

УДК 574.64:[546.562:595.77]

В. Д. Романенко, М. Т. Гончарова

**ЛИЧИНКИ *CHIRONOMUS RIPARIUS* (DIPTERA:  
CHIRONOMIDAE) ЯК ЧУТЛИВИЙ ДО МІДІ  
ТЕСТ-ОБ'ЄКТ**

Досліджено чутливість личинок *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae) на різних стадіях розвитку до дії йонів міді. Встановлено, що найбільш чутливими є личинки першої стадії, найменш — четвертої. Яйця *Ch. riparius* виявились найбільш резистентними до дії даного токсиканта.

**Ключові слова:** *Chironomus riparius*, чутливість, йони міді.

Комарі-дзвінці (Chironomidae) — одна з найбільш поширених та екологічно важливих груп водяних макробезхребетних [1]. Вони відіграють значну роль в трансформації органічної речовини у водних екосистемах [3]. Мешкаючи безпосередньо в донних відкладах, де переважно відбувається депонування забруднюючих речовин, вони значною мірою піддаються інтоксикації. Так, зміна чисельності та біомаси певних підродин комарів-дзвінців під впливом забруднення є визнаним біоіндикативним показником екологічного стану водойми [1]. Висока чутливість до токсичних речовин порівняно з іншими представниками бентосної інфауни, можливість культивування в лабораторних умовах, а також короткий життєвий цикл роблять комарів-дзвінців незамінним тест-об'єктом у токсикологічних експериментах, зокрема *Chironomus riparius* Meigen та *Ch. tentans* Fabricius є стандартними тест-організмами при оцінці токсичності донних відкладів [6, 8, 12, 14].

Одними з пріоритетних токсикантів донних відкладів, поряд з поліароматичними вуглеводнями та поліхлорованими біфенілами, є важкі метали, які не піддаються деструкції та можуть мати кумулятивний і синергічний ефект [4, 7, 9, 15]. Серед важких металів найбільшу небезпеку для водних екосистем становлять мідь, кадмій, свинець і хром [9, 16]. За токсичністю для комарів-дзвінців метали можна розташувати в такий ряд:  $\text{Cu}^{2+} > \text{Pb}^{2+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Cr}^{6+} > \text{Zn}^{2+}$  [13, 15—17]. Проте їх послідовність у цьому ряді та наведені авторами величини середньолетальних концентрацій значно відрізняються. Це може бути пов'язано як з різним гідрохімічним складом води [10] і аніонної складової солей металів, використаних у експериментах [17], так і неоднаковою чутливістю культур. Застосування в експериментальних

© Романенко В. Д., Гончарова М. Т., 2011

дослідженнях личинок різного віку також може бути причиною відмінностей в результатах.

Метою нашої роботи було дослідження чутливості личинок *Chironomus riparius* різних стадій розвитку до міді.

**Матеріал і методика досліджень.** Для досліджень використовували лабораторну культуру *Ch. riparius* біотехнологічного комплексу Інституту гідробіології НАН України. Культура утримувалась при температурі  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ , вологості 80%, фотоперіоді світло : темрява 16 : 8. Шар ґрунту становив  $2,0 \pm 0,5$  см, шар води над ним не перевищував 5 мм. Щільність посадки була в межах 400—500 екз/дм<sup>2</sup>. Корм (Tetramin®) вносили один раз на дві доби з розрахунку 5 мг/екз.

Для досліджень відбирали личинок першої стадії віком до 24 год, отриманих з десяти різних кладок. Подальше їх підрощування до потрібного віку відбувалось у чашках Петрі на піщаному субстраті із щоденним внесенням корму Tetramin® з нормою витрат, такою самою як при культивуванні. Стадії розвитку личинок визначали за шириною головних капсул згідно з методикою [2].

Для дослідження чутливості личинок готували розчини сульфату міді з концентрацією 5,0, 1,67, 0,56, 0,19, 0,06, 0,02 і 0,007 мг  $\text{Cu}^{2+}$ /дм<sup>3</sup>. Для приготування розчинів використовували відстояну водопровідну воду з такими гідрохімічними показниками: рН 7,6, перманганатна окисність — < 3,0 мг  $\text{O}$ /дм<sup>3</sup>, твердість — 5,5 мг-екв/дм<sup>3</sup>, загальна лужність — 5,2 мг-екв/дм<sup>3</sup>, загальна мінералізація — 120,0 мг/дм<sup>3</sup>, концентрація розчиненого кисню — 7,0—7,2 мг  $\text{O}_2$ /дм<sup>3</sup>. До розчину кожної концентрації вносили по десять личинок відповідного віку. Дослід виконували у трьох повторностях.

Експозиція становила 96 год при температурі  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  і фотоперіоді світло:темрява 16:8, крім досліду з личинками першої стадії, який тривав 48 годин. Реєстрацію загибелі організмів проводили щоденно. Впродовж експерименту дослідних тварин не годували.

В експериментах з яйцевими кладками в концентрації  $\text{Cu}^{2+}$  10,0, 1,0 і 0,1 мг/дм<sup>3</sup> досліджували частку вилуплення личинок та період ембріонального розвитку. За умовами експерименту кладки відкладались самицями безпосередньо у дослідні розчини (у п'яти повторностях) та експонувались в них до вилуплення личинок.

Для порівняння чутливості личинок *Ch. riparius* зі стандартним планктонним тест-об'єктом паралельно проводили досліди згідно з методикою [5] на *Daphnia magna* Straus, культура якої утримується в біотехнологічному комплексі Інституту гідробіології НАН України. В експерименті використовували молодь віком до 24 годин.

Величини  $LC_{50}$  та 95%-ний довірчий інтервал розраховували за допомогою програми EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM Version 1.4.

### Результати досліджень та їх обговорення

Результати досліджень впливу йонів міді на ембріональний розвиток *Ch. riparius* показали, що яйця є досить резистентними до дії цього токсиканта (табл. 1).

#### 1. Вплив іонів міді на ембріональний розвиток *Ch. riparius*

Концентрація, мг $\text{Cu}^{2+}/\text{дм}^3$	Кількість кладок	Кількість кладок, що не розвинулись	Середня кількість яєць у кладці	Частка вилуплення личинок, %	Період ембріонального розвитку, год
10,0	21	3	$445 \pm 114$	$74 \pm 10^{**}$	$102 \pm 6^{**}$
1,0	18	0	$438 \pm 105$	$95 \pm 4$	$96 \pm 10^{**}$
0,1	41	0	$448 \pm 110$	$95 \pm 4$	$78 \pm 11$
Контроль	28	0	$454 \pm 82$	$96 \pm 2$	$77 \pm 8$

\* Без урахування кладок, що не розвинулись; \*\* різниця середніх величин дослідів і контролю статистично вірогідна ( $p < 0,05$ ).

При концентрації 1,0 і 10,0 мг  $\text{Cu}^{2+}/\text{дм}^3$  період ембріонального розвитку збільшувався порівняно з контролем відповідно в 1,2 і 1,3 разу. За часткою вилуплення личинок вірогідна різниця з контролем спостерігалась лише при максимальній з досліджуваних концентрацій — 10,0 мг  $\text{Cu}^{2+}/\text{дм}^3$ . За таких умов 14,3% кладок не розвинулись взагалі (табл. 1), а частка вилуплення личинок знизилась на 22% порівняно з контролем. Вилуплені при цій концентрації личинки гинули протягом кількох годин навіть при перенесенні у чисту воду, що свідчить про ослаблення організмів. Це узгоджується з результатами досліджень інших авторів [11], які свідчать про те, що при розвитку яйцекладок *Chironomus decorus* у розчині з концентрацією 5 мг  $\text{Cu}^{2+}/\text{дм}^3$  спостерігається лише часткове вилуплення личинок та їх миттєва загибель.

Отже, результати досліджень показали, що на ембріональній стадії розвитку *Ch. riparius* є досить резистентними до дії йонів міді. Це можна пояснити наявністю у них товстої оболонки, а також перебуванням яєць у слизовій капсулі, яка перешкоджає проникненню токсичних речовин.

Дослідження личинок хірономід різного віку виявили їх високу чутливість до йонів міді, а також суттєві відмінності їх токсикорезистентності залежно від віку (табл. 2).

Зі збільшенням віку личинки стають більш резистентними до дії токсиканта. Так, різниця величин медіанної летальної концентрації ( $LC_{50}$ ) за 24 год експозиції між личинками першої та четвертої стадій становить 1,9, а за 48 год — 2,4 разу. При 96 год експозиції величини  $LC_{50}$  для личинок другої та четвертої стадій відрізнялись у 7 разів. Підвищена резистентність більш зрілих личинок може бути пов'язана з їх більшими розмірами, товщою кутикулою, а також більш досконалим механізмом детоксикації.

Для тест-об'єкта *D. magna* величини  $LC_{50}$  ( $\text{Cu}^{2+}$ ) за 24, 48, 72 та 96 год експозиції становили відповідно 50, 45, 40 та 20 мкг/дм<sup>3</sup>. Близькість величин  $LC_{50}^{96}$  для планктонного організму *D. magna* та бентосних личинок *Ch. riparius* (другої стадії) вказує на досить високу чутливість останніх до йонів міді.

**2. Величини  $LC_{50}$  ( $Cu^{2+}$ , мкг/дм<sup>3</sup>) для личинок різних стадій *Ch. riparius* та *D. magna* за 24—96 год експозиції\***

Стадії личинок	24 год	48 год	72 год	96 год
1	630 (450—727)	200 (133—275)	—	—
2	890 (732—951)	400 (370—445)	80 (63—104)	30 (22—43)
3	970 (942—1020)	490 (440—553)	110 (86—152)	60 (50—74)
4	1200 (1154—1338)	470 (405—535)	320 (297—369)	210 (186—238)

\* У дужках наведено нижню та верхню межі 95%-ного довірчого інтервалу.

### Висновки

Результати досліджень виявили високу чутливість личинок *Ch. riparius* до йонів міді, яка, проте, суттєво відрізняється на різних стадіях розвитку. Найбільш чутливими до дії йонів міді є личинки першої стадії. Їх доцільно використовувати у хронічних експериментах з оцінки токсичності донних відкладів. Личинки другої та третьої стадій є зручними для використання в гострих та субхронічних експериментах завдяки легкій візуальній ідентифікації (значно більші розміри, яскраво-червоне забарвлення) та водночас високій чутливості, достатній для експресних тестів.

Надзвичайно стійкими до дії йонів міді виявились яйця *Ch. riparius*, що можна пояснити наявністю у них товстої оболонки, яка перешкоджає проникненню токсичних речовин, та знаходженням яєць у слизовій капсулі.

\*\*

*Исследована чувствительность личинок Chironomus riparius (Diptera: Chironomidae) на разных стадиях развития к действию ионов меди. Установлено, что наиболее чувствительными являются личинки первой стадии, наименее — четвертой. Яйца Ch. riparius оказались наиболее резистентными к токсиканту.*

\*\*

*Sensitivity to copper ions of Chironomus riparius different life stages larvae has been investigated. Obtained data showed that first-stage larvae are the most sensitive and fourth-stage are the most tolerant to copper in acute tests. Eggs of Ch. riparius are essentially more tolerant than larvae.*

\*\*

1. Балущкина Е.В. Хирономиды как индикаторы загрязнения воды // Методы биологического анализа пресных вод. — Л.: Зоол. ин-т АН СССР, 1976. — С. 106—118.
2. Ильинская Н.Б. Методика определения внутривозрастных стадий развития и пола у личинок хирономид // Методическое пособие по изучению хирономид. — Душанбе: Дониш, 1982. — С. 30—44.

3. Клишко О.К., Авгеев Д.В., Зазулина В.Е., Борзенко С.В. Роль хирономид (Diptera, Chironomidae) в биологической миграции химических элементов в экосистеме антропогенных водоемов // Чтения памяти Владимира Яковлевича Леванидова. — 2005. — Вып. 3. — С. 360—367.
4. Линник П.Н. Донные отложения водоемов как потенциальный источник вторичного загрязнения водной среды соединениями тяжелых металлов // Гидробиол. журн. — 1999. — Т. 35, № 2. — С. 97—109.
5. Методика визначення гострої токсичності води на ракоподібних *Daphnia magna* Straus. — К.: Мінприроди України, 1997. КНД 211.1.4.054-97.
6. Методические указания. Проведение наблюдений за токсическим загрязнением донных отложений в пресноводных экосистемах на основе биотестирования. РД 52.24.635-2002.
7. Перевозников М.А., Богданова Е.А. Тяжелые металлы в пресноводных экосистемах. — СПб.: ГосНИОРХ, 1999. — 228 с.
8. Руководство по определению методом биотестирования токсичности вод, донных отложений, загрязняющих веществ и буровых растворов. — М.: РЭФИА, НИА-Природа, 2002. — 118 с.
9. Campbell P., Tessier A. Ecotoxicology of metals in aquatic environments: geochemical aspects // Ecotoxicology. — Chelsea: MI Lewis publ., 1996. — P. 11—58.
10. Gaussa J., Woods P., Winner R., Skillings J. Acute toxicity of copper to three life stages of *Chironomus tentans* as affected by water hardness-alkalinity // Environ. poll. Ser. A, Ecological and biological. — 1985. — Vol. 37. — P. 149—157.
11. Kosalwat P., Knight A. Chronic toxicity of copper to a partial life cycle of the midge, *Chironomus decorus* // Arch. of environmental contamination and toxicology. — 1987. — Vol. 16, N 3. — P. 283—290.
12. Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates. EPA 600/R—99/064.
13. Nebeker A., Cairns M., Wise C. Relative sensitivity of *Chironomus tentans* life stages to copper // Environmental toxicology and chemistry. — 1984. — Vol. 3. — P. 151—158.
14. Standard test methods for measuring the toxicity of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates // Annual book of ASTM standards.— 1999. — Section 11, Water and environmental technology, Vol. 11.05 (E 1706—00). — P. 1146—1228.
15. Taylor E., Maund S., Pascoe D. Toxicity of four common pollutants to the freshwater macroinvertebrates *Chironomus riparius* Meigen (Insecta: Diptera) and *Gammarus pulex* (L.) (Crustacea: Amphipoda) // Arch. of environmental contamination and toxicology. — 1991. — Vol. 21. — P. 371—376.
16. Timmermans K., Peeters W., Tonkes M. Cadmium, zinc, lead and copper in *Chironomus riparius* (Meigen) larvae (Diptera, Chironomidae): uptake and effects // Hydrobiologia. — 1992. — Vol. 241. — P. 119—134.
17. Warrina E., Vedamanikama V., Shazillia N. Toxicity of three forms of copper to the *Chironomus tentans* in both the aquatic and sediment media // Toxicological & Environmental Chemistry. — 2009. — Vol. 91. — P. 297—304.