

# ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ГЕМОЛИМФЫ КАТУШЕК (*MOLLUSCA, BULINIDAE, PLANORBARIUS*) В НОРМЕ И ПРИ ИНВАЗИИ ТРЕМАТОДАМИ

А. П. Стадниченко, Л. Д. Головачева

При воздействии СМС «Лотос» на *Planorbarius purpura* и *P. corneus* наблюдаются изменения физико-химических свойств гемолимфы. Между незараженными и зараженными трематодами особями отмечены статистически достоверные различия по плотности гемолимфы, содержанию гемоглобина и концентрации водородных ионов в их гемолимфе.

Широкое применение в различных сферах народного хозяйства и в быту синтетических поверхностно-активных веществ (ПАВ) способствует загрязнению ими природных вод. Предельно допустимые концентрации в водоемах анионактивных ПАВ (алкиларисульфонаты, алкилсульфонаты, производные алкилбензосульфонов) составляют 0.5, а неионогенных (производные полиоксеэтиленов) 0.1 мг/л<sup>-1</sup>. Однако в местах выброса бытовых стоков концентрация этих веществ достигает нередко 20 мг/л<sup>-1</sup>, а в промышленных стоках она исчисляется даже граммами на литр. Установлено (Брагинский и др., 1979; Маляревская, Карасина, 1983; Стадниченко и др., 1987; Стадниченко, Головачева, 1988), что ПАВ оказывают пагубное воздействие на пресноводных брюхоногих моллюсков, вызывая у них ряд быстрых физиологических (обволакивание слизью, «выпотевание» гемолимфы и др.) и поведенческих реакций (нарушения двигательного, пищевого и полового поведения). Причем у особей, инвазированных трематодами, симптомы отравления этими веществами появляются раньше и выражены острее, чем у свободных от заражения. Влияние ПАВ на физико-химические свойства гемолимфы моллюсков в норме и при инвазии трематодами до настоящего времени оставалось неизученным.

**Материал и методы исследований.** Материал: 717 экз. катушек пурпурных *Planorbarius purpura* (O. F. Muller, 1774) и роговых *P. corneus* (Linne, 1758), собранных в водоемах Житомирской обл. в бассейне р. Тетерев: в

мелиоративном рве (хутор Затишье), в русловых прудах на р. Роставице (с. Ружин), в р. Ирпень (с. Королевка), в р. Мыке (с. Городище), в р. Тетерев (с. Заречаны) в весенне-осеннее время 1977–1988 гг. Моллюски были спонтанно инвазированы партенитами трематод. У *P. corneus* обнаружены спороцисты со сформированными церкариями и метацеркарии *Colylurus cornutus* (Rud.), а у *P. purpura* – редии *Notocotylus attenuaius* (Rud.).

Ориентировочный и основной токсикологические эксперименты поставлены по методике Алексеева (1981). Для затравливания среды использовано синтетическое моющее средство (СМС) «Лотос» (с содержанием в нем ПАВ от 15 до 25 %), в концентрациях 10, 50 и 90 мг/л<sup>-1</sup>. Токсические среды приготавливали на дехлорированной отстаиванием (24 ч) водопроводной воде (рН 7.2, температура 18–20°). Экспозиция в них подопытных животных составляла 48 ч. Замену токсических сред свежими производили через 24 ч. Контролем служили животные, помещенные в дехлорированную водопроводную воду.

Гемолимфу получали методом прямого обескровливания непосредственно перед исследованием. Плотность ее определяли по Филлипсу и Ван Слайку, активную реакцию – индикаторной бумагой «Рифан», содержание гемоглобина – солянокисло-гематиновым методом по Сали, при этом применяли втрое меньшую степень разведения гемолимфы соляной кислотой, что учитывалось при вычислениях.

Результаты обработаны методами вариационной статистики по Лакину (1973). Приняты следующие критерии надежности сдвига (Шефтель, Сова, 1976): 1. для «жестких» показателей (V. до 10%) – 90%; 2. для пластичных (V. до 50%) – 95%; 3. для малоинформативных (V. более 50 %) – 99 %. К показателям первой группы отнесены активная реакция и плотность гемолимфы, ко второй – содержание в ней гемоглобина.

Результаты и их обсуждение. Известно (Borden, 1931; Алякринская, 1970; Стадниченко и др., 1980), что содержание гемоглобина в плазме гемолимфы катушек колеблется от 0.19 до 2.17 г%. Поскольку оно подвержено некоторой

возрастной, сезонной и экотопической изменчивости, для опытов были отобраны одновозрастные катушки пурпурные (диаметр раковины незараженных особей –  $26.70 \pm 1.16$  мм, тотальная масса тела –  $3400.00 \pm 341.19$  мг, зараженных трематодами –  $28.15 \pm 0.88$  мм и  $3773.0 \pm 999.85$  мг соответственно) из одного и того же биотопа – мелиоративного рва у х. Затишье. Все моллюски собраны в сжатые сроки (июль 1988 г.).

Концентрация гемоглобина в гемолимфе неинвазированных особей составляла  $1.05 \pm 0.11$  г%, при размахе колебания этого показателя от 0.7 до 2. Плотность гемолимфы варьировала от 1.001 до 1.003 г/мл, при среднем ее значении  $1.002 \pm 0.0003$ , концентрация в ней водородных ионов находилась на уровне  $7.00 \pm 0.19$  (6.0–8.0).

У моллюсков, зараженных редиями *N. attenuatus*, концентрация гемоглобина в гемолимфе составляла  $0.95 \pm 0.06$  г% (0.55–1.10), концентрация водородных ионов  $6.90 \pm 0.11$  (6.0—7.0), плотность гемолимфы  $1.003 \pm 0.0002$  г/мл (1.002–1.004). В контрольной группе животных статистически достоверными являются различия ( $p=98.5$  %) между незараженными и зараженными трематодами особями только по последнему из вышеназванных показателей.

Как показали наши исследования и по данным, полученным другими авторами (Брагинский и др., 1979), СМС «Лотос» в концентрации  $10 \text{ мг/л}^{-1}$  (1.5–2.5 мг/л ПАВ) не вызывает у катушек острого отравления, сопровождающегося массовой гибелью животных. Тем не менее такая концентрация ПАВ, как оказалось, отнюдь не безразлична для этих моллюсков. Об этом свидетельствуют отмеченное у незараженных особей статистически достоверное ( $p=98.3$  %) подкисление гемолимфы и тенденция к повышению содержания гемоглобина, в то время как у инвазированных особей наблюдается снижение его концентрации (табл. 1).

С возрастанием токсичности среды эти сдвиги все более и более усугубляются как у инвазированных, так и у свободных от инвазии животных. У незараженных особей при  $50 \text{ мг/л}^{-1}$  СМС «Лотос» уровень содержания

гемоглобина в гемолимфе повышается на 14.3 %, а при 90 мг/л<sup>-1</sup> СМС – на 23.8%. У зараженных животных при тех же концентрациях токсиканта отмечены гораздо большие отклонения от нормы в содержании гемоглобина. У них уровень этого дыхательного пигмента понижается по сравнению с контрольной группой на 26.3 и 33.7 % соответственно.

При отравлении возрастающими концентрациями ПАВ значения активной реакции гемолимфы катушек медленно, но неуклонно падают. Причем подкисление внутренней среды у незараженных особей протекает значительно интенсивнее. В норме рН гемолимфы составляет у них 7.00±0.19, а при 90 мг/л<sup>-1</sup> СМС «Лотос» – 6.0±0.1, в то время как у инвазированных животных при тех же концентрациях токсиканта значения активной реакции среды равны 6.90±0.11 и 6.30±0.15 соответственно.

Изменения плотности гемолимфы, обусловленные воздействием на моллюсков различных концентраций ПАВ, у незараженных и зараженных животных разнонаправлены. У первых с повышением концентрации токсиканта плотность гемолимфы несколько возрастает, в то время как у вторых – понижается.

**Т а б л и ц а I**

Влияние различных концентраций (мг/л<sup>-1</sup>) СМС «Лотос» на физико-химические свойства гемолимфы и чувствительность *Planorbis purpura* в норме и при инвазии паразитами *Notocotylus attenuatus*

Инвазия	Содержание гемоглобина г%			Концентрация водородных ионов, (рН)			Плотность г/мл			Смертность, %
	$x \pm m_x$	<i>o</i>	<i>V</i>	$x \pm m_x$	<i>o</i>	<i>V</i>	$x \pm m_x$	<i>o</i>	<i>V</i>	
Контроль										
Нет	1.05±0.11	0.35	33.64	7.00±0.19	0.63	9.03	1.002±0.0003	0.001	0.10	0.00
Есть	0.95±0.06	0.19	19.89	6.90±0.11	0.33	4.83	1.003±0.0002	0.0005	0.05	0.00
10 мг/л <sup>-1</sup> (1.5 – 2.5 мг/л <sup>-1</sup> ПАВ)										
Нет	1.10±0.02	0.12	12.43	6.50±0.11	0.51	1.86	1.002±0.0001	0.0007	0.07	0.00
Есть	0.80±0.05	0.16	19.97	6.70±0.12	0.36	5.39	1.003±0.0002	0.0007	0.07	2.00
50 мг/л <sup>-1</sup> (7.5 – 12.5 мг/л <sup>-1</sup> ПАВ)										
Нет	1.20±0.10	0.41	34.21	6.30±0.12	0.46	7.29	1.003±0.0002	0.0008	0.08	9.5
Есть	0.70±0.03	0.07	10.10	6.40±0.20	0.53	8.36	1.002±0.0003	0.0007	0.07	31.7
90 мг/л <sup>-1</sup> (13.5 – 22.5 мг/л <sup>-1</sup> ПАВ)										
Нет	1.30±0.005	0.02	1.34	6.00±0.10	0.39	6.54	1.004±0.0002	0.0006	0.06	40.9
Есть	0.63±0.17	0.06	9.02	6.30±0.15	0.48	7.67	1.0014±0.0002	0.0006	0.06	86.4

Как обнаружилось, зараженные и свободные от инвазии моллюски по-

разному реагируют на отравление поверхностно-активными веществами, что свидетельствует о разной степени напряженности у них защитно-приспособительных процессов. На это указывают и различия в смертности инвазированных и свободных от инвазии катушек, подвергнутых действию одинаковых концентраций ПАВ (табл. 1).

Известно (Биргер, 1979; Маляревская, Карасина, 1983), что устойчивость гидробионтов к воздействию токсикантов обусловлена особенностями их дыхания и степенью напряженности окислительно-восстановительных процессов. В токсических средах на определенном этапе развития отравления у моллюсков нарушается важнейший метаболический процесс – биологическое окисление.

**Т а б л и ц а 2**

Результаты статистического сравнения изменений физико-химических свойств гемолимфы *Planorbarius purpura* в норме и инвазированных партенитами *Notocotylus attenuatus* при отравлении различными концентрациями СМС «Лотос»

Статистические показатели	Плотность гемолимфы, г/мл	Содержание гемолимфы, г%	Обеспеченность гемоглобином, г/кг	
			Тотальной массы тела	М'яких частей тела
10 мг/л <sup>-1</sup>				
Коэффициент Стюдента	3.59	5.07	4.89	3.20
Степень достоверности различий	99.1	Больше 99.9	Больше 99.9	98.5
50 мг/л <sup>-1</sup>				
Коэффициент Стюдента	3.20	4.57	12.16	3.28
Степень достоверности различий	97.6	99.4	Больше 99.9	97.9
90 мг/л <sup>-1</sup>				
Коэффициент Стюдента	11.45	36.00	4.91	5.17
Степень достоверности различий	Больше 99.9	Больше 99.9	Больше 99.9	Больше 99.9

Приспособление их к токсической среде осуществляется путем «переключения» аэробного расщепления гликогена на анаэробное (Маляревская, 1985), что сопровождается понижением уровня потребления животными кислорода и снижением активности дыхательных ферментов (Маляревская, Карасина, 1983).

Снижение интенсивности аэробного дыхания сопровождается

повышением концентрации гемоглобина в гемолимфе в связи с разбалансировкой системы оксигемоглобин-метгемоглобин в сторону значительного возрастания содержания последнего. У зараженных особей 48-часовое пребывание в растворах СМС «Лотос» приводит к ослаблению их защитно-приспособительных возможностей. Это выражается прежде всего в том, что у инвазированных моллюсков не происходит «переключения» аэробного расщепления гликогена на анаэробное. С повышением степени токсичности среды в пределах  $10-90 \text{ мг/л}^{-1}$  потребление кислорода ими возрастает, на что указывает падение уровня содержания гемоглобина в их гемолимфе. Повышенный обмен сопровождается быстро нарастающим истощением и в результате гибелью зараженных особей.

С «переключением» аэробного дыхания на анаэробное связано и подкисление гемолимфы у свободных от заражения катушек, отмеченное нами при всех использованных в опытах концентрациях СМС «Лотос». Оно обусловлено накоплением в их внутренней среде конечного продукта анаэробного расщепления гликогена — молочной кислоты. Подкисление гемолимфы у зараженных моллюсков обусловлено другими причинами и скорее всего поступлением в их гемолимфу веществ кислой природы, образующихся при некротическом распаде тканей, интенсивно протекающем в инвазированных органах.

Наконец, «переключением» аэробного дыхания на анаэробное можно объяснить и некоторое повышение плотности гемолимфы у незараженных катушек, подвергнутых действию ПАВ. По-видимому, это вызвано накоплением в ней молочной кислоты, образующейся в процессе гликолиза.

Таким образом, симптоматика отравления одинаковыми концентрациями ПАВ у незараженных и зараженных трематодами моллюсков несколько различна, а течение патологического процесса у последних более тяжелое. Об этом свидетельствуют статистически достоверные различия в изменениях большинства обсуждаемых нами физико-химических свойств гемолимфы незараженных и инвазированных трематодами катушек. Причем нарушения

гомеостаза у последних отмечены при всех использованных в опытах концентрациях ПАВ (табл. 2).

### Список литературы

1. Алексеев В.А. Основные принципы сравнительно-токсикологического эксперимента // Гидро-биол. журн. 1981. Т. 17, № 3. С. 92–100.
2. Алякринская И.О. Количественная характеристика гемолимфы и гемоглобина роговой катушки *Planorbis corneus* (Gastropoda, Pulmonata) // Зоол. журн. 1970. Т. 49, вып. 3. С. 349–354.
3. Биргер Т.И. Метаболизм водных беспозвоночных в токсической среде. Киев: Паук, думка, 1979. 190 с.
4. Брагинский Л.П., Буртная И.Л., Щербань Э.П. Токсичность синтетических моющих средств для массовых форм пресноводных беспозвоночных // Эксперим. исслед. влияния загрязнителей на водные организмы. Аппатиты: АН СССР, 1979. С. 24–30.
5. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высш. шк., 1973. 343 с.
6. Маляревская А.Я. Биохимические механизмы адаптации гидробионтов к токсическим веществам // Гидробиол. журн. 1985. Т. 21, № 3. С. 70–82.
7. Маляревская А.Я., Карасина Ф.М. Влияние некоторых поверхностно-активных веществ на беспозвоночных // Гидробиол. журн. 1983. Т. 19, № 5. С. 84–90.
8. Стадниченко А.П., Головачева Л.Д. Влияние трематодной инвазии и различных концентраций поверхностно-активных веществ на содержание сухого остатка гемолимфы роговой катушки. Деп. в УкрНИИНТИ 26.05.1988 № 1297-Ук 88\* 8 с.
9. Стадниченко А.П., Куркчи Л.Н., Бондарь Л.А., Бурдюг О.Ю., Катериненко А.В., Когут О.А., Титарчук О.Б., Шабранская Т.Г. Влияние различных концентраций поверхностно-активных веществ на поведенческие и быстрые физиологические реакции пресноводных моллюсков. Деп. в УкрНИИНТИ 06.10.1987 № 2829-Ук 87. 12 с.
10. Стадниченко А.П., Иваненко Л.Д., Бургомистренко Л.Г. Изменение физико-химических свойств гемолимфы *Planorbis corneus* (Gastropoda, Pulmonata) при инвазии партенитами *Cotylurus cornutus* (Trematoda, Strigeidae) // Паразитология, 1980. Т. 14, вып. 1. С. 66–70.
11. Шефтель В.О., Сова Р.Е. Критерий надежности как функция биологической значимости и варибельности признака // Применение математических методов оценки и прогнозирования реальной опасности накопления пестицидов во внешней среде и организме. Киев: АСХН УССР, 1976. С. 37–39.
12. Borden M.A. A study of the respiration and of the function of haemolymph in *Planorbis corneus* and *Arenicola marina* // J. Marine Biol. Assoc. U. K. 1931. Vol. 17. P. 709-738.