

ОПРЕДЕЛЕНИЕ рН-ПРЕФЕРЕНДУМА И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К УРОВНЮ РАСТВОРЕННОГО КИСЛОРОДА У БАЙКАЛЬСКИХ ЭНДЕМИЧНЫХ И ПАЛЕАРКТИЧЕСКИХ АМФИПОД

М.А. Тимофеев, Ж.М. Шатилина

[Timofeyev M.A., Shatilina Z.M. Detection of oxygen- and pH-preferences in some endemic and Palearctic species of Baikalian amphipods]

Иркутский государственный университет, 664003, Иркутск, Россия. E-mail: m.a.timofeyev@gmail.com

Байкальский исследовательский центр, 664003, Иркутск, Россия.

Irkutsk State University, 664003, Irkutsk, Russia. E-mail: m.a.timofeyev@gmail.com

Baikalian Research Centre, 664003, Irkutsk, Russia.

Ключевые слова: рН-преферендум, байкальские эндемичные амфиподы, палеарктические амфиподы

Key words: pH-preferences, Baikalian endemic amphipods, Palearctic species of amphipods

Резюме. Целью данного исследования было установить кислородную и рН-преференции у амфипод. Исследование проводили на 6 литоральных видах амфипод. Среди них 5 байкальских эндемичных видов: *Gmelinoides fasciatus* (Stebb.), *Eulimnogammarus cyaneus* (Dyb.), *E. verrucosus* (Gerstf), *E. vittatus* (Dyb.), *Brandtia parasitica* (Dyb.) и палеарктический *Gammarus lacustris* Sars. Показано, что все исследованные виды амфипод обладали близкими значениями рН-предпочтения, которые находились в диапазонах с нейтральными или слабощелочными значениями водородного показателя. По степени снижения показателей окси-преферендумов исследованные виды можно расположить в следующем порядке: *E. verrucosus* = *E. vittatus* < *E. cyaneus* < *G. fasciatus* = *G. lacustris*. У байкальского *B. parasitica* не отмечено выраженной реакции на изменение уровня содержания кислорода, что, вероятно, свидетельствует о ее полной (или частичной) редукции в связи с симбиотическим образом жизни.

Summary. 6 species of amphipods were studied for the detection of oxygen- and pH preferences, among them 5 Baikalian endemic species: *Gmelinoides fasciatus* (Stebb.), *Eulimnogammarus cyaneus* (Dyb.), *E. verrucosus* (Gerstf), *E. vittatus* (Dyb.), *Brandtia parasitica* (Dyb.) and Palearctic *Gammarus lacustris* Sars. All investigated species possessed similar pH preferences which varied from neutral to alkaline values of a hydrogen indicator. According to the decreasing level of oxygen-preferences the investigated species could be arranged in the following order: *E. verrucosus* = *E. vittatus* < *E. cyaneus* < *G. fasciatus* = *G. lacustris*. There was not an expressed reaction to the change of oxygen level in Baikalian *B. parasitica*; that probably testifies the full (or partial) reduction of the reaction in connection with their symbiotic way of life.

ВВЕДЕНИЕ

Абиотические факторы среды определяют границы существования отдельных видов. При изменении значений факторов среды может изменяться избирательное поведение животных. Так, если условия становятся стрессовыми, животное будет избегать стресса, выбирая наиболее оптимальные для себя значения факторов. При этом, чем более стабильны условия среды обитания, тем более выраженным будет избирательное поведение животных.

Насыщение воды кислородом и рН среды являются одними из ключевых абиотических факторов водной среды обитания. Кислород является необходимым элементом для всех процессов жизнедеятельности аэробных организмов, так как необходим для выработки энергии и тепла [Diaz, 2001]. Большинство организмов не выносят колебаний величины рН. Обмен веществ у них функционирует лишь в среде со строго определенным режимом кислотности-щелочности. Например, при понижении рН нарушаются метаболические процессы в организмах: осморегуляция, работа ферментов и газообмен через дыхательные поверхности.

Одним из водоемов, характеризующихся стабильностью условий среды на протяжении длительного времени является озеро Байкал [Вотинцев, 1961; Галазий, 1987]. Насыщение воды кислородом в поверхностных слоях близко к 100 % и не падает ниже 80 % даже на максимальных глубинах. Такое же высокое на-

сыщение воды кислородом сохраняется и зимой подо льдом. В ходе суточных и годовых циклов содержание кислорода в байкальской воде изменяется незначительно и в поверхностных слоях воды составляет в среднем 11,7-11,9 мг/л, а на глубине 1400 м – 9,9-10,6 мг/л [Вотинцев, 1961; Галазий, 1987]. Вода в Байкале имеет слабощелочную реакцию. Водородный показатель (рН) находится в пределах 7.0-8.5. С глубиной рН снижается. Отмечают понижения рН и зимой, в подледный период.

Целью данного исследования было установить кислородную и рН-преференции у амфипод.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводили на 6 литоральных видах амфипод. Среди них 5 байкальских эндемичных видов *Gmelinoides fasciatus* (Stebb.), *Eulimnogammarus cyaneus* (Dyb.), *E. verrucosus* (Gerstf), *E. vittatus* (Dyb.), *Brandtia parasitica* (Dyb.) и палеарктический *Gammarus lacustris* Sars.

В экспериментах определению кислородного предпочтения использовали проточные установки парного выбора [Солуха, 1989; DeGraeve, 1982], которые представляли собой боксы размером 25×60 см с продольной перегородкой, разделяющей каждый бокс на два параллельных отсека (рис. 1). В отсеки камеры раздельно подавали 2 потока воды с различным содержанием растворенного кислорода. В конце бокса отсеки соединялись и оба потока воды перемешивались. Воду

в камеры подавали с одинаковой скоростью – 1500 мл/час. Благодаря этому в установках формировалась относительно четкая граница двух сред. Дополнительно перед экспериментами контролировали разделение сред, подкрашивая воду при помощи различных красителей. Уровень воды в установках поддерживали равным 4-5 см. Методы проведения экспериментов соответствуют описанным в работах Л.Н. Лапкиной и др. [1987], J.D. Giattina, R.R. Garton [1983] с некоторыми авторскими дополнениями.

В каждую камеру симметрично помещали несколько небольших камней равных размеров, которые служили убежищем для рачков. В установку помещали 10-20 экземпляров взрослых особей амфипод. Эксперименты проводили в полной темноте, для того чтобы избежать неравномерного освещения различных участков дна камер, что могло отразиться на характере распределения рачков. При проведении экспериментов температуру в установках поддерживали на уровне 6-7°C.

При поступлении в обе камеры воды с равным насыщением кислородом (11-12 мг O_2 /л), рачки в среднем распределялись равномерно, примерно по 50 % (+5) особей амфипод в каждой камере. Затем в одну камеру установки подавали воду с пониженным содержанием кислорода и спустя 60 мин. подсчитывали число амфипод в каждой камере установки. Использовали три концентрации: 8-9, 6-5 и менее 5 мг O_2 /л. Воду с пониженной концентрацией кислорода готовили нагреванием до 99°C в вакууме, создаваемом с помощью вакуумного насоса. После различных периодов нагревания воду охлаждали в вакууме и далее использовали в экспериментах. Мониторинг концентрации кислорода в среде проводили с использованием кислородных датчиков.

Для предотвращения возможности выработки у рачков условного рефлекса реакции избегания в двухкамерной установке каждые 2-3 часа чередовали направление потоков [Флеров, 1989]. Для статистической обработки брали процент распределения рачков в двух камерах, по которым находили средний процент для каждого типа используемой воды.

В экспериментах по определению рН-преферендума использовали проточные установки множественного выбора, которые представляли собой бокс с радиально направленными камерами размером 20×60 см (рис. 2). Камеры соединялись в центре установки, там же находилось и выводящее отверстие, изолированное мелкоячеистой сетью. В отсеки камеры раздельно подавали 7 потоков воды с различным уровнем рН. В центре бокса потоки соединялись, перемешивались и выводились из камеры.

Воду в камеры подавали с одинаковой скоростью 1500 мл/час. Благодаря этому в установках формировалась относительно четкая граница сред. Дополнительно перед экспериментами контролировали разделение сред, подкрашивая воду при помощи различных красителей. Уровень воды в установках поддерживали равным 4-5 см.

Центр установки был освещен, в то время как камеры затемнены. Учитывая отрицательный фототак-

сис амфипод, такое неравномерное освещение стимулировало большую концентрацию рачков в отсеках с определенным рН и меньшее нахождение в зоне перемешивания.

В каждую камеру симметрично помещали несколько небольших камней равных размеров, которые служили убежищем для рачков, а также подводили аэрацию. В установку помещали по 10-20 экземпляров взрослых особей амфипод. При проведении экспериментов температуру в установках поддерживали на уровне 6-7°C.

При поступлении в обе камеры воды равного уровня рН среды, рачки в среднем распределялись равномерно. Затем в камеры установки подавали воду с измененными уровнями рН. Спустя 60 мин. подсчитывали число амфипод в каждой из камер. Использовали семь уровней от рН 5 до рН 11. Растворы готовили на байкальской воде, изменяя рН среды добавлением кислоты (HCl) или щелочи (NaOH). Контроль рН проводили с помощью стандартного рН-метра.

Оценку распределения рачков проводили каждые 30 мин., при длительности экспериментов от 4 до 10 часов. Для статистической обработки брали процент распределения рачков в каждой из камер, по которым находили средний процент для каждого типа используемой воды. По каждому эксперименту строили кривые распределения и определяли зону кислородного и рН-преферендума, т.е. зону с наибольшей численностью скопившихся в ней рачков. Для каждого вида проводили серию экспериментальных исследований, поставленных с различной длительностью опытов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Определение реакции кислородного предпочтения проводили у байкальских видов: *G. fasciatus*, *E. cyaneus*, *E. verrucosus*, *E. vittatus*, *B. parasitica* и паразитического *G. lacustris*.

Материалы экспериментального определения реакции кислородного предпочтения у байкальского вида *E. vittatus* показаны на рисунке 3. Даже небольшое понижение уровня кислорода в камере установки до 9-8 мг O_2 /л вызывало достоверное снижение числа особей *E. vittatus* (до 22 %), при 7-6 мг O_2 /л в камере отмечали еще большее снижение числа рачков (18 %), понижение концентрации ниже 5 мг O_2 /л приводило к полному (100 %) избеганию амфиподами данной зоны.

Результаты оценки реакции кислородного предпочтения байкальского вида *E. verrucosus* показаны на рисунке 4. У *E. verrucosus* отмечены близкие с *E. vittatus* показатели чувствительности. Снижение концентрации кислорода от нормального уровня до 9-8 мг O_2 /л приводило к достоверному снижению числа особей (до 25 %), предпочитающих камеру с данной концентрацией кислорода в воде. При понижении до 7-6 мг O_2 /л количество рачков снижалось до минимального 7 %, а при уровне кислорода ниже 5 мг O_2 /л рачки полностью (100 %) избегали данную зону.

Материалы экспериментов с байкальским видом *E. cyaneus* показаны на рисунке 5. Как видно из представленных данных, у *E. cyaneus* также отмечается снижение количества рачков (до 32 %) уже при содер-

жании кислорода 9-8 мг O₂/л. При понижении уровня кислорода до 7-6 мг O₂/л количество рачков составляло менее 5 %. При содержании кислорода менее 5 мг O₂/л рачки полностью (100 %) избегали данную зону.

Результаты экспериментальной оценки реакции байкальского вида *G. fasciatus* показаны на рисунке 6. Как видно из представленных материалов, при содержании кислорода в среде 9-8 мг O₂/л и 7-6 мг O₂/л не наблюдали статистически достоверного снижения количества рачков (55 и 45 %), хотя общий показатель распределения был смещен в сторону высоких концентраций.

Материалы экспериментальной оценки реакции кислородного предпочтения байкальского симбиотического вида *B. parasitica* показаны на рисунке 7. Из представленных рисунков видно, что характер распределения особей *B. parasitica* заметно отличался от остальных видов. В проведенных экспериментах особи данного вида не проявляли каких-либо выраженных кислородных предпочтений. Во всех трех вариантах кислородного градиента распределение амфипод было равномерным, без выраженных смещений в ту или иную сторону.

Материалы экспериментальной оценки реакции кислородного предпочтения палеарктического *G. lacustris* показаны на рис. 8. Как видно из представленных данных, только при понижении уровня менее 5 мг/л отмечено достоверное смещение пика распределения рачков *G. lacustris* (до 36 %). В условиях понижения до 9-8 мг O₂/л и 7-6 мг O₂/л распределение особей достоверно не отличалось. В то же время следует отметить тот факт, что наибольшее предпочтение (66 %) отмечено в зоне с концентрацией кислорода 7-6 мг O₂/л.

Таким образом, результаты проведенных исследований показали большое разнообразие характера чувствительности амфипод к изменению уровня кислорода в среде. Среди исследованных видов выявлены виды как с высокой, так и с пониженной чувствительностью, а также вид, не проявляющий какой-либо выраженной реакции на изменение содержания кислорода.

Определение реакции рН-преферендума проводили у четырех литоральных видов: байкальских *E. cyaneus*, *E. verrucosus*, *E. vittatus* и палеарктического *G. lacustris*.

Материалы экспериментальной оценки рН-предпочтения байкальского вида *E. cyaneus* показаны на рисунке 9. Как видно из представленных данных, зона предпочтения для *E. cyaneus*, где концентрировалось до 36 % рачков, была с величиной рН 7. Кривая распределения рачков в установке у данного вида смещена в зону щелочных значений рН. В диапазоне рН от 8 до 10 находилось до 45 % от общего числа особей. При остальных значениях рН отмечали менее 10 % рачков.

Результаты определения рН-предпочтения байкальского вида *E. vittatus* показаны на рисунке 10. Как видно из рисунков, у *E. vittatus* пик рН-преферендума был менее выражен. Максимальное количество особей (28 %) отмечали в зоне с нейтральной рН 7. Большое количество рачков также предпочитало находиться в зонах со значением от рН 8 до рН 9, где концентрировалось около 40 % особей.

Материалы экспериментальной оценки рН-пред-

почтения байкальского вида *E. verrucosus* приведены на рисунке 11. Как видно из представленных данных, для этого вида характерна схожая картина распределения особей в градиенте рН. Наибольшее количество особей отмечали в камере с рН 8 (34 %). При этом до 47 % рачков также находилось в зонах с рН 7 и рН 9.

Результаты определения рН-предпочтения палеарктического вида *G. lacustris* показаны на рис. 12. Из представленных данных видно, что *G. lacustris* характеризовался более выраженной преферентной реакцией, с двумя близкими пиковыми показателями распределения 38 % и 39 % в зонах с рН 7 и рН 8 соответственно. В остальных камерах установки количество рачков не превышало 10 % от общего числа особей.

Таким образом, было установлено, что все исследованные виды амфипод обладали близкими значениями рН-предпочтений, которые находились в диапазонах с нейтральными или слабощелочными значениями водородного показателя. При этом наиболее выраженный рН-преферендум отмечен у палеарктического вида *G. lacustris*. Среди байкальских видов наиболее выраженной преферентной реакцией обладал вид *E. cyaneus*. У двух других байкальских видов *E. vittatus* и *E. verrucosus* отмечена менее выраженная реакция рН-предпочтения. При этом характер распределения особей в установке у всех байкальских видов был сходен и смещен в сторону щелочных значений рН. В зонах с другими значениями рН количество особей не превышало 10 %, что, вероятно, отражает случайные заплывы рачков в процессе их активного перемещения по установке.

Анализируя полученные данные, следует отметить, что рН-преферендумы у исследованных байкальских видов близки к уровням рН воды в литорали оз. Байкал. Вода в Байкале имеет слабощелочную реакцию и концентрация водородных ионов соответствует диапазону рН 7,0-8,5. Следует также отметить, что предпочитаемые значения рН для палеарктического *G. lacustris* были близки к рН, характерному для водоема, в котором производили отлов особей данного вида. По проведенным в ходе работы измерениям рН в озере отлова соответствовал рН = 6,8-7,0.

Как показали эксперименты, байкальские виды *E. verrucosus* и *E. vittatus*, являющиеся обитателями средних отделов литорали, характеризуются наиболее высокой чувствительностью даже к небольшим (до 1-2 мг O₂/л) колебаниям содержания кислорода в среде.

Обитатель уреза воды байкальский *E. cyaneus* проявил меньшую чувствительность к небольшому (на 1-2 мг O₂/л) снижению уровня кислорода, однако при большем понижении реакция избегания была уже явно выраженной. Палеарктический *G. lacustris* и байкальский *G. fasciatus* показали еще менее выраженную реакцию к понижению уровня кислорода. При этом в экспериментах с понижением содержания кислорода на 1-2 и 6 мг O₂/л *G. lacustris* не проявлял достоверной реакции предпочтения. Достоверное избегание у *G. lacustris* начинает проявляться только при сильных падениях уровня кислорода.

Таким образом, оба вида – *G. fasciatus* и *G. lacustris* – характеризовались наименьшими показателями чув-

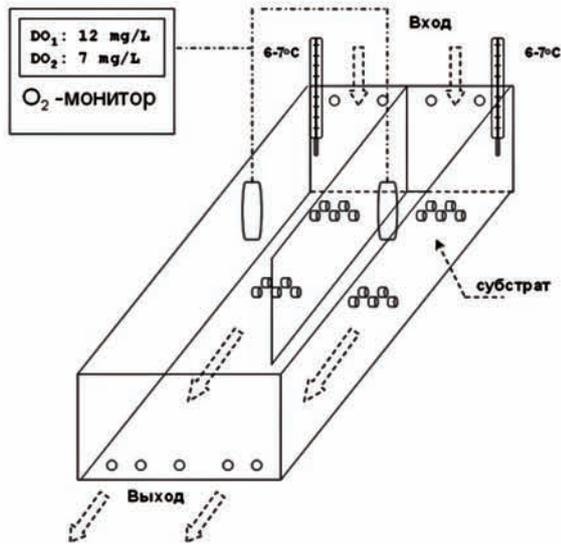


Рис. 1. Схема прибора для определения оксипреферендума амфипод.

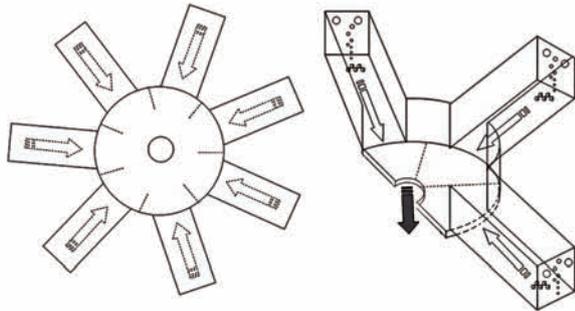


Рис. 2. Схема прибора для определения рН преферендума амфипод.

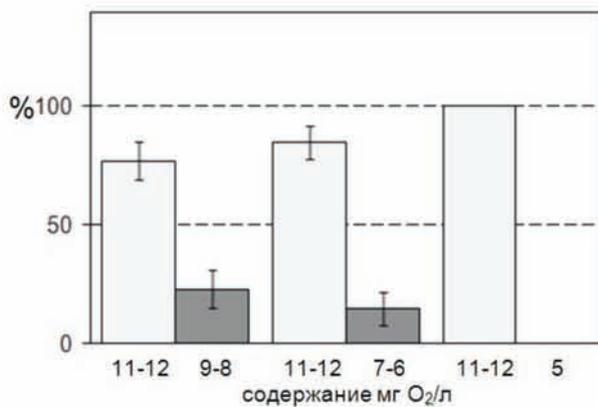


Рис. 3. Распределение амфипод *E. vittatus* в установке парного выбора, с различными уровнями растворенного кислорода.

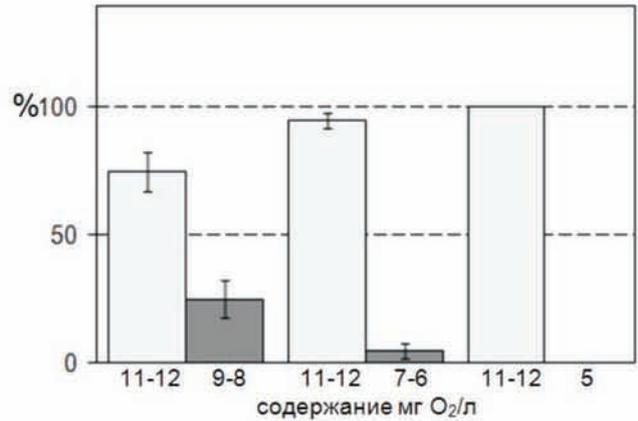


Рис. 4. Распределение амфипод *E. verrucosus* в установке парного выбора, с различными уровнями растворенного кислорода.

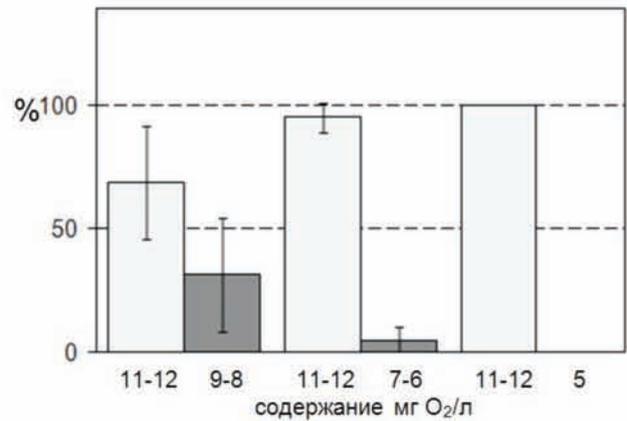


Рис. 5. Распределение амфипод *E. suaveus* в установке парного выбора, с различными уровнями растворенного кислорода.

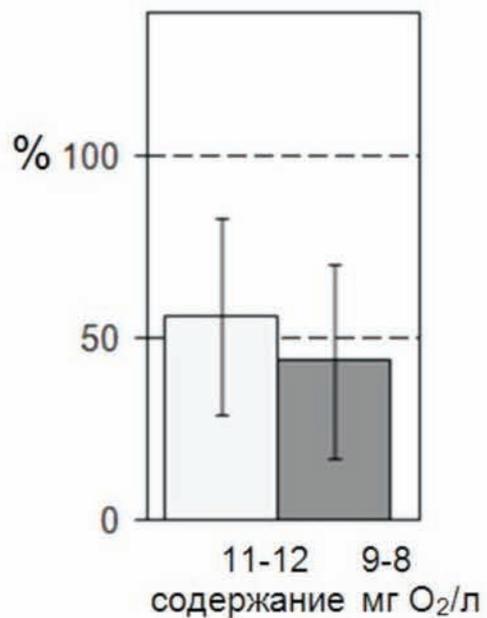


Рис. 6. Распределение амфипод *G. fasciatus* в установке парного выбора, с различными уровнями растворенного кислорода.

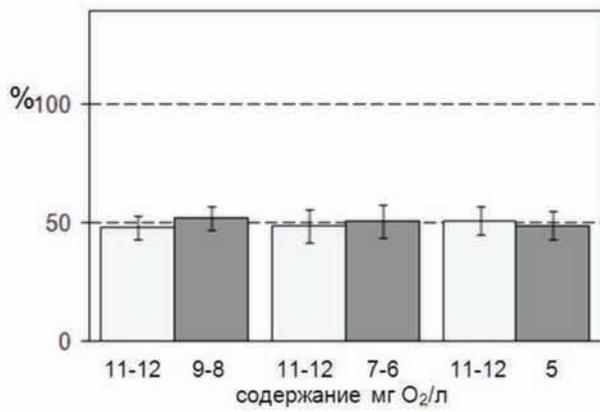


Рис. 7. Распределение амфипод *B. parasitica* в установке парного выбора, с различными уровнями растворенного кислорода.

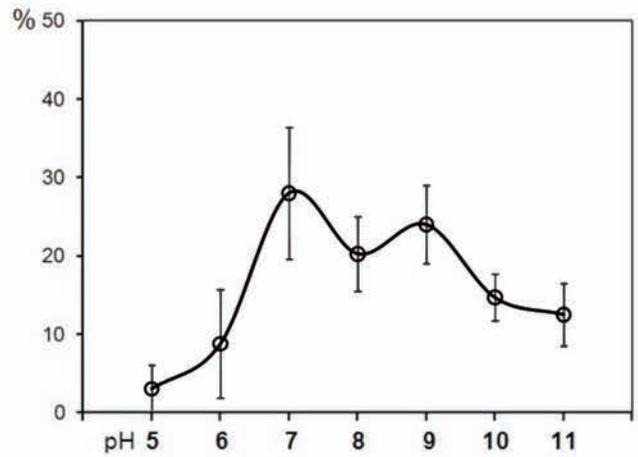


Рис. 10. Распределение амфипод *E. vittatus* в условиях pH градиента (в %).

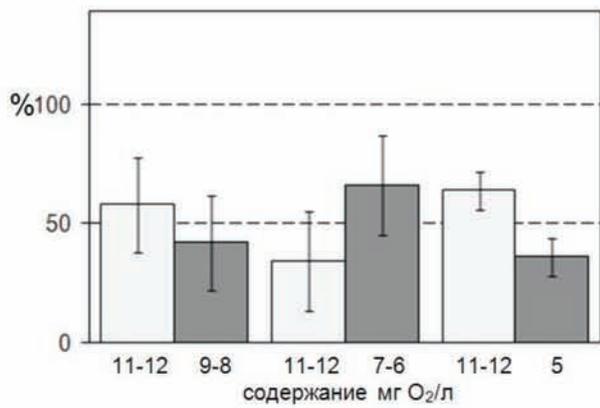


Рис. 8. Распределение амфипод *G. lacustris* в установке парного выбора, с различными уровнями растворенного кислорода.

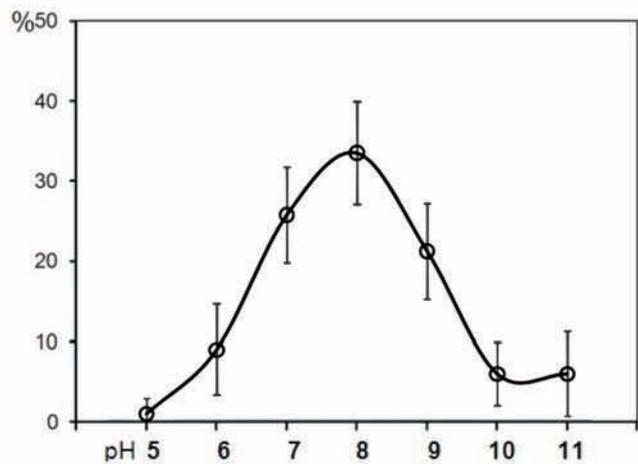


Рис. 11. Распределение амфипод *E. verrucosus* в условиях pH градиента (в %).

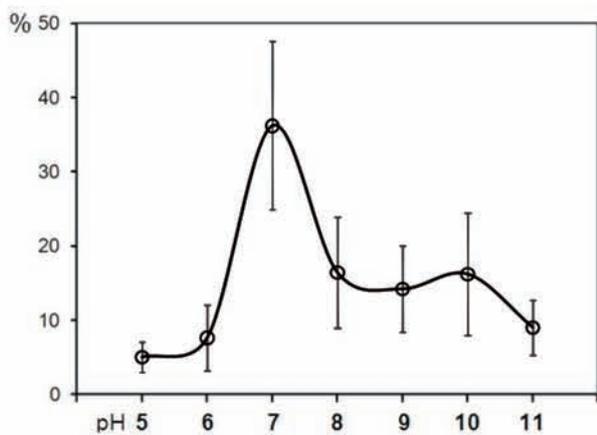


Рис. 9. Распределение амфипод *E. suaveus* в условиях pH градиента (в %).

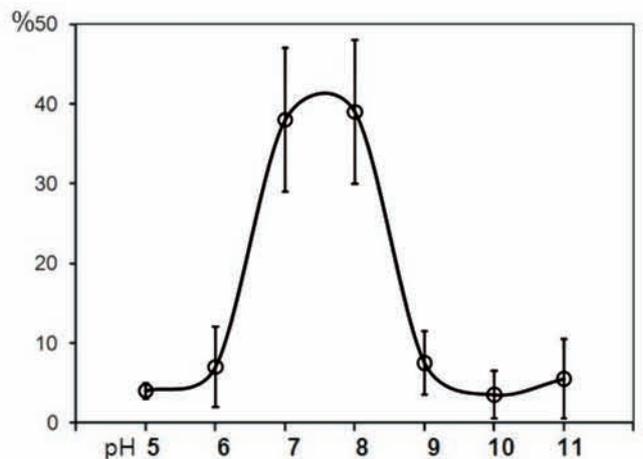


Рис. 12. Распределение амфипод *G. lacustris* в условиях pH градиента (в %).

ствительности к изменениям уровня кислорода. При этом отмечено, что в отличие от байкальских видов наибольшая встречаемость палеарктических рачков *G. lacustris* была отмечена не в зоне с наибольшей концентрацией кислорода, а в зоне с пониженным содержанием кислорода 7-6 мг O₂/л. *G. lacustris* продемонстрировал большее предпочтение условиям, соответствующим кислородному режиму большинства мелководных водоемов Палеарктики. При этом если в условиях гипоксии все литоральные байкальские виды проявляли 100 % избегания, у палеарктического вида встречаемость рачков в гипоксической зоне доходила до трети от общего числа рачков.

Байкальские виды, за исключением *B. parasitica*, в большей степени предпочитали зоны с максимальным насыщением кислородом, близким к таковому в Байкале. У вида *B. parasitica* в экспериментах не отмечено выраженной реакции на изменение уровня содержания кислорода, что, вероятно, свидетельствует о ее полной (или частичной) редукции в связи с симбиотическим образом жизни.

Полученные экспериментальные материалы позволили условно расположить изученные виды амфипод по степени снижения показателей окси-преферендумов в следующем порядке: *E. verrucosus* = *E. vittatus* < *E. cyaneus* < *G. fasciatus* = *G. lacustris*. Данный сравнительный ряд отражает общую закономерность, ранее полученную при оценке термопреферентных способностей видов [Timofeyev et al., 2001].

ЛИТЕРАТУРА

- DeGraeve G. M., 1982. Avoidance response of rainbow trout to phenol // The Progressive Fish-Culturist. V. 44. P. 82-87.
- Diaz R., 2001. Overview of hypoxia around the world // Journal of Environmental Quality. V. 30. P. 275-281.
- Giattina J.D., Garton R.R., 1983. A review of the preference-avoidance response of fishes to aquatic contaminants // Residue Rev. V. 87. P. 43-90.
- Timofeyev M.A., J. M. Shatilina, Stom D.I., 2001. Attitude to temperature factor of some endemic amphipods from Lake Baikal and Holarctic *Gammarus lacustris* Sars, 1863: A comparative experimental study // Arthropoda selecta. №2. P.110-117.
- Вотинцев К.К., 1961. Гидрохимия озера Байкал. М.: Изд-во АН СССР. 311 с.
- Галазий Г.И., 1987. Байкал в вопросах и ответах. Иркутск: Восточно-Сибирское книжное изд-во. 384 с.
- Лапкина Л.Н., Флеров Б.А., Чалова И.В., Яковлева И.И., 1987. Использование поведенческих реакций моллюски-пиявки для биотестирования // Вопросы сравнительной физиологии и водной токсикологии. Ярославль: Ярославск. госуниверситет. С. 11-17.
- Солуха Б.В., 1989. Методы измерения чувствительности, ориентированных перемещений и специализированных актов рыб в полях химических раздражителей // Хемочувствительность и хемокommunikация рыб. М.: Наука. АН СССР. С.5-96.
- Флеров Б.А., 1989. Эколого-физиологические аспекты токсикологии пресноводных животных. Л.: Наука. 142 с.