

УДК 619:616.995.122-084:633.2.033

Моллюскоцидные свойства дуба обыкновенного

Горчаков Владимир Викторович, кандидат биол. наук, вед. научный сотрудник, **Косорлукова Зинаида Яковлевна**, кандидат вет. наук, заместитель директора ФГБНУ «Научно-исследовательский ветеринарный институт Нечерноземной зоны Российской Федерации», г. Нижний Новгород, Россия

E-mail: nivinz@yandex.ru

*Высокая заболеваемость животных создает риск дальнейшего ухудшения эпизоотической ситуации по фасциолезу. Для уничтожения моллюсков и разрыва биологического цикла *Fasciola hepatica* наиболее доступным моллюскоцидом является медный купорос, однако, он высокотоксичен в отношении выпасающихся животных, гидробионтов и растительности. Цель исследования – выявление моллюскоцидных свойств препарата из дуба обыкновенного для моллюсков семейства *Lymnaeidae* – промежуточных хозяев трематод, опасных для сельскохозяйственных животных. Исследования выполняли в 2015-2017 гг. в лаборатории института и хозяйствах Нижегородской области. Из дуба обыкновенного готовили препарат в виде порошка и испытывали в условиях пастбищ. Лабораторными исследованиями установлена безвредность препарата, который согласно классификации токсических веществ ГОСТ 12.1.007-76 отнесен к IV классу опасности – «малоопасные вещества». Установлено, что порошок в дозе 10,0 г/л вызывал гибель 8-17% низших ракообразных (дафнии, циклопы), 5-10% бентоса (олигохеты, хирономиды), однако через 15-17 суток их численность восстанавливалась. Препарат не вызывал ожогов у водно-болотных растений и распадался в течение 7-8 суток. В производственных опытах на пастбищах внесение препарата в биотопы моллюсков из расчета 10,0 г/л при экспозиции 5 суток вызывало гибель 100% моллюсков и 94% их яиц/кладок. Максимальная моллюскоцидная активность препарата достигалась при температуре воды 26,5-28,8°С, с понижением температуры до 15,8-17,4°С происходило снижение его активности. Сделан вывод о возможности применения порошка из дуба обыкновенного в качестве моллюскоцида растительного происхождения для санации пастбищ и скотопрогонных в период проведения комплекса лечебно-профилактических мероприятий при фасциолезе жвачных животных.*

Ключевые слова: фасциолез, пресноводные моллюски, пастбища, профилактика, растительные моллюскоциды, препарат, дуб обыкновенный

Фасциолез крупного рогатого скота, возбудителем которого являются трематоды рода *Fasciola*, представляется одним из опасных зооантропогельминтозов. Отечественный и зарубежный опыт показывает, что традиционные схемы выпаса и многократная дегельминтизация животных не обеспечивают снижения напряженности эпизоотической ситуации по фасциолезу [1, 2]. В то же время признается, что одним из эффективных приёмов пастбищной профилактики трематодозов, в том числе фасциолеза, является снижение численности промежуточных хозяев возбудителя – моллюсков [3]. Наиболее доступным моллюскоцидом является сульфат меди (медный купорос). Однако, обладая высокой моллюскоцидной активностью, он токсичен в отношении рыб, земноводных, ракообразных, бентоса и растительности. Медный купорос в купе с другими техногенными загрязнителями, скапливающимися на пастбищах, усиливает токсическое воздействие и, мигрируя по пищевой цепи «вода-почва-корма-молоко», является причиной острой интоксикации у людей и животных [4, 5, 6]. Более совершенными в экологическом плане и сохранении окружающей среды являются моллюскоциды растительного происхождения. В этой связи представляется актуальным поиск растений, обладающих моллюскоцидными свойствами.

Цель исследований – выявление моллюскоцидных свойств у дуба обыкновенного – *Quercus robur* L. для пресноводных моллюсков семейства *Lymnaeidae* род *Lymnaea*, промежуточных хозяев

трематод сельскохозяйственных животных.

Материал и методы. Исследования проводили в 2015-2017 гг. в лаборатории ФГБНУ «НИВИ НЗ России» и в базовых хозяйствах Нижегородской области. Объект исследования – препарат в виде порошка из дуба обыкновенного, для выявления моллюскоцидного действия на прудовиков *Lymnaea truncatula*, *L. subangulata*, *L. goupili*, являющихся промежуточными хозяевами фасциолы обыкновенной – *Fasciola hepatica*. Порошок готовили в лабораторных условиях из коры, веток, и листьев дуба путём измельчения подсушенного растительного сырья до частиц размером 1-3 мм с последующим досушиванием до 12-14% влажности. Надземная часть растения содержит дубильные вещества протокатехиновой группы (до 20%) с преобладанием конденсированных таннидов, а также витамин С и органические кислоты. В ветеринарии препараты дуба применяют при стоматитах, диспепсиях, гастритах, энтеритах, желудочно-кишечных кровотечениях.

Собранных с пастбищ прудовиков адаптировали в течение трёх месяцев к лабораторным условиям аквариальной института. Получали от них кладки и материал использовали в экспериментах по общепринятой методике [3]. Лабораторные опыты по определению уровня моллюскоцидной активности проводили с порошком дуба обыкновенного в дозах от 1,0 до 10,0 г/л воды, в качестве контроля использовалась чистая вода в стеклянном сосуде. Изучение влияния

порошка на физиологическое состояние прудовиков проводили в течение 10 суток, а их кладок – 15 суток в стеклянных сосудах, содержащих по 10 экз. моллюсков и кладок при температуре 20-21°C, рН 6,8-7,0 и средней жёсткости воды – °dН 12,5. Наименьшая концентрация порошка, оказавшая более высокий моллюскоцидный эффект, испытывалась повторно при температурных режимах 10-14°C; 15-17; 18-20; 24-26°C, рН 6,8-7,0 и dН° 12,5 на 100 экз. моллюсков и 100 яйцекладках. В отличие от медного купороса этот растительный препарат воздействует «мягко» – проникая в клетки мышечной ткани ноги моллюска дубильные вещества денатурируют белки, обездвиживая целевой объект. Прудовик не может ни убежать от губительного действия таннидов, ни закрыться крышечкой, т.к. у этих видов её нет. Тело его набухает и высовывается из раковины, ещё более подпадая под действие препарата. Гибель прудовиков диагностируют по отрицательной реакции на укол в ногу, а яйцекладок – микроскопически и в сравнении выхода с контролем [3].

Изучение токсических LD₅₀, LD₁₀₀ (на белых мышах и крысах обоего пола) и кумулятивных K_{кум} (на белых беспородных крысах-самцах) свойств препарата из дуба обыкновенного выполняли по стандартным методам [7, 8].

Промежуточные хозяева *Fasciola hepatica* требовательны к условиям существования. В водоемах с песчаным или супесчаным дном прудовики встречаются очагами. На торфяниках не живут. Их биотопы в большинстве встречаются в водоемах с глинистым дном и иловыми отложениями при рН 6,8-7,1. Наибольшая плотность поселения в местах выпаса жвачных, где инсоляция достигает дна при глубине воды в 5-20 см с оптимальной температурой +21,0-25,5°C. В водоёмах с такими гидрологическими характеристиками и проводились наши полевые исследования. При обнаружении лимнеид определяли их количество на 1 м² проволочным квадратом 0,5х0,5 м. и результат умножали на 4. Средняя величина трех измерений по методике представляет более достоверную численность плотности популяции [3]. Видовой состав ракообразных и количественное определение планктонных организмов проводили на трех участках биотопа фильтрованием через газ № 49-56 по 50 л воды [9]. Зообентос собирали гидробиологическим дночерпателем, промывали через газ № 17 и фиксировали 4% формалином. Расчет численности и биомассы донных беспозвоночных выполняли по общепринятым методам при гидробиологических исследованиях на пресноводных водоемах [10].

Обработку биотопов на пастбищах проводили в период активного состояния мол-

люсков – с конца мая (после спада талых вод) – в июне и в августе – на следующий день после дождей, в пасмурную сырую погоду, в утренние часы во время сильных рос при температуре воды не ниже +14°C. Перед опытами прекращали внесение органических и минеральных удобрений, а выпас животных на этих участках начинали лишь после гибели моллюсков. Объём стоячих водоёмов на пастбище определяли путём трехкратного измерения и умножения средних величин их длины, ширины и глубины [3]. По количеству воды в биотопе прудовиков и эффективной моллюскоцидной дозе, путем их умножения, вычисляли общую навеску растительного препарата. Порошок из дуба обыкновенного равномерно вносили по всей поверхности акватории водоёма. В течение 1-1,5 суток в биотопе создаётся одинаковая концентрация препарата во всей толще воды.

Опыт 1. На пастбище в биотопы *Lymnaea subangulata* (154 м²) при температуре воды 15,8-17,4°C, рН 6,9-7,0 и °dН 15,1 вносили препарат из расчёта 10 г/л. Опыт 2. На пастбище в биотопы *Lymnaea truncatula* (114 м²) при температуре воды 21,1-22,8°C, рН 6,8-6,9 и °dН 14,8 вносили препарат из расчёта 10 г/л. Опыт 3. На пастбище в биотопы *Lymnaea goupili* (85 м²) при температуре воды 26,5-28,8°C, рН 6,7-6,9 и °dН 15,0 вносили препарат из расчёта 10 г/л.

Неровности микрорельефа обрабатывались со всех сторон. Экспозиция препарата составляла пять суток. Статистическую обработку полученных данных проводили методом определения статистической значимости различий средних величин по t-критерию Стьюдента с помощью прикладной компьютерной программы « STATISTICA 6 ».

Результаты и их обсуждение. В лабораторных опытах по изучению моллюскоцидной активности порошка из дуба обыкновенного, содержащего дубильные вещества (танниды) установлена наименьшая концентрация порошка, оказавшая более высокий моллюскоцидный эффект – 8 г/л. Изменение температуры воды влияло на моллюскоцидную активность, что отражено в таблице 1. Со снижением температуры воды (среды обитания моллюсков) понижалось и губительное воздействие таннидов на прудовиков в 1,78 раза, а на их яйцекладки – в 1,87 раза.

При изучении LD выявлено, что двукратное внутривенное и подкожное введение препарата из дуба в максимально возможных дозах не вызывало токсического влияния на организм теплокровных животных, что позволяет сделать вывод об его безвредности. Согласно ГОСТ 12.1.007-76, препарат был отнесен к IV классу опасности «малоопасные вещества» [7].

В результате изучения кумулятивных свойств при пероральном введении крысам $K_{кум}$ составил более 1,5, и охарактеризован как «препарат, не обладающий кумулятивными свойствами» [8]. Известно, что дуб не содержит основных токсических веществ: алкалоидов, сердечных гликозидов, циангликозидов, тиогликозидов, гликоалкалоидов и фотосенсибилизирующих пигментов, щавелевой, пировиноградной, щавелевоуксусной и α -кетоглутаровой кислот [11]. Нами также было изучено воздействие препарата на нецелевые организмы – гидробионты по методике [9, 10]. Установлено, что порошок в дозе 10,0 г/л вызывал гибель:

ракообразных (дафнии, циклопы) – 8-17%, бентоса (олигохеты, хирономиды) - 5-10%, однако через 15-17 суток их численность восстанавливалась. Земноводные (лягушки, тритоны) исчезали на 1-4 суток. Препарат не действует на растительность. Распадался в воде весной-летом в течение 7-8 суток.

Полевые испытания препарата из дуба в виде порошка на моллюскоцидную активность представлены в серии выполненных опытов в таблице 2. Однако из-за несколько повышенной средней жесткости воды в биотопах по рекомендациям [3] дозу порошка из дуба увеличили на возрастную dH – 25% до 10 г/л.

Таблица 1

Моллюскоцидная активность порошка из дуба обыкновенного в лабораторных опытах (при концентрации препарата 8,0 г/л)

Гидрохимические показатели среды (вода)			Численность моллюсков и кладок, экз.	Гибель, %	
$T^{\circ}C$	pH	жесткость, dH		моллюсков	кладок
10,5-14,8	6,8-6,9	12,5	100-100	53,00*	47,00*
15,6-17,3	6,9-7,0	12,5	100-100	74,00*	65,00*
18,1-20,1	6,8-6,9	12,5	100-100	91,00*	83,00*
24,1-26,7	7,0-7,1	12,5	100-100	94,00*	88,00*

* достоверно при $P < 0,05$

Таблица 2

Моллюскоцидная активность порошка из дуба обыкновенного в условиях пастбищ

Биотоп моллюсков на пастбище (№ опыта)	$T^{\circ}C$ воды	Средняя численность прудовиков/кладок на 1 m^2 (до опыта)	Гибель, %	
			моллюсков	кладок
<i>Lymnaea subangulata</i> (опыт №1)	15,8-17,4	71/43	87,15*	83,30*
<i>Lymnaea truncatula</i> (опыт №2)	21,1-22,8	53/27	95,27*	88,12*
<i>Lymnaea goupili</i> (опыт №3)	26,5-28,8	138/53	100,00*	94,18*

* достоверно при $P < 0,05$

Результаты проведенных опытов в условиях пастбищ для крупного рогатого скота свидетельствуют о высокой целевой моллюскоцидной активности препарата. Его эффективность по отношению к моллюскам при обработке (10,0 г/л с экспозицией 5 суток) составила от 87 до 100%, а по отношению к их кладкам от 83 до 94%. При этом выяснено, что наиболее высокая эффективность отмечалась при температуре воды 26,5-28,8 $^{\circ}C$ (100% на прудовиков и 94% на их яйцекладки). С понижением температуры воды до 15,8-17,4 $^{\circ}C$ снижалась и моллюскоцидная активность препарата: до 87 и 83%, соответственно. Ранее нами было установлено, что применение моллюскоцидов растительного происхождения с таким уровнем активности обеспечивает снижение зараженности животных фасциолами в 10-14 раз [12].

Выводы. В производственном эксперименте в пастбищных условиях показано, что препа-

рат из дуба обыкновенного в форме порошка обладает активным целевым летальным действием на прудовиков семейства *Lymnaeidae* – промежуточных хозяев возбудителей фасциолеза и других гельминтозов. Установлено, что внесение препарата в биотопы лимней на пастбище из расчета 10,0 г/л при экспозиции 5 суток вызывает гибель 87-100% моллюсков и 83-94% их яйцекладок. Оптимальная температура воды для максимального проявления моллюскоцидной активности составляла 26,5-28,8 $^{\circ}C$, с понижением температуры воды до 15,8-17,4 $^{\circ}C$ снижалась и активность препарата. Полученные результаты свидетельствуют о возможности применения порошка из коры, веток и листьев дуба обыкновенного в качестве растительного моллюскоцида для санации пастбищ и скотопрогонов в период проведения комплекса лечебно-профилактических мероприятий при фасциолезе жвачных животных.

Список литературы

1. Dreyfuss G., Vignoles P., Rondelaud D. *Fasciola hepatica*: the infectivity of cattle-origin miracidia had increased over the past years in central France // *Parasitology Research*. 2007. Vol. 101. № 4. Pp. 1157-1160.
2. Ristic Z.A., Zuko A., Cutuk R., Saljic E., Apic E., Bozic D., Stojcevic D. Infestation with small (*Dicrocoelium dendriticum*) and large fluke (*Fasciola hepatica*) in deer hunting ground of special nature reserve "Gornje podunavlje" // *MESO: The first Groatian meat journal*. 2012. Vol. 14. № 6. P. 496-501.
3. Горохов В.В., Осетров В.С. Моллюскоциды и их применение в сельском хозяйстве. М.: Колос, 1978. 224 с.
4. Ненашев Р.А., Калининченко С.А., Яночкин И.В. Влияние различных видов кормов на содержание тяжёлых металлов в рационе и молоке коров // *Зоотехническая наука Белоруссии*. 2006. Т. 41. С. 272-277.
5. Шкуратова И.А., Донник И.М., Верещак Н.А. Накопление тяжёлых металлов у крупного рогатого скота в онтогенезе в условиях техногенного загрязнения // *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. 2008. № 11. С. 200-203.
6. Matsumoto Y., Kinouchi R., Kabeya M.,

Hara M., Ohnishi H., Morisawa M., Sawada H., Miyamoto T. Chronic copper poisoning in Suffolk ewes at the perinatal period // *J. Japan Veter. Med. Assn*. 2014. Vol. 67. № 8. Pp. 587-592.

7. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. Ред. Р.У. Хабриева. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Медицина, 2005. 832 с.

8. Lim R.R., Rink K.J., Hass H.J., Soage-Echague E. A method for the walecation of cumulation and subchronic median effective // *Arch. Int. Pharmacodyn*. 1961. V. 130. P. 335-353.

9. Методические рекомендации по сбору и обработке материалов при гидробиологических исследованиях на пресноводных водоёмах. Зоопланктон. Л., 1984. 23 с.

10. Методические рекомендации по сбору и обработке материалов при гидробиологических исследованиях на пресноводных водоёмах. Бентос. Л., 1984. С. 3-51.

11. Орлов Б.Н. Ядовитые животные и растения СССР. М.: Высшая школа, 1990. 272 с.

12. Горчаков В.В. Средство пастбищной профилактики фасциолёза // *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. 2007. № 10. С. 80-84.

Molluscicidal properties of the common oak

Gorchakov V.V., PhD in biology, leading researcher,

Kosorlukova Z.Ya., PhD in veterinary, deputy director on scientific work

Federal State Budgetary Scientific Institution «Scientific Research Veterinary Institute of Non-Chernozem Zone of the Russian Federation», Nizhny Novgorod, Russia

High morbidity of animals creates a potential risk of further deterioration of epizootic situation on fasciolosis. To devastate mollusks and to break the biological cycle of *Fasciola hepatica* the most affordable molluscicide is bluestone (copper sulphate), which is highly toxic against grazing animals, aquatic organisms and vegetation. The aim of the current study was to investigate molluscicidal activity of the common oak against freshwater mollusks of the family Lymnaeidae as intermediate hosts for trematodes – dangerous for agricultural animals. Researches were conducted in the laboratory and farms of the Nizhny Novgorod region in 2015-2017. A drug was prepared from the common oak and tested for molluscicidal properties in experiments on pastures. Preliminary laboratory studies revealed the harmlessness of this drug. According to the classification of toxic substances by GOST 12.1.007-76 it is classified as a hazard class IV "low-risk substances". It was established that the oak powder at a dose of 10 g/l caused the death of 8-17% lower crustaceans (*Daphnia*, *Cyclops*), 5-10% of benthos (oligochaetes, chironomids), but after 15-17 days their number is restored. The drug did not cause burns in wetland plants and disintegrated within 7-8 days. Field experiments showed that the introduction of the drug into biotopes of mollusks on pastures at a dose of 10.0 g/l during 5 days of exposure caused the death of 100% of mollusks and 94% of their egg clutches. Maximal molluscicidal activity of the drug was observed at the water temperature 26.5-28.8°C; lowering the temperature to 15.8-17.4°C resulted in a decrease in its activity. It has been concluded that there is a possibility of using the oak powder as herbal molluscicide for sanitation of pastures and cattle crossings when implementing fasciolosis control programs.

Key words: fasciolosis, fresh water mollusks, pastures, prophylaxy, herbal molluscicides, drug, common oak

References

1. Dreyfuss G., Vignoles P., Rondelaud D. *Fasciola hepatica*: the infectivity of cattle-origin miracidia had increased over the past years in central France. *Parasitology Research*. 2007. Vol. 101. no. 4. pp. 1157-1160.
2. Ristic Z.A., Zuko A., Cutuk R., Saljic E., Apic E., Bozic D., Stojcevic D. Infestation with small (*Dicrocoelium dendriticum*) and large fluke (*Fasciola hepatica*) in deer hunting ground of special nature reserve "Gornje podunavlje". *MESO: The first Groatian meat journal*. 2012. Vol. 14. no. 6. pp. 496-501.
3. Gorokhov V.V., Osetrov V.S. *Mollyuskotsidy i ikh primeneniye v sel'skom khozyaystve*. [Molluscicides and their use in agriculture]. Moscow: Kolos, 1978. 224 p.
4. Nenashev R.A., Kalinichenko S.A., Yanochkin I.V. *Vliyanie razlichnykh vidov kormov na sodержanie tyazhelykh metallov v ratsione i moloke korov*. [Effect of different types of feed on heavy metal content in dairy rations]. *Zootekhnicheskaya nauka Belorussii*. 2006. Vol. 41. pp. 272-277.
5. Shkuratova I.A., Donnik I.M., Vereshchak N.A. *Nakopleniye tyazhelykh metallov u krupnogo rogatogo skota v ontogeneze v usloviyakh tekhnogennoho zagryazneniya*. [Accumulation of heavy metals in cattle in ontogenesis in the conditions of technogenic pollution]. *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka*. 2008. no. 11. pp. 200-203.
6. Matsumoto Y., Kinouchi R., Kabeya M., Hara M., Ohnishi H., Morisawa M., Sawada H., Miyamoto T. Chronic copper poisoning in Suffolk ewes at the perinatal period.

J. Japan Veter. Med. Assn. 2014. Vol. 67. no. 8. pp. 587-592.

7. *Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskoy) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv*. [Guidelines for experimental (preclinical) study on new pharmacological substances]. *Pod obshch. Red. R.U. Khabrieva. 2-e izd., pererab. i dop.* Moscow: *Meditsina*, 2005. 832 p.

8. Lim R.R., Rink K.J., Hass H.J., Soage-Echague E. A method for the walecation of cumulation and subchronic median effective. *Arch. Int. Pharmacodyn*. 1961. Vol. 130. pp. 335-353.

9. *Metodicheskie rekomendatsii po sboru i obrabotke materialov pri gidrobiologicheskikh issledovaniyakh na presnovodnykh vodoemakh. Zooplankton*. [Methodical recommendations on collection and processing of material during the hydro-biological investigations in freshwater reservoirs. Zooplankton]. Leningrad, 1984. 23 p.

10. *Metodicheskie rekomendatsii po sboru i obrabotke materialov pri gidrobiologicheskikh issledovaniyakh na presnovodnykh vodoemakh. Bentos*. [Methodical recommendations on collection and processing of material during the hydro-biological investigations in freshwater reservoirs. Benthos]. Leningrad, 1984. pp. 3-51.

11. Орлов Б.Н. *Yadovitye zhivotnye i rasteniya SSSR*. [Poisonous animals and plants of the USSR]. Moscow: *Vysshaya shkola*, 1990. 272 p.

12. Gorchakov V.V. *Sredstvo pastbishchnoy profilaktiki fastsioleza*. [A remedy of pasture prophylaxis of fasciolosis]. *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka*. 2007. no. 10. pp. 80-84.