

УДК 594.38: 591.5

ВЛИЯНИЕ НАТРИЕВОЙ СЕЛИТРЫ НА СОДЕРЖАНИЕ ГЕМОГЛОБИНА В ГЕМОЛИМФЕ РОГОВОЙ КАТУШКИ (*MOLLUSCA, GASTROPODA, BULINIDAE*) ИНТАКТНОЙ И ИНВАЗИРОВАННОЙ ТРЕМАТОДАМИ

А.П. Стадниченко, З.И. Иззатуллаев

Аннотация. Исследовано влияние различных концентраций натриевой селитры (0,1, 1, 10, 100 мг/дм³) на содержание гемоглобина в гемолимфе *Planorbarius corneus* (Linne, 1758). Установлено, что все они вызывают у этого моллюска отравление - стадийный патологический процесс. При этом стадии безразличия и стимуляции провоцируют растворы, содержащие менее 0,1 мг/дм³ натриевой селитры. Стадии депрессии соответствуют ее концентрации от 0,1 до 10-100 мг/дм³, а сублетальной и летальной стадиями - выше 100 мг/дм³.

Ключевые слова: *Planorbarius corneus*, гемолимфа, гемоглобин, трематоды, натриевая селитра.

Введение

Широкое использование на территории Центрального (Житомирского) Полесья нитратов в качестве удобрений, вносимых под различные сельскохозяйственные культуры обычно в количестве 200-250 кг на 1 га, создает угрозу загрязнения различных как стоячих водоемов, так и водотоков этими соединениями в случае нарушения правил их транспортирования, хранения и использования. В связи с этим в ряде природных и искусственных водоемов Центрального Полесья содержание нитратов нередко превышает и часто весьма значительно (на порядок и более) санитарно-гигиенические и, тем более, рыбохозяйственные значения принятых в настоящее время ПДК [9]. Первое из них составляет для водоемов санитарно-бытового и рекреационного назначений 45 мг/дм³ (по азоту), для вторых - 40 мг/дм³ [9].

Попадая в водоемы, нитраты воздействуют определенным образом на их гидрофауну, в том числе и на таких обычных ее компонентов на Центральном Полесье как катушки роговые *Planorbarius corneus* (Linne, 1758). В настоящее время очень мало известно о том, какое влияние на них оказывает как слабые растворы нитратов, концентрации которых не превышают значения ПДК, так и растворы, содержание в которых этих токсикантов превышает его на порядок и более. Недавно описаны [11] быстрые поведенческие и физиологические реакции этих гидробионтов в ответ на воздействие на них различных концентраций натриевой селитры, а также нарушения в процессе их эмбриогенеза. Установлены [12] изменения в содержании гемоглобина в гемолимфе катушек при отравлении их крепкими растворами вышеупомянутого токсиканта 200-800 мг/л.

Настоящим исследованием мы попытались установить, какое влияние на уровень содержания гемоглобина во внутренней среде - гемолимфе катушек роговых оказывают растворы натриевой селитры, содержащие этот токсикант в количествах, близких к значению ПДК_{рыб}.

Материалы исследования

Материал: 200 экз. катушки роговой, собранных вручную одновременно (в марте 1992 г.) в мелководном умеренно заросшем водными макрофитами заиленном рукаве р. Уж (г. Коростень Житомирской обл.). Во избежание возможности влияния возрастной изменчивости на результаты исследования мы подбирали для наших опытов животных примерно одновозрастных (одноразмерных) со средним значением максимального диаметра раковины 27-36 мм. Плотность поселения их составляла 11 экз./м².

Доставленных в лабораторию животных через 5-6 ч с момента их отлова использовали в токсикологическом эксперименте. При его постановке были использованы растворы с четырьмя различными концентрациями натриевой селитры (табл. 1) с маркировкой ч.д.а. Растворы токсиканта были приготовлены на водопроводной воде (температура ее - 18-20°C, pH - 7,2-7,5, содержание кислорода - 8,9 мг/дмг). Экспозиция - 3 сут. Через каждые сутки растворы заменяли свежими. Животных подкармливали мацерированными в воде (5-6 сут) тонкими (2-3 мм) ломтиками моркови и белокочанной капусты. По завершении опыта катушки подвергались повному обескровливанию.

Полученная при этом гемолимфа использовалась для определения в ней уровня содержания гемоглобина солянокисло-гемаиновым методом по Сали в модификации И.О. Алякринской [1].

Таблица 1

Характеристика растворов натриевой селитры, использованных в опытах

Содержание ингредиентов, мг/дм ³	Концентрация растворов, мг/дм ³			
	0,1	1	10	100
Азот	0,017	0,17	1,7	17
Кислотный остаток	0,060	0,80	8,0	80

Учитывая то, что цветовая гамма индикатора гемометра Сали предназначена для определения содержания гемоглобина в крови позвоночных, у которых концентрация его значительно выше, чем у гемоглобинсодержащих легочных моллюсков, мы брали для определения его втрое больший объем гемолимфы, чем это предусмотрено прописно, а впоследствии осуществляли соответственный перерасчет. Контрольную группу животных содержали в водопроводной воде при прочих равных условиях с особями опытной группы. Цифровые результаты эксперимента обработаны методами вариационной статистики по Г.Ф. Лакину [7]. Принятые следующие критерии надежности сдвига для пластичных показателей, (Hb г%) к которым относится содержание гемоглобина: CV - до 50% (P=95%) [14]. Обескровленных животных подвергали паразитологическому обследованию на предмет выявления у них партенит и личинок трематод. С этой целью из тканей «печени» (гепатопанкреас) катушек изготавливали временные препараты, которые микроскопировали (МБР; 7x8, 7x40). У животных обнаружены реди с зародышевыми шарами и церкариями на ранних стадиях их формирования, относящиеся к семейству Echinostomatidae - Cercaria spinifera La Vai. Экстенсивность инвазии - 42,50 ± 536%. Интенсивность ее, судя по площади очагов поражения, умеренная и гораздо чаще - слабая. Катушки на момент их сбора из-за раннего наступления весны уже вышли (скорее всего - только что вышли) из состояния холодового оцепенения и только-только приступили к активному образу жизни.

Результаты и обсуждение

Результаты наших исследований свидетельствуют о том, что у катушки роговой из р. Уж содержание гемоглобина в гемолимфе «укладывается» в обычную для этих животных норму - 0,3-2,1 г% [1, 10,15]. Хотя оно заметно ниже (на 39,2%), чем у моллюсков, собранных [12] в весенне-летний сезон. Причина этого состоит вероятно в том, что мы имели дело с катушками, собранными в тот период, когда у них еще не завершилась перестройка уровня метаболизма на весенне-летний ритм. А таковая обычно имеет место у брюхоногих легочных моллюсков.

Как видно из приведенных данных (табл. 2), статистически достоверные различия по обсуждаемому показателю между незараженными и инвазированными трематодами животными контрольной группы отсутствуют, что указывает на одинаковый уровень у них общего обмена. Очевидно это связано со слабым патогенным воздействием паразитов на их хозяев-моллюсков, что обусловлено, на наш взгляд, двумя причинами: во-первых, невысокой интенсивностью инвазии и, во-вторых, слабой физиолого-биохимической активностью трематод, только-только вышедших из состояния зимнего анабоза (табл. 2).

В слабых растворах натриевой селитры (0,14 мг/дм³), содержание токсиканта в которых не превышает значений ПДК, отмечено возрастание уровня содержания гемоглобина в гемолимфе катушек. Исключение в этом отношении составляют зараженные трематодами особи, находившиеся в растворе, содержащем 0,1 мг/дм³ натриевой селитры. Скорее всего это обусловлено небольшим объемом выборки, бывшей в нашем распоряжении. Повышение уровня содержания гемоглобина в гемолимфе катушек в токсической среде - очевидное свидетельство наличия сдвига в их системе «оксигемоглобин-гемоглобин». В сторону увеличения концентрации последнего за счет сокращения количества гемоглобина. Следовательно, уровень интенсивности азотного обмена у катушек под воздействием растворов натриевой селитры, не превышающих значений ПДК, заметно понижается (на 15-49%). Чем это обусловлено? Во-первых, это может быть следствием проявления защитно-приспособительного процесса, так как при химическом загрязнении среды «...возникает множественная перестройка систем разного уровня, и все они

направлены в сторону лучшего соответствия» [13]. Известно [2, 3, 5, 8], что в токсической среде, при гипоксии (а таковая у катушек неизбежна из-за усиления ослизнения их тела) и при других неблагоприятных воздействиях у них

ILMIY AXBOROTNOIVIA BIOLOGIYA 2014-yil» 5-son
наблюдается неспецифическая защитно-приспособительная реакция в форме частичного или полного «переключения» азробного дыхания на анаэробное (гликолиз) с соответственным сдвигом в системе «оксигемоглобин-гемоглобин» в сторону возрастания уровня содержания последнего. Во-вторых, повышение уровня содержания гемоглобина во внутренней среде катушек, не исключено, является следствием развивающегося у них патологического процесса, обусловленного отравлением этих животных нитратами. В этом случае, по классификации Е.А. Веселова [4] стадийности вызванного отравлением патологического процесса, состояние животных соответствует стадии депрессии, а предшествующая ей стадия стимуляции должна иметь место в растворах натриевой селитры, концентрация которых не превышает 0,1 мг/л. В пользу того предположения, что этот токсикант в концентрации 0,1-1 мг/дм³ оказывает на подопытных животных патогенное воздействие, свидетельствует тот факт, что через 2 сут. экспозиции при 10 мг/дм³ натриевой селитры зарегистрированы случаи летального исхода (около 6%). У погибших особей явными были признаки озлищенния и обводнения тела, усугубившиеся с повышением концентрация токсиканта до 10 и 100 мг/дм³.

При 100 мг/л токсиканта и у свободных от заражения, и у инвазированных трематодами особей концентрация гемоглобина в гемолимфе находится примерно на том же уровне, что и при 0,1—1 мг/дм³ натриевой селитры в среде. К завершению этого опыта наблюдается 100%-ная гибель всех подопытных особей.

Таким образом, настоящее и предыдущее наши исследования и анализ данных литературы убедительно свидетельствуют о том, что чувствительность и устойчивость роговых катушек к воздействию на них натриевой селитрой, а также дозы этого токсиканта, обуславливающие развитие у них той или иной стадии патологического процесса, вызванного отравлением этих животных, неодинаковы у особей разных популяций, приуроченных в своем распространении к биотопам, заметно различающимися условиями среды. Так, например, значение максимально переносимой концентрации (МПК) для катушек, использованных в настоящем исследовании, составляет 1 мг/дм³ натриевой селитры, а для особей из р. Тетерев (в черте Житомира) - 1000 мг/дм³ этого токсиканта [12], что свидетельствует о разном уровне их чувствительности. Неодинакова и устойчивость к токсическому воздействию натриевой селитры у особей сравниваемых популяций: при одной и той же концентрации токсиканта (10 мг/дм³) выживаемость катушек из р. Тетерев составляет 100, в то время как из р. Уж - 94%. Кроме того, у первых из них стадия депрессии наблюдается в растворах, содержание натриевой селитры в которых превышает 200, а у вторых - только лишь 0,1 мг/дм³.

Таблица 2

Влияние различных концентраций натриевой селитры на уровень содержания гемоглобина (г%) в гемолимфе катушки роговой в норме и при инвазии ее редиями *S. spinifera*

Инвазии	Статистические показатели				
	n	lim	M± m	S	V
Контроль					
Нет	22	0,64-0,93	0,73 ±0,03	0,04	19,63
Есть	18	0,64-0,75	0,73 ±0,01	0,14	5,85
0,1 мг/дм ³					
Нет	26	0,64-1,13	1,09 ±0,09	0,44	40,35
Есть	14	0,64-0,93	0,72 ±0,02	0,09	12,18
1,0 мг/дм ³					
Нет	23	0,64-1,30	0,84 ±0,05	0,24	28,59
Есть	17	0,64-1,30	0,92 ±0,04	0,17	18,23
10 мг/дм ³					
Нет	23	0,75-1,30	1,03 ±0,04	0,19	18,65
Есть	17	0,75-1,30	0,94 ±0,05	0,20	22,29
100 мг/дм ³ *					
Нет	21	0,75-0,93	0,90 ±0,01	0,06	7,17
Есть	19	0,75-1,03	0,93 ±0,02	0,10	10,27

ВЫВОДЫ:

1. В ранневесеннее время содержание гемоглобина в гемолимфе катушки роговой из р. Уж (г. Коростень Житомирской обл.) составляет в среднем $0,73 \pm 0,03$ г%.
2. При $0,1-100$ мг/дм³ токсиканта уровень содержания гемоглобина статистически достоверно повышается по сравнению с контролем, что соответствует развитию у нее стадии депрессии вызванного отравлением патологического процесса.
3. Стадии стимуляции соответствуют растворы, содержащие менее $0,1$ мг/л токсиканта.
4. Значения устойчивости и чувствительности, а также граничные концентрации различных стадий патологического процесса, обусловленного отравлением катушки роговой натриевой селитрой, широко варьируют у особей, относящихся к разным популяциям.

Литература

1. Атякринская И.О. Гемоглобины и гемоцианины некоторых беспозвоночных в связи с экологией: Автореф. дис. канд. биол. наук. - М., 1976. - 33 с.
2. Биргер Т. й. Метаболизм водных беспозвоночных в токсической среде. - Киев: Наук, думка, 1979. - 190 с.
3. Биргер Т. И., Маляревская А.Я. О некоторых биохимических механизмах резистентности водных беспозвоночных к токсическим веществам // Гидробиол. журн., 1977. Т. 13. Л'26. С. 69-73.
4. Веселов Е. А. Основане фазы действия токсических веществ на организмы // Тез. докл. Всесоюз. науч. конф. по вопр. водн. токсикологии. М.: Наука. - 1968. - С. 15-16.
5. Горомосова С.А., Шейренко А.З. Основные черты биохимии энергетического обмена мидий. - М.: Легкая и пещев. пром-сть, 1984. - 120 с.
6. Короленко П.М., Федорова Д.С., Гвоздарев АЮ. и др. Проблема создания единой системы биологического анализа природных и сточных вод/теория и практика /// Гидрохимические материалы. - Л.: Гидрометеиздат, 1981. Т 82. - С 34-50.
7. Лакин Г.Ф. Биометрия. -М.: Высш. шк., 1973. - 343 с.
8. Маляревская А. Я. Биохимические механизмы адаптации гидробионтов к токсическим веществам // Гидробиол. журн. - 1985. - Т. 21, - №3. - С. 70-82.
9. Правила охорони поверхневих вод від забруднення зворотними водами № 465 - 99 // К.: Кабмін України, 1999, 12.5, Нормування якості природних вод водоймищ питного, культурно-побутового і рибогосподарського призначення. С. 1,9-7,9.
10. Стадниченко А.П., Иваненко Л.Д., Бургомистренко Л.Г. Изменение физико-химических свойств гемолимфы *Planorbis corneus* (Gastropoda, Pulmonata) при инвазии партенитами *Cotylurus cognatus* (Trematoda, Strigeidae) // Паразитология, 1980. Т. 14, вып. 1. - С. 66-70,
11. Стадниченко А.П., Сластенко Н.Н., Балашкевич Е.Н., Башинский В.Л. Влияние нитратов на жизнедеятельность и эмбриональное развитие катушек // Деп. в УіфНІИТИ 04.09.90 г., № 1507 - Ук90. - 10 с.
12. Стадниченко А.П., Сластенко Н.Н., Мокрицкая А.М. и др. Влияние натриевой селитры на быстрые поведенческие и некоторые физиолого-биохимические реакции катушки роговой в норме и при инвазии ее партенитами трематод // Деп. в УкрНТЗИ 06.04.92 г., № 447 - Ук. 92.- 18 с.
13. Строганов Н.Н. Биологический аспект проблемы нормы и патологии в военной токсикологии / Норма и патология/. - М.: Наука, 1983. - С. 5-21.
14. Шефтель В.О., Сова Р.З. Критерий надежности как функция биологической значимости и варибельности признака // Применение математических методов оценки и прогнозирования реальной опасности накопления пестицидов во внешней среде и организмах. - Киев: АСХН УССР, 1976. - С. 37-39.
15. Borden M.A. A study of the respiration and of the function of haemoglobin in *Planorbis comeus* and *Arenicola marina* // J. Marine Biol. Assoc. U. K., 1931. Vol. 17. - P. 709-738.