

# БИОТЕСТИРОВАНИЕ ВОДЫ ИЗ ОЗЕРА ИМАНДРА (МУРМАНСКАЯ ОБЛАСТЬ) С ПОМОЩЬЮ МУШКИ ДРОЗОФИЛЫ ЧЕРНОБРЮХОЙ (*DROSOPHILA MELANOGASTER*)

М.В. Смирнова<sup>1\*</sup>, Д.Б. Денисов<sup>2\*\*</sup>

<sup>1</sup>Лаборатория медицинских и биологических технологий и <sup>2</sup>Институт проблем промышленной экологии Севера, Кольский научный центр Российской академии наук, Апатиты, Россия

Эл. почта: \*zbe3do4et@mail.ru; \*\*d.denisow@ksc.ru

Статья поступила в редакцию 29.03.2024; принята к печати 29.04.2024

Мушки *D. melanogaster* исследованы в качестве тест-модели для биотестирования воды из природного источника. Воду с поверхности оз. Имандра (Мурманская область) в 6 пунктах отбора проб смешивали в пробирках с питательной средой в пропорциях 1:3. В пробирки помещали мух для откладки яиц с последующим удалением и наблюдением за личинками и имаго. По мере окукливания личинок измеряли высоту расположения пупариев и вычисляли соотношение полов после начала эклозии имаго. Показано, что при сравнении с контролем статистически значимые различия в высоте расположения пупариев над средой показали все пробы, отмечена гибель имаго в трех пробах и изменение соотношения полов в двух пробах. Отмечено грибковое поражение среды во всех опытных образцах.

**Ключевые слова:** *Drosophila melanogaster*, токсичность, пробы воды, биотестирование.

## BIOLOGICAL TESTING OF WATER FROM THE LAKE IMANDRA (MURMANSK REGION) USING THE FRUIT FLY *DROSOPHILA MELANOGASTER*

M.V. Smirnova<sup>1\*</sup>, D.B. Denisov<sup>2\*\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Medical and Biological Technologies and <sup>2</sup>Institute of North Industrial Ecology Problems, Kola Science Centre of the Russian Academy of Sciences, Apatity, Russia

Email: \*zbe3do4et@mail.ru; \*\*d.denisow@ksc.ru

Fruit flies *D. melanogaster* were studied as a test model for biological testing of water from natural sources. Samples of surface water of the lake Imandra (Murmansk Region) were obtained at six sites and mixed with feeding medium for flies in test tubes at a 1:3 ratio. Flies were placed into the tubes for egg laying and then removed. The development of larvae up to imago was observed. Upon pupation, the height of puparia placement was measured. After eclosion, the ratios of males and females were determined. Statistically significant changes from control in the heights of puparia position above medium were found in all samples. Imago losses were found in three samples. Changes in sex ratio were found in two samples. Fungal contamination was present in all samples.

**Keywords:** *Drosophila melanogaster*, toxicity, water samples, biological testing.

### Введение

Водные ресурсы Арктики определяют развитие многих отраслей производства, например, энергетики, горно-перерабатывающих предприятий, рыболовства и рыбоводства, а также являются источником питьевой воды. Среди особенностей антропогенного влияния на водоемы Арктики можно выделить образование большого количества отработанных руд и мелкодисперсных отходов, сбрасываемых в озера и реки после горных разработок, недостаточная очистка сточных вод или ее отсутствие, использование водных ресурсов для энергетики (происходит искусственное нагревание вод). Также имеет значение приток

хозяйственно-бытовых стоков и загрязнение территорий водосборов бытовым и другим мусором. Все эти факторы привели к деградации экосистем и снижению ресурсного потенциала вод [4, 5, 20].

Озеро Имандра считается самым крупным водоемом Мурманской области. Оно состоит из трех плесов, соединенных салмами (Большая, Йокостровская и Бабинская Имандра). Его длина – 109 км, средняя ширина – 3,19 км, площадь с островами – 880,4 км<sup>2</sup>, объем воды – 10,86 км<sup>3</sup> [7]. Водоем уже долгое время подвергается загрязнению стоками предприятий горнодобывающей и металлургической промышленности, а также тепловому воздей-

ствию из-за Кольской АЭС, сбрасывающей теплые воды в губу Молочная, что вызвало значительные изменения химического состава воды и ухудшение экологического состояния озера [3, 6]. Наиболее загрязненным является плес Большая Имандра, в который поступают стоки медно-никелевого комбината (губа Монче) и ОАО «Апатит» (губа Белая) [2] (рис. 1). Указанные на рисунке точки находятся либо в зоне воздействия промышленных предприятий, либо на удалении от них (губа Уполокша и губа

Кунчаст), но испытывающие как аэротехногенное загрязнение водосбора плеса Бабинской Имандры, так и накопление марганца, алюминия и железа в донных отложениях, происходящее из-за речных притоков и смешения вод из губы Монче с открытой частью Большой Имандры [4, 37].

В связи с этими проблемами необходима всесторонняя оценка токсичности воды с точки зрения не только по содержанию химических веществ, но и по влиянию на живые организмы.

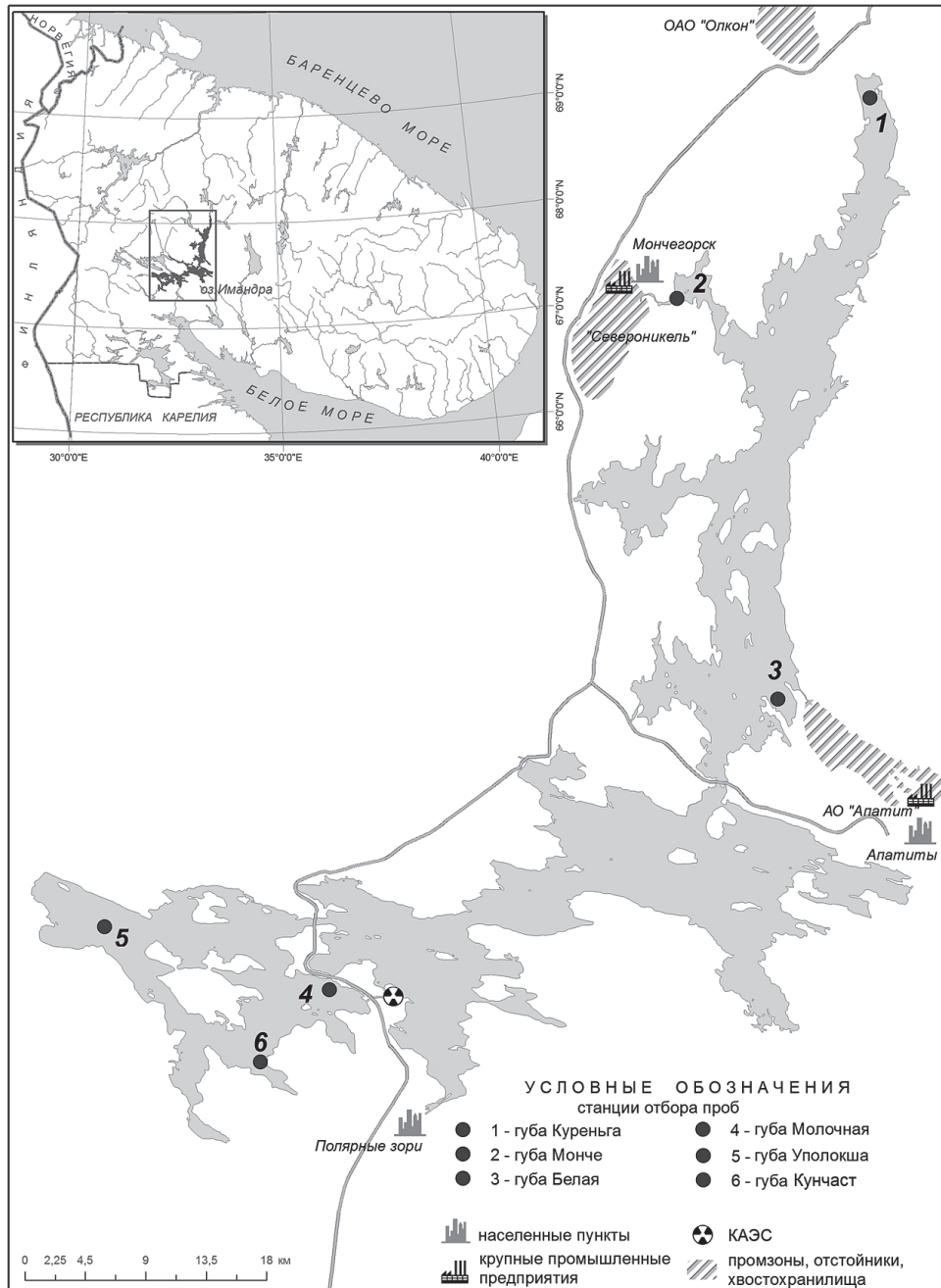


Рис. 1. Карта точек забора воды для исследований [3] (с изменениями)

Наряду с методами биоиндикации в настоящее время актуальны и методы биотестирования, позволяющие в лабораторных условиях оценить влияние различных факторов среды на живые организмы посредством использования тестовых систем *in vivo*.

Некоторые традиционные тесты *in vivo* ограничены в использовании из-за этических норм и трудностей с содержанием тест-объектов, поэтому предпочтение отдается более простым экспериментальным моделям, таким как круглые черви и рыбы данио. *Drosophila melanogaster* (плодовая мушка) является идеальной моделью для исследований, в первую очередь генотоксичности, из-за значительного числа генов, гомологичных человеческим (более 60%) и почти 75% генов, имеющих функции, связанные с заболеваниями человека [14, 15, 18]. В настоящее время дрозофилу рассматривают еще и как модель для токсикологических исследований, разрабатываются различные протоколы проведения тестов с применением разных стадий ее развития [8, 27].

Дрозофилы как голометаболические насекомые в своем развитии проходят четыре различные стадии, занимающие по продолжительности примерно 10–11 суток при температуре 21–25 °С и зависящие от нее [13, 15]. Стадии развития дрозофилы по продолжительности описываются примерно так: яйца – 24 часа, далее личинки увеличиваются в размерах с каждой линькой (3 стадии, каждая из которых занимает 24–30 часов). Отличительные характеристики становятся заметны на стадиях 2 и 3, когда личинки уже имеют выраженные темноокрашенные челюстные крючки в области головы и сегментированное тело. Окукливание в пупарий и выход имаго происходит через 100–120 часов. Личиночная стадия имеет сходство со стадией развития организмов в водной среде и может быть полезна для изучения влияния переносимых водой токсикантов [8, 21].

Целью нашей работы было биотестирование воды с пунктов отбора проб оз. Имандра (Мурманская область) с помощью тест-системы *D. melanogaster*.

## Материалы и методы исследования

В настоящем исследовании использовали методику Азаровой [1] с незначительной модификацией.

Пробы воды с поверхностного слоя (1 м от поверхности) озера Имандра в пунктах отбора проб забирали с помощью пластикового батометра объемом 2 л [37]. Забор проб проводился в рамках мониторинга экологического состояния оз. Имандра.

В качестве тест-системы использовали мушек *D. melanogaster* линии D-32 (красные глаза), выращенных на стандартной питательной среде с увеличенной долей дрожжей, агара и сахара (манная крупа, сахар, дрожжи, агар, патока (изюм), пропионовая кислота в качестве консерванта) в условиях 12-часового освеще-

ния при температуре 24–25 °С и влажности 40–45% [34]. Линия была получена из ФГБУ «ЦСП» ФМБА России (г. Москва). Она характеризуется низкой спонтанной мутагенностью, и личинки окукливаются вне места размножения, что удобно для проведения исследования [16, 31].

На каждую пробу и контроль (дистиллированная вода) брали по 5 самцов и 5–8 самок возрастом от 3 суток (по достижении половозрелости самки не будут откладывать неоплодотворенные яйца). Такая численность особей не ведет к искажению результатов из-за перенаселения среды личинками [35]. Эксперимент проводили в трехкратной повторности в пробирках 30×150 мм (высота пробирок обеспечивает правильность выполнения анализа на высоту расположения куколок). В опытную среду подмешивали подслащенную воду с опытных точек оз. Имандра в пропорции 1:3. Мух удаляли из пробирок через 72 часа после появления личинок и производили наблюдение. Эксперимент длился до начала массового окукливания личинок и вылета имаго. Просмотр куколок и имаго осуществляли с помощью стереоскопического биноклярного микроскопа MC-2-ZOOM var.2CR при увеличении ×20 («Micromed», Китай, 2022).

В качестве основных показателей влияния воды на жизненный цикл дрозофилы выбрали соотношение полов в опыте и контроле, продолжительность прохождения стадий развития и высоту нахождения куколок над средой.

Соотношение полов – чувствительный показатель, который может изменяться в ответ на негативное действие различных факторов [1]. Пол определяли после начала эклозии мух или в пупариях на поздних стадиях метаморфоза. Имаго собирали во флаконы, обездвигивали в морозильной камере и просматривали под микроскопом, в пупариях отмечали наличие хорошо визуализируемых половых гребешков на первой паре ног у самцов.

Высота расположения куколок над средой указывает на способность личинки к передвижению до того, как муха перешла в фазу куколки [36], этот параметр входит в комплекс признаков, который определяется другими простыми видами поведения, например, питанием, пищевыми предпочтениями пищи [12, 31, 32]. Положение куколки отражает энергию, которой обладает личинка во время фазы «блуждания» после «прожорливой фазы», поэтому оно может быть использовано для исследований в качестве одного из параметров при оценке токсичности химических веществ, например, удобрений, лекарственных препаратов, отходов производства [1, 9, 17, 23, 24, 29] и влияния состава рациона на состояние организма [26, 33]. Высоту нахождения куколки измеряли в миллиметрах (мм) как расстояние от поверхности среды до средней точки между дыхальцами на куколке, либо

до середины уже пустого пупария после выхода имаго [30]. Если пупарий касался среды или находился на ней, то высоту окукливания отмечали как ноль [19, 25, 32]. Всего было посчитано 1449 пупариев.

Дистиллированная вода в данном случае является удовлетворительным контролем, поскольку на ней готовится питательная среда и точно известно, что она очищена от различных примесей.

Статистический анализ проводили в программе R Studio. Были использованы тесты ANOVA, Тьюки ( $p \leq 0,05$ ).

### Результаты исследования

В пробах с губ Монче, Белая и Уполокша было отмечено небольшое число мертвых личинок, вышедших из среды на стенки пробирки раньше срока, а затем и мертвых мух – в пробах с губ Кунчаст (9 шт.), Молочная (6 шт.) и Куреньга (8 шт.). Выход личинок из среды может быть связан с ее избеганием [9]. Задержку прохождения личиночных стадий 2 и 3, а также созревания имаго в пупариях на 12–18 часов по сравнению с контролем отмечали во всех пробах.

На 11–12-е сутки в опытных пробирках был обнаружен грибок, который поразил среду и куколки, что

привело к невозможности эклозии, поэтому пол имаго был определен в тех пупариях, где это было возможно. Эксперимент был прекращен.

Во всех опытных точках наблюдалось статистически значимое снижение высоты подъема куколок по сравнению с контролем (рис. 2).

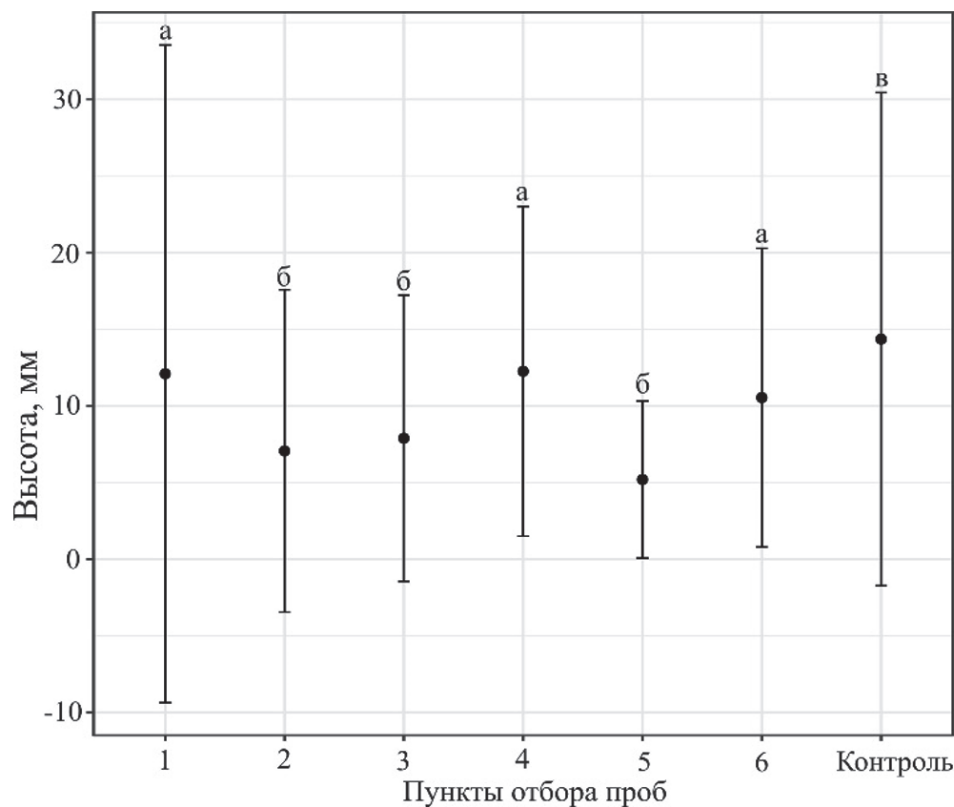
Значимые отличия от контроля по соотношению полов (хи-квадрат,  $p \leq 0,05$ ) найдены в пробах с губ Белая и Молочная.

Табл. 1

Численности имаго самцов и самок *D. melanogaster* после вылета и идентифицированных в пупариях

Пункт отбора проб	Самцы (шт.)	Самки (шт.)
Куреньга	133	157
Монче	25	30
Белая*	50	27
Молочная*	45	35
Уполокша	12	19
Кунчаст	88	107
Контроль	80	103

\* Пробы с этих пунктов значимо отличаются по соотношению полов от контроля.



**Рис. 2.** Средние значения высоты подъема куколок *Drosophila melanogaster* над питательной средой с добавленной в нее водой с пунктов отбора проб оз. Имандра и контролем (дистиллированная вода). Планки погрешностей обозначают стандартное отклонение. Одинаковыми буквами обозначены не различающиеся ( $p \geq 0,05$ ) выборки. Обозначения: 1 – Куреньга ( $n = 341$ ); 2 – Монче ( $n = 96$ ); 3 – Белая ( $n = 142$ ); 4 – Молочная ( $n = 322$ ); 5 – Уполокша ( $n = 105$ ); 6 – Кунчаст ( $n = 240$ ); контроль ( $n = 203$ )

## Заключение

В результате проведенного исследования установлено, что вода с пунктов отбора проб оз. Имандра влияет на процесс прохождения жизненного цикла тест-модели *D. melanogaster*.

В пробах из губы Молочная и губы Белая в сравнении с контролем отмечены достоверное понижение высоты пупариев над средой, изменение соотношения полов, а также задержка личиночной стадии и метаморфоза. В остальных пробах отмечали достоверное понижение показателя высоты пупариев по сравнению с контролем, задержку личиночной стадии и перехода к окукливанию.

Из литературных источников следует, что высота окукливания может быть использована в качестве потенциального биомаркера токсичности различных веществ, добавленных в питательную среду, но следует максимально учитывать все условия содержания линии дрозофил. Существует положительная корреляция между высотой окукливания и кормовым поведением у личинок, и положение куколки влияет на выживаемость имаго [28].

Другим важным моментом является механизм образования жизнеспособных куколок из личинок. На него влияет масса тела личинки [22], и вполне возможно, что личинки окукливаются в ближайшем к поверхности среды месте, чтобы избежать энергетических затрат на передвижение дальше от источника питания [10].

Результаты настоящего исследования согласуются с данными работ [11, 35], где выдвинуто предположение, что наиболее медленно развивающиеся личин-

ки окукливались ближе к поверхности среды. Таким образом, для токсикологических исследований предпочтительней изначально использовать личинок в качестве объекта из-за легкости дозирования веществ для кормления, оценки локомоторных функций и повреждений клеток [27].

Задержка прохождения личиночной стадии может быть вызвана стрессовым действием веществ из воды на гормональные процессы у личинок и снижением содержания экдизона – гормона линьки и метаморфоза.

Задержка выхода имаго из пупариев может быть связана с накопительным эффектом веществ из воды, поскольку личинки дрозофилы после окукливания могут вступать в фазу так называемой «псевдостационарной внутренней дозы», когда токсикант, накопленный в процессе питания, может эффективно сохраняться в процессе метаморфоза из-за отсутствия экскреции.

Выбранные параметры оценки воздействия воды с пунктов мониторинга оз. Имандра на жизненный цикл дрозофилы показали свою чувствительность, но требуют дальнейшей проработки и накопления экспериментальных данных.

В дальнейшем планируется добавить параметры, например, оценку состояния кишечника личинок, геотаксиса и веса имаго, локомоторной активности личинок и их реакции на свет/тьму, уровень перекисного окисления липидов. Это позволит построить более четкую картину воздействия воды с опытных станций оз. Имандра на жизненные функции у дрозофилы.

## Литература

### Список русскоязычной литературы

1. Азарова СВ, Язиков ЕГ, Ильинских НН. Оценка экологической опасности отходов горнодобывающих предприятий республики Хакасия с применением метода биотестирования. Известия Томского политехнического университета. 2004;307(4):55-9.
2. Валькова СА, Кашулин НА, Даувальтер ВА, Сандимиров СС. Структура и динамика сообществ зообентоса озера Имандра в зоне влияния медно-никелевого комбината. Труды КНЦ, прикладная экология Севера. 2012;(10):166-83.
3. Даувальтер ВА, Кашулин НА. Фоновые содержания элементов в донных отложениях озера Имандра. Труды КНЦ, прикладная экология Севера. 2019;4(10):13-30.
4. Даувальтер ВА, Кашулин НА. Влияние деятельности горно-металлургических предприятий на химический состав донных отложений

озера Имандра, Мурманская область. Биосфера. 2015;7(3):295-314.

5. Даувальтер ВА, Сандимиров СС, Денисов ДБ, Демин ВИ, Кашулин НА, Терентьев ПМ, Валькова СА, Вандыш ОИ, Королева ИМ, Кудрявцева ЛП, Зубова ЕМ, Петрова ОВ, Черепанов АА. Экологическое состояние озера Имандра. Т. 1: Гидролого-геохимические условия. Апатиты: Изд-во ФИЦ КНЦ РАН; 2023.
6. Моисеенко ТИ, Гашкина НА. Формирование химического состава вод озер в условиях изменения окружающей среды. М.: Наука; 2010.
7. Рихтер ГД. Физико-географический очерк озера Имандра и его бассейна. Л.: Гостехтеориздат; 1934.

### Общий список литературы/References

1. Azarova SV, Yazikov EG, Ilinskikh NN. [Using biological testing for evaluation of the

- environmental hazardousness of waste produced by mining industry in the republic of Khakassia]. *Izvestiya Tomskogo Politekhnicheskogo Universiteta*. 2004;307(4):55-9. (In Russ.)
2. Valkova SA, Kashulin NA, Dauvalter VA, Sandimirov SS. [Structure and dynamics of zoobenthos communities in the lake Imandra where it is impacted by a copper-nickel works]. *Trudy KNTs Prikladnaya Ekologiya Severa*. 2012;(10):166-83. (In Russ.)
  3. Dauvalter VA, Kashulin NA. [Background levels of chemical elements in the bottom sediments of the lake Imandra]. *Trudy KNTs Prikladnaya Ekologiya Severa*. 2019;4(10):13-30. (In Russ.)
  4. Dauvalter VA, Kashulin NA. [The impact of mining-and-smelting industry on the chemical composition of bottom sediments of the lake Imandra (Murmansk Oblast, Russia)]. *Biosfera*. 2015;7(3):295-314. (In Russ.)
  5. Dauvalter VA, Sandimirov SS, Denisov DB, Demin VI, Kashulin NA, Terentyev PM, Valkova SA, Vandysh OI, Koroleva IM, Kudryavtseva LP, Zubova EM, Petrova OV, Cherepanov AA. *Ekologicheskoye Sostoyaniye Ozera Imandra. T. 1. Gidrologo-Geokhimicheskiye Usloviya. Apatity: Izdatelstvo KNTs RAN; 2023. (In Russ.)*
  6. Moiseyenko TI, Gashkina NA. *Formirovaniye Khimicheskogo Sostava Vod Ozer v Usloviyakh Izmeneniya Okruzhayushchey Sredy*. Moscow: Nauka; 2010. (In Russ.)
  7. Rikhter GD. *Fiziko-Geograficheskiy Oчерk Ozera Imandra i Yego Basseyna*. Leningrad; 1934. (In Russ.)
  8. Affleck JG, Walker VK. *Drosophila as a model for developmental toxicology: using and extending the Drosophotoxicology model*. *Methods Mol Biol*. 2019;1965:139-53.
  9. Bahadorani S, Hillike AJ. Biological and behavioral effects of heavy metals in *Drosophila melanogaster* adults and larvae. *J Insect Behav*. 2009;22:399-411.
  10. Berrigan D, Lighton J. Bioenergetic and kinematic consequences of limblessness in larval diptera. *J Exper Biol*. 1993;179(1):245-59.
  11. Casares P, Carracedo MC. Pupation height in *Drosophila*: Sex differences and influence of larval developmental time. *Behav Gegenet*. 1987;17(5):523-35.
  12. Casares P, Carracedo MC, García-Florez L. Analysis of larval behaviours underlying the pupation height phenotype in *Drosophila simulans* and *D. melanogaster*. *Genet Sel Evol*. 1997;29:589-600.
  13. Demir E. Adverse biological effects of ingested polystyrene microplastics using *Drosophila melanogaster* as a model in vivo organism. *J Toxicol Environ Health Pt A*. 2021;(84):649-60.
  14. Demir E, Demir FT. *Drosophila*: a promising model for evaluating the toxicity of environmental pollutants. *Karalimas Sci Engin J*. 2022;12(1): 101-18.
  15. Demir E. An in vivo study of nanorod, nanosphere, and nanowire forms of titanium dioxide using *Drosophila melanogaster*: toxicity, cellular uptake, oxidative stress, and DNA damage. *J Toxicol Environ Health*. 2020;(83):356-469.
  16. Fauzi A, Zubaidah S, Susanto H. The study of larva and adult behavior of *Drosophila melanogaster*: Do strains affect behavior? *AIP Conf Proc*. 2020;2231:040014.
  17. Harini BP. Interspecies variation in pupation site preference on exposure to different antiepileptic drugs – a study in few species of *Drosophila*. *Int J Sci Res (IJSR)*. 2016;2:816-20.
  18. Jennings BH. *Drosophila – a versatile model in biology & medicine*. *Materials Today*. 2011;14(5):190-5.
  19. Joshi A, Mueller LD. Directional and stabilizing density-dependent natural selection for pupation height in *Drosophila melanogaster*. *Evolution*. 1993;47(1):176-84.
  20. Kashulin NA, Dauvalter VA, Denisov DB, Valkova SA, Vandysh OI. Selected aspects of the current state of freshwater resources in the Murmansk region, Russia. *J Environ Sci Health Pt A Toxic/Hazardous Subst Environ Engin*. 2017;52(9):921-9.
  21. Lakhota SC, Ranganath HA. *Experiments with Drosophila for Biology Courses*. Bengaluru: Indian Acad Sci; 2021.
  22. Levot G, Brown K, Shipp E. Larval growth of some calliphorid and sarcophagid Diptera. *Bull Entomol Res*. 1979;69:469-75.
  23. Lozinsky OV, Lushchak OV, Storey JM, Storey KB, Lushchak VI. Sodium nitroprusside toxicity in *Drosophila melanogaster*: Delayed pupation, reduced adult emergence, and induced oxidative/nitrosative stress in eclosed flies. *Arch Insect Biochem Physiol*. 2012;80(3):166-85.
  24. Lozinsky OV. Aconitase and developmental endpoints as early indicators of cellular toxicity induced by xenobiotics in *Drosophila melanogaster*. *Iran J Toxicol*. 2014;8(24):1-6.
  25. Mueller LD, Sweet VF. Density-dependent natural selection in *Drosophila*: evolution of pupation height. *Evolution*. 1986;40(6):1354-6.
  26. Ormerod KG, LePine OK, Abbineni PS, Bridgeman JM, Coorssen JR, Mercier AJ, Tattersall GJ. *Drosophila* development, physiology, behavior, and lifespan are influenced by altered dietary composition. *Fly (Austin)*. 2017;11(3):153-70.
  27. Rand MD, Tennessen JM, Mackay TFC, Anholt RRH. Perspectives on the *Drosophila*

- melanogaster model for advances in toxicological science. *Current Protocols*. 2023;3:e870.
28. Riedl CA, Riedl M, Mackay TF, Sokolowski MB. Genetic and behavioral analysis of natural variation in *Drosophila melanogaster* pupation position. *Fly (Austin)*. 2007;1:23-32.
  29. Saxena G, Gupta P, Kumar A. Evaluation of chlorpyrifos toxicity on behaviour of *Drosophila punjabiensis*. *J Exper Zool*. 2011;14(1):31-3.
  30. Singh B, Pandey M. Intra- and interspecies variations in pupation height in *Drosophila*. *Indian J Exper Biol*. 1991;29(10):926-7.
  31. Sokolowski MB, Hansell RIC. Elucidating the behavioral phenotype of *Drosophila melanogaster* larvae: correlations between larval foraging strategies and pupation height. *Behav Genet*. 1983;13(3):267-80.
  32. Sokolowski MB. Genetics and ecology of *Drosophila melanogaster* larval foraging and pupation behaviour. *J Insect Physiol*. 1985;31(2): 857-64.
  33. Sudhakar K, Lenka A, Yadav P. Evidence of dietary protein restriction regulating pupation height, development time and lifespan in *Drosophila melanogaster*. *Biol Open*. 2019;8(bio042952):1-9.
  34. Vandal NB, Siddalingamurthy GS, Shivanna N. Larval pupation site preference on fruit in different species of *Drosophila*. *Entomol Res*. 2008;38(3): 188-94.
  35. Vandal NB, Siddalingamurthy GS, Shivanna N. Effect of temperature and density on larval pupation site preference in sibling species of *Drosophila* (Drosophilidae: diptera). *Mun Ent Zool*. 2011;6(1):330-8.
  36. Wolfstetter G, Dahlitz I, Pfeifer K, Töpfer U, Alt JA, Pfeifer DC, Lakes-Harlan R, Baumgartner S, Palmer RH, Holz A. Characterization of *Drosophila* nidogen/entactin reveals roles in basement membrane stability, barrier function and nervous system patterning. Giessen: Justus-Liebig-Universität; 2019.
  37. Zubova EM, Kashulin NA, Dauvalter VA, Denisov DB, Valkova SA, Vandysh OI, Slukovskii ZI, Terentyev PM, Cherepanov AA. Long-term environmental monitoring in an arctic lake polluted by metals under climate change. *Environments*. 2020;7(5):34.

