

ЭКОЛОГИЯ

УДК 574.6

**ПОВЫШЕНИЕ ЖИЗНЕСТОЙКОСТИ РАЧКОВ
CERIODAPHNIA AFFINIS LILLJEBORG
С ПРИМЕНЕНИЕМ 10-(2',3'-ДИМЕТИЛХИНОНИЛ-6')-
ДЕЦИЛТРИФЕНИЛФОСФОНИЙ БРОМИДА****Д.М. Гершкович, Е.Ф. Исакова, О.Ф. Филенко, ТА. Самойлова**

(кафедра гидробиологии; e-mail: papirus451@yandex.ru)

В работе описаны результаты исследований воздействия низких концентраций 10-(2',3'-диметилхинонил-6')-децилтрифенилфосфоний бромид на ракообразных *Ceriodaphnia affinis* в лабораторной культуре. Наблюдался эффект увеличения средней и максимальной продолжительности жизни, а также стимуляция репродуктивной функции. Обсуждаются возможные механизмы этого явления.

Ключевые слова: *Ceriodaphnia affinis*, продолжительность жизни, плодовитость, стимуляция, гормезис.

Потенциально токсичные вещества в диапазоне малых концентраций могут стимулировать некоторые жизненные функции. Явление стимуляции при слабых воздействиях называют парадоксальным эффектом, инверсией, гормезисом [1–5]. Механизм этих явлений может заключаться во временной активизации жизненных процессов, но продолжительность и активность этой стимуляции определяется интенсивностью воздействия и защитными ресурсами организма [6, 7]. Стимуляция жизненных процессов может проявляться как в повышении активности отдельных функций, так и в ускорении роста, увеличении плодовитости и пр. [8]. В общебиологическом и прикладном отношении представляется важным исследование возможности активизации проявлений жизнедеятельности при целенаправленных воздействиях. В связи с этим целью нашей работы стала оценка возможности стимуляции таких интегральных показателей организма, как продолжительность жизни и плодовитость рачка *Ceriodaphnia affinis* при воздействии малых концентраций 10-(2',3'-диметилхинонил-6')-децилтрифенилфосфоний бромид — вещества с антиоксидантными свойствами.

Материалы и методы

Исследования проводили в течение 2007–2011 гг. на особях из культуры *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg, на протяжении ряда лет содержащейся в лаборатории. Содержание культуры и выборки проводилось в соответствии со стандартными методиками [9].

Рачков содержали в водопроводной воде, которая последовательно отстаивалась в аквариуме в течение месяца с использованием микрокомпрессоров для ее принудительной аэрации атмосферным возду-

хом, а затем на двухнедельный срок поступала в аквариум с песчаным грунтом, населенный высшей водной растительностью. Отсюда воду отбирали для содержания рачков. В качестве корма использовали суспензию зеленых протококковых водорослей *Chlorella* sp., внося ее в сосуды с рачками из расчета 250–600 млн кл/мл.

Исходную культуру *C. affinis* выращивали в люминостате при длине светового дня 12 ч. Культуру рассаживали не реже трех раз в неделю. Отсаженных для наблюдения рачков содержали в люминостате при тех же условиях освещения.

Для исследований отбирали молодь в возрасте не старше 24 ч. Чувствительность цериодафний (ЛК₅₀ за 24 ч) к стандартному токсиканту — бихромату калия — на момент постановки опытов составляла от 1,2 до 2,1 мг/л, что соответствует требованиям стандартных методик. Рачков содержали в стеклянных стаканах объемом 50 или 100 мл. В опыт отбирали от 20 до 100 рачков для испытания каждой из концентраций, равномерно распределенных на 10 повторностей. Объем воды в стакане задавался таким образом, чтобы на 1 рачка приходилось 10 мл среды. Смену среды в сосудах проводили три раза в неделю. При этом учитывали состояние рачков, количество выживших и новорожденных. Наблюдения продолжали до момента гибели всех рачков — таким образом определяли полную продолжительность жизни цериодафний. Кроме того, учитывали суммарную плодовитость рачков, которая отражала фактическую плодовитость за весь срок жизни тест-объекта.

Во время наших прежних наблюдений средняя продолжительность жизни рачков в контрольных выборках колебалась от 13 до 47 сут [10].

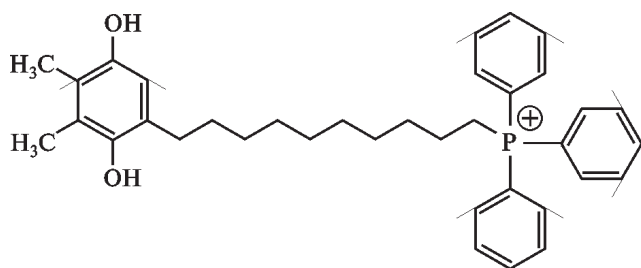


Рис. 1. Формула SkQ1

Препарат 10-(2',3'-диметилхинонил-6')-децилтрифенилфосфоний бромид (SkQ1), предоставленный нам для испытаний Институтом физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ (директор акад. РАН В.П. Скулачев), в виде водного раствора вносили в среду, в которой находились рачки, при каждой ее смене (рис. 1).

Было испытано действие концентраций SkQ1 3×10^{-6} — 15×10^{-2} мг/л. В связи с флуктуациями продолжительности жизни рачков в контрольных сериях в течение года испытания при некоторых концентрациях проводились повторно.

Результаты

Концентрационная зависимость эффекта SkQ1 по его влиянию на среднюю продолжительность жизни представлена на рис. 2.

При проведении испытаний в разные месяцы эффект увеличения продолжительности жизни был отмечен при воздействии SkQ1 в концентрациях 0,03 мг/л; 0,003 мг/л; 0,0003 мг/л и 0,00003 мг/л (табл. 1).

Повторные испытания проводили с концентрациями, вызвавшими увеличение продолжительности жизни рачков. Динамика гибели рачков в одной из серий показана на рис. 3.

SkQ1 значительно отдалял сроки наступления фиксированных величин гибели, а также достоверно увеличивал среднюю продолжительность жизни рачков (табл. 2). В результате наблюдалось

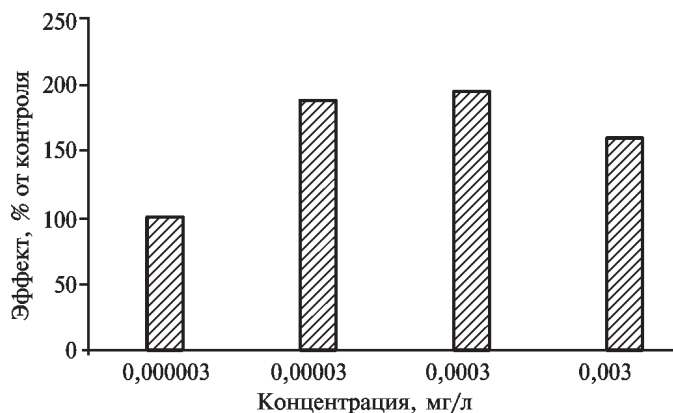
Рис. 2. Зависимость эффекта на среднюю продолжительность жизни *C. affinis* от концентрации SkQ1

Таблица 1

Средняя продолжительность жизни *C. affinis* при воздействии водного раствора SkQ1 в концентрациях 0,00003—0,003 мг/л

Концентрация SkQ1	Средняя продолжительность жизни, сутки	% от контроля	t_d
0 (контроль)	$15,9 \pm 3,3$		
0,00003 мг/л	$30,2 \pm 6,7$	189,7	3,73
0,0003 мг/л	$29,8 \pm 7,2$	187,2	3,44
0,003 мг/л	$25,6 \pm 5,7$	160,8	2,89

Примечание. Жирным шрифтом выделены значения критерия Стьюдента, превышающие Т-критическое для исследуемой выборки.

статистически достоверное увеличение средней продолжительности жизни в исследованной концентрации. Значение средней продолжительности жизни в опытной выборке существенно превосходило соответствующее значение в контрольной.

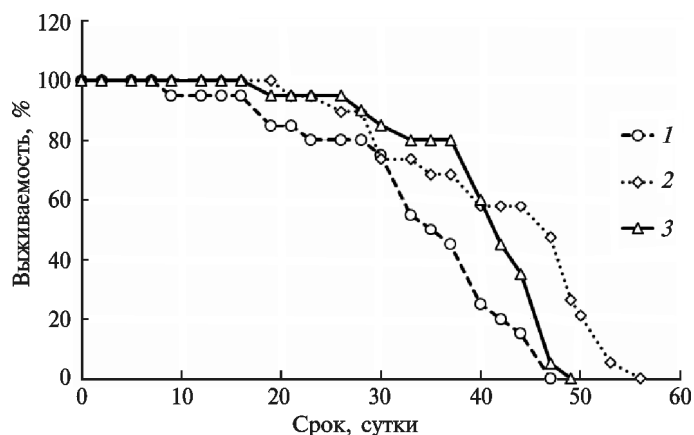
Увеличение средней продолжительности жизни происходило как за счет продления жизни основной части выборки, так и за счет увеличения максимальных сроков дожития. В повторных опытах мы отмечали изменение выраженности эффекта и диапазона стимулирующих концентраций.

Таблица 2

Влияние SkQ1 на продолжительность жизни *C. affinis*

Концентрация SkQ1, Мг/л	Средняя продолжительность жизни			Максимальная продолжительность жизни		
	сутки	% от контроля	t_d	сутки	% от контроля	t_d
0 (контроль)	$27,1 \pm 4,0$			$51,8 \pm 3,7$		
0,0003	$30,1 \pm 4,1$	111,3	1,28	$56,8 \pm 4,5$	109,7	1,70

Наряду с увеличением средней и максимальной продолжительностей жизни в большей части испы-

Рис. 3. Динамика выживаемости *C. affinis* при воздействии SkQ1 (1 — контроль, 2 — 0,00003 мг/л, 3 — 0,0003 мг/л)

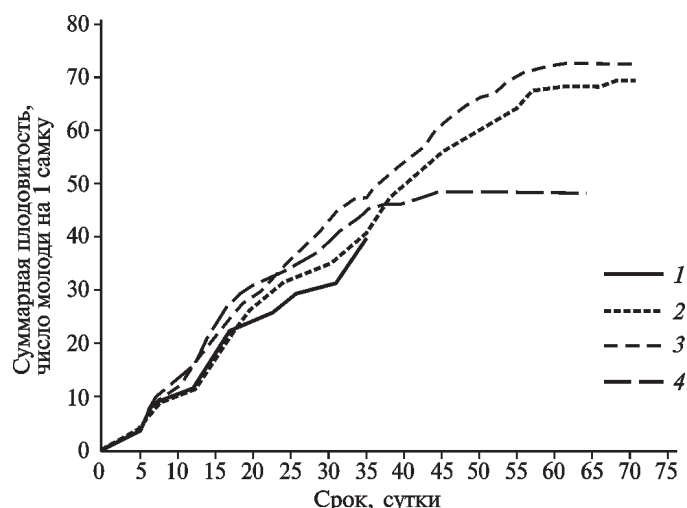


Рис. 4. Суммарная плодовитость *C. affinis* при воздействии низких концентраций SkQ1, среднее количество молоди на 1 самку (1 — контроль, 2 — 0,00003 мг/л, 3 — 0,0003 мг/л, 4 — 0,003 мг/л)

таний возросло среднее суммарное количество молоди, производимой каждой самкой (рис. 4).

Как видно из рис. 4, итоговое увеличение количества молоди, рожденной за период наблюдений, происходило не только за счет стимуляции репродуктивной функции, но и за счет значительного продления репродуктивного периода.

Обсуждение

Представленные результаты свидетельствуют о том, что стимулирующий эффект низких концентраций SkQ1 — соединения с антиоксидативными свойствами — проявляется не как частный показатель состояния организма, когда активизация одних функций происходит за счет других, а выражается в продлении жизни — самого интегрального показателя жизнедеятельности организма. Причина наблюдаемой стимуляции может заключаться в том, что воздействие фактора окружающей среды на организм порождает ответные адаптивно-компенсаторные реакции, которые, развиваясь по принципу упреждения, могут не только нейтрализовать негативный эффект воздействия, но и активизировать на пользу организма ресурсы, в обычных условиях не востребованные [7]. Возможно, молекулярное действие

SkQ1 заключается в его способности ингибировать деструктивные окислительные процессы в тканях, а также замедлять процессы потребления кислорода в митохондриях, нарушая таким образом программу старения [11].

Стимулирующие концентрации вещества не подавляли репродуктивную функцию, а в отдельных сериях испытаний достоверно увеличивали показатели плодовитости. Возрастание суммарной плодовитости возможно как за счет стимуляции размножения, так и в результате увеличения продолжительности жизни при сохранении репродуктивной функции.

Стимулирующий эффект повторялся не во всех сериях опытов в равной степени, а при некоторых повторениях не проявлялся вообще. Для объяснения этого явления следует иметь в виду, что организм, как неравновесная система, способен переходить из одного временного равновесного состояния в другое под действием незначительных внешних и внутренних факторов, в том числе и случайных. В частности, известна сезонная вариабельность чувствительности *D. magna* к бихромату калия [12]. Таким образом, итоговый результат химического воздействия будет определяться тем, в каком состоянии находилась система организма в период воздействия и каким путем вещество поступает в организм [13].

Умелое использование средств стимуляции могло бы служить эффективным средством управления водными сообществами, в частности в аквакультуре.

Выводы

1. Водный раствор препарата SkQ1 увеличивал среднюю продолжительность жизни ракообразных *C. affinis* до двух раз.

2. Препарат SkQ1 в испытанных концентрациях увеличивал суммарное количество молоди, рожденной одной самкой, более чем в два раза как за счет стимуляции размножения, так и за счет продления репродуктивного периода.

3. Стимулирующий эффект низких концентраций SkQ1 проявляется не как частный показатель состояния организма, когда активизация одних функций происходит за счет других, а выражается в увеличении интегральных показателей жизнедеятельности организма.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Врочинский К.К., Щербаков Ю.А. Оценка действия вещества на водные организмы с учетом фазности токсичности // Теоретические проблемы водной токсикологии. Норма и патология / Под ред. Н.С. Строганова. М.: Наука, 1983. С. 36—43.
2. Филенко О.Ф., Исакова Е.Ф. Компенсаторные изменения в ответе дафний на летальные воздействия // Реакции гидробионтов на загрязнения. М.: Наука, 1983. С. 135—139.

3. Laughlin R.B., Ng J., Guard H.E. Hormesis: a response to low environmental concentrations of petroleum hydrocarbons // Science. 1981. Vol. 211. P. 705—707.
4. Stebbing A.R.D. Hormesis — stimulation of colony growth in *Companularia flexuosa* (Hydrozoa) by copper, cadmium and other toxicants // Aquat. Toxicol. 1981. Vol. 1. N 3. P. 227—238.
5. Steevens J.A., Duke B.M., Lotufo G.R., Bridges T.S. Toxicity of the explosives 2,4,6-trinitrotoluene, hexahydro-

1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine, and octahydro-1,3,5,7-tetranitro-1,3,5,7-tetrazocine in sediments to *Chironomus tentans* and *Hyalella azteca*: low-dose hormesis and high-dose mortality // Environ. Toxicol. and Chem. 2002. Vol. 21. N 7. P. 1475–1482.

6. Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме. М.: Медицина, 1960. 256 с.

7. Филенко О.Ф. Динамика эффекта загрязняющих веществ в экотоксикологии // Токсикологический вестник. 2001. № 2. С. 2–6.

8. Гершкович Д.М., Филенко О.Ф., Исакова Е.Ф. Потенциальные токсиканты как средство стимуляции жизненных функций гидробионтов // Мат-лы IV Всерос. конф. по водной экотоксикологии “Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы”, посвящ. памяти Б.А. Флерова. Ч. 1. Борок, ИБВВ им. И.Д. Папанина РАН (24–29 сентября 2011). Борок, 2011.

9. Методические указания по установлению эколого-рыбохозяйственных нормативов (ПДК и ОБУВ) загрязняющих веществ для воды водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение / Под ред. О.Ф. Филенко, С.А. Соколовой. М.: ВНИРО, 1998. 147 с.

10. Filenko O.F., Isakova E.F., Gershkovich D.M. The lifespan of the Cladoceran *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg in a laboratory culture // Inland water biology. 2011. Vol. 4. N 3. P. 283–286.

11. Анисимов В.Н., Бакеева Л.Е., Егормин П.А., Филенко О.Ф., Исакова Е.Ф., Манских В.Н., Михельсон В.М., Пантелева А.А., Пасюкова Е.Г., Пилипенко Д.И., Пискунова Т.С., Попович И.Г., Рощина Н.В., Рыбина О.Ю., Сапрунова В.Б., Самойлова Т.А., Семенченко А.В., Скулачев М.В., Спивак И.М., Цыбулько Е.А., Тындык М.Л., Высоких М.Ю., Юрова М.Н., Забежинский М.А., Скулачев В.П. Производное пластохинона, адресованное в митохондрии, как средство, прерывающее программу старения. 5. SKQ1 увеличивает продолжительность жизни и предотвращает развитие признаков старения // Биохимия. 2008. Т. 73. Вып. 12. С. 1655–1670.

12. Исакова Е.Ф., Юклеевских М.Ю. Сезонные изменения резистентности лабораторной культуры *D. magna* Str. к бихромату калия // Биол. внутр. вод. 1998. № 3. С. 76–82.

13. Щербань Э.П. Токсичность ионов некоторых тяжелых металлов для *Daphnia magna* Straus в зависимости от температуры // Гидробиол. журн. 1977. № 4. С. 86–91.

Поступила в редакцию
17.11.12

INCREASING OF THE CRUSTACEAN *CERIODAPHNIA AFFINIS* LILLJEBORG VIABILITY BY THE 10-(2',3'-DIMETHYLHYNONIL-6')-DECILTRIPHENYLPHOSPHONIUM BROMIDE APPLICATION

D.M. Gershkovich, E.F. Isakova, O.F. Filenko, T.A. Samoilova

The influence of the low concentration of the 10-(2',3'-dimethylhynonil-6')-deciltriphenylphosphonium bromide upon the laboratory culture of the crustaceans *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg was investigated. The elevation of average and maximal lifespan and stimulation of heredity was founded out. The possible mechanism of phenomena is discussing.

Key words: *Ceriodaphnia affinis*, average lifespan, fertility, stimulation, hormesis.

Сведения об авторах

Гершкович Дарья Михайловна — аспирантка кафедры гидробиологии биологического факультета МГУ. Тел: 8-926-224-31-04; e-mail: rarius451@yandex.ru

Исакова Евгения Филипповна — канд. биол. наук, доц. кафедры гидробиологии биологического факультета МГУ. Тел: 8-916-015-27-57; e-mail: evgenia_isakova@mail.ru

Филенко Олег Федорович — докт. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры гидробиологии биологического факультета МГУ. Тел: 8-495-939-27-73; e-mail: ofilenko@mail.ru

Самойлова Татьяна Александровна — канд. биол. наук, ст. лаборант кафедры гидробиологии биологического факультета МГУ. Тел: 8-495-939-27-73; e-mail: aquatox-msu@mail.ru