

очень большую изменчивость активности энзима. Существенным фактором, дифференцирующим активность в сыворотке, является генетически обусловленный полиморфизм. Активность в сыворотке положительно коррелируется с активностью в лейкоцитах, однако, коэффициент корреляции низок ($r = 0,1229$). Животные с наибольшим числом лейкоцитов показывают значительно меньшую, чем средняя, активность щелочных фосфатаз в лейкоцитах и высшую — в сыворотке крови.

Walawski K., Glogowska B., Kaczmarczyk E., Kolman G., Kruk Z. — **Analysis of interdependence between polymorphism and activity of alkaline phosphatases in serum and leukocyte in cattle.**

A mean activity of alkaline phosphatases studied in 532 primipara cows, Lowland black and white breed reached in blood serum 43.5 iu, in leukocytes 7263.8 iu. There was noted a very large variability in the activity of the enzyme. The significant factor which differentiated the activity of the enzyme in sera appeared to be genetically conditioned polymorphism. The activity of the enzyme in serum was positively correlated with its activity in leukocytes. However a correlation coefficient was low ($r = 0.1229$). Animals with the highest number of leukocytes showed a considerably lower activity of alkaline phosphatases in leukocytes, and higher activity of these enzymes in blood sera.

STANISŁAW ŁAKOTA, ANNA RASZKA, JACEK ROSZKOWSKI, STEFAN HLOND,
FELIKS KOZŁOWSKI, JERZY STEFAN

Badania nad toksycznością Diuronu, Linuronu, Monolinuronu oraz Monuronu dla narybku karpia w teście osfrym

Z Instytutu Przemysłu Organicznego Oddział w Pszczynie

Z Instytutu Weterynarii w Puławach

Z Samodzielnej Pracowni Biologii Ryb i Środowiska Wodnego w Zatorze Instytutu Zootechniki w Krakowie

Masowe stosowanie pestycydów w rolnictwie i leśnictwie, a także w niektórych gałęziach przemysłu, stwarza groźbę zanieczyszczenia wód powierzchniowych tymi środkami. Przedostają się one do otwartych zbiorników wodnych głównie przez spływy powierzchniowe z pól traktowanych pestycydami, z powietrza — roznoszone wiatrem podczas akcji opylania lub opryskiwania roślin, a także w wyniku bezpośredniego ich wprowadzenia do zbiorników wodnych w czasie zwalczania zbędnej roślinności wodnej lub innych zabiegów sanitarnych. Diuron, Linuron, Monolinuron i Monuron są ciałami stałymi, krystalicznymi, trudno rozpuszczalnymi w wodzie. Należą do herbicydów pochodnych mocznika.

Herbicydy te na rośliny działają totalnie i selektywnie, przy czym odznaczają się małą toksycznością ostrą dla ludzi i zwierząt stałocieplnych. W stosunku do ryb i innych zwierzęcych organizmów wodnych toksyczność ich jest bardzo różnicowana, przy czym objawy zatrucia nie są dotychczas dokładnie scharakteryzowane (1—7).

Celem niniejszej pracy było wykazanie, czy wymienione herbicydy zastosowane na narybek karpia (*Cyprinus carpio* L.) w stężeniach powodujących 50% jego śmiertelności po 48 godzinnym czasie trwania ekspozycji wywołują w organizmie tych ryb zmiany anatomiczno-patologiczne.

Materiał i metody

Herbicydy

Diuron — jest to N-3,4-dwuchlorofenylo-N, N-dwumetylomocznik. W stanie czystym jest on bezwodną

białą substancją, dobrze rozpuszczalną w rozpuszczalnikach organicznych, słabo rozpuszczalną w wodzie.

Linuron — N-/3,4-dwuchlorofenylo/-N-metoksy-N-metylomocznik. Substancja krystaliczna trudno rozpuszczalna w wodzie, dobrze w rozpuszczalnikach organicznych, słabo kumuluje się w organizmach zwierzęcych.

Monolinuron — N-/4-chlorofenylo/-N-metoksy-N-metylomocznik. Zachowanie monolinuronu w wodzie i rozpuszczalnikach organicznych jest podobne jak linuronu.

Monuron — N-/4-chlorofenylo/-N, N-dwumetylomocznik. Jest to biała bezwonna krystaliczna substancja, trudno rozpuszczalna w wodzie i rozpuszczalnikach organicznych.

Ryby

Do badań użyto jednoroczny narybek karpia, klinicznie zdrowy, wolny od pasożytów, o ciężarze od 25 do 40 gramów, pochodzący z gospodarstwa doświadczalnego PAN w Golyszu oraz Zootechnicznego Zakładu Doświadczalnego w Zatorze. Ryby po kilkudniowej adaptacji umieszczano w akwariach o pojemności 10 l w ilości po 5 sztuk w wodzie studziennej, dobrze napowietrzanej o temperaturze 14—15°C, pH 6,9. Zawartość fizycznie rozpuszczonego tlenu w wodzie w trakcie trwania doświadczenia mierzono raz na dobę; nie spadła ona poniżej 5 mg/0₂/l. Badane preparaty jako trudno rozpuszczalne w wodzie wprowadzono do wody w formie roztworów acetonowych w koncentracji powodującej 50% śmiertelności badanej populacji ryb po 48 godz. trwania kontaktu tj. Linuronu w dawce 5 mg/l wody, Diuronu i Monolinuronu w dawce 10 mg/l oraz Monuronu w dawce 50 mg/l. Ponadto dla Monolinuronu jako najmniej toksycznie działającego preparatu na narybek karpia zastosowano koncentrację 1 mg/l tj. stężenie około 50-krotnie niższe od dawki powodującej LC₅₀. Koncentrację tę wprowadzono celem wyjaśnienia, czy zastosowany w tak niskim stężeniu preparat wywołuje jakiegokolwiek zmiany patologiczne w organizmie ryb. Narybek karpia poddawano następnie 48 godz. ekspozycji w badanym stężeniu określonego pestycydu, przy czym

doświadczenie powtórzono trzykrotnie. Jako grupę kontrolną umieszczano ryby po 5 sztuk w dwóch akwariach o czystej wodzie oraz w dwóch w wodzie z dodatkiem acetonu w ilości 2 mg/l wody, (tj. tyle, ile acetonu wprowadzano do naczyń doświadczalnych wraz z badanym preparatem) dla uchwycenia ewentualnych zmian w organizmie ryb spowodowanych działaniem samego rozpuszczalnika (acetonu).

Przed rozpoczęciem doświadczenia przebadano 10 sztuk narybku karpia klinicznie i sekcyjnie oraz pobrano próby do badań histologicznych. Obserwacje ryb prowadzono przez cały czas trwania doświadczenia. Po 48 godzinach, to jest w momencie zakończenia doświadczeń ryby ponownie poddano badaniom klinicznym, sekcyjnym oraz pobrano próbki do badań histopatologicznych ze skrzeli, wątrobotrzustki, nerki, serca i jelit. Z każdej grupy doświadczalnej próbki te pobierano od trzech ryb. Wycinki z poszczególnych narządów utrwalano następnie w płynie Bouina i zatapiało w parafinie. Skrawki grubości 5 mikr. barwiono hemateksyliną kwaśną Ehrlicha i eozyną.

Wyniki

W grupie ryb w wodzie z zawartością 10 mg/l Diuronu po 48 godzinnej ekspozycji zaobserwowano zwiększone wydzielanie śluzu na skórze i skrzelach, przy czym płatki skrzelowe u większości ryb były wyraźnie obrzękłe, a fragmenty skrzeli silnie przekrwione. Wątrobotrzustka u niektórych ryb blade, nerka nieznacznie obrzękła.

W preparatach histopatologicznych natomiast stwierdzono wyraźne przekrwienie skrzeli. W żadnym z badanych narządów wewnętrznych nie stwierdzono widocznych zmian patologicznych.

W grupie ryb w wodzie z zawartością 5 mg/l Linuronu u niemal wszystkich zbadanych ryb stwierdzono rozległe przekrwienie listków skrzelowych — przepojenie krwią tkani skrzelowej, obecność świeżych ognisk martwiczych w postaci szarobiaławych, wyraźnie zarysowanych pól. Końce płatków skrzelowych zbiegają z postępującą nekrozą. Wątrobotrzustka blade, nerka, a niekiedy nawet mięsień sercowy — przekrwione.

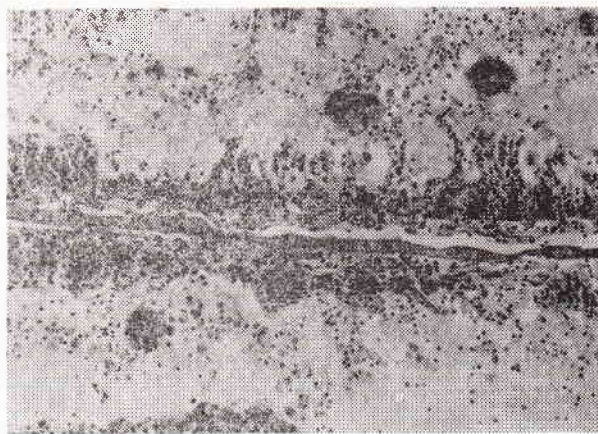


Ryc. 1. Linuron. Skrzela. Bardzo silne przekrwienie blaszek skrzelowych, prowadzące miejscami do wynaczynień. Pow. 185 ×

Fot. J. Pacewicz

W preparatach histopatologicznych skrzela ryb poddanych działaniu Linuronu wykazywały bardzo silne przekrwienie, prowadzące miejscami do wynaczynień (ryc. 1). Niektóre grupy blaszek skrzelowych uległy zmianom wstecznym i rozpadły się. Zmiany te dotyczyły przede wszystkim blaszek zlokalizowanych przy podstawie listków. W narządach mięsnych nie stwierdzono widocznych zmian chorobowych.

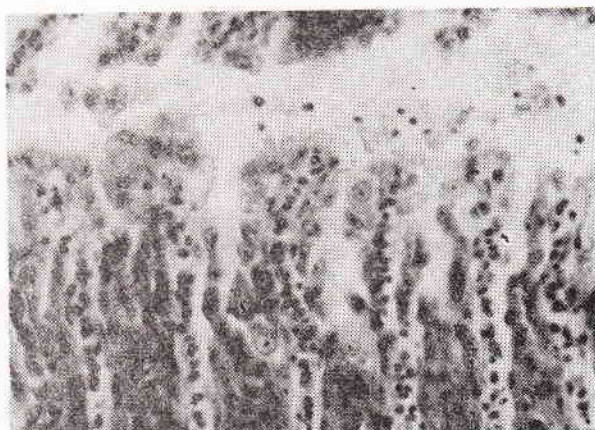
W grupie ryb w wodzie z zawartością 10 mg/l Monolinuronu obserwowano przekrwienie skrzeli, liczne krwawe wybroczyny, ogniska martwicze i zbieganie płatków skrzelowych. Wątrobotrzustka i nerki blade.



Ryc. 2. Monuron — 50 mg/l. Fragment skrzela z rozpadającymi się blaszkami i złuszczonej nabłonka. Pow. 185 ×

Fot. J. Pacewicz

W preparatach histopatologicznych w grupie tych ryb zwracały uwagę silne przekrwienia listków skrzelowych oraz obrzęk szczytowych części blaszek, połączone ze złuszczeniem się komórek nabłonka. W wątrobotrzustce stwierdzono dużych rozmiarów rozstrzenie naczyńowe, wypełnione krwinkami lub jednorodną, róż-



Ryc. 3. Monuron — 1 mg/l. Blaszki skrzelowe o pogrubionych wskutek proliferacji nabłonka końcach (buławki). Pow. 470 ×

Fot. J. Pacewicz

zowo zabarwioną ziarnistą masą. Komórki wątrobowe nie wykazywały jednak uchwytanych zmian patologicznych.

Ryby poddane działaniu Monuronu (50 mg/l) wykazywały wyraźnie osłabioną żywotność. Ich tkanka skrzelowa była na ogół przepojona krwią. U niektórych ryb tej grupy skrzelą były miejscami nierównomiernie ukrwione, zbieleły, co nadawało im wygląd mozaikowaty. Wątrobotrzustka i nerki obrzękłe, mięsień sercowy blade.

Zmiany mikroskopowe dotyczyły wyłącznie listków skrzelowych. Obserwowano przekrwienie listków, obrzęk szczytowych fragmentów blaszek oraz złuszczenie się komórek nabłonka skrzelowego (ryc. 2).

W grupie ryb w wodzie z zawartością 1 mg/l Monuronu, również spotykano w skrzelach liczne przekrwienia oraz obrzęki listków z tym, iż nasilenie tych zmian było w porównaniu z poprzednim obrazem słabsze. Wątrobotrzustka, nerka, mięsień sercowy blade. Błona śluzowa przewodu pokarmowego blade.

W preparatach histopatologicznych u ryb zatrutych dawką 1 mg/l Monuronu końce blaszek skrzelowych były pogrubione i przybierały postać, przypominającą swoim wyglądem buławki (ryc. 3). Prawdopodobnie zmiany te były następstwem proliferacji komórek nabłonka blaszek skrzelowych. Ponadto u tych ryb w listkach skrzelowych widoczne były ogniskowe zmiany wsteczne, które prowadziły do rozpadu części blaszek.

W grupach kontrolnych u ryb w akwariach o czystej wodzie oraz w akwariach z dodatkiem acetonu po 48-godzinnej ekspozycji — nie wykazano klinicznie, sekcyjnie, ani w obrazie histologicznym żadnych zmian chorobowych.

Omówienie wyników

Wyniki przeprowadzonych doświadczeń w 48-godzinnym teście ostrym pozwalają stwierdzić, że zastosowane w doświadczeniu herbicydy w dawce: Linuron 5 mg/l, Diuron 10 mg/l, Monolinuron 10 mg/l oraz Monuron 50 mg/l tj. w granicach koncentracji LC_{50} po 48 godz. kontaktu dla narybku karpia wykazały u ryb tych znaczne zmiany patologiczne. Monolinuron, zastosowany w koncentracji 1 mg/l tj. dawce około 50 razy mniejszej niż wynosi LC_{50} tego preparatu dla narybku karpia, spowodował także wyraźne zmiany chorobotwórcze u badanej populacji ryb. Istota zmian chorobotwórczych u karpia była w zasadzie taka sama we wszystkich badanych przypadkach i prawie wyłącznie dotyczyła skrzelu ryb. Obserwowano u nich przekrwienie, wybroczyny, miejscowe niedokrwienie oraz ogniska martwicze. W preparatach histopatologicznych zwracały uwagę silne przekrwienia listków skrzelowych, obrzęk szczytowych części blaszek połączone ze złuszczeniem się komórek nabłonka i ogniskowe

zmiany wsteczne tkanki skrzelowej, które prowadziły do rozpadu blaszek.

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że wszystkie spośród badanych herbicydów są szkodliwe dla karpia, przy czym Monuron odznaczający się najniższą toksycznością ostrą dla narybku karpia zastosowany w dawce 1 mg/l powoduje takie same zmiany patologiczne w organizmie ryb, jak koncentracja 50-krotnie wyższa tj. LC_{50} .

Piśmiennictwo

1. Byrdy S., Górecki K., Łaszcz E.: Pestycydy. PWRiL 1976.
2. Jara Z.: Gosp. ryb. 25, 3, 1973 (3).
3. Jara Z.: Gosp. ryb. 25, 4, 1973 (7).
4. Łakota S.: Pestycydy 3, 12, 1970.
5. Łakota S., Knapik R.: Pestycydy 2, 11, 1975.
6. Łukjanienko W. J.: Toksykologia ryb. PWRiL 1974.
7. Rusiecki W.: Toksykologia środków ochrony roślin. PZWL 1973.

Adres autora: doc. dr Stanisław Łakota, ul. Kościuszki 20 m 9, 43-200 Pszczyna.

Łakota S., Raška A., Рошковский Я., Глонд С., Козловский Ф., Стефан Е. — Исследования токсичности Диурона, Линурона, Монолинулона и Монурона для мальков карпа в остром тесте.

Цель проведенных исследований заключалась в установлении, вызывают ли повсеместно применяемые гербициды из группы карбамидных соединений: Диурон, Линурон, Монолинулон и Монурон, употребленные в концентрациях, вызывающих 50% смертности исследуемой популяции молоди, устойчивые анатомо-патологические изменения в организме этих рыб. Оказалось, что Линурон, примененный в дозе 5 мг/л, Диурон и Монолинулон — в дозе 10 мг/л, Монурон — в дозе 50 мг/л, а также Монурон в дозе 1 мг/л, т.е. около 50 раз меньшей, чем составляет LC_{50} для этого препарата, показывают по существу те же самые безвредные изменения у исследуемого вида рыб. Изменения эти касались прежде всего жабр. Наблюдаемая картина патологических изменений в жабрах рыб в виде гиперемий, петехий, ишемий, некротических очагов была подтверждена результатами гистопатологических исследований. Обнаружили также сильную гиперемию жаберных листков, отек верхушечных частей пластинок с одновременным слушиванием клеток эпителия и очаговые регрессивные изменения жаберной ткани, приводившие к распаду части пластинок.

Łakota S., Raška A., Roszkowski J., Hłond S., Kozłowski F., Stefan J. — Examinations on the toxicity of Diuron, Linuron, Monolinuron and Monuron for the carp fry in the acute test.

The purpose of the work was to estimate whether common herbicides of the compounds of urea group, i.e. Diuron, Linuron, Monolinuron and Monuron, administered at the concentration bringing about the death of 50 per cent of carp fry, could cause permanent anatomopathological lesions. It was found that Linuron, Diuron and Monolinuron, and Monuron administered at the dose of 5 mg/l, 10 mg/l, 50 mg/l, and 1 mg/l respectively, i.e. at the doses of 50 fold lower than that of LC_{50} induced the same pathogenic lesions in this species of fish. The changes concerned mainly the branchia and were expressed in the form of hyperaemia, extravasations, ischaemia, and necrotic foci. This picture was confirmed by histopathological examinations. In addition, there was noticed a significant hyperaemia of branchial leaves, oedema of dorsal laminae related with the cell squamation of the epithelium and focal regresssive lesions of the branchial tissue, which led to the disruption of some laminae.