Муниципальное автономное образовательное учреждение

дополнительного образования «Эколого-биологический центр»

ХМАО-Югра, г. Сургут

ДО «Экология животных»

**«Влияние водородной воды на продолжительность жизни**

**домового сверчка *(Acheta domesticus)*»**

Автор: Исаев Богдан Владимирович

10 класс

Научный руководитель: Матковский Антон Валериевич

кандидат биологических наук, методист

Муниципальное автономное образовательное учреждение

дополнительного образования

«Эколого-биологический центр» г. Сургут

 2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение………………………………………………………………………………3

Литературный обзор…………………………………………………………….……5

Материал и методы исследования………………..……………………….………...7

Результаты исследования……………………….…….………………………...…...8

Выводы…..………………………………………………………………...…….…..11

Список литературы…………..…………………..…………………………………12

**ВВЕДЕНИЕ**

 Продление жизни – одна из главных задач современной биологии и медицины (Чернилевский, 1985; Голубев, 1997). Проблема продления жизни или остановка преждевременного старения настолько актуальны сегодня, что с каждым днём возникают все новые способы, призванные решить эти вопросы. Одним из таковых направлений является использование воды с различными «аномальными» характеристиками, которые способны влиять на продолжительность жизни и другие характеристики. На рынке можно встретить огромное количество приборов и препаратов, способных изменять свойства воды, а их производители обещают гарантированное продление жизни.

 Среди всевозможных типов воды с характеристиками, отличающих её от водопроводной или бутилированной, нами была выбрана водородная вода. Такая вода отличается высоким содержанием молекулярного водорода, антиоксиданта, способного проникать даже в митохондрии и нейтрализовать свободные радикалы. Водородная вода должна продлевать жизнь животным в соответствии с положениями свободнорадикальной теорией старения (Harman, 1992).

 В настоящем исследовании нами была предпринята попытка оценить действие водородной воды на некоторые стороны экологии домового сверчка *(Acheta domesticus)*. Это насекомое было выбрано в качестве объекта, поскольку является высокопитательным кормом для большого количества животных, представленных в коллекции зоопарка эколого-биологического центра. Домовый сверчок – базовый корм для обыкновенной и карликовой игрунок, тонкого лори, сплюшек, разных видов ящериц и даже рыб (араваны). Вопросы успешного культивирования домового сверчка в искусственных условиях всегда имеют важно практическое значение, поскольку успешное решение этих вопросов позволяет регулярно снабжать живым кормом животных содержащихся в условиях зоопарка. Продолжительность жизни домового сверчка в культурах часто сокращается, из-за уменьшения генетического разнообразия в искусственно созданных популяциях (Березин и др., 2008). Задачей разведения кормовых насекомых выступает в первую очередь получение здорового потомства, способного к активному самовоспроизведению для стойкого поддержания потомства. Таким образом, изучение механизмов продления жизни домового сверчка, а также способов воздействия на них в условиях искусственно созданной среды, позволяет получить больше потомства для решения вопросов потребности живого корма в зоопарках. Домовый сверчок, использует r-стратегию (Шилов, 1999), а значит, увеличивая продолжительность жизни, мы можем получить больше потомства.

 Цель работы: «Выявить влияние водородной воды на продолжительность жизни и некоторые популяционные показатели домового сверчка в лабораторных условиях»

Задачи:

1. Установить сроки созревания сверчка под влиянием изучаемой воды;

2. Определить влияние водородной воды на индивидуальную плодовитость самок;

3. Оценить воздействие изучаемой воды на продолжительность жизни домового сверчка.

**ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР**

 Существует 2 основные теории старения: теории «случайного» старения, вызванного случайными диструктивными воздействиями на организм, и теории запрограммированного старения, вызванного побочными продуктами деятельности генов, обусловливающих повышение репродуктивного здоровья (Ames and at, 1981; Allen, 2000). Обе теорий не исключают друг друга, объединяет их именно окислительный стресс. Окислительная теория старения, впервые выдвинутая Д. Харманом в 1956 г., указывает, что свободные радикалы, которые регулярно образуются в организме, взаимодействуют с клеточными структурами и провоцируют связанные с возрастом различные изменения (Harman, 1956). К свободным радикалам относят атомы или молекулы, у которых на внешнем электронном уровне один или несколько не спаренных электронов. Это позволяет свободным радикалам становиться активными окислителями, отбирающими соответствующий электрон у клеток, вступающих с ними в реакцию. Таким образом, свободные радикалы способствуют преждевременному старению и летальному исходу. Установлено, что первая линия защиты иммунной системы организма содержит ряд систем, которые выступают в роли антиоксидантов, способных нейтрализовать окислительное действие свободных радикалов. «Собственные» антиоксиданты не всегда способны останавливать действие свободных радикалов, в связи, с чем сегодня активно используются как природные вещества, обладающие высокими антиоксидантными свойствами, так и химические препараты, выполняющие аналогичную функцию (Кольтовер, 1998).

Сегодня одним из таковых дополнительных источников антиоксидантов выступает молекулярный водород. Благодаря малому размеру молекулы водорода могут проникать через биологические мембраны и нейтрализовывать свободные радикалы непосредственно в их источнике – митохондриях, а также в ядре, где они повреждают ДНК. Водород – это единственный антиоксидант, способный легко преодолевать гематоэнцефалический барьер и устранять оксиданты в мозге.

Водород как антиоксидант отличается селективностью: он избирательно устраняет только наиболее опасные оксиданты – гидроксильные радикалы, – не оказывая воздействия на полезные свободные радикалы, участвующие в важных для организма обменных процессах. Таким образом, в отличие от других известных антиоксидантов, молекулярный водород, взаимодействуя с оксидантами, не нарушает нормальный метаболизм и не вызывает негативных изменений в клетках.

Водород способен не только самостоятельно подавлять опасные свободные радикалы, но и активировать собственные антиоксидантные системы организма.

Водород создает отрицательный окислительно-восстановительный потенциал среды (ОВП = –500 мВ) и, в отличие от обычных продуктов питания и воды, имеющих положительный ОВП, не только является восстановителем, но и служит для него источником дополнительной энергии. Взаимодействуя с гидроксильными радикалами, водород превращает их в молекулы воды, не образуя никаких побочных продуктов и не вызывая цепных реакций (Канарев, 1999; Водородная вода…, 2019).

**МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Для выявления необходимых показателей, яйца домового сверчка от одной самки разделили на 2 группы. Первая группа контрольная, её поили и увлажняли субстрат в террариуме водопроводной водой с комнатной температурой (n=20). Вторая группа поилась и увлажнялась водородной водой (n=20). Воду подавали в стеклянных чашках Петри, предварительно хорошо промытых водой предназначенной для данной группы. Каждый тип воды подавали в садки с насекомыми 2 раза в сутки в одинаковом количестве, ежедневно.

Содержались насекомые в соответствии со стандартными методами культивирования сверчков (Березин, 2008). Все три экспериментальных садка стояли рядом, для исключения различий в температуре и влажности. Каждый день животных кормили в соответствии с рационом (тертая морковь и свекла, апельсины, бананы, яблоки, из животных кормов предлагалась свежезамороженная килька). Размер порции был одинаков для каждой группы.

Водородную воду получали при помощи водородного генератора Paino Portable корейской фирмы Paino. Устройство оснащено протонообменной мембраной  (сокращенно – ЭМС,  или по-английски – Membrane-electrodeassembly, MEA). Прибор позволяет за 3 минуты получить воду с содержанием водорода 1 ppm/1 л воды и ОВП=-400-500 mV, в зависимости от исходной. Содержание молекулярного водорода в воде для исследований подтверждено методом объемного анализа (оксидиметрия), с помощью титрования с использованием метиленового синего реагента. ОВП измеряли электронным ОВП-метром ORP-169E.

 О половом созревании самцов судили по началу пения, самок по наличию сформированного яйцеклада и началу спаривания. После спаривания, самок отсаживали из каждой исследуемой группы (n=10 в каждой группе) в отдельный контейнер по 1 особи и устанавливали лоток с вермикулитом. На следующий день вермикулит извлекали и равномерно распределяли на белой бумаге, после чего проводи подсчет при помощи препаровальной иглы и лупы. Продолжительность жизни исчисляли в днях с момента выхода предличинок из яиц.

Статистические показатели рассчитывали по общепринятым методикам биометрии. При расчете статистических показателей использовали следующие сокращения: *n* – число наблюдений; *М* – среднее; *m* – стандартная ошибка; *min–max*– минимальное и максимальное значение; C*V* – коэффициент вариации; S – дисперсия; *T(df)* –– значение критерия Стьюдента, где *df*– число степеней свободы; *P* – уровень надежности. *U(df)*  – критерий UУилконсона – Манна–Уитни, где *df*– число степеней свободы (Ивантер, Коросов, 2011).

**РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Исследования проводили на представителе Царства Животных, Типа Членистоногих, Подтипа Трахейнодышищих, Отряда Прямокрылых, Семейства Настоящих сверчков, Роду сверчков, домовом сверчке (*Acheta domesticus* L.).

**Скорость созревания**

Половозрелыми имаго становятся спустя 2-е суток после заключительной линьки. Домовый сверчок способен петь, но звуки издаются исключительно особями мужского пола. Стридуляция или начало пения всегда является точным показателем созревания и готовности приступить к спариванию. Известно, что *A. domesticus* способны издавать сигналы 3-х типов: для привлечения самок, для ухаживания за самкой, при возникновении конкуренции с другим самцом (Жантиев, 1981). За свою жизнь самки могут спариваться несколько раз. После заполнения сперматеки самки приступают к откладке яиц (Alexander, Otte, 1967). В каждой группе отобрано по 10 самок и 10 самцов (табл.1).

Таблица 1. Средняя продолжительность созревания домового сверчка (кол-во суток) в исследуемых группах (n=10 каждого пола в каждой группе).

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Статистический показатель | контроль | водородная вода |
| самцы | самки | самцы | самки |
| M | 22,5 | 24,9 | 20,4 | 24,0 |
| m | 0,5 | 0,2 | 0,3 | 0,3 |
| CV,% | 7,3 | 3,0 | 4,7 | 3,4 |
| U*(10;10)* | **81,5** | **90,0** |

Примечание: жирным шрифтом выделены статистически значимые различия, при α=0.01

Установлено, что средние показатели созревания между самцами и самками различаются, варьирует признак в каждой группе незначительно (табл. 1). Следовательно, для установки различий между контрольной группой и испытуемыми объектами в дальнейшем используем непараметрические методы (критерий U Уилконсона – Манна – Уитни). Группа сверчков, которых поили водородной водой, созревает раньше, чем сверки в контрольной группе (табл. 2), как самки, так и самцы.

Таблица 2. Значения U критерия Уилконсона – Манна – Уитни при сравнении созревания самцов и самок в исследуемых группах.

|  |  |
| --- | --- |
| U*(10;10)* | водородная вода |
| самцы | самки |
| контроль | самцы | **85,5** | **-** |
| самки | - | **99,5** |

Примечание: жирным шрифтом выделены статистически значимые различия, при α=0.01

Таким образом, можно предположить, что водородная вода способствует более раннему созреванию, что объясняется ускорением метаболитических процессов в организме насекомых.

**Плодовитость**

За весь период жизни самка домового сверчка способна отложить от 800 до 3636 яиц (Березин и др., 2008). Мы проводили подсчет яиц отложенных одной самкой в течение одних суток в одно и то же время, для исключения влияния нежелательных факторов. Полученные результаты представлены в таблице 3. Сравнивая показатели контроля с исследуемой группой применяем непараметрическую статистику, используя критерий U Уилконсона – Манна – Уитни, поскольку общая выборка составляет 20, то рассчитываем величину критерия Т и сравниваем полученный результат с табличным значением критерия Стьдента для *df*=∞ и α=0.1 (Ивантер, Коросов, 2011). Полученное значение при сравнение выборок для групп с водородной водой и контролем – 3.98, то и есть больше табличного Т (0.05,∞)=1.65, следовательно различия между выборками достоверны.

Таблица 3. Средняя индивидуальная плодовитость самок домового сверчка в исследуемых группах.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Статистический показатель | Контроль | Водородная вода |
| M | 34,6 | 37,3 |
| m | 10,9 | 11,8 |
| CV,% | 27,9 | 24,2 |
| Min–Max | 24–46 | 24–54 |

Таким образом, следует заключить, что водородная вода нейтрализующая свободные радикалы, значительно влияет на эколого-популяционные характеристики сверчков. Это в первую очередь проявляется в повышенной плодовитости, что имеет ключевое значение для животных использующих r-стратегию.

**Продолжительность жизни**

Продолжительность личиночного развития длится не более 7 недель, а жизни имаго 16 (Березин и др., 2008). Полученные результаты в днях представлены в таблице. 4.

Таблица 4. Продолжительность жизни домового сверчка (в днях) в изучаемых группах.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Статистический показатель | Контроль | Водородная вода |
| M | 86,8 | 123,5 |
| m | 1,5 | 0,1 |
| CV,% | 7,6 | 3,0 |
| Min–Max | 79–98 | 118–128 |
| n | 20,0 | 6,0 |

Важнейшая часть эксперимента заключалась в оценки продолжительности жизни домового сверчка, так длительность этого показателя в контрольной группе составила 98 дней, а среднее значение – 86,8. Сверчки, которых поили водородной водой, прожили 139 дней (в среднем 130,9). Выявлены статистически значимые различия (Т(38)=22,584) между исследуемой группой и контрольной. Однако следует подчеркнуть, что водородная вода не только продлила жизнь сверчку в среднем, но и существенно увеличила крайний лимит сроков жизни.

Полученные результаты позволяют заключить, что водородная вода, безусловно, оказывают определенно положительное воздействие на организм сверчка. Возможно, оно будет сказываться и на других организмах. Необходимо отметить, что применение водородной воды для культивирования домового сверчка поможет увеличить плодовитость самок и срок жизни этих насекомых, следовательно, с одной генерации можно получить больше потомства, что помогает обеспечивать животных зоопарка живым кормом регулярно. Недостаток такого подхода в стоимости водородного генератора, однако если использовать разведение сверчка в коммерческих целях, то такие затраты должны себя оправдать в скором времени.

**ВЫВОДЫ**

1. Водородная вода оказывает влияние на продолжительность созревания домового сверчка, но сроки созревания смещаются всего лишь на несколько дней, что не оказывает значимого влияния количество полученного потомства.

2. Под влиянием водородной воды происходит увеличение плодовитости самок домового сверчка. Этот показатель увеличивается как в среднем (34,6 – контроль; 37,3 –водородная вода), так и возрастают лимиты, на 8 единиц.

3. Продолжительность жизни домового сверчка под влиянием водородной воды, способна увеличиваться в среднем на 30 %. Учитывая повышенную плодовитость и более продолжительный срок жизни, культура домового сверчка, регулярно получающая водородную воду, будет более эффективной.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Березин М.В, Компанцева Т.В., Ткаченква Е.Ю., Тюрина Е.С. М. Методические рекомендации по разведению кормовых насекомых. Изд-во ГУК «МГЗП», 2008. 48 с.

# 2. Водородная вода для оздоровления и молодости // Фармацевтический вестник [Электронный ресурс] – Режим доступа :http:// Pharmvestnik.ru / Загл. с эл. экрана.

3. Голубев А.Г. Взаимная совместимость представлений о старении и продолжительности жизни, их механизмах и проявлениях на уровне организма и популяции и их эволю-ции // Успехи геронтол.–1997.–Вып. 1.–С. 25–34.

4. Жантиев Р.Д. Биоакустика насекомых. М.: Изд-во МГУ, 1981. 256 с. 5.

5. Ивантер Э. В., Коросов А. В.Введение в количественную биологию : учеб. Пособие / Петрозаводск :Изд-воПетр-ГУ, 2011. – 302 с.

6. Канарев Ф.М. Введение в водородную энергетику. "МИС-РТ" Сборник №11-2- 1999. С. 148-169.

7. Кольтовер В. К. Свободнорадикальная теория старения: современное состояние и перспективы // Успехи геронтол. 1998. Вып. 2. C. 37–42.

8. Ивантер Э. В., Коросов А. В.Введение в количественную биологию : учеб. Пособие / Петрозаводск :Изд-воПетр-ГУ, 2011. – 302 с.

9. Чернилевский В.Е. Общебиологический подход к изучению причины старения //Биологические проблемы старения и увеличения продолжительности жизни.  М. :Наука. 1985. С.21-32.

10. Alexander R.D., Otte D. Theevolutionofgenitaliaandmatingbehaviorincrickets (Gryllidae) andotherOrthoptera. - Misc. Publ. Mus. Zool.Univ. Michigan, No 133, 1967, pp.1-62.

11. Allen R. G., Tresini M. Oxidative stress and gene regulation // Free Radic. Biol. Med. 2000. Vol. 28. P. 463–499. 31.

12. Ames B., Catheart R., Hochsteun E. Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant and radicalcaused aging and cancer // Proc. nat. Acad. Sci. USA. 1981. Vol. 78. P. 6858–6862.

13. Harman D. Aging: A theory based on free radicals and radiation chemistry // J. Geront. 1956. Vol. 11. P. 298–300.