ЭМБРИОТОКСИЧНОСТЬ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ ПОСЛЕ ИХ ЭЛЕКТРОЛИЗА

Шикунец Алексей Борисович, магистрант, Штепа Владимир Николаевич, д.т.н., доцент, Каспирович Дмитрий Анатольевич, к.с/х.н., доцент Полесский государственный университет Shikunets Aleksei Borisovich, postgraduate, Shtepa Vladimir Nikolayevich, Dr., Kaspirovich Dmitry Anatol'evich, PhD Polessky State University, tppoless@gmail.com

Оценено влияние различых электролитически обработанных водных растворов на эмбрионы Danio rerio. Полученные результаты могут улучшить условия инкубации икры в индустриальном рыбоводстве. Сделаны выводы об электролизной интенсификации процессов инкубации в индустриальном рыбоводстве.

Ключевые слова: Danio Rerio, эмбрионы, выживаемость, активность, электролиз, католит, анолит.

По данным FAO, несмотря на достигнутые в предыдущие годы значительные успехи, работа, направленная на ликвидацию голода и неполноценного питания во всех его формах к 2030 году, ведется с отставанием. Сегодня в мире насчитывается 811 млн. голодающих, и еще три миллиарда человек не могут позволить себе здоровое питание. На этом фоне назрела насущная необходимость преобразования агропромышленных систем для обеспечения продовольственной безопасности, и обеспечения растущего населения финансово доступным, здоровым питанием, сохраняя при этом источники средств к существованию и природные ресурсы. В мире все больше признаётся важнейшая роль пищевой продукции из водных биоресурсов в этом вопросе [1].

Также подпрограммой развития рыбохозяйстенной деятельности в рамках госпрограммы развития аграрного бизнеса Беларуси на 2021-2025 годы запланировано увеличение производства рыбной продукции. Для развития рыбного хозяйства и аквакультуры в нашей стране обосновано внедрение в данные сферы новых технологических направлений, в том числе и технологий замкнутого водоснабжений (УЗВ) [2].

При этом одним из важнейших этапов выращивания рыбы в индустриальном рыбоводстве является период инкубации икры. Именно в момент эмбрионального развития гидробионты наиболее подвержены воздействию всевозможных показателей внешней среды, так как непосредственно в это время происходит формирование всех систем организма [3]. Состояние водных растворов, в которых происходит инкубация, является одним из основных факторов, обуславливающих выживаемость и дальнейшее развитие эмбрионов. Соответственно, необходимо использовать современные эффективные подходы при обработке воды. Одним из таких способов является использование электролизных технологий [4-6].

Однако, различные виды растворов, обработанных с его помощью, по-разному воздействуют на живые организмы и могут оказывать как положительный, так и отрицательный эффект в зависимости от основных характеризующих их показателей – ОВП и рН.

Несмотря на определённое разнообразие работ в данной области, исследования не выполнялись для эмбриональных стадий развития живых организмов, и рыб в частности, что не позволяет судить о перспективах использования электролизной обработки воды в ходе инкубации икры. Поэтому целью изысканий является оценка эмбриотоксического эффекта электролитически обработанных водных растворов на *Danio rerio*, как одном из популярных модельных объектов в области токсикологических и эмбриологических исследований [7].

Работы выполнялись на базе кафедры ихтиологии и рыбоводства БГСХА в 2022 году, в учебной лаборатории проведения экспериментов по аквакультуре in vivo. В качестве объекта исследований использовали *Danio rerio* на стадии икры и свободного эмбриона, а также личинки, перешедшей на активное питание. В эксперименте для содержания модельного объекта готовили три вида растворов получаемых в результате электролитического воздействия на подготовленную скважинную воду: слабощелочной – католит, слабокислый – анолит, смесь анолита и католита в соотношении 1:1 (табл. 1). Обработка производилась с помощью специально собранной лабораторной модели электролизера, разделенного неактивной мембраной на катодную и анодную зоны с графитовыми электродами (рис.).

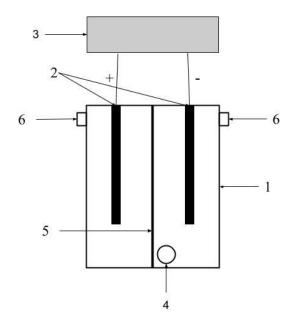


Рисунок – Схема лабораторной модели электролизер

- 1) электролизная ячейка; 2) электроды; 3) источник питания; 4) кран для подачи воды;
- 5) мембрана; 6) отверстия для отвода католита и анолита

Таблица 1. – Показатели исследуемых растворов

Раствор/Показатель	ОВП, мВ	TDS, ppm	рН, ед. рН
Контроль	65,3±10,20	232±8,75	7,57±0,09
Католит	-47,0±6,54	247±13,56	8,60±0,10
Анолит	60,8±9,07	241±9,18	7,15±0,02
Смешанный раствор	18,3±2,86	244±8,84	7,69±0,05

Эмбрионы инкубировали в стандартном 96 луночном планшете для ИФА-анализов с круглыми лунками, в каждую лунку которого помещали по 1 личинке *Danio rerio*. Температура инкубации эмбрионов составляла +28°C. Были сформированы 4 группы эмбрионов в 2 повторностях, в каждой группе по 8 особей. После внесения электролитически обработанных растворов в лунки планшета, ежедневно регистрировали выживаемость эмбрионов.

Спустя 144 часа после начала эксперимента выполняли тестирование подвижности эмбрионов в LMR тесте (locomotor response) в том же 96 луночном планшете для ИФА. Запись движения эмбрионов осуществляли при помощи камеры Basler, снабженной инфракрасным фильтром при использовании ПО pylon Viewer с дальнейшим анализом траекторий движения в ПО EthoVision XT (Noldus) в режиме DanioVision.

В результате проведенных исследований установлено, что различные электролитически обработанные растворы преимущественно не оказывают острого токсического эффекта на эмбрионы и личинки Danio Rerio в условия in vivo.

Исследования подвижности свободных эмбрионов в LMR тесте установили достоверное повышение средней скорости движения (таблица 2) и общего проплываемого расстояния (таблица 3) в анолите и смешанном растворе. В католите было определено лишь незначительное снижение активности на свету по отношению к контрольной группе, которое, однако, по результатам однофакторного дисперсионного анализа, не является статистически значимым.

В анолите наблюдается значительное повышение скорости движения эмбрионов, превышающее таковые значения в контроле во время световой и темновой фазы исследования в 2,2 и 2,8 раза соответственно, это может говорить о наличии токсического эффекта данного раствора.

Влияние смешанного раствора анолита и католита на исследуемый показатель также являлось статистически значимым, однако превышало аналогичный показатель в контроле в меньшей степени, нежели в анолите.

Таблица 2. – Средние значения скорости эмбрионов для разных фаз LMR теста

Группа/Средняя скорость для разных фаз LMR	Свет, мм/с	Темнота, мм/с
Контроль	0,280±0,012	0,283±0,031
Католит	0,235±0,012	0,304±0,031
Анолит	0,619±0,022	$0,796\pm0,043$
Смешанный раствор	0,435±0,014	0,388±0,031

Аналогичная ситуация наблюдалась также при измерении общего проплытого личинками расстояния. Повышение данного показателя наблюдалось в анолите и смешанном растворе, в католите статистически значимых отличий от контроля выявлено не было.

Таблица 3. – Средние значения проплытого эмбрионами расстояния для разных фаз LMR теста

	Средние значения проплытого расстояния для разных фаз LMR	
Группа	Свет, мм	Темнота, мм
Контроль	4,212±0,012	4,250±0,462
Католит	3,577±0,188	4,564±0,462
Анолит	9,284±0,329	11,939±0,651
Смешанный раствор	6,530±0,212	5,821±0,459

Следующий шаго, с целью исследования жизнестойкости личинок – они помещались в растворы электролитов, где содержались без подмены воды, аэрации, а также в отсутствии кормления. Личинки, содержащиеся в католите показали самые высокие результаты выживаемости относительно остальных групп (таблица 3). Для анолита же данный показатель оказался самым низким, что также позволяет судить о наличии некоторого эмбриотоксического влияния раствора анолита.

Таблица 4. – Выживаемость эмбрионов на 7 день теста на жизнестойкость

Группа/Параметр	Выживаемость, %
Контроль	40
Католит	70
Анолит	25
Смешанный	50

Анализ вышеописанных результатов позволяет судить о том, что раздражающим и эмбриотоксическим эффектом обладает анолит, а также, в меньшей степени, смешанный раствор анолита и католита. Так анолит вызывает значительное повышение активности личинок в ходе LMR теста. Влияние смеси на скорость движения и пройденное расстояние является статистически значимым, однако тест на жизнестойкость показал некоторое повышение выживаемости личинок Danio rerio в данном растворе. Католит не имеет влияния на показатели скорости движения личинок, а также пройденного ими расстояния в LMR тесте, однако повышает их жизнестойкость, что говорит о перспективности использования данного раствора

Список использованных источников

- 1. Food and Agriculture Organization of the United Nations [Электронный ресурс]. -Режим доступа: http://www.fao.org Дата доступа: 10.02.2023.
- 2. Лиман, М.С Влияние оптического излучения низкой интенсивности на эмбрионы и личинки радужной форели / М. С. Лиман, Н.В. Барулин // Ученые записки Петрозаводского государственного университета. -2018. -№3 (172). С. 72-80.
- 3. Влияние нарушений условий инкубации икры на выживаемость и генетический полиморфизм личинок русского осетра (Acipenser guldenstadtii Brandt) / А. С. Мамонова, [и др.] // Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство. − 2015. №4. − С. 77-86.
- 4. Схема и описание работы аквапонной системы с комбинацией биологических и AOPs способов очистки воды / В.Н. Штепа [и др.] // Актуальные проблемы и тенденции развития науки, образования и производства в условиях цифровизации экономики : материалы Международной научно-практической конференции, Минск, 7 октября 2022 г.: сборник докладов / Республиканский институт профессионального образования; под общ. ред. В.Н. Голубовского. Минск : РИПО, 2022. С. 92-94.
- 5. Штепа, В.Н. Оценка экономической эффективности электротехнологической интенсификации анаэробной утилизации отходов индустриальной аквакультуры / В.Н. Штепа, А.Б. Шикунец // Агропанорама: научно-технический журнал. 2022. № 5. С. 39-44.
- 6. Оценка эффективности параметров безреагентной электролизной очистки сточных вод от азотсодержащих соединений / В. Н. Штепа [и др.] // Гальванотехника и обработка поверхности : научный журнал. -2022. Том 30, № 4. С. 48-56.
- 7. Danio rerio (Zebrafish) как универсальный модельный объект в доклинических исследованиях / Д. А. Качанов [и др.] // FORCIPE. 2018. Т. 1, №1. С. 49-54.