

Влияние стронция на половозрелую молодь *Danio rerio*

Э.В. Бабаева*, М.А. Федорова, С.В. Губайдулина, В.С. Фролова,
А.Г. Тригуб, М.В. Медянкина

ФГБОУ ВО «Московский государственный Университет
Технологий и Управления имени К.Г. Разумовского (ПКУ)»,

119049, г. Москва, ул. Шаболовская 14, ст.9, Российская Федерация

*Адрес для переписки: 79263841762@ya.ru

Аннотация. В настоящей статье приведены результаты экспериментальных исследований оценки воздействия стронция на функционирование организма половозрелой молодки *Danio rerio*. Проведено определение недействующей, пороговой и максимальной концентрации стронция, параметров токсичности и степени токсичности. Для половозрелой молодки *D. rerio* максимально допустимая¹⁾ (недействующая) концентрация стронция по показателю выживаемости составила 25.0 мг/л, пороговая²⁾ (при которой было достоверно отмечено воздействие) концентрация – 50.0 мг/л. По результатам гематологического анализа, можно заключить, что недействующая концентрация стронция для *D. rerio* составляет 10.0 мг/л.

Ключевые слова. Стронций, токсичность, гидробионты, выживаемость, гематологический анализ, гистологический анализ.

The effect of strontium on mature juveniles *Danio rerio*

E.V. Babaeva*, M.A. Fedorova, S.V. Gubaidullina, V.S. Frolova,
A.G. Tregub, M.V. Medyankina

Razumovsky Moscow State University of Technology and Management (MCU),
Moscow, 14, Shabolovskaya St., station 9, Russian Federation

*Correspondence address: 79263841762@ya.ru

Abstract. This article presents the results of experimental studies valuating the effects of strontium on the functioning of mature *D. rerio* juveniles. The inactive, the shold, and maximum strontium concentrations, to xicity parameters, and degree of acutetoxicity were determined. As aresult of the conductedre search, data on the effect of strontium on hydrobionts of various strophicunits were obtained. Formature *D. rerio*, the survival rate at the maximum allowable strontium

¹⁾максимально допустимая концентрация вещества в воде – это концентрация, при которой в одном объекте не возникают последствия, снижающие его рыбохозяйственную ценность (в ближайшее время и в перспективе) или затрудняющие его рыбохозяйственное использование при постоянстве этой концентрации в воде водного объекта.

²⁾пороговая концентрация – минимальная концентрация вещества, вызывающая достоверные изменения в организме.

concentration was 25.0 mg/l, at the threshold concentration – 50.0 mg/l. According to the results of hematology calanalysis, it can be concluded that the inactive strontium concentration for *D. Reriois* 10.0 mg/l.

Keywords. Strontium, toxicity, hydrobionts, survival, hematological analysis, histological analysis.

Введение

Стронций является постоянным компонентом гидросферы Земли. Поведение стронция в водной среде зависит от множества факторов. Первостепенное значение имеет его содержание в породах и почвах водосборного бассейна, либо водовмещающих породах (для подземных и грунтовых вод) (Мур, 1987). Изучение содержания стронция в почвенной и грунтовой воде показало, что содержание стронция в природной воде последовательно увеличивается в ряду: атмосферные осадки («следовые» количества стронция), вода поверхностного стока (2.5 мг/дм³), почвенная вода (7 мг/дм³), озёрная вода (23 мг/дм³) (Власов, 1973). В воде рек находится меньше 10-5% этого элемента (0.1 мг/дм³) (Виноградов, 1957).

Источниками стронция в природных водах являются горные породы, наибольшие количества его содержат гипсоносные отложения. Низкая концентрация стронция в природных водах объясняется слабой растворимостью их сернокислых соединений (растворимость SrSO₄ при 18°C составляет 114 мг/дм³). В пресных водах концентрация стронция обычно намного ниже 1 мг/дм³ и выражается в микрограммах на литр. Встречаются районы с повышенной концентрацией этого иона в водах. Подземные воды основное количество стронция получают из почвенных горизонтов в результате инфильтрации атмосферной влаги сквозь почвогрунты. В подземных водах биосферы содержание стронция в значительной мере контролируется их сульфатностью: в связи с низкой растворимостью целестина им бедны сульфатные воды. Наоборот, в подземных хлоридных водах условия для миграции стронция благоприятны в связи с отсутствием в них осадителя металла – сульфат-ионов SO₄²⁻. По этой причине глубинные хлоридные пластовые воды артезианских бассейнов часто обогащены стронцием. При тектонических поднятиях подобные воды по разломам местами поступают в верхние структурные этажи земной коры и смешиваются с сульфатными водами, где формируется сульфатный барьер, на котором вместе с гипсом осаждаются целестин (Перельман, 1982). Будучи близок к кальцию по химическим свойствам, стронций резко отличается от него по своему биологическому действию. Избыточное содержание этого элемента в природных водах вызывает "уровскую болезнь" у человека и животных (по названию реки Уров в Восточном Забайкалье) – поражение и деформацию суставов, задержку роста и др. Хроническое поступление стронция в водную среду вызывает накопление металлов в живых организмах и представляет для них серьезную опасность из-за выраженной способности этого токсичного элемента к накоплению в тканях, особенно костной. Стронций (Sr) представляет серьезную опасность для рыб

из-за его структурного сходства с кальцием (Ca), которое обуславливает способность Sr замещать Ca в костной и других тканях. Следствием этого является нарушение обмена кальция в организме, а также его участия в кальций-зависимых метаболических процессах.

Иностранцами учеными были проведены некоторые исследования (Pasqualetti, Banfi, Mariotti, 2013) по влиянию стронция на костные ткани рыб *D. rerio* с целью анализа возможности лечения болезней костей у человека препаратами, содержащими изотопы данного металла. Однако эффект, оказываемый стронцием на особей *D. rerio*, изучен недостаточно глубоко.

Цель настоящей работы – необходимость изучения влияния стронция на половозрелую молодь *D. rerio*. Для достижения цели были поставлены задачи: исследовать влияние стронция на качество воды, изучить влияние на представителей водной экосистемы – на чувствительные тест-объекты, прежде всего – на половозрелую молодь *D. rerio*, выявить лимитирующие звенья.

Материалы и методы исследования

Определение влияния вещества на взрослых рыб проводили на половозрелой молоди *D. rerio*. Хронические опыты продолжительностью 30 суток проводили в аквариумах объемом 5.0 л. Температура воды в течение всего исследования составляла 24.0-24.5°C. Периодичность освещенности составляла 12 часов – свет, 12 часов – без света. Для определения плотности посадки, был измерен вес рыб. Средний вес особи размером 2.4-2.6 см перед посадкой в опыт в среднем составлял 0.23 г.

По окончании опытов рассчитывали параметры хронической токсичности: выживаемость, нарушения покровов тела, а также изменения морфобиологических параметров. В хронических опытах изучали поведение и клиническую картину отравления рыб, гематологические, патологоанатомические и гистологические показатели.

Из гематологических показателей исследовали: количество эритроцитов и лейкоцитов, интенсивность кроветворения, морфологическую картину эритроцитов, лейкоцитарную формулу.

Кровь у рыб отбирали из хвостовой артерии на 30-е сутки опытов. Подсчет эритроцитов и лейкоцитов проводили счетным методом под микроскопом. Мазки фиксировались 96% этиловым спиртом. Окраску мазков проводили по Романовскому с добавлением фосфатного буфера, в соответствии с протоколом производителя (11 мл красителя и 0.4 мл концентрата буфера на 70 мл воды) в течение 30 минут. Затем смывали водой и высушивали на воздухе. Клетки изучали под иммерсией при увеличении $\times 630$ и $\times 900$ (микроскоп «Микмед-1»). Для определения интенсивности кроветворения на мазках крови, окрашенных по Паппенгейму, вычисляли процент незрелых форм эритроцитов. Лейкоциты идентифицированы согласно работам Н.Т. Ивановой (1983) и Т.П. Глаголевой (1985).

Отбор материала на гистологический анализ проводили в дни отбора проб на гематологические исследования от одних и тех же экземпляров рыб.

Патологоанатомические и гистологические исследования проводили по общепринятой в ихтиопатологии схеме. Перед взятием образцов тканей для каждой исследованной особи был проведен внешний осмотр: изменение внешних покровов, их цвет и блеск, наличие повреждений чешуи, состояние глаза, цвет жабр, состояние плавников и хвоста.

Затем произведено патологоанатомическое исследование с оценкой состояния внутренних органов. В результате исследования проведена сравнительная визуальная оценка жабр и печени у экспериментальных особей *D. rerio*, как при содержании в чистой воде, так и при различных концентрациях токсического вещества.

Для гистологического анализа от каждой особи было вырезано 2 образца ткани (жабры и печень). Фиксацию образцов в 4%-ном растворе формальдегида и гистологический анализ проводили согласно стандартным методикам (Роскин, Левинсон, 1957), модифицированным во ВНИРО (Микодина и др., 2009). Гистологическую проводку зафиксированного материала проводили через автомат карусельного типа STP-120 для последовательной дегидратации в спиртах восходящей концентрации (ксилоле и этаноле); заливку в парафин осуществляли на заливочной станции Thermo Fisher Scientific. Срезы толщиной 5 мкм получали на санном полуавтоматическом микротоме Microm и окрашивали готовой смесью гематоксилин-эозина по Эрлиху. Для фотографирования микропрепаратов в лабораторных условиях использовали микроскоп Olympus BX45 с цифровой видеокамерой Olympus DP25 и программу DC Viewer. Фотографии получали при увеличении окуляра 10× и объективов 20× и 40×. Все исследования проводили на фоне контроля в аналогичных условиях. На основании результатов исследований устанавливали пороговую и недействующую концентрации.

Результаты и обсуждение

Исследование влияния стронция в концентрациях от 10.0 до 150.0 мгSr/л на выживаемость взрослых особей рыб проводили на половозрелых особях данио (*D. rerio*). Продолжительность опыта составила 30 суток. Динамика выживаемости представлена в табл. 1.

Таблица 1. Влияние стронция на рыб при хроническом воздействии стронция

Table 1. Effect of strontium on fish under chronic exposure to strontium

Концентрация, мгSr/л	Объем выборки (особи), шт.	Выживаемость рыб			p	P*
		экз.	%	m		
Контроль	15	15	100	6.25	-	-
10	15	15	100	6.25	-	-
25	15	13	86.67	9.09	0.241	0.241
50	15	11	73.33	11.82	0.05	0.1
100	15	8	53.33	13.33	0.003	0.009
150	15	6	40	13.09	0	0.001

Примечание: жирным шрифтом выделены фактические значения критерия Стьюдента, которые выше статистических, что указывает на статистическую значимость выявленных различий между средними значениями показателя; *m* – доверительный интервал; *p* – значение точного теста Фишера; *P** – значение точного теста Фишера с поправкой Бонферрони-Холма

По результатам исследования хронического воздействия стронция в диапазоне исследуемых концентраций достоверное влияние на выживаемость выявлено в концентрациях от 50.0-100.0 мг/л.

Клинический и патологоанатомический анализ

Оценка влияния соединения стронция на ткани и органы данио была проведена с использованием визуального и гистологического методов. Исследования проводили на рыбах, выдержанных 30 суток в следующих концентрациях стронция: 10; 25; 50; 100 и 150 мг/л. Окраска тела данио из контроля и всего исследованного диапазона концентраций на 30 сутки нормальная, кожные покровы без нарушений. Вскрытие *D. rerio* из контроля эксперимента и концентраций 10-25 мг/л не выявило каких-либо визуально определяемых изменений в органах и тканях. У особей из концентрации 50 мг/л отмечено изменение цвета селезенки.

Гистологический анализ

В гистологической картине жабр из контроля и в концентрациях стронция от 25 до 150 мг/л отмечена гиперплазия респираторного эпителия и очаги фиброза (рис. 1).

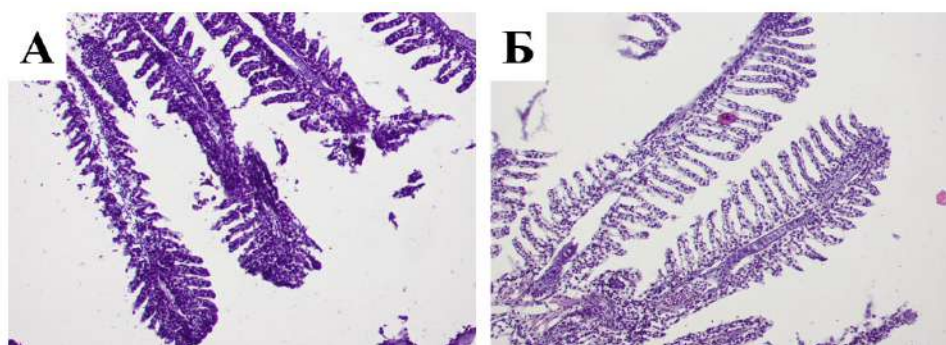


Рисунок 1. Гистологическая картина жабр: легкая гиперплазия и фиброз жаберного эпителия в концентрации 25 мг/л (А) и 150 мг/л (Б). Увеличение 10х×20х

Figure 1. Histological pattern of the gills: mild hyperplasia and fibrosis of the gill epithelium at a concentration of 25 mg/l (A) and 150 mg/l (B). Magnification 10x × 20x

В печени данио из контроля и концентраций 10 и 25 мг/л гистологическое строение в целом соответствовало норме. В органах рыб, выдержанных в концентрациях препарата от 50 до 150 мг/л присутствовала жировая дистрофия и очаги некроза (рис. 2).

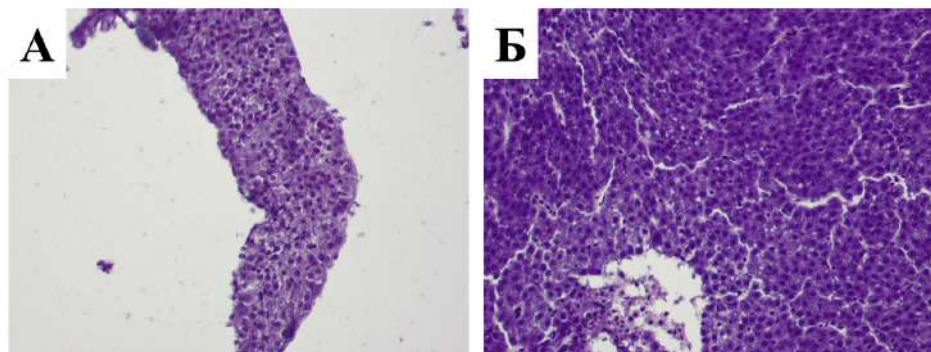


Рисунок 2. Гистологическая картина печени концентрации 25 мг/л (А) 100 мг/л (Б)
Увеличение 10х×40х

Figure 2. Liver histology 25 mg/L (A) 100 mg/L (B)
Increase 10х × 40х

Гематологический анализ

Для гематологического анализа кровь у *D. rerio* брали из хвостовой артерии. Определяли количество эритроцитов, интенсивность кроветворения, лейкоцитарную формулу, морфологическую картину эритроцитов. Подсчет эритроцитов осуществляли в камере Горяева. Клетки изучали под иммерсией при увеличении $\times 630$ и $\times 900$ (микроскоп «OLYMPUS»). Для определения интенсивности кроветворения на мазках крови, окрашенных по Романовскому-Гимза, вычисляли процент незрелых форм эритроцитов. Лейкоциты идентифицированы согласно работам Н.Т. Ивановой (1983) и Т.П. Глаголевой (1985). Исследования проводили на рыбах, выдержанных более 30 суток в следующих концентрациях стронция: 10; 25; 50; 100 и 150 мг/л. Проведенный гематологический анализ у *D. rerio* из контрольной группы показал обычное, нормальное состояние особей. Показатели периферической крови следующие: количество эритроцитов у контрольной группы составило 3.10 ± 0.06 млн/мм³ (табл. 2). При изучении мазков крови установлены: нормативная структура эритроцитов, интенсивность кроветворения и лейкоцитарная формула. Зрелые эритроциты эллипсоидной формы с округлым, слегка вытянутым ядром, повторяющим форму клетки. Окраска ядра фиолетовая, темная. Незрелые эритроциты (бластные формы) встречаются редко и составляют менее 1% от общего количества эритроцитов. Лейкоцитарная формула, так же, как и у других видов рыб носит лимфоидный характер – $91.17 \pm 0.88\%$, моноциты и нейтрофилы составляют 4.00 ± 0.58 и $4.83 \pm 0.33\%$, соответственно (контроль, табл. 3), однако доля лейкоцитов не так велика ($<95\%$), что объясняется видовыми особенностями исследуемых особей.

Таблица 2. Эритрограмма *D. rerio* после воздействия соединения стронция (в млн/мкл)

Table 2. Erythrogram of *D. rerio* after exposure to strontium compound (in ppm)

Показатель	Концентрация (млн/мкл)					
	Контроль	10	25	50	100	150
М ± m	3.10±0.06	3.09±0.04	2.89±0.09	2.87±0.08	2.83±0.05	2.71±0.20
% к контролю	-	99.57	93.23	92.58	91.29	87.42

М – среднее значение показателя, m – ошибка среднего

Таблица 3. Лейкоцитарная формула крови *D. rerio* после хронического воздействия соединений стронция

Table 3. Blood leukocyte formula *D. rerio* after chronic exposure to strontium compounds

Лейкоциты, %	Среднее, ош. среднего	Доля, %					
		Контроль	10	25	50	100	150
Лимфоциты	М	91.17	90.50	87.33	84.67	78.16	72.48
	±m	0.88	1.15	0.33	0.88	6.36	2.36
	% к контролю	-	99.27	95.79	92.87	85.74	79.50
Моноциты	М	4.00	4.00	5.00	5.33	6.99	8.67
	±m	0.58	0.58	0.00	0.88	1.07	1.86
	% к контролю	-	100.00	125.00	133.33	174.75	216.67
Нейтрофилы	М	4.83	5.50	7.67	10.00	12.03	13.17
	±m	0.33	1.73	0.33	1.53	1.08	5.78
	% к контролю	-	113.87	158.73	207.04	243.12	272.60

М – среднее значение показателя, m – ошибка среднего

Изучение статистически значимого количества полей зрения на мазках крови рыб, выдержанных в разных концентрациях (10-150 мгSr/л) (табл. 3) показало наличие серьезных отклонений от рыб контрольной группы при концентрациях выше 50 мг/л, по отношению к крови контрольной группы (табл. 3; рис. 3А). При концентрации токсиканта 10 мг/л и контроле изученные параметры находятся в пределах нормы для данного вида (Murtha et al., 2003), однако при больших концентрациях наблюдается увеличение доли моноцитов и нейтрофилов (табл. 3), что свидетельствует о сильной реакции организма на воздействие токсиканта, выражающееся, по-видимому, в возникновении очагов воспаления и дегенерации тканей.

Форма клеток и ядер эритроцитов, состояние цитоплазмы и другие цитологические характеристики, доступные для анализа при использовании световой микроскопии, в большинстве концентраций не отличаются от контроля. При концентрации 150 мг/л у 5-7% эритроцитов наблюдаются искажения формы клеток и более блеклая окраска ядра.

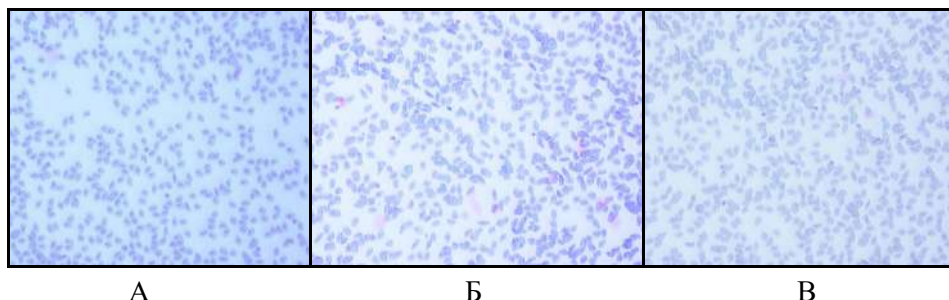


Рисунок 3. Мазки крови *D. rerio* (А – контроль; Б – исследуемая концентрация 25 мг/л; В – исследуемая концентрация 150 мг/л).

Figure 3. *D. rerio* blood smears (A, control; B – test concentration of 25 mg/l; B = test concentration of 150 mg/L).

Заключение

По результатам исследования был выявлен показатель выживаемости при воздействии стронция на половозрелую молодь рыб в хроническом воздействии: максимально допустимая концентрация (МДК) составила 25.0 мг/л, пороговая концентрация – 50 мг/л. По *клиническим и патологоанатомическим* показателям недействующая концентрация стронция для данио составила 25.0 мг/л. *Гистологический анализ* показал, что максимально возможная концентрация стронция для данио составляет 10 мг/л. При концентрации стронция 25.0 мг/л и более возникает гематологическая реакция на воздействие токсиканта. По результатам гематологического анализа, можно заключить, что недействующая концентрация стронция для *D. rerio* составляет 10.0 мг/л.

Полученные результаты можно использовать в дальнейшем для обоснования регионального норматива ПДК для вод с природными особенностями и для совершенствования методологии разработки региональных нормативов.

Список литературы

Виноградов, А.П. (1957) *Геохимия редких и рассеянных химических элементов в почвах*, М., Изд. АН СССР, 238 с.

Власов, М.А. и др. (1973) *Бор и стронций в почвенных и грунтовых водах и минеральных озерах соленакопления Восточной Сибири. Микроэлементы в биосфере и их применение в сельском хозяйстве и медицине Сибири и Дальнего Востока*, Улан-Удэ, с. 113-117.

Глаголева, Т.П. (1985) *Инструкция по клиническому анализу крови молоди лососевых рыб в условиях рыбоводных хозяйств с целью оценки их физиологического состояния и дифференциальной диагностики заболеваний*, Рига, Изд-во БалтНИИРХ, 48 с.

Иванова, Н.Т. (1983) *Атлас клеток крови рыб*, М., Лег. и пищ. пром-сть, 184 с.

Микодина, Е.В., Седова, М.А., Чмилевский, Д.А., Микулин, А.Е., Пьянова, С.В., Полуэктова, О.Г. (2009) *Гистология для ихтиологов, опыт и советы*, М., ВНИРО, 112 с.

Мур, Дж.В. (1987) *Тяжелые металлы в природных водах*, М., Мир, 488 с.

Перельман, А.И. (1982) *Геохимия природных вод*, М., Наука, 154 р.

Роскин, Г.И., Левинсон, Л.Б. (1957) *Микроскопическая техника*, М., Советская наука, 467 с.

Murtha, Jill, M., Evan, T. Keller. *Characterization of the heat shock response in mature zebrafish (Danio rerio)*, электронный ресурс, URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12814804/> (Дата обращения: 07.10.2024)

Sara Pasqualetti, Giuseppe Banfi, Massimo Mariotti, University of Milan, Italy. *The effects of strontium on skeletal development in zebrafish embryo*, электронный ресурс, URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0946672X13000928?via%3DiDu> (Дата обращения: 07.10.2024).

References

Vinogradov, A.P. (1957) *Geohimiya redkih I rasseyannykh himicheskikh elementov v pochvakh* [Geochemistry of rare and dispersed chemical elements in soils], М., Izd. AN SSSR, Moscow, Russia, 238 p.

Vlasov, M.A. i dr. (1973) *Bor i stroncij v pochvennykh I gruntovykh vodakh I mineral'nykh ozerakh solenakopleniya Vostochnoj Sibiri, Mikroelementy v biosfere I ih primeneniye v sel'skom hozyajstve i medicine Sibiri I Dal'nego Vostoka* [Boron and strontium in soil and groundwater and mineral lakes of the salt accumulation of Eastern Siberia. Microelements in the biosphere and their application in agriculture and medicine in Siberia and the Far East], Ulan-Ude, Russia, pp. 113-117.

Glagoleva, T.P. (1985) *Instrukciya po klinicheskomu analizu krovimolodilososevyhryb v usloviyakh rybovodnykh hozyajstv s cel'yu ocenki ih fiziologicheskogo sostoyaniyai differencial'noj diagnostic izabolevanij* [Instructions for clinical blood analysis of juvenile salmon fish in the conditions of fish farms in order to assess their physiological state and differential diagnosis of diseases], Riga, Izd-vo Balt NIIRH, Russia, 48 p.

Ivanova, N.T. (1983) *Atlas kletok krvi ryb* [Atlas of fish blood cells], Leg. I pishch. prom-st', Moscow, Russia, 184 p.

Mikodina, E.V., Sedova, M.A., Chmylevskij, D.A., Mikulin, A.E., P'yanova, S.V., Poluektova, O.G. (2009) *Gistologiya dlya ihtiologov, opytisovety* [Histology for ichthyologists, experience and advice], VNIRO, Moscow, Russia, 112 p.

Mur Dzh. V. (1987) *Tyazhelyemetally v prirodnykh vodakh* [Heavy metals in natural waters], Mir, Moscow, Russia, 488 p.

Perel'man, A.I. (1982) *Geohimiya prirodnih vod* [Natural water geochemistry], Nauka, Moscow, Russia, 154 p.

Roskin, G.I., Levinson, L.B. (1957) *Mikroskopicheskaya tekhnika* [Microscopic technique], Sovetskaya nauka, Moscow, Russia, 467 p.

Murtha, Jill, M, Evan, T. Keller. *Characterization of the heat shock response in mature zebrafish* (*Danio rerio*, elektronnyj resurs, URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12814804/>) (Data obrashcheniya: 07.10.2024).

Sara Pasqualetti, Giuseppe Banfi, Massimo Mariotti. University of Milan, Italy. *The effects of strontium on skeletal development in zebrafish embryo*, elektronnyj resurs, URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0946672X13000928?via%3Dihp> (Data obrashcheniya: 07.10.2024).

Статья поступила в редакцию (Received): 05.03.2025

Статья доработана после рецензирования (Revised): 21.04.2025.

Для цитирования / For citation:

Бабаева, Э.В., Федорова, М.А., Губайдулина, С.В., Фролова В.С, Трегу-
б, А.Г., Медянкина, М.В. (2025) Влияние стронция на половозрелую молодь
Danio rerio, *Экологический мониторинг и моделирование экосистем*, т.
XXXVI, № 1-2, с. 79-88, doi:10.24412/2782-3237-2025-1-2-79-88.

Babaeva, E.V., Fedorova, M.A., Gubaidullina, S.V., Frolova, V.S., Tregub,
A.G., Medyankina, M.V. (2025) The effect of strontium on mature juveniles *Danio*
rerio, *Ecological monitoring and modeling of ecosystems*, vol. XXXVI, № 1-2. pp.
79-88, doi:10.24412/2782-3237-2025-1-2-79-88.