

УДК 543.3: 614.777

Г.Н. Мисейко, Г.И. Тушкова, И.В. Цхай

Daphnia magna (Crustacea Cladocera)**как тест-объект в оптимальных условиях лабораторного культивирования**

Биотестирование наряду с биоиндикацией является обязательным элементом современной системы контроля качества вод. Подробную современную формулировку биотестирования дают А.А. Зенин и Н.В. Белоусова: «Биотестирование – один из приемов определения степени токсического действия физических, химических и биологических неблагоприятных факторов среды, потенциально опасных для живых организмов экосистем, в контролируемых экспериментальных лабораторных или натуральных условиях путем регистрации изменений биологически значимых показателей исследуемых водных объектов с последующей оценкой их состояния в соответствии с выбранным критерием токсичности» [1].

В биотестировании применяется много различных беспозвоночных, но дафниевый метод считается одним из основных и наиболее показательных. Рачки *Daphnia magna* являются международным стандартизированным тест-объектом. Они широко применяются во всем мире для биотестирования природных [2] и сточных вод [3]. В последнее время дафний рекомендовано использовать и для биотестирования питьевых вод [4]. Поэтому необходимо как можно более полное знание биологии вида, выбранного в качестве тест-объекта, в условиях его использования в виде лабораторной культуры. Целью настоящей работы было исследование изменчивости биологических параметров лабораторной культуры *D. magna* в оптимальных условиях длительного лабораторного культивирования.

Материалы и методы исследования. Исследования биологических характеристик *D. magna* в условиях длительного лабораторного культивирования проводили с ноября 1991 г. по октябрь 1992 г. включительно. Всего исследовано около 100 экземпляров.

Объектами исследования служили лабораторные культуры *D. magna* из музея Института биофизики СО РАН (г. Красноярск). В опытах использовались рачки в возрасте одних суток. Кормом служили водоросли *Chlorella vulgaris*, выращенные на минеральной питательной среде Тамия, отцентрифугированные и хранившиеся в соответствии с принятыми нормами [4]. Учет погибших и отродившихся

рачков проводили ежедневно. Аквариумную воду пропускали через фильтровальную бумагу во избежание попадания паразитических колеровок. Водопроводную воду отстаивали в течение двух недель или в течение семи суток с очисткой через фильтр «Родник-7». Линейные размеры дафний измеряли при помощи бинокуляра типа МБС.

Дафнии содержались индивидуально (1 рачок – 1 стаканчик), на одну дафнию приходилось 150 мл воды. Смена воды осуществлялась через двое суток на третьи. Кормили рачков ежедневно. Дополнительная подсветка осуществлялась с помощью настольной лампы.

Математическую обработку полученных результатов проводили согласно общепринятым методам [5] с использованием сравнения средних по Стьюденту, корреляционного и регрессионного анализа и компьютерных программ С.Д. Кириллова [6].

Динамика смертности лабораторной культуры *D. magna*. Смертность определялась в процентах от общего количества фертильных или неполовозрелых самок на каждый месяц. Под неполовозрелыми подразумевались все самки, не успевшие дать потомство (рис. 1).

Как видно из рисунка 1, кривая смертности фертильных самок имеет 3 максимума и 3 минимума, причем максимумы, начиная с январского, уменьшаются в соответствии с определенной закономерностью: каждый последующий отличается от предыдущего приблизительно в 1,3 раза. Наибольшая (46,9%) смертность фертильных самок зафиксирована в январе, наименьшая (нулевая) – в июне-июле. Низкая (4,5–5%) смертность отмечена также в марте, мае и октябре.

Кривая смертности неполовозрелых самок (рис. 1) имеет по два максимума и минимума, причем январский максимум (45,6%) совпадает с январским максимумом смертности фертильных самок и соответствует также самой большой смертности за месяц на протяжении всего года. Апрельский пик смертности невелик и равен величине данного параметра за декабрь (11,1%). Минимальная смертность неполовозрелых самок наблюдается в феврале-марте и на протяжении длительного периода – с мая по октябрь включительно.

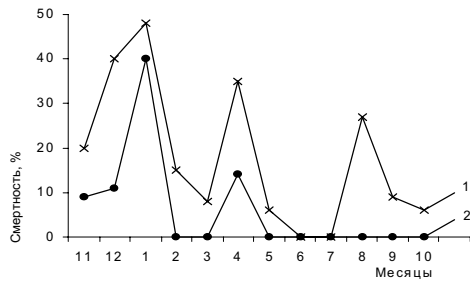


Рис. 1. Динамика смертности в лабораторной культуре *D. magna* при оптимальных условиях лабораторного культивирования, % от общего числа подопытных животных за месяц:
 1 — фертильных самок,
 2 — неполовозрелых самок

Результаты математической обработки показали, что вариационные ряды смертности самок распределены соответственно: фертильных – нормально ($Nh=1,0$), неполовозрелых – ненормально ($Nh=0,25$). Однако наличие положительной корреляции между этими рядами ($r=0,71+0,26$, $P=0,50$) позволяет вывести кривую общей смертности в популяции *D. magna* (рис. 2). Вариационный ряд по этому показателю распределен нормально ($Nh=1,0$).

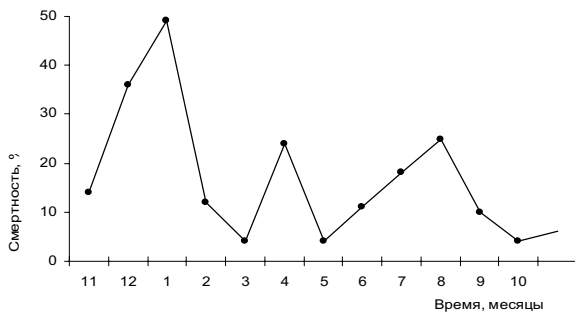


Рис. 2. Динамика смертности в популяции *D. magna* при оптимальных условиях лабораторного культивирования, % от общего числа подопытных животных за месяц

Как и кривая смертности фертильных самок, кривая смертности в популяции *D. magna* имеет 3 максимума, из которых пик в январе также наибольший, а августе – наименьший. Нулевая смертность характерна только для июня и июля.

Все три вариационных ряда: 1 – смертность фертильных самок, 2 – смертность неполовозрелых, 3 – общая смертность в популяции по результатам регрессионного анализа – связаны между собой линейно.

В наших опытах факторы среды были стабилизированы, поэтому можно предположить, что колебания показателей выживаемости *D. magna* в оптимальных услови-

ях длительного лабораторного культивирования определяются именно сезонными закономерностями.

По данным Е.Ф. Исаковой (1980), колебания показателей выживаемости *D. magna* в лабораторных условиях не имеют сезонного характера. Этот вывод расходится с нашим возможно потому, что данные Е.Ф. Исаковой получены в результате слишком короткого (30-суточного) наблюдения за каждым поколением, в то время как максимальная продолжительность жизни *D. magna* в лабораторных условиях составляет как минимум 3–4 месяца [8]. В нашем же опыте наблюдение практически за каждой самкой проводилось от момента рождения до ее естественной гибели.

В течение достаточно длительного (185 суток) срока наблюдения линейную зависимость динамики смертности рачков в зависимости от времени отмечал В.Е. Ларин [9].

Тщательность постановки нашего эксперимента (большая продолжительность, ежедневный учет погибших рачков, стабилизированность факторов среды, учет смертности и фертильных, и неполовозрелых самок) позволяет нам сделать вывод о наличии сезонной динамики смертности в лабораторной культуре *D. magna*.

Продолжительность жизни *D. magna*. Продолжительность жизни отдельных особей *D. magna* определялась довольно точно в связи с индивидуальным культивированием и использованием для закладки каждой повторности только 1–2-суточных рачков.

Нижний и верхний пределы продолжительности жизни *D. magna* в нашем опыте составили соответственно несколько часов (в пределах суток) и 7,57 месяца, причем в среднем дольше всех прожили рачки, родившиеся в январе (4,18 месяца – без учета смертности неполовозрелых самок, 3,14 месяца – с учетом). Особенно велика продолжительность жизни рачков, родившихся в последней декаде января – 5,64 и 4,63 месяца соответственно (табл. 1).

Таблица 1

Продолжительность жизни фертильных (1) и неполовозрелых (2) самок *D. magna*, родившихся с ноября 1991 г. по январь 1992 г. в лабораторных условиях (мес.)

N	Месяц рождения						
	ноябрь	декабрь	январь				
	Декада						
	3	1	2	3	1	2	3
	Продолжительность жизни, мес.						
1	1,18	1,20	2,59	2,39	3,50	3,40	5,64
2	10,0	1,21	2,59	1,62	2,20	2,38	4,63

Следует отметить, что именно на январь приходится и самая высокая смертность (рис. 1, 2), а с увеличением смертности в период с ноября по январь в среднем происходит и увеличение продолжительности жизни родившихся в соответствующий месяц дафний.

Однако статистически наличие этой тенденции следует считать недоказанным. Вероятно, при наличии данных аналогичного эксперимента за несколько лет, т.е. при увеличении объема выборки, нулевая гипотеза была бы опровергнута. В этом случае можно было бы говорить о наличии компенсаторного механизма регуляции равновесного уровня плотности популяции в пользу регуляционизма [10].

Результаты индивидуальной продолжительности жизни лабораторной культуры *D. magna* при оптимальных условиях культивирования представлены в секторальной диаграмме (рис. 3). Единицей измерения в данном случае выбран отрезок в 1 месяц, так как в природе дафнии живут в среднем 20–25 суток, т.е. приблизительно месяц [4]. Дафнии, прожившие меньше 15 суток, в диаграмме не учтены.

Из диаграммы видно, что количество особей, проживших от 1 до 7 месяцев, колеблется от 7,9 до 21,1%.

Максимальная продолжительность жизни *D. magna* в оптимальных условиях лабораторного культивирования в нашем опыте равна 7 месяцам (и более), причем доля проживших максимальный срок составляет более половины от числа особей, проживших около месяца (рис. 3).

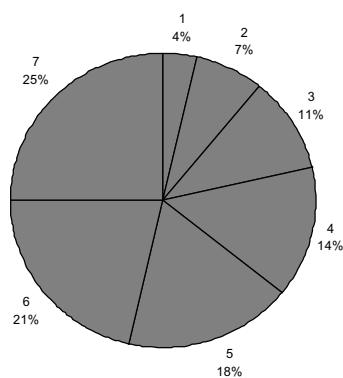


Рис. 3. Соотношение особей *D. magna* с различной продолжительностью жизни. Количество особей (от общего числа проживших): 1–7 – месяцы

По литературным данным, продолжительность жизни *D. magna*, зафиксированная нами выше указанной в отечественных и зарубежных источниках, может составлять более 6–7 месяцев. Такое увеличение продолжительности жизни может свидетельствовать об обсо-

ванности метода индивидуального культивирования дафний (1 емкость – 1 рачок), использованного в эксперименте, и еще раз подтверждает, что продолжительность жизни организмов одного вида может сильно изменяться в зависимости от условий существования [10].

Зависимость реальной плодовитости *D. magna* от продолжительности жизни. Проведена статистическая обработка полученного в нашем опыте материала о зависимости реальной плодовитости и относительной реальной плодовитости от продолжительности жизни дафний. Под реальной плодовитостью – подразумевалось общее количество молоди, полученное от одной самки в течение всей жизни, под относительной реальной плодовитостью – реальная плодовитость самки, отнесенная к продолжительности ее жизни в сутках. Вторым показателем отражает интенсивность размножения рачков. Были учтены все дафнии, давшие потомство.

Все ряды (продолжительность жизни, реальная плодовитость, относительная реальная плодовитость) распределены нормально. Нижний и верхний пределы составили соответственно 7 и 218 сут., 2 и 888; 0,9 и 6,19 экз./сут.

Таким образом, по нашим данным, чем больше была продолжительность жизни самки *D. magna*, тем больше потомства она давала в сутки и в течение всей жизни. В то же время А.М. Гиляров [10] считает, что у ветвистоустых рачков «укорачивание жизни есть «плата» за более интенсивное размножение» [10].

Динамика реальной плодовитости *D. magna*. В результате проведенного эксперимента по длительному культивированию *D. magna* в лабораторных условиях установлено наличие сезонной динамики реальной плодовитости (рис. 4), что согласуется с литературными данными [7; 9].

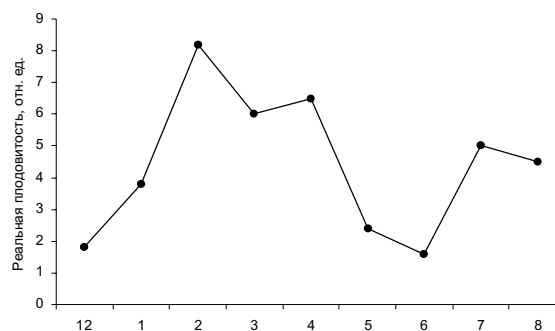


Рис. 4. Динамика реальной плодовитости *D. magna* (отн. ед.) при оптимальных условиях лабораторного культивирования

За относительную единицу была взята средняя величина плодовитости дафний (в расчете на одну фертильную самку) за июнь. Это значение было наименьшим и составило 17,4 экз. При подсчете учитывались только давшие потомство дафнии.

Как видно из рисунка 4, максимальный пик плодовитости наблюдался в феврале. Со второй половины апреля началось понижение плодовитости, которое достигло максимума и закончилось в конце мая-июне.

Этот спад плодовитости дафний в нашем опыте (в аквариальных условиях) по времени почти совпадает с аналогичным спадом плодовитости ветвистоусых рачков, наблюдаемых в природных мелководных водоемах, по данным М.Л. Пятакова [11]. Автор связывает это явление с понижением трофности водоема и избытком прямого солнечного освещения. В условиях нашего эксперимента (при равномерном регулярном кормлении) на понижение плодовитости мог оказать влияние лишь последний фактор из указанных, а также сезонные особенности жизнедеятельности лабораторной культуры *D. magna*.

В нашем эксперименте абсолютное значение реальной плодовитости варьировало от 17

до 67 экз. молоди на одну самку и зависело от сезона. Результаты, полученные нами, значительно меньше данных Е.Ф. Исаковой [7] (от 60 до 170 экз.), что могло быть связано как с различиями в условиях проведения опыта, так и с генотипическими особенностями разных лабораторных культур.

Таким образом, исследование биологических характеристик лабораторной культуры *D. magna* при оптимальных условиях лабораторного культивирования позволило сделать следующие выводы.

1) уровень смертности рачков имеет сезонную динамику с тремя максимумами в январе, апреле и августе и нулевыми значениями в июне-июле;

2) максимальная продолжительность жизни *D. magna* в лабораторных условиях составляет 6-7 месяцев;

3) показатель реальной плодовитости имеет сезонную динамику с максимальными значениями в феврале и апреле, минимальными - в декабре и мае-июне;

4) при увеличении продолжительности жизни реальная плодовитость *D. magna* увеличивается.

Литература

1. Зенин А.А., Белоусова Н.В. Гидрохимический словарь. Л., 1988.
2. Строганов Н.С., Исакова Е.Ф., Колосова Л.В. Метод биотестирования качества вод с использованием дафний // Методы биоиндикации и биотестирования природных вод. 1989. Вып. 1.
3. Лесников Л.А., Исакова Е.Ф., Колосова Л.В. Опыты на дафниях // Метод. рекомендации по установлению ПДК загрязняющих веществ для воды рыбохозяйственных водоемов. М., 1986.
4. Методическое руководство по биотестированию воды. РФ-118-02-90 / Под ред. А.Н. Крайнюковой. М., 1991.
5. Лакин Г.Ф. Биометрия. М., 1990.
6. Кириллов С.Д. Метод многомерного статистического анализа в исследованиях по микроэволю-

ции рыб и популяционной структуре вида. Барнаул, 1999.

7. Исакова Е.Ф. Сезонные изменения фактической плодовитости *Daphnia magna* в лабораторной культуре // Гидробиол. журнал. 1980. Т. 16. №4.

8. Кокова В.Е. Непрерывное культивирование беспозвоночных. Новосибирск, 1982.

9. Ларин В.Е. Сравнительное исследование токсического воздействия на модельные популяции и сообщества организмов зоопланктона: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1994.

10. Гиляров А.М. Популяционная экология. М., 1990.

12. Пятаков М.Л. По поводу сезонного изменения плодовитости у ветвистоусых // Зоологический журнал. 1956. Т. 35. Вып. 12.