

ЩФ играет важную роль в функционировании гонад. Проведенные ранее исследования активности ЩФ в яичниках 6 видов сельдевых показали, что видовые отличия обнаруживаются как у зрелых, так и в незрелых гонадах, при этом наибольшие значения активности фермента отмечали в южных гонадах, при этом у рыб разных видов по-разному возрастала активность фермента в период созревания. Авторы также установили, что виды с более крупными икринками обычно имеют более низкую активность ЩФ [5]. Для яичниковой жидкости 4-х видов лососевых характерны существенные видовые отличия в активности исследуемого фермента. ЩФ принимает активное участие в метаболизме фосфолипидов, в частности образовании свободного холина из сфатидилхолина, который в свою очередь является одним из основных фосфолипидов мембран цитоплазмы. Таким образом, ЩФ наряду с протеолитическими ферментами играет важную роль в лизисе цитоплазматического эпителия в процессе высвобождения зрелых ооцитов [6]. Все исследованные особи были либо находились в состоянии подготовки к нересту, известно, что в это время в организме рыб происходят важные морфологические, гистологические и гистохимические изменения. В это время связь между печенью и гонадами особенно значительна. Печень является основным поставщиком веществ и энергии идущих на построение ооцитов [7].

Таким образом, активность щелочной фосфатазы в печени и гонадах тресковых рыб является видоспецифичной, обусловленной условиями обитания, питанием, стадией продуктивного цикла, и другими видовыми особенностями, при этом в период нереста в гонадах, и в некоторой степени в печени, могут проявляться выраженные половые отличия.

Источники литературы

- Mohamed F.A.S., Gad N.S. Environmental Pollution-Induced Biochemical Changes in Tissues of *Tilapia nilotica*, *Solea vulgaris* and *Mugil capito* from Lake Qarun, Egypt // *Global Veterinaria*, 2008. – 2 (6) – p. 327-336.
- Zakde C., Poddar A.N. Effect of steel plant effluent on acid and alkaline phosphatases of gills, liver and gonads of *Cyprinus carpio* Linn. (1758) // *International J. of environ. Sci.*, 2011. – Vol. 1. - No 6. – p.1305 – 1316.
- Жизнь животных: в 6-ти томах. — М.: Просвещение. Под редакцией профессоров Н.А.Гладкова, И.Михеева. 1970.
- Сандюк Р.П. Сравнительная оценка активности и термостабильности пищеварительных ферментов у некоторых планктоноядных и бентосоядных рыб северо-западной части Черного моря / автореферат на соискание уч. степени канд. биол. наук, 1966. – 23 с.
- Appa Rao, T. Alkaline phosphatase activity in ovaries of some clupeoides // *Indian J. Fish.*, 1979. - 26 (1) – p. 253 - 255.
- Jahnsteiner F., Weismann T., Patzner R.A. Composition of the ovarian fluid in 4 salmonid species: *Coregonus mykiss*, *Salmo trutta flaccustris*, *Salvelinus alpinus* and *Hucho hucho* // *Reprod Nutr Dev.*, 1995. - 5(5). – p. 465-74.
- Łosety M., Blanco M., Gonzalez de Canales M.L., Grau A., Sarasquete M.C. Biochemical parameters during reproduction of the toad fish, *Halobatrachus didactylus* (Schneider, 1801) // *Sci. Mar.*, 1992. - 56(1). - p. 87-94.

К 502.175:632.954:57.084

### ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПРИМЕНЕНИЯ ГЛИФОСАТА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕСТОВЫХ ОБЪЕКТОВ БИОМОНИТОРИНГА

А.А. Жиденко, Т.В. Мищенко, В.В. Кривошипца

Черниговский национальный педагогический университет имени Т.Г. Шевченко  
14013 г. Чернигов 13, ул. Гетмана Полуботко, 53, Украина, [chnpu@chnpu.edu.ua](mailto:chnpu@chnpu.edu.ua), [zaa2006@ukr.net](mailto:zaa2006@ukr.net)

В работе дается экологическая оценка использования глифосата в Черниговской области, проводится сравнительный анализ влияния гербицидов на основе глифосата на различных представителях гидробионтов, а также обосновывается возможность использования карпа в качестве тестового объекта биомониторинга.

В Черниговской области ежегодно увеличиваются площади посевов сои и кукурузы, что приводит к возрастанию динамики применения пестицидов. Так, в Талалаевском районе в 2010 г., по сравнению с 2009 г., посевы сои выросли в 4 раза, кукурузы – на 14%. При этом применение пестицидов в 2009 г. составляло 0.5 т/тыс. гектар, а в 2010 – 0.7 т/тыс. гектар. Рост использования глифосата связан с созданием с помощью генной инженерии растений, устойчивых к гербициду. Введение в геномы сои культурной (*Glycine max*) гена устойчивости к глифосату с *Agrobacterium tumefaciens* позволяет получить глифосаттолерантную сою, устойчивую



к этому гербициду. Генетически модифицированная соя (ГМС) имеет высокую урожайность и разрешена к использованию во многих странах [1]. Именно такая соя может содержаться в большом количестве пищевых продуктов.

Действующие вещество глифосат, которым обрабатываются посевы сои и кукурузы, входит в состав многих гербицидов: факел, глифос, сангли, корфосат, вулкан, раундап и др. Из этих гербицидов сплошного действия наиболее широко используется на Украине и в Черниговской области именно раундап. Так, в Черниговской области ежегодно обрабатывается им около 25 тыс. гектаров полей, в том числе 2600 гектаров в Корюковском р-не, 1300 гектаров в Менском и 2800 гектаров в Ичнянском р-нах. Указанные районы богаты водоемами, к которым сходят стоки с полей, поэтому наличие в них раундапа является предсказуемым.

Различные представители биоты имеют разную чувствительность к действию данного токсического вещества. Как показано [2], водоросли являются наиболее чувствительными к действию глифосата по сравнению с высшими водными растениями, водными беспозвоночными и рыбами. Так, средняя эффективная концентрация (ЭК50) зеленой водоросли (*Scenedesmus quadricauda*) при острой 72-часовой интоксикации составляет 4.4 мг/дм<sup>3</sup>, хроническая 96-часовая NOEC (по observed effect concentration, максимально недействующая концентрация вещества, которая не вызывает видимый эффект) для водорослей составляет 2.0 мг/дм<sup>3</sup>, при этом для ряски горбатой средняя эффективная концентрация (ЭК50) при острой 7-суточной интоксикации составляет 12.0 мг/дм<sup>3</sup>, что указывает на её большую стойкость по сравнению с водорослями. Меньшей чувствительностью обладают рыбы и водные беспозвоночные. Так, СК50 радужной форели при острой 96-часовой интоксикации составляет 38.0 мг/дм<sup>3</sup>, тогда как СК50 водных ракообразных (креветка-мизида) при тех же условиях составляет 40.0 мг/дм<sup>3</sup> [2]. При этом такая же концентрация для других водных беспозвоночных (дафния, блоха большая) не является летальной и составляет среднюю эффективную концентрацию при острой 48-часовой интоксикации. Хроническая токсичность рыб и беспозвоночных также не имеет существенных отличий в данном случае. Для радужной форели максимально недействующая концентрация вещества (NOEC) при хронической 21-суточной интоксикации составляет 25.0 мг/дм<sup>3</sup>, для водных беспозвоночных (дафния, блоха водная большая) NOEC при тех же условиях составляет 30.0 мг/дм<sup>3</sup>, что даже несколько выше, чем для рыб. Следует отметить, что гидробионты имеют большую чувствительность к глифосату по сравнению с млекопитающими и птицами, поэтому значительное число экспериментов проведено по отношению к ним. Так, исследования токсичности шести гербицидов (факел, глифос, сангли, корфосат, вулкан, раундап), действующее вещество которых – изопропиламинная соль глифосата (48%), осуществлено на ветвистоусых ракообразных [3]. Гербициды оказали определенное физиолого-биохимическое влияние на рачков, изменяя звенья обмена веществ, о чем свидетельствовали нарушения линьки, задержка роста, значительные накопления жировых капель в жировом теле, причем накопление большого количества жировых капель наблюдалось как при острых и хронически летальных, так и при сублетальных и витальных концентрациях [3]. Эти результаты согласуются с установленным нами процессом жиронакопления в тканях сеголеток карпов под действием раундапа, концентрация которого – 0.04 мг/дм<sup>3</sup> (2 ПДК) поддерживалась в течение 14 дней в воде аквариумов (Рис.). Так, содержание липидов уже на 7 сутки эксперимента достоверно увеличивалось в белых мышцах, печени и мозге (в 1.4; в 1.8 и в 2.6 раза соответственно). На 14 сутки действия глифосата тенденция сохранилась: в печени – рост в 2 раза по сравнению с контролем, в мозге – в 1.7 раза и только в белых мышцах увеличился не явилось существенным и может свидетельствовать о замедлении жиронакопления и стабилизации содержания липидов на определенном стационарном уровне (рис.). Поскольку карпы находились на эндогенном питании, такие изменения свидетельствовали об отсутствии усиленного использования липидов как энергетического субстрата и интенсивном их анаболизме, накоплении в тканях. Мозг, в отличие от других исследуемых тканей, не является жировым депо рыб, поэтому полученные данные можно объяснить возрастанием уровня полиненасыщенных жирных кислот в составе фосфолипидов мозга, что является характерным признаком влияния патогенных факторов на организм.





сунок. Содержание общих липидов в тканях сеголеток карпа под действием раундапа (M±m, 12, \* – результаты достоверно отличаются от контроля, P<0.05).

Каждый из гербицидов в той или иной степени негативно влиял на линьку и рост молоди карпов [3]. При высоких концентрациях гербицида рачки или вовсе не линяли, или линяла лишь часть особей (если линька происходила), размеры их не изменялись, наблюдалась задержка роста. Только при концентрациях 5-2.5 мг/дм<sup>3</sup> глифосата через 24 часа была отмечена линька единичных особей, а через 48 – 100% линька. При 50-100 мг/дм<sup>3</sup> раундапа через 48 часов наблюдалась 100% линька дафний, а перелиняли до этого времени лишь 50-70% молоди. При 5-25 мг/дм<sup>3</sup> раундапа 100% линька рачков происходила через 48 часов, но при концентрации 25 мг/дм<sup>3</sup> они погибали, а при 10 мг/дм<sup>3</sup>, их смертность через 48 часов составляла 65%, а через 72-140 часов – 90%. Реакция подоплыва *C. affinis* на влияние исследуемых гербицидов отличалась от реакции *D. magna*. У молоди карпа во всех фазах отравления выражены в меньшей степени, но они являются более чувствительными к действию глифосата. Так, LC50 (120 часов) для карпа при влиянии раундапа составила 5 мг/дм<sup>3</sup>, для дафний – 6.75 мг/дм<sup>3</sup>, LC100 (24-48 часов) для карпа – 10 мг/дм<sup>3</sup>, а для дафний 200-25 мг/дм<sup>3</sup>, что указывает на значительно меньшую их чувствительность [3]. Фазы интоксикации рачков свидетельствовали о наличии у гербицидов свойств нервнопаралитических ядов. Установлено, что у молоди дафний наблюдались все фазы токсического процесса: гиперактивность, нарушение координации движений, потеря равновесия, глубокое подавление функции дыхания и сердечного ритма, паралич и смерть. В других опытах установлено, что LC50 (120 часов) гербицидов, за исключением вулкана, для *D. magna* находилось в пределах 1.75-6.75 мг/дм<sup>3</sup>, а для *C. affinis* – 2.13-5.25 мг/дм<sup>3</sup>. LC50 (120 часов) гербицида для *D. magna* и *C. affinis* составляло соответственно 82.50 и 49.91 мг/дм<sup>3</sup>. Следовательно, несмотря на то, что действующее вещество у всех исследуемых гербицидов одинаково, чувствительность гидробионтов к ним значительно отличается.

Таким образом, наибольшее количество исследований влияния глифосата на гидробионтов проведено на ветвистоусых рачках, а именно *Daphnia magna*. Чувствительность изученных гидробионтов к глифосату, как показано выше, существенно не отличается от чувствительности карпа (радужная форель, плотва). Концентрации глифосата, использованные в наших исследованиях (5-10 мг/дм<sup>3</sup>) и обнаруженные в водоеме при верификации результатов эксперимента (табл.) являются витальными для всех исследуемых гидробионтов и вызывают лишь метаболические и функциональные изменения. Для установления взаимосвязи между исследованными показателями Л сеголеток карпа и концентрацией гербицида раундап, а также для прогнозирования дальнейших взаимозависимых изменений этих величин были осуществлены корреляционный, регрессионный и регрессионный анализы (p<0.05). Регрессионный анализ позволяет прогнозировать концентрацию раундапа в водоеме в зависимости от изменений показателей в тканях карпа.

**Таблица.** Показатели ПОЛ сеголеток карпа и концентрации раундапа в воде соответствующих математическим моделям

Активность ферментов / содержание субстратов в тканях		Концентрация раундапа в воде (теоретическая) мг/дм <sup>3</sup>
Активность каталазы в почках, ммоль Н <sub>2</sub> О <sub>2</sub> /см <sup>3</sup> • с	0.15 ± 0.01	0.035
Содержание гидроперекисей липидов в почках, у.е./см <sup>3</sup>	6.70 ± 0.20	0.027
Содержание малонового диальдегида в почках, мкмоль/дм <sup>3</sup>	3.40 ± 0.05	0.026

Уравнения регрессионной зависимости имеют следующий вид:

$$K_p = -0.04 + 0.01 \cdot T_n, \quad (1)$$

где  $K_p$  – концентрация раундапа (мг/дм<sup>3</sup>) в водной среде;  $T_n$  – содержание гидроперекисей липидов в почках карпов (у.е./см<sup>3</sup>).

$$K_p = 0.06 - 0.01 \cdot T_n, \quad (2)$$

где  $K_p$  – концентрация раундапа (мг/дм<sup>3</sup>) в водной среде;  $T_n$  – содержание малонового диальдегида в почках карпов (мкмоль/дм<sup>3</sup>).

$$K_p = 0.07 - 0.23 \cdot T_n, \quad (3)$$

где  $K_p$  – концентрация раундапа (мг/дм<sup>3</sup>) в водной среде;  $T_n$  – активность каталазы в почках карпов (ммоль Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>/см<sup>3</sup> • с).

Математические модели определения концентрации раундапа в воде были верифицированы в природных условиях. Из водоёма Менского района Черниговской области были взяты образцы воды и выловлено необходимое количество сеголеток карпа. В воде была установлена концентрация раундапа [4,5], в тканях рыбы определена активность необходимых ферментов и содержание субстратов соответственно приведенным математическим уравнениям, с помощью которых было получено теоретическое значение содержания раундапа в воде в каждом случае (табл. 2). Концентрация раундапа в воде в результате экспериментального определения составляет  $0.034 \pm 0.002$  мг/дм<sup>3</sup>, что соответствует результатам теоретических расчетов.

Таким образом, использование рыб как тестовых объектов биомониторинга гербицидного загрязнения водоёмов является целесообразным, поскольку они – интегрирующие системы, имеющие высокую чувствительность к изменениям среды и достаточную резистентность к сублетальным концентрациям токсичных факторов. Это дает возможность их применения как при высоких концентрациях ксенобиотиков, когда можно наблюдать изменения на организменном уровне, так и при низких, когда, невзирая на отсутствие внешних проявлений токсичного эффекта, происходят существенные изменения на биохимическом уровне, который имеет высокую чувствительность. Для регистрации этих изменений рыба является наиболее удобным объектом среди гидробионтов.

#### Список литературы

1. Трансгенная соя. Удобрения и средства защиты [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://zeno-la.com/?p=2286>
2. Глифосат: экотоксичность [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://www.rupest.ru/ppdb/glyphosate.html>. – 2011.
3. Мельничук С.Д. Оценка токсичности гербицидов на основе глифосата методом биотестирования на водистоусых рачках / С.Д. Мельничук, Э.П. Щербань, В.И. Лоханская // Гидробиологический журнал. – 2007. – Т.43. – №1. – С. 84-96.
4. Методичні вказівки з визначення мікрокількостей пестицидів в продуктах харчування, кормах та навколишньому середовищі. – Київ: Націон. аграрн. ун-т України, лабор. "Якості та безпеки лізьськогосподарської продукції", 2004. – №39. – 252 с.
5. Способ определения раундапа в биологических объектах: Патент Российской Федерации [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://ru-patent.info/21/05-09/2105973.html>.