



УДК 591.524.1 : (595.371 : 591.543.1)

В. Д. Романенко, докт. біол. наук, акад. НАН України, директор, **Ю. Г. Крот**, канд. біол. наук., в. о. зав. від.,
Т. І. Леконцева, канд. біол. наук., н. с., **Т. В. Фриновська**, м. н. с., **А. Б. Подругіна**, пров. інж.

Інститут гідробіології Національної академії наук України, Київ, Україна

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ ГАМАРИД *PONTOGAMMARUS ROBUSTOIDES* (SARS) (CRUSTACEA: AMPHIPODA) ДО ЗМІН ТЕМПЕРАТУРИ ВОДНОГО СЕРЕДОВИЩА

Терморезистентність гамарид *Pontogammarus robustoides* (Sars, 1894) досліджували в умовах статичної і динамічної дії підвищених температур водного середовища на представників природної (діапазон діючих температур 4 – 32°C) і лабораторної (адаптовані до вузького інтервалу температур 19 – 25°C) популяцій. Показано залежність рівня теплостійкості особин від ступеню мінливості температурних умов середовища існування. При статичному впливі високих температур для представників як лабораторної, так і природної популяцій вітальна температура становила 32°C, абсолютно летальна – 35°C (експозиція 24 год). В умовах статичної дії екстремальних температур (38°C) та прогресуючого зростання температури водного середовища зі швидкістю 6 та 12 °C/год летальний час (ЛЧ₅₀) і середні значення критичного температурного максимуму (КТМ) для особин лабораторної популяції *P. robustoides* (відповідно 18.3 хв та 37.5 – 39.6°C) були вірогідно нижчими за показники природної популяції (відповідно 29.8 хв і 38.3 – 39.7°C). Виявлено міжпопуляційні, вікові особливості поведінкових реакцій та індивідуальної мінливості теплостійкості особин. Обговорюються питання оптимізації умов культивування *P. robustoides* в регульованих системах.

Ключові слова: гамариди, температура, резистентність, адаптація

Температура відіграє найважливішу роль в регуляції розвитку та просторового розподілу водяних тварин. Гамариди понто-каспійського фауністичного комплексу, представником яких є *Pontogammarus robustoides*, характеризуються значною евритермією, що сприяє їх широкому розповсюдженню [2, 3, 6, 7, 19]. Як відомо, загальні межі толерантності виду визначаються градієнтом температур у природному середовищі існування [9, 12]. Однак при опануванні нових екологічних ніш і розширенні ареалу вирішальне значення набувають потенційні можливості організму, які можуть проявитися в нових умовах. Вивчення адаптивного потенціалу понто-каспійських гамарид прісноводного фауністичного комплексу представляє інтерес для вирішення як теоретичних, так і практичних завдань, пов'язаних, зокрема, з оцінкою можливого відгуку популяцій на швидку зміну умов середовища або з оптимізацією умов штучного відтворення та підвищення продуктивності систем культивування гамарид.

У зв'язку з цим, метою даної роботи було вивчення резистентності *P. robustoides* до збільшення температури водного середовища у статичному

та динамічному режимах для оцінки його адаптивних та потенційних можливостей.

Матеріал і методи. Лабораторна популяція *P. robustoides* створена в біотехнологічному комплексі Інституту гідробіології НАН України в 2008 р. Культура гамарид утримується в ємностях об'ємом 100 дм³ при температурі водного середовища 19–25°C, кисневому режимі 6–8 мг/дм³, фотоперіоді 12С:12Т. Середовище – відстояна водопровідна вода. Корм – личинки хірономід, ряска, штучний рослинний корм «Tetra-min». Відлов гамарид з природних популяцій було здійснено у червні 2011 р. (температура води 25°C) у літоральній зоні Київського водосховища (урочище Толокунь). Відбір і аналіз проб проведено згідно із загальноприйнятими методами [8]. Видову належність гамарид визначали за [14]. До початку експерименту представники природної популяції проходили аклімацію протягом двох тижнів в системах об'ємом 100 дм³ з регульованими параметрами середовища (річкова вода).

Порівняльну оцінку рівня теплостійкості особин *P. robustoides* з лабораторної та природної популяцій проводили в умовах статичної та

динамічної дії чинника [17]. У «статичному» варіанті тварин (шляхом прямого перенесення) утримували в середовищі з константною температурою 25 (контроль), 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 38°C ($\pm 0.5^\circ\text{C}$), у «динамічному» – в умовах підвищення температури водного середовища зі швидкістю 6 і 12°C/год. Тварин різних розмірних груп (довжиною 2–8 та 10–17 мм) по 6–12 особин (у 3 повторюваностях) висаджували у пластикові садки з сітчастим дном (планктонний газ № 72) об'ємом 250 см³, які розміщували у скляних ємностях об'ємом 5 дм³ (статичний режим) і 10 дм³ (динамічний режим), обладнаних системами термостабілізації (відповідно нагрівач з терморегулятором «Eheim Jager-50» і нагрівач (50 Вт) з терморегулятором «ЭРА-М»), аерації (двоканальний компресор «CR-40R») та перемішування води (помпа «Aquael, PFN-650»), термометром (ГОСТ 215-73 ТЛ-4). Середовище – вихідна вода.

Протягом експерименту візуально реєстрували особливості поведінкових реакцій тварин (локомоторна активність, порушення координації рухів). Рівень теплостійкості оцінювали за показниками смертності, летального часу (ЛЧ₅₀) і летальним температурам (ЛТ₅₀) (критичний тепловий максимум (КТМ)). Верхньою межею теплостійкості вважали момент настання повного знерухомлення ракоподібних [4, 17]. По закінченні кожного дослідження визначали розмірно-вагові характеристики гамарид [8]. Температуру та час загибелі 50 % особин і 95 % довірчий інтервал розраховували за допомогою пробіт-аналізу, КТМ визначали як середнє арифметичне \pm стандартна похибка. Статистичні порівняння (вірогідність розбіжностей) результатів проводили з використанням непараметричного критерію Манна-Уїтні та параметричного критерію Стьюдента, обро-

бку отриманих результатів - у програмі Statistica 6.0.

Результати та обговорення. Для більшості організмів водних екосистем помірних широт з нестійким температурним режимом середовища межі виживаності знаходяться в інтервалі 0 – 38°C [5]. Однак активна життєдіяльність евритермів відбувається в більш вузькому діапазоні температур. *P. robustoides* як мешканець літоральної зони існує в умовах сезонних коливань температури в межах 4 – 32°C [5, 13]. За даними [11], пригнічення життєвих функцій *P. robustoides* у водоймі-охолоджувачі ТЕС спостерігалось при температурі води 33°C, а зникнення виду – при 35°C. Експериментальним шляхом виявлено, що в термоградієнтних умовах діапазон розподілу *P. robustoides* становив 15 – 28°C, зона обраних температур – 18 – 24°C [15]. При нагріванні водного середовища до 40°C у даного виду гамарид спостерігали тепловий шок [11]. А. Г. Касимов [10] наводить значення температури 39.8°C як летальне для *P. robustoides*. Згідно отриманих нами даних, за умов статичної дії підвищених температур водного середовища в діапазоні 29 – 38°C для *P. robustoides* лабораторної популяції вітальна температура становила 32°C, що співпадало з межами температурної толерантності особин з природної популяції. Абсолютно летальна температура (експозиція 24 год) для обох популяцій – 35°C (рис. 1).

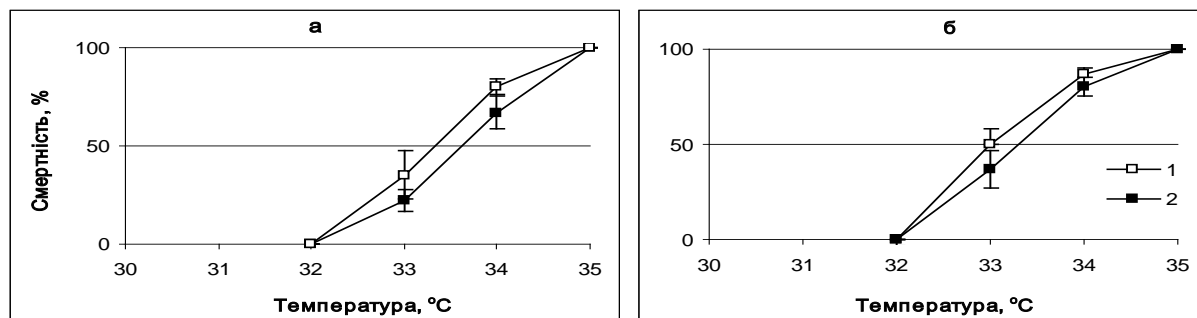


Рис. 1 Терморезистентність *P. robustoides* за умов статичного впливу підвищених температур водного середовища: а – природна, б – лабораторна популяції; 1 – молодші, 2 – старші розмірно-вікові групи ($M \pm m$, кількість повторюваностей $n=3$; загальна кількість задіяних тварин 30)

Fig. 1 Thermoresistance of *P. robustoides* under constant increased temperatures: а – natural, б – laboratory population; 1 – young, 2 – old size-age groups (mean \pm SE, the number of replicates $n=3$; the total number of tested animals 30)

Температура загибелі 50 % особин LT_{50} для лабораторної популяції знаходилась в межах 33.1 – 33.3°C, природної – 33.4 – 33.6°C. Розбіжності летальних значень температури для розмірно-вікових груп однієї популяції та міжпопуляційні статистично не вірогідні.

Вивчення рівня теплостійкості *P. robustoides* за дії статичних температур, що знаходяться поза межами толерантної шкали (> 35°C), виявило значні відмінності між особинами лабораторної і природної популяції (рис. 2).

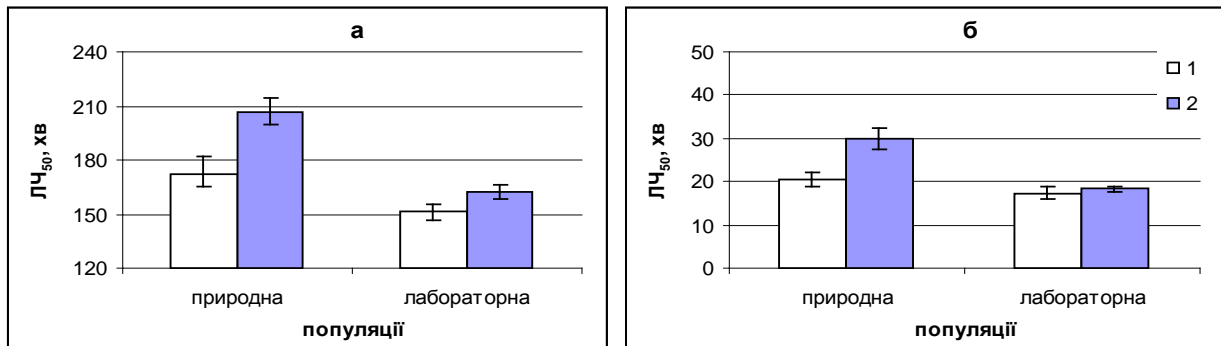


Рис. 2 Теплостійкість (LT_{50}) *P. robustoides* за умов статичної дії екстремальних температур водного середовища: а – 35°C, б – 38°C; 1 – молодші, 2 – старші розмірно-вікові групи (n=3, N=30 – 36; ⊥ – 95 % довірчий інтервал)

Fig. 2 Thermoresistance (LT_{50}) of *P. robustoides* under static effect of extreme temperatures: а – 35°C, б – 38°C; 1 – young, 2 – old size-age groups (n=3, N=30 – 36; ⊥ – 95 % confidence interval)

Так, в середовищі з температурою 35°C летальний час LT_{50} для молодших та старших особин лабораторної популяції становив відповідно 151.0 і 162.4 хв ($p > 0.05$). У *P. robustoides* з природної популяції аналогічні показники були значно вищими (172.4 і 206.3 хв, $p < 0.05$), що є свідченням більшої витривалості і адаптивної здатності.

При температурі 38°C час переживання *P. robustoides* суттєво скорочувався (див. рис. 2), при цьому рівень LT_{50} для особин старших вікових груп з лабораторної популяції залишався набагато нижчим за показники природної (відповідно 18.3 і 29.8 хв, $p < 0.01$), у молодших – зменшення теплостійкості було менш вираженим (відповідно 17.4 і 20.4 хв, $p > 0.05$). Важливо відмітити, що лабораторна популяція характеризується згладжуванням відмінностей у рівні терморезистентності особин, тоді як природна відрізняється помітною диференціацією індивідуальних показників.

Отже, результати досліджень свідчать про зниження резистентності лабораторної популяції *P. robustoides* до стресової дії екстремальних температур порівняно з природною, що може бути пов'язано з довготривалим утриманням тварин в середовищі з вузьким діапазоном температурних коливань (19 – 25°C).

Оцінка рівня теплостійкості *P. robustoides* в умовах прогресуючого зростання температури водного середовища показала (рис. 3), що в природній популяції середні значення критичного температурного максимуму (КТМ) для молодших і старших розмірно-вікових груп при повільнішому нагріванні середовища становили відповідно 38.3 ± 0.1 і 38.6 ± 0.1 °C ($p < 0.05$), вірогідно зростаючи ($p < 0.001$) при підвищенні швидкості нагріву (відповідно 39.7 ± 0.1 і 39.7 ± 0.2 °C, $p > 0.05$).

В лабораторній популяції *P. robustoides* відмічено суттєве ($p < 0.01$) зниження значень КТМ. Так, при швидкості зростання температури 6°C/год рівень показника для молодших та старших особин становив відповідно 37.5 ± 0.2 і 38.1 ± 0.1 °C ($p < 0.01$); при 12°C/год – вірогідно збільшувався до 37.9 ± 0.2 і 39.6 ± 0.2 °C ($p < 0.01$). Слід відмітити значне підвищення чутливості молодших розмірно-

вікових груп в лабораторній популяції порівняно з дорослими особинами. З наведених даних видно, що при збільшенні швидкості нагріву водного середовища гамариди здатні витримувати більш високі температури. Одержані нами

максимальні рівні КТМ для *P. robustoides* (39.6 і 39.7°C) при зростанні температури середовища зі швидкістю 12°C/год наближуються до значення (39.8°C), вказаного в [10].

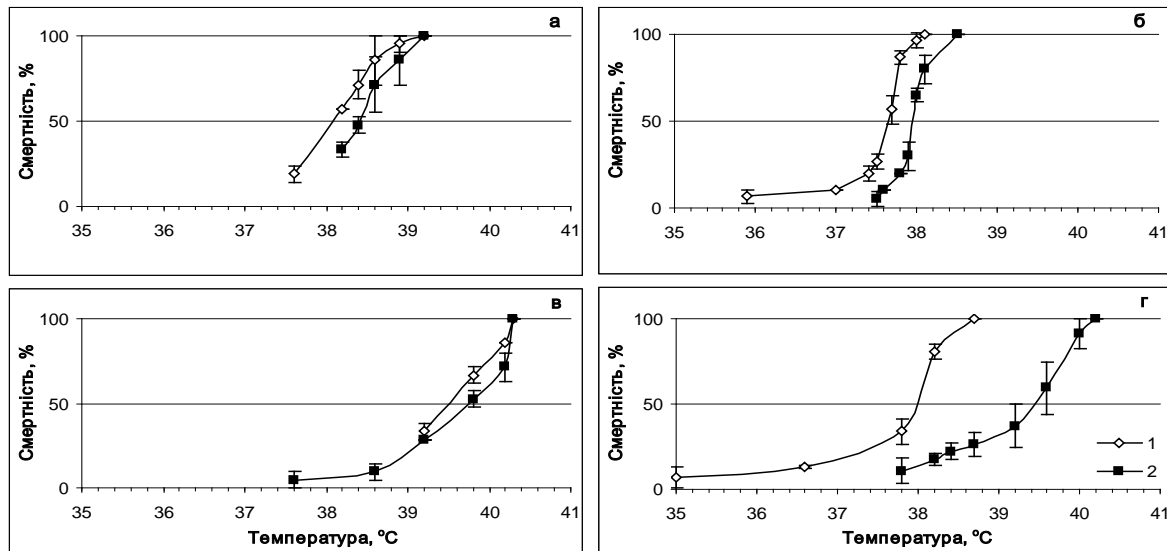


Рис. 3 Терморезистентність *P. robustoides* в умовах підвищення температури водного середовища з постійною швидкістю: а, в – природна, б, г – лабораторна популяції; а, б – 6°C/год, в, г – 12°C/год; 1 – молодші, 2 – старші розмірно-вікові груп (M±m, n=3; N=21–30)

Fig. 3 Thermoresistance of *P. robustoides* under effect of increasing at a constant rate temperatures: а, в – natural, б, г – laboratory population; а, б – 6°C/hour, в, г – 12°C/hour; 1– young, 2 – old size-age groups (mean ± SE, n=3; N=21–30)

Зазначені відмінності рівня терморезистентності гамарид з природної і лабораторної популяції в умовах динамічного впливу підвищених температур, імовірно, обумовлені попередніми температурними умовами існування. Лабораторна популяція *P. robustoides*, адаптована до вузького діапазону підвищених температур, характеризується вірогідним зниженням рівня теплостійкості молоді при обох швидкостях зростання температури та зменшенням резистентності великорозмірних особин в умовах повільнішого підвищення температури середовища.

Отже, на відміну від статичного температурного стресу при поступовому зростанні температури водного середовища в лабораторній популяції *P. robustoides* терморезистентність старших особин майже не поступається рівню показника природної популяції. Однак,

адаптаційні можливості молодшої розмірно-вікової групи рачків в лабораторній популяції значно зменшуються, що проявляється у підвищенні їх чутливості, зниженні теплостійкості та збільшенні амплітуди індивідуальної мінливості. Можна припустити, що утримання культури *P. robustoides* в умовах незначної амплітуди коливань температурного режиму посилює диференціацію розмірно-вікових груп за рівнем теплостійкості та здатністю адаптуватися до швидкого підвищення температури порівняно з особинами природної популяції.

Важливими індикаторними характеристиками функціонального стану водяних тварин при зміні умов середовища є поведінкові реакції, що виступають як зв'язуючі між екологічними і фізіологічними процесами. До найбільш чутливих показників належить локомоторна активність [18, 20]. Як видно з табл. 1, в

умовах безперервного зростання температури водного середовища підвищення рухової активності бокоплавів було відмічено в зоні крайніх значень толерантного діапазону – 30.5–31.5 °С. Це свідчить про мобілізацію енергетичних ре-

сурсів організму, що в природних умовах дає можливість залишити несприятливу температурну зону. Лабораторна популяція *P. robustoides* характеризувалася більшою чутливістю.

Табл. 1 Поведінкові реакції *P. robustoides* в умовах підвищення температури водного середовища з постійною швидкістю

Table 1 Behavioral responses of *P. robustoides* under a constant rate temperatures increasing

Поведінкові реакції	Швидкість підвищення температури, °С/год			
	Природна популяція		Лабораторна популяція	
	6	12	6	12
Підвищення локомоторної активності	31.0	31.5	30.5	31.0
Підйом до поверхні води («свічки»)	> 36.0	36.0	31.0	33.0
Зависання у поверхневій плівці води	35.0	36.0	34.5	35.0
Зниження локомоторної активності; порушення координації рухів	36.0	36.5	35.0	> 35.0
Судоми	36.5	36.5	35.5	> 35.0
Смерть	> 37.5	> 37.0	> 36.0	> 35.5

Із збільшенням дози тепла підсилюються ознаки негативного впливу високих температур на функцію дихання (зависання у поверхневій плівці, стрімкі підйоми до поверхні води). У зоні летальних значень температури (> 35 °С) відмічено зниження рухової активності рачків з порушенням координації рухів і подальшою загибеллю тварин. Отже, одержані дані добре узгоджуються з результатами стресового впливу високих константних температур і підтверджують підвищення чутливості і зниження резистентності лабораторної популяції *P. robustoides*, порівняно з природною.

Висновки. Дослідження рівня теплостійкості гамарид *P. robustoides* в умовах статичної і динамічної дії підвищених температур водного середовища виявили зміни резистентності особин в залежності від характеру впливу чинника та температурних умов існування тварин. При статичному впливі високих температур для представників як лабораторної, так і природної популяції вітальна температура становила 32°С, абсолютно летальна – 35°С (експозиція 24 год). В умовах статичної дії екстремальних температур (38°С) та прогресуючого зростання температури водного середовища зі

швидкістю 6 та 12°С/год летальний час ЛЧ₅₀ і середні значення КТМ для особин лабораторної популяції *P. robustoides* (відповідно 18.3 хв і 37.5 – 39.6°С) були вірогідно нижчими за показники природної популяції (відповідно 29.8 хв і 38.3 – 39.7°С). Таким чином, довготривале перебування *P. robustoides* в умовах незначного градієнту підвищених температур водного середовища (19 – 25°С) призводить до збільшення чутливості і зниження резистентності тварин до дії високих температур як в умовах статичного стресу, так і при швидкому зростанні температури. Особливо слід відмітити зменшення адаптаційної здатності молодших особин лабораторної популяції *P. robustoides*.

Виявлені відмінності у терморезистентності представників лабораторної і природної популяцій, очевидно, пов'язані зі ступенем мінливості температурних умов середовища існування. *P. robustoides* – мешканець біоценозів мілководдя, пристосован до значних сезонних та добових коливань температурного чинника. Очевидно, тривале перебування *P. robustoides* у відносно стабільних температурних умовах призводить до зниження здатності організму адаптуватися до швидких змін температури

водного середовища. Отже, на підставі одержаних результатів можна припустити, що для оптимізації життєдіяльності *P. robustoides* в штучних умовах та створення високопродуктивної

культури найбільш сприятливим буде коливальний температурний режим в межах «екологічної норми» виду для періоду його активного відтворення у природних умовах.

1. *Аршавский И. А.* Физиологические механизмы и закономерности индивидуального развития. – М.: Наука, 1982. – 270 с.
2. *Березина Н. А.* Причины, особенности и последствия распространения чужеродных видов амфипод в водных экосистемах Европы / Алимов А. Ф., Богущкая Н. Г. Биологические инвазии в водных и наземных экосистемах. – М. – СПб: Тов-во научных изданий КМК, 2004. – С. 254 – 268.
3. *Березина Н. А., Голубков С. М.* Макрозообентос прибрежной зоны Финского залива: структурные перестройки в связи с вселением новых видов и эвтрофированием // Мат. X научн. семинара "Чтения памяти К. М. Дерюгина". – СПб, 2008. – С. 35 – 49.
4. *Вербицкий В. Б., Вербицкая Т. И.* Теплоустойчивость *Daphnia longispina* (O. F. Müller, 1785) (Crustacea: Cladocera) и ее зависимость от температуры среды обитания // Биология внутр. вод. – 2000. – № 3. – С. 62 – 67.
5. *Гигиняк Ю. Г.* Светотемпературная взаимосвязь и ее значение при определении экологических границ существования гидробионтов // Продукционные гидробиол. исследования водных экосистем: Тр. Зоол. ин-та. – 1987. – 165. – С. 91 – 97.
6. *Дедю И. И.* Амфиподы пресных и солоноватых вод юго-запада СССР. – Кишинев: Штиинца, 1980. – 222 с.
7. *Емельянова Л. В.* Гаммариды литорали днепровских водохранилищ. – К.: Наук. думка, 1994. – 144 с.
8. *Жадин В. И.* Методы гидробиологических исследований. – М.: Высш. школа, 1960. – 190 с.
9. *Ивлева И. В., Попенкина М. И.* О температурной зависимости обмена у пойкилотермных животных / Физиологические основы экологии водных животных. – Киев, 1968. – С. 29 – 51.
10. *Касымов А. Г.* Экологические особенности бокоплава *Pontogammarus robustoides* (Grimm.) Mart., интродуцированного в Мингечаурское водохранилище // Вопросы экологии по материалам четвертой экологической конференции. – 1962. – 5. – С. 92 – 93.
11. *Китицына Л. А.* Влияние температурного режима водоема-охладителя ТЭС на рост, плодовитость и интенсивность обмена бокоплава // Устойчивость к экстремальным температурам и температурные адаптации. – Харьков, 1971. – С. 22 – 25.
12. *Константинов А. С., Пушкарь В. Я., Аверьянова О. В.* Влияние колебаний абиотических факторов на метаболизм некоторых гидробионтов // Известия РАН. Сер. биол. – 2003. – № 6. – С. 728 – 734.
13. *Мордухай-Болтовской Ф. Д.* Каспийская фауна в Азово-Черноморском бассейне. – М.: Изд-во АН СССР, 1960. – 288 с.
14. *Определитель* фауны Черного и Азовского морей. В 3-х т. Т. 2. Свободноживущие ракообразные / Под рук. Ф.Д. Мордухай-Болтовского. – К.: Наук. думка, 1969. – 545 с.
15. *Пономарева З. А.* Распределение некоторых бокоплавов каспийского реликтового комплекса в термоградиентных условиях // Акклиматизация беспозвоночных во внутренних водоемах: Изв. ГосНИОРХ. – 1976. – 110. – С. 36 – 40.
16. *Селье Г., Крепс Е. М.* Стресс без дистресса. – М.: Прогресс, 1982. – 124 с.
17. *Ушаков Б. П.* Основы селекции особей по относительно лабильным физиологическим признакам на примере теплоустойчивости организма // Журн. общ. биологии. – 1988. – 49, № 2. – С. 236 – 244.
18. *Felten V., Charmantier G., Mons R. et al.* Physiological and behavioral responses of *Gammarus pulex* (Crustacea: Amphipoda) exposed to cadmium // Aquat Toxicol. – 2008. – 86. – P. 413 – 425.
19. *Grabowski M., Jazdzewski K., Konopacka A.* Alien Crustacea in Polish waters – Amphipoda // Aquatic Invasions. – 2007. – 2, No. 1 – P. 25 – 38.
20. *Kivivuori L., Lagerspetz K. Y. H.* Thermal resistance and behaviour of the isopod *Saduria entomon* (L.) // Ann. Zool. Fen. – 1990. – 27. – P. 287 – 290.

Поступила 28 января 2014 г.
После доработки 14 апреля 2014 г.

Резистентность гаммарид *Pontogammarus robustoides* (Sars) (Crustacea: Amphipoda) к изменению температуры водной среды. В. Д. Романенко, Ю. Г. Крот, Т. И. Леконцева, Т. В. Фриновская, А. Б. Подругіна. Исследовали терморезистентность гаммарид *Pontogammarus robustoides* (Sars, 1894) в условиях статического и динамического действия повышенных температур водной среды на представителях природной (диапазон действующих температур 4 – 32°C) и лабораторной (адаптированы к узкому интервалу температур

19 – 25°C) популяцій. Показана залежність рівня теплоустійливості особей від ступеня змінливості температурних умов середовища обитання. При статичному впливі високих температур для представників як лабораторної, так і природної популяцій життєва температура становила 32 °С, абсолютно летальна – 35 °С (експозиція 24 ч). В умовах статичного впливу екстремальних температур (38 °С) і прогресуючого зростання температури водної середовища зі швидкістю 6 і 12 °С/ч летальне час (ЛВ₅₀) і середні значення критичного температурного максимуму (КТМ) для особей лабораторної популяції *P. robustoides* (соответственно 18.3 мин и 37.5–39.6 °С) були достовірно нижче показників природної популяції (соответственно 29.8 мин и 38.3–39.7 °С). Виявлені міжпопуляційні і вікові особливості поведінкових реакцій і індивідуальної змінливості теплоустійливості особей. Обсуджуються питання оптимізації умов культивування *P. robustoides* в регульованих системах.

Ключевые слова: гаммариди, температура, резистентность, адаптация.

The resistance of *Pontogammarus robustoides* (Sars) (Crustacea: Amphipoda) to the influence of fluctuating temperature of aquatic environment. V. D. Romanenko, Y. G. Krot, T. I. Lekontseva, T. V. Frynovska, A. B. Podrugina. Thermal resistance of gammarids *Pontogammarus robustoides* (Sars, 1894) under static and dynamic effects of raised temperatures on aquatic natural type (operating temperature range of 4 – 32°C) and laboratory (adapted to the narrow range of temperatures 19 – 25°C) populations were investigated. The level of heat resistance of individuals on the degree of variability of the temperature conditions of the environment was shown. In static exposure to high temperatures for representatives from both laboratory and natural populations vital temperature was 32°C, absolutely lethal – 35°C (24 h exposure). In static conditions, the action of extreme temperatures (38 °C) and progressive growth of temperature of the aquatic medium 6 and 12°C/hr lethal time (Lt₅₀) and average value of the critical thermal maximum (CTMax) for individuals of laboratory population of *P. robustoides* (respectively 18.3 min and 37.5–39.6°C) were significantly lower than indicators of natural population (respectively 29.8 min and 38.3–39.7°C). Interpopulational and age features of behavioral responses and individual variability of the thermal stability of individuals were identified. The optimization of culture conditions of *P. robustoides* in control systems were discussed.

Key words: Gammaridae, temperature, resistance, adaptation.