

УДК 576.895.122:594.3:591.5

**ВПЛИВ КАРБОФОСУ НА ВМІСТ ГЕМОГЛОБІНУ У ГЕМОЛІМФІ
PLANORBARIUS PURPURA (MOLLUSCA: PULMONATA: BULINIDAE) У НОРМІ ТА
ЗА ІНВАЗІЇ ТРЕМАТОДАМИ**

А. Стадниченко, В. Гирин, Л. Іваненко, А. Мокрицька, О. Мостіпака

*Житомирський державний педагогічний університет імені Івана Франка
вул. В.Бердичівська 40, Житомир, 10008 Україна*

Досліджено вплив карбофосу (0,009 і 0,9 мг/дм³) на вміст гемоглобіну (Hb) у гемолімфі “малих” і “великих” *Planorbarius purpura* у нормі та інвазованих трематодою *Echinoparyphium aconiatum*. З’ясовано, що у “малих” особин за 0,009 і 0,9 мг/дм³ токсиканту у середовищі рівень вмісту Hb у гемолімфі знижується стрімкіше, ніж у “великих” ($P > 99,9\%$). За помірної трематодної інвазії цей показник має більше значення, ніж у моллюсків неінвазованих ($P > 99,9\%$).

Ключові слова: *Planorbarius*, *Echinoparyphium aconiatum*, карбофос, гемоглобін.

Огляд літератури з водної токсикології (зокрема з малакотоксикології) свідчить про те, що під час здійснення токсикологічних експериментів із метою з’ясувати значення основних токсикологічних показників (LC_0 , LC_{50} , LC_{100}), чутливості і витривалості, симптоматики отруєння тварин різними за природою та концентрацією токсикантами дослідники не враховують того, що прісноводні черевоногі моллюски є облігатними проміжними хазяями трематод. Екстенсивність зараження ними цих гідробіонтів у межах багатьох популяцій зазвичай висока (49 - 98%), а інвазія часто генералізована. Зрозуміло, що заражені трематодами і вільні від інвазії особини не можуть абсолютно однаково реагувати на перебування у токсичному середовищі, оскільки інвазія є для моллюсків додатковим функціональним навантаженням, яке знижує, без сумніву, захисно-приспосувальні можливості їхнього організму. Оскільки не брали до уваги автори опублікованих дотепер праць із малакотоксикології, то наведені в них відомості, на наш погляд, не можна вважати коректними. А токсикологічні експерименти, після завершення яких не було виконано розтину моллюсків для з’ясування наявності чи відсутності у них трематодної інвазії, не можна вважати чистими. Все зазначене вище ми спробуємо довести матеріалами нашого дослідження.

Матеріал: 359 екз. витушки пурпурної *Planorbarius purpura* (O.F. Müller, 1774), зібраної вручну¹ у ріпалі р.Тетерів (правий доплив Середнього Дніпра) в околицях Житомира (Центральне Полісся) у весняно-осінні сезони 1988, 1989, 2001 років.

Піддослідних тварин було розділено на дві розмірні групи, умовно названі “малими” і “великими” (табл.1).

У токсикологічному експерименті для затравлювання середовища використано пестицид із групи фосфорорганічних сполук (ФОС) – карбофос (малатіон, малатіон ЛВ,

© Стадниченко А., Гирин В., Іваненко Л., Мокрицька А., Мостіпака О., 2003

¹ У збиранні матеріалу, крім авторів, узяли участь Т.В.Іщук і В.В.Цвінарський

сполука 4049, фосфотіон, фосфотіон-50, ФОГ-3) - 0,0-диметил-3 (1,2-біс-дихлоретоксид) дитіофосфат. Це контактний середньотоксичний для теплокровних тварин ($ЛК_{50}=200-1000$ мг/кг) інсектицид і акрицид широкого спектра дії. У наших дослідках використано технічний препарат карбофосу з розчинністю у воді [5] при 20°C 145 мг/дм³. Усі застосовані у дослідках розчини приготовлені на дехлорованій відстоюванням (доба) воді з житомирської водогінної мережі. Орієнтаційний і основний досліди поставлено за методикою В.А. Алексєєва [1]. Її детально описано в одній із попередніх праць [7].

Таблиця 1

Загальні відомості про *Planorbarius purpura*, використаних у токсикологічних дослідках

Параметр	“Малі”	“Великі”
Діаметр черепашки, мм		
lim	7-14	15-22
$x \pm m_x$	12,6 \pm 0,3	15,9 \pm 0,6
Кількість досліджених екз.	172	160
З них:	95	85
незаражені	55,2	53,1
	77	75
заражені трематодами	44,8	46,9

Примітка. У чисельнику — екземпляри, у знаменнику — екстенсивність інвазії, %.

Концентрацію гемоглобіну (Hb) у плазмі гемолімфи *P.purpura* визначили соляно-кисло-гематиновим методом за Салі. У цьому разі враховували, що він призначений для визначення Hb у крові теплокровних тварин, у яких цей показник порівняно з молюсками набагато вищий. Тому використано втричі більший об'єм досліджуваного матеріалу. На підставі результату за шкалою гемометра виконано відповідний перерахунок.

Трематодну інвазію виявляли мікроскопуванням (7х8) тимчасових препаратів, виготовлених із гепатопанкреаса молюсків. Видову належність трематод визначали переважно на живому матеріалі [4]. У *P.purpura* виявлено партеніти (редії) і церкарії різного ступеня зрілості трематоди *Echinoparyphium aconiatum* (Dietz) – паразита кишківника водоплавних і навколоводних птахів.

Цифрові результати дослідів опрацьовано методами варіаційної статистики за Г.Ф. Лакінім [6].

Аналіз головних токсикологічних показників (табл. 2), отриманих для “малих” і “великих” особин, свідчить про те, що чутливість цих двох груп молюсків щодо карбофосу подібна, та все ж неоднакова: значення $ЛК_0$ і $ЛК_{100}$ у них збігаються, а $ЛК_{50}$ – різняться між собою. З огляду на значення $ЛК_{50}$, можна стверджувати, що “великі” особини чутливіші до дії карбофосу, ніж “малі”. Це зумовлене більшою напруженістю захисно-приспосувальних можливостей “великих” особин, близьких за віком до моменту їхнього природного відходу. Захисно-приспосувальні можливості “малих” тварин більші. Саме тому близько 50% із них витримують дводобове інкубування у розчині, який містить 0,66 мг/дм³ карбофосу, тоді як у “великих” особин аналогічний рівень виживання за нижчої концентрації токсиканту (0,48 мг/дм³).

Таблиця 2

Чутливість *Planorbarius purpura* до дії карбофосу, мг/дм³

Інвазія	Головні токсикологічні показники		
	ЛК ₀	ЛК ₅₀	ЛК ₁₀₀
“Малі”			
Немає	0,0010	0,66	10,00
Є	0,0005	0,40	6,75
“Великі”			
Немає	0,0010	0,48	10,00
Є	0,0005	0,33	5,55

Різною є чутливість щодо дії карбофосу інтактних і інвазованих трематодами тварин. Це простежується у *P. purpura* обох вікових груп. І хоча значення ЛК₀ у заражених “малих” і “великих” молюсків однакові, ЛК₅₀ і ЛК₁₀₀ суттєво різняться. “Великі” інвазовані особини набагато чутливіші до дії токсиканту, ніж такі ж “малі”. Інкубування *P. purpura* у розчинах із 0,009 мг/дм³ карбофосу супроводжується зниженням рівня вмісту Нб в їхній гемолімфі (табл. 3).

Таблиця 3

Вплив різних концентрацій карбофосу (мг/дм³) на вміст Нб (г%) у гемолімфі *Planorbarius purpura* у нормі та за інвазії їх партенітами і церкаріями *Echinoparyphium aconiatum*

Вікова група	Інвазія	n	Статистичні показники				
			lim	$x \pm m_x$	CV	Відхилення від норми, %	P, %
Контроль							
“Малі”	Немає	25	1,0-1,4	1,26±0,03	11,9		
	Є	25	0,8-1,0	0,88±0,01	6,8	30,16	>99,9
“Великі”	Немає	25	1,2-2,0	1,59±0,06	19,4		
	Є	15	1,1-1,4	1,14±0,02	9,2	28,30	>99,9
0,009 мг/дм ³							
“Малі”	Немає	50	0,9-11	1,00±0,61	12,0		
	Є	38	0,6-0,9	0,72±0,01	13,8	28,00	>99,9
“Великі”	Немає	50	1,1-1,4	1,28±0,01	9,3		
	Є	48	1,0-1,1	1,06±0,006	3,8	11,18	>99,9
0,9 мг/дм ³							
“Малі”	Немає	20	0,6-0,8	0,64±0,02	14,0		
	Є	24	0,5-0,6	0,52±0,004	3,8	18,14	>99,9
“Великі”	Немає	10	0,5-0,9	0,71±0,03	16,8		
	Є	16	0,7-0,9	0,78±0,01	6,4	8,91	95,3

Наприклад, у “малих” незаражених особин значення цього показника знижується порівняно з контролем на 20,6, а у “великих” – на 19,5% ($P > 99,9\%$). Ті ж показники для заражених тварин становлять 18,18 (“малі”) і 7,02% (“великі”) ($P > 99,9\%$). Останні з наведених відомостей переконливо свідчать про те, що адаптивні можливості щодо токсичного середовища неоднакові в інвазованих “малих” і “великих” *P. purpura*. “Малі” молюски

за цих умов виявляють набагато вищу життєздатність порівняно зі “великими” особинами. Про це свідчить той факт, що зниження рівня вмісту Hb у гемолімфі перших із них більше, ніж у других у 2.6 раза ($P > 99,9\%$). А відомо, що концентрація Hb й інтенсивність загального обміну речовин – величини, пов’язані обернено пропорційною залежністю. Підвищення ж рівня загального обміну – це неспецифічна захисна реакція організму *P. purpura* на комплексний вплив двох несприятливих для них чинників – біотичного (трематодна інвазія) й абіотичного (затруєння середовища карбофосом). Вплив кожного з них на моллюсків супроводжується зрушеннями як інтенсивності, так і напрямленості окисно-відновних процесів, що відбуваються у різних їхніх тканинах і органах. За помірної інтенсивності інвазії трематодами на початкових етапах патологічного процесу, що розвивається у *P. purpura* під впливом паразитарного чинника, хазяї протистоять ушкоджувальній дії паразитів підвищенням рівня загального обміну, про що свідчить прискорення у них ритму серцевих скорочень [11], посилення тепловіддачі [10, 13], зростання інтенсивності споживання кисню і виділення вуглекислого газу [9, 12]. Подібно реагують ці тварини і на початкові стадії отруєння більшістю токсикантів, у тому числі і ФОС. Це підтверджують і наші матеріали, які свідчать про зниження рівня вмісту Hb у *P. purpura*, підданих дії 0,009 мг/дм³ карбофосу.

У розчинах із 0,9 мг/дм³ токсиканту відбувається подальше зниження рівня вмісту Hb у гемолімфі моллюсків. У незаражених “малих” особин воно становить 40% щодо контролю і 33,8% щодо першого досліду ($P > 99,9\%$). У заражених “малих” витушок ці показники дорівнюють, відповідно, 44 і 17% ($P > 99,9\%$). Значення останніх двох показників переконливо свідчать про те, що інвазовані тварини виявляються нездатними так, як незаражені особини, протистояти ушкоджувальній дії токсиканту. Саме тому у заражених “малих” *P. purpura* зниження рівня вмісту Hb у гемолімфі відбувається стрімкіше, ніж у незаражених моллюсків. За цих же умов (0,9 мг/дм³ карбофосу) у незаражених “великих” тварин зниження рівня вмісту Hb становить 8 (щодо контролю) і 55% (щодо першого досліду), а у незаражених – 9 і 30%, відповідно, ($P > 99,9\%$). Треба наголосити на тому, що як у дослідах, так і в контролі мінливість показника рівня вмісту Hb у гемолімфі дуже мала, про що свідчать невисокі значення коефіцієнтів варіації (див. табл. 3).

Прийнявши за Е.А. Веселовим (1968) головні фази впливу токсичних речовин на гідробіонтів і зіставивши їх з характером зрушень рівня вмісту Hb у гемолімфі *P. purpura*, експонованих у слабких розчинах карбофосу (0,009 і 0,9 мг/дм³), ми визначили верхню межу фази байдужості для всіх використаних у досліді категорій тварин. Такою є концентрація 0,001 мг/дм³ карбофосу для незаражених і вдвічі нижча (0,0005 мг/дм³) – для заражених як “малих”, так і “великих” тварин. Обидві ці концентрації добре “вписуються” у фазу стимуляції, на якій мобілізуються усі захисні функції організму моллюсків, що призводить до підвищення рівня їхнього загального обміну, а отже, до зменшення концентрації Hb у їхній гемолімфі.

1. Алексеев В.А. Основные принципы сравнительно-токсикологического эксперимента // Гидробиол. журн. 1981. Т.17. №3. С. 92-100.
2. Биргер Т.И. Метаболизм водных беспозвоночных в токсической среде. Киев: Наук.думка, 1979. 190 с.
3. Веселов Е.А. Основные фазы действия токсических веществ на организмы // Тез. докл. Всесоюз. науч. конф. по вопросам водн. токсикологии (30 января – 2 февраля 1968 г.) М.: Наука, 1968. С. 15-16.

4. Здун В.І. Личинки трематод в прісноводних молюсках України. К.: Вид-во АН УРСР, 1961. 141с.
5. Каган Ю.С. Фосфорорганические соединения // Справочник по пестицидам / Ред. Л.И. Медведь. Киев: Урожай, 1977. 448 с.
6. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высш.шк., 1973. 343 с.
7. Стадниченко А.П., Куркчи Л.Н., Сластенко Н.Н. и др. Влияние антропогенных загрязнений на физико-химические свойства гемолимфы пресноводных моллюсков / Деп. в УкрНИИНТИ 13.01.89, №292-Ук89. 1989. 9 с.
8. Стадниченко А.П., Киричук Г.С., Янович Л.М., Іваненко Л.Д. Вплив трематодної інвазії та різних концентрацій карбофосу на вміст гемоглобіну в гемолімфі *Planorbarius purpura* (Mollusca: Pulmonata: Bulinidae) // Вісн. Житомир. педун-ту, 2001. Вип.8. С. 207-211.
9. Hurst C.T. Structural and functional changes produced in gastropod mollusk, *Physa occidentalis* in the case of parasitism by the larvae of *Echinostoma revolutum* // Univ.Calif.Publ.Zool. 1927. – Vol. 29. N14. P.321-404.
10. Hurst C.T., Walker C.A. Increased heat production in a poikilotherm animal in parasitism // Amer.Nat. 1933. Vol. 69. P. 461-466.
11. Lee F.O., Cheng C.T. Increased heart rate in *Biomphalaria grabrata* parasitized by *Schistosoma mansoni* // J. Invertebr. Pathol. 1970. Vol. 16. N1. P. 148-149.
12. Meakin R.H. Studies on the physiology of the animal *Biomphalaria grabrata* (Say); effect of body size, temperature and parasitism by sporocysts of *Schistosoma mansoni* upon respiration // Compar. Biochem. and Physiol. 1980. Vol. A 66. N1. P. 137-140.
13. Vernberg W.B., Vernberg F.J. Interrelationships between parasites and their hosts. III. Effect of larval trematodes on the thermal metabolism response of their molluscan host // Expt. Parasitol. 1967. Vol. 20. P. 225-231.

**THE EFFECT OF CARBOPHOS ON THE CONTAIN OF HAEMOGLOBIN IN
HAEMOLYMPH OF PLANORBARIUS PURPURA (MOLLUSCA: PULMONATA:
BULINIDAE) NORMAL AND INFECTED WITH TREMATODA**

A.Stadnychenko , V. Hyryn , A. Mokrytskaja , L. Ivanenko , O. Mostipaka

*Zhytomir pedagogical state university, Department of Zoology, Bolshaja Berdichevskaja 40,
Zhytomir, 10008 Ukraine
melnicenko@orta.net.ua*

The effect of trematoda invasion and various concentration of carbophos on the contain of Hb in haemolymph of *Planorbarius purpura* have been investigated. It was noted that in solution of carbophos (0,009-0,9 mg/dm³) the contain of Hb decrease. As a result of trematoda invasion is decrease of stability of the molluscs.

Key words: *Planorbarius*, *Echinoparyphium aconiatum*, carbophos, haemoglobin.

Стаття надійшла до редколегії 21.02.2003

Прийнята до друку 05.04.2003