

УДК 597.551.2:591.111.1/4 + 574.64

А. А. Жиденко

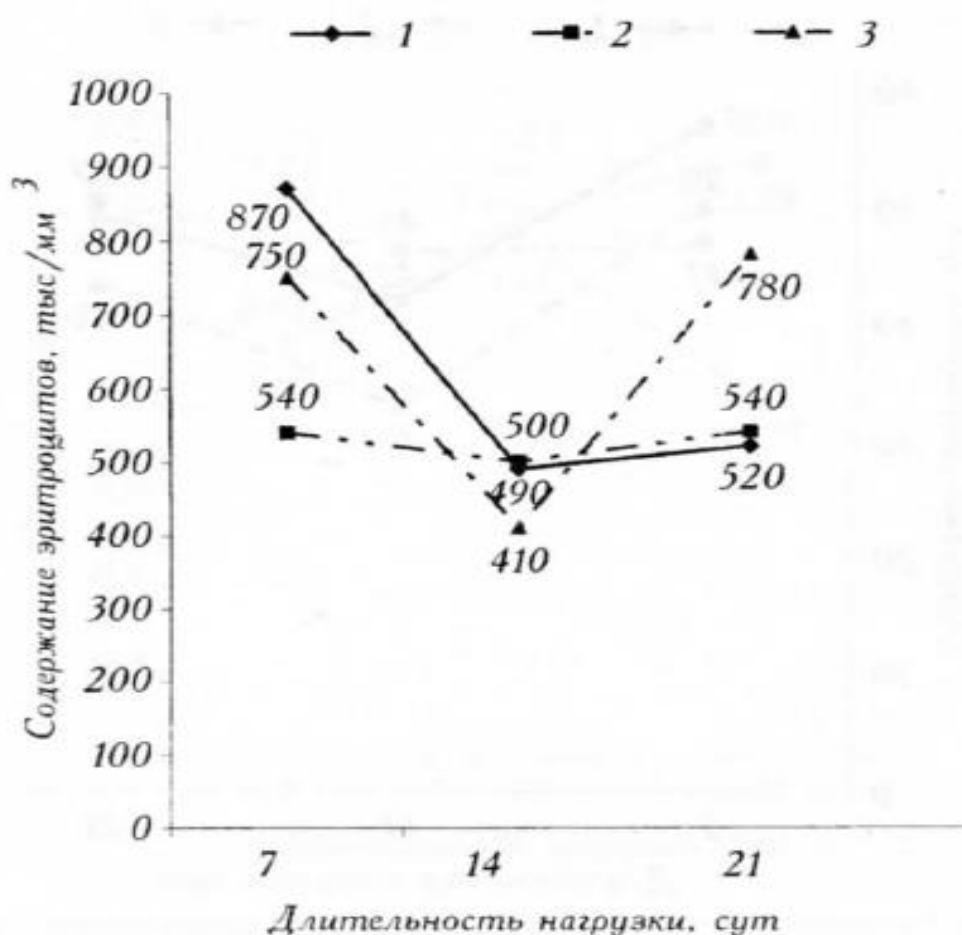
ДИНАМИКА ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МОЛОДИ КАРПА ПОД ДЕЙСТВИЕМ ГЕРБИЦИДОВ

Изучены изменения гематологических показателей сеголеток карпа в условиях гербицидной нагрузки, показана возможность срочного и долговременного этапов адаптации по отношению к раундапу. Объяснением этого является химическая природа гербицида — водорастворимого N-(фосфонометил)глицина.

Ключевые слова: гербициды, сеголетки карпа, гематологические показатели.

Кровь — это особый вид соединительной ткани, представленный мобильными клеточными элементами, для деления и дифференцировки которых необходимо взаимодействие их с индуктивным кроветворным микроокружением [1]. У большинства позвоночных очаги гемопоэза оказываются множественными, они легко перемещаются в ходе онтогенеза и при экспериментальных воздействиях [1]. У рыб к органам кроветворения относятся печень, селезенка, гонады, сердце и кишечник. Гематологические показатели, отражающие состояние систем транспорта газов, трофических и биологически активных веществ, продуктов обмена, могут изменяться в организме рыб в зависимости от экологических условий и действия поллютантов. Последние включают много различных синтетических веществ, в том числе и гербицидов, которые, попадая в открытые водоемы, оказывают неблагоприятное воздействие на гидробионтов. Их влияние может проявляться как в прямом токсическом действии, так и в непрямом (снижение содержания растворенного в воде кислорода, изменение химического состава воды). Ответная реакция рыб на действие любого токсиканта выражается, прежде всего, в изменении основных показателей крови. Гематологический анализ дает возможность выявить скрытое течение токсикоза, сигнализируя об опасности там, где все другие показатели свидетельствуют об относительном благополучии. Целью настоящей работы является изучение влияния зенкора и раундапа на динамику гематологических показателей молоди карпа (0+) в течение 7, 14, 21 суток пребывания рыб в токсических условиях.

Материал и методика исследований. Опыты проводили в 200-литровых аквариумах с отстоянной водопроводной водой. Посадку рыб производили из расчета 1 особь на 20 л воды. Концентрацию гербицидов (2 ПДК — предельно допустимые концентрации) создавали путем внесения расчетных коли-

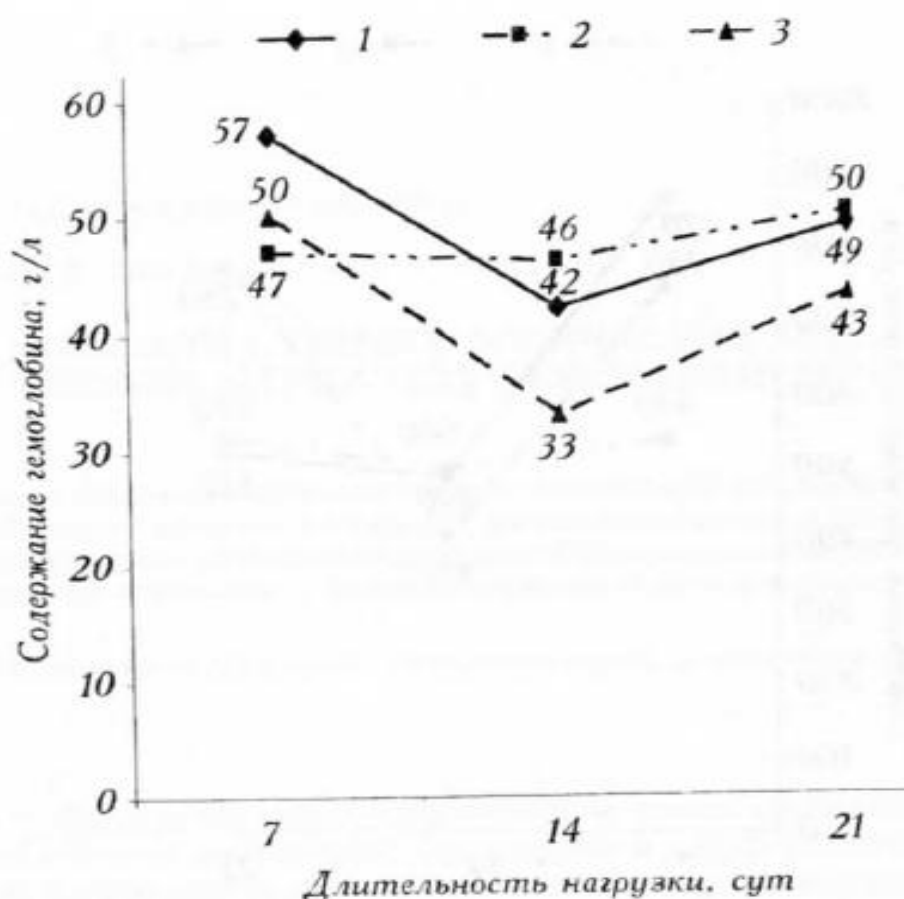


1. Динамика содержания эритроцитов в крови карпа (0+) в условиях гербицидной нагрузки. Здесь и на рис. 2—7: 1 — контроль; 2 — раундап; 3 — зенкор.

честв 70%-ного порошка зенкора и 36%-ного водного раствора раундапа. В течение всего эксперимента осуществляли контроль и поддерживали постоянные условия: pH $7,4 \pm 0,5$, содержание кислорода $5,5 \pm 0,3$ мг/л, температура воды соответствовала естественной. Кровь у рыб брали путем пункции сердца. Начальную пробу крови без первой капли использовали для определения свертываемости [9]. Остальную кровь стабилизировали путем добавления гепарина — 0,01% [10]. Для оценки морфофункционального состояния организма определяли следующие показатели крови: количество эритроцитов, скорость оседания эритроцитов (СОЭ), концентрацию гемоглобина по Сали [7]. Исходя из полученных данных, рассчитывали содержание гемоглобина в одном эритроците (СГЭ) и цветной показатель крови. Кроме того, определяли вязкость с использованием вискозиметра ВК-4 [2]. Количество кальция в крови определяли по методу де Ваарда [8]. Статистическую обработку результатов проводили по И. А. Ойвину [6].

Результаты исследований и их обсуждение

Одним из основных показателей жизнедеятельности рыбы является содержание эритроцитов. На 7-е сутки эксперимента наибольшее их количество было в крови контрольных рыб — 870 000 в 1 мкл (рис. 1).



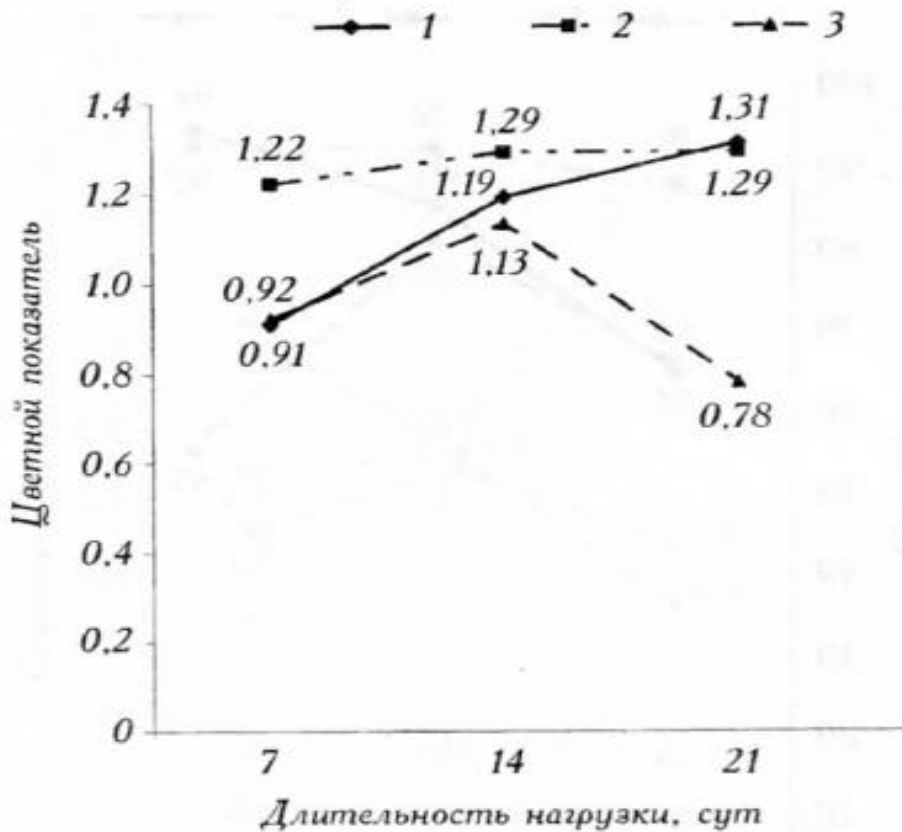
2. Динамика содержания гемоглобина в крови карпа (0+) в условиях гербицидной нагрузки.

Под действием раундапа количество эритроцитов в крови сеголеток уменьшилось на 61%, под действием зенкора — на 16%. Возможным объяснением этого является структура гербицида. Зенкор (4-амино-6-*трет*-бутил-3-(метилтио)-1,2,4-триазин-5-(4Н)-он) по химическому строению относится к группе гетероциклических соединений (триазинов), плохо растворим в воде и хорошо — в органических растворителях. Раундап (N-(фосфометил)глицин), наоборот, водорастворим, но не растворим в большинстве органических растворителей. Их действие может повлиять на запуск апоптоза (программированной клеточной гибели). Известно, что процесс апоптоза может быть запущен как внутриклеточными (изменением гормонального

Динамика содержания Ca^{2+} (мг%) в сыворотке крови карпа (0+) в условиях гербицидной нагрузки ($M \pm m$, $n = 6$)

Экспозиция	Содержание Ca^{2+} , мг%		
	контроль	зенкор	раундап
7-е сутки	$17,77 \pm 4,83$	$41,77 \pm 11,22^*$	$23,30 \pm 6,40$
14-е сутки	$25,43 \pm 1,20$	$30,37 \pm 6,17$	$63,10 \pm 5,91^*$
21-е сутки	$42,10 \pm 1,60$	$28,63 \pm 5,01$	$25,90 \pm 6,41^*$

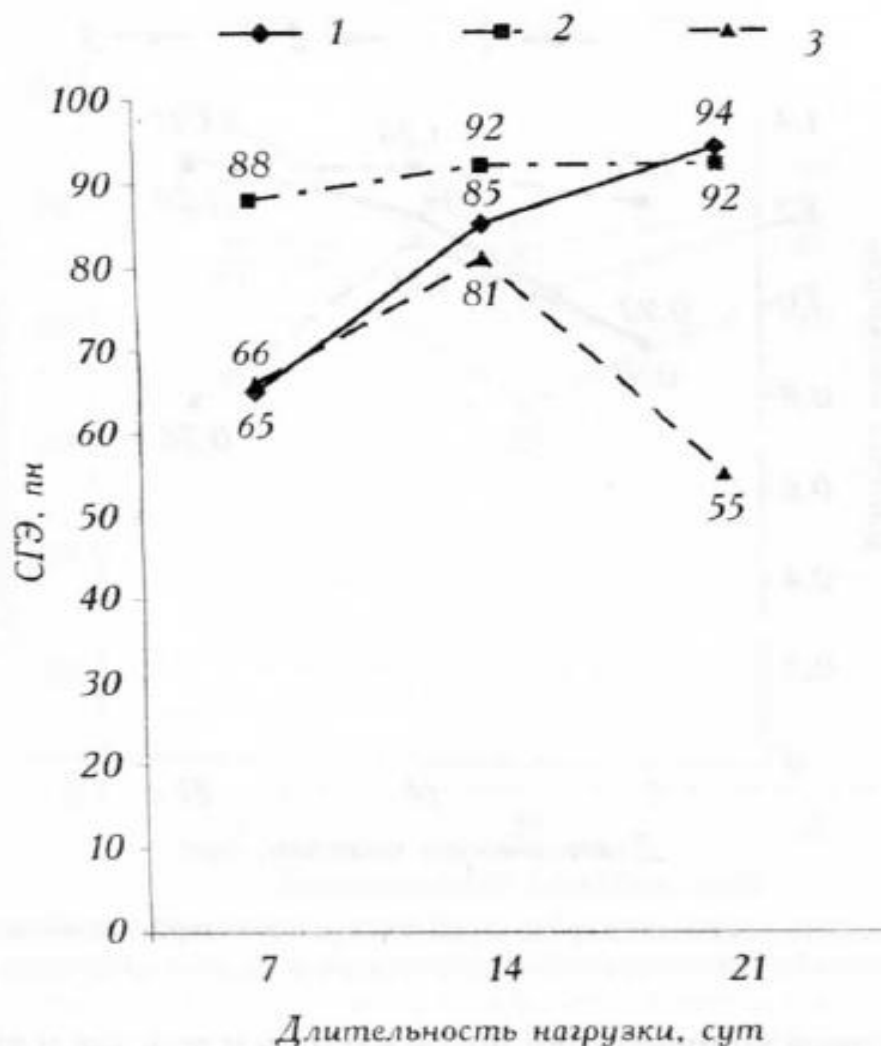
* достоверное отличие от контроля ($p < 0,05-0,001$).



3. Динамика цветного показателя в крови карпа (0+) в условиях гербицидной нагрузки.

фона, увеличением концентрации ионов кальция и др.), так и внеклеточными (изменением температуры, давления, рядом химических веществ и др.) инициирующими сигналами [3]. Доказательством возможности влияния гербицидов на запуск апоптоза является увеличение количества ионов кальция в сыворотке крови в 2,4 раза под действием зенкора и на 43% — под действием раундапа.

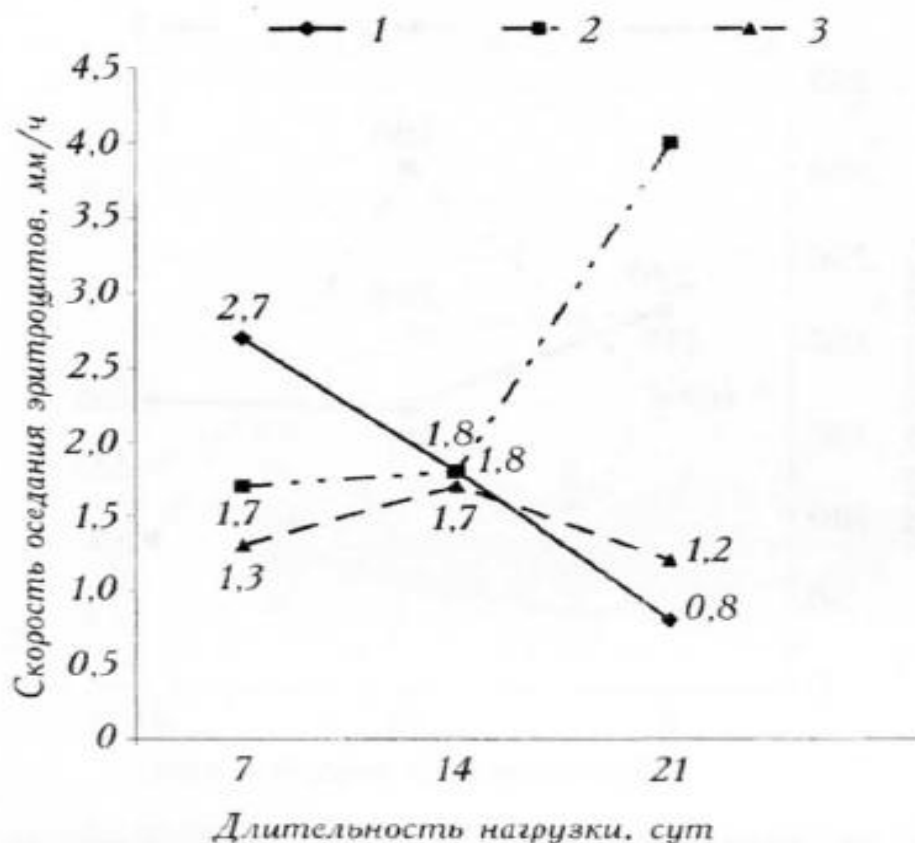
На 14-е сутки эксперимента происходит резкое снижение количества эритроцитов как в крови контрольных рыб, так и в крови рыб, находящихся под действием гербицидов, особенно зенкора (почти в два раза). Возможным объяснением является нарушение гемопоза в органах кроветворения молоди карпа или дальнейшее развитие апоптотических процессов под влиянием следующих факторов: голодания, действия токсиканта и, как следствие, увеличения содержания ионов кальция в сыворотке крови на 33% (действие зенкора) и в 2,5 раза (действие раундапа). К 21-м суткам эксперимента количество эритроцитов в крови опытных и контрольных рыб вновь возрастает, но в меньшей степени в контрольной группе; количество ионов кальция в сыворотке тех же рыб максимально — 42,1 мг%. Основным белком, содержащимся в эритроцитах, является гемоглобин. Динамика содержания гемоглобина (рис. 2) в крови молоди карпа имеет ту же тенденцию, что и динамика количества эритроцитов.



4. Динамика СГЭ (содержание гемоглобина в эритроците) в крови карпа (0+) в условиях гербицидной нагрузки.

Наименьшие показатели приходятся на 14-е сутки нахождения рыб в токсических условиях. На 7-е сутки количество гемоглобина было наибольшим в крови контрольных рыб (57 г/л), под действием зенкора его уровень снизился на 14%, под действием раундапа — на 21%, но к 21-м суткам количество гемоглобина при действии того же гербицида увеличилось и достигло величины 50 г/л. Возможно, это свидетельство формирования долговременной адаптации. Для определения насыщения эритроцитов гемоглобином рассчитывали цветной показатель и содержание гемоглобина в одном эритроците (рис. 3, 4).

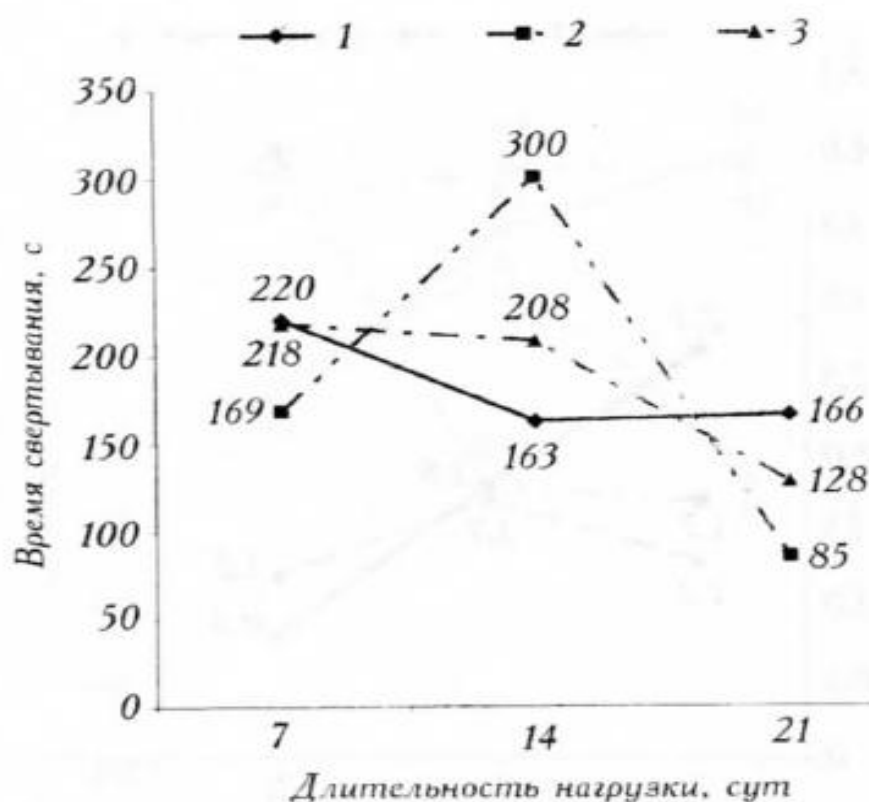
На 7-е сутки эксперимента цветной показатель крови молоди карпа в условиях нагрузки раундапом на 34% больше, чем в контроле и под действием зенкора. К 14-м суткам происходит возрастание цветного показателя крови для всех рыб, а к 21-м суткам только под действием зенкора этот показатель становится меньше единицы и составляет 0,78 (см. рис. 3). Динамика содержания гемоглобина в эритроците (СГЭ) сеголеток точно такая, как и для цветного показателя крови (см. рис. 4). Именно под действием зенкора на 21-е сутки нахождения рыб в токсических условиях насыщение эритро-



5. Динамика СОЭ в крови карпа (0+) в условиях гербицидной нагрузки.

цитов гемоглобином минимально. Это приводит к функциональной недостаточности организма и, возможно, связано с биохимическими процессами, протекающими в крови карпа под влиянием гербицида определенного класса. Показатели СОЭ (рис. 5) в течение всего эксперимента не выходят за пределы нормы, отличаясь незначительно, за исключением СОЭ на 21-е сутки под действием раундапа (увеличение в 5 раз по сравнению с контролем). Это является свидетельством увеличения содержания белков-глобулинов в плазме, что также влияет на повышение относительной вязкости крови до значения 6,4.

На рисунке 7 представлена динамика относительной вязкости крови, а на рисунке 6 — динамика свертываемости крови сеголеток в условиях гербицидной нагрузки. Изменения этих показателей коррелируют между собой. Так, на 7-е сутки эксперимента наибольшее значение вязкости — 3,4 наблюдается под действием раундапа (см. рис. 7) и оно соответствует наименьшему времени свертываемости — 169 с, то есть наибольшей скорости свертывания крови (см. рис. 6). На 21-е сутки нахождения рыб в токсических условиях наивысшее значение вязкости — 6,4 (раундап) соответствует наименьшему времени свертывания — 85 с, а наименьшее значение вязкости — 2,4 (контрольные рыбы) — наибольшему времени свертывания крови — 166 с, то есть наименьшей его скорости. На 14-е сутки такой четкой корреляции не наблюдается, возможно организм рыб еще не адаптировался к действию токсиканта: срочный этап адаптации, который протекает при мор-

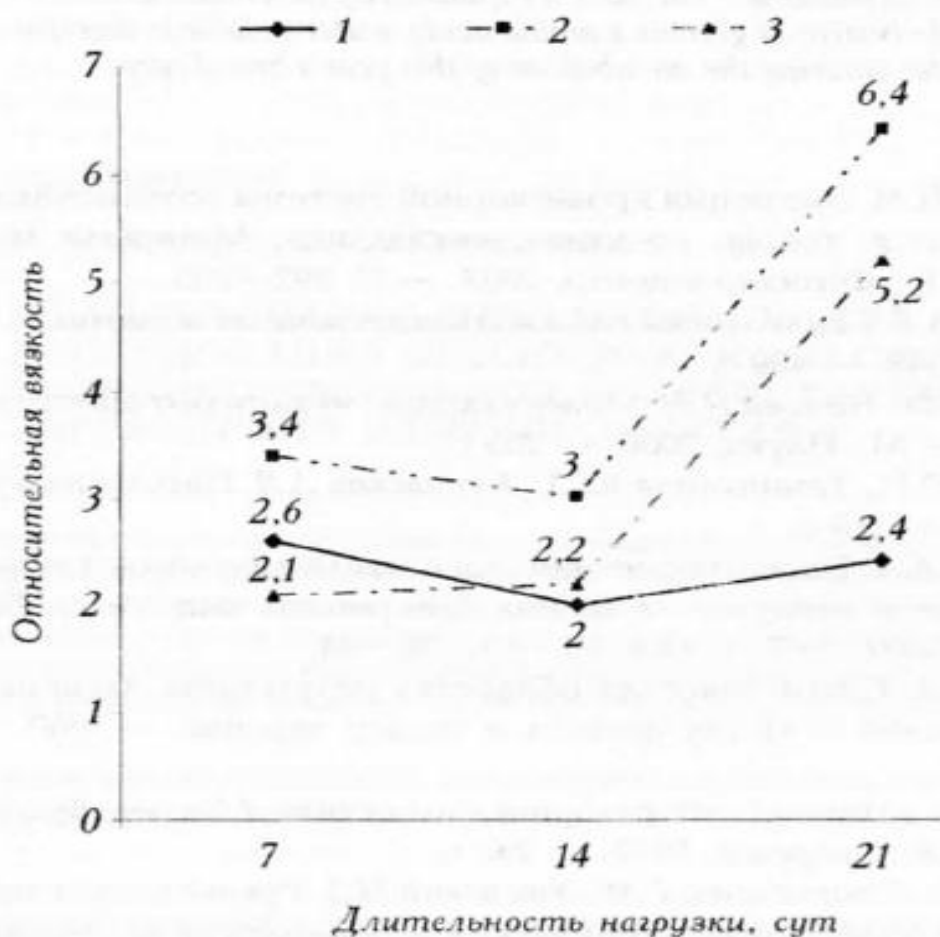


6. Динамика свертываемости крови карпа (0+) в условиях гербицидной нагрузки.

фофункциональной мобилизации внутренних ресурсов, не перешел в промежуточный и долговременный этапы [9]. Сравнивая динамику гематологических показателей молоди карпа (0+) и двухлеток, следует отметить черты сходства и отличия [5]. Действие гербицидов приводит к изменению гематологических показателей карпа: у двухлеток наихудшие показатели крови приходятся на 7-е сутки, а у молоди карпа — на 14-е сутки. Общий уровень этих показателей выше у взрослых особей.

Заключение

Анализ полученных данных показал специфичность изменений гематологических показателей молоди карпа под действием разных гербицидов. Так, по истечении 7 суток эксперимента под действием раундапа (см. рис. 1—7) изменения показателей крови более существенны (снижение уровня эритроцитов на 61%, гемоглобина на 21%, увеличение цветного показателя на 34%, СГЭ на 35%), чем под действием зенкора. С 7-х по 21-е сутки под действием раундапа происходит некоторая стабилизация состояния рыб, о чем свидетельствуют незначительные изменения величины основных показателей крови (в пределах 10% по сравнению с контролем). Под действием зенкора, наоборот, расхождения величин показателей достигают 50%. О возможности формирования долговременного этапа адаптации в организме карпа можно говорить только по отношению к раундапу. Объяснением этого является химическая природа гербицида: водорастворимый глифосат, производное аминокислоты глицина. Возможно поэтому он быстрее способен включаться в обмен веществ сеголеток карпа.



7. Динамика относительной вязкости крови карпа (0+) в условиях гербицидной нагрузки.

**

Показано неоднозначність динаміки гематологічних показників молоді коропа в умовах гербицидного навантаження. За дії раундапу зміни величин основних показників крові на 7 добу експерименту більш істотні, ніж під впливом зенкора. До 21 доби відбувається деяка стабілізація стану риб в умовах дії раундапу, про що свідчать позитивні зміни величин гематологічних показників порівняно з контролем. За дії зенкора, навпаки, розбіжності у величинах показників досягають 50%. Про можливість формуванні адаптації в організмі коропа можна говорити стосовно раундапу. Поясненням цього служить хімічна природа гербициду: водорозчинний глифосат (похідний амінокислоти гліцину), імовірно, швидше здатний включатися в обмін речовин цього літоку коропа.

**

Ambiguity of young carp's hematological parameters' dynamics under herbicidal loading is shown. Registered on the 7th day of the experiment changes in basic parameters of blood triggered by the influence of round-up are more essential than those resulting from the influence of zencor. By the 21st day the state of fish still being influenced by round-up is somewhat stabilization which is proved by positive changes in hematological parameters as compared to the control. Meanwhile the divergences in parameters reach 50% when the fish undergoes zencor impact. Thus it is possible to speak of carp's organism's

ability to adapt to round-up. This fact is explained by the chemical nature of the herbicide (glyphosate, derivative of glycine's amino acids, water-soluble): therefore it is probably capable of faster entering the metabolism of this year's brood carp.

1. Акуленко Н.М. Эволюция кроветворной системы позвоночных // Биология XXI століття: теорія, практика, викладання: Матеріали міжнар. наук. конф. — К.: Фітосоціоцентр, 2007. — С. 292—293.
2. Васильев А.В. Гематология сельскохозяйственных животных. — М.: Сельхозгиз, 1948. — 439 с.
3. Волкова Т.О., Немова Н.Н. Молекулярные механизмы апоптоза лейкозной клетки. — М.: Наука, 2006. — 205 с.
4. Давыдов О.Н., Темниханов Ю.Д., Куровская Л.Я. Патология крови рыб. — К., 2005. — 210 с.
5. Жигенко А.А. Гематологические показатели двухлеток карпа в условиях гербицидной нагрузки // Вісник Дніпропетр. нац. ун-ту. Біологія, Екологія. — 2007. — Т. 1, вип. 16. — С. 38—44.
6. Ойвин И.А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований // Патол. физиол. и exper. терапия. — 1960. — № 4. — С. 76—85.
7. Посібник з клінічної лабораторної діагностики / За ред. проф. В. Г. Денисюка. — К.: Здоров'я, 1992. — 296 с.
8. Ронин В.С., Старобинец Г.М., Утевский Н.Д. Руководство к практическим занятиям по методике клинических лабораторных исследований. — М.: Медицина, 1977. — 335.
9. Скорюков В.И. Практикум по ихтиологии. — М.: Агропромиздат, 1986. — 268 с.
10. Справочник по физиологии рыб / Под ред. А. А. Яржомбека. — М.: Агропромиздат, 1986. — 192 с.
11. Физиология адаптационных процессов. — М.: Наука, 1986. — 635 с.

Черниговский государственный
педагогический университет

Поступила 02.10.07