

Д. А. Выкушенко

**РЕАГИРОВАНИЕ ПРУДОВИКА ОЗЕРНОГО  
(*LYMNAEA STAGNALIS* L. ) НА ВОЗДЕЙСТВИЕ  
СУЛЬФАТА МЕДИ И ХЛОРИДА ЦИНКА**

Загрязнение солями тяжелых металлов — один из существенных факторов токсификации водной среды. Между тем действующие в настоящее время нормативы предельно допустимых концентраций — санитарно-гигиенические и рыбохозяйственные ПДК [6, 7, 12, 17] — недостаточно учитывают токсичность солей тяжелых металлов для различных гидробионтов.

В этой связи представляет определенный интерес исследование влияния солей меди и цинка на озерного прудовика *Lymnaea stagnalis* L. — одного из наиболее распространенных в водоемах Украины брюхоногих моллюсков (Pulmonale, Lymnaeidae). Информация по этому вопросу немногочисленна [3, 10, 11, 15], причем *L. stagnalis* рассматривается в ряду других лимнеид или в связи с влиянием других токсикантов [13—15, 18].

Имеющиеся литературные данные указывают на то, что в организм гидробионтов тяжелые металлы поступают либо путем диффузии, либо за счет адсорбции из окружающей среды [15], у прудовика — в основном через перитентакулярные участки [18], а также через ткани, выстилающие полость легкого. Соли тяжелых металлов на первых этапах отравления действуют на моллюсков как локальные яды, вызывающие местные повреждения покровов тела и полости легкого. У *L. stagnalis* под воздействием этих солей наблюдаются дегенеративно-некротические изменения кожного эпителия в околожупальцевых областях, а затем и легочного мерцательного эпителия. На поврежденных участках эпителиальные клетки набухают, отторгаются и слущиваются. При этом образуются небольшие (точечные), но весьма мно-

гочисленные кровоточащие язвы. Впоследствии они сливаются в обширные-изъязвления, ограничивающие возможности как кожного, так и легочного дыхания прудовиков. При содержании в токсической среде потребность в кислороде у них, как и у других гидробионтов, -возрастает по сравнению с нормой на 20—50% [6]. Кроме того, при хроническом воздействии ионы тяжелых металлов аккумулируются в различных органах и тканях моллюсков, где образуют комплексные соединения с белками (ферментами, гормонами и др.)- Это сопровождается нарушением функциональных свойств белков и способствует развитию патологических процессов в организме отравленных животных [2]. На начальных этапах интоксикации моллюски приспосабливаются к условиям токсической среды за счет быстрых поведенческих и физиологических защитно-приспособительных реакций. При тяжелом отравлении преобладают патологические реакции, зачастую чреватые для животных летальным исходом.

Цель данной работы — установить реакции *L. stagnalis* на воздействие солей меди и цинка (симптомокомплекс отравления, показатели патологического состояния моллюсков и их развитие в зависимости от концентрации и продолжительности эксперимента).

**Материал и методика исследований.** Исследовано 228 экз. примерно одноразмерных прудовиков *L. stagnalis* со средней высотой раковины  $39,5 \pm 5,9$  мм, собранных в пруду, расположенном в бассейне р. Тетерев (Соловковка, окрестности Житомира) в феврале — марте 1997 г.

Ориентировочный и основной токсикологический опыты поставлены по методике, описанной в литературе [1]. Как токсиканты использованы сульфат меди  $\text{CuSO}_4$  и хлорид цинка  $\text{ZnCl}_2$  (обе соли — марки ч. д. а.) в концентрации 0,001, 0,01, 0,1, 1, 10, 100, 1000 и 10000 мг/л. Растворы готовили на дехлорированной отстаиванием (1 сут) водопроводной воде (рН 7,2—7,5, температура— 18—21°C, содержание кислорода — 8,6—8,9 мг/л). Через каждые 48 ч токсическую среду обновляли. Продолжительность ориентировочного (острого) эксперимента — 48 ч, а основного (хронического) — 90 суток.

Все опыты проведены в трехкратной повторности. Контролем служили особи, содержащиеся в отстоянной (1 сут) водопроводной воде. Результаты опытов учитывали через 10 и 30 мин, 1, 3, 6, 12, 24, 36, 48 ч и далее через каждые сутки. Летальные концентрации солей ( $LC_{50}$ ) при 48-часовой экспозиции определяли графическим методом [8]. Количественные показатели обработаны методами вариационной статистики [5].

### ***Результаты исследований и их обсуждение***

У прудовиков, помещенных в растворы, содержавшие 0,1 мг/л сульфата меди и 1 мг/л хлорида цинка, существенных функциональных нарушений не отмечается. Моллюски передвигаются в поисках корма, активно потребляют его, с обычной периодичностью осуществляют вентилирование легочной полости и дефекацию.

Первые признаки поражения кожных покровов и мерцательного эпителия легкого зарегистрированы у прудовиков при концентрации в среде 1 мг/л  $\text{CuSO}_4$  и 10 мг/л  $\text{ZnCl}_2$ , а обширные их изъязвления — при 10 мг/л как первого, так и второго токсиканта. Однако в растворе  $\text{CuSO}_4$  как локальные повреждения, так и обширные изъязвления кожного и легочного эпителия появляются гораздо быстрее, чем в растворе  $\text{ZnCl}_2$ .

Поражения одинаковой степени кожного и легочного эпителия вызываются более низкой концентрацией сульфата меди и более высокой (на порядок) концентрацией хлорида цинка. Это наблюдение хорошо согласуется с результатами ориентировочных опытов, в которых значения летальных концентраций (мг/л) исследованных солей (минимальные —  $LC_0^{48}$ , медианные —  $LC_{50}^{48}$  и максимальные —  $LC_{100}^{48}$ ), рассчитанные графическим способом [8] и пересчитанные на содержание действующих ионов меди и цинка, составляют:

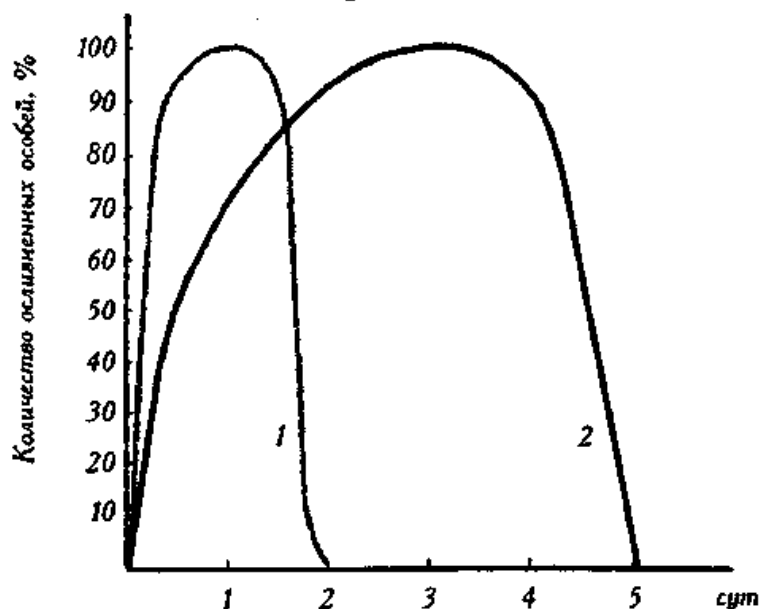
	$Cu^{2+}$	$Zn^{2+}$
$LC_0^{48}$	0,04	0,48
$LC_{50}^{48}$	0,80	9,56
$LC_{100}^{48}$	4,00	47,80

Исходя из приведенных показателей, по принятой в настоящее время шкале токсичности отравляющих веществ для гидробионтов [6] сульфат меди для прудовика озерного является сильнотоксичным, а хлорид цинка — среднетоксичным соединением. Некоторые авторы [16] приводят более высокие значения концентрации ионов цинка (24—75 мг/л), при которых прудовики некоторое время сохраняют жизнеспособность, даже при зараженности паразитическими трематодами.

Одной из форм оборонительного поведения прудовиков в токсичной среде является реакция избегания. Она заключается в стремлении животных покинуть опасное для них местопребывание и обеспечивается за счет возрастания двигательной активности. Это обусловлено наличием нервной связи, соединяющей органы химического чувства моллюсков (осфрадии) с колюмеллярной мышцей и комплексом мышц ноги. При 1—10 мг/л  $CuSO_4$  и 10—100 мг/л  $ZnCl_2$  в среде прудовики уже через 10 мин после начала опыта приходят в состояние возбуждения, совершая быстрые передвижения в одном направлении — вверх по стенкам аквариумов — и собираются над урезом воды. Позже, однако, моллюски, на непродолжительное время избежавшие токсичной среды, снова возвращаются в нее, полностью утрачивая вскоре после этого двигательную активность. Так, через 3 ч после начала опыта при 1 и 10 мг/л сульфата меди в среде преобладающее количество прудовиков (соответственно 80 и 90%), как правило, неподвижно лежали на дне аквариумов, а остальные еще какое-то время оставались вне воды. При 10 и 100 мг/л хлорида цинка полное «затухание» реакции избегания у всех подопытных прудовиков наблюдается соответственно через 6 и 3 ч. Сульфат меди в концентрации 100 мг/л сразу же полностью подавляет двигательную активность прудовиков.

Защитным приспособлением к воздействию на прудовиков растворов сульфата меди и хлорида цинка является быстрая физиологическая реакция — обволакивание их тела слизью, выделяемой одноклеточными железами, расположенными в покровах тела. Такую реакцию у прудовика отмечают и другие авторы [11, 12]. Слой слизи затрудняет контакт токсикантов с кожным мерцательным эпителием, ограничивая тем самым диффузию ионов тяжелых металлов во внутреннюю среду моллюска. Однако эффективность этой защитной реакции весьма относительна, поскольку при усилении секреции, а значит, и с увеличением толщины слизистого покрова, замедляется диффузия через него кислорода. Это сопровождается снижением эффек-

тивности кожного дыхания, а в организме прудовиков, как известно [9], от 50 до 70% кислорода поступает именно через кожу. Кислородное голодание обуславливает частичный переход моллюсков на анаэробный тип дыхания [2]. Следовательно, когда защитная реакция, достигает определенной силы, она сама становится причиной повреждений и вызывает новую форму защитной реакции.



Скорость ослизнения тела *L. stagnalis* в средах, содержащих по 10 мг/л сульфата меди (1) и хлорида цинка (2).

В растворах 0,01 и 0,1 мг/л  $\text{CuSO}_4$  и 0,01—1 мг/л  $\text{ZnCl}_2$  в течение месяца после начала опыта ослизнения тела не обнаружено. При 1 мг/л  $\text{CuSO}_4$  первые признаки обволакивания тела слизью выявляются через 12 ч после начала опыта (у 20% моллюсков). В дальнейшем количество животных с повышенным слизиотделением возрастает. При 10 мг/л  $\text{CuSO}_4$  и при такой же концентрации  $\text{ZnCl}_2$  первые признаки усиления слизиотделения появляются через 3 и 6 ч соответственно у 40 и 30% особей (рисунок). При 100 мг/л  $\text{CuSO}_4$  и  $\text{ZnCl}_2$  эта реакция проявляется только через 3 ч (у 30% животных), что указывает на угнетение секреторной функции кожных желез. Дальнейшее содержание прудовиков в этих растворах сопровождается коагуляцией слизи, обусловленной взаимодействием ионов металлов с входящими в ее состав белками с образованием альбуминатов. Коагулировавшая слизь, отделившись от тела прудовиков в виде комков разного размера, зависает в толще воды, а затем медленно, но неуклонно оседает на дно аквариумов.

Через 12 ч после начала экспозиции в растворах, содержавших 1 мг/л  $\text{CuSO}_4$  и 10 мг/л  $\text{ZnCl}_2$ , у прудовиков регистрируются первые признаки положительного водного баланса, свидетельствующие о нарушении обмена воды между их гемолимфой и тканями. Это проявляется развитием у них слабой мозаичной пастозности, наиболее ярко выраженной в области головы и ноги. При 10 мг/л  $\text{CuSO}_4$  этот симптом отчетливо выражен уже через 30 мин после начала опыта. Дальнейшее пребывание моллюсков в этом растворе сопровождается развитием у них разлитых отеков упомянутых органов. Обводнение тканей *L. stagnalis* под влиянием различных токсикантов отмечалось и другими исследователями [3].

Задержка воды в организме отравленных особей достигает значительной величины: объем головы и ноги прудовиков возрастает в среднем в 1,5—2 раза по сравнению с контролем. Резкое увеличение объема этих частей тела и понижение тонуса колюмеллярной мышцы не позволяют животным втя-

**1. Влияние фактора времени на изменение общей массы тела *L. stagnalis* при воздействии раствора хлорида цинка (100 мг/л)**

Экспозиция, ч	Масса тела	Статистические показатели				
		$\bar{x} \pm m_x$	$\sigma$	$V$	$t$	$P$
0	3,5—6,7	4,83±0,33	1,06	21,85	0,32	7,7
3	3,6—6,7	4,93±0,31	0,99	20,09	0,09	7,79
6	3,9—6,7	4,89±0,28	0,89	18,10	6,72	9,99
12	2,8—5,9	3,68±0,30	0,96	26,18	4,56	9,8
24	1,7—4,5	2,86±0,28	0,83	28,89		

**2. Концентрации сульфата меди и хлорида цинка, вызывающие у *L. stagnalis* различные фазы отравления (экспозиция — 48 ч)**

Фазы отравления	Сульфат меди, мг/л	Хлорид цинка, мг/л	Поведенческие реакции	Физиологические реакции
Безразличие	0—0,1	0—1	—	—
Стимуляция	0,1—1	1—10	+	—
Депрессия	1—10	10—100	+	+
Сублетальная	10—100	100—1000	—	+
Летальная	100 и более	1000 и более	—	+

нуть их внутрь раковины. Поэтому разбухшие от избытка накопленной воды голова и нога выпадают наружу через устье раковины (реакция выпадения). Прудовики с разлитым отеком ноги полностью обездвижены. Скопление жидкости в тканевом межклеточном веществе сопровождается, помимо возрастания объема тканей, значительным снижением их эластичности, сдавливанием лакун и сосудов кровеносной системы, повреждением сосудистых стенок вследствие увеличения их порозности, накоплением в большом количестве продуктов распада клеток, нарушением тканевого обмена, понижением и нарушением функций отекающих органов и тканей, потерей тактильной чувствительности (реакция обмирания).

Реакция выпадения наблюдается у особей, выдержанных при 1 мг/л  $\text{CuSO}_4$  в среде в течение 3 ч, а при 10 мг/л и такой же концентрации  $\text{ZnCl}_2$  — в течение 24 ч после начала опыта. При более высокой концентрации токсикантов она не обнаружена. В этих растворах голова и нога прудовиков втянуты внутрь раковины, края подошвы у них становятся волнистыми из-за тонического сокращения определенных групп мышц ноги. При 100 мг/л  $\text{ZnCl}_2$  в среде в течение 6 ч после начала опыта масса тела прудовиков сохраняется в исходных пределах, что свидетельствует об отсутствии нарушений водного баланса (табл. 1), а через 12 ч она сокращается на 25% ( $P = 99,9\%$ ). Через сутки на летальной фазе отравления потеря общей массы тела у прудовиков составляет 49% ( $P = 99,8\%$ ). Следовательно, в данной среде через 12—24 ч наблюдается отрицательный водный баланс.

Патологический процесс, развивающийся у прудовиков при воздействии токсикантов, характеризуется фазностью (табл. 2), что обычно как для других моллюсков, так и для всех остальных пресноводных гидробионтов [4, 6].

Экспозиция прудовиков в растворах с концентрацией 1—100 мг/л  $\text{CuSO}_4$ , 10 и 100 мг/л  $\text{ZnCl}_2$  довольно быстро вызывает гибель подопытных животных. Так, при 1 мг/л  $\text{CuSO}_4$  в среде 100%-ная гибель прудовиков наступает через 8, при 10 — через 2 сут, а при 100 мг/л — через 6 ч. В растворах, содержащих 10 и 100 мг/л  $\text{ZnCl}_2$ , подобное имеет место соответствен-

но через 5 и 1 сут. В слабых же растворах этих солей моллюски длительное время сохраняют жизнеспособность. Например, при 0,1 мг/л  $\text{CuSO}_4$  первые погибшие животные зарегистрированы на 33-и (10%), а при 0,01 мг/л — на 35-е сут (10%) после начала опыта.

### Заклучение

Симптомокомплекс отравления *L. stagnalis* солями меди и цинка складывается из следующих показателей: а) поведенческая реакция избегания (на ранних стадиях интоксикации); б) ослизнение тела; в) нарушение водного баланса (обводнение тканей), выражающееся сначала в мозаичной пастозности тканей, а затем в отеках головы и ноги; г) выпадение головы и ноги через устье раковины; д) снижение массы тела в течение суток; е) полное обезвоживание.

В реагировании *L. stagnalis* на токсическое воздействие солей меди и цинка проявляется обычная для гидробионтов фазность: безразличие — стимуляция — депрессия — смерть, но при отравлении цинком каждая фаза возникает при концентрации в 10 раз более высокой, чем при отравлении медью, а летальные концентрации так же различаются в 10 раз, т. е. медь для *L. stagnalis* в 10 раз токсичнее цинка.

На завершающих этапах интоксикации выявляются глубокие патологические изменения — как патоморфологические, так и функциональные, завершающиеся реакцией обмирания и летальным исходом.

Реакции *L. stagnalis* на воздействие ионов меди и цинка в основном сходны с реакциями других исследованных в этом отношении видов легочных моллюсков и не являются видоспецифическими.

\*\*\*

*Наведено дані щодо дії сульфату міді та хлориду цинку різної концентрації (0,001, 0,01, 0,1, 1, 10, 100, 1000, 10000 мг/л) на п'явушника озерного, які спричиняють у нього деякі швидкі поведінкові та фізіологічні реакції.*

\*\*\*

*Facts and data are given concerning the influence of different concentrations (0,001, 0,01, 0,1, 1, 10, 100, 1000, 10000 mg/l) of copper sulphate and zinc chloride on quickness of behaviour and physiological reactions of freshwater mollusks living in lakes.*

1. Алексеев В.А. Основные принципы сравнительно-токсикологического эксперимента // Гидробиол. журн. — 1981. — 17, № 3. — С. 92—100.
2. Биргср Т.И., Малярская А.Я. О некоторых биохимических механизмах резистентности водных беспозвоночных к токсическим веществам // Там же. — 1977. — 13, № 6. — С. 69—73.
3. Бузимова Н.С., Данильченко О.П. Реагирование моллюсков *Lymnaea stagnalis* L. на загрязнение. II. Физиолого-биохимические изменения // Биол. науки. — 1984. — № 1. — С. 55—61.
4. Весслов Е.А. Основные фазы действия токсических веществ на организмы // Тез. докл. Всесоюз. науч. конф. по вопросам вод. токсикологии. — М.: Наука, 1968. — С. 15—16.
5. Лакан Г.Ф. Биометрия. — М.: Высш. шк., 1973. — 343 с.
6. Мстелсв В.В., Канасв А.И., Дзасохова Н.Г. Водная токсикология. — М.: Колос, 1971. — 247 с.
7. Новиков Н.В., Ласточкина К.О., Болдина З.Н. Методы исследования качества воды водоемов. — М.: Медицина, 1990. — 400 с.
8. Прозоровский В.Б. О выборе метода построения кривой летальности и определения средней летальной дозы // Журн. общ. биологии. — 1960. — 21, № 3. — С. 221—228.
9. Проссер Л., Браун Ф. Сравнительная физиология животных. — М.: Мир, 1967. — 766 с.