

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ МАРГАНЦА (II) НА РЕПРОДУКТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ, СМЕРТНОСТЬ И ТРОФИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ DAPHNIA MAGNA

STUDYING OF INFLUENCE OF IONS OF MANGANESE (II) ON REPRODUCTIVE ACTIVITY, MORTALITY AND TROPHIC ACTIVITY OF DAPHNIA MAGNA

A. Kamenets

Summary. It is shown that ions of manganese (II) in concentration to 10 mg/l inclusive don't cause acute toxicity of water, and chronic toxicity begins with its concentration in 0,05 mg/l. Fertility and filtrational activity of *Daphnia magna* decrease in process of increase in concentration of Mn²⁺. Chloride of manganese (II) exerts greater negative influence on fertility of *D. magna* in comparison with sulfate.

Key words: influence, *Daphnia magna*, concentration, manganese, toxicity, trophic activity, reproductive activity, mortality.

Каменец Алексей Федорович

Аспирант, Саратовский государственный
технический университет им. Гагарина Ю. А.
kamenetsaf@yandex.ru

Аннотация. Показано, что ионы марганца (II) в концентрации до 10 мг/л включительно не вызывают острой токсичности воды, а хроническая токсичность начинается с его концентрации в 0,05 мг/л. Плодовитость и фильтрационная активность *Daphnia magna* снижаются по мере увеличения концентрации Mn²⁺. Хлорид марганца (II) оказывает большее отрицательное влияние на плодовитость *D. magna* по сравнению с сульфатом.

Ключевые слова: воздействие, *Daphnia magna*, концентрация, марганец, токсичность, трофическая активность, репродуктивная активность, смертность.

Введение

В природные водоемы поступает огромное количество различных химических веществ, значительная часть которых относится к соединениям тяжелых металлов, к каковым относятся соединения марганца.

Марганец поступает в природные воды в результате природных процессов: выщелачивания железомарганцевых руд, горизонтов почвогрунтов и разложения растительных остатков, из техногенных источников — с выбросами предприятий черной и цветной металлургии, при нефтедобыче и нефтепереработке, добыче железной руды, в результате использования минеральных удобрений в сельском хозяйстве [1,2].

В водной среде содержание марганца определяется соотношением между поверхностным и подземным стоком, интенсивностью потребления марганца при фотосинтезе, разложением фитопланктона, микроорганизмов и высшей водной растительности, а также процессами осаждения его на дно водных объектов. Как правило, 98% марганца находится во взвешенной форме. Концентрация водорастворимых соединений марганца увеличивается при низких окислительно-восстановительных потенциалах и малых значениях pH водной среды [3].

Марганец является эссенциальным микроэлементом для живых организмов. Известно более 35 ферментов, активируемых марганцем, большинство из них являются

катализаторами реакций окисления-восстановления, декарбоксилирования, гидролиза. Марганцевозависимые ферменты участвуют в биосинтезе ароматических аминокислот, лигнина, флавоноидов, каротиноидов и стеролов, в процессе фотосинтеза. Ионы марганца активно влияют на структуру и функции хроматина, они необходимы для репликации и функционирования ДНК- и РНК-полимераз, т.е. участвуют в процессах деления клеток и размножении [4].

С другой стороны, повышение содержания марганца приводит к угнетению и даже гибели живых организмов.

Поэтому изучение влияния соединений марганца на живые организмы представляет большой интерес.

Малоизвестно, в каких концентрациях марганец может представлять опасность для зоопланктона — важнейшего звена в пищевой цепи водоема, вызывать функциональные изменения, не приводя к немедленной гибели. Типичным представителем планктона стоячих и слабопроточных пресноводных водоемов, широко распространенных 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 [5].

Цель данной работы: изучить влияние ионов марганца (II) на репродуктивную активность, смертность и трофическую активность *Daphnia magna*.

Материалы и методы исследования

В качестве объектов исследования были взяты *Daphnia magna* Straus и *Scenedesmus quadricauda*.

Методика культивирования *S. quadricauda* (Turp.). Культуру водорослей выращивали на среде Прата в климатостате, в котором обеспечивалось искусственное освещение интенсивностью 3000–10000 лк в течение 24-часового периода. Культуру водорослей встряхивали 1–2 раза в течение суток (ФР.1.39.2007.03223).

Методика культивирования *D. magna* Str. Культуру рачков дафний выращивали в помещении, не содержащем токсических паров или газов, в климатостате P2, в котором обеспечивалось искусственное освещение интенсивностью 1000–1500 люкс в течение 12-часового дневного периода с температурой $20 \pm 1^\circ\text{C}$. Кормление дафний производили суспензией водорослей *S. quadricauda* ежедневно (ПНД Ф Т 14.1:2:4.12–06; ФР.1.39.2007.03222).

Приготовление модельных растворов. Для моделирования загрязнения водной среды соединениями марганца использовали водные растворы хлорида ($\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$) и сульфата ($\text{MnSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$) марганца(II) с концентрацией ионов металла 0,001; 0,005; 0,01; 0,05; 0,1; 0,5; 1; 3; 5; 10 мг/л, приготовленных на отстоянной водопроводной воде методом последовательного разведения.

Методика оценки жизнеспособности *D. magna* Str. Определение токсичности вышеперечисленных растворов проводили в течение 96 часов и 24 суток по аттестованной методике биотестирования водной среды (ПНД Ф Т 14.1:2:4.12–06; 16.1:2:3:3.9–06; ФР.1.39.2007.03222), рекомендованной в экологических исследованиях [6].

В колбы вносили по 100 мл исследуемых растворов и контрольной пробы (отстоянной воды, pH 7,0–7,5). В каждую колбу сачком помещали 10 дафний и колбы выдерживали в климатостате в течение 96 часов и 24 суток при температуре $20 \pm 1^\circ\text{C}$ и освещении интенсивностью 1000–1500 люкс с 12-часовым дневным периодом. Ежедневно в колбы вносили в качестве корма 1 мл концентрированной суспензии микроводорослей *S.*

quadricauda. Ежедневно с помощью трибинокулярного микроскопа Биомед-6 (x40) контролировали выживаемость рачков, время наступления половозрелости, время рождения первого помета, общее количество родившейся молодежи, абортных яиц, мертворожденной и уродливой молодежи.

Методика определения трофической активности *D. magna* Str. Трофическую активность дафний определяли по степени снижения концентрации корма в среде с рачками [7]. Количество съеденного корма, суспензии водоросли измеряли по интенсивности нулевого уровня флуоресценции хлорофилла водоросли. Оценку трофической активности рачков проводили по методике, описанной в работах (Маторин и др., 2007; Маторин, Венедиктов, 2009).

В каждую колбу объемом 100 мл помещали 50 мл модельного раствора и 10 дафний в возрасте 6–24 ч. Рачков выдерживали в среде в течение суток при температуре 20°C и 12-часовом световом дне. Через сутки в пробы помещали водоросли *S. quadricauda*. На спектрофлуориметре «Флюорат-02-Панорама» измеряли интенсивность флуоресценции сред сразу после добавления водорослей и через 1 ч. Расчет трофической активности *D. magna* (F) проводили по формуле:

$$F = \frac{(I_t/I_0 - I_{\phi})V}{nt}$$

где V — общий объем пробы, мл; n — количество дафний в пробе, шт.; t — время опыта, час; I_t/I_0 — коэффициент, соответствующий интенсивности флуоресценции в конечный (I_t) и начальный (I_0) момент опыта; I_{ϕ} — коэффициент, соответствующий фоновой интенсивности флуоресценции; 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%.

Обсуждение результатов

Для оценки жизнеспособности дафний в при воздействии ионов марганца (II) в различных концентрациях нами определялись показатели смертности, плодовитости и фильтрационной активности. Острую токсичность исследуемых водных образцов определяли по формуле:

$$A = \frac{X_k - X_0}{X_k} \cdot 100\%$$

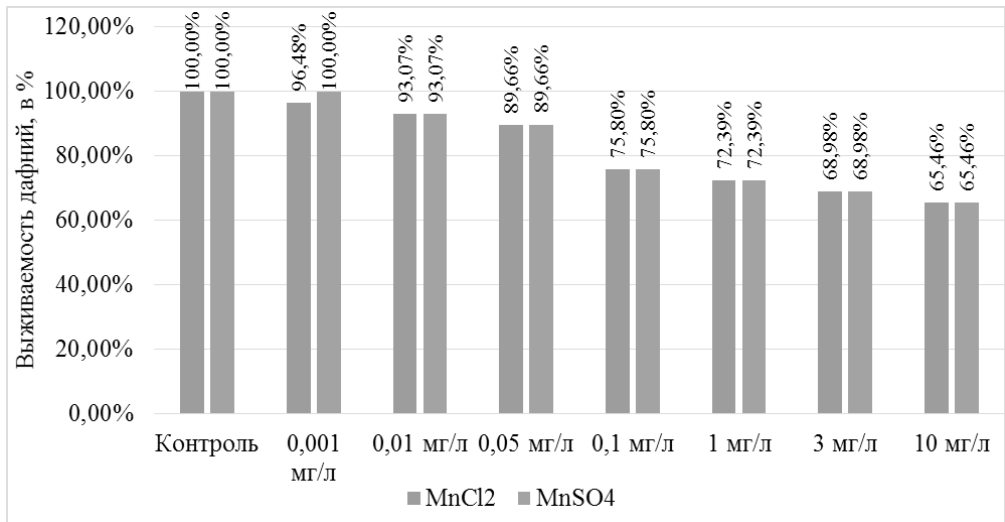


Рисунок 1. Влияние хлорида и сульфата марганца (II) на выживаемость *D. magna* (на 24 сутки эксперимента) в процентах

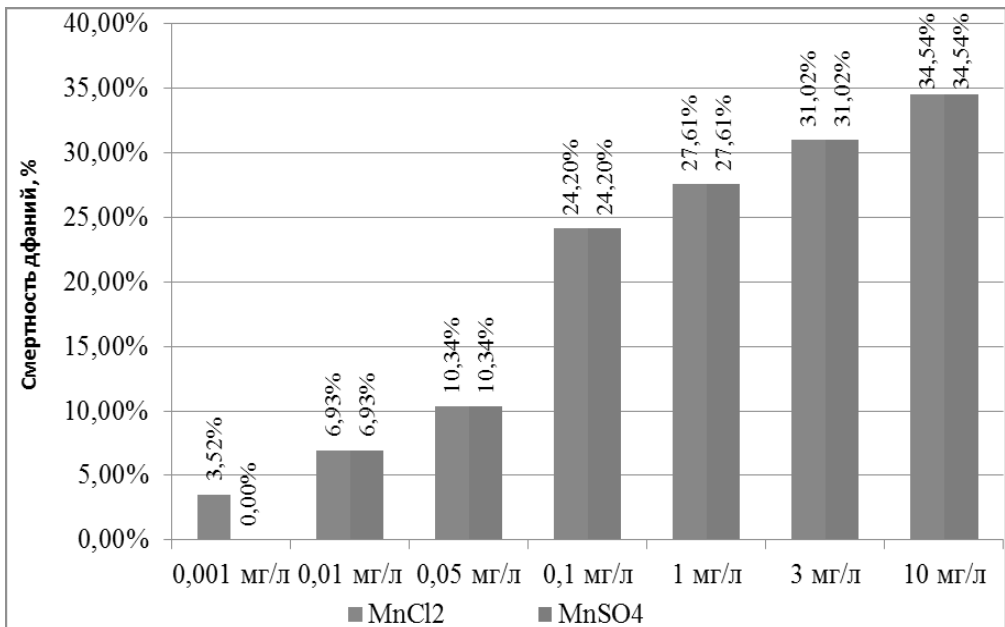


Рисунок 2. Влияние хлорида и сульфата марганца (II) на смертность *D. magna* (на 24 сутки эксперимента) в процентах

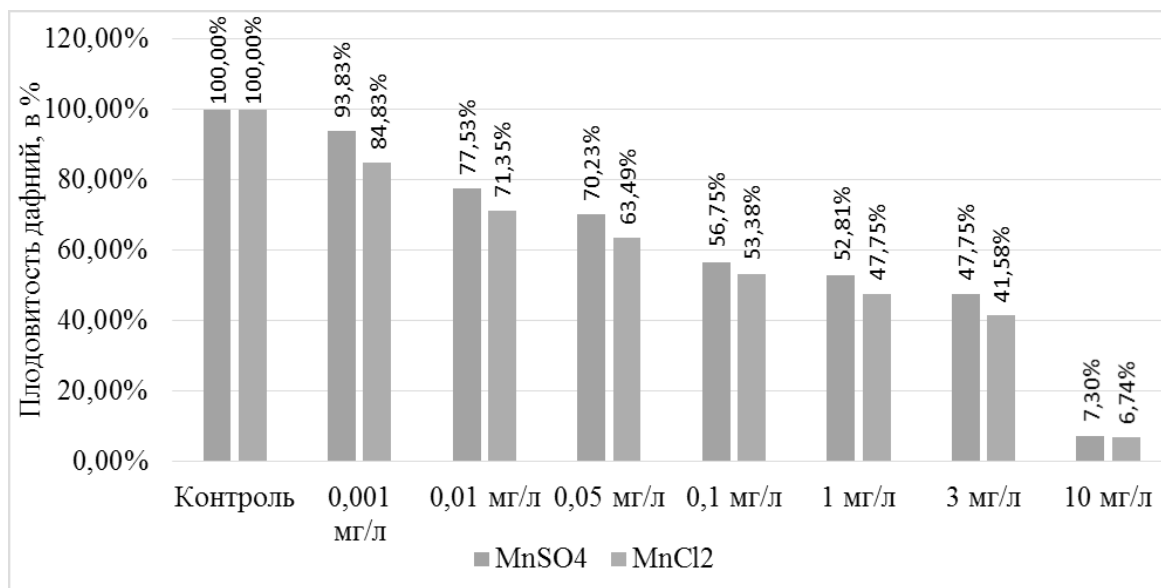
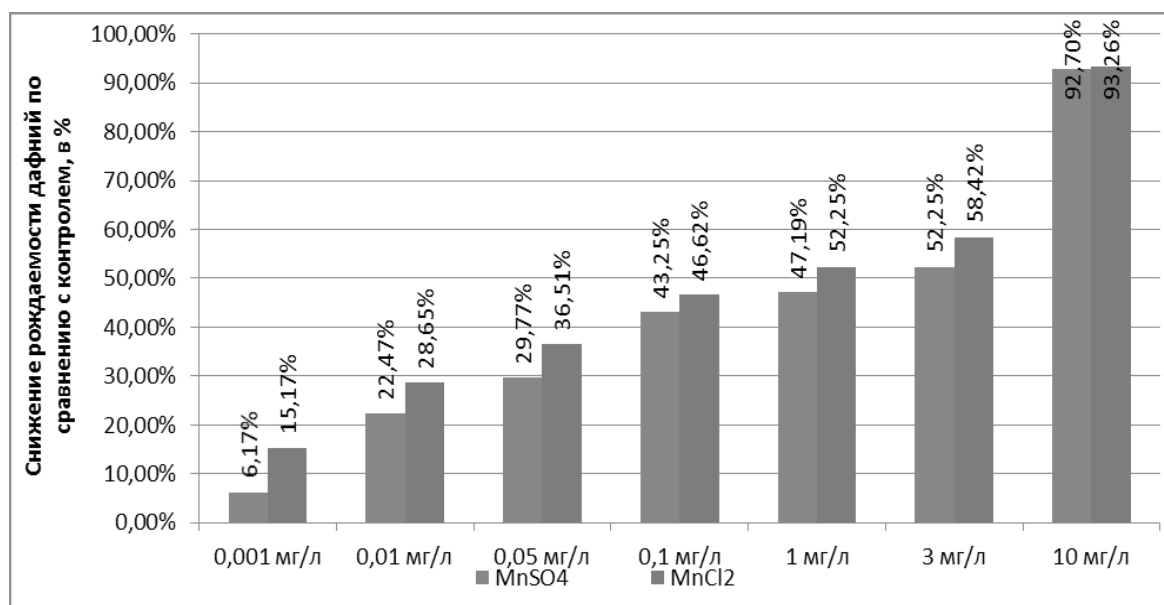
где x_k — количество выживших дафний в контроле, x_0 — количество выживших дафний в исследуемом в образце.

Расчет относительного изменения процента гибели дафний не выявил острой токсичности ни в одном образце, хроническая токсичность проявилась в образцах с концентрациями ионов Mn_2+ 0,1; 1, 3, 10 мг/л. И с $MnCl_2$, и с $MnSO_4$ относительная гибель составила, соответственно, 24,20%; 27,61%; 31,02%; 34,54%. В образце с концентрацией ионов Mn_2+ 0,005 мг/л отмечена довольно высокая гибель *D. magna* (10,34% с $MnCl_2$

и $MnSO_4$), поэтому её следует признать потенциально опасной. В образцах с концентрациями ионов марганца (II) 0,001 и 0,01 мг/л не выявлено даже хронического токсического воздействия (гибель дафний составила, соответственно, 3,52% и 6,93% с $MnCl_2$ и 0% и 6,93% с $MnSO_4$).

Данные по выживаемости рачков в растворах солей Mn_2+ различных концентраций представлены на рис. 1 и 2.

С повышением концентрации ионов марганца Mn_2+ в испытуемых образцах наблюдается сниже-

Рисунок 3. Влияние ионов металлов на рождаемость *D. magna* (на 24 сутки эксперимента) в процентахРисунок 4. Влияние ионов металлов на снижение рождаемости *D. magna* (на 24 сутки эксперимента) в процентах по сравнению с контролем

ние плодовитости *D. magna*. При концентрациях ионов Mn^{2+} 0,001 и 0,01 мг/л снижение рождаемости составило, соответственно, 15,17% и 28,65% с $MnCl_2$ и 6,17% и 22,47% с $MnSO_4$. Плодовитость существенно снижается при концентрациях 0,05; 0,1; 1 мг/л: снижение рождаемости составляет, соответственно, уже 36,51%; 46,62% и 52,25% с $MnCl_2$ и 29,77%; 43,25% и 47,19% с $MnSO_4$. В концентрациях ионов марганца (II) в 3 и 10 мг/л плодовитость дафний падает более чем в 2 раза: снижение их рождаемости по сравнению с контролем составляет уже 58,42% и 93,26% с $MnCl_2$ и 52,25% и 92,70% с $MnSO_4$.

Данные по плодовитости рачков в растворах солей Mn^{2+} различных концентраций представлены на рис. 3 и 4.

Фильтрационная активность *D. magna* с повышением концентрации ионов марганца Mn^{2+} также снижается в испытуемых образцах. При концентрации марганца 0,001 мг/л она составила 2,56 и 2,63 мл/даф.·час для $MnSO_4$ и $MnCl_2$ соответственно, при концентрации марганца 0,01 мг/л в случае с обеими солями — 2,51 мл/даф.·час. При дальнейшем повышении концентрации марганца (выше предельно допустимого значения) получены следующие значения фильтрационной актив-

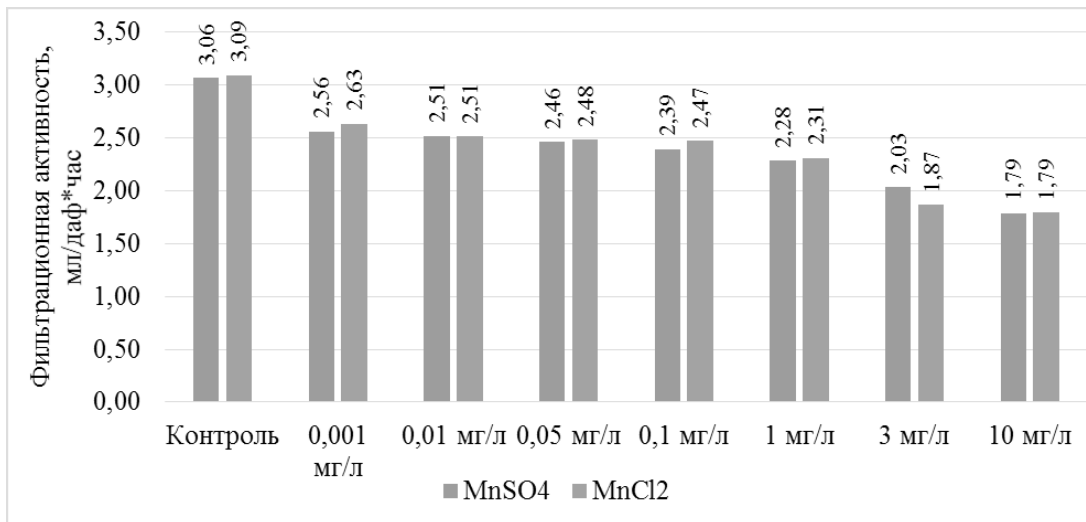


Рисунок 5. Зависимость фильтрационной активности *Daphnia magna* от концентрации ионов Mn^{2+}

ности — для $MnSO_4$ и $MnCl_2$ соответственно: 0,05 мг/л — 2,46 и 2,48 мл/даф.·час; 0,1 мг/л — 2,39 и 2,47 мл/даф.·час; 1 мг/л — 2,28 и 2,31 мл/даф.·час; 3 мг/л — 2,03 и 1,87 мл/даф.·час; 10 мг/л — 1,79 мл/даф.·час (для обеих солей).

Данные по трофической активности рачков в растворах солей Mn^{2+} различных концентраций представлены на рис. 5.

Заключение

Результаты исследований позволяют сделать следующие заключения.

Ионы марганца (II) не оказывают острой токсичности ни в одном образце, а хроническая токсичность проявляется в образцах с концентрациями более 0,05 мг/л. Концентрация 0,05 мг/л вызывает довольно высокую гибель *D. magna*, поэтому её следует признать потенци-

ально опасной, но и она не является чрезмерно токсичной. Сульфат и хлорид марганца (II) проявляют одинаковое отрицательное токсическое воздействие.

С повышением концентрации ионов марганца Mn^{2+} в испытуемых образцах наблюдается снижение плодовитости *D. magna*. При концентрациях 0,001 и 0,01 мг/л она падает незначительно. Плодовитость существенно снижается при концентрациях 0,1 и 1 мг/л, а в концентрациях 3 и 10 мг/л она падает более чем в 2 раза. Эксперимент также показывает, что хлорид марганца (II) проявляет большее отрицательное воздействие на рождаемость *D. magna*, чем сульфат марганца (II).

Фильтрационная активность *D. magna* снижается с повышением концентрации ионов марганца Mn^{2+} . Результаты эксперимента показали, что отрицательное воздействие хлорида и сульфата марганца (II) на фильтрационную активность *D. magna* является сопоставимым.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кочарян А. Г., Лебедева И. П. Техногенные источники тяжелых металлов и формы их поступления в водные объекты. Институт водных проблем РАН, г. Москва iplebed@gmail.com
2. Орлов Д. С. Связь металлических катионов, включая тяжелые металлы, с компонентами почвенного гумуса / Д. С. Орлов // Тяжелые металлы, радионуклиды и элементы-биофилы в окружающей среде: Материалы Междунар. науч.-практ. конф. — Семипалатинск: СГУ им. Шакарима, 2002. — Т. 1. — С. 147–153.
3. Линник П. Н., Набиванец Б. И. Формы миграции металлов в пресных поверхностных водах. // Л.: Гидрометеиздат. — 1986—241с.
4. Битюцкий, Н. П. Микроэлементы и растение. // Учебное пособие. — СПб.: Издательство Санкт-петербургского университета. — 1999. — 232с.
5. Родина, А. Г. Опыты по питанию *Daphnia magna* // Зоологический журнал. 1946. Т. 25. № 3. С. 237–343.
6. ПНД Ф Т 14.1:2:3:4:5—2000 Методика определения токсичности воды по смертности и изменению плодовитости дафний. — М., 2000. 32 с.
7. 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.
8. Мур, Дж. В. Тяжелые металлы в природных водах / Дж. В. Мур, С. Рамамурти — М.: Мир, 1987. 286 с.