

УДК 591.111.05 : 576.895.122 : 594.38

**ВЛИЯНИЕ РАЗНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ИОНОВ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ
НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ГЕМОЛИМФЫ
PLANORBARIUS PURPURA (MOLLUSCA: BULINIDAE) В НОРМЕ
И ПРИ ИНВАЗИИ ТРЕМАТОДАМИ**

© Г. Е. Киричук

Исследовано последствие одновременного воздействия на физико-химические особенности гемолимфы *Planorbarius purpura* трематодной инвазии и токсиканта.

Обсуждается эффект кратковременного совместного влияния высоких (LC_{25} , LC_{50} , LC_{75}) концентраций ионов тяжелых металлов (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} и Pb^{2+}) и партенит трематод *Echinoparyphium aconiatum* на основные показатели гемолимфы моллюсков. Установлено, что незначительные дозы токсикантов (2.5 и 10 ПДК) неоднозначно влияют на разные группы животных. Так, у инвазированных моллюсков содержание гемоглобина в гемолимфе падает, в то время как у интактных — возрастает. Установлено, что по данному показателю ион Cu^{2+} является высокотоксичным, ионы Zn^{2+} и Cd^{2+} — сильнотоксичными, а Pb^{2+} — умереннотоксичным реагентом.

Изучение основных жизненных функций беспозвоночных, в том числе и брюхоногих моллюсков — промежуточных хозяев трематод сем. Echinostomatidae, и их экологической роли в водных экосистемах представляет особый интерес для решения многих задач, в том числе и для рационального использования биологических ресурсов водоемов в условиях антропогенного прессинга. В связи с возрастанием накопления ионов тяжелых металлов как в соленых, так и в пресных водоемах (Линник, 1999) необходимо особое внимание уделить изучению влияния этих микроэлементов на разные стороны метаболических процессов, происходящих в организме моллюсков. Так, установлено, что Zn^{2+} является активатором ферментных систем, он входит в состав биологически активных веществ (витамины, гормоны, ферменты), а Cu^{2+} является составной частью дыхательных пигментов (Нилов, 1980). Роль некоторых микроэлементов (Cd^{2+}) пока не установлена. Повышение уровня содержания тяжелых металлов в среде сопровождается превышением их необходимого биологического потребления, что в свою очередь ведет к разбалансировке гомеостаза у животных. Взаимодействие двухвалентных катионов Cu^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} с протеинами, протеидами, нуклеиновыми кислотами и липидами вызывает нарушение метаболических и физиологических процессов у гидробионтов (Коновалов, 2000), что в конечном итоге ведет к вымиранию популяции.

Целью нашей работы было исследование наиболее характерных нарушений физико-химических свойств гемолимфы у катушек, свободных от инвазии и зараженных партенитами трематод, при воздействии на них различных концентраций ионов тяжелых металлов. Эта проблема обсуждалась и ранее (Стадниченко и др., 1992, 1993), но наши и литературные данные оказались несопоставимы, так как опыты проводились в разные сезоны, животных брали из разных биотопов и они были инвазированы разными видами трематод. Кроме того, использованные токсиканты имели различные анионы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материал: 1474 экз. катушек пурпурных *Planorbarius purpura* (Linne, 1758), собранных в конце июня—начале июля 2000 г. в р. Тетерев (Житомир, Украина). Диаметр их раковин — от 22.98 ± 0.11 до 32.38 ± 0.57 мм, а общая масса тела — от 2420.20 ± 74.92 до 4843.81 ± 180.24 мг.

Зараженность моллюсков трематодами определяли на временных препаратах, изготовленных из тканей гепатопанкреаса. Видовую принадлежность трематод устанавливали на живом материале с помощью МБИ-3. Подопытные животные были спонтанно инвазированы редиями со сформированными («зрелыми») церкариями *Echinoparyphium aconiatum* Dietz. В качестве токсикантов, во избежание взаимовлияния катиона и аниона, использованы $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, PbCl_2 , $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$, ZnCl_2 с маркировкой ч. д. а. Расчет концентраций всех токсикантов произведен на катион.

Токсикологические опыты поставлены по методике Алексеева (1981). Ориентировочным опытом (экспозиция 2 сут) установлены значения основных токсикологических показателей

Токсикант	МПК (LC ₀)	ЛК ₅₀ (LC ₅₀)	ЛК ₁₀₀ (LC ₁₀₀)
Cu ²⁺	0.001	0.05	1
Cd ²⁺	1	50	100
Zn ²⁺	1	50	100
Pb ²⁺	10	450	1000

В остром хроническом опыте использовались три концентрации ЛК₂₅, ЛК₅₀ и ЛК₇₅ (экспозиция 2 сут)

Токсикант	ЛК ₂₅ (мг/л)	ЛК ₇₅ (мг/л)
Cu ²⁺	0.01	0.1
Cd ²⁺	25	75
Zn ²⁺	25	75
Pb ²⁺	225	675

В основном опыте использовали концентрации катионов тяжелых металлов, которые соответствовали 2.5 и 10 ПДК (ПДК — предельно допустимая концентрация Cu²⁺ — 1, Cd²⁺ — 0.001, Zn²⁺ — 1, Pb²⁺ — 0.03 мг/л). Экспозиция — 2.7 и 14 сут.

Растворы приготавливали на дехлорированной воде (рН 7.2—7.5, t 18—20°, содержание кислорода 8.5—8.9 мг/л). Через 24 ч растворы заменяли свежими. Контролем служили моллюски, помещенные в водопроводную дехлорированную воду.

Гемолимфу получали прямым обескровливанием. Объем определяли с помощью инсулинового шприца. Концентрацию гемоглобина в гемолимфе устанавливали солянокислогомаатиновым методом по Сали в модификации Стадниченко и др. (1980). Массу моллюсков измеряли на электронных весах типа WPS 1200/С.

Цифровые результаты обработаны методами вариационной статистики (Лакин, 1973).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Содержание гемоглобина в гемолимфе моллюсков рода *Planorbarius* зависит от сезона, возраста и местообитания. В связи с этим в наших опытах использованы одновозрастные животные, добытые одновременно из одного и того же экотопа. Содержание гемоглобина у интактных особей контрольной группы укладывается в нормы, характерные для этого вида, и лежит в пределах 0.68—1.27 г%, в то время как у особей, инвазированных партенитами *Echinoparyphium aconiatum*, размах значений этого показателя составляет 0.67—1.2 г%. Статистически достоверных отличий между инвазированными и интактными особями не установлено (см. таблицу).

Влияние трематодной инвазии и различных концентраций ионов тяжелых металлов на основные показатели гемолимфы *P. purpura*

Influence of trematode infection and different concentrations of heavy metal ions onto main characteristics of the haemolymph of *Planorbarius purpura*

Токсикант	Концентрация	Инвазия	N	Содержание гемоглобина, г%		Обеспеченность гемоглобином общей массы тела, г/кг		Обеспеченность гемоглобином массы мягкого тела, г/кг	
				$\bar{X} \pm m_x$	CV	$\bar{X} \pm m_x$	CV	$\bar{X} \pm m_x$	CV
Cu ²⁺	LC ₂₅	Нет	28	1.069 ± 0.072	35.64	2.91 ± 0.17	30.91	9.29 ± 0.55	31.33
		Есть	21	0.85 ± 0.114	61.46	2.81 ± 0.37	60.34	8.91 ± 0.86	44.23
	LC ₅₀	Нет	27	1.008 ± 0.032	16.49	2.57 ± 0.24	48.52	8.87 ± 0.33	19.33
		Есть	17	0.672 ± 0.017	10.32	1.82 ± 0.17	38.51	6.83 ± 1.25	75.46
	LC ₇₅	Нет	27	1.041 ± 0.03	14.97	2.51 ± 0.1	20.7	7.78 ± 0.3	20.04
		Есть	11	0.794 ± 0.072	29.24	1.68 ± 0.35	69.1	6.27 ± 0.28	14.81
Cd ²⁺	LC ₂₅	Нет	41	0.746 ± 0.012	10.3	2.46 ± 0.09	22.98	7.03 ± 0.25	22.78
		Есть	20	0.512 ± 0.074	64.64	1.87 ± 0.08	19.13	4.71 ± 0.19	18.04
	LC ₅₀	Нет	31	0.674 ± 0.015	12.39	2.22 ± 0.07	17.56	6.07 ± 0.23	21.1
		Есть	12	0.539 ± 0.088	56.56	1.92 ± 0.42	75.73	4.88 ± 0.39	27.68
	LC ₇₅	Нет	13	0.629 ± 0.057	32.67	2.2 ± 0.17	27.86	5.47 ± 0.45	29.66
		Есть	7	0.676 ± 0.048	18.79	2.13 ± 0.15	18.63	5.25 ± 0.38	19.15
Zn ²⁺	LC ₂₅	Нет	26	0.857 ± 0.04	23.8	2.43 ± 0.11	23.08	6.71 ± 0.3	22.8
		Есть	12	0.648 ± 0.032	17.1	1.49 ± 0.09	20.92	4.7 ± 0.17	12.53
	LC ₅₀	Нет	27	1.157 ± 0.067	30.09	2.95 ± 0.21	36.99	7.95 ± 0.54	35.29
		Есть	15	0.695 ± 0.072	40.12	1.66 ± 0.25	58.33	4.49 ± 0.88	75.91
	LC ₇₅	Нет	23	1.274 ± 0.096	36.14	3.58 ± 0.33	43.62	8.73 ± 0.73	40.35
		Есть	13	0.823 ± 0.056	24.53	3.43 ± 0.27	28.38	9.72 ± 0.94	34.87
Pb ²⁺	LC ₂₅	Нет	23	1.133 ± 0.064	27.09	3.3 ± 0.25	36.33	8 ± 0.49	29.37
		Есть	15	0.867 ± 0.048	21.44	2.6 ± 0.24	35.75	6.91 ± 0.81	45.4
	LC ₅₀	Нет	21	1.078 ± 0.082	34.86	3.33 ± 0.39	53.67	8.88 ± 0.81	41.8
		Есть	9	0.891 ± 0.154	51.85	3.13 ± 0.62	59.42	8.99 ± 0.66	22.02
	LC ₇₅	Нет	21	1.067 ± 0.071	30.49	2.53 ± 0.12	21.74	7.82 ± 0.54	31.64
		Есть	9	0.685 ± 0.104	45.56	2.1 ± 0.26	37.14	5.76 ± 0.71	36.98
Контроль	Нет	41	0.81 ± 0.016	12.35	2.03 ± 0.08	25.23	7.78 ± 0.36	29.62	
	Есть	19	0.82 ± 0.025	13.41	1.91 ± 0.11	25	6.9 ± 0.35	22.11	

Как известно (Метелев и др., 1971), соли тяжелых металлов относятся к группе ядов локального действия, которые в первую очередь поражают клетки поверхностного мерцательного эпителия. Это в свою очередь внешне проявляется, во-первых, в обильном ослизнении тела, а во-вторых, — коагулировании слизи, оголении, разрушении и отторжении клеток кожного мерцательного эпителия. Все это позволяет ионам тяжелых металлов беспрепятственно поступать в организм животного. При этом образуются хелатные соединения с кислыми белками цитозоля. Характерно, что в таких новообразованных комплексах металл и белок оказывают взаимное влияние (Коновалов, 2000). Наличие ионов тяжелых металлов влияет на структурное состояние полипептида, что ведет к изменению его свойства. Согласно ныне действующей классификации ядовитых веществ по степени их токсичности для гидробионтов ион Cu²⁺ для *P. purpura* является высокотоксичным, Cd²⁺ и Zn²⁺ — сильнотоксичным, а Pb²⁺ — умереннотоксичным реагентом.

Различные (LC₂₅, LC₅₀, LC₇₅) концентрации ионов тяжелых металлов не одинаково влияют на физико-химические свойства гемолимфы *P. purpura*. Так, при воздействии ионов Cu²⁺ у интактных особей наблюдается тенденция к повышению содержания гемоглобина в гемолимфе на 28.52—31.98 % (см. таблицу). Причем процесс стимуляции наиболее выражен при LC₂₅ и наименее при LC₇₅. Что касается группы инвазированных особей, то эта закономерность графически описывается синусоидой. Кон-

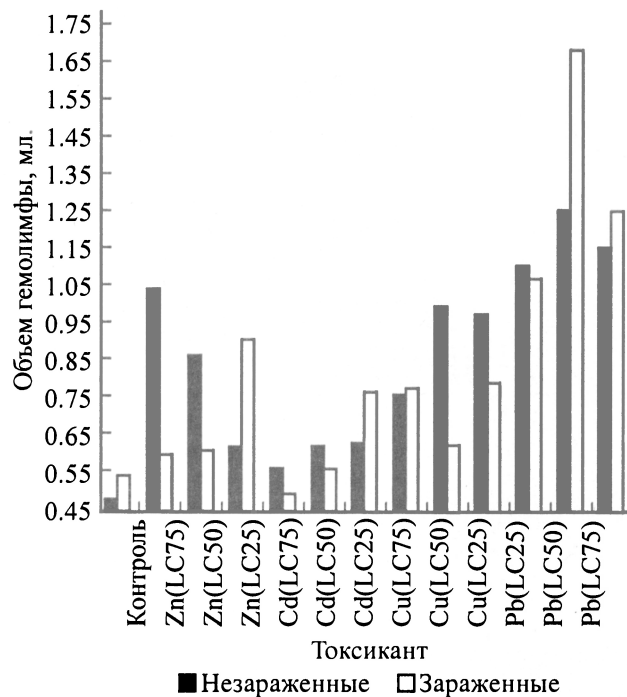


Рис. 1. Влияние трематодной инвазии и различных концентраций ионов тяжелых металлов на объем (мл) гемолимфы *P. purpura*.

Fig. 1. Influence of trematode infection and different concentrations of heavy metal ions onto haemolymph volume (ml) in *Planorbarius purpura*.

центрация LC_{25} ионов Cu^{2+} несколько стимулирует содержание гемоглобина, но уже при LC_{50} этот показатель падает на 22 %, а при LC_{75} наблюдается приближение уровня содержания гемоглобина в гемолимфе моллюсков к пределам контрольной группы.

Обеспеченность гемоглобином как общей массы тела, так и массы мягкого тела дает однотипную картину, а именно при LC_{25} значение обсуждаемого показателя возрастает у интактных особей на 19.41—43.35, у инвазированных — на 29.13—47.12 %. С увеличением концентрации токсиканта до LC_{75} этот показатель падает до 14.05—23.65 % у интактных особей, а у инвазированных находится в пределах нормы. Объем гемолимфы на 12.5 % выше у зараженных особей по сравнению с незараженными моллюсками. Но воздействие ионов Cu^{2+} несколько меняет эту картину (рис. 1). У животных четко прослеживаются процесс обводнения тела и, как следствие, ухудшение кожного дыхания. Гипергидремия, однако, способствует поступлению определенного количества кислорода в ткани, что необходимо для клеточного дыхания (Бранд, 1951). Кроме того, с увеличением объема гемолимфы уменьшается количество токсических веществ на единицу массы тела.

Ионы Cd^{2+} и Zn^{2+} на инвазированных *P. purpura* оказывают однотипное влияние. При LC_{25} наблюдается резкое понижение ($P > 99.9$ %) содержания гемоглобина в гемолимфе моллюсков, что указывает на защитно-приспособительную активацию аэробного расщепления энергетических субстратов и обусловлено сдвигом влево в биохимической системе «оксигемоглобин—гемоглобин». При возрастании концентрации токсиканта до LC_{75} наблюдается постепенное увеличение содержания гемоглобина, приближающегося к нижнему пределу этого показателя, установленного для контрольной группы. У интактных особей наблюдается прямо пропорциональное снижение концентрации гемоглобина под воздействием ионов Cd^{2+} и вместе с тем возрастание (на 76.35 %) этого показателя при наличии в среде ионов Zn^{2+} . Следует



Рис. 2. Влияние трематодной инвазии и разных концентраций ионов Zn на содержание гемоглобина (Hb, г%) в гемолимфе *P. purpura* (экспозиция 2 сут).

Fig. 2. Influence of trematode infection and different concentrations of Zn²⁺ onto haemoglobin content (Hb, g%) in haemolymph of *Planorbartius purpura* (2 days exposition).

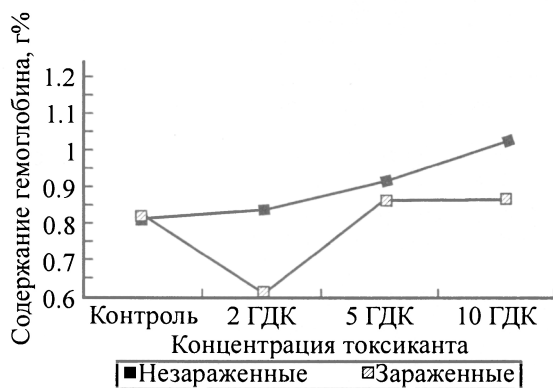


Рис. 3. Влияние трематодной инвазии и разных концентраций ионов Zn на содержание гемоглобина (Hb, г%) в гемолимфе *P. purpura* (экспозиция 7 сут).

Fig. 3. Influence of trematode infection and different concentrations of Zn²⁺ onto haemoglobin content (Hb, g%) in haemolymph of *Planorbartius purpura* (7 days exposition).

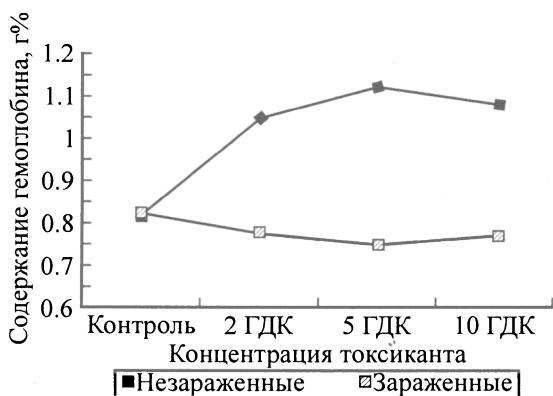


Рис. 4. Влияние трематодной инвазии и разных концентраций ионов Zn на содержание гемоглобина (Hb, г%) в гемолимфе *P. purpura* (экспозиция 14 сут).

Fig. 4. Influence of trematode infection and different concentrations of Zn²⁺ onto haemoglobin content (Hb, g%) in haemolymph of *Planorbartius purpura* (14 days exposition).

Рис. 5. Влияние трематодной инвазии и разных концентраций ионов Cd на содержание гемоглобина (Hb, г%) в гемолимфе *P. purpura* (экспозиция 2 сут).

Fig. 5. Influence of trematode infection and different concentrations of Cd²⁺ onto haemoglobin content (Hb, g%) in haemolymph of *Planorbarius purpura* (2 days exposition).

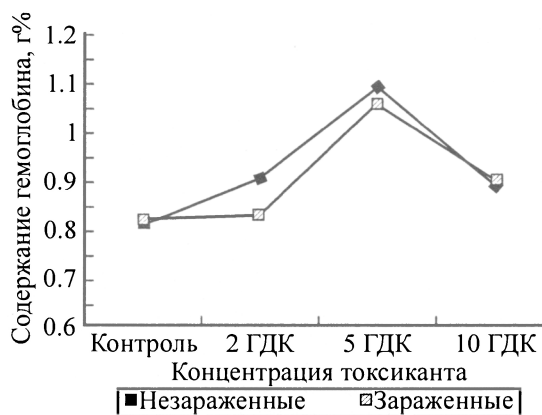


Рис. 6. Влияние трематодной инвазии и разных концентраций ионов Cd на содержание гемоглобина (Hb, г%) в гемолимфе *P. purpura* (экспозиция 7 сут).

Fig. 6. Influence of trematode infection and different concentrations of Cd²⁺ onto haemoglobin content (Hb, g%) in haemolymph of *Planorbarius purpura* (7 days exposition).



Рис. 7. Влияние трематодной инвазии и разных концентраций ионов Cd на содержание гемоглобина (Hb, г%) в гемолимфе *P. purpura* (экспозиция 14 сут).

Fig. 7. Influence of trematode infection and different concentrations of Cd²⁺ onto haemoglobin content (Hb, g%) in haemolymph of *Planorbarius purpura* (14 days exposition).



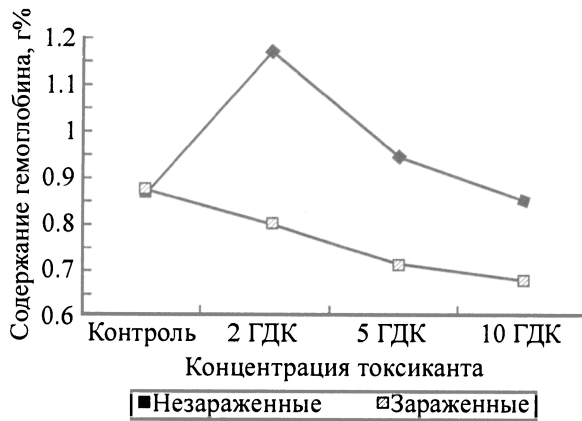


Рис. 8. Влияние трематодной инвазии и разных концентраций ионов Pb на содержание гемоглобина (Hb, г%) в гемолимфе *P. purpurum* (экспозиция 2 сут).

Fig. 8. Influence of trematode infection and different concentrations of Pb²⁺ onto haemoglobin content (Hb, g%) in haemolymph of *Planorbarius purpurum* (2 days exposition).

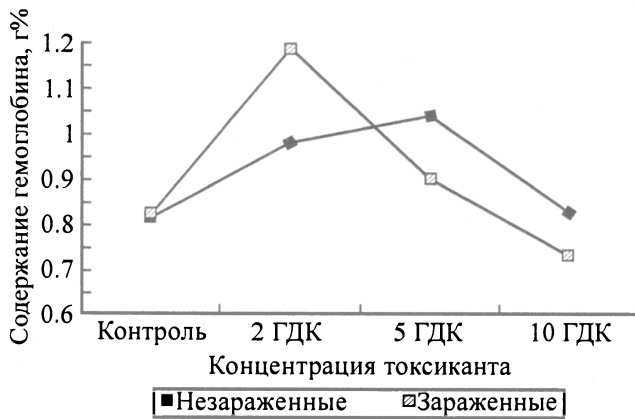


Рис. 9. Влияние трематодной инвазии и разных концентраций ионов Pb на содержание гемоглобина (Hb, г%) в гемолимфе *P. purpurum* (экспозиция 7 сут).

Fig. 9. Influence of trematode infection and different concentrations of Pb²⁺ onto haemoglobin content (Hb, g%) in haemolymph of *Planorbarius purpurum* (7 days exposition).

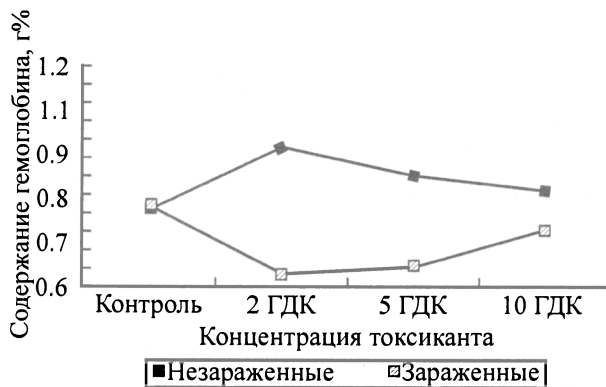


Рис. 10. Влияние трематодной инвазии и разных концентраций ионов Pb на содержание гемоглобина (Hb, г%) в гемолимфе *P. purpurum* (экспозиция 14 сут).

Fig. 10. Influence of trematode infection and different concentrations of Pb²⁺ onto haemoglobin content (Hb, g%) in haemolymph of *Planorbarius purpurum* (14 days exposition).

отметить, что лишь у зараженных особей наблюдается тенденция к увеличению объема гемолимфы как при воздействии ионов Zn^{2+} , так и ионов Cd^{2+} . Однако первый приводит к снижению объема гемолимфы в направлении от LC_{25} к LC_{75} на 70 %, а второй повышает обсуждаемый показатель всего лишь на 12.5 %.

Изучение токсического влияния ионов Pb^{2+} на *P. purpura* показало, что как у зараженных, так и у неинвазированных особей наблюдается резкое увеличение объема гемолимфы. Причем максимальный пик наблюдается при концентрации ионов Pb^{2+} соответствующей LC_{50} . Анализ обеспеченности гемоглобином общей массы тела показывает, что у интактных и инвазированных особей наблюдается тенденция к уменьшению этих показателей в направлении от LC_{25} к LC_{75} .

Следует отметить, что в природных водах, как правило, не существует высоких концентраций токсических веществ и наблюдаются они обычно лишь во время техногенных катастроф, а вот длительное действие малых доз токсикантов, на порядок превышающих значения ПДК, имеет место. Наблюдение за изменением физико-химических свойств гемолимфы при воздействии незначительных (2.5, 10 ПДК) концентраций ионов тяжелых металлов показало, что в случае с Zn^{2+} и Cd^{2+} независимо от времени экспозиции наблюдается идентичная картина в изменении показателей. Инвазированные особи содержат в гемолимфе гемоглобин в концентрации значительно ниже, нежели свободные от инвазии особи (рис. 2—7). Возможно, наличие токсикантов во внутренней среде животных стимулирует их способность многократно увеличивать концентрацию гемоглобина в гемолимфе за счет усиления процессов синтеза дыхательных белков, что, вероятно, является адаптацией к более интенсивному потреблению кислорода животными в неадекватных условиях обитания. Но сочетание двух повреждающих факторов — токсиканта и инвазии трематодами — приводит к понижению защитно-приспособительных свойств организма. Это в свою очередь ведет к нарушению буферных свойств гемолимфы, ведь даже невысокая интенсивность инвазии моллюсков партенитами *E. aconiatum* значительно ослабляет адаптационные возможности организма катушек (Стадниченко и др., 1993).

Что касается ионов Pb^{2+} , то здесь 7-суточная экспозиция стимулирует образование гемоглобина при 2 и 5 ПДК ионов Pb^{2+} в среде. Анализ влияния разных концентраций (2.5, 10 ПДК) Pb^{2+} при экспозиции 2 и 14 сут показал закономерное снижение уровня содержания гемоглобина у зараженных особей и незначительное его повышение у интактных моллюсков (рис. 8—10).

Список литературы

- Алексеев В. А. Основные принципы сравнительно-токсикологического эксперимента // Гидробиол. журн. 1981. Т. 17, № 3. С. 92—100.
- Бранд Т. Анаэробия у беспозвоночных. М.: ИЛ, 1951. 335 с.
- Коновалов Ю. Д. Металлосвязывающие белки зрелых яиц рыб // Гидробиол. журн. 2000. Т. 36, № 1. С. 64—75.
- Лакин Г. Ф. Биометрия. М.: Высш. шк., 1973. 343 с.
- Линник П. Н. Донные отложения водоемов как потенциальный источник вторичного загрязнения водной среды соединениями тяжелых металлов // Гидробиол. журн. 1999. Т. 35, № 2. С. 97—109.
- Метелев В. В., Канаев А. И., Дзасохова Н. Г. Водная токсикология. М.: Колос, 1971. 247 с.
- Нилов В. И. Накопление ^{65}Zn и ^{203}Hg некоторыми пресноводными беспозвоночными животными // Гидробиол. журн. 1980. Т. 16, № 5. С. 96—103.
- Стадниченко А. П., Иваненко Л. Д., Бургомистренко Л. Г. Изменение физико-химических свойств гемолимфы *Planorbium comeus* (Gastropoda, Pulmonata) при инвазии партенитами *Cotylurus cornutus* (Trematoda, Strigeidae) // Паразитология. 1980. Т. 14, вып. 1. С. 66—70.
- Стадниченко А. П., Иваненко Л. Д., Киричук А. М., Мартынюк О. В., Вовк Д. В., Дык Л. С., Сташкевич Е. А., Шолота И. У., Онишук А. И. Влияние трематодной инвазии и различных концентраций бромистого кадмия на физико-химические свойства гемолимфы роговой катушки // Деп. УкрИНТЭИ. 04.05.92 г. № 552. Ук. 92. 11 с.

Стадниченко А. П., Иваненко Л. Д., Василенко О. Ф., Зиинич М. М., Вишневская А. Е., Киричук Г. Е., Мыслинская Л. Н., Семений Т. А. Влияние различных концентраций сульфата цинка на физико-химические свойства гемолимфы катушки *Planorbarius* (Mollusca: Bulinidae) в норме и при инвазии трематодами // Паразитология. 1993. Т. 29, вып. 2. С. 112—116.

Житомирский педуниверситет, 25200

Поступила 4.03.2001

INFLUENCE OF DIFFERENT CONCENTRATIONS OF HEAVY METAL IONS
ONTO PHYSICAL AND CHEMICAL CHARACTERISTICS
OF THE HAEMOLYMPH OF PLANORBARIUS PURPURA (MOLLUSCA: BULINIDAE)
IN A NORM AND UNDER A TREMATODE INFECTION

G. E. Kirichuk

Key words: trematode infection, heavy metal ions, joint effect, haemolymph, *Planorbarius purpura*.

SUMMARY

Short-term simultaneous effect of high concentrations (LC_{25} , LC_{50} , LC_{75}) of heavy metal ions (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} and Pb^{2+}) and infection with trematode partenites *Echinoparyphium aconiatum* onto haemolymph of mollusk has been investigated. It was noted that low doses of toxicant (2.5 and 10 maximum admitted concentrations) have variable effect. In infected molluscs the concentration of haemoglobin decreases, while in intact ones it increases. In relation to this index, it was found, that the ion Cu^{2+} is highly toxic, Zn^{2+} and Cd^{2+} — toxic, Pb^{2+} — moderately toxic.