

Atskaite par projekta zinātniskām aktivitātēm aprīlis-maijs 2014

1. Jaunas zinātniskās grupas izveide

Jaunā starpdisciplinārā zinātniskā grupa turpina pētījumus sekojošā sastāvā:

- Zinātniskais vadītājs Artūrs Škute
- Vadošais pētnieks Indriķis Krams
- Vadošā pētniece Maija Balode
- Pētniece Tatjana Krama
- Pētniece Aija Pupiņa
- Pētnieks Mihails Pupiņš
- Pētnieks Lauri Saks
- Pētniece Jolanta Vrubļevska
- Pētnieks Valērijs Vahruševs
- Laborants Artūrs Kārkliņš
- Laborante Irina Pestinis
- Laborante Liene Muzikante
- Laborants Aleksandrs Mednis

2. Pētniecība

2.1. Populāciju ģenētika

Lai izstrādātu atražojamo lašveidīgo zivju populācijas zinātniskās sertifikācijas principus un lašveidīgo zivju vaislinieku atlases procedūras shēmu atskaites periodā tika veikti sekojoši pētījumi:

1. Laika posmā no aprīļa līdz maija beigām tika veikta zinātnisko elektronisko datu bāžu SCOPUS un Web of Science/Web of Knowledge (ISI) izpēte attiecībā uz zinātniskās literatūras izdevumiem akvakultūras un ģenētikas nozarē.
2. Pētījumi uzrāda, ka liela daļa sugas daudzveidības jau ir zudusi, un atlikusī ir spēcīgi apdraudēta. Daudzveidības zudums ir 26 tiešs cilvēka darbības rezultāts, ko var iedalīt 3 virzienos: biotopu degradācija, pārzveja un mākslīgā zivju audzēšana un pavairošana (Maric, 2006). Tā kā taimiņam ir augsta



ESF projekts
„Jaunas zinātniskās grupas izveide akvakultūras tehnoloģiju modernizēšanai”
Vienošanās Nr. 2013/0067/1DP/1.1.1.2.0/13/APIA/VIAA/060

socioekonomiskā vērtība kā nozvejas objektam, arī Baltijas jūras valstīs tā populācijas piedzīvojušas pamatīgu samazināšanos. Līdz ar to ir mēģinājumi atjaunot vai palielināt taimiņa populācijas, papildinot ūdeņus ar inkubatoros audzētām zivīm. Tomēr šādu zivju ielaišana vietējās populācijās var ietekmēt populācijas ģenētiskās atšķirības, izmainot vai sagraujot lokālās adaptācijas. Pat pavairošana, kuras rezultātā dabiskajās populācijās netiek ieviests eksogēns ģenētiskais materiāls, neskatoties uz populācijas pieaugumu, var radīt nevēlamu ģenētisko efektu, piemēram, var palielināties tuvradnieciska krustošanās (inbrīdings), un samazināties vispārējā ģenētiskā daudzveidība (Samuiloviene *et al.*, 2009).

3. Sadarbojoties ar BIOR un zivjaudzētavām, kuras nodrošina mākslīgo taimiņu atražošanu Ziemeļlatvijas upēs, tika iegūti taimiņa (*Salmo trutta*) 1+ un 2+ vecuma smolti, kuri mākslīgi pavairoti no dabiskā vidē iegūtiem īpatņiem un paredzēti atlaišanai upēs, no kurām iegūts to vaislas materiāls. Kā arī uzskaites monitoringa rezultātā iegūtie smolti no dabiskās vides.
4. Darbā tika izpētītas mikrosatelītu alēļu sastopamības frekvences dabiskās populācijas ietvaros trīs dažādās paraugkopās Salacas upē (S, M un B paraugkopās). Izpētītas arī mākslīgi atražojamās populācijas Braslas, kā arī Tomes zivjaudzētavās (X un T paraugkopās), kuras paredzētas Gaujas un Daugavas, kā arī Salacas mazo upīšu dabiskās populācijas palīdzināšanai.
5. Salīdzinot dabiskās populācijas Salacas upes trīs dažādās paraugkopu iegūšanas vietās (S, M un B paraugkopas) savā starpā, ar 7 atsevišķu lokusu palīdzību kopā tika novērotas 61 alēles. No tām 37 alēles bija kopīgas alēles, kuras bija sastopamas starp visām Salacas upes S, M un B paraugkopām. Tika novērotas 16 privātās alēles kādā no atsevišķām paraugkopām. Novērojama raksturīga iezīme, ka tajā grupā, kura atrodas upē vistālāk no jūras (S-paraugkopa) privātās alēles ir uz pusi vairāk, kā B-grupai, kura ir tuvāk jūrai. Ar mikrosatelītu lokusu str85, Str543 un Str 15 palīdzību tika novērotas izteiktas dominantās alēles. Mikrosatelītu lokuss Strutta58 no 18 kopējām alēlēm varēja novērot vairāk kā pusi, precīzāk 11 privātās alēles, bet ar

mikrosatelītu lokusiem Strutta12 un Str60, varēja novērot alēles ar savstarpēji līdzīgām frekvencēm.

6. Mākslīgi atražojamām T un X paraugkopām, TX populācijā datus ieguva ar 6 mikrosatelītu lokusu palīdzību. Kopā tika novērotas 84 dažādas alēles. No visām novērotajām alēlēm tika novērotas 35 kopīgas alēles, kuras bija sastopamas X un T paraugkopās. Var novērot lielu skaitu privāto alēļu, turklāt T paraugkopā tās var novērot uz pusi vairāk kā X paraugkopā. Ar mikrosatelītu lokusa Strutta58, Strutta12 palīdzību var novērot, ka nav izteiktu pārsvara alēļu (dominantu) un biežāk sastopamās alēles ir ar līdzīgu frekvenci, bet ir liels skaits privāto alēļu, attiecīgi lokusā Strutta58 24 kopīgās alēles, no kurām 13 ir privātās alēles un lokusā Strutta12 no 23 kopīgām alēlēm 15 ir privātās. Parējos mikrosatelītu lokusus Str60, Str73, Str543 un Str85 ir novērojamas izteiktās dominantās alēles .
7. Salīdzinot Dabiskās populācijas Salacas SMB-paraugkopu un mākslīgi atražojamās populācijas XT paraugkopu, ar 6 mikrosatelītu lokusu palīdzību tika novērotas 120 dažādas alēles. Tas ir skaidrojams ar to, ka starp šīm paraugkopām tikpat kā nav kopīgu alēļu Sarp SMB un TX paraugkopām novērojama sajaukšanās starp alēlēm, kuras SMB paraugkopā ir novērojamas ar augstu frekvenci, bet TX paraugkopā šīs pašas alēles reprezentējas kā privātās alēles ar zemu frekvenci. Tas parāda ka alēles starp novērotajām paraugkopām „ceļol vienā virzienā no SMB paraugkopas uz TX paraugkopu. Apskatot šo alēļu parceļošanas īpatnību atsevišķi T un X paraugkopām, var novērot ka pārceļošana novērojama tikai uz T paraugkopu. Šī alēļu sastopamības sajaukšanās novērojama visos mikrosatelītu lokusus. Tas parāda, ka daļa vaislas materiāla Tomē ir iegūta no Salacas upes baseina.

2.2. Eko-imunoloģija

Aktivitātes „Eko-imunoloģija” atskaite par aprīli un maiju balstīta uz vadošā pētnieka I.Krama, pētnieces T.Kramas, pētnieka L.Saks un pētnieces J.Vrubļevskas ikmēneša darba laika uzskaites atskaitēm.

- 1) Laika posmā no aprīļa sākuma līdz maija beigām veikta zinātnisko elektronisko datu bāžu SCOPUS un Web of Science/Web of Knowledge (ISI) izpēte attiecībā



IEGULDĪJUMS TAVĀ NĀKOTNĒ

ESF projekts

„Jaunas zinātniskās grupas izveide akvakultūras tehnoloģiju modernizēšanai”

Vienošanās Nr. 2013/0067/1DP/1.1.1.2.0/13/APIA/VIAA/060

uz zinātniskās literatūras pieejamību par šādām tēmām: akvakultūras organismu veselības parametri un fizioloģiskie rādītāji, zivs populāciju blīvuma rādītāji un zivju hematoloģiskie parametri, zivju salīdzinošā hematoloģija, zivju leukokrīti kā fizioloģiskā stresa rādītāji, akvakultūrā izmantojamo organismu hematoloģiskie parametri un bioķīmiskie rādītāji atbildē uz barības bāzes īpatnībām, zivju ekoloģijas pētījumu metodes, antivielu titru noteikšanas metodes ekoloģijas pētījumos, bioķīmiskās metodes akvakultūras pētījumos, zivju ekoloģija un zivju vakcinācijas izmantošana akvakultūrās. Turpmāko zinātniskās literatūras izpēti par augšup minētajām tēmām veicām pamatojoties uz 61 zinātniskās literatūras avotu, galvenokārt no šādiem zinātniskiem izdevumiem: *Fish and Shellfish Immunology*, *Veterinary research*, *Veterinary immunology and immunopathology*, *Aquaculture*, *Fish Physiology and Biochemistry*.

- 2) Zinātniskās literatūras izpētes laikā noskaidrojām, ka hematoloģija pēta asins kā audu anatomiskos, fizioloģiskos un patoloģiskos aspektus. Dažādas disfunkcijas organismā atspoguļojas asins sastāvdaļu rādītāju izmaiņās, ko var izmantot kā slimību diagnostikas indikatorus. Izmantojot hematoloģiskās metodes vispārējā veselības stāvokļa noteikšanai un slimību diagnostikai jāņem vērā zivju suga, dzimums, ūdens temperatūra un ķīmiskais sastāvs (pH, īpaši sārmainība, cietība), zivju barības avoti, zivju fizioloģiskais vecums un asins paraugu iegūšanas veids, jo asins sastāva parametri zivju sugai specifiski un dažādu ārējo faktoru ietekmē var mainīties. Hematokrītu- asins šūnu (eritrocītu, limfocītu un leukocītu) un plazmas attiecību- izmanto kā indikatoru anēmijai, leukocitozei, hipoproteinēmijai, salīdzinot hematokrīta rādītājus ar veselu zivju rādītājiem. Normāls hematokrīta līmenis zivīm ir 20-45 %, aktīvi peldošām pelaģiāles zivīm hematokrīta līmenis ir augstāks nekā uz grunts dzīvojošām zivīm. Palielināts hematokrīta līmenis (>45%) jeb policitēmija tiek novērots zivīm dehidratācijas, hipoksijas vai fizioloģiskā stresa gadījumā. Anēmijas gadījumā hematokrīta līmenis ir <20%, piemēram, hemorāģijas (asins zuduma), hemolīzes (eritrocītu destrukcija), hipoplāzijas (nepietiekama eritrocītu veidošanās) rezultātā. Cirkulējošo leukocītu (granulocīti, limfocīti, makrofāgi) relatīvais skaits ir kā indikators sistemātisko slimību gadījumā, bet dažādu stadiju cirkulējošo eritrocītu relatīvais skaits norāda uz noteiktām vīrusu slimībām un barošanās traucējumiem. Barības vielu, piemēram, folskābes un vitamīna E nepietiekamības gadījumā novēro deformētu eritrocītu kodolu un eritroplastīdu veidošanos. Palielināts granulocītu, euzinofīlu skaits liecina par infekcijas procesu norisi organismā, savukārt, palielināts

limfocītu daudzums norāda uz imunogēnu stimulāciju, bet pazemināts limfocītu daudzums liecina par imunosupresiju.

- 3) Pētījumos noskaidrots, ka parazītu invāzijas, slimības, fizioloģiskais stress rada oksidatīvo stresu, organisma bioķīmiskajās reakcijās atbrīvojot brīvos skābekļa radikāļus un reaktīvās skābekļa formas. Zivju audos, galvenokārt aknās un nierēs, darbojas antioksidantu aizsardzības sistēmas, kas notur brīvos radikāļus un reaktīvās skābekļa formas zemā koncentrācijā un tādējādi novērš oksidatīvā stresa radītos bojājumus audiem un organismam kopumā (šūnu bojāeja, DNS, RNS bojājumi). Antioksidantu aizsardzības sistēmu nodrošina tādi enzimatiski savienojumi kā superoksīdu dismutāze (SOD), katalāze (CAT), glutaciona peroksidāze (GPX), glutaciona reduktāze (GR), kas pārveido reaktīvos skābekļa radikāļus šūnām un organismiem netoksiskos savienojumos. SOD pārvērš superoksīda radikāļus hidrogēnperoksīdos, CAT reducē hidrogēnperoksīdus par ūdeni un neitralizē tos, GPX detoksicē hidrogēnperoksīdos, GR reducē oksidēto glutacionu līdz reducētajam glutacionam (GSH).
- 4) Literatūras avotos norādīts, ka vakcinācija palielina zivju specifisko imunitāti pret noteiktām infekcijām un patogēniem. Vakcināciju var veikt kā individuālām zivīm tā arī zivju populācijām, piem., akvakultūrās vakcinējot visas zivis akvārijos un zivju baseinos. Galvenais ekonomiskais mērķis ir samazināt zivju produktivitātes zudumus dažādu infekciju un slimību rezultātā. Agrākais posms zivju dzīves ciklā, kad var sākt izmantot vakcināciju, ir laikā, kad pilnībā uzsūcies dzeltenuma maiss un zivju mazuli ir kļuvuši imunokompetenti. Tomēr vakcināciju ietekmē zivju fiziskais izmērs, mazām zivīm galvenokārt izmanto orālās vakcīnas vai zivju „iemērķšanas” procedūras, kas nodrošina imunitāti uz neilgi laiku. Savukārt, zivju vakcinācija ar antigēnu injicēšanu galvenokārt izmanto inaktivētus baktēriju antigēnus. Šīs vakcīnas iegūst fermentējot baktērijas lielos daudzumos, pēc tam ievadot sistēmā inaktivējošos aģentus kā formalīnu, kas nogalina visus baktērijas. Šīs inaktivētās baktērijas saglabā visas oriģinālās antigēna pazīmes kā forma, struktūra, šūnu uzbūve, bet ir nogalinātas, lai novērstu to augšanu, vairošanos, un saslimšanas izraisīšanu saimniekorganismam. Injekcijas devu rēķina atbilstoši zivs svaram. Izmantojot inaktivētu baktēriju vakcīnas tiek izveidota ilgtermiņa imunitāte, ko nodrošina humorālās imūnās atbildes reakcijas un B-limfocītu izstrādātās antivielas. Eko-imunoloģijas pētījumos bieži izmanto vakcināciju ar antigēniem, lai noteiktu organisma spēju ražot antivielas pret jaunu antigēnu un novērtētu imūnās sistēmas humorālās atbildes reakcijas stiprumu.
- 5) Zinātniskās literatūras analīzes laikā, veicām pētījuma „Zivju eko-imunoloģijas eksperimentāla izpēte” imuno-ekoloģijas metožu izpēti un pētījumam piemērotāko metožu izvēli. Pēc zinātniskās literatūras izpētes sastādījām eksperimentālā pētījuma darba plānu un darba protokolu, noskaidrojām potenciāli mērāmos parametrus un rādītājus un izvēlējāmies pētījuma mērķu sasniegšanai

piemērotākos, veicām minimālā bioloģiskā materiālā daudzumu izskaitļošanu mērāmo parametru noteikšanai, kā arī potenciālo bioķīmisko analīžu reaģentu piegādātāju apzināšanu. Pētījumā „Zivju eko-imunoloģijas eksperimentāla izpēte” izvēlējamies šādas eko-imunoloģijas pētījumos bieži izmantotas bioķīmiskās metodes: SOD, GSH antioksidantu enzīmu aktivitāte, kopējā antioksidantu kapacitāte (TAC), proteīnu karbonilizācijas līmenis (oksidatīvā stresa radīti proteīnu bojājumi), lipīdu peroksidācija (LOOH, oksidatīvā stresa radīti lipīdu bojājumi), antivielu titri, un hematoloģijas metodes: asins uztriepes limfocītu, trombocītu, granulocītu, makrofāgu relatīvā skaita noteikšanai, kopējā leukocītu daudzuma noteikšanai asins uztriepēs. Papildus esam nolēmuši veikt zivju parazitisko saslīmšanu izvērtēšanu.

- 6) Aprīļa beigās tika uzsākts darbs pie kopīgā eksperimentālā pilot-pētījuma ar Tartu Universitātes Zinātņu un tehnoloģiju fakultātes Igaunijas Jūras pētījumu institūta speciālistiem projekta realizācijas ietvaros „Zivju eko-imunoloģijas eksperimentāla izpēte”: tika sagatavoti akvāriji zivju turēšanai, tie nodrošināti ar ūdeni, sildelementiem, apgaismojumu, aeratoriem. Akvārijos izmērīts skābekļa daudzums, ūdens temperatūra un noteikti citi ūdens fizioloģiskie rādītāji. Akvārijos tika nogādātas zivis un pēc aklimatizācijas perioda veicām uzvedības novērojumus, morfoloģiskos mērījumus, parazitisko slimību ārējo izvērtēšanu un zivju imunizāciju. Akvārijos katru dienu tika mērīts skābekļa daudzums, ūdens temperatūra un noteikti citi ūdens fizioloģiskie rādītāji. Maija sākumā, saskaņā ar pētījuma plānu un protokolu, veicām atkārtotus uzvedības novērojumus, morfoloģiskos un svara mērījumus, parazitisko slimību ārējo izvērtēšanu, noteicām zivju dzimumu un ieguvām bioloģisko materiālu pētījumā paredzēto eko-imunoloģisko parametru un rādītāju noteikšanai ar bioķīmiskām un hematoloģiskām metodēm. Bioloģiskais materiāls nogādāts laboratorijā, kur tika veikta tā apstrāde un sadalīšana atbilstoši konkrētā parametra vai rādītāja noteikšanas metodes protokolam, rādītāja noteikšanai nepieciešamais bioloģiskā materiāla minimālais daudzums ievietots mikroreakcijas stobriņā un, līdz bioķīmisko analīžu veikšanai, uzglabāts saldētavā pie -20°C . Visas pētījuma laikā un laboratorijā veiktās aktivitātes reģistrētas pētījuma dienasgrāmatā.
- 7) Pilot-pētījuma „Zivju eko-imunoloģijas eksperimentāla izpēte” laikā iegūtie dati (ūdens temperatūras un citu ūdens fizioloģisko rādītāju mērījumi, uzvedības novērojumi, morfoloģiskie un svara mērījumi, parazitisko slimību ārējais izvērtējums, zivju dzimums) digitalizēti, izveidotas datu tabulas MS Excel programmā, lai atvieglotu datu statistisko analīzi. Veikta pirmreizējā ūdens temperatūras un citu ūdens fizioloģisko rādītāju mērījumu datu statistiska analīze, izmantojot STATISTICA datu apstrādes programmu. Datu statistiskās analīzes laikā noskaidrots, ka vidējais skābekļa daudzums % akvārijos bija 68%, 8,95 mg/l.

Vidējā temperatūra 11,8⁰C. Ūdens temperatūras un citu fizioloģisko rādītāju atšķirības starp akvārijiem nebija statistiski nozīmīgas.

2.3. Etoloģija

Aktivitātes „Etoloģija” atskaite par 2014.gada aprīli, maiju balstīta uz pētnieka M.Pupiņa, pētnieces A.Pupiņas, pētnieka V.Vahruševa ikmēneša darba laika uzskaites atskaitēm.

- 1) Šajā Projekta posmā turpinājās aktivitātēs „Etoloģija” realizācija. Posma laikā mēs analizējām zinātniskus datus par izlaižamo zivju mazuļu bojāeju stresa un pret plēsēju adaptāciju trūkuma dēļ. Ļoti svarīga ir plēsēju-upuru etoloģisko attiecību izpēte, tā dos iespēju izprast plēsonības faktora ietekmi uz izlaižamo zivju izdzīvotību. Pamatojoties uz to, var izstrādāt gan metodes, kas sekmēs zivju mazuļu spējas reaģēt uz dabiskajā vidē mītošajiem svarīgākajiem plēsējiem un palielinās nozvejas vecumu sasniegušo vērtīgo zivju skaitu, gan arī metodes, lai sertificēt zivju mazuļu sagatavotību dzīvei dabā pēc izlaišanas.
- 2) Tika veikta zinātnisko elektronisko datu bāzes *Directory of Open Access Journals (DOI)* izpēte attiecībā uz zinātniskās literatūras pieejamību par tēmu *akvakultūra*. Kopā janvārī atrasti 3 936 zinātniski raksti un žurnāli. Tika veikta arī zinātnisko elektronisko datu bāzes *Google Scholar* izpēte, kur janvārī atrasti 9 360 zinātniski un tehniski raksti, grāmatas un žurnāli par *post release survival in smolts* un 64 500 informācijas avoti par *akvakultūras aprīkojumu*.
- 3) Lai sagatavoties praktiskiem eksperimentiem akvakultūrā, grupas „Etoloģija” pētnieki piedalījās dažu dienu praktiskā un teorētiskā darba seminārā Strasbūras universitātes pētnieka, biologa Dr. Jean Yves Georges vadībā. Mūsu pētnieki iemācījās izmantot modernus datu logerus datu par akvakultūras dzīvnieku apkārtējas vides temperatūras un spiediena vākšanai. Pētnieki iemācījās apstrādāt dzīvnieku ķermeni pirms datu logeru piestiprināšanas, ka arī apguva praktiskas iemaņas datu logeru fiksācijā. Pētnieki Dr. Jean Yves Georges vadībā praktiski apguva ģenētiskā materiāla vākšanas metodes akvakultūras dzīvniekiem, to konservācijas metodes sūtīšanai analīzei. Semināra beigās tika apspriestas Daugavpils universitātes zinātnieku sadarbības iespējas ar Francijas zinātniekiem (att.1.).



Att.1. Darba seminārs Dr. Jean Yves Georges vadībā un Dr. Jean Yves Georges un grupas „Etoloģija” oficiāla tikšanās ar Projekta zinātnisko vadītāju A.Škute

- 4) Grupas pētnieki dotajā posmā aktīvi izstrādāja eksperimenta dizainu. Eksperimentu novadīšana pieprasa nepieciešama aprīkojuma izmantošanu. Tāpēc grupas pētnieki pētīja plašu zinātniski - tehnisko literatūru par akvakultūru uzturēšanu, barošanu, temperatūru, filtrācijas sistēmām, ūdens sastāvu u.c.
- 5) Papildus pētnieki analizēja pasaules pieredzi zivju mazuļu stresa un pret plēsēju adaptāciju trūkuma dēļ bojāejas samazināšanā. Īpaši svarīga bija informācija par pētījuma, realizētā Austrālijā, rezultātiem (*Michael Hutchison, Danielle Stewart, Keith Chilcott, Adam Butcher, Angela Henderson, Mark McLennan and Philip Smith. Native fish strategy. Strategies to improve post release survival of hatchery-reared threatened fish species. Bribie Island Research Centre. Department of Employment, Economic Development and Innovation. Licensed from the Murray–Darling Basin Authority, under a Creative Commons Attribution 3.0 Australia Licence.*). Šajā pētījuma tika risinātas līdzīgas problēmas, pētījuma idejas ir ļoti tuvas grupas pētnieku idejām, kas, tomēr, vairāk atbilst Latvijas zivju audzēšanas un izlaišanas specifikai.

- 6) Ļoti svarīga ir zivju mazuļu fitnesa novērtēšana. Pētnieki analizēja pasaules pieredzi zivju vielmaiņas mērīšanā, strādāja pie esošu tehnoloģiju adaptācijas (*Martin Bolduc, Simon Lamarre, and Pierre Rioux. 2002. A simple and inexpensive apparatus for measuring fish metabolism. Advan. in Physiol. Edu: 129-132, doi:10.1152/advan.00038.2001*) eksperimenta mērķiem. Šāda adaptācija pieprasa gan papildus informācijas meklēšanu, gan pieejamo tehnisko ierīču novērtēšanu (pumpji, šļūtenes, caurspīdīgas kameras, logeri utt.) un pārbaudi.

2.4. Ekotoksikoloģija

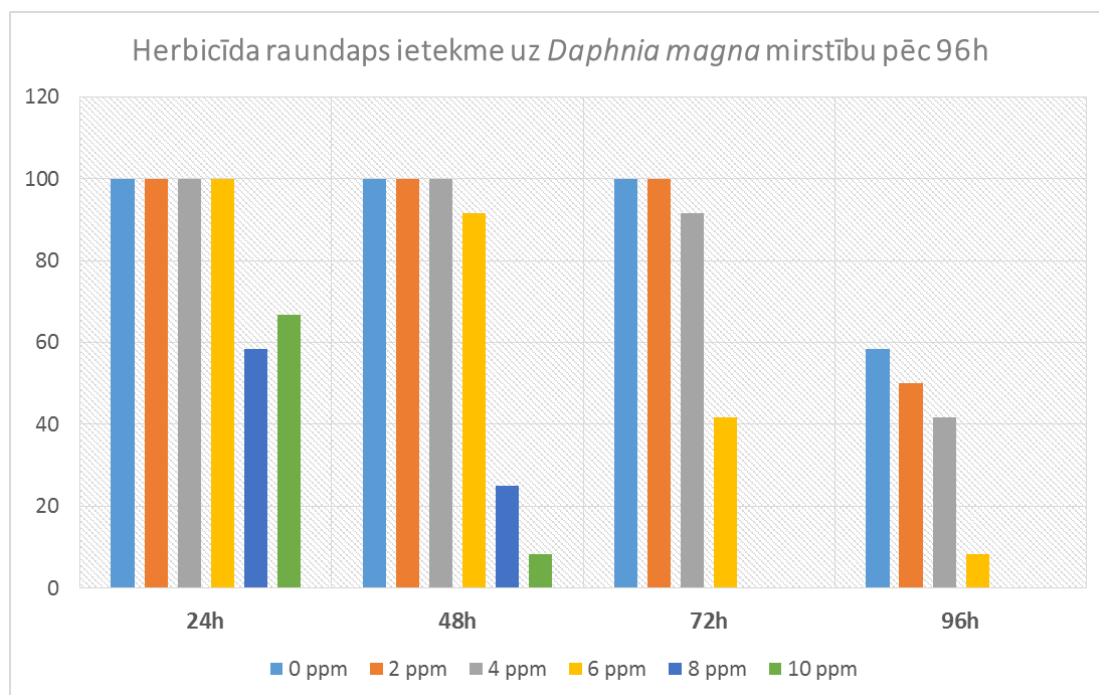
Atskaites periodā tika veikti sekojoši pētījumi:

- Informācijas apkopošana par lauksaimniecībā visvairāk izmantotiem pesticīdiem, to toksiskumu un ietekmi uz hidrobiontu attīstību
- Pārskata periodā veikta planktonaļģu, vēžveidīgo un zivju kultūru kolekcijas inventarizācija un kultūru atjaunošana; veikta kultūru kolekcijas papildināšana ar jauniem streiniem, ar ko projekta ietvaros plānots veikt eko-toksikoloģiskos pētījumus; veikta šo streinu adaptēšana laboratorijas apstākļiem
- Eko-toksikoloģisko eksperimentu materiālu tehniskais nodrošinājums; termoboksa un akvāriju iekārtošana; akūto testu vides apstākļu nodrošinājums
- Eko-toksikoloģisko testu veikšana ar mērķi noskaidrot pesticīdu (herbicīda - Raundapa un insekticīda - Fastac) potenciālo ietekmi uz lašveidīgo zivju (lašu, taimiņu un varavīksnes foreļu) izdzīvotību un asins sastāva izmaiņām
- Materiāla gatavošana projekta informācijas ievietošanai LHEI mājas lapā
- Pārtikas, drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskā institūta BIOR pakļautībā esošās zivsaimniecības „Tome” apmeklējumi; lašveidīgo zivju mazuļu atlase eko-toksikoloģisko eksperimentu veikšanai
- Piedalīšanās projekta dalībnieku sanāksmēs; atskaitīšanās par paveikto un turpmāko plānu apspriešana
- II posma atskaites gatavošana, apkopojot I posmā iegūtos rezultātus.

- 1) Lai noteiktu un izvērtētu pesticīdu inhibējošo ietekmi uz ūdens organismiem un vidi kopumā, kā potenciāli toksiskā viela tika izmantots herbicīds “Raundap” ar darbīgo vielu glifosātu. Par minētā herbicīda potenciālo toksiskumu liecina produkta ražotāju norāde uz iepakopuma, kā arī agrāk veiktie pētījumi, kas apstiprina herbicīda īpašo toksiskumu ūdens videi (Modesto & Martinez 2010).
- 2) Uzsākot eksperimentus ar zooplanktona organismiem *Daphnia magna*, tika veikti vairāki sagatavošanās testi, lai noteiktu sliekšņa, subletālo LC₅₀ un letālo LC₁₀₀ koncentrāciju aptuvenās robežas. Sagatavošanās testi norādīja, ka inhibējošās

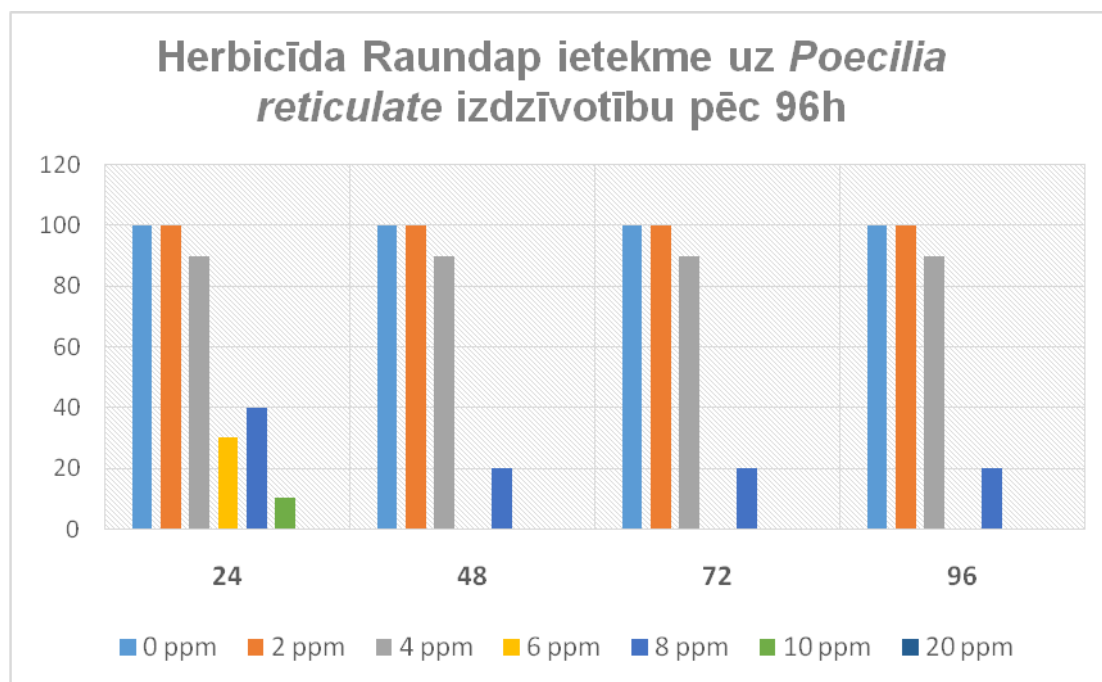
koncentrācijas meklējams robežās no 0 līdz 10 ppm (parts per milion) jeb 9.988 mg/l (skat. 9. att).

- 3) Pie koncentrācijām 8 - 10ppm raundaps izraisīja 30 - 40 %-īgu testorganismu bojāeju jau pirmo 24 stundu laikā. Ekspozīcijas laikam pieaugot, vērojams inhibējošās ietekmes pieaugums. Pēc 48 stundu iedarbības *Daphnia magna* mirstība minēto koncentrāciju robežās jau sasniesi 70 - 90%, bet pēc 72 stundu ekspozīcijas vērojama testorganismu 100%-īga bojāeja (9. attēls). *Daphnia magna* 100%-īga izdzīvotība pirmo 48 st. laikā vērojama tikai pie raundapa koncentrācijām 0 - 4 ppm (9. attēls).
- 4) Dafniju kustību inhibēšanu uzrāda arī 6 ppm raundapa koncentrācija, pēc 72 un 96 stundu iedarbības attiecīgi izraisot 60 % un vairāk kā 90 % organismu mirstību. Kopumā testa rezultāti norāda uz preparāta augstu toksiskuma līmeni attiecībā pret zooplanktona vēžveidīgiem organismiem.
- 5) Sagatavošanās testi tika veikti arī uzsākot eksperimentus ar zivju sugu *Poecilia reticulata*. Sagatavošanās testi norādīja, ka inhibējošās koncentrācijas meklējams robežās no 0 līdz 20 ppm (10. attēls)
- 6) Preparāta raundapa augsto toksiskumu uzrādīja arī testi ar *Poecilia reticulata* zivju mazuļiem, jau pirmajās 24 stundās, testorganismu mirstībai pie koncentrācijās 6-10 ppm pārsniedzot 50% robežu (skat. 10. attēls).



9. attēls. Raundapa inhibējošā ietekme uz zooplanktona sugu *Daphnia magna* (izdzīvotība procentos)

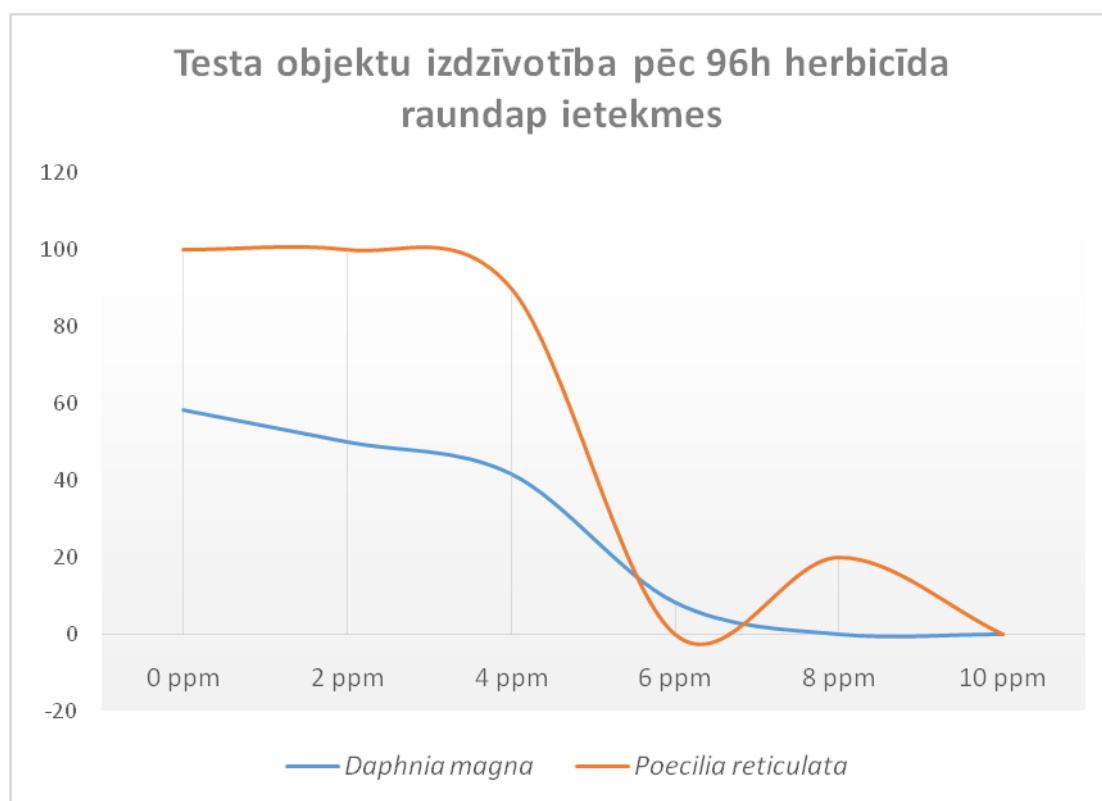
- 7) Pēc 48 stundu ekspozīcijas minēto koncentrāciju diapozonā (6 un 10 ppm) jau vērojama testorganismu 100 %-īga bojāeja. Salīdzinot ar zooplanktona organismiem *Daphnia magna*, ihtiofaunas pārstāvji *Poecilia reticulata* uzrādīja augstāku jutību pret herbicīda raundapa iedarbību, izteiktu toksiskumu uzrādot jau pie koncentrācijas 6ppm (skat. 8att.). Kā liecina akūtā testa rezultāti, par netoksiskām var uzskatīt tikai koncentrāciju robežas 0 - 4 ppm, kur līdz eksperimenta beigām saglabājas nemainīgs testorganismu skaits (skat. 10 un 11.attēls). Līdzīgi rezultāti iegūti arī eksperimentos ar zooplanktona organismiem *Daphnia magna*.
- 8) No iegūtajiem testa rezultātiem varam secināt, ka abas sugas uzrāda augstu jutību pret herbicīda raundapa iedarbību, 48 h LC₅₀ atrodoties robežās starp 6 - 8 ppm dafnijām, un starp 4 - 6 ppm gupiju mazuļiem, norādot uz ihtiofaunas pārstāvju zemāku toksikorezistenci pret herbicīda raundapa iedarbību salīdzinājumā ar zooplanktona organismiem.



10.attēls. Raundapa inhibējošā ietekme uz zivju sugu *Poecilia reticulata* (izdzīvotība procentos)

- 9) Jāpiemin arī testa laikā veiktie vizuālie novērojumi. Pievienojot toksikantu ūdenim, vide kļūst izteikti sārmaināka, eksperimentu pirmajās stundā ūdens virskārtā veidojas nelielas baltas putas. Herbicīda koncentrācijai pieaugot, gan zooplanktonam, gan zivīm novērojams indivīdu izbalējums.

- 10) *Poecilia reticulata* īpatņiem, kas turēti augstākās raundapa koncentrācijās novērojama organisma piepūšanās, acu palielināšanās, norādot uz iekšējo bioloģisko procesu traucējumiem. Atsevišķām zivīm novērotas atvērtas mutes un ieplēstas žaunas, norādot uz skābekļa trūkumu.
- 11) Novērtējot raundapa toksiskumu jāņem vērā, ka tā praktiskā pielietošana saistās ar pesticīda būtisku atšķaidīšanu. Savukārt nokļūstot vidē, tas atšķaidās ar lietus ūdeņiem, daļēji noārdās pats, izfiltrējas caur augsni, līdz nonāk ūdens vidē, kur notiek tā atšķaidīšanās ar ūdeni. Līdz ar to būtu grūti pielīdzināt noteiktās LC₅₀ vērtības reālajiem vides apstākļiem. Lai konstatētu raundapa potenciāli negatīvo ietekmi un spriestu par tā patieso bīstamību, nepieciešami hidroķīmisko analīžu dati par glifosātu koncentrācijām Latvijas ūdenstilpēs, kā arī nepieciešams turpināt pētījumus ar citu trofisko līmeņu testorganismiem.



11.attēls. Toksikanta ietekme uz testa organismu izdzīvotību pēc 96 stundu herbicīda Raundapa iedarbības.

- 12) Lai spriestu par minētā herbicīda ilgstošu iedarbību un tā akumulēšanās spējām, nepieciešams veikt hroniskos testus.



ESF projekts
„Jaunas zinātniskās grupas izveide akvakultūras tehnoloģiju modernizēšanai”
Vienošanās Nr. 2013/0067/1DP/1.1.1.2.0/13/APIA/VIAA/060

13) Analizējot literatūras datus par LC₅₀ vērtībām Raundapam un glifosātam, atklājas fakts, ka lielāka toksiskā ietekme ir tieši pašam Raunapa produktam, kam bez glifosāta klāt pievienotas citas ķīmiskas vielas, kas mijiedarbojoties rada vēl lielāku toksisko efektu nekā pats glifosāts.

SECINĀJUMI

- Kopumā testa rezultāti norāda uz herbicīda Raundapa augstu toksiskuma līmeni attiecībā pret zooplanktona un ihtiofaunas organismiem, LC₅₀ atrodies robežās starp 6 - 8 ppm dafnijām, un starp 4 - 6 ppm gupiju mazuļiem
- Salīdzinot ar zooplanktona organismiem *Daphnia magna*, ihtiofaunas pārstāvji *Poecilia reticulata* uzrādīja augstāku jutību pret herbicīda raundapa iedarbību, izteiktu toksiskumu uzrādot jau pie koncentrācijas 6ppm
- Par netoksiskām attiecībā pret *Daphnia magna* un *Poecilia reticulata* var uzskatīt raundapa koncentrācijas robežās no 0 līdz 4 ppm

Izmantotā literatūra:

1. Biedrība “Zemes draugi”. 2013. Glifosāts - uztraukuma iemesli. <http://www.agropols.lv/?menu=97&newsid=96073>
2. Carson R. 2002. Silent Spring. Fortieth Anniversary Edition. A Marine Book Houghton Mifflin Company, Boston, New York. 297 pp.
3. Cavalcantea D.G.S.M., Martinezb C.B.R., Sofiaa, S.H. 2008. Genotoxic effects of Roundup® on the fish *Prochilodus lineatus*. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. Elsevier 655. 41–46pp.
4. Clare J.P. 2007. Daphnia: An Aquarist's Guide. <http://www.caudata.org/daphnia/>
5. Dogels V. 1986. Bezmugurkaulnieku zooloģija. Rīga: Zvaigzne. 530 lpp.
6. EPA. 1996. Prevention, Pesticides and Toxic Substances. Ecological Effects Test Guidelines OPPTS 850.1075 Fish Acute Toxicity Test, Freshwater and Marine EPA 712–C–96–118
7. EPA. 2002. Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms. Fifth Edition. EPA-821-R-02-012. U.S. Environmental Protection Agency. Office of Water (4303T) 1200 Pennsylvania Avenue, NW Washington, DC 20460, 275 pp.



ESF projekts

„Jaunas zinātniskās grupas izveide akvakultūras tehnoloģiju modernizēšanai”

Vienošanās Nr. 2013/0067/1DP/1.1.1.2.0/13/APIA/VIAA/060

8. Freedman B. 1993. Environmental ecotoxicology. Second Edition. The ecological effects of pollution, disturbance and other stresses. Academic Press.
9. Friends of the Earth Europe. 2013. Glyphosate - Reasons for concern. <http://www.foeeurope.org/glyphosate>
10. Grīnberga I. 2008. Ko un kāpēc noindē herbicīdi? Vides vēstis: Nr.9 (112): 34. - 37.
11. Hoffman D., Rattner B., Burton G.A. Cairns J. 2003. Handbook of ecotoxicology. Second Edition. CRC Press.
12. ISO 10706:2000 Water quality - Determination of long term toxicity of substances to Daphnia magna Straus (Cladocera, Crustacea).
13. Latvijas Vides pārskats. 2001. Noturīgie organiskie piesārņotāji. http://www2.meteo.lv/produkti/soe2001_lv/faktori/kim_vielas/nop.htm
14. Lushchak O.V., Kubrak O. I., Storey J.M., Storey K.B, Lushchak V. I., 2009. Low toxic herbicide Roundup induces mild oxidative stress in goldfish tissues. Chemosphere 76. 932–937. Elsevier.
15. LV EN ISO 8692. 2005. Ūdens kvalitāte. Saldūdens aļģu augšanas inhibēšanas tests ar viensūnas zaļajām (aizstāj LVS EN 28962:2004). VSIA Latvijas Standarts
16. LVS EN ISO 6341:1996. Water quality - Determination of the inhibition of the mobility of Daphnia magna Straus (Cladocera, Crustacea) - Acute toxicity test. VSIA Latvijas Standarts.
17. Ministru kabineta noteikumi Nr.58, 2006. Noteikumi par laboratoriskajām metodēm ķīmisko vielu un ķīmisko produktu fizikālo, ķīmisko, toksikoloģisko vai ekotoksikoloģisko īpašību noteikšanai. 3. pielikums, Latvijas Vēstnesis 13 (3381) 20.01.2006.
18. Mitchell, DG, Chapman PM, Long TJ, (1987). Acute toxicity of Roundup and Rodeo herbicides to rainbow trout, Chinook, and Coho salmon. Bull. Environ Contam Toxicol. 39:1028-1035. (They tested the toxicity of surfactants separately).
19. Modesto K. A., Martinez C. B.R 2010. Roundup causes oxidative stress in liver and inhibits acetylcholinesterase in muscle and brain of the fish Prochilodus lineatus. Chemosphere 78. 294–299. Elsevier.
20. OECD GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS. Adopted by the Council on 17th July 1992. Fish, Acute Toxicity Test. 203. Adopted: 17.07.92.
21. Plumer. B. 2013. We've covered the world in pesticides. Is that a problem? The Washington Post.
22. Raipulis J. 2009. Jaunu argumenti pret raundapu. Vides vēstis: Nr.9 (122).
23. Schuette J. 1998. Environmental Fate of Glyphosate. Environmental Monitoring & Pest Management Department of Pesticide Regulation Sacramento, CA 95824-5624



ESF projekts

„Jaunas zinātniskās grupas izveide akvakultūras tehnoloģiju modernizēšanai”

Vienošanās Nr. 2013/0067/1DP/1.1.1.2.0/13/APIA/VIAA/060

24. Strazdiņa I. 2005. Pesticīdi pārtikā. Vides Vēstis: Nr.7/8 (81).
25. Teivāne R. 2002. Cik DDT satur viens latvietis? Vides Vēstis: Nr.5/6 (51): 34. - 35.
26. Tools and Techniques for Use in Natural Areas. The Nature Conservancy. Wildland Invasive Species Team.
27. Tu M., Hurd C., & Randall J. M. 2001. Weed Control Methods Handbook:
28. Turka I. Pesticīdu lietošana augu aizsardzībā. Mācību grāmata LLU studentiem. Rīga: Zvaigzne ABC, 1996. 128 lpp.
29. United States Environmental Protection Agency. 2010. About pesticides. <http://www.epa.gov/pesticides/about/index.htm>
30. Vizbule B., Latvijas Lauku konsultāciju un izglītības centrs. 2013. Vides mācība. 120 lpp.
31. WHO (1994). Glyphosate. Environmental Health Criteria No. 159. World Health Organization, Geneva.
32. World Register of Marine Species. 2012. Daphnia magna Straus, 1820. <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=148372>

2.5. Publikāciju sagatavošana

Turpinās darbs pie zinātnisko rakstu sagatavošanas eko-imunoloģijā, etoloģijā un ekotoksikoloģijā.

18.07.2014.