

УДК 576.895.122 : 594.38 : 574.64

**ВЛИЯНИЕ ФЕНОЛА И ПЕСТИЦИДОВ
НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ГЕМОЛИМФЫ
ПРЕСНОВОДНЫХ БРЮХОНОГИХ МОЛЛЮСКОВ
(GASTROPODA, PULMONATA),
ИНВАЗИРОВАННЫХ ПАРТЕНИТАМИ ТРЕМАТОД**

А. П. Стадниченко, Л. Д. Иваненко, А. М. Ситняковская

В растворах фенола (100, 250, 400 мг/л) и сульфата меди (0.01, 0.1, 1.0 мг/л) плотность гемолимфы *Lymnaea stagnalis* (L.) и *Planorbarius corneus* (L.), свободных от заражения и зараженных партенитами *Cercaria trifida* Zdun и *Cotylurus cornutus* (Rud.) соответственно, не изменяется. В растворах карбофоса и базудина (0.01, 0.1, 1.0 мг/л) у зараженных животных отмечено статистически достоверное понижение плотности гемолимфы. Вязкость ее понижается как у незараженных, так и у зараженных особей, подвергнутых воздействию всех исследованных токсикантов.

В связи с возрастающим загрязнением водной среды отходами промышленных предприятий и пестицидами актуальным становится изучение воздействия этих токсикантов на пресноводных брюхоногих моллюсков — облигатных промежуточных хозяев трематод. Мы попытались выяснить, как изменяются в загрязненной среде некоторые физико-химические показатели гемолимфы — важнейшего компонента внутренней среды пресноводных брюхоногих моллюсков, инвазированных партенитами трематод. При этом из токсикантов были использованы фенол, сульфат меди и фосфорорганические пестициды — вещества, нередко обнаруживаемые в природных водах. Фенол попадает в водоемы со сточными водами промышленных предприятий; сульфат меди — моллюскоцид, употребляемый для уничтожения слизней, а ФОС — карбофос [0.0-диметил-S-(1.2-дикарбэтоксиптил)-дитиофосфат] и базудин [0.0-диэтил-0-(2-изопропил-4-метил-6-пиримидил)-тиофосфат] — контактные инсектициды широкого спектра действия. Пестициды, смываясь с полей дождевыми водами, поступают в естественные и искусственные водоемы и включаются в их круговорот веществ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

М а т е р и а л: 377 экз. *Lymnaea stagnalis* (L.) и 894 экз. *Planorbarius corneus* (L.). Собран в мае—июне 1968 г., в мае—декабре 1977 г., в январе 1978 г., в мае—ноябре 1984 г. в пруду с. Ставчаны Львовской обл. и в ряде водоемов Житомирской обл. — в реках Роставица (с. Ружин), Ирпень (с. Королевка), Мыка (с. Городище), в бассейне р. Тетерев (села Большая Горбаша, Забродье, Заречаны, Тетеревка, г. Житомир). *P. corneus* были спонтанно заражены партенитами трематоды *Cotylurus cornutus* (Rud.), а *L. stagnalis* — *Cercaria trifida* Zdun.

При постановке подострых токсикологических экспериментов были использованы фенол, сульфат меди, базудин (40%-ный смачивающийся порошок) и карбофос (технический препарат). Применены следующие концентрации токсикантов: сульфат меди, карбофос, базудин — 0.01, 0.1, 1.0 мг/л, фенол — 100, 250, 400 мг/л. Экспозиция опытов 48 ч со сменой растворов через 24 ч. Опыты ставили при температуре 19—20 °С.

Гемолимфу получали по описанной ранее методике (Стадниченко, 1969). Плотность ее определяли методом Филлипса и ван Слайка, вязкость — вискозиметром типа ВК-4, активную реакцию — индикаторной бумагой «Рифан», содержание общего белка — рефрактометром ИРФ-22. Концентрацию гемоглобина в гемолимфе устанавливали солянокисло-гематиновым методом по Сали. При этом применяли втрое меньшую степень разведения испытуемого раствора соляной кислотой, что учитывалось при дальнейших расчетах. Общий объем гемолимфы определяли методом прямого обескровливания.

Цифровые результаты обработаны методами вариационной статистики (Лякин, 1973). Приняты следующие критерии надежности сдвига (Шефтель, Сова, 1976): 1. для «жестких» показателей (V . до 10 %) — 90 %; 2. для пластичных (V . от 10 до 50 %) — 95 %; 3. для малоинформативных (V . более 50 %) — 99 %. К числу «жестких» показателей отнесена концентрация в гемолимфе водородных ионов и гемоглобина.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У незараженных *L. stagnalis* и *P. corneus* плотность гемолимфы варьирует в пределах от 1.003 до 1.011 мг/л, составляя в среднем у первого 1.008 ± 0.0003 , а у второго — 1.01 ± 0.01 г/мл соответственно. Известно, что этот показатель гемолимфы моллюсков отличается значительным постоянством и не подвергается ни популяционной, ни сезонной изменчивости (Алякринская, 1970; Стадниченко и др., 1980). У животных, зараженных партенитами трематод, при высокой интенсивности инвазии отмечается понижение плотности гемолимфы, обусловленное, по всей вероятности, гипопроотеинемией, вызванной торможением биосинтеза белков в зараженном гепатопанкреасе (Стадниченко, 1977). Например, у *P. corneus*, инвазированных спороцистами *Cotylurus cornutus* (р. Роставица, с. Ружин), при тотальном поражении гепатопанкреаса этот показатель составляет 1.005 ± 0.001 г/мл, в то время как у тех же моллюсков с мелкоочаговым поражением названного органа (р. Тетерев, г. Житомир) статистически достоверных сдвигов этого показателя не обнаружено.

В растворах фенола и сульфата меди как у зараженных, так и у свободных от заражения моллюсков плотность гемолимфы остается неизменной. Растворы ФОС, которые, как известно (Горохов, Осетров, 1978), являются для моллюсков относительно малотоксичными, вызывают у зараженных животных понижение плотности гемолимфы высокой степени достоверности ($P=95.4-99.7$ %). Это свидетельствует о значительном снижении защитно-приспособительных возможностей этих гидробионтов, обусловленном действием паразитов. Следует отметить, что минимальная концентрация растворов сульфата меди и карбофоса, оказывающая вредное воздействие на зараженных моллюсков, составляет 0.1 мг/л, в то время как базудин вызывает статистически достоверное понижение плотности гемолимфы у этих животных при значительно меньшей концентрации — 0.01 мг/л.

Вязкость гемолимфы у незараженных *L. stagnalis* и *P. corneus* колеблется, по нашим данным, от 0.7 до 2.6 ед. (по воде), составляя в среднем 1.35 ± 0.06 у *P. corneus* и 2.48 ± 0.19 — у *L. stagnalis*. У последнего вида отмечены значительные популяционные различия по этому показателю. Небольшая интенсивность инвазии не влияет существенно на вязкость гемолимфы. При тяжелой инвазии значения этого показателя резко понижаются в сравнении с нормой. Так, у *L. stagnalis*, сильно зараженных партенитами *Cercaria trifida*, вязкость гемолимфы понижается в среднем на 10 %. Полагаем, что это связано с уменьшением содержания в гемолимфе зараженных особей общего белка, сульфгидрильных групп, каротиноидных пигментов, аскорбиновой кислоты и ряда других веществ (Стадниченко, 1984, и др.).

В растворах фенола и у зараженных, и у свободных от заражения моллюсков вязкость гемолимфы значительно увеличивается. Например, у зараженных *P. corneus* значение этого показателя возрастает на 50, а у незараженных — на 47 % ($P > 99.9$ %). Остальные токсиканты в пределах испытанных концентраций вызывают понижение вязкости гемолимфы высокой степени достоверности ($P=99.7-99.9$ %). Так, у *L. stagnalis*, зараженных спороцистами *C. trifida*,

в слабых растворах сульфата меди и ФОС (0.01 мг/л) вязкость гемолимфы понижается на 51—55 %, достигая уровня 1.1—1.2 ед.

Активная реакция гемолимфы *P. corneus* и *L. stagnalis* преимущественно слабощелочная. Иногда, однако, у незараженных особей возможен сдвиг ее в слабокислую сторону. Чаще всего это наблюдается весной. Например, отмечено (Стадниченко, и др., 1980), что у *P. corneus* (р. Мыка, с. Городище) осенью активная реакция гемолимфы составляет 7.18 ± 0.07 , а весной — 6.67 ± 0.07 ($P > 99.9 \%$). При невысокой интенсивности инвазии защитно-приспособительные реакции моллюсков обеспечивают такую регуляцию концентрации водородных ионов, которая позволяет поддерживать активную реакцию их внутренней среды на уровне нормы. В крайне тяжелых случаях, когда под влиянием паразитов напряженность защитно-приспособительных процессов у хозяев оказывается недостаточной для сохранения гомеостаза, происходит «подкисление» гемолимфы. Это, как правило, имеет место у близких к гибели особей.

Интоксикация моллюсков пестицидами сопровождается сдвигом активной реакции их гемолимфы в кислую сторону. В растворах сульфата меди и ФОС как у контрольных, так и у подопытных животных отмечено стойкое статистически достоверное ($P > 99.9 \%$) «подкисление» гемолимфы, пропорциональное концентрации токсиканта. Так, в растворах ФОС при концентрации 0.01 мг/л у незараженных *L. stagnalis* значение активной реакции гемолимфы падает с 7.3 ± 0.14 до $6.40—6.77$, у зараженных особей — с 7.05 ± 0.06 до $6.20—6.95$, в то время как при концентрации 0.1 мг/л эти показатели составляют для незараженных и зараженных животных соответственно 6—6.3 и 6. Следовательно, изменение активной реакции гемолимфы под влиянием ФОС в одинаковой мере выражено как у незараженных, так и у зараженных особей.

Содержание гемоглобина в гемолимфе моллюсков — хороший показатель степени напряженности у них обменных процессов. По изменению концентрации гемоглобина можно судить о выраженности у этих животных защитно-приспособительных реакций. У исследованных нами *P. corneus* концентрация гемоглобина в гемолимфе колеблется от 0.19 до 3.2 г%. Она подвержена сезонной и экотопической изменчивости (Алякринская, 1970, 1976; Стадниченко, Иваненко, 1978; Стадниченко и др., 1980). При незначительном заражении содержание гемоглобина в гемолимфе существенно не изменяется, в то время как при обширном поражении гепатопанкреаса на фоне достаточной степени напряженности защитно-приспособительного процесса оно заметно понижается. Например, у *P. corneus* (пруды в селах Большая Горбаша и Задворье) концентрация гемоглобина при инвазии моллюсков парентитами *Cotylurus cornutus* падает с 1.64 ± 0.13 до 1.36 ± 0.18 г% ($P > 99.9 \%$). Это связано с тем, что у зараженных моллюсков интенсивнее, чем в норме, протекают обменные процессы, о чем свидетельствуют возрастание потребления ими кислорода (Hurst, 1927; Meakin, 1980), учащение ритма сердечных сокращений (Lee, Cheng, 1970), усиление теплоотдачи (Hurst, Walker, 1933). В случае очень тяжелой инвазии, когда защитно-приспособительные возможности моллюсков оказываются исчерпанными, уровень гемоглобина в их гемолимфе заметно возрастает, что указывает на приближение летального исхода. Например, у *P. corneus* (пруд на р. Роставице, с. Ружин), инвазированных спороцистами *C. cornutus*, концентрация гемоглобина составляет 3.2 г% (Стадниченко и др., 1980), что выше обычной для этой популяции нормы в 1.5—3 раза.

При отравлении фенолом у незараженных *P. corneus* (пруд, с. Большая Горбаша) отмечено понижение уровня содержания гемоглобина с 1.64 ± 0.13 до $1.06—1.11$ г% ($P > 99.9 \%$). У зараженных моллюсков (пруд, с. Забродье) статистически достоверных изменений в содержании гемоглобина не выявлено. Это свидетельствует об ослаблении защитно-приспособительных возможностей у зараженных трематодами особей, вызванном фенольной интоксикацией. Необходимо отметить, что в растворах фенола изменяется и общий объем гемолимфы *P. corneus*. У свободных от заражения животных он уменьшается в 2—3 ($P > 99.9 \%$), а у зараженных — в 1.5—2.4 раза ($P = 95.4—99.9 \%$) по сравнению с контролем.

Исследованием установлено, что при интоксикации фенолом и пестицидами у моллюсков развивается патологический процесс. Он представляет собой

Основные токсикологические показатели при отравлении фенолом
для *Lymnaea stagnalis* и *Planorbarius corneus*,
инвазированных партенидами трематод

Инвазия	Место сбора материала	Токсикологические показатели		
		LC ₀	LC ₅₀	LC ₁₀₀
<i>Lymnaea stagnalis</i>				
Нет	Бассейн р. Тетерев, г. Житомир	200	350	600
Партениды <i>Cercaria trifida</i>		100	250	400
<i>Planorbarius corneus</i>				
Нет	Пруд на р. Роставице, с. Ружин	200	600	850
Партениды <i>Cotylurus cornutus</i>		100	400	650
Нет	Затон р. Тетерев, с. За- речаны	200	500	900
Партениды <i>Cotylurus cornutus</i>		100	350	600
Нет	Р. Тетерев, с. Тетеревка	200	650	1000
Партениды <i>Cotylurus cornutus</i>		100	400	800

сочетание патологических и защитно-физиологических реакций их организма, к проявлениям которых относится изменение физико-химических свойств гемолимфы этих животных. Общее ослабление моллюсков-хозяев, обусловленное воздействием на них паразитов, ограничивает приспособительные возможности их к окружающей среде, в частности, повышает чувствительность этих гидробионтов к действию на них токсических веществ. Токсикорезистентность зараженных особей понижается, на что указывает более высокая смертность их в сравнении с незараженными моллюсками при одинаковой концентрации токсиканта. Например, в растворе базудина (0.1 мг/л) смертность незараженных *L. stagnalis* (р. Тетерев, г. Житомир) к концу экспозиции составляет 12 %, а зараженных спороцистами *Cercaria trifida* — 49 %. Об этом же свидетельствуют и различия в основных токсикологических показателях между зараженными трематодами и свободными от заражения животными (см. таблицу).

Л и т е р а т у р а

- А л ь к р и н с к а я И. О. Количественная характеристика гемолимфы и гемоглобина роговой катушки *Planorbis corneus* (Gastropoda, Pulmonata). — Зоол. журн., 1970, т. 49, вып. 3, с. 349—354.
- А л ь к р и н с к а я И. О. Гемоглобины и гемоцианины некоторых беспозвоночных в связи с экологией. — Автореф. канд. дис. М., 1976. 33 с.
- Г о р о х о в В. В., О с е т р о в В. С. Моллюскоциды и их применение в сельском хозяйстве. М.: Колос, 1978. 224 с.
- Л а к и н Г. Ф. Биометрия. М., Высш. шк., 1973. 343 с.
- С т а д н и ч е н к о А. П. Половой диморфизм аминокислотного состава растворимых белков крови озерной живородки. — Научн. тр. Астрахан. техн. ин-та рыбн. промысл. и хоз-ва, посвящен. 100-летию со дня рождения В. И. Ленина, 1969, т. 2, с. 45—50.
- С т а д н и ч е н к о А. П. Патогенное воздействие партенид трематод на пресноводных моллюсков. — Гидробиол. журн., 1977, т. 13, вып. 1, с. 117—124.
- С т а д н и ч е н к о А. П. Взаимоотношения в системе хозяин (пресноводные моллюски) — паразит (трематоды). — Гидробиол. журн., 1984, т. 20, вып. 6, с. 31—36.
- С т а д н и ч е н к о А. П., И в а н е н к о Л. Д. О воздействии партенид трематод на некоторые физико-химические свойства гемолимфы *Planorbarius corneus*. — В кн.: I Всес. съезд паразитологов (тез. докл.). Полтава, 1978, с. 96—97.
- С т а д н и ч е н к о А. П., И в а н е н к о Л. Д., Б у р г о м и с т р е н к о Л. Г. Изменение физико-химических свойств гемолимфы *Planorbarius corneus* (Gastropoda, Pulmonata) при инвазии партенидами *Cotylurus cornutus* (Trematoda, Strigeidae). — Паразитология, 1980, т. 14, вып. 1, с. 66—70.
- Ш е ф т е л ь В. О., С о в а Р. Е. Критерий надежности как функция биологической значимости и вариабельности признака. — В кн.: Применение математических методов

- оценки к прогнозированию реальной опасности накопления пестицидов во внешней среде и в организмах. Киев, 1976, с. 37—39.
- H u r s t 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.
- H u r s t C. T., W a l k e r C. A. Increased heat production in a poikilotherm animal in parasitism. — Amer. Nat., 1933, vol. 69, p. 461—466.
- L e e F. O., C h e n g T. C. Increased heart rate in *Biomphalaria glabrata* parasitized by *Schistosoma mansoni*. — J. Invertebr. Pathol., 1970, vol. 16, N 1, p. 148—149.
- M e a k i n R. H. Studies on the physiology of the snail *Biomphalaria glabrata* (Say): effects of body size, temperature and parasitism by sporocysts of *Schistosoma mansoni* upon respiration. — Compar. Biochem. and Physiol., 1980, vol. A66, N 1, p. 137—140.

Житомирский пединститут

Поступила 3.06.1985

EFFECT OF PHENOL AND PESTICIDES ON PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF HAEMOLYMPH OF GASTROPODS (GASTROPODA, PULMONATA) INFECTED WITH TREMATODE PARTHENITS

A. P. Stadnichenko, L. D. Ivanenko, A. M. Sitnjakowskaja

S U M M A R Y

The effect of solutions of phenol (100, 250, 400 mg/l), copper sulfate, carbophose and bazudine (0.01, 0.1, 1.0 mg/l) on physical and chemical properties of haemolymph of *Lymnaea stagnalis* (L.) and *Planorbarius corneus* (L.) infected with parthenits of trematodes was studied. Haemolymph viscosity decreases and its active reaction shifts to weakly acid one. Haemolymph density decreases only in solutions of carbophose and bazudine. With heavy infection the concentration of haemoglobin in haemolymph of *P. corneus* does not change under the effect of phenol but the total volume of haemolymph reduces considerably.
