

УДК 591.111.05 : 576.895.122 : 594.38

**ВЛИЯНИЕ ТРЕМАТОДНОЙ ИНВАЗИИ
И ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ
НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ГЕМОЛИМФЫ
PLANORBARIUS CORNEUS (MOLLUSCA: PULMONATA)**

© А. П. Стадниченко, Г. Е. Киричук, Л. Д. Иваненко,
В. К. Гирин, О. А. Мостипака

Исследовано влияние трематодной инвазии и различных концентраций (20, 50, 60 мг/дм³) поверхностно-активных веществ на физико-химические показатели (содержание гемоглобина, плотность, активная реакция, обеспеченность гемоглобином единицы общей массы и массы мягкого тела *Planorbarius corneus*). Установлено, что все сдвиги ярче выражены у зараженных особей.

Прогрессирующее загрязнение водной среды и насущная необходимость в разработке системы экологических (универсальных) предельно допустимых концентраций (ПДК) ксенобиотиков предполагает изучение особенностей их воздействия на всех обитателей водоемов, в том числе и на пресноводных брюхоногих моллюсков — обычных и часто весьма многочисленных компонентов гидросферы.

За последние 20—25 лет резко усилилось загрязнение водоемов различными поверхностно-активными веществами (ПАВ), входящими в состав как отечественных, так и импортных синтетических моющих средств (СМС). В водоемы ПАВ попадают с промышленными и хозяйственно-бытовыми стоками. При ПДК этих поллютантов в размере 0.5 мг/дм³ в местах сброса бытовых сточных вод содержание в них ПАВ составляет до 20 мг/дм³, в промышленных же стоках оно исчисляется граммами на литр.

ПАВ отрицательно влияют на жизнь водоемов. Адсорбируясь на границе вода—воздух, они препятствуют нормальной аэрации воды, угнетающе воздействуют на развитие микроорганизмов, замедляют процессы биологического самоочищения водоемов. К тому же ПАВ сохраняются в воде длительное время, крайне медленно подвергаясь деструкции.

Мы попытались выяснить, какое воздействие на физико-химические показатели гемолимфы моллюсков в норме и при инвазии их трематодами оказывают различные концентрации анионоактивных ПАВ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материал: 344 экз. катушки роговой *Planorbarius corneus* (Linné, 1758) с диаметром раковины 21.2—25 мм. Моллюски собраны в мелиоративном

канале (хутор Затишье Житомирской обл., Украина) в июне—июле 1989, 2000, 2002 гг. Животных подвергали 14-суточной акклимации к лабораторным условиям. Их содержали в аквариумах (20 л), заполненных дехлорированной путем отстаивания водопроводной водой (температура 20—22 °С; рН 7.2—7.8; содержание кислорода 8.6—9 мг/л). В качестве подкормки использованы белокочанная капуста, морковь, сухой корм для рыб (дафнии).

Токсикологические опыты поставлены по методике Алексева (1981). В качестве токсиканта использовано СМС «Ока» (содержание в нем ПАВ — около 20 %). Экспозиция — 2 сут. Через сутки использованные среды (20, 50, 80 мг/дм³ в пересчете на ПАВ) заменяли свежеприготовленными. Все опыты сопровождалось контролем. Массу животных определяли на электронных весах марки WPS 1200/С.

Гемолимфу получали методом прямого обескровливания. Плотность ее устанавливали по Филлипсу и ван Слайку (Балаховский, Балаховский, 1953), активную реакцию — индикатором «Рифан», содержание гемоглобина (Hb) — модифицированным (Стадниченко и др., 1980) солянокислого гематиновым методом по Сали.

Цифровые результаты обработаны методами вариационной статистики (Лакин, 1973; Шефтель, Сова, 1976).

Заражение моллюсков трематодами устанавливали микроскопированием (увеличение 7 × 8) временных препаратов, изготовленных из тканей гепатопанкреаса *P. corneus*. Обнаружены редии и церкарии различной степени зрелости трематоды *Notocotylus attenuatus* (Rud.). Экстенсивность инвазии — 34.5 %.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В контрольной группе животных у инвазированных особей содержание Hb в гемолимфе (табл. 1), плотность последней и активная реакция среды (табл. 2, 3) ниже, чем у незараженных животных. По всем этим показателям различия между незараженными и зараженными особями являются статистически достоверными. Характер обнаруженных сдвигов указывает на то, что у инвазированных трематодами *P. corneus* особей наблюдается повышение уровня общего обмена, проявляющееся в возрастании потребления кислорода (сдвиг вправо в системе Hb—окси-Hb). Ведь известно, что уровень потребления кислорода и содержание Hb в гемолимфе связаны обратно пропорциональной зависимостью. Повышение уровня метаболизма при инвазии — это неспецифическая защитно-приспособительная реакция зараженных особей к действию неблагоприятного для них паразитарного фактора. Она наблюдается только при невысокой (поражение до 1/3 гепатопанкреаса) и умеренной (поражение до 1/2 его объема) инвазии, т. е. тогда, когда патологический процесс не зашел еще слишком далеко (до полного угнетения защитных сил организма и летального исхода).

Подкисление гемолимфы при заражении является, скорее всего, следствием проявления другой защитно-приспособительной реакции. У пораженных особей паразиты разрушают соединительную ткань, заполняющую пространство между трубочками гепатопанкреаса. При этом часть их «блокируется», т. е. оказывается отрезанной от кровеносных сосудов и лакун, по которым кислород и питательные вещества доставляются к железистому эпителию. К условиям гипоксии моллюски приспособляются переходом от аэробного обмена на анаэробный (Биргер, 1976; Маляревская, 1985). А это

Таблица 1

Влияние трематодной инвазии и различных концентраций ПАВ на содержание Hb в гемолимфе *P. corneus*

Table 1. Effect of trematod infection and different concentrations of detergent onto contain of Hb in haemolymph of *P. corneus*

Инвазия	n	Статистические показатели			
		lim	$x \pm m_x$	CV	P
Контроль					
Нет	12	0.6—1.3	1.16 ± 0.05	15.36	99.8
Есть	8	0.73—0.86	0.8 ± 0.01	5.2	
20 мг/дм ³					
Нет	13	0.9—1.5	1.25 ± 0.05	1.48	99.6
Есть	7	0.6—0.7	0.65 ± 0.02	8.31	
50 мг/дм ³					
Нет	10	1.2—1.5	1.3 ± 0.04	8.88	99.9
Есть	10	0.48—0.7	0.6 ± 0.02	12	
80 мг/дм ³					
Нет	11	1.2—1.5	1.34 ± 0.03	6.9	99.8
Есть	9	0.48—0.65	0.55 ± 0.02	12.04	

Таблица 2

Влияние трематодной инвазии и различных концентраций ПАВ на плотность гемолимфы (г/мл) *P. corneus*

Table 2. Effect of trematod infection and different concentrations of detergent onto density of haemolymph of *P. corneus*

Инвазия	n	Статистические показатели			
		lim	$x \pm m_x$	CV	P
Контроль					
Нет	12	1.003—1.004	1.0036 ± 0.0001	0.04	91.4
Есть	8	1.002—1.004	1.0030 ± 0.0002	0.001	
20 мг/дм ³					
Нет	13	1.003—1.004	1.0035 ± 0.0001	0.04	99.6
Есть	7				
50 мг/дм ³					
Нет	10	1.003—1.004	1.0038 ± 0.0001	0.032	99.9
Есть	10	1.002—1.003	1.0023 ± 0.0001	0.045	
80 мг/дм ³					
Нет	11	1.004	1.004		
Есть	9	1.002	1.002		

Таблица 3
Влияние трематодной инвазии и различных концентраций ПАВ
на активную реакцию гемолимфы *P. corneus*

Table 3. Effect of trematod infection and different concentrations
of detergent onto active reaction of haemolymph of *P. corneus*

Инвазия	n	Статистические показатели			
		lim	$\bar{x} \pm m_x$	CV	P
Контроль					
Нет	12	6–7	6.9 ± 0.08	4.19	95.9
Есть	8	6–7	6.4 ± 0.18	8.1	
20 мг/дм ³					
Нет	13	6–7	6.6 ± 0.14	7.68	99.4
Есть	7	5–6	5.6 ± 0.2	9.56	
50 мг/дм ³					
Нет	10	6–7	6.3 ± 0.15	7.67	99.9
Есть	10	5–6	5.3 ± 0.15	9.11	
80 мг/дм ³					
Нет	11	6–7	6.09 ± 0.09	4.95	99.8
Есть	9	5–6	5.1 ± 0.11	6.54	

способствует образованию продуктов кислой природы и накоплению их в гемолимфе.

Уменьшение плотности гемолимфы у зараженных трематодами особей, по-видимому, вызвано гипопроотеинемией, вызванной разрушением гепатопанкреаса — органа, играющего важнейшую роль в синтезе белков.

Растворы, содержащие 20 мг/дм³ ПАВ, не вызывают у *P. corneus* визуально определяемых этологических и физиологических отклонений. Они охотно потребляют заданный им корм, регулярно совершают «вдохи», спариваются, выметывают кладки. У них, однако, изменяется уровень содержания Hb в гемолимфе: у незараженных особей он возрастает на 7.8, а у зараженных — падает на 18.8 %. Аналогично выглядят и данные, характеризующие обеспеченность Hb единицы общей массы тела *P. corneus* (рис. 1). Однако данные по обеспеченности моллюсков Hb в пересчете на единицу мягкого тела (рис. 2) свидетельствуют о том, что при 20 мг/дм³ ПАВ в среде при всей разноплановости наблюдаемых изменений у всех без исключения животных имеет место повышение уровня общего обмена. Об этом свидетельствует статистически достоверное повышение показателя уровня обеспеченности Hb единицы массы мягкого тела как у незараженных (на 3.3 %), так и у зараженных животных (на 44 %). Следовательно, сдвиг по обсуждаемому показателю у них однонаправлен, но у зараженных особей ярче выражен.

Сходные результаты получены и относительно активной реакции гемолимфы. Под влиянием 20 мг/дм³ ПАВ она подкисляется у всех животных. У незараженных особей, однако, значение pH понижается всего лишь на 4.4 %, в то время как у зараженных — на 12.5 %. Больше подкисление гемолимфы при инвазии связано, на наш взгляд, с обширным некротическим распадом пораженного трематодами гепатопанкреаса, сопровождающимся высвобождением продуктов кислой природы и накоплением их в гемолимфе.

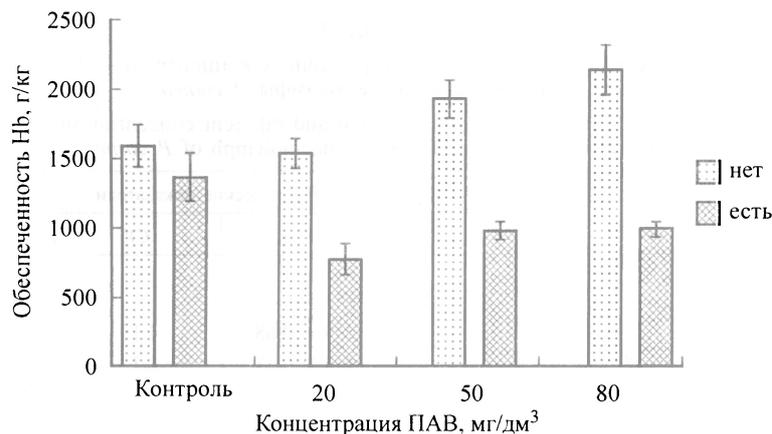


Рис. 1. Влияние трематодной инвазии и различных концентраций ПАВ на обеспеченность Hb единицы общей массы тела *P. corneus*.

Fig. 1. Effect of trematoda infection and different concentrations of detergent onto security with Hb of unit of total mass of the body of *P. corneus*.

Все вышеперечисленные сдвиги физико-химических показателей гемолимфы *P. corneus* не превышают пороговых границ их гомеостаза, о чем свидетельствует 100 %-ная выживаемость подопытных особей. Однако и этот уровень нарушения гомеостаза их внутренней среды следует рассматривать как начало патологического процесса, вызванного отравлением, а именно как фазу стимуляции (Веселов, 1968).

Растворы, содержащие 50 мг/дм³ ПАВ, оказывают на всех без исключения животных угнетающее воздействие. Хотя содержание Hb в их гемолимфе остается почти на том же уровне, что и при 20 мг/дм³ ПАВ, однако, обеспеченность им единицы как общей массы тела, так и мягкого тела значительно возрастает, что указывает на снижение потребления моллюсками кислорода. У незараженных особей значение первого из названных показателей увеличивается на 28, у второго — на 26 %, а у зараженных — на 17.6 и 27 % соответственно. Это депрессивная фаза процесса отравления.

Плотность гемолимфы при 50 мг/дм³ ПАВ у незараженных животных остается на уровне нормы, а у зараженных снижается. Активная реакция ее существенно смещается в кислую сторону: у незараженных *P. corneus* снижение ее значения составляет 4.6, у зараженных — 5.4 % по сравнению с моллюсками, подвергнутыми воздействию 20 мг/дм³ ПАВ.

При 50 мг/дм³ ПАВ в среде нарушения гомеостатического равновесия у большей части особей оказываются необратимыми и ведут к летальному исходу. Смертность животных к концу 2-суточной экспозиции составляет 65 (незараженные особи) и 79 % (зараженные).

При 80 мг/дм³ ПАВ у свободных от инвазии моллюсков содержание Hb в гемолимфе медленно, но постоянно повышается. У зараженных животных наблюдается противоположная тенденция. Однако при разноплановом изменении показателя обеспеченность Hb единицы общей массы тела и такой массы мягкого тела отличаются одинаковым характером сдвига, а значения этих показателей возрастают (рис. 1, 2).

При этой концентрации токсиканта тяжесть патологического процесса заметно усиливается. Об этом свидетельствует не только понижение уровня у *P. corneus* общего метаболизма, но и дальнейшее подкисление их гемолим-

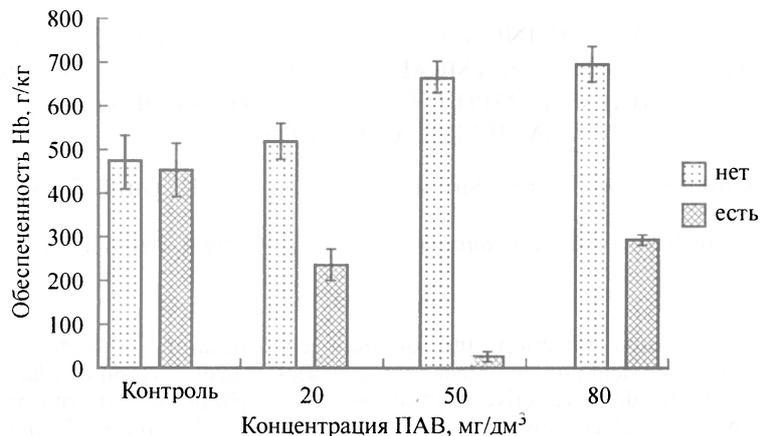


Рис. 2. Влияние трематодной инвазии и различных концентраций ПАВ на обеспеченность Hb единицы мягкого тела *P. corneus*.

Fig. 2. Effect of trematoda infection and different concentrations of detergent onto security with Hb of unit of soft mass of the body of *P. corneus*.

фы. Активная реакция ее при 80 мг/дм³ ПАВ у незараженных животных на 11.7, а у зараженных — на 20.3 % ниже нормы. Плотность гемолимфы при этом у первых из них не изменяется, а у вторых несколько снижается. Двухсуточное пребывание в такой среде выдерживают немногие особи: у концу экспозиции смертность их составляет 83 (отсутствие инвазии) и 91 % (наличие инвазии). Следовательно, при 80 мг/дм³ ПАВ в воде у *P. corneus* быстро следуют одна за другой сублетальная и летальная фазы патологического процесса, вызванного отравлением.

Список литературы

- Алексеев В. А. Основные принципы сравнительно-токсикологического эксперимента // Гидробиол. журн. 1981. Т. 17, № 3. С. 32—100.
- Балаховский С. Д., Балаховский И. С. Методы химического анализа крови. М.: Медгиз, 1953. 746 с.
- Биргер Т. И. Метаболизм водных беспозвоночных в токсической среде. К.: Наукова Думка, 1976. 190 с.
- Веселов Е. А. Основные фазы действия токсических веществ на организм // Тез. докл. Всесоюз. научн. конф. по вопр. водн. токсикологии (30 января—2 февраля 1968 г.), 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.
- Стадниченко А. П., Иваненко Л. Д., Бургоместренко Л. Г. Изменения физико-химических свойств гемолимфы *Planorbium corneus* (Gastropoda, Pulmonata) при инвазии паренитами *Cotylurus cornutus* (Trematoda, Strigeidae) // Паразитология. 1980. Т. 14, вып. 1. С. 66—70.
- Шефтель В. О., Сова Р. Е. Критерии надежности как функция биологической значимости и вариабельности признака // Применение математических методов оценки и прогнозирования реальной опасности накопления пестицидов во внешней среде и организме. Киев: Изд-во АСХН УССР, 1976. С. 37—39.

EFFECT OF TREMATOD INFECTION AND DIFFERENT CONCENTRATIONS
OF DETERGENT ONTO PHYSICAL AND CHEMICAL CHARACTERISTICS
OF HAEMOLYMPH OF PLANORBARIUS CORNEUS
(MOLLUSCA: PULMONATA)

A. P. Stadnychenko, G. E. Kirichuk, L. D. Ivanenko, V. K. Girin, O. A. Mostipaka

Key words: trematod infection, *Planorbarius corneus*, detergent, haemolymph.

SUMMARY

Effect of trematod infection and different concentrations of detergent (20, 50, 80 mg/dm³) onto physical and chemical characteristics of haemolymph of *Planorbarius corneus* (content of Hb, density, active reaction, amount of Hb per unit of total mass and soft mass of the body) have been investigated. It was noted that all changes of named characteristics caused by detergent were more pronounced in infected mollusks.