## ВЛИЯНИЕ БИОГЕННЫХ МЕТАЛЛОВ НА ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТЬ *DAPHNIA MAGNA*

© 2010 Н.А. Шилова, С.М. Рогачева, Т.И. Губина

Саратовский государственный технический университет

Поступила в редакцию 01.10.2010

Исследовано влияние ионов биогенных металлов, в частности  $\mathrm{Ni}^{2^+}$ ,  $\mathrm{Cu}^{2^+}$ ,  $\mathrm{Co}^{2^+}$ ,  $\mathrm{Zn}^{2^+}$  в диапазоне концентраций от 5 до 0,03 мг/л на выживаемость, плодовитость и фильтрационную активность планктонных фильтраторов *Daphnia magna*. Показано, что наиболее токсичными для дафний являются ионы меди, которые уже в концентрации 0,03 мг/л подавляют все указанные функции. Остальные металлы не проявляли токсичности в концентрациях ниже  $\Pi$ ДК<sub>в</sub>.

Ключевые слова: Daphnia magna, Chlorella Vulgaris, биогенные металлы, фильтрационная активность, биотестирование, токсичность

Ежедневно в природные водоемы поступает огромное количество различных химических веществ, значительная часть которых относится к соединениям тяжелых металлов. В отличие от органических загрязнителей, которые со временем минерализуются и утилизируются в процессах биологического круговорота веществ, соединения тяжелых металлов способны сохранять токсичность практически бесконечно, так как при их превращениях основной компонент химического соединения металл – остается без изменения. Некоторые тяжелые металлы относятся к числу биологически активных элементов и всегда содержатся в организме животных и в растениях, но при накоплении в организме становятся опасными. Точками приложения металлов в организме животных являются многие жизненно важные органы, ткани и структуры. Эти токсиканты изменяют функцию крови, сердца водных животных, нарушают биохимические процессы. Все это отражается на общем функциональном состоянии гидробионтов и их дыхании [1]. Существует большое количество литературных данных о влиянии тяжелых металлов на моллюсков и рыб. Малоизвестно, в каких концентрациях тяжелые металлы могут представлять опасность для зоопланктона, вызывать функциональные изменения, не приводя к немедленной гибели. Типичным представителем планктона стоячих и слабопроточных пресноводных водоемов, широко распространенных

Шилова Наталья Александровна, аспирантка. E-mail: tysacomsa@rambler.ru

Рогачева Светлана Михайловна, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой «Природная и техносферная безопасность». E-mail: smro13@land.ru

Губина Тамара Ивановна, доктор химических наук, профессор кафедры экологии

на территории России, являются низшие ракообразные *Daphnia magna*, которые относятся к отряду ветвистоусых. По характеру питания дафнии являются фильтраторами. Пища поступает с потоком воды, направленным грудными конечностями, через выросты — в брюшной желоб вдоль основания конечностей и ко рту рачка. Пропуская через свой организм воду, они задерживают находящиеся в ней бактерии, одноклеточные водоросли, детрит, растворенные органические вещества. Именно характер питания делает дафнии высокочувствительными к присутствию в водной среде токсичных веществ [2].

**Цель данной работы**: изучить влияние ионов биогенных металлов на жизнедеятельность *Daphnia magna*.

Материалы и методы. В качестве объектов исследования были взяты Daphnia magna Straus и Chlorella vulgaris Beijer. Культуру дафний выращивали в помещении, не содержащем токсических паров или газов. Оптимальная температура для культивирования дафний и биотестирования составляла 20±2°C, освещенность 400-600 лк при продолжительности светового дня 12-14 ч. Дафний кормили культурой зеленых водорослей Chlorella, выращенной в культиваторе КВ-05 на 50% питательной среде Тамия. Эксперименты проводились в растворах ацетатов  $Ni^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ с концентрацией ионов металлов 5,0...0,03 мг/л, приготовленных на отстоянной водопроводной воде методом последовательного разведения.

Для определения токсичности вышеперечисленных растворов по смертности дафний в течение 96 ч и по плодовитости рачков в течение 21 суток была использована стандартная методика биотестирования водной среды [3].

Определение фильтрационной активности проводили методом, описанным в работе [4]. В растворы солей помещали по 5 рачков 6-8-дневного возраста, оставляли их на сутки, корм не добавляли. Через сутки в пробы помещали водоросли *Chlorella*. На спектрофлуориметре «Флюорат-02-Панорама» измеряли интенсивность флуоресценции сред сразу после добавления водорослей и по прошествии 1 часа. Расчет фильтрационной активности *D. тадпа* (F) проводили по формуле:

$$F = \frac{\left| (I_t / I_o - I_\phi) V \right|}{nt}$$

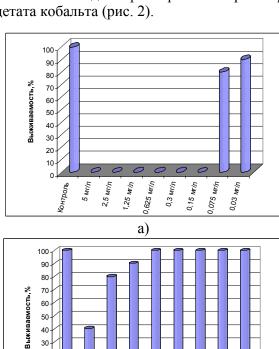
где V — общий объем пробы, мл; n — количество дафний в пробе, шт.; t — время опыта, час;  $I_t/I_o$  — коэффициент, соответствующий интенсивности флуоресценции в конечный ( $I_t$ ) и начальный ( $I_o$ ) момент опыта; F — объем воды, профильтрованный дафнией в единицу времени, мл/даф.час.

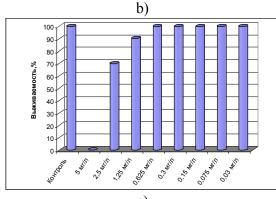
Математическую обработку полученных данных проводили с использованием компьютерной программы Microsoft Excel. Рассчитывали среднее арифметическое, доверительный интервал, стандартное отклонение. Статистическая достоверность всех представленных результатов оценивалась с использованием t-критерия Стьюдента и составляла 95%.

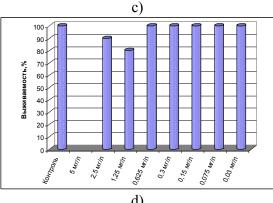
**Результаты и обсуждение.** Для оценки жизнеспособности дафний в присутствии ионов биогенных металлов в различных концентрациях нами определялись показатели смертности, плодовитости и фильтрационной активности. Данные по выживаемости рачков в растворах солей  $\mathrm{Ni}^{2+}$ ,  $\mathrm{Cu}^{2+}$ ,  $\mathrm{Co}^{2+}$ ,  $\mathrm{Zn}^{2+}$  различных концентраций представлены на рис. 1.

Для ацетата меди первые признаки отравления отмечались нами на вторые сутки эксперимента в растворах с концентрациями  $Cu^{2+}$  0.03 и 0.075 мг/л. Полная гибель тестобъектов в этих растворах была зафиксирована на 15 сутки. Растворы ацетата  $Cu^{2+}$  с концентрациями 0,625, 0,3, 0,15 мг/л вызывали гибель дафний в течение 48 часов, с концентрациями 5, 2,5, 1,25 мг/л - 100%-ую гибель тестобъектов в течение 24 часов. Отмечено, что растворы ацетата цинка с концентрациями  $Zn^{2+}$ от 0.03 до 0.625 мг/л не вызывают гибель тест-объектов. В растворах с концентрациями 1,25...5 мг/л на 4-е сутки эксперимента зафиксирована смертность дафний от 10 до 60%, соответственно. Похожие результаты получены для растворов ацетатов  $Ni^{2+}$  и  $Co^{2+}$  за исключением концентрации 5 мг/л, при которой гибель рачков наступила в течение 24 часов. Репродуктивная

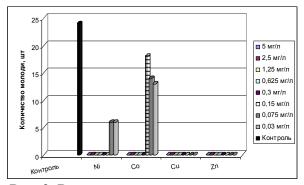
активность отмечена только у дафний, инкубированных в растворах ацетатов  $Ni^{2+}$  с концентрациями 0,03 и 0,075 мг/л и  $Co^{2+}$  - 0,03...0,15 мг/л. Наибольшее количество родившейся молоди зафиксировано в растворах ацетата кобальта (рис. 2).





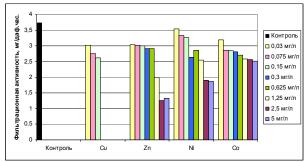


**Рис. 1.** Влияние ионов биогенных металлов на выживаемость дафний (4 сутки эксперимента) а)  $Cu^{2+}$ , b)  $Zn^{2+}$ , c)  $Ni^{2+}$ , d)  $Co^{2+}$ 



**Рис. 2.** Влияние ионов металлов на рождаемость *D. magna* (на 21 сутки эксперимента)

Что касается фильтрационной активности дафний, она начинает уменьшаться в присутствии  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Co^{2+}$  в концентрации 0,03 мг/л,  $Ni^{2+}$  - в концентрации 0,075 мг/л (рис. 3). Наиболее резко фильтрационная активность дафний снижается в зависимости от концентрации ионов меди, при содержании  $Cu^{2+}$  0,15 мг/л на 2-е сутки наблюдается гибель всех особей. Ионы  $Zn^{2+}$  значительно снижают (на 30 %) фильтрационную активность дафний при концентрации 1,25 мг/л, ионы никеля вызывают такой же эффект при концентрации 2,5 и 5 мг/л. Повышение концентрации  $Co^{2+}$  до 5 мг/л не приводит к заметному уменьшению фильтрационной активности дафний.



**Рис. 3.** Зависимость фильтрационной активности *Daphnia magna* от концентрации металлов

Выводы: результаты исследований позволяют заключить, что наибольшей токсичностью для планктонных фильтраторов обладают ионы меди. Уже в концентрации 0,03 мг/л они вызывают гибель рачков, снижают их репродуктивную и фильтрационную активности. Известно, что для меди ПДК<sub>в</sub> составляет 0,1  $M\Gamma/дM^3$ , т.е. в речных водоемах допускается такое содержание ионов меди, которое подавляет жизненные функции основных представителей планктона. Йоны  $Zn^{2+}$  и  $Ni^{2+}$  не вызывают гибель дафний и не оказывают значительного воздействия на их фильтрационную активность в концентрациях ниже  $\Pi \coprod K_B (0,1 \text{ мг/дм}^3)$ , но они ингибируют репродуктивную функцию рачков. Наименьшей токсичностью для планктона обладают ионы  $Co^{2+}$ , их присутствие в воде мало влияет на жизнедеятельность дафний. Поскольку все эти металлы являются биогенными, различная степень их влияния на жизненные функции дафний, вероятно, зависит от характера их воздействия на биохимические процессы в организме гидробионтов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

- 1. *Мур, Дж.В.* Тяжелые металлы в природных водах / Дж.В. Мур, С. Рамамурти М.: Мир, 1987. 286 с.
- Родина, А.Г. Опыты по питанию Daphnia magna // Зоологический журнал. – 1946. Т. 25. № 3. С. 237-343
- 3. ПНД Ф Т 14.1:2:3:4:5-2000 Методика определения токсичности воды по смертности и изменению плодовитости дафний. М., 2000. 32 с.
- 4. *Маторин, Д.Н.* Биотестирование токсичности вод по скорости поглощения дафниями микроводорослей, регистрируемых с помощью флуоресценции хлорофилла / Д.Н. *Маторин, П.С. Венедиктов* // Вестник Московского университета. Сер.16, Биология. 2009. №3. С. 28-33.

## INFLUENCE OF BIOGENIC METALS ON LIFE ACTIVITY OF DAPHNIA MAGNA

© 2010 N.A. Shilova, S.M. Rogachyova, T.I. Gubina Saratov State Technical University

Influence of ions of biogenic metals, in particular Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Zn2+ in a range of concentration from 5 up to 0,03 mg/l on survival rate, fertility and filtrational activity of planktonic filter-feeding organisms *Daphnia magna* is researched. It is shown, that the most toxic for daphnia are ions of copper which already in concentration of 0,03 mg/l suppress all the specified functions. Other metals did not show toxicity in concentration below MPC.

Key words: Daphnia magna, Chlorella Vulgaris, biogenic metals, filtrational activity, biotesting, toxicity

Nataliya Shilova, Post0graduate Student. E-mail: tysacomsa@rambler.ru Svetlana Rogachyova, Doctor of Biology, Professor, Head of the Department "Natural and Technosphere Safety. E-mail: smro13@land.ru Tamara Gubina, Doctor of Chemistry, Professor at the Ecology Department