

УДК 591.111.05 : 576.895.122 : 594.38

**ВЛИЯНИЕ РАСТВОРОВ НИТРОАММОФОСКИ НА АКТИВНОСТЬ
АЛЬДОЛАЗЫ ГЕМОЛИМФЫ МОЛЛЮСКА PLANORBARIUS BANATICUS
В НОРМЕ И ПРИ ИНВАЗИИ ТРЕМАТОДАМИ**

А. П. Стадниченко, А. Ю. Зелинская, А. Д. Кравчук, Г. В. Дорошенко

При концентрациях нитроаммофоски 1 и 10 мг/л у незараженных *Planorbarius banaticus* активность альдолазы возрастает в 1,3—1,6, а у зараженных партенитами *Cotylurus cornutus* — в 2,1—2,3 раза в сравнении с нормой. Это вызывает быстрое истощение резервов гликогена и гибель зараженных животных от прогрессирующего истощения.

Возрастающее загрязнение водной среды минеральными удобрениями вследствие несоблюдения правил их перевозки и хранения, превышения норм и кратности их применения обусловливает необходимость изучения биохимических механизмов адаптации пресноводных брюхоногих моллюсков, в том числе являющихся промежуточными хозяевами trematod, к различным концентрациям этих веществ. Мы исследовали влияние растворов одного из широко используемых в настоящее время сложных безбалластных минеральных удобрений — нитроаммофоски с соотношением основных питательных веществ (азот, фосфор, калий) 1 : 1 : 1 (ТУ 6-08-159-70) на интенсивность углеводного обмена одного из фоновых видов биогидроценозов европейской части СССР — катушки банатской *Planorbarius banaticus* (Lang) в норме и при заражении партенитами *Cotylurus cornutus* (Rud.). Об интенсивности углеводного обмена судили по величине активности фруктозо-1, 6-дифосфатальдолазы — фермента, связанного с тканевым дыханием и энергообеспечением организма моллюсков.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материал: 891 экз. *P. banaticus*, собранный в медленном сильно заросшем водной растительностью ручье в бассейне р. Свинолужки (с. Некраши Житомирской обл.) в ноябре—декабре 1985 г. и в мае 1986 г. При постановке подострых экспериментов были использованы растворы нитроаммофоски (0,1, 1, 10 мг/л), приготовленные на дехлорированной отстаиванием в течение 24 ч водопроводной воде. Экспозиция в растворах токсиканта — 48 ч. Смена токсических сред осуществлялась через 24 ч. Температуру растворов поддерживали на уровне 19—20°. При изучении выживаемости моллюсков в растворах нитроаммофоски (1 и 10 мг/л) экспозиция составляла 6 сут. При этом животных подкармливали проваренными и высушеными, а впоследствии мачерированными листьями салата-латука, тополя, липы. Животных контрольной группы содержали в отстоянной в течение 24 ч водопроводной воде. В качестве тест-функции, отражающей нарушения углеводного обмена у моллюсков, находящихся в токсической среде, мы избрали активность фруктозо-1, 6-дифосфаталь-

долазы их гемолимфы. Определение ее осуществляли по методике Товарницкого и Волуйской в модификации (микрометод) Аナンьева и Обуховой. В качестве стандарта для построения калибровочной кривой использовали диоксиацетон. Цифровые результаты эксперимента обработаны методами вариационной статистики по Лакину (1973).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что в процессе гликогенолиза у моллюсков, как и у других животных, наблюдаются две стадии, следующие одна за другой, — анаэробная и аэробная. На первом этапе анаэробного расщепления гликогена образуется дифосфат фруктозы, а на втором этапе он расщепляется на две молекулы фосфата триозы. Следовательно, уровень активности альдолазы гемолимфы моллюсков является хорошим показателем интенсивности анаэробной стадии их углеводного обмена.

Исследованием установлено, что в контрольной группе животных активность альдолазы у свободных от заражения особей составляет 5.39 ± 0.01 мкм моль/мл/ч при размахе колебания этого показателя 0.08—0.49, а у зараженных спороцистами *C. cornutus* достигает значения 6.37 ± 0.01 (размах колебания показателя 0.04—0.68). Следовательно, активность альдолазы гемолимфы инвазированных моллюсков почти на 20 % выше таковой незараженных особей ($P > 99.9\%$). Эти данные, свидетельствующие о повышении интенсивности углеводного метаболизма у зараженных партенитами trematod особыми, хорошо согласуются со сведениями других исследователей. Так, установлено, что при trematodной инвазии у моллюсков-хозяев сокращаются запасы гликогена и усиливается теплоотдача (Hurst, Walker, 1933; Vernberg, Vernberg, 1967), возрастают потребление кислорода и выделение углекислого газа (Hurst, 1927; Meakin, 1980), учащается ритм сердечных сокращений (Lee, Cheng, 1970). Все это свидетельствует о повышении уровня общего обмена у моллюсков под воздействием паразита, что, на наш взгляд, является одним из проявлений развивающегося у них адаптационного синдрома. Trematodes, питающиеся за счет моллюсков, используют в качестве основного энергетического субстрата глюкозу, поглощаемую тегументом спороцист из гемолимфы хозяев. Последние реагируют на это повышением активности альдолазы гемолимфы и, как следствие этого, развитием гипергликемии (Стадниченко, 1978). Это защитно-приспособительная реакция хозяев в ответ на воздействие на них паразитов, позволяющая на какое-то время обеспечить себя достаточным количеством глюкозы — универсального энергетического субстрата — за счет мобилизации резервов гликогена из тканей ряда органов (гепатопанкреас, мышцы и др.).

В слабых растворах нитроаммоfosки (0.1 мг/л) у незараженных *P. banaticus* отмечается понижение активности альдолазы гемолимфы с 5.39 ± 0.01 до 5.04 ± 0.003 мкм моль/мл/ч, т. е. на 6.5 % ($P > 99.9\%$). Более концентрированные растворы токсиканта (1 и 10 мг/л) вызывают значительное повышение активности этого фермента ($P > 99.9\%$). Так, при 1 мг/л нитроаммоfosки этот показатель превышает норму в 1.6, а при 10 мг/л — в 1.3 раза (см. таблицу). Известно (Флеров, 1973), что существует область концентраций, в которой токсические свойства отравляющего вещества проявляются сильнее, чем в области более высоких концентраций. Таковой является концентрация 0.1 мг/л нитроаммоfosки для незараженных *P. banaticus*, подавляющая интенсивность их углеводного обмена.

У моллюсков, инвазированных партенитами *C. cornutus*, все испытанные концентрации токсикантов вызывают повышение активности альдолазы гемолимфы. При 0.1 мг/л нитроаммоfosки значение этого показателя увеличивается в 1.2 раза в сравнении с нормой, а при 1 и 10 мг/л токсиканта — в 2.3 и 2.1 раза соответственно ($P > 99.9\%$). По-видимому, зона концентраций, при которых

Влияние различных концентраций нитроаммофоски на активность альдолазы гемолимфы (мкм моль/мл/ч) *Planorbarius banaticus* в норме и при инвазии партенитами *Cotylurus cornutus*

Инвазия	<i>n</i>	lim	\bar{x}	σ	$t_{\bar{x}}$	V
Нет	100	Контроль 0.08—0.49	5.39	0.09	0.01	1.65
	110	0.04—0.68	6.37	0.12	0.01	1.90
		0.1 мг/л				
Есть	80	0.14—0.75	5.04	0.02	0.003	0.46
	130	0.13—0.52	7.69	0.13	0.01	1.69
		1 мг/л				
Нет	95	0.21—0.78	8.61	0.09	0.01	1.09
	160	0.12—0.95	14.39	0.16	0.01	1.11
		10 мг/л				
Есть	81	0.20—0.91	7.23	0.28	0.03	3.87
	135	0.10—1.40	13.47	0.38	0.03	2.82

наблюдается понижение интенсивности углеводного обмена, у зараженных особей соответствует более низким значениям концентраций нитроаммофоски (ниже 0.1 мг/л), чем у особей незараженных (см. таблицу), что свидетельствует о более высокой чувствительности инвазированных моллюсков к действию этого токсического фактора в сравнении с неинвазированными особями. О меньшей устойчивости зараженных животных к действию испытанного токсиканта свидетельствует и более резкое возрастание активности альдолазы их гемолимфы в сравнении с незараженными особями. Так, при концентрации нитроаммофоски 1 мг/л у незараженных животных активность альдолазы повышается (в сравнении с нормой) на 59, а при 10 мг/л — на 34 %. У моллюсков, зараженных партенитами *C. cornutus*, эти показатели составляют 126 и 111 % соответственно. Такое значительное повышение активности альдолазы гемолимфы и, следовательно, резкое повышение интенсивности углеводного обмена у зараженных особей приводит к быстрому истощению животных и их гибели. В растворах нитроаммофоски концентрацией 1 и 10 мг/л смертность незараженных моллюсков на 6-е сутки эксперимента составляет 9 и 23, а зараженных — 57 и 89 % соответственно.

Существенные различия между зараженными и незараженными животными наблюдаются и по формуле Габера, характеризующей выживаемость животных в токсических средах, $W = ct$ [c — концентрация токсиканта, t — выживаемость животных (в часах), W — постоянная для каждой из фаз отравления]. При 1 и 10 мг/л нитроаммофоски значения W для свободных от заражения особей составляют 98 и 460, а для зараженных — 67 и 230 соответственно.

Таким образом, нитроаммофоска нарушает тканевое дыхание и энергообеспечение моллюсков. Реакция животных, зараженных партенитами trematod, на действие этого токсиканта определяется его концентрацией, продолжительностью экспозиции подопытных моллюсков в токсической среде, интенсивностью инвазии и эколого-физиологическими особенностями хозяев. Инвазированные trematodами животные являются более чувствительными и менее устойчивыми к действию этого токсиканта, чем свободные от инвазии особи.

Л и т е р а т у р а

- Лакин Г. Ф. Биометрия. М., Вышш. шк., 1973. 343 с.
 Стадниченко А. П. Изменение некоторых показателей углеводного обмена в гемолимфе пресноводных моллюсков при инвазии их партенитами и личинками trematod. — Паразитология, 1978, т. 12, вып. 6, с. 472—478.

- Флеров Б. А. Экспериментальное исследование фенольного отравления у рыб. — В кн.: Влияние фенола на гидробионтов. Л., Наука, 1973, с. 5—38.
- Hurst C. T. Structural and functional changes produced in the gastropod mollusk *Physa occidentalis* in the case of parasitism by the larvae of *Echinostoma revolutum*. — Univ. Calif. Publ. Zool., 1927, vol. 29, N 14, p. 321—404.
- Hurst C. T., Walker C. A. Increased heat production in a poikilotherm animal in parasitism. — Amer. Nat., 1933, vol. 69, p. 461—466.
- Lee F. O., Cheng T. C. Increased heat rate in *Biomphalaria glabrata* parasitized by *Schistosoma mansoni*. — J. Invertebr. Pathol., 1970, vol. 16, N 1, p. 148—149.
- Meakin R. H. Studies on the physiology of the snail *Biomphalaria glabrata* (Say): effects of body size, temperature and parasitism by sporocysts of *Schistosoma mansoni* sambon upon respiration. — Compar. biochem. Physiol., 1980, vol. A 66, N 1, p. 137—140.
- 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. — Exp. Parasitol., 1967, vol. 20, p. 225—231.

Житомирский пединститут

Поступила 7.07.1986

EFFECT OF NITROAMMOPHOSKA SOLUTIONS ON THE ALDOLASE ACTIVITY
IN HAEMOLYMPH OF PLANORBARIUS BANATICUS INFECTED AND NON-INFECTED
WITH TREMATODES

A. P. Stadnichenko, A. Ju. Zelinskaja, A. D. Kravtchuk, G. V. Doroshenko

SUMMARY

The infection of *Planorbarius banaticus* with sporocysts of *Cotylurus cornutus* is accompanied by an increase in aldolase activity of molluscs' haemolymph of 1.2 fold. In solutions of nitroammonophoska (0.1, 1 and 10 mg/l) the activity of this ferment in infected individuals increases much higher than in non-infected ones. This results in fast carbohydrates expenditures by molluscs, intermediate hosts of tremetodes, and their death from exhaustion.
