (accessed 18 March 2024).
14. Standart EPA-821-R-02-012: Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms; 2015. U.S. Environmental Protection Agency; – URL.: https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-08/documents/acute-freshwater-and-marine-wet-manual_2002.pdf (accessed 18 March 2024).
15. Test No. 202: *Daphnia* Sp. Acute Immobilisation. OECD Guideline for the Testing of Chemicals; 2004. – URL.: https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-202-daphnia-sp-acute-immobilisation-test_9789264069947-en (accessed 18 March 2024).

16. Coors, A. Synergistic, antagonistic and additive effects of multiple stressors: predation threat, parasitism and pesticide exposure in *Daphnia magna*. J. / A. Coors, L. De Meester // *Appl. Ecol.* – 2008. – № 45. – P. 1820–1828.
17. Deleebeeck, N. M. E. A novel method for predicting chronic nickel bioavailability and toxicity to *Daphnia magna* in artificial and natural waters / N. M. E Deleebeeck, K. A. C. D. Schamphelaere, C. R. Janssen // *Environ. Toxicol. Chem.* 2008. – № 27. – P. 2097–2107.
18. Hall, M. D. Interactions between environmental stressors: the influence of salinity on host-parasite interactions between *Daphnia magna* and *Pasteuria ramosa* / M. D. Hall, A. Vettiger, D. Ebert // *Oecologia.* – 2013. – № 171. – P. 789–796.
19. Akkanen, J. Biotransformation and bioconcentration of pyrene in *Daphnia magna* / J. Akkanen, J. V. K. Kukkonen // *Aquat. Toxicol.* – 2003. – № 64. – P. 53–61.
20. Cardwell AS, Adams WJ, Gensemer RW et al. Chronic toxicity of aluminum, at a pH of 6, to freshwater organisms: empirical data for the development of international regulatory standards/criteria / A. S. Cardwell, W. J. Adams, R. W. Gensemer [et al.] // *Environ. Toxicol. Chem.* – 2018. – № 37. – P. 36–48.
21. Shaw, J. R. Comparative toxicity of cadmium, zinc, and mixtures of cadmium and zinc to daphnids / J. R. Shaw, T. D. Dempsey, C. Y. Chen [et al.] // *Environ. Toxicol. Chem.* – 2006. – № 25 (1). – P. 182–189.
22. Otitoloju, A. A. Evaluation of the joint-action toxicity of binary mixtures of heavy metals against the mangrove periwinkle *Tympanotonus fuscatus* var *radula* (L.) / A. A. Otitoloju // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* – 2002. – № 53 (3). – P. 404–415.
23. Meng, Q. The Acute and Chronic Toxicity of Five Heavy Metals on the *Daphnia magna* / Q. Meng, X. Li, Q. Feng, Z. Cao // *The 2nd International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering (iCBBE 2008)*, May 16-18; Shanghai; China. Shanghai. – 2008. – P. 4555.
24. Hagopian-Schlekat T, Chandler GT, Shaw TJ. Acute toxicity of five sediment-associated metals, individually and in a mixture, to the estuarine meiobenthic harpacticoid copepod *Amphiascus tenuiremis* / T. Hagopian-Schlekat, G.T. Chandler, T. J. Shaw // *Mar. Environ. Res.* 2001. – № 51. – P. 247 p.

Received 24 September 2024