

УДК 595.324.2

## МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ *DAPHNIA MAGNA* В УСЛОВИЯХ ВЛИЯНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОГО ПЕСТИЦИДА НА ОСНОВЕ *BACILLUS THURINGIENSIS*

К. В. Кулагина, В. М. Каменек

Ульяновский государственный университет, Ульяновск, Россия

## MORPHOPHYSIOLOGICAL TRAITS OF THE *DAPHNIA MAGNA* UNDER IMPACT OF BIOPESTICIDE BASED ON *BACILLUS THURINGIENSIS*

K. V. Kulagina, V. M. Kamenek

Ul'yanovsk State University, Ul'yanovsk, Russia

Одним из важных антропогенных химических факторов, вызывающих неблагоприятные изменения окружающей природной среды, являются пестициды, которые вносятся в окружающую среду для решения сельскохозяйственных задач и способны циркулировать и накапливаться в ней, что приводит к изменению химического фона для гидробионтов (Лунев, 2005). Последнее может служить регулятором развития популяций, оказывая влияние на морфофизиологическое и генетическое состояние гидробионтов из разных таксономических групп.

Определение величины воздействия токсикантов на водную экосистему является сложнейшей проблемой мониторинга всех абиотических и биотических параметров пресноводных водоемов. В этой связи оценка величины воздействия на водоемы по ответным реакциям гидробионтов перспективна и может использоваться в гидроэкологии. Биологические показатели состояния экосистем имеют очевидные преимущества, так как являются суммарными показателями всех изменений за продолжительный период времени и в то же время отражают ответ биоты на антропогенное воздействие.

В настоящее время широкое применение нашли биологические средства защиты. Они производятся преимущественно на основе целых микроорганизмов и содержат помимо действующего начала примесь спор, вегетативных клеток, токсинов, что нежелательно с экологической точки зрения. В связи с вышеперечисленным актуальным становится вопрос влияния биологических пестицидов на гидробионтов, находящихся на низших уровнях гетеротрофов, которые могут быть более уязвимы к воздействию химического фактора. В нашей работе исследовано токсикологическое влияние пестицида нового поколения «Лепидоцид» на основе *B. thuringiensis* на *Daphnia magna* Straus (Straus, 1820).

«Лепидоцид» представляет собой биологический инсектицидный препарат кишечного действия, применяемый для борьбы с листогрызущими вредителями. Основа препарата – кристаллообразующая бактерия *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Ishivata, 1915). Активный ингредиент – бактериальные споры и белковые кристаллы (дельта-эндотоксин); остатки питательной среды и метаболиты культуры-производителя; инертные наполнители, обеспечивающие сохранность, растекаемость и стабильность препарата. В целом литературные источники по воздействию «Лепидоцида» и его составляющих на водных беспозвоночных встречаются крайне редко.

*D. magna* легко вводится в культуру, довольно устойчива в искусственных условиях (при культивировании *in vitro*), дает целый комплекс тест-реакций (иммобилизация, оседание на дно, переход от скачкообразных движений к неупорядоченным, вращение вокруг своей оси или «кувыркание»), замедление взмахов антенн и частоты сердечного ритма, выброс яиц и развивающихся эмбрионов) и имеет короткий жизненный цикл, позволяющий проследить последствия токсического действия (в малых концентрациях) на протяжении ряда поколений.

Инсектицид исследовали в опытах острой летальной токсичности с *D. magna* по общепринятой в водной токсикологии методике (Руководство ..., 2002). Для опытов использовали молодь рачков, непосредственно вышедших от материнской особи как наиболее чувствительную стадию развития и при необходимости – двухдневных особей. Опыты ставились на одной воде (отстоянная от 2 до 7 суток), жесткость  $5,57 \pm 0,02$  мг экв./дм<sup>3</sup>, pH  $7,49 \pm 0,04$ , содержание кислорода –  $9,2 \pm 0,1$  мг/дм<sup>3</sup> (перед проведением опытов отстоянную воду процеживали и насыщали воздухом с помощью аквариумного микрокомпрессора). Все исследования проводились в температурном диапазоне  $+20 \pm 2^\circ\text{C}$ .

В опытах с *D. magna* использовали концентрации биопрепарата, соизмеримые с нормой его использования для решения сельскохозяйственных задач (от 3 до 0,01 г/л). На каждую концентрацию ставилось по 5 повторностей, высчитывалась медианная летальная концентрация по пробитам. Исследования проводились в 2008–2009 гг. на базе лаборатории кафедры биоэкологии и генетики человека Ульяновского государственного университета.

Первые симптомы отравления молодежи *D. magna* под воздействием высоких концентраций биопрепарата во всех повторностях в целом имеют одинаковые черты. Наблюдалась повышенная двигательная активность молодежи дафний, чаще всего особи находились у поверхности растворов и быстро перемещались. Антенны и торакальные ножки дафний двигались непрерывно с высокой частотой (тремор или дрожание). Через некоторое время активность снижалась, наблюдалось падение особей на дно, явления «голкания» головой о дно и о стенки сосудов, переворачивание через голову. Визуально можно было наблюдать, что функция дыхания и сердечный ритм

суттєво угнетались, наблюдалось лишь конвульсивное подрагивание тела и антенн – наступала стадия глубокого угнетения. Степень токсического эффекта определялась концентрацией пестицида и длительностью экспозиции. Таким образом, под воздействием исследуемого биопрепарата в высоких концентрациях с момента внесения *D. magna* в растворы и в течение 24–48 часов можно выделить следующие стадии:

1) стадия возбуждения, повышенной раздражимости молодежи *D. magna*;

2) стадия нарушения координации движений, потеря равновесия и падение на дно;

3) стадия глубокого угнетения жизнедеятельности *D. magna* – паралич сердечной деятельности и дыхания и, как следствие, летальный исход.

При низкой концентрации, то есть при которой отмечается гибель лишь некоторого процента особей от общего их числа (в течение 96 часов), можно отметить еще одну стадию – толерантности к растворенному инсектициду. Хотя при этой концентрации также наблюдалась реакция *D. magna* на токсикант (повышенная возбудимость и нарушение координации движений), такие отклонения в поведении дафний наблюдались в течение первых часов и даже более. Если особи возобновляли равновесие тела и их координация восстанавливалась, то еще некоторое время они находились в таком угнетенном состоянии. В большинстве случаев через 48 часов состояние особей нормализовалось и их поведением и внешнему состоянию было трудно отличить от контрольных.

Скорость наступления первой и всех последующих стадий возбуждения и продолжительность каждой из них зависели от концентрации биологического инсектицида. Чем выше концентрация, тем быстрее наступала стадия возбуждения молодежи дафний и тем короче был период этой стадии, и, наоборот, при низкой концентрации растворов требовалось больше времени для ответной реакции. В опытах при 3 г/дм<sup>3</sup> нарушение координации у молодежи наступало уже через 4 часа, а при 1 г/дм<sup>3</sup> в это время наблюдалось лишь возбуждение молодежи, повышенная активность и дрожание антенн, то есть так называемая первая стадия раздражимости.

Микроскопические наблюдения показали, что биопрепарат негативно влиял на линьку и рост молодежи дафний. В опытах с высокой концентрацией наблюдалась 100 %-ная линька молодежи в течение 24 часов, а 100 %-ная смертность всех дафний наблюдалась через 48 часов. При низкой концентрации биопрепарата линька наступала у 30 % особей в первые 24 часа, остальные – в течение последующих 48 часов.

В таблице приведены линейные размеры тела *D. magna* по окончании острых опытов и показаны концентрации биопрепарата. Исходная длина особей от основания spina до верхнего края головы колебалась от 0,800 до 0,825 мм.

Таблица. Линейные размеры молодежи *Daphnia magna* S. через 96 часов в опытах с биопрепаратом

Концентрация препарата, г/дм <sup>3</sup>	Длина тела <i>Daphnia magna</i> S., мм					
	опыт 1	опыт 2	опыт 3	опыт 4	опыт 5	контроль
3	1,00*	1,00*	0,95*	1,00*	1,00*	1,85
2	1,20**	1,20**	1,30**	1,20**	1,30**	1,95
1	1,30	1,50	1,50	1,50	1,50	1,90
0,1	1,50	1,50	1,50	1,60	1,50	1,90
0,01	1,74	1,76	1,75	1,74	1,76	1,90

Примечание: \* – смертность особей через 48 часов, \*\* – смертность особей через 72 часа.

Как видно из таблицы, линейные размеры дафний в опытах с различной концентрацией отличались, несмотря на то, что исследования проводились при одинаковых условиях среды.

Таким образом, влияние на дафний разных концентраций биологического пестицида неодинаково: с изменением концентраций меняется степень токсического эффекта. В опытах с концентрацией 1 г/л выжило лишь 3 особи, у которых наблюдалось наличие жировых капель и хорошо развитых печеночных выростов. Очевидно у этих особей происходила детоксикация пестицида и они сумели адаптироваться. Механизмы процессов детоксикации и адаптации к токсикантам очень сложны. Этому способствует накопление жировых капель в теле дафний, что играет положительную роль в их адаптации.

Наше исследование показало, что использование рабочих концентраций биологического пестицида, применяемого для защиты лесных, сельскохозяйственных и парковых культур от гусениц чешуекрылых насекомых вызывает у *D. magna* нарушение нормальной жизнедеятельности, вызывая определенные морфофизиологические изменения, влияя на обмен веществ, о чем свидетельствует отставание в росте, нарушение линьки дафний. Снижение концентрации до 0,1 г/дм<sup>3</sup> уже не оказывает такой токсический эффект, благодаря в том числе механизмам процессов детоксикации и адаптации к токсикантам. Снижение концентрации применяемого инсектицида в районах расположения водных экосистем может служить адекватной мерой по предупреждению токсического влияния на гидробионтов.