

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

Tytuł projektu DOŚWIADCZENIA NA ZWIERZĘTACH pt....

1. Wpływ suplementacji wody nanocząsteczkami miedzi podczas pęczenia ikry na przeżywalność i kondycję stadium młodocianego pstrąga tęczowego (*Oncorhynchus mykiss*).

2. Czas trwania projektu 15.02-15.07.2019.....

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): nano CuO, pstrąg tęczowy, przyrosty, przeżywalność.....

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych)

E. Badania zapewniające poprawę dobrostanu zwierząt lub warunków chowu lub hodowli zwierząt gospodarskich

A. Badania podstawowe

B. Badania translacyjne lub stosowane

C. Badania mające na celu zachowanie gatunku

D. Badania z zakresu medycyny sądowej

E. Badania zapewniające poprawę dobrostanu zwierząt lub warunków chowu lub hodowli zwierząt gospodarskich

F. Badania w celu opracowania i produkcji produktów leczniczych, środków spożywczych, pasz lub innych substancji lub produktów, lub badań ich jakości, skuteczności lub bezpieczeństwa stosowania

G. Badania w celu ochrony środowiska naturalnego

H. Badania w celu kształcenia na poziomie szkolnictwa wyższego lub szkolenia w celu nabycia lub doskonalenia kompetencji zawodowych

5. OPIS PLANOWANEGO DOŚWIADCZENIA

Należy określić cel naukowy lub edukacyjny doświadczenia, w tym przewidywane szkody, jakie może ono spowodować u wykorzystywanych zwierząt, i korzyści, jakie przyniesie ono dla rozwoju nauki i dydaktyki. Maksymalnie 250 słów, tekst musi być zrozumiały dla niespecjalisty.

Ostatnio rozwijają się nowe gałęzie przemysłu wykorzystujące właściwości nanocząsteczek (NPs). Najczęściej wykorzystywanymi w przemyśle są TiO_2 , a następnie CeO_2 , FeO_x , AlO_x , ZnO i CNT , SiO_2 . Natomiast nanocząsteczki Ag i Cu ze względu na właściwości bakterio- i grzybobójcze są dodatkowo szeroko używane w przemyśle spożywczym, kosmetycznym, medycznym i innych. Wraz z obniżeniem kosztów produkcji nanocząsteczek zwiększa się ich ilość uwalniana do środowiska.

Zanieczyszczenie środowiska odpadami pochodzącymi z tych materiałów stanowi zagrożenie dla organizmów. Wrażliwość na te zanieczyszczenia jest różna w zależności od grupy organizmów. Wiele z nich może akumulować się w tkankach. Dotychczas niewiele badań wykonano na rybach. Nanomiedź wywiera toksyczny wpływ na *Danio* przegowane w stężeniu $0.94\text{--}1,5\text{ mg L}^{-1}$ (LC 50) podczas ekspozycji 48-godzinnej, na pstrąg tęczowy w stężeniu $100\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$ (LC 20) po 10 dniach ekspozycji na Cu NPs. Najmłodsze stadia rozwojowe organizmów mogą być bardziej wrażliwe na toksyczne oddziaływanie nanoproductów niż formy dorosłe.

Zaplanowane doświadczenie ma na celu wyznaczenie optymalnego stężenia CuO NPs dodanego do wody, w której pęcznieje ikra (po zapłodnieniu), w celach bakterio- i grzybobójczych, określenie wpływu na odsetek uzyskanego wylęgu oraz na wzrost i kondycję ryb do wieku 5-6 miesięcy, jak również określenie ewentualnego przenikania miedzi do zarodków i jej bioakumulacji w różnych częściach ciała ryb. Suplementowanie wody nanomiedzią, w określonym stężeniu, powinno przyczynić się do zmniejszenia obumierania embrionów i lepszej ich zdrowotności po wylęgu. Pilotażowe badania wykonane przez nas, potwierdziły lepszą przeżywalność zapłodnionej ikry i embrionów do pojawienia się pigmentu w gałce ocznej (zooczkowanie ikry).

Pstrąg tęczowy (*Oncorhynchus mykiss*) jest podstawową rybą hodowlaną, a zarazem modelową rybą łososiową, na której prowadzone są badania naukowe. Uzyskane wyniki można będzie wykorzystać w praktyce wylęgarniczej, do poprawy efektywności procesu otrzymywania materiału hodowlanego (wylęg, narybek).

Celem doświadczenia jest zbadanie wpływu nanotlenku miedzi (CuO NPs) na zdrowotność zapłodnionej ikry i rozwijających się embrionów, a także starszych stadiów rozwojowych do wieku 5-6 miesięcy, jak również określenie ewentualnego przenikania miedzi do zarodków i jej bioakumulacji w różnych częściach ciała ryb. CuO NPs będzie suplementowany w różnych stężeniach do środowiska, w którym pęcznieje ikra. Oprócz próby kontrolnej, planuje się pięć grup doświadczalnych suplementowanych na etapie pęczenia ikry różnymi stężeniami CuO NPs stężenia 4; 8; 16; 32; 64 mg CuO NPs L^{-1} . Czas kontaktu ikry z nanomiedzią będzie wynosił 3 godziny, czyli czas kontaktu jedynie podczas napęczenia ikry. Ikra będzie inkubowana standardowo. Wylęg i narybek będzie przetrzymywany i żywiony standardowo. Wzrost narybku będzie monitorowany co dwa tygodnie, próby z grup badawczych (po uśpieniu) będą ważone i mierzone. Po około pięciu-sześciu miesiącach żywienia, oszacowana zostanie przeżywalność i wzrost narybku. Wszystkie ryby zostaną poddane eutanazji w celu pobrania narządów do badań ewentualnej akumulacji miedzi w różnych narządach.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Gatunek: pstrąg tęczowy (*Oncorhynchus mykiss*).

Liczba: gamety pstrąga tęczowego - ikra 1250 ziaren oraz nasienie, z których uwzględniając naturalną śmiertelność uzyskamy łącznie 750 narybku (po 150 na każdy wariant doświadczenia). Zapłodnienie wykonane standardowo we własnym zakresie. Podczas pęczenia ikry w wodzie, oprócz grupy

kontrolnej, woda będzie suplementowana pięcioma stężeniami nano tlenku miedzi o stężeniu 4; 8; 16; 32; 64 mg CuO NPs·dm⁻³ (po około 250 ziaren ikry na każdy wariant, w tym 3 powtórzenia po około 83 ziaren ikry). Uwzględniając naturalną śmiertelność uzyskany łącznie 750 narybku (po 150 na każdy wariant doświadczenia). Ryby będą hodowane w basenach, w rutynowych warunkach, w obiegu zamkniętym w sali akwaryjnej. Co dwa tygodnie, ryby w licznie 10 osobników w każdym wariancie doświadczalnym, po eutanazji z użyciem MS-222 będą podlegały pomiarom biometrycznym a narządy przekazywane do oznaczenia stężenia w nich miedzi.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Zasada zastąpienia: Planowanych badań nie można przeprowadzić na komórkach. Badania muszą być wykonane na żywych organizmach aby zbadać wpływ miedzi na ich rozwój.

Zasada ograniczenia: Zakładana liczba ryb jest minimalną, niezbędną liczbą do uzyskania odpowiedniej liczebności osobników w poszczególnych wariantach. Do wykonania pomiarów biometrycznych zaplanowano jedynie po 10 osobników w każdym wariancie na rybach poddanych eutanazji. Od ryb w okresowych przedziałach czasowych zostaną pobrane narządy do oznaczenia zawartości stężenia miedzi pozwalając na ocenę jego akumulacji w różnych narządach w kolejnych etapach młodocianego życia.

Zasada udoskonalenia: Zapłodnienie, podchów narybku będzie przebiegać rutynowo. Ryby podczas hodowli w obiegu zamkniętym będą wzrastały w dogodnych warunkach, w pomieszczeniu w którym ich spokój nie będzie zakłócany, zabiegi pielęgnujące i karmienia będzie wykonywany przez jedną osobę. Basen w którym pływają ryby ma szary -przyjazny kolor dla narybku. Na powierzchni wody będzie umieszczony pływający styropian zajmujący około połowy powierzchni tafli wody, który umożliwi rybom schronienie. Na dnie basenu zostanie umieszczona rura, do której ryby będą mogły wpływać, by schować się.

Planowane jest zbadanie wpływu tylko 5 stężeń nanomiedzi ze względu na posiadanie jedynie 6 basenów do podchowu ryb (5 doświadczalnych i 1 kontrola). Zaplanowane stężenia CuO NPs były testowane w trakcie podchowu ikry w zeszłych latach. Uzyskano wówczas wyższe procenty zaoczkowania i wylęgu co skłoniło nas do wykonania badań wraz z podchowem ryb co planujemy w przedkładanym projekcie.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy
- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy
- ☐ NIE

¹ Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

² Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.