

УДК [574.5:595.3]:574.64

**І.М. КОНОВЕЦЬ**, к. б. н., ст. наук. співроб., зав. лаб.,  
Інститут гідробіології НАН України,  
просп. Героїв Сталінграда, 12, Київ, 04210, Україна,  
e-mail: i.m.konovets@gmail.com  
ORCID 0000-0003-4234-5026

**М.Т. ГОНЧАРОВА**, к. б. н., ст. наук. співроб.,  
Інститут гідробіології НАН України,  
просп. Героїв Сталінграда, 12, Київ, 04210, Україна,  
e-mail: mariyagonch83@gmail.com  
ORCID 0000-0003-3891-4572

**Л.С. КІПНІС**, к. б. н., ст. наук. співроб., ст. наук. співроб.,  
Інститут гідробіології НАН України,  
просп. Героїв Сталінграда, 12, Київ, 04210, Україна,  
e-mail: ecos\_inhydro@ukr.net  
ORCID 0000-0002-4008-5120

**М.Г. МАРДАРЕВИЧ**, к. б. н., наук. співроб.,  
Інститут гідробіології НАН України,  
просп. Героїв Сталінграда, 12, Київ, 04210, Україна,  
e-mail: m\_miroslaw@yahoo.com  
ORCID 0000-0002-1553-5468

## ЗАСТОСУВАННЯ ПРИРОДНИХ МІНЕРАЛЬНИХ ВОД ЯК СЕРЕДОВИЩА УТРИМАННЯ МАТОЧНИХ КУЛЬТУР *DAPHNIA MAGNA STRAUS* ДЛЯ БІОТЕСТУВАННЯ

---

Досліджено можливість застосування бутильованих природних мінеральних вод для утримання високочутливої культури *Daphnia magna Straus* як альтернативи використанню синтетичного середовища. Показники мінералізації досліджуваних середовищ варіювали в діапазоні 123—2992 мг/дм<sup>3</sup>, концентрація хлорид-іонів — 11—1390 мг/дм<sup>3</sup>, сульфат-іонів — 0,2—182 мг/дм<sup>3</sup>, твердість води — 1,8—3,2 мг-екв/дм<sup>3</sup>. Найвищі показники плодючості (135—140 ос. молоді на самку протягом 21 доби) були отримані при використанні середовищ із загальною мінералізацією в діапазоні 100—800 мг/дм<sup>3</sup> та концентрацією хлорид-іонів 10—25 мг/дм<sup>3</sup>. За цих умов спостерігалась висока чутливість новонародженої молоді до референтного токсиканта (ЛК<sub>50</sub><sup>24</sup> 1,0—1,2 мг/дм<sup>3</sup> K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>), що задовольняє вимогам нормативних документів. За показників мінералізації та концентрації хлорид-іонів у культуральному середовищі вище 1600 та 200 мг/дм<sup>3</sup>, відповідно, спостерігалось зменшення пло-

---

Ц и т у в а н н я: Коновець І.М., Гончарова М.Т., Кіпніс Л.С., Мардаревич М.Г. Застосування природних мінеральних вод як середовища утримання маточних культур *Daphnia magna Straus* для біотестування. *Гідробіол. журн.* Т. 56, № 6. С. 94—104.

дючості організмів нижче допустимого рівня, проте виявлено тенденцію до збільшення продукційних показників за умови адаптації тварин до такого середовища протягом трьох поколінь. Це свідчить про високу екологічну пластичність *D. magna*, що може бути використано для створення та утримання культур для біотестування вод з широким спектром гідрохімічних властивостей.

Таким чином, за відсутності питної води відповідної якості для утримання високочутливої культури *D. magna* може використовуватись середовище, виготовлене на основі природної мінеральної води з відповідним складом. Таке середовище може слугувати альтернативою «синтетичному» та дозволить покращити внутрішньо- та міжлабораторну відтворюваність результатів токсикологічних досліджень.

**Ключові слова:** маточна культура, *Daphnia magna*, культуральне середовище, біотестування, чутливість, мінеральні води, адаптаційний потенціал.

Гіллястовусих ракоподібних *Daphnia magna* Straus (Crustacea: Cladocera) використовують для оцінки токсичності водного середовища ще з початку 1930-х років, на сьогодні цей вид є одним з найбільш поширених прісноводних тест-організмів у світовій практиці біотестування.

Використання лабораторних культур стандартизованих тест-об'єктів, які мають регламентовану чутливість до референтних токсичних речовин, є однією з основних вимог нормативних документів щодо валідації процедури біотестування [3—5, 12]. Однією з найважливіших умов для створення чутливої лінії *D. magna* є вибір оптимального культурального середовища з повноцінним мінеральним складом, який би забезпечував фізіолого-біохімічні потреби цих тварин при довготривалому утриманні маточної культури. Вітчизняні нормативні документи допускають застосування з цією метою дехлорованої питної води, що досягається її аерацією протягом тижня [5]. Однак, це не завжди дає позитивні результати, оскільки таке середовище може все ще містити фульвокислоти, низькомолекулярні органічні сполуки, забруднення з водопровідної мережі, побічні продукти хлорування тощо [9]. Зважаючи на те, що навіть підготовлена вода може проявляти достовірну хронічну негативну дію, а джерело чистої природної води може бути недоступним, нормативні документи дозволяють використання синтетичного (реконструйованого) середовища, яке готується додаванням до дистильованої води солей  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{CaSO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4$  та  $\text{KCl}$  у відповідній кількості [4, 5, 12]. Проте, у разі використання неповноцінних кормів, такий підхід може давати нестабільні результати при утриманні культури дафній, оскільки синтетичне середовище не містить всіх необхідних мікроелементів для росту, розвитку і розмноження гіллястовусих ракоподібних. Для уникнення подібних труднощів рекомендується додавання до середовища культивування селену та вітаміну  $\text{B}_{12}$  [17]. Перспективним підходом при культивуванні *D. magna* може бути також використання як корму одноклітинних зелених водоростей, вирощених на збагаченому селеном та іншими мікроелементами середовищі [1, 11].

Альтернативою використанню синтетичного середовища при культивуванні гіллястовусих ракоподібних можуть бути бутильовані при-

родні мінеральні води, які, як відомо, добуваються безпосередньо з природного джерела або із свердловини, характеризуються сталим вмістом мінеральних солей та мікроелементів у певних пропорціях, що залежать тільки від природних циклів коливань, розливаються в умовах, які гарантують вихідну бактеріологічну чистоту [8]. Досвід використання природної мінеральної води *Perrier*<sup>™</sup> як культурального середовища у лабораторіях США, Канади та країн Європи свідчить про перспективність такого підходу [12, 17]. Застосування мінеральних вод вітчизняного виробництва для утримання культур гіллястовусих ракоподібних в лабораторіях України сприяло б значному покращенню внутрішньо- та міжлабораторної відтворюваності результатів біотестування [6].

Метою наших досліджень була оцінка можливості застосування бутильованих природних мінеральних вод як середовища для утримання високочутливої культури *D. magna* для біотестування.

### Матеріал і методика досліджень

Досліджували плодючість *D. magna* при її культивуванні на середовищах, приготовлених на основі бутильованих природних мінеральних вод: середовище № 1 — Трускавецька<sup>™</sup> мінеральна природна сульфатно-гідрокарбонатна магнієво-кальцієва негазована (без розбавлення); середовище № 2 — Моршинська<sup>™</sup>, мінеральна сульфатно-гідрокарбонатна різного катіонного складу негазована (без розбавлення); середовище № 3 — Поляна Квасова<sup>™</sup>, мінеральна гідрокарбонатно-натрієва борна сильногазована (розбавлення 1:2), середовище № 4 — Миргородська<sup>™</sup>, мінеральна природна хлоридно-натрієва негазована (без розбавлення), середовище № 5 — Свалява<sup>™</sup>, мінеральна гідрокарбонатно-натрієва борна сильногазована (розбавлення 1:3) (табл. 1). Критерієм вибору мінеральних вод для досліджень слугувала їхня доступність, широкий діапазон показників загальної мінералізації та різноманітність складу.

Як контроль використовували синтетичне середовище середньої твердості [3], яке створювали додаванням солей NaHCO<sub>3</sub>, CaSO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub>, KCl у кількості відповідно 96, 60, 60, 4 мг/дм<sup>3</sup>.

Таблиця 1

Хімічний склад мінеральних вод за даними виробників

Назви торгових марок	Показники		
	мінералізація, мг/дм <sup>3</sup>	хлориди, мг/дм <sup>3</sup>	сульфати, мг/дм <sup>3</sup>
Трускавецька	300—600	<50	<100
Моршинська	100—300	<25	<100
Поляна Квасова	6500—12000	300—600	<25
Миргородська	2500—3500	1000—2500	50—250
Свалява	4000—8000	70—140	<50

Перед початком експериментів проводили аерацію середовищ протягом 48 год для стабілізації гідрохімічного складу та насичення киснем. Мінеральні води Поляна Квасова™ та Свалява™ перед аерацією розбавляли дистильованою водою для досягнення показників твердості 2,8—3,2 мг-екв/дм<sup>3</sup>, які рекомендуються [3, 12] для утримання маточних культур *D. magna*.

Плодючість *D. magna* досліджували з використанням рекомендацій [4] протягом 21 доби за температури 22±2 °С і світлового режиму 16 : 8 (світло : темрява). Для цього в 10 стаканів об'ємом 100 см<sup>3</sup> розміщували по одній самиці віком до 24 год. Визначали кількість та стать нащадків, новонароджену молодь відсаджували з дослідних ємностей не пізніше ніж через 12 год після її народження. Як корм використовували суміш дріжджів пекарських та хлорели 1:1 у сумарній концентрації 10 мг/дм<sup>3</sup> у перерахунку на суху масу, який вносили один раз на добу. Для запобігання негативного впливу екзометаболітів середовище змінювали тричі на тиждень.

Перевірку чутливості культури дафній проводили на молоді F1 та F3, отриманій у третьому виметі нульового та другого покоління (F0 та F2). Експеримент по визначенню медіанної летальної концентрації референтного токсиканту калію дихромату (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, кваліфікації «хімічно чистий») протягом 24 год експозиції (LK<sub>50</sub><sup>24</sup>) проводили відповідно до рекомендацій [3]. Для цього молодь віком 6—12 год розсаджували по шість особин у п'ять стаканів ємністю 100 см<sup>3</sup> з концентрацією токсиканту 0,1—4,0 мг/дм<sup>3</sup>.

Статистичну обробку результатів виконували за допомогою загальноприйнятих методів варіаційної статистики. Розрахунок середньої летальної концентрації проводили методом пробіт-аналізу з використанням програми *EPA Probit Analysis Program, ver. 1.5*.

### Результати досліджень та їх обговорення

Одним з важливих показників якості середовища для стабільного відтворення популяції гіллястовусих ракоподібних є достатній рівень йонів лужноземельних металів (кальцій, магній), які необхідні для побудови хітинових структур їхнього карапаксу. Для утримання культур гіллястовусих ракоподібних для біотестування нормативними документами [3—4, 12] рекомендовано використання середовищ з показником твердості в діапазоні 1,6—3,6 мг-екв/дм<sup>3</sup>. Однак, діапазон допустимих значень твердості води при проведенні токсикологічних дослідів на гіллястовусих ракоподібних значно ширший — від 0,2 до 6,4 мг-екв/дм<sup>3</sup>. У разі, якщо при проведенні біотестування проби води за гідрохімічним складом суттєво відрізняються від середовища утримання маточної культури, до якого адаптовані тест-об'єкти, загальноновизнаним правилом доброї лабораторної практики є попередня преадаптація культури до таких умов, оскільки додатковий стрес від різкої зміни гідрохімічних характеристик може спотворювати результати гострих і хронічних дослідів.

У зв'язку з цим у наших дослідженнях показник твердості середовища був обмежений величиною 3,2 мг-екв/дм<sup>3</sup> (нижня межа для типу середовища «вода тверда» згідно класифікації [12]), що досягалось розбавленням за потреби дистильованою водою вихідних мінеральних вод з підвищеним показником твердості. Аналіз гідрохімічного складу середовищ, які були виготовлені на основі мінеральних вод з метою подальшого дослідження можливості їхнього використання для утримання маточної культури дафній, наведено в таблиці 2. Показники мінералізації у різних варіантах дослідів варіювали в діапазоні 123—2992 мг/дм<sup>3</sup>, концентрації хлорид-іонів — 11—1390 мг/дм<sup>3</sup>, сульфат-іонів — 0,2—182,1 мг/дм<sup>3</sup>.

Дослідження продукційних характеристик при вирощуванні *D. magna* показало, що найвищі показники плодючості, середньої кількості молоді у виметі та кількості виметів були отримані при культивуванні у середовищах № 1 та № 2. Ці величини статистично достовірно не відрізнялись від отриманих в експерименті із застосуванням синтетичного культурального середовища (табл. 3).

Найменші показники плодючості *D. magna* спостерігались при використанні середовищ № 3 та № 4, де кількість нащадків була нижчою, ніж у синтетичному середовищі, відповідно на 67 та 72 %. Необхідно відмітити, що даний показник у цих варіантах не задовольняв нормативним вимогам щодо валідації експериментів при проведенні субхронічних дослідів — 60 ос. молоді на самку [4], проте ознак токсичної дії на *D. magna* за такими показниками, як смертність новонароджених особин, розсмоктування або абортів яєць, поява самців, не було виявлено<sup>1</sup>. Причиною низької плодючості *D. magna* при вирощуванні на цих середовищах, на нашу думку, були песимальні величини таких показників, як загальна мінералізація та концентрація хлоридів.

Таблиця 2

Основні гідрохімічні показники середовищ для культивування

Показники	Середовища					
	синтетичне	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5
Мінералізація, мг/дм <sup>3</sup>	197	475	123	1925	2992	823
Хлориди, мг/дм <sup>3</sup>	11,3	22,5	18,8	134,0	1390,4	22,1
Сульфати, мг/дм <sup>3</sup>	71,6	25,6	6,5	0,2	182,1	1,1
Твердість, мг-екв/дм <sup>3</sup>	2,8	3,0	1,8	3,2	2,8	3,0
pH після 2 діб аерації	8,1	8,9	8,5	9,1	8,7	8,9
pH після 2 діб аерації та 3 діб експерименту	7,6	8,6	8,1	9,2	8,7	8,0

<sup>1</sup> Автори вважають за потрібне зауважити, що результати даних досліджень не можна сприймати як оцінку споживчої якості мінеральних вод.

Аналіз результатів виявив високі негативні кореляційні зв'язки між плодючістю *D. magna* та вмістом хлорид-іонів ( $r = -0,88$ ) і показником загальної мінералізації ( $r = -0,94$ ). Для проведення статистичного аналізу гідрохімічні показники нормалізували за допомогою логарифмічного перетворення. Результати множинної лінійної регресії описуються рівнянням:

$$P = 286,5 - 23,7 \cdot \ln M - 8,9 \cdot \ln [Cl^-],$$

де  $P$  — кількість молоді, ос/♀;  $M$  — мінералізація (без урахування концентрації хлорид-іонів), мг/дм<sup>3</sup>;  $[Cl^-]$  — концентрація хлорид-іонів, мг/дм<sup>3</sup>. Ці чинники описують 90 % варіації показника питомої плодючості, при цьому мінералізація є статистично більш значущою і має достовірний вплив ( $p < 0,05$  за тестом Фішера).

Як показують розрахунки, допустимий рівень плодючості у 60 ос. молоді на одну самку *D. magna* досягається за умов, коли показники загальної мінералізації і концентрації хлорид-іонів у середовищі не перевищують відповідно 1600 та 200 мг/дм<sup>3</sup> (рис. 1).

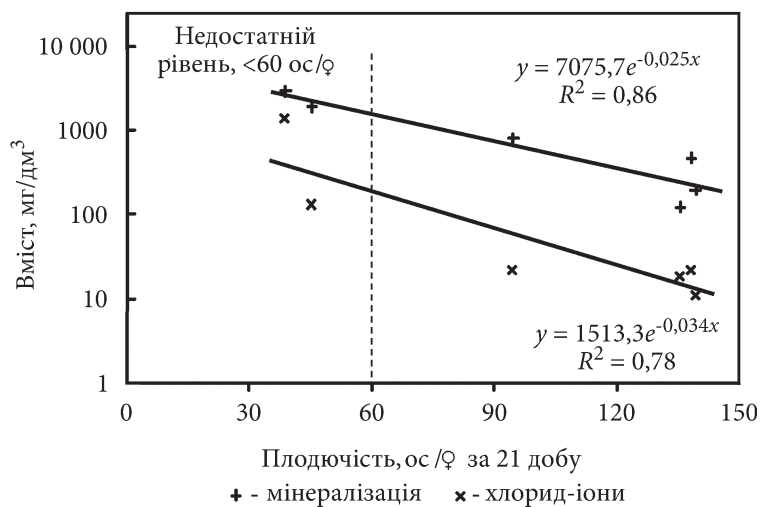
Для обґрунтування можливості застосування середовищ для утримання маточної культури *D. magna* було досліджено плодючість особин другого покоління (F2) протягом 21 доби (табл. 4), а також чутливість їхніх нащадків (третє покоління, F3) до референтного токсиканту (табл. 5). Визначення чутливості проводили на молоді третього вимету.

Як показали результати досліджень, при культивуванні *D. magna* у середовищі з несприятливим мінеральним складом підвищення продукційних характеристик спостерігається уже при адаптації протягом трьох партеногенетичних поколінь (див. табл. 4). Так, у середовищах з підвище-

Таблиця 3  
Плодючість *D. magna* при її вирощуванні на різних середовищах протягом 21 доби

Середовища	Показники		
	кількість народженої молоді, ос/♀	кількість виметів	середня кількість молоді у виметі, ос.
Синтетичне	139,2±16,2	5,9±0,3	23,6±2,5
№ 1	140,5±19,2	6,0±0,5	23,4±2,5
№ 2	135,6±5,8	6,0±0,0	22,6±1,0
№ 3	45,6±23,5**	2,9±1,4**	16,1±5,0**
№ 4	39,7±22,1**	3,1±1,4**	12,5±3,8**
№ 5	93,0±25,1**	5,1±0,7**	18,5±4,8**

Примітка. Тут і в табл. 4: \* різниця середніх величин показників плодючості організмів у синтетичному середовищі і дослідних варіантах за тестом Ст'юдента достовірна,  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ .



**Рис. 1.** Залежність плодючості *D. magna* від загальної мінералізації (без урахування концентрації хлорид-іонів) і концентрації хлорид-іонів у середовищі культивування

ною мінералізацією № 3 і № 4 у дафній вже в третьому поколінні спостерігається достовірно підвищення продукційних показників відповідно на 31 та 47 %. Отримані дані вказують на можливість адаптації дафній до існування у середовищі № 4, що характеризувалось рівнем мінералізації 3,0 г/дм<sup>3</sup> та концентрацією хлоридів 1,4 г/дм<sup>3</sup>. Таким чином, позитивна тенденція до збільшення продукційних показників за умов преадаптації до середовища з несприятливим мінеральним складом свідчить про високу екологічну пластичність *D. magna*, і за умови реалізації адаптаційного потенціалу виду можливо створення ліній, здатних до відтворення навіть у солонуватих водах (з мінералізацією до 6,0 г/дм<sup>3</sup>) [7].

Таблиця 4

**Плодючість *D. magna* при вирощуванні на різних середовищах після преадаптації протягом трьох поколінь**

Середовища	Показники		
	кількість народженої молоді, оvs/♀	кількість виметів	середня кількість молоді у виметі, оvs.
Синтетичне	135,6±16,5	5,9±0,3	23,0±2,6
№ 1	147,1±13,9	6,1±0,3	24,1±1,7
№ 2	142,0±13,8	6,2±0,4*	22,9±1,6
№ 3	62,8±20,3**	3,5±0,5**	17,9±5,4**
№ 4	74,4±22,4**	4,2±0,8**	17,6±3,5**
№ 5	121,0±20,0*	5,8±0,4	20,8±2,7*

Як показано у роботі [18], величини солоності, які викликають летальний або сублетальний ефект у дафній, є дуже близькими. Автори вказують, що такий тип відповіді на підвищення солоності у цих організмів характеризується принципом «все або нічого». Можна припустити, що навіть при незначній зміні солоності, що перевищує певну межу, є ймовірність суттєвого впливу на природні популяції дафній. Проте показана також здатність дафній збільшувати толерантність та виживання у середовищі з підвищеною солоністю при їхній попередній експозиції до низьких величин цього чинника [16, 18]. Механізми набуття толерантності у ряду партеногенетичних поколінь виключають генотипічні зміни і можуть полягати у передачі від материнського організму певних факторів активації ферментативних систем [15], а також у епігенетичних змінах геному, таких як метилювання ділянок ДНК або ацетилювання гістонових білків на ембріональній стадії розвитку [10, 13].

При проведенні токсикологічних досліджень толерантність культури *D. magna* до дії референтних речовин залежить в першу чергу від фізіологічного стану організмів, що визначається умовами утримання маточної культури, у тому числі мінеральним складом середовища. Для дослідження впливу середовищ культивування на чутливість культури молодь третього вимета нульового та другого поколінь *D. magna* було досліджено на чутливість до референтного токсиканту калію дихромату (табл. 5).

Згідно [3], величини медіанної летальної концентрації за 24 год експозиції для дихромату калію ( $LK_{50}^{24}$ ) мають бути в діапазоні від 0,9 до 2,5 мг/дм<sup>3</sup>. Отримані у наших дослідках дані свідчать про те, що чутливість організмів, яких вирощували на середовищах №№ 1, 2 та 5, за цим показником становила 1,0—1,2 мг/дм<sup>3</sup>. Для *D. magna*, що вирощувалась на середовищі № 3 і № 4, виявлено завищену чутливість (тобто смертність спостерігалась за значно нижчих концентрацій референтного токсиканта, ніж це дозволено методикою для валідації отриманих даних), вірогідно, через подвійний стрес для тест-організмів, викликаний негативним впливом чинників різної природи.

Таблиця 5  
Показники  $LK_{50}^{24}$  молоді *D. magna* відносно референтного токсиканту калію дихромату

Середовища	I покоління (F1)	III покоління (F3)
Синтетичне	1,15	1,25
№ 1	1,00	1,05
№ 2	1,10	0,90
№ 3	0,70	0,80
№ 4	0,45	0,90
№ 5	1,20	1,15



Проте культивування дафній протягом трьох поколінь у середовищі з підвищеним вмістом хлоридів (середовище № 4) призводить до збільшення величини  $LK_{50}^{24}$  порівняно з вихідною культурою, що наближає її до нижньої межі допустимого інтервалу. На нашу думку, така зміна показника пов'язана з адаптацією тест-організмів до мінерального складу середовища, нормалізацією їхнього фізіологічного стану і підвищенням резистентності до дії токсичних речовин.

### Висновки

Підбір культурального середовища з повноцінним мінеральним складом, який би забезпечував фізіолого-біохімічні потреби *Daphnia magna*, є важливим для довготривалого утримання високочутливої маточної культури. В умовах незадовільної якості питної води, через погіршення стану або сезонні коливання гідрохімічного складу поверхневих вод альтернативою використанню синтетичного середовища для культивування гіллястовусих ракоподібних може бути природна бутильована мінеральна вода, що містить всі необхідні елементи.

При використанні для утримання *D. magna* середовищ із загальною мінералізацією в діапазоні 100—800 мг/дм<sup>3</sup> та концентрацією хлорид-іонів 10—25 мг/дм<sup>3</sup> були отримані найвищі показники плодючості у 135—140 ос. молоді на самку протягом 21 доби. Визначена чутливість новонароджених особин до референтного токсиканта за цих умов відповідає нормативним вимогам, медіанна летальна концентрація  $LK_{50}^{24}$   $Cr_2O_7$ ) становить 1,0—1,2 мг/дм<sup>3</sup>.

Перевищення показників мінералізації та концентрації хлорид-іонів відповідно більше 1600 та 200 мг/дм<sup>3</sup> у культуральному середовищі призводило до зменшення плодючості організмів до рівня, що не досягає вимог нормативів щодо проведення хронічних дослідів (60 ос. молоді на самку). Однак при утриманні тварин протягом трьох поколінь у такому середовищі проявляється високий адаптаційний потенціал *D. magna* до змін мінерального складу, що призводить до статистично достовірного збільшення продукційних показників і наближення рівня чутливості тест-організмів до нормативних вимог. Подальше дослідження цих закономірностей може бути основою для створення і утримання культур *D. magna* для тестування солонуватих вод, вод естуарних зон, шахтних вод, а також солонуватоводних донних відкладів при тестуванні водної фази комплексним методом [14] та при тестуванні водних витяжок з них [2].

У разі відсутності питної води відповідної якості, застосування середовищ для утримання культур гіллястовусих ракоподібних, приготовлених на основі бутильованих природних мінеральних вод, дозволить покращити внутрішньо- та міжлабораторну відтворюваність результатів біотестування.

Список використаної літератури

1. Винярская Г.Б., Боднар О.И., Станиславчук А.В., Грубинко В.В. Антиоксидантная роль селенита натрия у *Chlorella vulgaris* Beij. (Chlorophyta). *Альгология*. 2014. № 24 (3). С. 293—296.
2. Гончарова М.Т., Кіпніс Л.С., Коновець І.М., Крот Ю.Г. Оцінка токсичності донних відкладів прісноводних об'єктів за допомогою біотестування. Методичні рекомендації. К., 2019. 131 с.
3. ДСТУ 4173:2003. Якість води. Визначення гострої летальної токсичності на *Daphnia magna* Straus і *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg (Cladocera, Crustacea). К.: Держспоживстандарт України, 2003. 22 с.
4. ДСТУ 4174:2003. Якість води. Визначення хронічної токсичності хімічних речовин та води на *Daphnia magna* Straus і *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg (Cladocera, Crustacea). К.: Держспоживстандарт України, 2003. 26 с.
5. КНД 211.1.4.054-97. Визначення гострої летальної токсичності води на ракоподібних *Daphnia magna* Straus. К., 1997. 18 с.
6. Коновець І.М., Кіпніс Л.С. Біотестування токсичності поверхневих вод та донних відкладів за допомогою гіллястовусих ракоподібних *Daphnia magna* Straus та *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg. *Методи гідроекологічних досліджень поверхневих вод*. За ред. В.Д. Романенка. К.: ЛОГОС, 2006. С. 361—385.
7. РД-118-02-90. Методическое руководство по биотестированию воды. Под ред. А.Н. Крайнюковой. М., 1991. 48 с.
8. Фомин Г.С. Вода. Контроль химической, бактериальной и радиационной безопасности по международным стандартам. Энциклопедический справочник. М., 2000. 848 с.
9. Хоффман М., Раков В.И. Исследование чувствительности *Ceriodaphnia affinis* Lill. к водопроводной воде в г. Киеве. *Гидробиол. журн.* 2003. Т. 39, № 4. С. 82—90.
10. Alekseev V., Lampert W. Maternal control of resting-egg production in *Daphnia*. *Nature*. 2001. Vol. 414. P. 899—901.
11. Bodnar O.I., Viniarska H.B., Vasilenko O.V., Grubinko V.V. Pigment content of *Chlorella vulgaris* Beij. under influence of sodium selenite and metals ions. *Biotechnologia Acta*. 2016. Vol. 9, N 1. P. 71—78.
12. EPA-821-R-02-012. Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to fresh water and marine organisms. Washington, 2002. 275 p.
13. Jeremias G., Barbosa J., Marques S.M. et al. Transgenerational inheritance of DNA hypomethylation in *Daphnia magna* in response to salinity stress. *Environmental Science & Technology*. 2018. Vol. 52. Iss. 17. P. 10114—10123.
14. Romanenko V.D., Goncharova M.T., Konovets I.M. et al. Method of complex assessment of the bottom sediments toxicity using benthic and planktonic organisms. *Hydrobiol. J.* 2012. Vol. 48, N 2. P. 30—39.
15. Ortiz-Rodríguez R., Dao T.S., Wiegand C. Transgenerational effects of microcystin-LR on *Daphnia magna*. *J. Exp. Biol.* 2012. Vol. 215. P. 2795—2805.
16. Parlato B.P., Kopp R. Adaptive tolerance to sodium chloride in *Daphnia magna*. *Kentucky Journal of Undergraduate Scholarship*. 2020. Vol. 4. Iss. 1. Article 2.
17. Report EPS 1/RM/21. Biological test method: test of reproduction and survival using the cladoceran *Ceriodaphnia dubia*. Ottawa, 1992. 100 p.
18. Venuncio C., Ribeiro R., Soares A.M.V.M., Lopes I. Multigenerational effects of salinity in six clonal lineages of *Daphnia longispina*. *Science of the Total Environment*. 2018. Vol. 619—620. P. 194—202.

Надійшла 17.02.2020

*I.M. Konovets*, PhD (Biol.), Senior Researcher, Head of Lab.,  
Institute of Hydrobiology of the NAS of Ukraine,  
12 Geroyiv Stalingrada Ave., Kyiv, 04210, Ukraine,  
e-mail: i.m.konovets@gmail.com  
ORCID 0000-0003-4234-5026

*M.T. Goncharova*, PhD (Biol.), Senior Researcher,  
Institute of Hydrobiology of the NAS of Ukraine,  
12 Geroyiv Stalingrada Ave., Kyiv, 04210, Ukraine,  
e-mail: mariyagonch83@gmail.com  
ORCID 0000-0003-3891-4572

*L.S. Kipnis*, PhD (Biol.), Senior Researcher,  
Institute of Hydrobiology of the NAS of Ukraine,  
12 Geroyiv Stalingrada Ave., Kyiv, 04210, Ukraine,  
e-mail: ecos\_inhydro@ukr.net  
ORCID 0000-0002-4008-5120

*M.G. Mardarevich*, PhD (Biol.), Researcher,  
Institute of Hydrobiology of the NAS of Ukraine,  
12 Geroyiv Stalingrada Ave., Kyiv, 04210, Ukraine,  
e-mail: m\_miroslaw@yahoo.com  
ORCID 0000-0002-1553-5468

#### NATURAL MINERAL WATERS AS A MEDIUM FOR MAINTENANCE OF STOCK CULTURES OF *DAPHNIA MAGNA* STRAUS FOR BIOASSAYS

The possibility of using of bottled natural mineral waters as a media for maintenance of a highly sensitive test-culture of *Daphnia magna* Straus as an alternative to the reconstituted water has been investigated. The media under study varied in mineralization in the range of 123—2992 mg/l, concentration of  $\text{Cl}^-$  11—1390 mg/l,  $\text{SO}_4^{2-}$  — 0,2—182 mg/l, and water hardness 1,8—3,2 mg-eq/l (90—160 mg/l  $\text{CaCO}_3$ ). The highest fertility rates (135—140 juveniles per female, 21 d) were obtained with media characterized by total mineralization in the range of 100—800 mg/l and  $\text{Cl}^-$  concentration 10—25 mg/l. Under these conditions, daphnia newborns showed a high sensitivity of to the reference toxicant ( $\text{LC}_{50}^{24}$  1,0—1,2 mg/l  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ), which was satisfactory to the method validation criteria. In the media, in which mineralization and  $\text{Cl}^-$  concentration exceeded 1600 and 200 mg/l respectively, fertility rates did not reach acceptable levels. Nonetheless, increasing of productivity indexes after adaptation of animals during three parthenogenetic generations to these conditions was found. This indicates the high ecological plasticity of *D. magna*, which can be used to create and maintain cultures for biotesting of waters with a wide range of hydrochemical properties.

Thus, if source of water of appropriate quality is inaccessible, highly sensitive culture of *D. magna* can be maintained using media prepared of natural mineral water possessed suitable composition. It can be used as an alternative to the synthetic media and might improve the intra- and interlaboratory reproducibility of native bioassay data.

**Keywords:** stock culture, *Daphnia magna*, cultivation media, bioassays, sensitivity, mineral waters, adaptive potential.