

УДК 591.111.05 : 576.895.122 : 594.38

© 1993

**ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ СУЛЬФАТА ЦИНКА  
НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ГЕМОЛИМФЫ  
КАТУШЕК *PLANORBARIUS* (MOLLUSCA: BULINIDAE) В НОРМЕ  
И ПРИ ИНВАЗИИ ТРЕМАТОДАМИ**

**А. П. Стадниченко, Л. Д. Иваненко, О. Ф. Василенко, М. М. Зинич,  
А. Е. Вишневская, Г. Е. Киричук, Л. Н. Мыслинская, Т. А. Семений**

При воздействии сульфатом цинка (200, 500, 800 мг/л) на *Planorbarius corneus* наблюдаются изменения физико-химических свойств гемолимфы. Статистически достоверные различия между незараженными и зараженными особями установлены по активной реакции гемолимфы, обеспеченности гемоглобином общей массы животных и массы их мягкого тела.

В связи с усиливающейся из года в год антропопрессией возрастает загрязнение природных вод соединениями тяжелых металлов. С неочищенными стоками горно-рудных, металлургических, приборо- и машиностроительных предприятий в водоемы попадают значительные количества солей, в том числе и сульфата цинка. Предельно допустимые концентрации ионов цинка в водной среде составляют 0.01 (рыбохозяйственная норма) и 1 мг/л (санитарно-гигиеническая норма). Однако в местах сброса промышленных стоков содержание этого токсиканта в воде нередко превышает значения ПДК на несколько порядков, исчисляясь граммами и даже их десятками на литр. Установлено (Стадниченко и др., 1991), что сульфат цинка оказывает вредное воздействие на пресноводных брюхоногих моллюсков, вызывая у них изменения ритма и интенсивности дыхания. Причем у инвазированных трематодами особей симптомы отравления этим токсикантом обнаруживаются раньше и выражены сильнее, чем у незараженных. Влияние сульфата цинка на физико-химические свойства гемолимфы моллюсков в норме и при инвазии их трематодами исследуется впервые.

**МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

**М а т е р и а л:** 151 экз. катушек роговых *Planorbarius corneus* (Linné), собранных в октябре 1992 г. в водоемах Житомирской обл. (Украина) в бассейне р. Тетерев (хутор Затишье). Моллюски были спонтанно инвазированы партенитами (спороцистами) *Cotylurus cornutus* (Rud.), локализирующихся в гепатопанкреасе. Общие сведения о материале исследования приведены в табл. 1.

Ориентировочный и основной токсикологические опыты поставлены по методике Алексеева (1981). Первым из них установлены величины основных токсикологических показателей — МПК ( $LC_0$ ) = 100 и ЛК ( $LC_{100}$ ) = 1000 мг/л. В границах их значений подобраны концентрации сульфата цинка, использованные в дальнейшем в основном опыте, — 200, 500 и 800 мг/л. Токсические

Т а б л и ц а 1  
Общие сведения о материале исследования  
General informations about the material of the investigation

Инвазия	<i>n</i>	Диаметр раковины, мм	Общая масса тела, мг	Масса мягкого тела, мг	Объем гемо- лимфы, мл
Контроль					
Нет	22	25.8±0.6	3564.8±117.1	1141.8±243.1	0.6±0.04
Есть	15	25.2±1	3609±192.7	996.6±160.3	0.58±0.08
200 мг/л					
Нет	31	26±0.4	3100.9±188.8	1285.8±59.14	0.4±0.01
Есть	10	27.3±0.8	3248.6±284.5	1124±43.9	0.5±0.47
500 мг/л					
Нет	23	26±0.7	3070±159.9	1148.7±68.3	0.34±0.04
Есть	9	27±0.6	3167.8±160.3	1091.1±87.6	0.43±0.09
800 мг/л					
Нет	29	25.3±0.5	2814.3±162.2	1074.5±66.5	0.3±0.04
Есть	12	25.5±0.6	2895.8±110.7	1140±67.7	0.35±0.04

среды приготавливали на дехлорированной путем отстаивания (1 сут) водопроводной воде (рН 7.2—7.5, температура 18—20°). Экспозиция в них катушек составляла 2 сут. Через сутки отработанные среды заменяли свежими. Контролем служили особи, помещенные в дехлорированную водопроводную воду.

Гемолимфу получали методом прямого обескровливания моллюсков. Уровень содержания в ней гемоглобина устанавливали солянокисло-гематиновым методом по Сали, используя при этом втрое меньшее против прописанного разведение ее соляной кислотой, что учитывалось при вычислении окончательного результата. Активную реакцию гемолимфы определяли с помощью индикатора «Рифан».

Результаты обработаны методами вариационной статистики по Лакину (1973). Приняты такие критерии надежности сдвига: 1. для «жестких» показателей (*V.* до 10 %) — 90 %; 2. для пластичных (*V.* до 50 %) — 95 %. К показателям первой группы отнесена активная реакция гемолимфы, ко второй — содержание в ней гемоглобина.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Содержание гемоглобина в плазме гемолимфы катушек составляет 0.19—2.17 г% (Borden, 1931; Алякринская, 1970; Стадниченко и др., 1980). Оно отличается возрастной, сезонной и биотопической изменчивостью, в связи с чем в наших опытах использованы одновозрастные (одноразмерные) животные одной популяции, добытые одновременно. У свободных от инвазии катушек концентрация гемоглобина во внутренней среде составляет  $1.19 \pm 0.12$  г% (размах колебания показателя от 0.6 до 2.1). Активная реакция среды варьирует от 6 до 8 при среднем ее значении  $6.66 \pm 0.1$  (табл. 2, 3).

У особей, зараженных спороцистами *S. cornutus*, концентрация гемоглобина в гемолимфе составляет  $1.01 \pm 0.04$  г% (0.8—1.1), а водородных ионов —  $6.27 \pm 0.14$  (5—8). В контрольной группе животных статистически достоверными ( $P=98.5$  %) являются различия между незараженными и зараженными животными только по последнему показателю. Подкисление гемолимфы у моллюсков в случаях тяжелой инвазии обусловлено, как мы полагаем, переходом «блокированных» паразитами участков гепатопанкреаса от аэробного расщеп-

Т а б л и ц а 2

Влияние трематодной инвазии и различных концентраций сульфата цинка на содержание гемоглобина в гемолимфе и обеспеченность им тела роговых катушек  
Trematode invasion and different concentrations of sulphate zinc impact upon haemoglobin contenance in haemolymph and being provided with it of the body of *Planorbarius corneus*

Инвазия	Содержание гемоглобина, г %	Обеспеченность гемоглобином общей массы тела, г/кг	Обеспеченность гемоглобином мягкого тела, г/кг
Контроль			
Нет	1.06±0.066	1.71±0.01	4.75±0.05
Есть	0.86±0.07	1.69±0.02	4.7±0.08
200 мг/л			
Нет	1.19±0.12	1.38±0.02	3.89±0.05
Есть	1.01±0.04	1.35±0.02	4.43±0.06
500 мг/л			
Нет	1.16±0.04	1.26±0.02	3.48±0.06
Есть	1.08±0.04	1.44±0.02	3.46±0.09
800 мг/л			
Нет	1.07±0.06	1.06±0.01	3.05±0.04
Есть	0.99±0.04	1.25±0.02	3.27±0.04

Т а б л и ц а 3

Влияние трематодной инвазии и различных концентраций сульфата цинка на активную реакцию (рН) гемолимфы  
Trematode invasion and different concentrations of sulphate zinc impact on active reaction of the haemolymph

Инвазия	Концентрация токсиканта, мг/л			
	0	200	500	800
Нет	6.66±0.1	6.2±0.13	5.91±0.21	6.05±0.12
Есть	6.27±0.14	5.84±0.17	5.4±0.32	5.42±0.15

ления углеводов к гликолизу, при котором образуется значительное количество кислых продуктов, вызывающих сдвиг активной реакции гемолимфы в кислую сторону.

Исходя из значения ЛК<sub>50</sub> (LC<sub>50</sub>), составляющего 550 мг/л сульфата цинка (225.5 мг/л в пересчете на ионы цинка),<sup>1</sup> последний, согласно принятой в настоящее время классификации токсических соединений (Метелев и др., 1971), является для катушки слаботоксичным. Как и другие соли тяжелых металлов, сульфат цинка — яд локального действия, вызывающий прежде всего «прижигание» поверхностного мерцательного эпителия, проявляющееся сначала в усилении ослизнения тела, а впоследствии — в коагулировании слизи из-за образования альбуминатов, оголении и разрушении эпителия и его отторжении. Проникая в организм моллюсков, ионы цинка образуют прочные комплексные соединения с белками, в том числе с ферментами, гормонами и другими жизненно важными соединениями, утрачивающими присущие им свойства, что ведет к нарушению нормальных жизненных отправления у этих животных.

При 200 мг/л сульфата цинка (82 — ионов цинка) статистически достоверных изменений уровня содержания гемоглобина в гемолимфе катушек

<sup>1</sup> Установлено графически.

не отмечено. Тем не менее различия высокой степени достоверности наблюдаются в обеспеченности им как общей массы, так и массы мягкого тела между отравленными животными и особями контрольной группы. У незараженных катушек значение первого из вышеупомянутых показателей понижается на 19, у зараженных — на 20 %, а второго — на 18 и на 6 % соответственно. Это обусловлено отнюдь не сдвигом вправо в динамической системе метгемоглобин—оксигемоглобин, а нарушением водно-солевого обмена у подопытных животных, значительным их обезвоживанием и вследствие этого — сокращением как общей массы (на 10—13 %), так и массы их мягкого тела (на 11 %). Следовательно, эта концентрация токсиканта не является для катушки ни безразличной, ни стимулирующей. Она вызывает у них развитие третьей фазы патологического процесса — депрессию,<sup>2</sup> выражающуюся не только в понижении уровня общего обмена, но и в наружных повреждениях. Двухсуточное пребывание моллюсков в среде, содержащей 200 мг/л сульфата цинка, сопровождается появлением у них многочисленных точечных, реже — более крупных (3×3 мм) неправильной формы очагов некротического распада мерцательного эпителия — как кожного, так и легочного. Наиболее уязвимые участки тела — это края ноги, рта и дыхательного отверстия, поверхность щупалец и полость легкого. Причем общее количество и площадь крупных очагов повреждения у зараженных партенитами трематод особей обычно больше, чем у незараженных. Степень выраженности вышеперечисленных наружных признаков вредного воздействия сульфата цинка на моллюсков прямо пропорциональна интенсивности их инвазии.

В случаях крайне тяжелой инвазии, что нами отмечено у  $9.8 \pm 4.6$  % моллюсков этой опытной группы, у них развивается острое отравление, завершающееся через 1—2 сут гибелью животных.

В растворе, содержащем 500 мг/л токсиканта (205 — ионов цинка), концентрация гемоглобина остается на уровне нормы как у свободных от инвазии, так и у зараженных катушек (табл. 2). Если учесть, однако, что общая масса и масса мягкого тела при этом уменьшаются у незараженных катушек в среднем на 14 и у зараженных — на 12 %, а объем гемолимфы — на 43 и 25.9 %, то нетрудно определить, что у них при 500 мг/л токсиканта в среде общее количество метгемоглобина уменьшается из-за сдвига вправо в системе метгемоглобин—оксигемоглобин. При этом статистически достоверно понижается обеспеченность их тела этим дыхательным пигментом. Причем у зараженных трематодами моллюсков в сравнении с таковыми контрольной группы уровень вероятности этих различий выше, чем у незараженных. Известно, что животные противопоставляют вредным воздействиям среды повышение уровня общего обмена, увеличивая тем самым энергообеспечение и повышая свои защитно-приспособительные возможности. Поэтому понижение уровня содержания метгемоглобина в гемолимфе и обеспеченности им катушек, а значит, повышение уровня содержания оксигемоглобина следует рассматривать как защитно-приспособительный процесс, направленный на сохранение животными, пребывающими в токсической среде, гомеостаза. Как видно из данных, приведенных в табл. 2, это успешнее удается свободным от инвазии катушкам по сравнению с инвазированными, что свидетельствует об ослаблении у последних защитно-приспособительных возможностей под влиянием паразитарного фактора. В пользу этого предположения говорит и довольно высокая смертность этих животных, составившая к концу вторых суток опыта  $18.8 \pm 6.9$  %.

При 500 мг/л токсиканта наблюдается разбалансировка буферных систем гемолимфы катушек, на что указывает сдвиг активной реакции ее в кислую

<sup>2</sup> Фазность патологического процесса, вызванного отравлением моллюсков, принята по Веселову (1968).

сторону. Считают (Биргер, Маляревская, 1977; Биргер, 1979; Маляревская, 1985), что подкисление внутренней среды моллюсков — это следствие биохимического защитно-приспособительного процесса, направленного на выживание их в токсической среде, состоящее в частичном или полном «переключении» аэробного расщепления гликогена на анаэробное. Следует отметить, что при 200 мг/л сульфата цинка в воде подкисление гемолимфы отмечено только у незараженных особей, в то время как у интенсивно инвазированных трематодами животных процессы декомпенсации зашли, очевидно, слишком далеко, в связи с чем вышеупомянутая биохимическая адаптация зараженных катушек к токсической среде оказалась невозможной.

В растворах, содержащих 800 мг/л сульфата цинка (328 — ионов цинка), у всех подопытных животных содержание гемоглобина в гемолимфе не отклоняется от обычной для катушек нормы, в то время как обеспеченность их тела статистически достоверно понижается (общей массы — на 16 и 13, мягкого тела — на 12 и 5.5 % у незараженных и инвазированных особей соответственно). Как видно из приведенных данных, снижение обеспеченности гемоглобином мягкого тела у инвазированных животных происходит в этом случае в меньшей мере, чем у неинвазированных. Это связано с тем, что у последних при 800 мг/л токсиканта в среде прогрессирует обезвоживание тела (в сравнении с контролем они теряют около 16 % массы мягкого тела). У зараженных особей происходит его обводнение. Легкая пастозность головы и ноги, отмеченная при 500 мг/л сульфата цинка, при 800 мг/л его переходит в отчетливо выраженный отек. При этом масса мягкого тела катушек увеличивается на 4.5 %, а активная реакция среды остается на уровне, зарегистрированном в предыдущем опыте. Это, а также высокая смертность катушек (72.7±7 %) убедительно свидетельствуют о том, что в растворах, содержащих 800 мг/л сульфата цинка, у преобладающего большинства зараженных животных развивается летальная фаза отравления и только у слабо инвазированных, как и у свободных от инвазии, — сублетальная.

#### Список литературы

- Алексеев В. А. Основные принципы сравнительно-токсикологического эксперимента // Гидробиол. журн. 1981. Т. 17, № 3. С. 92—100.
- Алякринская И. О. Количественная характеристика гемолимфы и гемоглобина роговой катушки *Planorbis corneus* (Gastropoda, Pulmonata) // Зоол. журн. 1970. Т. 49, № 3. С. 349—354.
- Биргер Т. И. Метаболизм водных беспозвоночных в токсической среде. Киев: Наук. думка, 1979. 190 с.
- Биргер Т. И., Маляревская А. Я. О некоторых биохимических механизмах резистентности водных беспозвоночных к токсическим веществам // Гидробиол. журн. 1977. Т. 13, № 6. С. 69—73.
- Веселов Е. А. Основные фазы действия токсических веществ на организмы // Тез. докл. Всесоюз. науч. конф. по вопр. водн. токсикол. М.: Наука, 1968. С. 15—16.
- Лакин Г. Ф. Биометрия. М.: Высш. шк., 1973. 343 с.
- Маляревская А. Я. Биохимические механизмы адаптации гидробионтов к токсическим веществам // Гидробиол. журн. 1985. Т. 21, № 3. С. 70—82.
- Метелев В. В., Канаев А. И., Дзасохова Н. Г. Водная токсикология. М.: Колос, 1971. 247 с.
- 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.
- Стадниченко А. П., Сластенко Н. Н., Куркчи Л. Н., Василенко О. Ф., Пидтыченко Н. В. Влияние трематодной инвазии и воздействия растворами сернистого цинка на дыхание пресноводных легочных моллюсков // Деп. в УкрНИИНТИ. №-543-Ук 91. 1991. 14 с.
- Borden M. A. A study of the respiration and of the function of haemoglobin in *Planorbis corneus* and *Arenicola marina* // J. Mar. Biol. Assoc. U. K. 1931. Vol. 17. P. 709—738.

TREMATODE INVASION AND SULPHATE ZINC IMPACT UPON PHYSICS-CHEMICAL  
PROPERTIES OF HAEMOLYMPH OF COIL-FLATS (MOLLUSCA: BULINIDAE)

A. P. Stadnichenko, L. D. Ivanenko, O. F. Vasilenko, A. Ye. Vishnevskaya, M. M. Zinich,  
G. Ye. Kirichuk, L. N. Myslinskaya, T. A. Semenij

*Key words:* *Planorbarius corneus*, Trematodes, sulphate zinc, haemoglobin.

S U M M A R Y

A trematode invasion and an impact of different concentrations (200, 500, 800 mg/l) of sulphate zinc on physics — chemical properties of haemolymph of coil-flats have been investigated. Both non-infected and molluscs infected with the concentration 200 mg/l got an acute poisoning, a depression stage. With the concentration 200—800 mg/l the haemoglobin security of the total body, and soft body and the active reaction of haemolymph were progressively decreased. A clinic toxication picture in the individuals toxicated with the concentration 500—800 mg/l was more patent and a pathological process was completed with a lethal end much earlier than in case of the animals, which were free of invasion.