

УДК 595.324:591.5

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ВЫЖИВАЕМОСТИ И ТРОФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ *DAPHNIA MAGNA* ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ТОКСИЧНОСТИ ВОДЫ

Т. Л. Шашкова, Ю. С. Григорьев

*Сибирский федеральный университет
Россия, 660041, Красноярск, просп. Свободный, 79
E-mail: tatyana_eco@inbox.ru*

Поступила в редакцию 07.05.13 г.

Сравнительная оценка чувствительности показателей выживаемости и трофической активности *Daphnia magna* при определении токсичности воды. – Шашкова Т. Л., Григорьев Ю. С. – Проведено сравнение выживаемости и трофической активности дафний, используемых в качестве тест-функций при определении токсичности вод. Показана более высокая чувствительность показателя трофической активности дафний по сравнению с их выживаемостью к модельным токсикантам (ионам кадмия, меди и бихромату калия), а также при биотестировании сточных и природных вод.

Ключевые слова: *Daphnia magna*, трофическая активность, выживаемость, токсичность, тяжелые металлы, природные и сточные воды.

Comparative sensitivity evaluation of the survival rate and feeding rate indices of *Daphnia magna* to determine water toxicity. – Shashkova T. L. and Grigoriev Y. S. – A comparative estimation of the survival rate and feeding rate of *Daphnia*, which are used as test-functions for the determination of water toxicity, is carried out. The higher sensitivity of the feeding rate of *Daphnia* in comparison with their survival rate index to model toxicants (cadmium and copper ions, potassium dichromate), and while biotesting of sewage and natural waters is shown.

Key words: *Daphnia magna*, trophic activity, survival, toxicity, heavy metals, natural and sewage waters.

ВВЕДЕНИЕ

При оценке качества водной среды существенное значение имеет время проведения анализа, за которое может быть получен ответ о токсичности исследуемого образца (Вишневецкий и др., 2011; Goncharuk, Kovalenko, 2012). Широко используемые сейчас в России и за рубежом методы биотестирования токсичности воды на дафниях занимают по времени 2 – 4 и более суток (Жмур, 2007; Methods..., 2002), тогда как результат анализа зачастую надо получить в более короткие сроки. Так, например, экспрессные методы биотестирования необходимы при определении эффективности очистки сточных вод (Штамм и др., 2011). В связи с этим в настоящее время актуальным является поиск более оперативных методов токсикологического анализа.

Решение этой проблемы возможно как за счет увеличения оперативности метода биотестирования на рачках по показателю выживаемости, так и применения более быстрых тест-функций, основанных на поведенческих и физиологических реакциях ракообразных, которые позволяют определить сублетальные (не вызывающие гибели) концентрации загрязняющих веществ (Брагинский, 2000). Одной

из этих реакций является трофическая активность дафний (Barata, Alanon, 2008; Yi et al., 2010), т.е. величина поглощенного дафниями корма за определенный промежуток времени. Поскольку именно характер питания делает дафний высокочувствительными к присутствию в водной среде токсичных веществ (Шилова и др., 2010), логично предположить, что эта тест-функция будет наиболее чувствительной реакцией на присутствие токсикантов в воде. Вместе с тем не совсем ясно, насколько адекватным будет изменение величины данного показателя уровню токсичности анализируемых вод и выживаемости самих рачков.

В связи с этим целью данного исследования было сравнение показателей выживаемости и трофической активности ветвистоусых ракообразных вида *Daphnia magna* при определении токсичности воды.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В качестве тест-организма использовались рачки *Daphnia magna* Straus. Дафнии выращивались при температуре $20 \pm 1^\circ\text{C}$ в климатостате Р2. Оценка выживаемости рачков в остром токсикологическом эксперименте проводилась по разработанной авторами статьи методике биотестирования (Григорьев, Шашкова, 2006). В соответствии с этой методикой рачки при проведении биотеста экспонировались в устройствах УЭР-03, обеспечивающие активную аэрацию тестируемой воды и равные световые и температурные условия для всех анализируемых проб. В этих условиях длительность биотестирования по показателю смертности рачков дафний была сокращена с 96 ч до 48 при сохранении высокой чувствительность к токсикантам (Шашкова и др., 2006).

Трофическую активность дафний определяли по степени снижения концентрации корма в среде с рачками. Количество съеденного корма, суспензии водоросли хлорелла (*Chlorella vulgaris* Beijer) измеряли по интенсивности нулевого уровня флуоресценции хлорофилла водоросли. Величина данного показателя, в отличие от ранее используемой для этих целей замедленной флуоресценции (Цвылев и др., 1983; Маторин и др., 1990), напрямую связана с концентрацией клеток в среде и при этом мало зависит от их физиологического состояния. Интенсивность флуоресценции регистрировали на флуориметре Фотон 10.

При определении трофической активности 10 рачков дафний возрастом чуть более суток помещались в 50 мл тестируемой пробы воды на 18 ч. В пробы сначала вносились токсиканты, а затем, после 5 ч экспозиции, добавлялось небольшое количество суспензии водоросли. При концентрации корма в среде контрольного варианта (в отсутствие токсикантов), эквивалентной оптической плотности суспензии равной 0.02, рачки потребляли за время выполнения биотеста 70 – 90% клеток хлореллы. Такое снижение количества корма от его исходного содержания соответствовало величине трофической активности 70 – 90% соответственно. Измерение оптической плотности при подготовке суспензии водоросли проводили на приборе ИПС-03 в кювете длиной 2 см при длине волны 560 нм. Все используемые приборы разработаны в Сибирском федеральном университете.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Экспериментально было установлено, что токсикологический опыт по трофической активности лучше проводить с использованием процедуры предварительной затравки рачков исследуемым токсическим раствором, поскольку при одновременном внесении водоросли и рачков в пробу воды токсикант взаимодействует не только с дафниями, но и клетками хлореллы. При этом одновременное поглощение токсиканта клетками водоросли приводит к снижению его действующей концентрации в среде, вызывая уменьшение токсического воздействия на самих рачков. В этих условиях задержка на несколько часов внесения корма после помещения дафний в испытываемый раствор значительно увеличивала его токсический эффект на трофическую активность рачков (Шашкова, 2011).

Проведенные исследования с некоторыми тяжёлыми металлами показали, что в большинстве случаев снижение показателей скорости питания дафний происходит раньше по времени и при меньших концентрациях этих токсикантов, чем наблюдается их гибель.

Так, например, уменьшение трофической активности дафний имеет место уже при концентрации ионов кадмия 0.0025 мг/л (рис. 1), тогда как жизнеспособность этих тест-организмов сохраняется в течение всего периода экспонирования (18 ч) даже при концентрациях токсиканта на порядок больших. На вторые сутки эксперимента снижение выживаемости на 50% наблюдалось только при концентрации ионов кадмия 0.0125 мг/л.

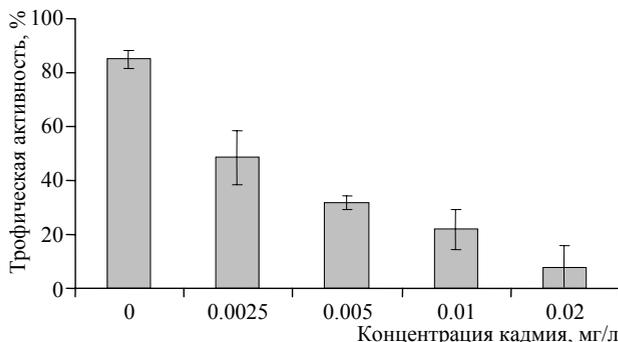


Рис. 1. Влияние ионов кадмия на трофическую активность дафний

Аналогичный эффект прослеживался в опытах с ионами меди и бихроматом калия (таблица). Действие ионов цинка оказывало несколько иной эффект. Для этого тяжёлого металла двухсуточный биотест по выживаемости рачков оказался более чувствительным, чем более короткий тест по трофической активности (18 ч). Вероятно, для проявления вредного воздействия данного токсиканта требуется большее количество времени.

Оценка токсичности сточных вод городских очистных сооружений с помощью дафний имеет ряд специфических особенностей, связанных с содержанием в них большого количества

Концентрации модельных токсикантов, вызывающие снижение трофической активности на 50% (EC₅₀) и смертность 50% (LC₅₀) тест-организмов

Модельный токсикант	LC ₅₀ (48 ч)	EC ₅₀ (18 ч)
K ₂ Cr ₂ O ₇	1.0 мг/л	0.500 мг/л
Cu ²⁺	0.025 мг/л	0.020 мг/л
Cd ²⁺	0.012 мг/л	0.002 мг/л
Zn ²⁺	0.250 мг/л	0.500 мг/л

органических веществ. Как правило, острый токсикологический эксперимент по выживаемости в этом случае не выявляет токсичности сточной воды, поскольку большинство потенциально опасных веществ находится в связанном состоянии, а рачки могут употреблять в пищу легкодоступную для них органику. Негативное влияние такой воды на дафний, проявляющееся в снижении плодовитости рачков, можно зарегистрировать только в длительном хроническом эксперименте. В этих

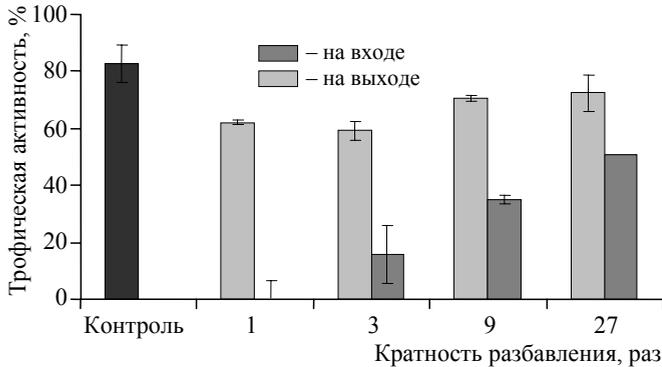


Рис. 2. Трофическая активность дафний в пробах воды, взятых на входе и выходе городских очистных сооружений, при различной степени их разбавления

водоросли рачками (рис. 2). При этом все дафнии в исследуемом растворе сохраняли жизнеспособность и за время эксперимента заметно увеличивались в размерах. Очевидно, в этих пробах рачки перешли с питания клетками хлореллы на присутствующие в воде органические вещества, которые легче усваиваются и имеют большую энергетическую ценность. При разбавлении сточной воды регистрируемый показатель трофической активности рачков повышался, очевидно, за счет увеличения доли хлореллы в рационе питания тест-организмов.

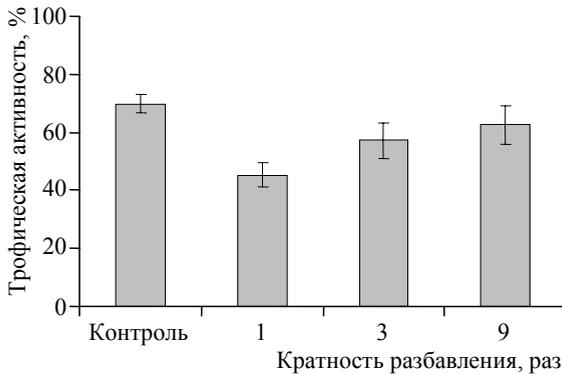


Рис. 3. Трофическая активность дафний в пробе воды р. Кача при различной степени ее разбавления

условиях трофическая активность рачков может оказаться альтернативным способом контроля качества таких вод.

И действительно, результаты проведенных исследований показали, что в сточной воде, взятой на входе городских очистных сооружений, наблюдалось значительное снижение скорости потребления клеток

При анализе сточной воды, взятой на выходе очистных сооружений, угнетение трофической активности было весьма незначительным, а выживаемость сохранялась на уровне 100%. Это свидетельствует о том, что вода после очистки содержит существенно меньшее количество как органических, так и токсических соединений.

Таким образом, по изменению скорости поедания клеток водоросли рачками можно

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ

судить о степени очистки сточной воды, в то время как с помощью биотеста на основе выживаемости рачков дафний такую оценку дать затруднительно.

При тестировании проб р. Качи (приток Енисея), которая в нижнем течении испытывает сильное антропогенное воздействие, принимая поверхностный сток г. Красноярска, неоднократно выявлялось достоверное снижение трофической активности по сравнению с контрольными значениями (рис. 3).

Токсическое действие на показатели трофической активности рачков снималось при разведении пробы в 9 раз. Между тем выживаемость рачков в этих пробах оставалась на уровне контроля (100%) во всех разведениях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, обе исследованные тест-функции способны дать ответ о степени загрязненности воды. Однако метод регистрации трофической активности дафний позволяет на более ранней стадии воздействия обнаруживать проявление токсического эффекта загрязняющих веществ и, следовательно, более оперативно выявлять присутствие токсикантов в тестируемой воде.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

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

Вишневецкий В. Ю., Булавкова Н. Г., Ледаева В. С. Принципы построения биотестовой системы // Изв. Юж. федер. ун-та. 2011. № 9. С. 12 – 17.

Григорьев Ю. С., Шашкова Т. Л. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов, питьевой, сточной и природной воды по смертности тест-объекта *Daphnia magna* Straus. ПНД Ф 14.1:2.4.12-06 16.1:2.3.3.9-06 / Федеральный центр анализа и оценки техногенного воздействия. М., 2006. 52 с.

Жмур Н. С. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний. ФР. 1.39.2007.03222. М.: АКВАРОС, 2007. 48 с.

Маторин Д. Н., Вавилин Д. В., Венедиктов П. С. О возможности использования флуоресцентных методов для изучения питания ракообразных // Биологические науки. 1990. № 1. С.146 – 152.

Цвелев О. П., Переладов М. В., Патин С. А. Способ определения трофической активности планктонных организмов. Авторское свидетельство СССР № 1029079, Кл. G 01 N 33/52, 1983.

Шашкова Т. Л., Григорьев Ю. С., Березина О. А. Влияние условия среды на чувствительность рачков *Daphnia magna* к токсикантам // Вестн. Краснояр. гос. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2006. № 5/1. С. 81 – 85.

Шашкова Т. Л. Выживаемость и трофическая активность *Daphnia magna* Straus в оперативном экологическом контроле водных сред : автореф. дис. ... канд. биол. наук. Красноярск, 2011. 18 с.

Шилова Н. А., Рогачева С. М., Губина Т. И. Влияние биогенных металлов на жизнедеятельность *Daphnia magna* // Изв. Самар. науч. центра РАН. 2010. Т. 12, № 1(8). С. 1951 – 1953.

Штамм Е. В., Скурлатов Ю. И., Козлова Н. Б., Зайцева Н. И., Александрова Е. В. Биотестирование в оценке эффективности технологий очистки сточных вод // Водные ресурсы. 2011. Т. 38, № 2. С. 232 – 238.

Barata C., Alañon P., Gutierrez-Alonso S., Riva M. C., Fernández C., Tarazona J. V. A *Daphnia magna* feeding bioassay as a cost effective and ecological relevant sublethal toxicity test for Environmental Risk Assessment of toxic effluents // Science of the Total Environment. 2008. Vol. 405, № 1 – 3. P. 78 – 86.

Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms. EPA-821-R-02-012 - U.S. Environmental Protection Agency, 2002. 266 p.

Goncharuk V. V., Kovalenko V. F. Teoretical aspects of natural and drinking water bio-testing // Water Chemistry and Technology. 2012. Vol. 34, № 2. P. 171 – 178.

Yi X., Kang S.-W., Jung J. Long-term evaluation of lethal and sublethal toxicity of industrial effluents using *Daphnia magna* and *Moina macroscopa* // J. Hazardous Materials. 2010. Vol. 178, № 1 – 3. P. 982 – 987.