

.....  
.....  
"  
"  
"  
"  
"  
"  
"  
"  
"  
"  
"  
"  
"  
"  
"  
"  
"  
"  
"  
"  
"  
"

Zhydenko A. A.  
Haematological parameters of the two-years-old carp under herbicides burden

УДК 597.551.2 : 691.111.1/4 : 574.64

А. А. Жиденко

*Черниговский государственный педагогический университет им. Т. Г. Шевченко*

## **ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ДВУХЛЕТОК КАРПА В УСЛОВИЯХ ГЕРБИЦИДНОЙ НАГРУЗКИ**

Проаналізовано вплив гербіцидів різного хімічного складу в кількості 2 ГДК (гранично допустимі концентрації) на зміни головних гематологічних показників і формування адаптації у дволіток коропа. Терміновий етап адаптаційних реакцій формується швидше і більше виражений у риб під дією зенкору; поступовий розвиток довготривалої адаптації спостерігається за умов дії раундапу. Наслідком впливу похідних 2,4-Д є зниження наступних показників крові: вмісту гемоглобіну, кольорового показника, ВГЕ (вмісту гемоглобіну в еритроциті), ШОЕ (швидкості осідання еритроцитів), що свідчить про уповільнення формування адаптаційних реакцій у дволіток коропа.

Influence of different chemical herbicides in a concentration of 2 MAC (maximum allowable concentration) on changes of the basic haematological parameters and formation of adaptive reactions of two-years-old carp is presented. Mostly rapid and pronounced urgent stage of the adaptive response is formed under the influence of Zencor. The gradual development of the long-term adaptation was launched by Roundup. 2,4-D reduced the following blood parameters: the haemoglobin level, colour index, erythrocytes' haemoglobin content, erythrocyte sedimentation rate (ESR). That is the evidence of non-formation of adaptation.

### **Введение**

Ежегодно в производство внедряются десятки новых гербицидов для увеличения урожайности сельхозкультур и борьбы с сорной растительностью. Их применение приводит к загрязнению водоемов, созданию стрессовой ситуации для гидробионтов и, в первую очередь, рыб. Возможность выживания и создания потомства зависит от адаптационных реакций, которые возникают в ответ на действие стресс-

---

© А. А. Жиденко, 2007

38"

фактора. При всем разнообразии индивидуальной фенотипической адаптации в ее развитии прослеживаются два этапа, а именно: начальный этап срочной, но несовершенной адаптации и последующий этап – совершенной долговременной адаптации [11]. Срочный этап адаптационной реакции возникает непосредственно после начала действия раздражителя и, следовательно, может реализоваться лишь на основе готовых, ранее сформировавшихся физиологических механизмов, что влияет на изменения гематологических показателей у рыб.

Именно кровь, являясь внутренней средой организма, отражает биохимические процессы, протекающие в клетках и межклеточном пространстве, в ответ на действие неблагоприятных факторов среды. Ю. Л. Волынкин утверждает [3], что зимой происходит медленный эритропоз и накопление гемоглобина в организме рыб, так как выведение продуктов его разложения из организма с желчью через кишечник затрудняется. Этот процесс характерен и при псевдомонозе годовиков карпа. По мнению И. А. Парфенова [8], экспериментальная гипоксия вызывает у скорпены (*Scorpaena porcus* L.) достоверный рост значений гематокрита по сравнению с контролем, увеличение объема эритроцитов, объема их ядер, при сохранении их численности в крови. В работе [5] показано, что действие катионов цинка разной концентрации в воде (0,1, 5,0 мг/л) вызывает в крови карпа (*Cyprinus carpio* L.) изменения прооксидантного характера, которые связаны с увеличением интенсивности ПОЛ и уменьшением активности супероксиддисмутазы эритроцитов и плазмы. Цитируемые авторы не связывают полученные изменения показателей крови рыб ни с одним из этапов адаптации.

Хотя известно, что важнейшей чертой срочного этапа адаптации является то, что деятельность организма протекает на пределе его физиологических возможностей – при почти полной мобилизации функционального резерва. К сожалению, процесс этот не экономичен и не в полной мере обеспечивает необходимый адаптационный эффект [11]. Только долговременный этап адаптации, который возникает постепенно, развиваясь на основе многократной реализации срочной адаптации, приводит к тому, что организм приобретает новое качество, способствующее нормальному существованию в измененных условиях окружающей среды. Поэтому цель настоящей работы состояла в том, чтобы, проследив изменения гематологических показателей двухлеток карпа в ответ на действие гербицидов разного химического состава, показать особенности формирования адаптационных реакций.

### Материал и методы исследований

Объектом исследования служили двухлетки карпа (*Cyprinus carpio* L.), выращенные в ОАО «Черниговрыбхоз» до массы 250–300 г. Влияние гербицидов 2 ПДК (предельно допустимые концентрации) проверяли путем внесения расчетных количеств 40 % водного раствора 2,4-дихлорфеноксисукусной кислоты аммонийной соли (2,4-ДА) или бутилового эфира (2,4-ДБЭ) (0,008 мг/дм<sup>3</sup>); 70 % порошка зенкора (0,2 мг/дм<sup>3</sup>) и раствора раундапа (0,004 мг/дм<sup>3</sup>) в 200-литровые аквариумы. Рыбу помещали из расчета один экземпляр на 40 л воды, с поддержанием постоянного гидрхимического режима (величина *pH* составляла 7,8±0,3, содержание кислорода – 5,6±0,4 мг/л, температура воды – +6...+10°C).

На 1-е, 4-е, 7-е и 14-е сутки эксперимента у рыб брали кровь путем пункции сердца. Начальную пробу крови без первой капли использовали для определения ее свертываемости [10]. Остальную кровь стабилизировали путем добавления гепарина – 0,01 % (в 1 мг препарата 130 ЕД) [12]. Для оценки морфофункционального состояния организма определяли следующие показатели крови: количество эритроцитов (подсчет осуществляли в камере Горяева), скорость оседания эритроцитов (СОЭ),

концентрацию гемоглобина (по Сали) с использованием гемометра [9]. Исходя из полученных данных, рассчитывали содержание гемоглобина в одном эритроците (СГЭ), цветной показатель крови [9]. Кроме того, определяли вязкость с использованием вискозиметра ВК-4, удельный вес крови по Шмальцу [2], резистентность эритроцитов по О. Н. Давыдову и содержание белка по Лоури [4]. Статистическую обработку результатов проводили по И. А. Ойвину [7].

### Результаты и их обсуждение

Установлена неоднозначность возможных путей формирования ответных реакций организма в течение 14 суток на действие каждого из гербицидов, о чем свидетельствует различная динамика гематологических показателей двухлеток карпа (рис. 1–7).

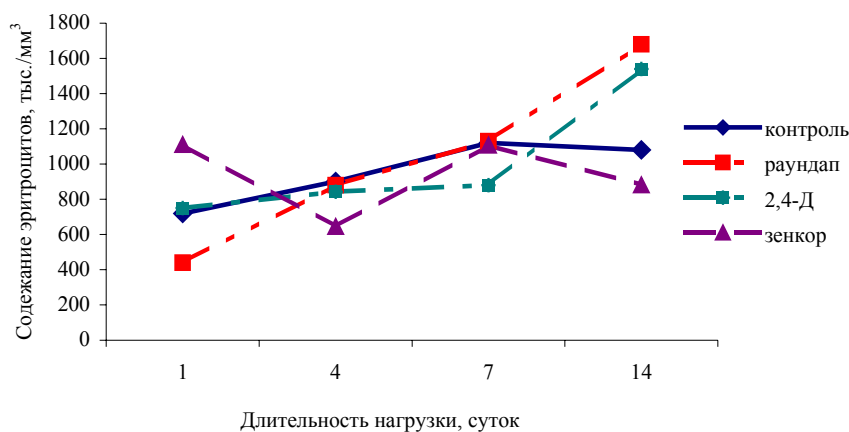


Рис. 1. Динамика содержания эритроцитов в крови двухлеток карпа в условиях гербицидной нагрузки

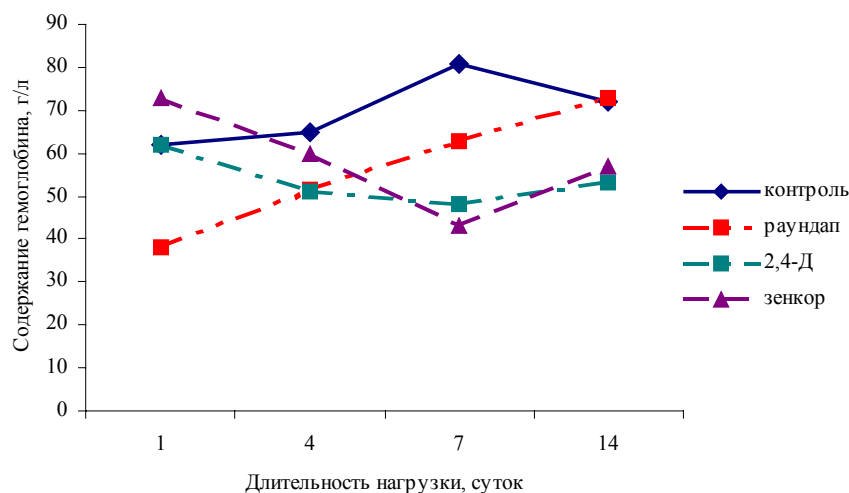


Рис. 2. Динамика содержания гемоглобина в крови двухлеток карпа в условиях гербицидной нагрузки

После первых суток пребывания карпов в токсических условиях наибольшая мобилизация физиологических ресурсов организма проявляется под действием зенкора, что выражается в максимальном увеличении содержания эритроцитов, гемоглобина, белков плазмы (рис. 1–5). Косвенным доказательством последнего является увеличение СОЭ почти в четыре раза. Известно, что скорость оседания эритроцитов зависит от физиологического состояния организма, которое влияет на уровень бел-

ков-глобулинов в плазме. Повышение их содержания приводит к нейтрализации отрицательного заряда эритроцитов, путем их адсорбции. Вследствие этого эритроциты образуют конгломераты, которые, будучи более тяжелыми, быстрее оседают [4]. Менее выражена срочная адаптация под действием раундапа, поскольку содержание эритроцитов, гемоглобина уменьшается в 1,6 раза. Остальные показатели по сравнению с контролем изменяются незначительно. Под действием производных 2,4-Д величины показателей крови почти не изменяются.

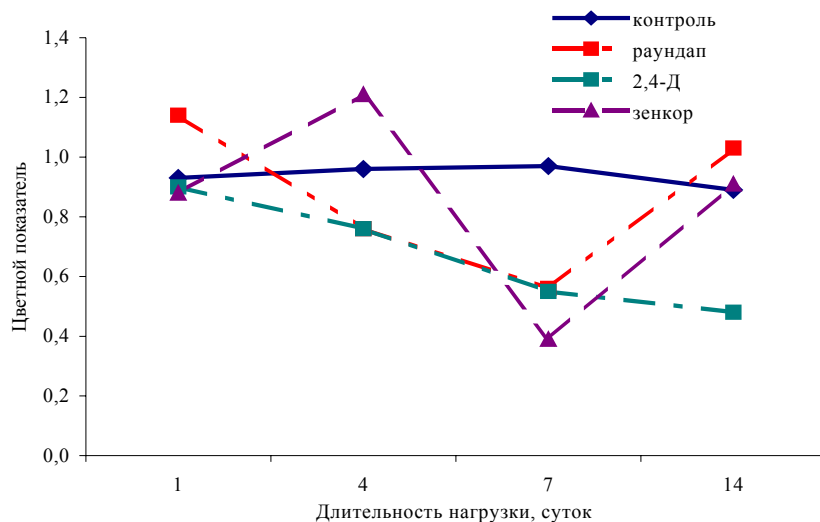


Рис. 3. Динамика цветного показателя крови двухлеток карпа в условиях гербицидной нагрузки

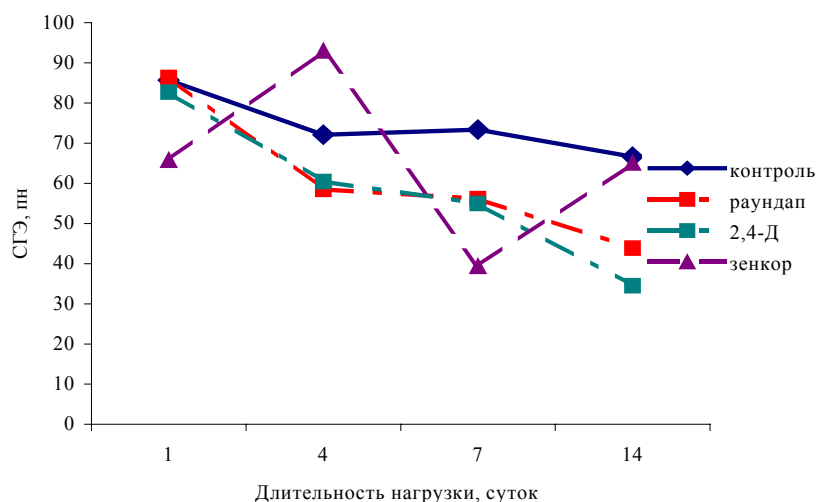


Рис. 4. Динамика СГЭ (содержания гемоглобина в эритроците) крови двухлеток карпа в условиях гербицидной нагрузки

По истечении четырех суток эксперимента количество эритроцитов изменяется неоднозначно в зависимости от природы гербицида. Под действием зенкора их количество уменьшается почти в два раза и становится меньше чем в контроле; под действием раундапа, наоборот, – незначительно отличается от контроля. Что касается действия 2,4-ДА, достоверные различия в показателях не наблюдаются (см. рис. 1). Изменения уровня гемоглобина в крови двухлеток карпа под действием данных гербицидов аналогичны (см. рис. 2). Показатели скорости оседания эритроцитов резко снижаются (рис. 4).

После семисуточного пребывания рыб в условиях эксперимента картина крови меняется. Под влиянием зенкора при резком снижении уровня гемоглобина в крови (см. рис. 2) происходит некоторая стабилизация содержания эритроцитов (рис. 1), но значение цветного показателя наименьшее (0,39) по сравнению с контролем (0,97) (рис. 3). Цветной показатель – это соотношение между количеством гемоглобина и числом эритроцитов. Он показывает степень насыщения эритроцитов гемоглобином. Кроме того, для зенкора характерным является изменение формы эритроцитов, больше становится молодых клеток, имеющих округлую форму с наименьшим соотношением диаметров, что приводит к микроцитозу (уменьшению объема эритроцитов) и ненасыщенности гемоглобином. В связи с этим показатель СГЭ наименьший – 39,36 пг (см. рис. 4).

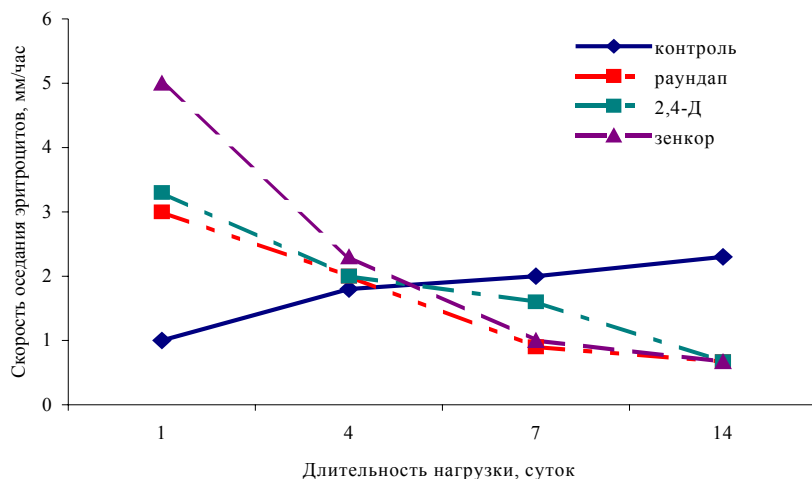


Рис. 5. Динамика СОЭ крови двухлеток карпа в условиях гербицидной нагрузки

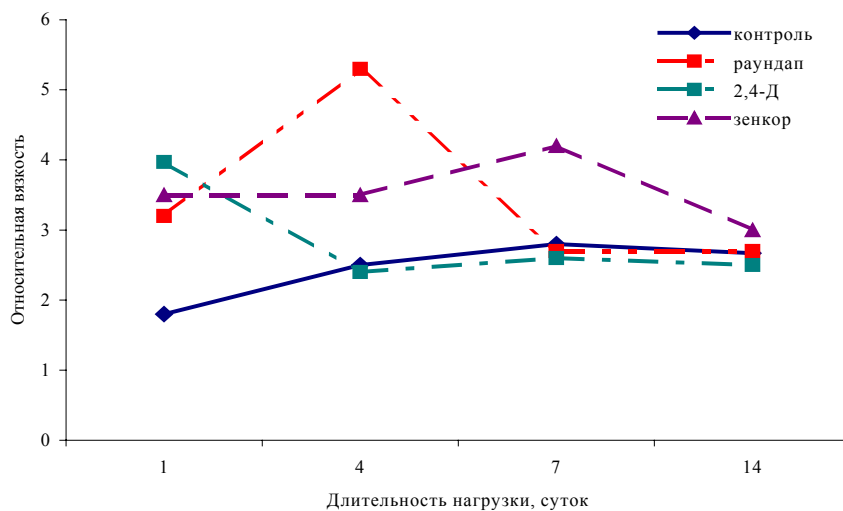


Рис. 6. Динамика относительной вязкости крови двухлеток карпа в условиях гербицидной нагрузки

Таким образом, изменения морфологии эритроцитов карпа под действием гербицидов противоположны изменениям, которые происходят с эритроцитами скорпены (набухание, обводнение) в условиях экспериментальной гипоксии [8]. Под действием раундапа этот показатель несколько выше (56,2), но в 1,3 раза меньше контроля, а цветной показатель крови меньше в 1,8 раза, хотя количество эритроцитов сравня-

лось с контролем и увеличилось по сравнению с первыми сутками в 2,6 раза. Такие изменения характерны для организмов, находящихся в условиях стрессовых ситуаций при воздействии каких-либо токсических агентов [1]. Наименьшее количество эритроцитов в крови карпов, содержащихся в течение 7 суток в водной среде с повышенным содержанием производных 2,4-Д (см. рис. 1) и у них же наивысшая скорость свертываемости (см. рис. 7). Скорость оседания эритроцитов также снижается (см. рис. 5), что свидетельствует об уменьшении содержания белков в плазме и, в первую очередь, глобулинов.

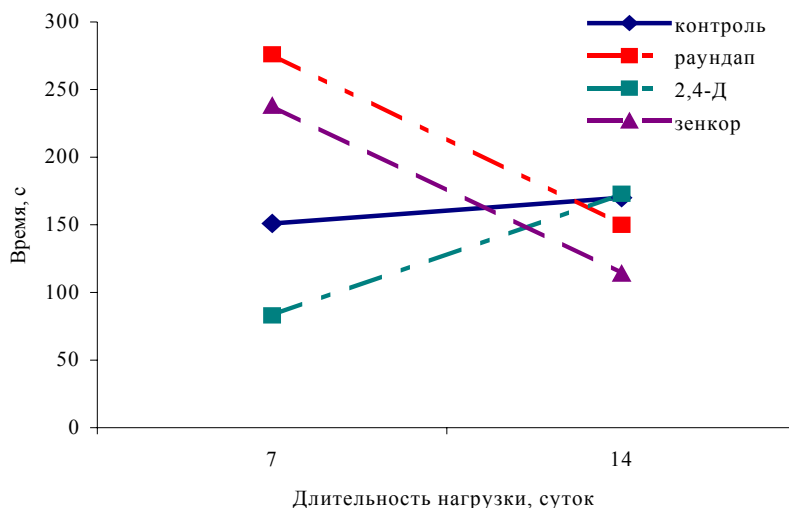


Рис. 7. Динамика свертываемости крови двухлеток карпа в условиях гербицидной нагрузки

На 14-е сутки под действием раундапа и 2,4-ДА происходит повышение концентрации эритроцитов (см. рис. 1) и уменьшение её под действием зенкора, что отражается на вязкости, уровень которой также снижается (см. рис. 6). Вязкость крови зависит от концентрации гемоглобина, количества и особенно объема эритроцитов, кроме того, от вязкости плазмы крови и количественных колебаний лейкоцитов.

Содержание гемоглобина под действием изучаемых гербицидов несколько стабилизируется, что отражается на цветном показателе крови, который по сравнению с семисуточными показаниями также приобретает стабильность, за исключением действия производных 2,4-Д. Цветной показатель под влиянием 2,4-Д меньше нормы в два раза; выравниваются также вязкость и свертываемость крови (см. рис. 6, 7). Скорость же оседания эритроцитов резко снижается и достигает наименьших величин – 0,67 (см. рис. 5), что свидетельствует о минимальном содержании белка плазмы крови. Наши данные о снижении уровня белка плазмы под действием гербицидов согласуются с результатами, описанными в многочисленных работах В. И. Лукьяненко и В. В. Метелева.

Удельный вес крови карпов, который определялся по соотношению веса крови к весу дистиллированной воды, не изменялся на протяжении 14 суток эксперимента. Влияние гербицидов не привело к развитию гидремии (понижению удельного веса) или полиплазмии (повышению содержания плазмы). Возможно, это связано с малой концентрацией гербицидов (2 ПДК) или малой чувствительностью метода. При концентрации хлорида натрия 0,1–0,3 % (гипотонический раствор) наблюдаем полный гемолиз эритроцитов (отсутствие резистентности): окраска раствора ярко-красная, лаковая, с блеском. В пробирках с более высокой концентрацией *NaCl* (переход к изотоническому) раствор мутный, наблюдается частичный гемолиз и малое разрушение эритроцитов.

## Выводы

Формирование адаптационной реакции у двухлеток карпа в ответ на действие различных гербицидов неоднозначно. Суточное действие зенкора приводит к возникновению срочной адаптации, которая выражается в увеличении количества эритроцитов, гемоглобина, СОЭ, вязкости крови. Ответная реакция организма на действие раундапа (4-е сутки) выражается в повышении содержания эритроцитов и гемоглобина в крови карпа. Показатели крови в условиях действия производного 2,4-Д после первых суток эксперимента близки к показателям контроля. Критическим этапом, когда действие срочной адаптации становится невозможным (организм исчерпал свои физиологические возможности и резервы), а формирование системного структурного следа, то есть долговременной адаптации, еще не завершено, являются 7-е сутки. Для них характерны наиболее низкие гематологические показатели, которые неблагоприятны для функционирования организма рыб.

О формировании долговременной адаптации в организме двухлеток карпа (более стабильные гематологические показатели) на 14-е сутки можно говорить только в случае действия раундапа. Изменения показателей крови, наблюдаемые под влиянием зенкора, свидетельствуют о незавершенности процесса формирования долговременной адаптации. Наихудшие гематологические показатели (за исключением количества эритроцитов) зафиксированы под действием производных 2,4-Д, вероятно потому, что ярко выраженной срочной реакции и мобилизации внутренних ресурсов в первые сутки не наблюдалось. Постепенное накопление этого гербицида [6] приводит к нарушениям функций крови.

## Библиографические ссылки

1. Бугаев Л. А. Мониторинг гематологических показателей азовского судака / Л. А. Бугаев, О. А. Рудницкая, А. С. Засядько // Актуальные проблемы экологической физиологии, биохимии и генетики животных. – Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2005. – С. 36–38.
2. Васильев А. В. Гематология сельскохозяйственных животных. – М.: Сельхозиздательство, 1948. – 439 с.
3. Волынкин Ю. Л. Взаимосвязь морфофизиологических и гематологических показателей сеголетков карпа в период зимовки // Современные проблемы популяционной экологии. Матер. IX Междунар. научно-практ. конф. – Белгород: Политера, 2006. – С. 37–38.
4. Давыдов О. Н. Патология крови рыб / О. Н. Давыдов, Ю. Д. Темниханов, Л. Я. Куровская. – К., 2005. – 210 с.
5. Зіньковська Н. Г. Цинк як антиоксидант і прооксидант за дії на організм коропа / Н. Г. Зіньковська, Ф. С. Мудра, О. Б. Столяр / Укр. біохім. журн. – 2002. – Т. 74, № 4б, дод. 2. – С. 88.
6. Мехед О. Б. Накопление гербицидов группы 2,4-Д в организме карпа разного возраста // Гидробиол. журн. – 2006. – Т. 42, № 3. – С. 61–66.
7. Ойвин И. А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований // Патол. физиол. и exper. терапия. – 1960. – № 4. – С. 76–85.
8. Парфенова И. А. Морфометрические характеристики циркулирующих эритроцитов *Scorpaena porcus* L. в условиях экспериментальной гипоксии // Наукові записки Тернопільського нац. пед. університету. Серія: біологія. – 2005. – № 4 (27). – С. 82–83.
9. Посібник з клінічної лабораторної діагностики / Під ред. В. Г. Денисюка. – К.: Здоров'я, 1992. – 296 с.
10. Скорюков В. И. Практикум по ихтиологии. – М.: Агропромиздательство, 1986. – 268 с.
11. Физиология адаптационных процессов. – М.: Наука, 1986. – 635 с.
12. Яржомбек А. А. Справочник по физиологии рыб / А. А. Яржомбек, В. К. Лиманский. – М.: Агропромиздательство, 1986. – 192 с.

Надійшла до редколегії 20.12.2006