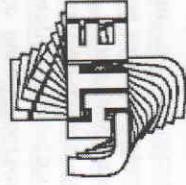


УДК 628.39  
Р.ГСНТИ 87.31.02



Министерство образования и  
науки Украины  
Черниговский государственный центр  
научно-технологической и  
экономической  
информации

## ИНФОРМАЦИОННЫЙ ЛИСТОК

№ 7-2008

Чернигов

2008

### ГЕРБИЦИДНОЕ ЗАГРЯЗНЕНИЕ ВОДОЕМОВ: МЕТОДЫ ЕГО БИОТЕСТИРОВАНИЯ И СНИЖЕНИЯ НЕГАТИВНОГО ВЛИЯНИЯ НА ГИДРОБИОНТЫ

По данным международных природоохранных организаций количество синтетизированных и выделенных из природных источников токсических веществ уже превысило 6 млн. и продолжает расти ежегодно приблизительно на 5% (Романенко В.Д., 2004). Поллютанты, входящие в промышленные стоки, изменяют физические и химические свойства воды, оказывают отрицательное действие на наземные водные сообщества и на подземные воды, которые могут быть также загрязнены и в результате негерметичных захоронений непригодных к использованию пестицидов. Кроме того, увеличение объемов производства удобрений и пестицидов необходимо в связи с применением интенсивных технологий возделывания сельскохозяйственных культур для получения высоких урожаев. Поступление инсектицидов, гербицидов и нитратов с сельскохозяйственных территорий с почвенным стоком и через атмосферу – с осадками, содержащими испаряющиеся химические компоненты поверхности почв в речные, прудовые и озерные бассейны, оказывает сильное влияние на жизнедеятельность водных организмов из-за меняющихся физико-химических свойств водной среды обитания. Для оценки токсичности загрязняющих веществ в водоеме, помимо данных гидрохимического анализа воды, необходимы интегральные, биологические показатели. Определение вредного действия токсических веществ на гидробионтов составляет основу биотестирования, цель которого – выявить эти изменения у них на возможно ранней стадии. В отличие от наземных животных, рыбы не способны избежать контакта с токсическими веществами, поэтому их можно использовать в качестве тест-объекта. Кроме того, рыбы представляют конечное звено в трофической цепи водоемов и являются пищей для человека. Последствия загрязнения водных экосистем могут быть причиной снижения

оценки и критерии токсичности гербицидов для рыб и человека позволяют с высокой точностью оценить биологическую опасность гербицидного загрязнения. Большинство методов исследования указанных показателей доступны и легко воспроизводятся в лабораториях рыбхозов и учреждений охраны природы и вод. Предлагаем описание методик.

Автор: Жиденко Алла Александрівна, доцент кафедри ботаніки, зоології й охорони природи, кандидат біологічних наук.

#### Додаткову інформацію можна отримати за адресою:

14013, м. Чернігів, вул. Гетьмана Полуботка, 58, Чернігівський державний педагогічний університет імені Т.Г.Шевченка, кафедра ботаніки, зоології й охорони природи.

zaa2006@ukr.net

тел. (0462)95-66-04, (04622) 3-21-06

Матеріал надійшов 08.07.2008 р.

Ответственный за выпуск директор ЦНТЭИ Е.В.Криворучко

Подписано к печати 15.08.2008 г. Формат 60x84 1/16. Бумага тип.

Печать офсетная. Усл.печ.л. 0,23. Уч.-изд.л., 0,08. Тираж 100.

Подразделение ОП ЦНТЭИ, 14000, Чернигов, ул. Пятницкая, 39

рыбопродуктивности внутренних водоемов и отрицательно влиять на здоровье человека. Пестициды, ионы тяжелых металлов, имея кумулятивные свойства, способны в определенной мере накапливаться в рыбе, что может привести к изменениям эмбрионального и постэмбрионального развития, нарушению биохимических и физиологических процессов в организме рыб. Как свидетельствуют зарубежные источники, употребление загрязненной рыбы может привести к дефектам в протекании беременности у женщин и понижению иммунитета в организме человека (I.Nertz-Riccio et al., 2008). В лаборатории экологической физиологии и биохимии Черниговского государственного педагогического университета изучено влияние наиболее используемых в сельском хозяйстве и на дачных участках гербицидов: зенкора – метрибузина; производных 2,4-дихлорфеноксисульфоновой кислоты (2,4-Д) и раундапа на карпе (*Cyprinus carpio* L.) разного возраста. Кроме того, разработаны новые методы биотестирования этих гербицидов в количестве 2 ПДК (предельно допустимые концентрации) с помощью рыб. По данным «Перечня пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к использованию в Украине за 2006 год метрибузин (4-амино-6-третбутил-3(метилтио)-1,2,4-триазин-5(4Н)-он, 0,2 мг/л), в качестве активного начала используется в 3 гербицидах, производные 2,4-Д (аминной соли 0,2 мг/л и бутилового эфира 0,008 мг/л) – в 18 гербицидах, различные соли глифосату (N-фосфометилглицина, 0,04 мг/л) – в 41 гербициде производства разных стран (Украины, России, Польша, Швейцария, Израиль и др.). Исследования по накоплению производных 2,4-дихлорфеноксисульфоновой кислоты, проведенные Мехед О.Б. (2006), показали, что по истечении 14 суток пребывания рыб в токсических условиях максимальное количество 2,4 Д бутилового эфира накапливается в печени и мозге мальков по сравнению с другими органами сеголеток и двухлеток карпа ( $8,12 \pm 0,40$ ;  $16,40 \pm 0,04$  мг/кг). В связи с тем, что раундап и зенкор в отличие от производных 2,4 Д обладают слабо выраженными кумулятивными свойствами (Под ред. Павлова С.В., 1986), их накопление было определено не по органам, а на целом организме мальков. Для раундапа оно составило  $9,73 \pm 1,03$  мг/кг, для зенкора оно минимально и равняется  $3,98 \pm 0,79$  мг/кг. Накопление гербицидов в органах карпа может влиять на изменения состава ткани, но количество сухого вещества в исследуемых органах мальков практически не меняется. Для сеголеток характерно увеличение доли сухого вещества и только у двухлеток карпа происходит противоположный процесс - увеличивается процент воды в мышцах. Как известно, в процессе голодания наблюдается значительная деградация клеток мышечной ткани, подчиняющаяся закону „все” или „ничего”, происходит снижение содержания нерастворимых белков в мышцах и увеличение воды. Возможно, использование структурных компонентов тканей у двухлеток карпа происходит в условиях гербицидной нагрузки в энергетических целях. Уже на 4-й день опыта в гистопрепаратах скелетной

мускулатуры рыбы отмечено утончение мышечных волокон по сравнению с белыми мышцами контрольных рыб (рис.1.), что приводит к их гипотрофии. На 7-й день эксперимента наблюдается появление отека и выраженной гипотрофия мышечных волокон, лизис эндомизия, фибрилл сарколеммы. Через 14 суток выявлено нарушение структуры мышечных волокон, неупорядоченное их расположение, в некоторых участках обнаружено отсутствие поперечной полосатости, которая определяется белками Z-диска; лизис телофрагмы и мезофрагмы (рис. 2.).

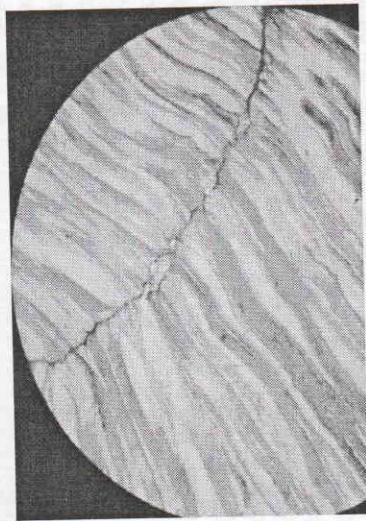


Рис. 1. Белые мышцы карпа (контроль)

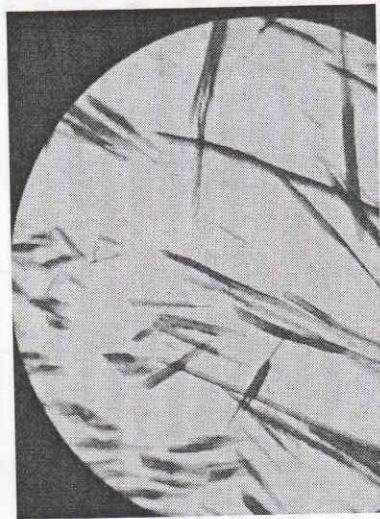


Рис. 2. Структурные изменения в белых мышцах карпа под влиянием раундапа (14сутки).

В гистопрепаратах скелетных мышц двухлеток карпа, которые находились под влиянием зенкора существенных изменений с мышечной тканью не зафиксировано, а под действием 2,4-Да на протяжении 4-х суток, местами отмечается незначительное утончение волокон, через 7 дней отмечается гипотрофия мышечных волокон и значительное их утончение. Сравнительные полученные нами данные, с результатами по

патологии осетровых, характеризующейся расслоением мышечной ткани и обнаруженной в конце 80-х годов можно отметить черты сходства. Увеличение активности гиалуронидазы в мышцах способствует расщеплению гиалуроновой кислоты, входящей в состав протеогликанов, которые в свою очередь являются компонентом, склеивающим мышечные клетки. Предполагается, что в процессе развития данной патологии наряду с коллагеном протеогликаны могут быть мишенью гидролаз. Полученные в нашем эксперименте результаты: уменьшение содержания нерастворимых белков в мышцах и увеличение процента влаги, свидетельствуют о возможности протекания тех же процессов, что и при расслоении мышц осетровых, о сдвиге обмена веществ в направлении катаболизма. Под действием гербицидов изменяется соотношение фракций: под действием зенкора увеличивается уровень нерастворимых белков на 15% и уменьшается солерастворимых на 16% по сравнению с контролем, поэтому разрушения мышечных волокон под действием зенкора не происходит. Под действием 2,4-Д и раундапа – наоборот: уменьшение количества нерастворимых на 19%, на 41% и увеличение водо- и солерастворимых (на 15%, на 25%, на 4% и 16%) по отношению к контролю. Водорастворимые белки представлены саркоплазматическими белками-ферментами, катализирующими процессы гликолиза, митохондриальными ферментами – тканевое дыхание и другие процессы, обеспечивающие энергетический обмен для поддержания жизнедеятельности рыб. Гипопротеинемия – постоянный и патогенетически важный симптом нефротического синдрома, поражения печеночных клеток, увеличения проницаемости стенок капилляров, при белковой недостаточности, поражении пищеварительного тракта.

На основании исследований по содержанию катионов кальция в крови и органах двухлеток карпа, находящихся в условиях гербицидной нагрузки нами предлагается коррекция обмена веществ за счет увеличения содержания кальция в воде до 100мг/мл и тем самым изменения концентрации катионов кальция в крови и органах двухлеток карпа. Были определены следующие изменения концентрации катионов кальция: на 7 сутки эксперимента концентрация  $Ca^{2+}$  в сыворотке крови двухлеток карпа под действием зенкора уменьшилась на 7,3%, под действием раундапа увеличилась на 82,0% по сравнению с контролем. Известно, что у пресноводных рыб вода и многие неорганические ионы, в том числе  $Ca^{2+}$ , абсорбируются аппаратом жабр, сразу поступают в общий кровоток, в то время как у морских рыб и наземных позвоночных в артериальной крови они появляются только после прохождения через печень.

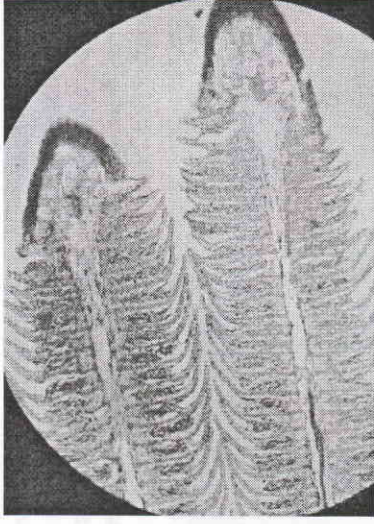


Рис.5. Жабры карпа (контроль).

При пребывании рыбы в токсических условиях зенкора уже на четвертый день отмечаются структурные изменения в жабрах (рис.6.) по сравнению с жабрами контрольных рыб (рис. 5.). В гистопреparate жабр карпа отмечается выраженный межклеточный отек эпителия филламентов. Филламенты – это структурные единицы жаберной пластинки, расположенные на выпуклой стороне жаберной дуги (первичные жаберные ламеллы). От основания до вершины каждой первичной ламеллы (филламента) на одинаковом расстоянии под углом 40-50° параллельно друг другу отходят вторичные респирационные ламеллы. Они имеют треугольную или трапециевидную форму и разную длину. В центральном участке они длиннее, чем на вершине и в базальной части филламента. Интенсивность газообмена у рыб находится в прямой зависимости от площади и количества респирационных ламелл. В результате токсического действия зенкора отмечается изменение формы респирационных ламелл через выраженное колбообразное набухание, расширение дистальных участков жаберных филламентов и значительное увеличение объема клеток (рис. 6.). Подобные преобразования, способствующие увеличению дистанции «кровь - среда», уменьшают поступление токсического вещества, ослабляя прямое воздействие с токсиканта. Таким образом, все вышеперечисленные изменения с жаберной тканью можно рассматривать, как проявление срочного этапа адаптации к изменению химического состава водной среды. На 7-й день пребывания карпа в условиях гербицидной нагрузки зенкором, отмечается межклеточный отек эпителия филламентов с незначительной деструкцией, местами остается незначительное набухание респирационных ламелл. После 14 суток пребывания рыбы в токсических условиях зенкора, в ее жабрах отмечается гипертрофия дистальных участков филламентов, межклеточный отек с более выраженной деструкцией в респирационных ламеллах (рис. 7.). Под действием раундапа таких изменений с жабрами не происходит, так как глифосат хорошо растворим в воде и не задерживаясь проникает через

жабры в кровь и далее во внутренние органы и мышцы. Исследуя утилизацию кальция из воды головиками карпа, Н.П.Боговялевская установила, что 68-88% мененого кальция проникает в организм через жабры и 12 – 32% через кожу. У рыб, имеющих чешуйчатый покров, через кожу утилизируется 12%, а через жабры - 88%.

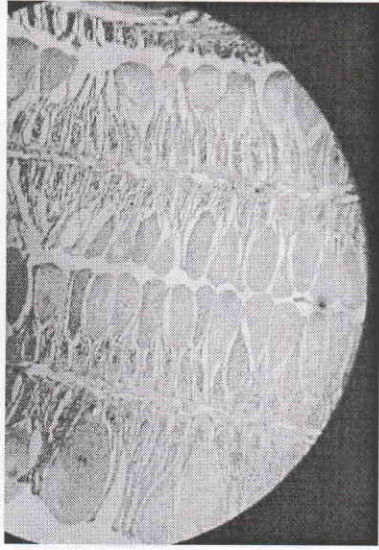


Рис. 6. Структурные изменения жабр двухлетки карпа в условиях нагрузки раундапом (4 сутки)

Поэтому поступление катионов кальция из воды в организм рыб при действии зенкора снижается, под действием же раундапа структурные изменения в жабрах проявляются лишь на 14 сутки опыта и они не столь значительны. Поэтому содержание катионов кальция в крови карпа, испытывающих действие раундапа в 2 раза больше, чем под действием зенкора. Как установлено санэпидстанцией, и подтверждено нашими исследованиями водопроводная вода в г. Чернигове относится к жесткой, в ней содержится 12 мг экв/л или 240мг% солей кальция и магния, поэтому такой путь поступления ионов кальция в организм рыб возможен.

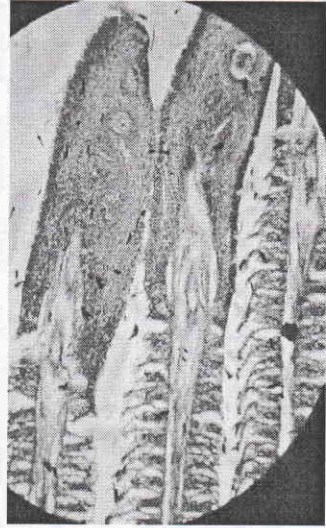
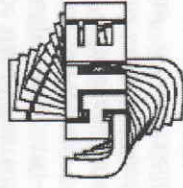


Рис. 7. Структурные изменения жабр двухлетки карпа в условиях нагрузки раундапом (14 сутки)

На 14 сутки эксперимента количество ионов кальция уменьшается под действием зенкора на 80,7%, а под действием раундапа на 51,5% по сравнению с контролем. Объяснением может быть прогрессирующая гипертрофия дистальных участков филламентов, межклеточный отёк, с выраженной деструкцией в респирационных ламеллах (зенкор) и нахождение в просвете кишечника камней карбоната кальция белого цвета (раундап). Кроме того, адсорбция катионов из воды и их экскреция осуществляется у рыб специальными клетками, расположенными в жабрах. Доказано, что ионы кальция также могут не только абсорбироваться жабрами из воды, но и выделяться их железистыми клетками. Нами было определен уровень ионов кальция в воде, где находились рыбы на 14 сутки по окончанию эксперимента. Необходимо учитывать, что вода в аквариумах постоянно обновлялась (каждые три дня), и поэтому в этой воде фактически рыбы находились только трое суток, то есть пополнение организма карпа  $Ca^{2+}$  возможно. Наименьшее количество ионов кальция (4,0 мг%) было в воде, где содержались контрольные рыбы, жабры которых нормально функционировали и не имели морфологических повреждений. В опытах на золотой рыбке показано, что даже с увеличением количества усвоенного из пищи кальция заметно не уменьшается его поступления в результате прямой абсорбции этого элемента из водной среды. Поступающие из воды ионы кальция у водных животных распределяются уже в течение часа по всем органам и тканям. Наибольшее количество кальция обнаруживается в чешуе, костях жаберных крышек, осевом скелете рыб. Сравнительно меньше его количество депонирует в мягких тканях. Значительное содержание кальция наблюдается в жаберных лепестках, то есть структурах, участвующих в его утилизации из воды. Известно, что кальций участвует в регуляции проницаемости клеточных мембран, электрогенезе нервной, мышечной и железистой тканей, процессах синаптической передачи, молекулярном механизме мышечного сокращения, развитии секреторного и инкреторного процессов пищеварительных и эндокринных желез, энергетическом обмене. Поэтому увеличение катионов кальция в воде при гербицидном загрязнении необходимо для коррекции энергетического обмена у рыб. Кроме того, нами определена также патология печени и головного мозга под действием исследуемых гербицидов, наиболее негативное влияние на эти органы оказывают производные 2,4-Д.

Детальное изучение патоморфологической, гистологической картины интоксикации гербицидами двухлеток карпа можно использовать для определения причин гибели рыб в естественных водоёмах. Предлагается метод биоиндикации токсических загрязнений водоёмов, используя фотогафии гистопрепаратов и описание патологии органов под действием различных органических токсикантов, предлагается набор фотогафий, фиксирующих динамику тканевых изменений основных органов карпа под действием исследуемых гербицидов (раундапа, зенкора и производных 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты). Названные способы

УДК 628.39  
Р.ГСНТИ 87.31.02



Министерство образования и  
науки Украины  
Черниговский государственный центр  
научно-технической и  
экономической  
информации

## ИНФОРМАЦИОННЫЙ ЛИСТОК

№ 7-2008

Чернигов

2008

### ГЕРБИЦИДНОЕ ЗАГРЯЗНЕНИЕ ВОДОЕМОВ: МЕТОДЫ ЕГО БИОТЕСТИРОВАНИЯ И СНИЖЕНИЯ НЕГАТИВНОГО ВЛИЯНИЯ НА ГИДРОБИОНТЫ

По данным международных природоохранных организаций количество синтетизированных и выделенных из природных источников токсических веществ уже превысило 6 млн. и продолжает расти ежегодно приблизительно на 5% (Романенко В.Д., 2004). Поллютанты, входящие в промышленные стоки, изменяют физические и химические свойства воды, оказывают отрицательное действие на наземные водные сообщества и на подземные воды, которые могут быть также загрязнены и в результате негерметичных захоронений непригодных к использованию пестицидов. Кроме того, увеличение объемов производства удобрений и пестицидов необходимо в связи с применением интенсивных технологий возделывания сельскохозяйственных культур для получения высоких урожаев. Поступление инсектицидов, гербицидов и нитратов с сельскохозяйственных территорий с почвенным стоком и через атмосферу – с осадками, содержащими испаряющиеся химические компоненты поверхности почв в речные, прудовые и озерные бассейны, оказывает сильное влияние на жизнедеятельность водных организмов из-за меняющихся физико-химических свойств водной среды обитания. Для оценки токсичности загрязняющих веществ в водоеме, помимо данных гидрохимического анализа воды, необходимы интегральные, биологические показатели. Определение вредного действия токсических веществ на гидробионтов составляет основу биотестирования, цель которого – выявить эти изменения у них на возможно ранней стадии. В отличие от наземных животных, рыбы не способны избежать контакта с токсическими веществами, поэтому их можно использовать в качестве тест-объекта. Кроме того, рыбы представляют конечное звено в трофической цепи водоемов и являются пищей для человека. Последствия загрязнения водных экосистем могут быть причиной снижения

оценки и критерии токсичности гербицидов для рыб и человека позволяют с высокой точностью оценить биологическую опасность гербицидного загрязнения. Большинство методик исследования указанных показателей доступны и легко воспроизводятся в лабораториях рыбхозов и учреждений охраны природы и вод. Предлагаем описание методик.

Автор: Жиденко Алла Александрівна, доцент кафедри ботаніки, зоології й охорони природи, кандидат біологічних наук.

#### Додаткову інформацію можна отримати за адресою:

14013, м. Чернігів, вул. Гетьмана Полуботка, 58, Чернігівський державний педагогічний університет імені Т.Г.Шевченка, кафедра ботаніки, зоології й охорони природи.

zaa2006@ukr.net

тел. (0462)95-66-04, (04622) 3-21-06

Матеріал надійшов 08.07.2008 р.

Ответственный за выпуск директор ЦНТЭИ Е.В.Криворучко

Подписано к печати 15.08.2008 г. Формат 60x84 1/16. Бумага тип.

Печать офсетная. Усл.печ.л. 0,23. Уч.-изд.л., 0,08. Тираж 100.

Подразделение ОП ЦНТЭИ, 14000, Чернигов, ул. Пятницкая, 39