

ценопопуляцій. При умові відсутності значного антропогенного впливу популяції *G. nivalis* характеризуються стійкими фітоценотичними позиціями.

#### Література

1. Андриенко Т.Л., Мельник В.И., Якушына Л.А. Распространение и структура ценопопуляций *Galanthus nivalis* на Украине. // Бот. журн., 1992, №3-с.101-107.
2. Мельник В.И. Современное состояние *Galanthus nivalis* на Северо-Восточной границе ареала. // Бюл. Главн. ботан. сада -Москва, 1987, Вып.143.-С.37-39.
3. Мельник В.И. Редкие виды флоры равнинных лесов Украины.-К.: Фітосоціоцентр, 2000.-С.27-29.
4. Кричфалушій В.В., Мигаль А.В. Хорологічні та еколого-фітоценотичні особливості ефемероїдних геофітів Українських Карпат. // Укр. ботан. журн., 1993, №6.-С.13-22.
5. Структура популяцій рідкісних видів флори Карпат.//Під ред. К.Л.Малиновського.- К.: Наукова думка, 1998.- С.111-112.
6. Червона книга України. //Під заг. ред.Ю.І.Шеляга-Сосонко.-К.:Вид-воУкр. енциклопедія ім.М.П.Бажана, 1996.-С.125-128.

*These are investigation bioenvironmental features of G. nivalis under various growth conditions. The seasonal rhythm of the development and biotomorphological differences are set between age- dependent groups. It is investigational spatial structure of population of G. nivalis in Verkhovyna- Pokutia lowlands.*

**Key words:** *Galanthus, development, population.*

УДК 597.551.2-133

**Андрій Безкоровайний, Світлана Мандзинець, Марта Целевич,  
Дмитро Санагурський**

## ТОКСИЛОГІЧНІ ЕФЕКТИ АВЕРМЕКТИНІВ У ЗАРОДКІВ В'ЮНА MISGURNUS FOSSILIS L.

*Досліджено морфологічні зміни розвитку зародків та личинок в'юна Misgurnus fossilis L. за умов впливу івермектину та авермектину у концентрації 0,01 та 1 мг/л. Встановлено затримку загального розвитку при концентрації авермектинів 1 мг/л. При нижчій концентрації спостерігали пошкодження та сповільнення розвитку скелету, викривлення хвостового відділу, набряки та деформації черевної порожнини, збільшення або зменшення розмірів головного відділу, сповільнення серцебиття.*

**Ключові слова:** *Misgurnus, зародки, токсикологія.*

#### Вступ

У останні роки істотні втрати в рибному господарстві пов'язані із зараження риб багатьма паразитичними червами. Головні паразити, які викликають епізоотії - це *Lepeophtheirus* sp. і *Caligus* sp., які ще називаються «морські воші». *Lepeophtheirus* sp. – це паразити переважно лососевих, натомість *Caligus* sp уражають й інші види промислових риб. Однак вони не являють особливої загрози оскільки повідомлень про серйозні впливи цих паразитів на аквакультуру немає. Однак паразит *Ceratomyxa oestroides* є важким для виведення і викликає смерть личинок і виснажливу хворобу у дорослих особин морського карася *Sparus aurata* [8]. Для лікування інфекцій викликаних *Ceratomyxa oestroides* використовують ряд ліків, до ряду яких входить і івермектин. Лікування проводиться у концентрації 0.20 мг/кг рибної ваги проти морської воші у Атлантичного лосося (*Salmo salar*) без яких-небудь побічних ефектів або смертності господаря. Однак, при оральному введенні івермектину така доза була летальна для креветок (*Crangon septemspinosa*)[8].

Авермектини – це родина близькоспорідних 16-члених макроциклічних лактонів (В1а), які є продуктами життєдіяльності *Streptomyces avermitilis*, і володіють широким спектром активності проти спричинених нематодами та членистоногими інфекцій. Для В1а характерна висока ефективність по відношенню до паразитів, саме тому їх використовують як діючу речовину у різних антипаразитарних препаратах [4]. Івермектин похідне авермектинів, яке отримують напівсинтетичним шляхом. Показано, що авермектин та івермектин є летальними для безхребетних і водночас не токсичними для дії ссавців [5]. Хоч механізм дії авермектинів повністю не з'ясований, їх застосовують для лікування онхоцерозу [4], а також проти деяких ектопаразитів людини [13]. Відомий механізм дії авермектинів - зв'язування авермектину з глутаматзалежними [10] та ГАМК-залежними рецепторами хлорних каналів нейронів та м'язових клітин тварин мішеней, що призводить до зростання проникності іонів хлору та гіперполяризації мембран [2].

Однак є інші місця дії авермектинів на клітини тварин-мішеней, зокрема у роботах Шу Е. показано вплив івермектину на активність  $Na^+, K^+$ -АТФази [12]. У недавніх дослідженнях встановлено, що івермектин

інгібує  $Ca^{2+}$ -АТФаза саркоплазматичного ретикулуму, затримуючи конфірмаційний перехід ферменту з стадії E1 – E2.

Оскільки, зародки в період раннього ембріонального розвитку є надзвичайно чутливою тест-системою для дослідження рівня токсичності речовин, тому на першому етапі доцільно дослідити морфологічні зміни зародків та розвиток аномалій, які супроводжують метаболічні зміни при дії авермектинів.

#### Матеріали та методи

Проведено дослідження впливу авермектину та івермектину у концентраціях 0,01 та 1 мг/л на морфологію зародків та личинок в'юна *Misgurnus fossilis* L від запліднення до 6 доби розвитку. Яйцеклітини отримували методом Нейфаха [1]. Овуляцію стимулювали внутрішньом'язовим введенням самкам хоріогонічного гонадотропіну (500 од.). Запліднення ікри проводили в чашках Петрі, додаючи суспензію спермій. Ікру відмивали від спермій та інкубували в розчині Гольфрета (t=21-22°C). Зародки на перших стадіях розвитку контролювали візуально під бінокулярним мікроскопом МБС-9, а на стадіях личинки фотографували за допомогою камери. Зародки та личинки в'юна в умовах досліду інкубували у розчині Гольфрета з розведенням препарату івермектину та авермектину (маточний розчин зроблений на 99% пропіленгліколі) до концентрації 0,01 мг/л та 1 мг/л.

#### Результати і обговорення

Палмер та інші дослідники вважають[6, 11] ймовірним використання івермектину для контролю паразитів форелі. Зокрема відмічено, що використання івермектину при оральному прийомі в концентрації 0,20 мг/кг ваги тіла при лікуванні від «морських вошей» у атлантичної форелі не викликало побічних ефектів та смертності у тварин-господарів [13]. Тоді, як Бурідж [3], та Адамс [7] відмічають, що при оральному прийомі препарату для креветок виду *Crangon septemspinosa* доза 21,5 мкг/л, що виявлена в середовищі, була летальною. Такі дані свідчать про те, що даний препарат може стати фактором екологічного ризику для об'єктів, які є необхідними ланками в екосистемах рибних ферм.

У наших дослідженнях показано, що зміни морфології личинок за наявності у середовищі інкубації 0,01 мг/л авермектину появлялися на 4-5 добу розвитку. На початку 2 доби відмічено загибель 10-20% зародків, у порівнянні з контролем, в якому відсоток смертності був значно меншим. Процес вилуплення личинок проходив із деяким запізненням (розпочинався на 3 і завершувався на початку 5 доби), тоді як у контролі він завершувався на 4 добі. На 6 добу розвитку спостерігали аномалії у частини зародків (у контролі на цей час відсутні (рис. 4): вигин та перекручування хребта, відсутність або недорозвинення хвостового відділу, деформаційні зміни у черевному відділі та сповільнення серцебиття. Подібні зміни відмічено і у зародків за наявності у інкубаційному середовищі івермектину у вищезазначеній концентрації (рис. 1,2).



Рисунок 1. Шоста доба розвитку зародків за наявності у середовищі авермектину у концентрації 0,01 мг/л



Рис. 2. Шоста доба розвитку зародків за наявності у середовищі івермектину у концентрації 0,01 мг/л





Рис. 3. Шоста доба розвитку зародків за наявності у середовищі івермектину у концентрації 1 мг/л

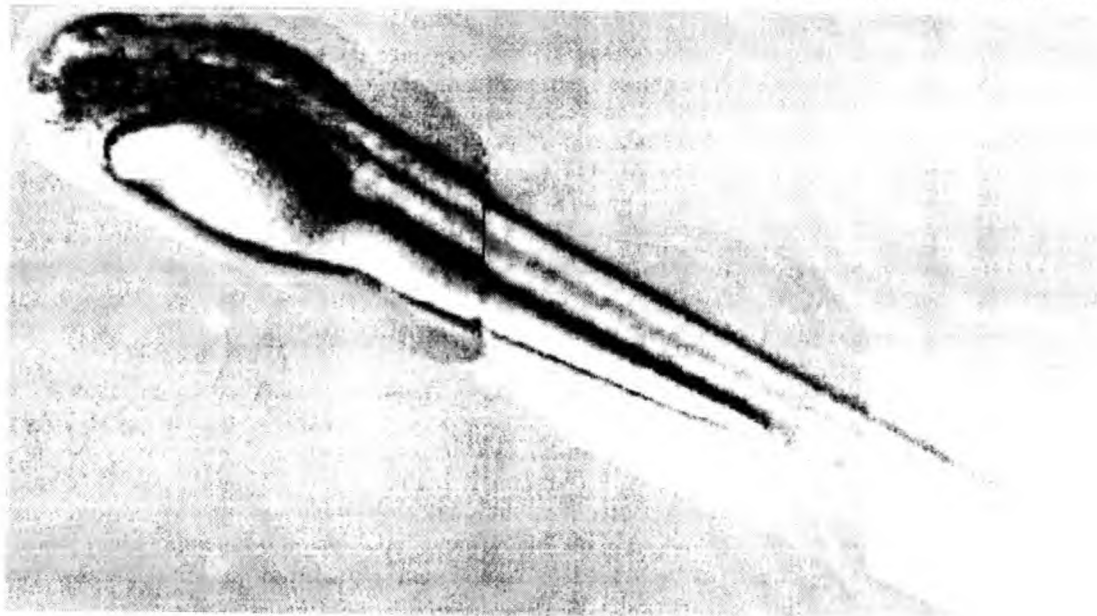


Рис. 4. Шоста доба розвитку зародків у за нормальних умов.

За наявності у середовищі авермектину у концентрації 1 мг/л спостерігали затримку розвитку та загибель зародків (до 20 %) вже на першу добу розвитку, а також відсутність рухливості, ледве помітне серцебиття. Слід зазначити, що за дії авермектину у зазначеній вище концентрації стадія вилуплення личинок розпочиналась на 5 добу, а 6 добу відмічено загибель зародків на стадії вилуплення. На відміну від впливу авермектину, за наявності у середовищі інкубації 1 мг/л івермектину (рис. 3) відсоток летальності у зародків зростав до 50 % вже на першу добу розвитку. Зародки з затримкою розвитку та запізненням стадії вилуплення (5-6 доба) характеризувалися нерухливістю, в них виявлено недорозвинення хвостового відділу та деформації черевної порожнини.

Наші дані співвідносяться з даними по проведенню тесту на токсичність і личинок морського карася проведеного групою вчених на чолі з Младінео. У роботі цих вчених досліджувались токсичні ефекти івермектину для личинок морського карася, з використаням 96-годинного тесту на токсичність у ряді концентрацій 0,00056÷10 мг/л морської води. Результати показали, що концентраціях 0,056 до 0,32 мг/л смертельних випадків та морфологічних змін не спостерігалось. Одна перші смертельні випадки спостерігались при концентраціях 0,56 мг/л через 36 годин інкубації у середовищі з івермектином, а після закінчення експерименту спостерігали 50 %-ву смертність для цієї концентрації. 100%-ву смертність після 96 годин спостерігалась при концентрації 1,8 мг/л та вище. Інші концентрації (0,56, 1,8, і 3,2 мг/л) мали ЛД<sub>50</sub> менш ніж 2 дні, за винятком 1 мг/л де ЛД<sub>50</sub> був 2,2 дні, а при концентрації 5,6 мг/л ЛД<sub>50</sub> – 0,5 днів. У риб спостерігали різноманітні зміни у поведінці, зокрема підвищена чутливість на звукові та візуальні стимули, швидке переміщення по посудині і підвищена активність дихання. Ці ознаки спостерігались в перші декілька хвилин при концентраціях вище, ніж 1 мг/л. Після періоду збудження, чутлива діяльність раптово припинялась, і риби лежали внизу акваріума. В наступній фазі спостерігалось повільне дихання [9]. Аутопсія показала, що в риб спостерігались невеликі крововиливи. Фокусні крововиливи були також знайдені в нирках, печінці, зябрах. Показано, що відбувається набрякання і гіпертрофія зябрових пластинок і ниркових трубочках. Отже, авермектини здатні проявляти повільну інтоксикацію як у мальків морського карася так і у зародків в'юна, яка проявляється на різних рівнях як поведінковому так і гістологічному.

## Висновки

Присутність макроциклічних лактонів у середовищі інкубації у різних концентраціях призводить до сповільнення розвитку та росту, появи суттєвих аномалій розвитку зародків та личинок костистої риби в'юна *Misgurnus fossilis* L. Здатність зародків цих організмів швидко реагувати на присутність пестицидів та інших препаратів може бути підставою для використання їх у якості тест-систем для вивчення впливу хімічних факторів на живі об'єкти.

## Література

1. Нейфах А.А., Ротт Н.Н.//Доклад НН СССР.–1959.– Т. 125, №2.– С. 423 – 434.
2. Bloomquist J.R. Toxicology, mode of action and target site-mediated resistance to insecticides acting on chloride channels//Comp. Biochem. Physiol. – 1993. – Vol. 106. – p. 301–14
3. Burrige, L.E., Haya, K., The lethality of ivermectin, a potential agent for treatment of salmonids against sea lice, to the shrimp *Crangon septemspinosa*. Aquaculture. – 1993. – Vol. 117. – p. 9–14.
4. Campbell W. C. Ivermectin as an antiparasitic agent for use in humans//Annu Rev. Microbiol. – 1991. – Vol. 45. – P. 445 – 474
5. Cully D. F., Paress P. S., Liu K. K., Schaeffer J. M., Arena, J. P. Identification of a *Drosophila melanogaster* glutamate-gated chloride channel sensitive to the antiparasitic agent avermectin//J. Biol. Chem. – 1996. – Vol. 271. – P. 20187 – 20191
6. Davies, I.M., Rodger, G.K., A review of the use of ivermectin as a treatment for sea lice *Lepeophtheirus salmonis* (Kroyer) and *Caligus elongatus* (Nordmann) infestation in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Aquacult. Res., - 2000. – Vol. 31 (11). – p. 869–883.
7. Hyland K.P.C., Adams S.J.R., Ivermectin for use in fish // Vet. Rec. - 1987, - Vol. 120, - p. 539.
8. Mladineo, I. The life cycle of *Ceratothoa oestroides* (Risso: 1826), a cymothoid isopod parasite, from sea bass *Dicentrarchus labrax* and sea bream *Sparus aurata*// Dis. Aquat. Org. 57, - 2003. – p. 97–101.
9. Mladineo, I., Marsic-Lucic J., Buzancic M. Toxicity and gross pathology of ivermectin bath treatment in sea bream *Sparus aurata*, L.//Ecotoxicol Environ Saf. – 2006. – Vol. 63 (3). – p. 438 – 42.
10. Paiement J.P., Leger C., Ribeiro P., and Prichard R.K. Haemonchus contortus: effects of glutamate, ivermectin, and moxidectin on inulin uptake activity in unselected and ivermectin-selected adults //Exp. Parasitol. – 1999. – Vol. 92(3), – p. 193–8.
11. Palmer, R., Rodger, R., Drinan, E., Dwyer, C., Smith, P.R. Preliminary trials on the efficacy of ivermectin against parasitic copepods of Atlantic salmon//Bull. Eur. ssoc. Fish Pathol. – 1987. – Vol. 7 (2). – p. 47–54.
12. Shu E.N., Okonkwo P.O., Batey W.O., Onyeanus J. Ivermectin: concentration-dependent effects on adenosinetriphosphatases in adult worms of *Onchocerca bolbulus* // Acta Tropica. – 2000. – Vol. 74. – p. 7–11
13. Youssef M. Y. M., Sadaka H. A. H., Eissa M. M., El-Ariny A. F. Topical application of ivermectin for human ectoparasites // Am. J. Trop. Med. Hyg. – 1995. – Vol. 53,– p. 652 – 653.

*We was research of the changes of morphology in development of embryos and larvae of loach Misgurnus fossilis L. under the conditions of influence of the ivermectin and avermectin in the concentrations 0,01 mg/L and 1 mg/L. It was observed general stasis in concentration of avermectins 1 mg/L. The damage and development delay of the skeleton, bending rudder part of spine, hypostasis of abdominal cavity, slowing heartbeats were observed in low concentrations.*

**Key words:** *Misgurnus, embrion, toxicology.*

УДК 582.736.3–192(477.85)

Алла Токарюк

## GENISTELLA SAGITTALIS (L.) GAMS (FABACEAE) У БУКОВИНСЬКОМУ ПРИКАРПАТТІ

*Представлено результати дослідження ценотичної приуроченості, насіннєвої продуктивності та відновлення популяції Genistella sagittalis (L.) Gams у Буковинському Прикарпатті.*

**Ключові слова:** *Genistella, популяція.*

## Вступ

*Genistella sagittalis* (L.) Gams – рідкісний європейський, занесений до “Червоної книги України” [11] вид, ареал якого займає Південну та Центральну Європу від Іспанії до Балкан. Північна межа ареалу охоплює південь Бельгії, північну частину Франції і доходить до р. Ельба. Східна межа поширення розташована в Угорщині та по р. Дунай. Окремі місцезнаходження зареєстровані в Чехії, Румунії та Польщі, в значній кількості відмічений у флорі Болгарії. Ізольовані локалітети виду знаходяться в Україні, де він поширений на