

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛЕТАЛЬНОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ДИХРОМАТА КАЛИЯ НА МОЛОДИ АФРИКАНСКОГО КЛАРИЕВОГО СОМА

Климук Анастасия Алексеевна, младший научный сотрудник «Центра Аквакультуры», ФГБОУ ВО МГУТУ имени К. Г. Разумовского (ПКУ)

Калита Татьяна Львовна, и.о. заведующего кафедры Биологии и биоинформатики ФБиРХ ФГБОУ ВО МГУТУ имени К. Г. Разумовского (ПКУ)

Семеряков Юлий Васильевич, аспирант 1 года обучения, ФГБОУ ВО МГУТУ имени К. Г. Разумовского (ПКУ)

Аннотация. Проведен эксперимент по установлению острой и безвредной концентрации дихромата калия на молоди *Clarias gariepinus* методом кратковременного биотестирования в течение 96 часов. Определено значение летальной концентрации (LK_{50}^{96}), которое составило 5,85 мг/л; и безвредной концентрации (BK_{10}^{96}) токсиканта - 1 мг/л.

Ключевые слова: бихромат калия, летальная концентрация, безвредная концентрация, выживаемость, Африканский клариевый сом.

Введение. Определение летальной концентрации (ЛК) веществ в водной среде относится к фундаментальным исследованиям в области гидроэкотоксикологии [1]. В частности, анализ ЛК различных металлов в водной среде помогает прогнозировать и предотвращать их дальнейшую кумуляцию в пищевых цепях гидробиоценозов. Модельным токсикантом для определения чувствительности организмов при биотестировании является дихромат калия ($K_2Cr_2O_7$) - токсичный промышленный загрязнитель, канцероген, обладающий мутагенными и тератогенными свойствами 1 класса опасности, предельно допустимые концентрации (ПДК) которого в воде рыбохозяйственного назначения в РФ составляют 0.05 мг/л [2]. Обычно оценка его воздействия производится на: одноклеточных водорослях, высших водных растениях, простейших, зоопланктонных ракообразных, бентосных организмах, эмбрионах, личинках, мальках и взрослых рыбах (например, на *Brachydanio rerio*, *Nothobranchius rachovi*) [3].

Сейчас перспективным объектом аквакультуры в России является Африканский клариевый сом *Clarias gariepinus*, являющийся тест объектом для определения ЛК пестицидов (диализол), гербицидов (глифосат и паракват) и тяжелых металлов (свинец, медь, цинк, хром) в Египте, Нигерии и других странах Африки [4-7]. Использование клариевого сома для исследования токсичности ксенобиотиков требует поиска модельных токсикантов для их применения в качестве положительного контроля. Предполагается, что дихромат калия может быть использован в качестве модельного токсического соединения для определения чувствительности клариевого сома. Таким образом, целью настоящей работы было определение летальной (LK_{50}^{96}) и безвредной (BK_{10}^{96}) концентраций дихромата калия для молоди *C. gariepinus*.

Материалы и методы. *Объектом исследования* являлась молодь Африканского клариевого сома в возрасте 2 мес., весом 5 ± 0.62 г и длиной 8.3 ± 0.52 см. Исследования проводились на уникальной научной установке (УНУ) НТИРФ Рег №3662433 «Научно-исследовательский комплекс передовых технологий аквакультуры и гидроэкологии» в экспериментальной лаборатории «Фитоэкологических аквабиотехнологий» факультета биотехнологий и рыбного хозяйства МГУТУ им. Разумовского (ПКУ). В качестве *токсиканта* был использован дихромат калия (potassium dichromate, $K_2Cr_2O_7$, ГОСТ 2652-78, хч) производства России.

Схема эксперимента. Острую токсичность дихромата калия определяли согласно методике Бубнова с коллегами [8]. Для определения ЛК и БК брали 33 стеклянных аквариума, объемом 40 л ($55.5 \times 25.5 \times 31.5$ см) с концентрациями дихромата калия 0 (контроль), 0,25, 0,5, 0,75, 1, 2, 4, 6, 8, 10 и 12 мг/л в трехкратной повторности. В каждом аквариуме было по 20 рыб. Длительность эксперимента составила 96 часов (4 суток) без кормления рыб; рН 7.1, температура 26-28°C, фотопериод L:D=12:12.

Статистическая обработка и графическое представление полученных данных производилась с использованием GraphPad Prism 9.0 (GraphPad, San Diego, CA, USA). Определение нормальности распределения численных данных осуществлялось при помощи теста Колмогорова–Смирнова. Расчет летальной концентрации дихромата калия выполнен с помощью логарифмического регрессионного анализа.

Результаты и обсуждение. *Определение летальной и безвредной концентрации дихромата калия в остром опыте.* Единовременное воздействие дихромата калия на организм молоди сомов в концентрациях до 5 мг/л не привело к 50% гибели особей за краткосрочный период опыта (96 ч). При этом, была определена безвредная концентрация дихромата калия, вызывающая смертность не более 10% особей, которая составляет 1 мг/л (таблица). На основании логарифмированного регрессионного анализа было рассчитано среднее значение 96-часовой ЛК₅₀ дихромата калия для молоди африканского сома, которое составило в среднем 5,85 мг/л ($R^2=0,97$) с нижним и верхним доверительными пределами 5,12 и 6,52 мг/л, соответственно (рисунок).

Таблица 1

Выживаемость молоди Африканского сома в растворе дихромата калия различных концентраций

Концентрация вещества, мг/л	Продолжительность экспозиции, ч	Количество выживших рыб, шт			Средняя смертность рыб в опыте, %	ЛК ₅₀ ⁹⁶	ЛК ₁₀ ⁹⁶
		№1	№2	№3			
0	96	20	20	20	0	85 мг/л	мг/л
0,25		20	19	20	1,7±2,8		
0,5		19	19	18	6,7±2,9		
0,75		19	18	18	8,3±2,9		
1		17	18	19	10±5		
2		16	17	18	15±5		
4		16	14	13	28,3±7,6		
6		11	12	11	43,3±2,9		
8		9	8	4	65±13,2		
10		0	0	0	100		
12		0	0	0	100		

Согласно литературным данным, клариевые сомы разного возраста и массы обладают различной устойчивостью к тяжелым металлам в водной среде. Например, определение ЛК₅₀⁹⁶ свинца и смеси металлов (свинец, медь и цинк) на молоди *Clarias gariepinus* весом 45,0±2,0 гр. составило 11,49 и 0,71 мг/л соответственно [6].

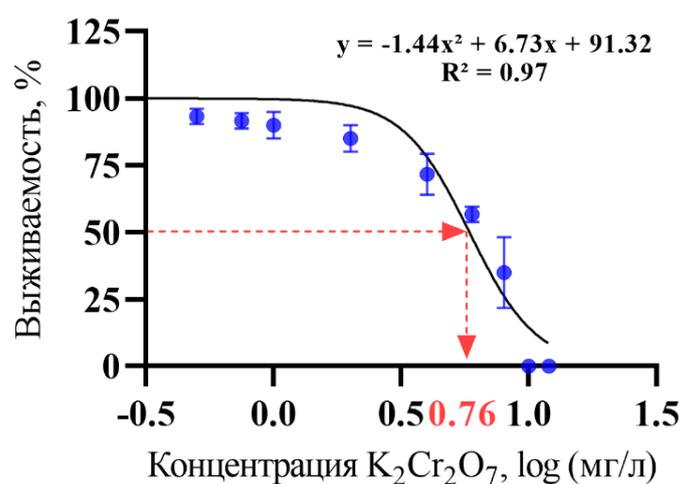


Рисунок 1 – Влияние концентрации дихромата калия на выживаемость сомов за 96 ч экспозиции

Сравнение чувствительности и выживаемости рыб к воздействию хрома в воде показало, что наиболее устойчивым видом является *Gambusia affinis* средней массой 1,25±0,5 г., ЛК₅₀⁹⁶ составила 151,95 мг/л [9]. Сопоставимые результаты наблюдались у рыб *Labeo rohita* (2-3 г) [10], *Heteropneustes fossilis*

(50-60 г) [10] и *Pangasianodon hypophthalmus* (11,48±1,67 г) [11], ЛК которых были равны 30,36 мг/л, 33,39 мг/л и 32,47 мг/л соответственно. При этом, размерно-массовые характеристики этих рыб значительно варьировались. *Clarias gariepinus*, массой 11,0±1,0 г., был более устойчив к оксиду хрома (ЛК₅₀⁹⁶ 61,68 мг/л) [7], по сравнению с ЛК в нашем опыте, по результатам которого сомы массой 5,0±0,62 г. имели 50% гибель при концентрации дихромата калия 5,85 мг/л. Полученные нами данные свидетельствуют об устойчивости клариевого сома к неблагоприятному воздействию хрома (Cr) в зависимости от массы и возраста тест-объектов.

Таким образом, в настоящем исследовании значение ЛК₅₀⁹⁶ хрома для молоди Африканского сома составило 5,85 мг/л, что значительно меньше, чем в исследованиях чувствительности *C. gariepinus* других авторов. Мы полагаем, что это может быть связано с возрастом и массой сомов [12], поэтому определение ЛК и БК дихромата калия на взрослых особях *C. gariepinus* требуют дальнейшего изучения.

Основные выводы:

1. Расчетная летальная концентрация (ЛК₅₀⁹⁶) дихромата калия K₂Cr₂O₇ для молоди Африканского сома составляет 5,85 мг/л.
2. Безвредная концентрация (БК₁₀⁹⁶) K₂Cr₂O₇ для молоди сома составляет 1 мг/л.
3. Использование молоди Африканского клариевого сома в качестве модельного тест-организма является целесообразным, так как особи массой 5,0±0,62 обладают большей чувствительностью к дихромату калия по сравнению с более крупными сомами этого вида и другими модельными лабораторными рыбами.

Библиографический список

1. Моисеенко Т. И. Водная экотоксикология: теоретические принципы и практическое приложение // Водные ресурсы. – 2008. – Т. 35. – №. 5. – С. 554-565.
2. Приказ Министерства сельского хозяйства "Об утверждении нормативов качества воды, водных объектов рыбохозяйственного значения, в том числе нормативов предельно допустимых концентраций вредных веществ в водах, водных объектов рыбохозяйственного значения" от 13.12.2016 № 552 // Официальный интернет-портал правовой информации. - с изм. и допол. в ред. от 10.03.2020.
3. Приказ Федерального агентства по рыболовству от 04.08.2009 г. № 695 «Об утверждении методических указаний по разработке нормативов качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения, в том числе нормативов предельно допустимых концентраций вредных веществ в водах водных объектов рыбохозяйственного значения» // Бюллетень нормативных актов федеральных органов исполнительной власти. 2009. № 43.
4. Adedeji, O.B., Adeyemo, O.K., Agbede, S.A., 2009. Effects of diazinon on blood parameters in the African catfish (*Clarias gariepinus*). Afr. J. Biotechnol. 8

(16), 3940–3946.

5. Ayanda O. I., Tolulope A., Oniye S. J. Mutagenicity and genotoxicity in juvenile African catfish, *Clarias gariepinus* exposed to formulations of glyphosate and paraquat // *Science Progress*. – 2021. – Т. 104. – №. 2.

6. George O.O., Amaeze N.H., Babatunde E., Otitolaju A.A. Genotoxic, histopathological and oxidative stress responses in catfish, *Clarias gariepinus*, exposed to two antifouling paints // *Journal of Health and Pollution*. – 2017. – Т. 7. – №. 16. – С. 71-82.

7. Fagbenro O. S., Alimba C. G., Bakare A. A. Experimental modeling of the acute toxicity and cytogenotoxic fate of composite mixtures of chromate, copper and arsenate oxides associated with CCA preservative using *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) // *Environmental Analysis, Health and Toxicology*. – 2019. – Т. 34. – №. 3.

8. Бубнов А. Г., Буймова, С. А., Гущин, А. А., Извекова, Т. В. Биотестовый анализ-интегральный метод оценки качества объектов окружающей среды: учебно-методическое пособие // *Иваново: ГОУ ВПО Иван. гос. хим.-технол. ун.* – 2007. – Т. 2007. – С. 112.

9. Begum G., Venkateswara Rao J., Srikanth K. Oxidative stress and changes in locomotor behavior and gill morphology of *Gambusia affinis* exposed to chromium // *Toxicological & Environmental Chemistry*. – 2006. – Т. 88. – №. 2. – С. 355-365.

10. Bakshi A., Panigrahi A. K. A comprehensive review on chromium induced alterations in fresh water fishes // *Toxicology reports*. – 2018. – Т. 5. – С. 440-447.

11. Islam S. M. M. et al. Acute effects of chromium on hemato-biochemical parameters and morphology of erythrocytes in striped catfish *Pangasianodon hypophthalmus* // *Toxicology Reports*. – 2020. – Т. 7. – С. 664-670.

12. Van der Putte I., Lubbers J., Kolar Z. Effect of pH on uptake, tissue distribution and retention of hexavalent chromium in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) // *Aquatic Toxicology*. – 1981. – Т. 1. – №. 1. – С. 3-18.