

УДК 639.311:597.551.2 + [636.087+574.64]

О. В. Барбухо, А. О. Жиденко

**ВПЛИВ ГЕРБИЦИДУ РАУНДАП НА
ЖИТТЄЗДАТНІСТЬ ІКРИ КОРОПА ТА
МОЖЛИВІСТЬ ПРОФІЛАКТИКИ ЙОГО ТОКСИЧНОЇ
ДІЇ ПРОБІОТИЧНИМ ПРЕПАРАТОМ БПС-44**

Досліджено вплив гербициду раундап (діюча речовина — ізопропіламінна сіль гліфосату, 480 г/дм³) за різної концентрації на життєздатність ікри коропа (*Cyprinus carpio*) та показано можливість профілактики токсичної дії гербициду пробіотиком БПС-44, що позитивно впливає на розвиток організму риб.

Ключові слова: гербицид раундап, ікра коропа, пробіотичний препарат БПС-44, *Bacillus subtilis 44-p*.

Широке використання гербицидів у сільському господарстві призводить до їх міграції та накопичення в об'єктах навколишнього середовища. Забруднення водойм токсичними речовинами негативно впливає на іхтіофауну, зокрема на розвиток ікри, вилуплення личинок, їх ріст, розвиток та виживання, порушує фізіологічні функції у дорослих особин [3, 8, 9]. Однак внаслідок неможливості виходу із зон забруднення, ікра найбільш вразлива до дії токсикантів, тому реакція риб на гербицидне забруднення водойм може визначатися їх дією саме на ранній стадії онтогенезу.

Відомо [5], що при інкубації між ікрою, що розвивається, і водним середовищем відбувається постійний обмін. Цей обмін найбільш інтенсивний відразу після запліднення, коли у процесі набухання ікри відбувається активне поглинання води і солей. Саме в цей період оболонка ікри є найбільш проникною для різних токсичних речовин [5]. Є дані, згідно з якими бактерії, що колонізують оболонку у перші години після запліднення, безпосередньо впливають на формування мікрофлори ікри [11].

На нашу думку, значного підвищення життєздатності ембріонів риб в умовах токсичної дії гербицидів можна досягти шляхом застосування бактеріальних препаратів на основі живих мікробних культур — пробіотиків. Пробіотичний препарат БПС-44 на основі штаму мікроорганізмів *Bacillus subtilis 44-p* було розроблено в Інституті сільськогосподарської мікробіології НААНУ в м. Чернігові. За останні роки досягнуто значних успіхів у дослідженні його позитивного впливу на обмінні процеси та чинники неспецифічної резистентності сільськогосподарських тварин. Незважаючи на по-

© Барбухо О. В., Жиденко А. О., 2011

зитивні результати використання пробіотику БПС-44 в тваринництві, залишаються нез'ясованими питання щодо профілактичного та компенсаторного впливу клітин *Bacillus subtilis* 44-р на представників водної фауни, зокрема риб, що зазнають гербіцидного навантаження на ранніх етапах ембріогенезу.

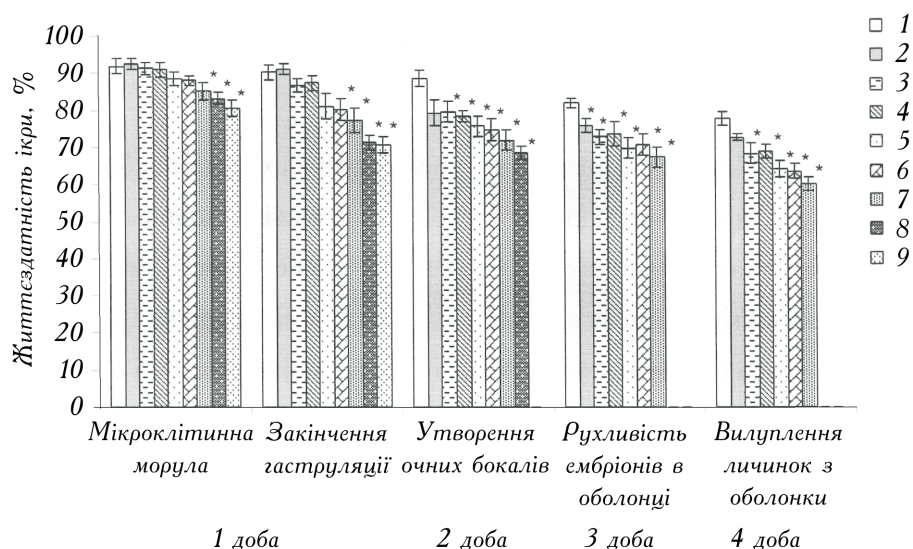
Метою дослідження було вивчення дії різних концентрацій гербіциду раундапу на життєздатність ікри коропа на ранніх стадіях онтогенезу, а також встановлення можливості профілактики його впливу пробіотичним препаратом БПС-44.

Матеріал і методика досліджень. Для проведення експерименту використовували ікру коропа лускатого (*Syrpinus carpio*) у трьох варіантах досліду: 1) контроль; 2) дія гербіциду у концентрації 0,05 ГДК (0,001 мг/дм³), 0,5 ГДК (0,01 мг/дм³), 1 ГДК (0,02 мг/дм³), 2 ГДК (0,04 мг/дм³), 4 ГДК (0,08 мг/дм³), 40 ГДК (0,8 мг/дм³), 400 ГДК (8,0 мг/дм³) і 4000 ГДК (80,0 мг/дм³); 3) сумісна дія гербіциду з пробіотичним препаратом БПС-44 (ТУ У 24.4-00497360-691-2003). Досліди проводили у трьох повторностях у літрових акваріумах з відстояною водопровідною водою. Температуру води підтримували на рівні 18,0—20,2°C, вміст кисню становив 7,8—8,2 мг/дм³, рН 7,7—8,1. Пробіотичний препарат БПС-44 вносили у воду в концентрації 1,25·10⁸ КУО (колонійутворюючих одиниць) мікробних клітин *Bacillus subtilis* 44-р на 1 дм³ води. У кожному з варіантів використовували по 100 ікринок. Ефективність пробіотику БПС-44 щодо дії різних величин концентрації гербіциду визначали за кількістю життєздатної ікри шляхом прямого обліку. Статистичну обробку результатів проводили за стандартними комп'ютерними програмами. Відмінності між групами вважали достовірними при $P < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення

Контроль за станом ембріонів коропа показав, що на етапі дроблення бластодиска і утворення морули при концентрації раундапу 0,01 мг/дм³ кількість мертвої ікри становила 8,5%, при 0,02, 0,04, 0,08, 0,8, 8,0 та 80,0 мг/дм³ — відповідно 8,9%, 11,3, 11,9, 14,8, 16,7 і 19,4%; в контролі цей показник дорівнював 7,9% (рис. 1).

Водне середовище з концентрацією гербіциду 0,001 мг/дм³ (кількість мертвої ікри — 7,3%) чинило як стимулюючий, так і захисний вплив до певного моменту розвитку ембріонів. Можливо, на початкових етапах розвитку дія цієї концентрації раундапу активує захисні механізми, що потребує зростання енерговитрат і, відповідно, приводить до прискорення утилізації запасів жовткового міхура [6]. Це і забезпечує більш інтенсивний ріст і розвиток організму в перші дні дії різних величин концентрації токсиканту порівняно з контролем. Після закінчення гастрюляції за дії раундапу в концентрації 0,001, 0,01, 0,02, 0,04, 0,08, 0,8, 8,0 та 80,0 мг/дм³ загибель ембріонів, що залишилися, була на рівні відповідно 1,5%, 4,6, 3,6, 7,6, 7,9, 7,8, 12,0 та 9,9%, тоді як в контролі загальна кількість живих ікринок становила 90,4%. При концентрації раундапу 80,0 мг/дм³ відмічено 100%-у загибель ембріонів на стадії утворення очних бокалів, що збігається з літературними даними про зниження стійкості риб на ранніх етапах ембріонального розвитку під

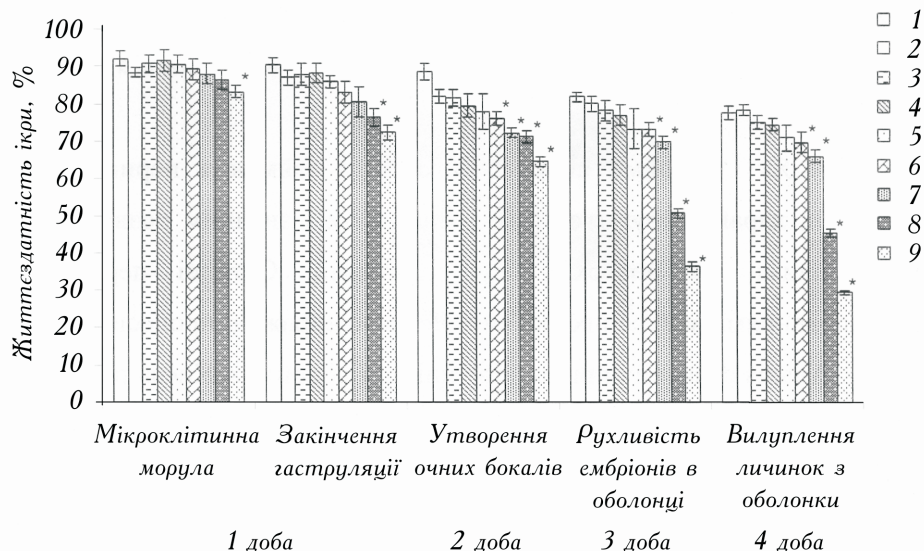


1. Життєздатність ікри коропа під впливом гербіциду раундап ($M \pm m$; $n = 300$). Тут і на рис. 2: 1 — контроль; 2 — 0,001 мг/дм³; 3 — 0,01 мг/дм³; 4 — 0,02 мг/дм³; 5 — 0,04 мг/дм³; 6 — 0,08 мг/дм³; 7 — 0,80 мг/дм³; 8 — 8,0 мг/дм³; 9 — 80,0 мг/дм³.

впливом отрут, в тому числі й гербіцидів [4]. На цьому етапі розвитку також спостерігали зниження життєздатності ікри за дії усіх інших величин концентрації препарату, що, можливо, пов'язано з більш тривалим часом її перебування у токсичному середовищі. Цей факт узгоджується з відомостями про те, що виживання ікри риб на певній стадії розвитку залежить як від природи токсичної речовини, так і від тривалості і механізмів дії отрути на організм [6, 10]. На стадії рухливості ембріонів в оболонці раундап в концентрації від 0,001 до 0,8 мг/дм³ спричинив подальше зниження життєздатності ікри, за дії 8,0 мг/дм³ фіксували її повну загибель. За чотири доби дії раундапу при всіх зазначених концентраціях кількість личинок, які звільнилися з оболонки, була значно меншою, ніж у контрольній групі, при концентрації 0,001 мг/дм³ спостерігали більш раннє їх вилуплення порівняно з контролем. Отже, зменшення кількості життєздатної ікри за дії раундапу протягом чотирьох діб фіксували у всіх досліджуваних варіантах.

Згідно з літературними даними [1], смертність риб у ембріональному, личиночному і мальковому періодах дуже висока. Наприклад, за дії різних токсикантів у коропових риб смертність лише ембріонів становить від 27,8 до 99,0%, у лососевих і сигових — від 18 до 99%, у осетрових — від 50 до 90% [4]. В основі методу стимуляції життєстійкості ембріонів і личинок риб лежить здатність водних організмів до активного засвоєння речовин з навколишнього середовища [2]. Додавання пробіотичного препарату БПС-44 у воду сумісно з гербіцидом сприяло підвищенню життєздатності ікри на всіх стадіях її розвитку (рис. 2).

За дії пробіотику БПС-44 та гербіциду в концентрації 8,0 і 80,0 мг/дм³ на ікру коропа в період розвитку (від запліднення до кінця гастрляції) вижи-



2. Життєздатність ікри коропа за сумісної дії гербіциду раундап та пробіотичного препарату БПС-44 ($M \pm m$; $n = 300$).

вання ембріонів було вірогідно більшим відповідно на 6,8 і 2,3%, ніж у тих, що перебували лише під впливом гербіциду. Можливо, це пояснюється підвищенням токсикорезистентності захисної лицьової оболонки зародка завдяки діяльності бактерій *Bacillus subtilis* 44-р, яка виконує функцію бар'єра для токсичних речовин [7].

Також на початкових стадіях розвитку за дії препарату БПС-44 та всіх інших величин концентрації токсиканту у воді кількість живих ікринок, що розвивались, була більшою, ніж у варіантах дослідів з гербіцидом. На нашу думку, це свідчить про те, що клітини *Bacillus subtilis* 44-р адгезуються на оболонці ікринок, перешкоджаючи тим самим значному проникненню токсиканту крізь оболонку у перивітеллинову рідину. В результаті цього раундап у зазначеній концентрації менш сильно впливає на обмінні процеси ембріона та на хід морфогенезу. Профілактичний вплив пробіотичного препарату щодо дії раундапу особливо проявлявся на стадії утворення очних бокалів, коли смертність ікри значно зменшилася. На етапі рухливості ембріонів в оболонці спостерігали збільшення виживання ікри при дії всіх досліджених величин концентрації гербіциду з БПС-44, порівняно з варіантами дослідів, в яких використовували лише раундап. Це свідчить про те, що завдяки діяльності бактерій *Bacillus subtilis* 44-р живі ікринки набули стійкості до гербіциду. Профілактичний вплив препарату БПС-44 щодо дії концентрації 8,0 і 80,0 мг/дм³ також проявлявся на етапі вилуплення личинок з оболонки. Під час викльову личинок загибель ікри у групах з пробіотиком БПС-44 та концентрацією гербіциду 0,001 80,0 мг/дм³ зменшилась в середньому на 10% порівняно з показником у дослідях з використанням лише гербіциду.

Отже, результати досліджень підтвердили токсичний вплив високої концентрації (8,0 та 80,0 мг/дм³) гербіциду раундап на розвиток ікри коропа. Застосування пробіотичного препарату БПС-44 з метою профілактики токсичної дії сприяло підвищенню життєздатності ікри на всіх стадіях розвитку.

Висновки

Вплив гербіциду раундап на життєздатність ікри коропа залежить від його концентрації у воді та тривалості дії. Менш токсичними для ікри коропа на всіх стадіях розвитку були величини концентрації раундапу від 0,001 до 0,04 мг/дм³. За дії 8,0 і 80,0 мг/дм³ фіксували повну загибель ікри відповідно на стадії рухливості ембріонів в оболонці та утворення очних бокалів. Це може бути пов'язане з руйнуванням на даному етапі розвитку оболонки ікри і втратою перевітелинової рідини, які відіграють важливу роль у захисті організму від впливу чинників зовнішнього середовища.

Використання пробіотичного препарату БПС-44 сприяло підвищенню стійкості зародків коропа до дії раундапу. В умовах токсичної дії гербіциду БПС-44 позитивно впливає на процес ембріогенезу риб. Проведені дослідження показали перспективність використання пробіотиків на основі аеробних спороутворюючих бактерій для послаблення негативного впливу гербіцидного забруднення водою.

**

Гербицид раундап в концентрации 0,01—0,80 мг/дм³ негативно влияет на жизнеспособность икры карпа на этапах онтогенеза от мелкоклеточной морулы до выдупления личинок. При действии высокой концентрации гербицида раундап (8,0—80,0 мг/дм³) отмечена острая токсичность со 100%-ной смертностью зародышей. Пробиотический препарат БПС-44 снижает токсическое действие гербицида, о чем свидетельствует значительное повышение количества жизнеспособной икры на всех стадиях развития в среднем на 10%.

**

Herbicide roundup in concentration 0,01—0,80 mg/dm³ negatively affects viability of the carp eggs at all ontogenetic stages (small cell morula body — hatching of larvae). Effect of the highest studied concentration (8,0—80,0 mg/dm³) caused acute toxicity with 100% mortality of embryos. Probiotic preparations BPS-44 compensates the toxic effect of the herbicide, this was confirmed by significant increase of the viable eggs number at all stages at average by 10%.

**

1. Білько В.П., Кружиліна С.В. Підвищення життєздатності ембріонів і личинок риб під впливом біологічно активних речовин при заводському способі їх відтворення // Рибогосп. наука України. — 2009. — № 2. — С. 70—75.
2. Велгре А., Роома М. Токсическое воздействие нитритов на рыб // Экология. — 1990. — № 11. — С. 71—73.

3. Глубоков А.И. Рост трех видов рыб в ранние периоды онтогенеза в норме и в условиях токсического воздействия // Вопр. ихтиологии. — 1990. — Т. 39, вып. 1. — С. 137—143.
4. Грушко Я.М., Кожова О.М., Мамонтова Л.М. Аккумуляция токсических веществ тканями гидробионтов в водоемах после спуска сточных вод // Гидробиол. журн. — 1991. — Т. 27, № 4. — С. 80—82.
5. Зотин А.И. Физиология водного обмена у зародышей рыб и круглоротых. — М.: Изд-во АН СССР, 1961. — 319 с.
6. Курбатова І.М., Цегик В.В., Тупицька О.М. та ін. Вплив абіотичних факторів на організм прісноводних костистих риб та хрящових ганоїдів // Наук. вісн. Львів. ун-ту вет. медицини. — 2008. — Т. 10, № 4 (39). — С. 126—133.
7. Скаговский С. Н. Экологическая физиология водных организмов. — М.: Сов. наука, 1955. — 338 с.
8. Таликина М.Г., Изюмов Ю.Г., Касьянов А.Н., Папченкова Г.А. Влияние токсических веществ в период эмбриогенеза на выживаемость, линейно-весовые показатели и формирование гонад сеголеток плотвы // Вопр. ихтиологии. — 1999. — Т. 39, № 3. — С. 401—409.
9. Худияш Ю.Н., Потрохов А.С., Зиньковский О.Г. Выживаемость икры карпа на ранних стадиях эмбриогенеза под воздействием N-оксида 2,6-диметилпиридина // Гидробиол. журн. — 2003. — Т. 39, № 6. — С. 83—89.
10. Цегик В.В., Курбатова І.М., Михальська В.М., Малюга Л.В. До питання про якість води водойм рибогосподарського призначення та її вплив на розвиток ікри коропа (*Cyprinus carpio* L.) // Наук. вісн. Львів. ун-ту вет. медицини. — 2008. — Т. 10, № 4 (39). — С. 273—278.
11. Hansen G.H., Olafsen J.A. Bacterial Interactions in Early Life Stages of Marine Cold Water Fish // Microbial. Ecology. — 1999. — Vol. 38, N 1. — P. 1—26.