

УДК 591

ЭНЕРГЕТИЧЕСКАЯ ЦЕНА ОНТОГЕНЕЗА КАК ПОКАЗАТЕЛЬ КАЧЕСТВА СРЕДЫ ОБИТАНИЯ (ТЕСТЫ НА *DAPHNIA MAGNA* И *CARASSIUS AURATUS*)

© 2018 г. С. Ю. Клейменов

Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН

119334 Москва, ул. Вавилова, 26

E-mail: s.yu.kleymenov@idbras.ru

Поступила в редакцию 22.06.2017 г.

Рассмотрено применение метода энергетической цены онтогенеза для характеристики качества среды обитания. Предложен количественный метод оценки неблагоприятного действия среды на организм. Приводятся примеры практического использования метода при оценке экологических последствий загрязнения среды.

Ключевые слова: энергетический метаболизм, онтогенез, экология, качество среды обитания, *Daphnia magna*, *Carassius auratus*

DOI: 10.7868/S0475145018010032

ВВЕДЕНИЕ

Существует множество способов оценки качества среды обитания. Большинство методов анализирует степень уже наступившего повреждения организма, вследствие его пребывания в неблагоприятных условиях — хромосомные aberrации, цитокINETические отклонения, изменения формулы крови, морфологические нарушения и другие. Биоэнергетический метод оценки неблагоприятного воздействия отличается тем, что основан на определении дополнительного количества энергии, необходимого организму для компенсации действия среды обитания, и работает уже в тех случаях, когда повреждение организма еще не наступило.

Во время проведения такого биотеста происходит измерение суммарного количества энергии, которое организм расходует за условно стандартный период онтогенеза. Таким периодом может быть продолжительность одного деления дробления эмбриона. Также удобно использовать продолжительность некоторой стадии развития, для которой характерно наличие четких морфологических маркеров ее начала и окончания. Если по какой-то причине в качестве тестового биологического объекта требуется выбрать организм, завершивший эмбриональное или личиночное развитие, в этом случае стандартным периодом может служить продолжительность прироста единицы массы тела или продолжительность периода между линьками, как это было сделано в экспериментах на *Daphnia magna* (Захаров и др., 2000).

Суммарный расход энергии в качестве меры неблагоприятного действия среды обитания имеет обоснованные преимущества перед измерением сиюминутной интенсивности энергетического метаболизма, попытки использовать которую предпринимались неоднократно.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Онтогенез, как процесс реализации пространственно-временной структуры, план которой содержится в геноме, требует определенных затрат энергии. Каждое морфологическое или физиологическое преобразование организма — это работа, которая начавшись должна быть завершена для успешного начала следующего преобразования. И эта работа имеет конкретную величину в энергетическом выражении для каждой стадии или этапа развития организма в оптимальных для него условиях.

Если же организм вынужден противостоять внешнему неблагоприятному воздействию, ему приходится совершать дополнительную работу для восстановления, например, солевого баланса при недостатке воды, более продолжительный поиск пищевых объектов при бескормице или воссоздание клеток в случае токсического поражения тканей. Даже если организм способен компенсировать вредное действие среды в полной мере так, что морфологическое исследование не обнаружит никаких повреждений, ему требуется для этого выполнить определенную работу, а значит затратить дополнительную энергию. Таким образом,

энергетическая цена каждого этапа развития и онтогенеза в неоптимальных условиях будет неизбежно выше, чем в оптимальных (Зотин, Зотина, 1993).

Однако этот эффект будет заметен лишь при сравнении идентичных онтогенетических процессов от начала до завершения. Известно, что скорость онтогенеза может варьировать в неблагоприятных условиях вплоть до полного временного прекращения развития. Особенно ярко это проявляется у пойкилотермных животных при изменении температуры среды (Детлаф, 2001).

Сопоставление энергетической цены развития информативно только в том случае, если это цена одного и того же онтогенетического отрезка, но пройденного в разных условиях. Поэтому успех метода зависит от грамотного определения начала и окончания условно стандартного периода онтогенеза.

Суммарный расход энергии за выбранный период развития определяется несколькими повторными измерениями интенсивности метаболизма. Во избежание ошибок следует учитывать изменения метаболизма тест-объекта в течение суток. Измерения, как правило, проводятся непрямым методом по скорости потребления кислорода. При проведении подобных исследований необходимо поддерживать стабильную концентрацию кислорода на уровне, исключающем возможный переход некоторых животных к анаэробному обмену, как это свойственно, например, двустворчатым моллюскам.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Изучение энергетической цены одного деления дробления в эмбриогенезе вьюна *Misgurnus fossilis* при разной температуре показало наличие ее минимума в диапазоне от 15 °С до 18 °С (Зотин, Озернюк, 1966). В том же диапазоне температур отмечен максимум выживаемости зародышей при вылуплении (Алексеева, Озернюк 1987). Оптимальные температуры для стадии дробления и стадии вылупления вьюна совпадают (рис. 1), поскольку во время его эмбриогенеза температура практически не меняется.

Если в природе развитие происходит на фоне заметно меняющейся температуры, минимум цены развития смещается вместе с ней. Сравнение положения минимума цены развития в эмбриогенезе радужной форели *Salmo gairdneri* (Алексеева, 1987) и камчатской кеты *Oncorhynchus keta* (Зиничев, Зотин, 1988) обнаружило, что у этих видов положение минимума энергетической цены развития в эмбриогенезе смещается по шкале температуры в разные стороны. У форели optimum развития смещается в сторону высоких температур от 5,3 °С на стадии дробления до 10,5 °С на стадии вылупления из оболочек. У кеты смещение минимума происходит в противоположную сторону от 8,3 °С до 5,3 °С (рис. 2).

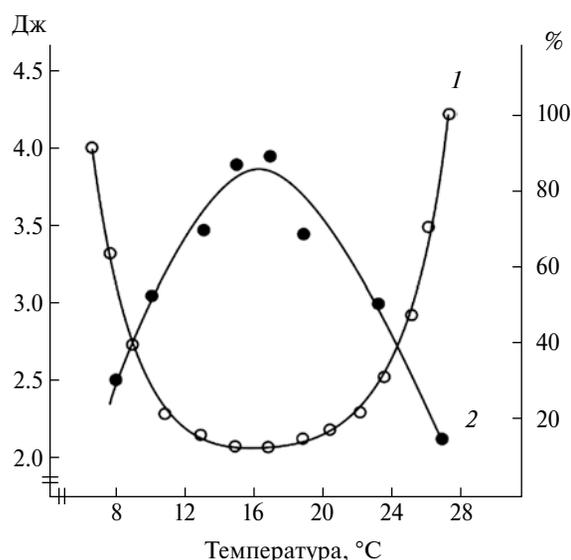


Рис. 1. Энергетическая цена одного деления дробления (1) яиц вьюна и процент выживаемости при выклеве (2) в зависимости от температуры. По данным: Зотин, Озернюк 1966 (1), и Алексеева, Озернюк 1987 (2).

Причина в том, что форель нерестится ранней весной, когда водоемы активно прогреваются. Камчатская кета, напротив, нерестится осенью на фоне снижения температуры воды. Особенности экологии обоих видов сопряжены с закреплением в их эволюции таких физико-химических изменений, которые смешают optimum развития вслед за изменяющейся температурой, обеспечивая максимальный процент выживаемости в эмбриогенезе и, следовательно, высокую эффективность размножения. Смещение минимума энергетической цены развития в соответствии с особенностями экологии вида доказывает что такая оценка optimum не является искусственным параметром, а основана на естественных особенностях физиологии.

Температура не единственный, хотя и наиболее часто используемый, параметр, влияющий на энергетическую цену развития. Смолтификация, происходящая во время покатной миграции кеты, также смещает optimum развития в направлении повышенной солености (рис. 3).

В начале смолтификации минимум энергетической цены прироста единицы массы тела молоди отмечался при 14,6‰, а через 20 суток в конце смолтификации 27,5‰ (Зиничев, 1988). В этом исследовании использовали энергетическую цену прироста единицы массы тела, так как во время покатной миграции у молоди кеты нет заметных морфологических изменений, которые могли бы служить маркерами стандартного периода развития.

Небольшое количество параметров внешней среды использованных в исследованиях,

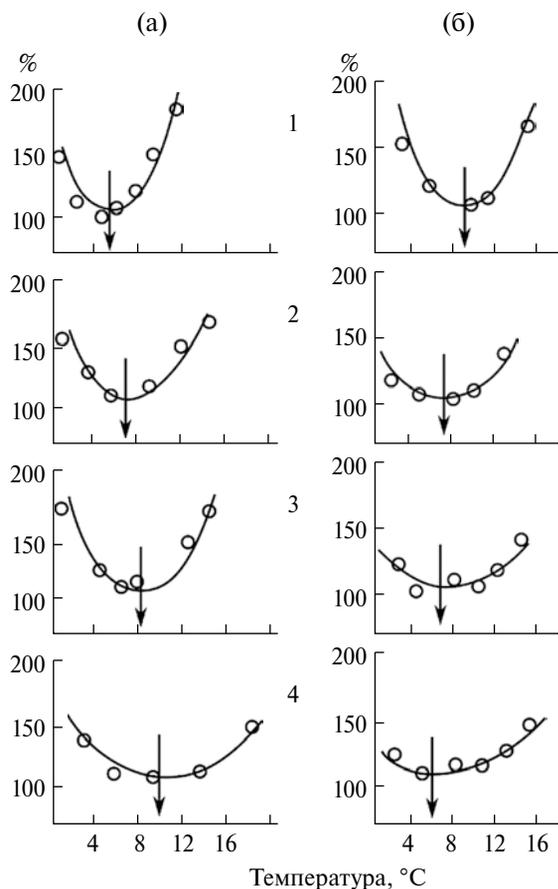


Рис. 2. Изменение энергетической цены развития на протяжении эмбриогенеза форели *Salmo gairdneri* (а) и кеты *Oncorhynchus keta* (б) на разных стадиях эмбриогенеза в процентах относительно креода. По данным: Алексеева, 1987 и Зиничев, Зотин, 1988. Стадии развития: 1 – дробление; 2 – начало гаструляции; 3 – начало пульсаций сердца; 4 – перед вылуплением.

объясняется прежде всего трудностями технического характера, которые не позволяют контролировать многие из них.

Энергетическая цена развития дает возможность не только определять положение оптимума для параметров внешней среды, но и проводить сравнительную оценку адаптивного диапазона представителей разных видов животных. Для такой оценки, прежде всего, необходимо провести нормирование энергетической цены, поскольку ее абсолютные величины у разных видов могут отличаться на несколько порядков. В качестве нормирующей величины наилучшим образом подходит энергетическая цена развития при оптимальных условиях, после деления на которую все результаты оказываются выраженными в процентах относительно оптимума (Зотин, Зотина, 1993).

Сравнение нормированной энергетической цены развития за стадию куколки нескольких

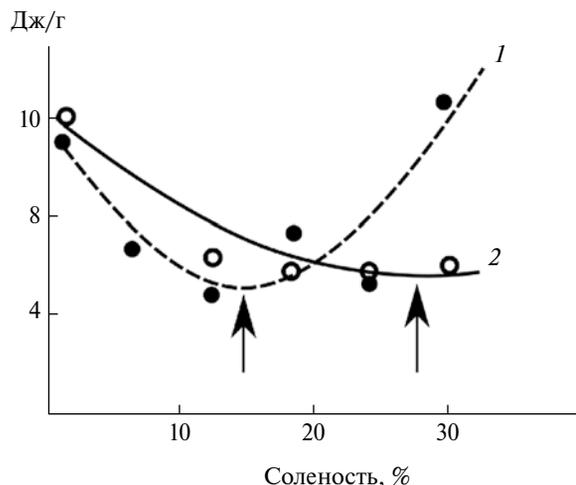


Рис. 3. Энергетическая цена прироста единицы массы тела молоди камчатской кеты *Oncorhynchus keta* в первые 10 суток от начала смолтификации (1) и последние 10 суток смолтификации (2). По данным: Зиничев, 1988.

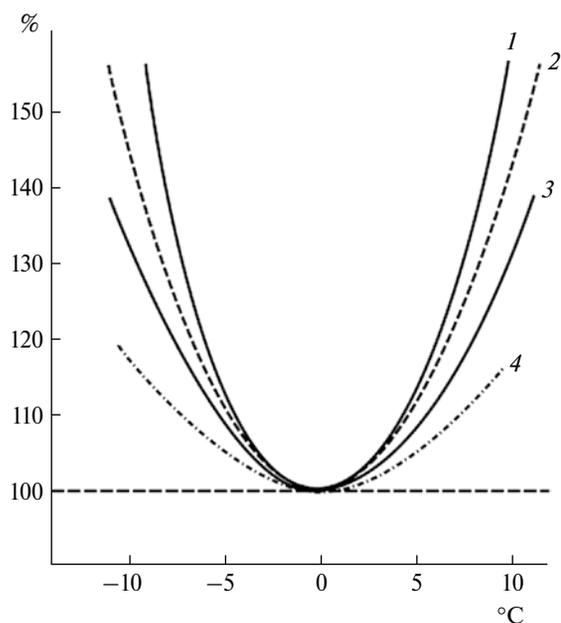


Рис. 4. Энергетическая цена развития куколки некоторых видов насекомых в процентах к цене развития при оптимальной температуре. По абсциссе температура относительно оптимальной, принятой за 0 шкалы. 1 – *Tenebrio molitor* (Janda, Kocian, 1933); 2 – *Galleria melonella* (Crescitelli, 1935); 3 – *Culex pipiens* (Алексеева и др. 1991) и 4 – *Drosophila melanogaster* (Алексеева и др., 1985).

видов насекомых обнаруживает заметные межвидовые различия толерантности к температуре окружающей среды (рис. 4). Наиболее чувствительной к изменению температуры оказалась куколка мучного хрущака *Tenebrio molitor*, а наименее чувствительной куколка *Drosophila melanogaster*.

Таблица 1. Сравнение результатов биоэнергетического и стандартного токсикологического тестов качества воды на *Daphnia magna*

Место отбора пробы	Биоэнергетический тест		Стандартный тест по выживаемости	
	Энергетическая цена (Дж)	Балл	Выживаемость	Балл
Место аварии	Полная гибель	*	0	5
Вблизи места аварии	171,9	5	100	1
На значительном расстоянии ниже по течению	82,5	3	90	1
Природный контроль	53,2	1	96,7	1

Предварительный анализ толерантности к выbranному параметру окружающей среды позволяет подобрать оптимальный по чувствительности тест-объект. Важное значение при выборе тест-объекта играет и продолжительность стадии развития, выбираемой в качестве условно стандартного онтогенетического процесса.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

В основе использования энергетической цены развития как показателя качества среды обитания лежит обратная задача – сравнить энергетическую цену условно стандартного онтогенетического процесса, протекающего в оптимальных условиях или принятых за таковые, и в условиях, которые требуется оценить.

Такие исследования были проведены в рамках оценки экологических последствий загрязнения среды фенолом и нефтепродуктами в результате железнодорожной аварии. Биоэнергетический тест применяли в составе комплексной оценки степени загрязнения реки через год после аварии. Тест-объектом служили *Daphnia magna* – стандартный объект для токсикологических тестов. Определяли энергетическую цену интервала между линьками взрослых особей. Рачков помещали в сосуды с пробами воды, взятыми из различных источников, и содержали в них несколько суток. Срок содержания не менее чем двукратно превышал продолжительность межлиночного интервала. В качестве природного стандарта использовали воду естественного водоема, расположенного в 20 км от места аварии с минимальной антропогенной нагрузкой. В исследовании также применяли лабораторный контроль – подготовленная вода из московского водопровода.

Некоторые результаты тестов представлены в таблице. Результатам каждого вида тестирования дополнительно были выражены в баллах, чтобы иметь возможность сопоставить качественные и количественные методики. Сопоставление биоэнергетического теста и стандартного токсикологического

теста показывают преимущество в разрешающей способности первого перед вторым (таблица 1).

Стандартный токсикологический тест не показал различий в качестве воды из любых иных источников кроме места вблизи аварии. В то же время биоэнергетический тест обнаружил градуальное изменение качества воды по мере удаления от места аварии, несмотря на то, что выживаемость в стандартном токсикологическом тесте нигде не была ниже 90% кроме места аварии.

Аналогичным способом была проведена оценка качества питьевой воды в колодцах поселка, ближайшего к месту аварии населенного пункта (таблица 2). В одном из девяти обследованных колодцев была обнаружена настолько высокая токсичность воды, что биоэнергетический тест невозможно было провести из-за полной гибели тест-объекта. В двух колодцах было обнаружено значительное увеличение энергетической цены онтогенеза *D. magna* по сравнению с контролем в 2,54 и 1,48 раз, и в одном колодце – в 1,2 раза. (Захаров и др. 2000).

Таблица 2. Результаты оценки качества воды из колодцев в районе аварийного загрязнения среды биоэнергетическим методом (тест на *Daphnia magna*)

Место отбора пробы (номер колодца)	Энергетическая цена (Дж)
1	гибель
2	108,9
3	69,9
4	187,3
5	89,5
6	68,8
7	82,1
8	69,1
9	64,8
Лабораторный контроль	73,8

Также была проведена оценка степени токсичности сточных вод очистных сооружений химического предприятия по производству азотных удобрений с использованием в качестве тест-объекта серебряного караса *Carassius auratus*. Определяли энергетическую стоимость прироста единицы массы тела в воде, взятой из стоков очистных сооружений предприятия. Сравнение приводили с тем же параметром, определенным у рыб, которых содержали в подготовленной воде из московской системы водоснабжения. Исследования показали, что скорости роста массы тела рыб в тестируемой и контрольной воде одинаковые, а интенсивность метаболизма рыб в пробе сточной воды выше, чем в контроле на 13% (Захаров и др., 2000).

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют о перспективности использования биоэнергетических тестов для биомониторинга в рамках методологии оценки здоровья среды, основанной на характеристике гомеостаза развития.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алексеева Т.А.* Влияние температуры на потребление кислорода зародышами радужной форели // Онтогенез 1987. Т. 18, № 3, С 308–312.
- Алексеева Т.А., Зотин А.И., Владимирова И.Г.* Влияние температуры на дыхание в разные периоды онтогенеза *Drosophila melanogaster* // Онтогенез. 1985. Т. 16, № 3. С 247–253.
- Алексеева Т.А., Озернюк Н.Д.* Энергетический обмен и температурный оптимум развития вьюна. // Журн. общ. биологии 1987. Т. 48, № 4, С 525–531.
- Алексеева Т.А., Расницын С.П., Званцов А.В.* Изменение интенсивности потребления кислорода в онтогенезе *Culex pipiens molestus* F. (Diptera, Nematocera, Culicidae) // Онтогенез. 1991. Т. 22. № 3. С. 266–268.
- Детлаф Т.А.* Температурно-временные закономерности развития пойкилотермных животных. М.: Наука. 2001.
- Захаров В.М., Чубинишвили А.Т., Дмитриев С.Г. и др.* Здоровье среды: практика оценки. М.: Центр экологической политики России, 2000. 318 с.
- Зиничев И.И.* Оптимальные значения температуры и солености в раннем онтогенезе тихоокеанских лососей. Автореф. дисс. канд. биол. наук. Владивосток, 1988. 24 с.
- Зиничев В.В., Зотин А.И.* Зависимость суммарного потребления кислорода на разных стадиях развития тихоокеанской кеты // Онтогенез 1988. Т. 19, № 2, С 217–220.
- Зотин А.И., Зотина Р.С.* Феноменологическая теория роста, развития и старения организма. М.: Наука. 1993.
- Зотин А.И., Озернюк Н.Д.* Влияние температуры на дыхание и уровень АТФ в период дробления яиц вьюна // Док. АН СССР, 1966. Т. 171, № 4, С 1002–1004.
- Crescitelli F.* The respiration metabolism of *Galleria melonella* (bee moth) during pupal development at different constant temperatures // J. Cell. Comp. Physiol. 1935. Vol. 6, № 3. P. 351–368.
- Janda V., Kocian V.* Uber den Sauerstoffverbrauch der Puppen von *Tenebrio molitor* L. // Zool J. 1933. Bd. 52, H 4. S. 561–590.

Energy Cost of Ontogenesis as a Marker of the Quality of the Habitat (Tests on *Daphnia magna* and *Carassius auratus*)

S. Yu. Kleimenov

Koltsov Institute of Developmental Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119334 Russia

e-mail: s.yu.kleymenov@idbras.ru

Received June 22, 2017

The application of the method of energy cost of ontogenesis for characterizing the quality of the habitat is considered. A quantitative method for assessing the adverse effect of the environment on the body is proposed. Examples of practical use of the method in estimating the ecological consequences of environmental pollution are given.

Keywords: energy metabolism, ontogeny, ecology, habitat quality, *Daphnia magna*, *Carassius auratus*