

УДК 591.111.05 : 576.895.122 : 594.38

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

© А. П. Стадниченко, Л. Д. Иваненко, И. А. Дасик,
А. Н. Ковальчук, М. М. Никитюк, З. М. Яворская

При воздействии сульфатом марганца (2000, 5000, 8000 мг/л) на *Planorbarius corneus* наблюдаются изменения физико-химических свойств гемолимфы. Увеличивается ее объем, а активная реакция (рН) из слабокислой становится нейтральной или щелочной. С ростом концентрации токсиканта в среде содержание гемоглобина в гемолимфе, обеспеченность им тотальной массы и массы мягкого тела понижаются. Вышеперечисленные сдвиги ярче выражены у зараженных эхиностомными трематодами особей (при слабой и средней тяжести инвазии), нежели у свободных от инвазии животных.

В последнее десятилетие соединения тяжелых металлов становятся ведущей формой загрязнения водной среды. С неочищенными или недостаточно очищенными стоками горно-рудных, металлургических, гальванических предприятий в природные воды попадают значительные количества солей, в том числе и сульфата марганца. Предельно допустимые концентрации Mn^{2+} в сети водопользования составляют 0.1 мг/л (санитарно-токсикологическая норма). В производственных стоках содержание его также регламентируется (оно не должно превышать 1 мг/л). Тем не менее в шахтных и рудничных водах концентрация Mn^{2+} нередко бывает выше указанной на несколько порядков. Являясь токсикантом локального действия, которому свойственна как материальная, так и физиологическая кумуляция, сульфат марганца не может быть безразличным для гидробионтов, в том числе и для катушек роговых. Влияние его на физико-химические свойства гемолимфы этих моллюсков в норме и при инвазии трематодами исследуются впервые.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Материал: 185 экз. одновозрастных катушек роговых *Planorbarius corneus* (Linne), собранных одномоментно в сентябре 1994 г. в Житомирской обл. (Украина) в бассейне р. Тетерев (ручей у хутора Затишье). Моллюски были спонтанно инвазированы редиями эхиностоматидной трематоды (*Echinostoma* sp.), локализованными в их гепатопанкреасе. Общие сведения о материале исследования приведены в табл. 1.

Ориентировочный и основной токсикологические опыты поставлены по методике Алексеева (1981). Первым из них установлены значения основных токсикологических показателей — МПК (LC_0) = 1000, ЛК₅₀ (LC_{50}) = 10 000 и ЛК₁₀₀ (LC_{100}) = 100 000 мг/л. В основном опыте использованы концентрации сульфата марганца,

Таблица 1
Общие сведения о материале исследования
Table 1. General data on material examined

Инвазия	n	Диаметр раковины, мм	Общая масса тела, мг	Масса мягкого тела, мг	Объем гемолимфы, мл
Контроль					
Нет	29	27.7 ± 0.38	3984 ± 124	1675 ± 53	0.52 ± 0.04
Есть	7	28.4 ± 1.08	4102 ± 379.8	1702 ± 120	0.49 ± 0.04
2000 мг/л					
Нет	67	26.9 ± 0.33	4045.5 ± 104.8	1532 ± 45.5	0.8 ± 0.19
Есть	7	25.8 ± 0.62	3850 ± 162.1	1324 ± 112.3	0.62 ± 0.14
5000 мг/л					
Нет	27	27.87 ± 0.48	4784.4 ± 212.8	1574.8 ± 29.4	0.95 ± 0.07
Есть	9	28 ± 0.98	4777.8 ± 472	1667.5 ± 113.1	0.8 ± 0.1
8000 мг/л					
Нет	29	28.3 ± 0.32	4669 ± 144.8	1502 ± 42	1.43 ± 0.08
Есть	10	26.2 ± 0.29	3666 ± 179.4	1248 ± 45.9	1.16 ± 0.1

не выходящие за пределы величин МПК и ЛК₅₀ – 2000, 5000 и 8000 мг/л. Растворы его готовили на водопроводной воде (рН 7.2–7.5, температура 18–20°, содержание кислорода – 8.7–8.9 мг/л), дехлорированной путем отстаивания (1 сут). Моллюсков выдерживали в них 2-е суток. Отработанные растворы через сутки заменяли свежеприготовленными. Контролем служили особи, экспонированные в отстоянной водопроводной воде.

Гемолимфу получали прямым обескровливанием катушек. Активную реакцию ее устанавливали с помощью универсального бумажного индикатора „Рифан”. Концентрацию гемоглобина определяли соляно-кислогематиновым методом по Сали с той лишь разницей, что разведение ее соляной кислотой было втрое меньше, что учитывалось при получении окончательного результата.

Цифровые результаты исследования обработаны вариационно-статистическими методами по Лакину (1973). Приняты такие критерии достоверности сдвига: 1) для „жестких” показателей (V. до 10 %) – 90 %; 2) для пластичных (V. до 50 %) – 94.5 %. К „жестким” показателям отнесена активная реакция гемолимфы, к пластичным – уровень содержания в ней гемоглобина.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Принятая в настоящее время классификация токсикантов по силе их воздействия на организмы основывается на величинах ЛК₅₀. По этой классификации сульфат марганца является для катушек слаботоксичным соединением. Тем не менее при 2000–8000 мг/л его в среде у части подопытных животных развивается острое отравление, вызывающее скорую их гибель. К концу вторых суток

Таблица 2

Влияние трематодной инвазии и различных концентраций сульфата марганца на смертность (%) катушек роговых

Table 2. The influence of the trematode infection and different magnesium sulphate concentrations on the mortality (%) of *Planorbarius corneus*

Инвазия	Концентрация токсиканта, мг/л			
	0	2000	5000	8000
Нет	0	1.5	11.1	14.7
Есть	0	2.5	14.8	18

смертность моллюсков составляет 1.5–18 % (табл. 2). Причем при всех концентрациях сульфата марганца смертность инвазированных трематодами особей в 1.2–1.7 раза выше, чем свободных от заражения, что указывает на снижение их жизнестойкости под влиянием паразитарного фактора.

Симптомокомплекс острого отравления катушек этим токсикантом включает ослизиение их кожных покровов, коагуляцию слизи, слущивание эпителия кожи и полости легкого с образованием кровотокащих язв и нарастающее обезвоживание тела. При обширных изъязвлениях легкого неизбежны нарушения дыхания, в то время как потребность в кислороде у гидробионтов, пребывающих в токсической среде, возрастает на 20–50 % (Метелев и др., 1971).

Концентрация гемоглобина в гемолимфе роговых катушек составляет 0.19–2.17 г% (Borden, 1931; Алякринская, 1970; Стадниченко и др., 1980, 1993). У особей, использованных в наших опытах, среднее его содержание равно $1.46 \pm \pm 0.09$ г%, размах колебания показателя от 0.55 до 2.2 (табл. 3). Активная реакция внутренней среды варьирует от 4.5 до 8, при среднем ее значении 6.05 ± 0.2 (табл. 4).

У зараженных редиями эхиностомных трематод животных содержание гемоглобина в гемолимфе составляет 1.24 ± 0.19 г% (0.73–2.2), а активная реакция среды – 6.4 ± 0.3 (5–7). Следовательно, в контрольной группе животных статистически достоверные различия по обсуждаемым показателям отсутствуют. Это, скорее всего, связано с тем, что все животные из контрольной группы особей характеризовались невысокой интенсивностью инвазии. Очаги поражения гепатопанкреаса паразитами были малочисленными (1–3 на особь) и небольшими по площади (не более 3×3 мм).

При 2000 мг/л сульфата марганца ($728 - \text{Mn}^{2+}$) в среде содержание гемоглобина в гемолимфе (на фоне прогрессирующего увеличения ее объема) незараженных катушек снижается всего лишь на 8 %, а у инвазированных редиями эхиностом – на 35.5 ($P > 39.9$ %). Это значит, что первые из них успешно противостоят воздействию токсической среды при незначительном увеличении интенсивности их общего обмена, в то время как вторые достигают этого, повышая его более чем на 1/3. Компенсаторная активация аэробного дыхания сопровождается снижением показателей обеспеченности гемоглобином как общей массы, так и массы мягкого тела катушек по сравнению с особями контрольной группы. У незараженных животных значение первого из них падает на 8, у зараженных на 33.8 % ($P > 99.9$ %), а второго – на 6.5 и 17 % соответственно ($P = 99.6$ %). Это связано со сдвигом влево в динамической системе оксигемоглобин–гемоглобин, причем у инвазированных особей, невзирая на нарушение водного баланса, ведущее

Таблица 3

Влияние трематодной инвазии и различных концентраций сульфата марганца на содержание гемоглобина в гемолимфе и обеспеченность им тела катушек роговых

Table 3. The influence of the trematode infection and different magnesium sulphate concentrations on the haemoglobin concentration and body provision with it in *Planorbarius corneus*

Инвазия	Содержание гемоглобина, г%	Обеспеченность гемоглобином общей массы тела, г/кг	Обеспеченность гемоглобином мягкого тела, г/кг
Контроль			
Нет	1.46 ± 0.09	3.84 ± 0.3	9.32 ± 0.48
Есть	1.24 ± 0.19	3.25 ± 0.64	7.60 ± 1.45
2000 мг/л			
Нет	1.34 ± 0.06	3.52 ± 0.2	8.71 ± 0.7
Есть	0.8 ± 0.24	2.15 ± 0.19	6.3 ± 0.44
5000 мг/л			
Нет	1.2 ± 0.09	2.76 ± 0.27	7.89 ± 0.62
Есть	1.08 ± 0.09	2.44 ± 0.34	6.89 ± 0.88
8000 мг/л			
Нет	0.98 ± 0.06	2.1 ± 0.13	6.69 ± 0.44
Есть	0.76 ± 0.06	2.15 ± 0.22	6.25 ± 0.54

к обезвоживанию и вследствие этого к уменьшению их общей массы и массы мягкого тела. Следовательно, при 2000 мг/л сульфата марганца в среде у преобладающего большинства незараженных катушек регистрируется та стадия отравления, которую можно квалифицировать как фазу¹ стимуляции, а у зараженных – как переходную от стимуляции к депрессии. Степень выраженности депрессивных признаков прямо пропорциональна интенсивности инвазии. При весьма тяжелой

Таблица 4

Влияние трематодной инвазии и различных концентраций сульфата марганца на активную реакцию (рН) гемолимфы катушки роговой

Table 4. The influence of the trematode infection and different magnesium sulphate concentrations on the active reaction (pH) of the *Planorbarius corneus* haemolymph

Инвазия	Концентрация токсиканта, мг/л			
	0	2000	5000	8000
Нет	6.05 ± 0.2	7.7 ± 0.14	7.38 ± 0.17	8 ± 0.13
Есть	6.4 ± 0.3	8.8 ± 0.4	7 ± 0.38	7.25 ± 0.09

¹ Фазность патологического процесса, вызванного отравлением, принята по Веселову, 1968.

инвазии (тотальное поражение гепатопанкреаса паразитами) и значительных наружных повреждениях (отторжение эпителия легкого, адаптивной жабры, шупалец) развивается острое, стремительно протекающее отравление, начинающееся фазой депрессии, быстро переходящей в сублетальную, а затем в летальную фазы. Гибель животных при этом наступает очень скоро – от нескольких часов до 1, реже до 2 сут.

В растворе, содержащем 5000 мг/л сульфата марганца (1821 – Mn^{2+}) у инвазированных особей статистически достоверных различий в содержании гемоглобина в гемолимфе не обнаружено. У зараженных моллюсков отмечено резкое возрастание (на 35 %) его концентрации по сравнению с животными, выдержанными при 2000 мг/л токсиканта ($P > 99.9 \%$). Последнее сочетается у них с незначительным возрастанием обеспеченности гемоглобином мягкого тела. Это обусловлено увеличением массы животных из-за его обводнения. Умеренное обводнение тела можно рассматривать как защитно-приспособительную реакцию катушек к воздействию на них токсиканта, так как с увеличением поверхности тела и набуханием коллоидов цитоплазмы поступление кислорода в клетки возрастает (Бранд, 1951). Обводнение тела в некоторой мере служит и целям детоксикации, поскольку вместе с водой из него выводятся и какие-то количества токсиканта (Кизеветтер, 1973). Кроме того, с увеличением размеров тела уменьшается количество токсиканта, приходящееся на единицу его массы, а значит, и его токсичность для организма.

При отсутствии инвазии происходит умеренное обводнение катушек: прирост массы их мягкого тела составляет не более 3 %. У моллюсков как с инвазией средней тяжести, так и с интенсивной инвазией пастозность головы и ноги очень быстро переходит в их разлитой отек, при котором масса мягкого тела животных возрастает в среднем на 30 %. При этом у них развивается истинный шок, влекущий за собой гибель животных.

При 8000 мг/л сульфата марганца (2914 – Mn^{2+}) в воде отмечается понижение уровня содержания гемоглобина в гемолимфе катушек. У незараженных животных по сравнению с нормой оно сокращается на 32.9 ($P = 99.5 \%$), а у зараженных – на 38.7 % ($P = 94.7 \%$). Это указывает на возрастание функционального напряжения, которое в значительной мере снимается за счет повышения у моллюсков уровня аэробного дыхания. О последнем свидетельствует не только снижение концентрации гемоглобина в их гемолимфе, но и уменьшение обеспеченности им как общей массы катушек, так и массы их мягкого тела (табл. 3). Сдвиги значений обсуждаемых показателей гораздо сильнее выражены у зараженных трематодами животных по сравнению со свободными от инвазии, поскольку они вынуждены противостоять воздействию не одного, а двух неблагоприятных факторов – абиотического (токсикант) и биотического (инвазия). Известно, что у моллюсков как зараженных трематодами, так и подвергнутых воздействию на них токсикантами, приспособление к изменению условий среды заключается в повышении уровня общего обмена веществ, что способствует поддержанию ими гомеостаза. Понятно, что в токсической среде сохраняют жизнеспособность только те из инвазированных моллюсков, у которых уровень энергетического метаболизма повышается в большей мере, чем у незараженных особей. Это возможно только лишь при слабой инвазии или при инвазии средней тяжести. Моллюски, интенсивно инвазированные трематодами, из-за резкого ослабления их защитно-приспособительных возможностей оказываются не в состоянии противостоять токсическому фактору и погибают.

О том, что при 2000–8000 мг/л сульфата марганца в среде приспособление катушек к токсиканту осуществляется путем повышения интенсивности аэробного расщепления углеводов, свидетельствует и характер изменения активной

реакции их гемолимфы (табл. 4). У всех без исключения подопытных животных, подвергнутых воздействию токсиканта, она из слабокислой становится щелочной, реже – нейтральной. Следовательно, биохимической адаптации к токсической среде в форме „переключения” аэробного дыхания на анаэробное (гликолиз) у них не происходит. Конечным продуктом гликолиза, как известно, является молочная кислота, которая должна была бы непременно вызвать подкисление гемолимфы, что не имеет места.

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 *Planorbarius corneus* (Gastropoda, Pulmonata) // Зоол. журн. 1970. Т. 49, № 3. С. 349–354.
- Бранд Т. Анаэробиз у беспозвоночных. М.: ИЛ, 1951. 335 с.
- 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.
- Кизеветтер И. В. Биохимия сырья водного происхождения. М.: Пищев. промышл., 1973. 424 с.
- Лакин Г. Ф. Биометрия. М.: Высш. шк., 1973. 343 с.
- 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 *Planorbarius corneus* (Gastropoda, Pulmonata) при инвазии партенитами *Cotylurus cornutus* (Trematoda, Strigeidae) // Паразитология. 1980. Т. 14, вып. 1. С. 66–70.
- Стадниченко А. П., Иваненко Л. Д., Василенко О. Ф., Зинич М. М., Вишневская А. Е., Киричук Г. Е., Мыслинская Л. Н., Семений Т. А. Влияние различных концентраций сульфата цинка на физико-химические свойства гемолимфы катушек *Planorbarius* (Mollusca: Bulinidae) в норме и при инвазии трематодами // Паразитология. 1993. Т. 27, вып. 5. С. 404–409.
- Borden M. A. A study of the respiration and of the function of haemoglobin in *Planorbarius corneus* and *Arenicola marina* // J. Mar. Biol. Assoc. U. K. 1931. Vol. 17. P. 709–738.

Житомирский пединститут, 262008

Поступила 21.03.1995

AN INFLUENCE OF DIFFERENT MAGNESIUM SULPHATE CONCENTRATIONS ON PHYSICAL AND CHEMICAL CHARACTERISTICS OF PLANORBARIUS HAEMOLYMPH (MOLLUSCA: BULINIDAE) IN A NORMAL STATE AND UNDER TREMATODE INFECTION

A. P. Stadnichenko, L. D. Ivanenko, I. A. Dasik, A. N. Kovalchuk,
M. M. Nikityuk, Z. M. Yavorskaya

Key words: *Planorbarius corneus*, magnesium sulphate, haemolymph, trematode infection.

SUMMARY

The changings of physical and chemical characteristics of *Planorbarius corneus* haemolymph under the influence of different magnesium sulphate concentrations (2000, 5000, 8000 mg/l) were observed. The volume of haemolymph increased, while its pH changed from low acid to neutral or alkaline. The increase of toxin concentration caused the decrease of haemoglobin concentration in the haemolymph and provision with haemoglobin the total body and soft tissues. These changings were more distinctly expressed in individuals infected with the echinostome trematodes (low and mean rate of infection) than in individuals free of parasites.