

УДК 591.111.05 : 576.895.122 : 594.38

**ВЛИЯНИЕ ДИХРОМАТА КАЛИЯ НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ
СВОЙСТВА ГЕМОЛИМФЫ КАТУШЕК (MOLLUSCA: BULINIDAE:
PLANORBARIUS), ИНВАЗИРОВАННЫХ ТРЕМАТОДАМИ
(TREMATODA: ECHINOSTOMATIDAE)**

© А. П. Стадниченко, Л. Д. Иваненко, А. А. Аберт, Т. Б. Демчук,
О. Н. Федорчук, А. А. Шерстобаев, И. А. Шинкаренко

Исследовано влияние дихромата калия (20, 50, 80 мг/л) на некоторые физико-химические свойства гемолимфы катушки роговой, зараженной партенитами эхиностомной трематоды. С увеличением концентрации токсиканта наблюдается подщелачивание гемолимфы у всех подопытных животных, которое при 80 мг/л дихромата калия у незараженных животных приостанавливается, а у зараженных трематодами гемолимфа подкисляется. При слабой концентрации токсиканта содержание гемоглобина в гемолимфе остается на уровне нормы, при 50–80 мг/л дихромата калия в среде концентрация гемоглобина у свободных от инвазии особей не изменяется, а у инвазированных – понижается. В среде, содержащей 20 мг/л токсиканта, обеспеченность гемоглобином общей массы и массы мягкого тела падает, а при 50 и 80 мг/л – повышается.

С неочищенными и недостаточно очищенными стоками промышленных предприятий (горно-рудные, металлургические, металлообрабатывающие, кожевенные и др.) в природные и искусственные водоемы и водотоки попадают большие количества солей, среди них и дихромат калия. По действующим сейчас нормам предельно допустимая его концентрация для сети водопользования составляет 0.05 мг/л (санитарно-токсикологическая норма). Нередко, однако, в местах выброса стоков уровень допустимого загрязнения среды превышает во много раз. Так, в р. Гнилопять, загрязняемой сбросами Бердичевского кожобъединения (Украина), содержание его в воде превышает 10–100 ПДК. Будучи токсикантом локального действия (Метелев и др., 1971), дихромат калия прежде всего оказывает местное повреждающее воздействие на покровы тела и ткани, выстилающие полость легкого. Следствием кумуляции токсиканта в организме катушек являются различные нарушения гомеостаза их внутренней среды. Мы попытались выяснить, какие из них наиболее характерны для гемолимфы катушек, свободных от инвазии и зараженных партенитами и церкариями трематод.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

Материал: 210 экз. одновозрастных катушек роговых *Planorbarius corneus* (L.), собранных в июне 1995 г. в бассейне р. Тетерев (хутор Затишье Житомирской обл.). Животные были спонтанно инвазированы редиями со сформированными

Таблица 1

Общие сведения о материале исследования

Table 1. General information about the material of the investigation

Инвазия	n	Диаметр раковой раковины, мм	Общая масса тела, мг	Масса мягкого тела, мг	Объем гемолимфы, мл
Контроль					
Нет	41	24.9 ± 0.48	2594 ± 144.2	957 ± 57.1	1.4 ± 0.1
Есть	9	27 ± 1.27	3577 ± 347.7	1338 ± 203.13	1.33 ± 0.19
20 мг/л					
Нет	45	30.2 ± 0.3	5322 ± 177.8	1365 ± 53.21	1.48 ± 0.02
Есть	10	30 ± 0.93	5522 ± 360.7	1431 ± 117.44	1.45 ± 0.05
50 мг/л					
Нет	38	27.9 ± 0.35	3871 ± 112.75	1514 ± 51.88	1.51 ± 0.07
Есть	12	26.9 ± 0.84	3900 ± 258.22	1387 ± 105.3	1.4 ± 0.17
80 мг/л					
Нет	41	28 ± 0.32	4129 ± 138.8	1521 ± 38.33	1.35 ± 0.05
Есть	14	28.5 ± 0.5	4157 ± 235.9	1539 ± 112.64	1.24 ± 0.1

(„зрелыми”) церкариями *Echinoparyphium aconiatum* Dietz. Сведения о материале исследования приведены в табл. 1.

Токсикологические опыты поставлены по методике Алексеева (1981). Ориентировочным опытом определены значения основных токсикологических показателей: МПК = 10, ЛК₅₀ = 100, ЛК₁₀₀ = 1000 мг/л. В основном опыте использованы концентрации 20, 50 и 80 мг/л. Растворы токсиканта приготавливали на водопроводной воде (рН 7.2–7.5, температура 19–21°, содержание кислорода 8.6–8.9 мг/л), дехлорированной отстаиванием (1 сут). Продолжительность опыта 2 сут. Через 1 сут среду обновляли. Все опыты сопровождалось контролем, в качестве которого использовались особи, содержащиеся в отстоянной водопроводной воде.

Гемолимфу получали путем прямого обескровливания моллюсков. Уровень содержания в ней гемоглобина устанавливали солянокисло-гематиновым методом (по Сали). При этом, однако, использовали в 3 раза меньшее разведение ее соляной кислотой, что учитывали при вычислении окончательного результата. Активную реакцию гемолимфы определяли с помощью универсальной индикаторной бумаги „Рифан”.

Цифровые результаты исследований обработаны методами вариационной статистики 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 первым из них отнесена активная реакция гемолимфы, ко вторым – концентрация в ней гемоглобина.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что дихромат калия по силе его воздействия на катушек является умеренно-токсичным веществом. Однако при концентрации 100 мг/л в среде вследствие острого отравления летальный исход к концу 2-х суток экспозиции наблюдается у 50 % подопытных особей, а при 1000 мг/л – у 100 %.

В ходе развития патологического процесса, вызванного отравлением, у катушек наблюдаются быстрые поведенческие (защитно-приспособительные) и физиологические реакции (как защитные, так и патологические). Часть животных развивает высокую двигательную активность, стремясь покинуть затравленную среду (реакция избегания). У остальных резко возрастает выделение кожными железами слизи, обволакивающей тело. Мощный слой ее ограничивает контакт последнего с токсикантом, ухудшая при этом, однако, газообмен через покровы тела. Вскоре слизь в виде хлопьев различного размера местами отпадает, оголяя эпителий, который на этих участках разрушается, образуются изъязвления. Подобные нарушения прежде всего охватывают покровы тела, а затем и эпителий, выстилающий легкое. Нарушение водного баланса сопровождается развитием разлитых отеков головы и ноги, которые утрачивают способность втягиваться в раковину (реакция выпадения).

Таблица 2

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

Table 2. An influence of the trematode infection and different concentrations of potassium dichromate on the haemoglobin contents in haemolymph and providing with it the body of *Planorbarius corneus*

Инвазия	Содержание гемоглобина, г%	Обеспеченность гемоглобином общей массы тела, г/кг	Обеспеченность гемоглобином мягкого тела, г/кг
Контроль			
Нет	1.28 ± 0.07	5.61 ± 0.45	15.31 ± 1.13
Есть	1.29 ± 0.25	4.28 ± 0.83	11.58 ± 2.57
20 мг/л			
Нет	1.7 ± 0.09	3.42 ± 0.23	13.78 ± 0.84
Есть	1.44 ± 0.16	2.56 ± 0.24	10.2 ± 1.17
50 мг/л			
Нет	1.45 ± 0.08	3.67 ± 0.2	9.81 ± 0.58
Есть	1.04 ± 0.06	2.86 ± 0.32	8.18 ± 1.11
80 мг/л			
Нет	1.30 ± 0.11	3.1 ± 0.21	8.7 ± 0.61
Есть	1.17 ± 0.12	2.86 ± 0.46	8 ± 1.05

Таблица 3

Влияние трематодной инвазии и различных концентраций дихромата калия на активную реакцию (рН) гемолимфы катушки роговой

Table 3. An influence of trematode infection and different concentrations of potassium dichromate on the active reaction (pH) of haemolymph of *Planorbarius corneus*

Инвазия	Концентрация токсиканта, мг/л			
	0	20	50	80
Нет	6.1 ± 1.15	7.2 ± 0.16	8.03 ± 0.16	8.04 ± 0.17
Есть	5.9 ± 0.32	6.8 ± 0.26	7.9 ± 0.26	7.1 ± 0.31

Содержание гемоглобина в плазме гемолимфы роговых катушек тетерева (контрольная группа) укладывается в нормы, характерные для этого вида (табл. 2). Средние значения почти одинаковы для свободных от заражения и инвазированных особей. Примерно одинаков у них и абсолютный объем гемолимфы (табл. 1). Активная реакция (табл. 3) ее оказалась слабощелочной (6.1 ± 0.15) при амплитуде колебания от кислой (рН 4) до щелочной (рН 8). В контрольной группе животных статистически достоверных различий между зараженными и незараженными катушками не выявлено и по другим показателям, характеризующим их реактивность (обеспеченность гемоглобином общей массы и массы мягкого тела). Это указывает на сбалансированность отношений в исследованных нами биологических системах „хозяин–паразит”.

При 20 мг/л дихромата калия в среде у большинства (84 %) подопытных животных наблюдается подщелачивание гемолимфы, которая из слабощелочной становится близкой к нейтральной (P > 94.5 %). Объем гемолимфы и концентрация в ней гемоглобина остаются на прежнем уровне, но из-за обводнения мягкого тела возрастает его масса. Это приводит к уменьшению обеспеченности гемоглобином тотальной массы катушек, свободных от инвазии, на 39 (P > 99.9 %), а зараженных – на 40 (P = 94.5 %) (табл. 2). Все вышеуказанные сдвиги, как видим, проявляются в одинаковой мере в обеих группах подопытных животных. Это свидетельствует о том, что как незараженные, так и инвазированные трематодами особи оказывают противодействие токсическому фактору путем повышения интенсивности общего обмена. На защитно-приспособительную активацию аэробного расщепления энергетических субстратов указывает и снижение обеспеченности гемоглобином массы тела катушек, обусловленное сдвигом влево в биохимической системе оксигемоглобин–гемоглобин. Следовательно, дихромат калия в дозе 20 мг/л вызывает у катушек начальную фазу¹ процесса отравления – стимуляцию. У 4.5 % особей, однако, развивается острое отравление, при котором депрессивная, сублетальная и летальная фазы патологического процесса осуществляются за короткий промежуток времени – от 2 до 48 ч (табл. 4). Это в основном тяжело инвазированные особи.

В растворе, содержащем 50 мг/л дихромата калия, прогрессирует подщелачивание гемолимфы. Изменения активной реакции высокой степени достоверности (P > 99.9 %) отмечены как у незараженных, так и у инвазированных трематодами

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

Таблица 4

Влияние трематодной инвазии и различных концентраций дихромата калия на смертность (%) катушки роговой

Table 4. An influence of trematode infection and different concentrations of potassium dichromate on the mortality (%) of *Planorbarius corneus*

Инвазия	Концентрация токсиканта, мг/л			
	0	20	50	80
Нет	0	4.5	10	10.9
Есть	0	0	6	3.6

особей, что указывает на разбалансировку их буферных систем (в первую очередь белковой). При отсутствии инвазии содержание гемоглобина в гемолимфе остается на прежнем уровне, а при ее наличии – понижается на 27.8 % ($P = 95.3$ %). Это означает, что незараженные катушки еще в состоянии противостоять действию токсического фактора при прежней интенсивности общего метаболизма, в то время как инвазированные особи для поддержания жизнеспособности вынуждены примерно на 1/4 повышать его интенсивность. Обеспеченность гемоглобином общей массы тела при 50 мг/л дихромата калия в среде не изменяется, но обеспеченность им мягкого тела значительно понижается – на 29 у незараженных ($P > 99.9$ %) и на 19.8 % – у зараженных катушек ($P > 99.9$ %). Это первые признаки развития депрессивной фазы отравления. У 16 % животных при этой концентрации токсиканта патологический процесс начинается с фазы депрессии, за которой быстро следуют одна за другой сублетальная и летальная фазы. Гибель животных при этом происходит очень быстро – от 1 до 24 ч.

В среде, содержащей 80 мг/л дихромата калия, у незараженных моллюсков буферные системы гемолимфы обеспечивают поддержание ее активной реакции на том же уровне, что и при 50 мг/л токсиканта. У зараженных особей уровень подщелачивания ее понижается на 10 % ($P = 91.9$ %). Начинаясь подкисление гемолимфы обусловлено, как нам кажется, тем, что при 80 мг/л дихромата калия у катушек, вероятно, срабатывает обычный для них механизм биохимической защиты (Биргер, Маляревская, 1977): происходит частичный переход их с аэробного дыхания на гликолитический путь. В результате образуются продукты кислой природы, поступающие в гемолимфу, а буферная емкость ее не возрастает параллельно увеличению количества недоокисленных продуктов. В пользу этого предположения говорит и тот факт, что содержание гемоглобина в гемолимфе и обеспеченность им общей массы и массы мягкого тела при этой концентрации токсиканта не изменяются. Клиническая картина отравления моллюсков соответствует сублетальной фазе отравления. У них отчетливо выражены такие симптомы, как утрата тактильной чувствительности и двигательной активности, а также реакция выпадения. Кроме того, наблюдается значительная отечность головы и ноги как результат интенсивного обводнения тканей. За счет задерживания воды в организме масса мягкого тела катушек возрастает по сравнению с контролем при 80 мг/л дихромата калия в среде в 1.2–1.8 раза. Интенсивно инвазированные трематодами животные и ослабленные различными неблагоприятными воздействиями незараженные особи не выдерживают такой токсичности среды и погибают на фоне развития у них истинного шока.

Список литературы

- Алексеев В. А. Основные принципы сравнительно-токсикологического эксперимента // Гидробиол. журн. 1981. Т. 17, № 3. С. 92–100.
- 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.
- Метелев В. В., Канаев А. И., Дзасохова Н. Г. Водная токсикология. М.: Колос, 1971. 247 с.

Житомирский пединститут

Поступила 6.05.1996

AN INFLUENCE OF POTASSIUM DICHROMATE ON PHYSICAL AND CHEMICAL CHARACTERISTICS OF THE HAEMOLYMPH OF ORB SNAILS (MOLLUSCA: BULINIDAE: PLANORBARIUS) INFECTED WITH TREMATODES (TREMATODA: ECHINOSTOMATIDAE)

A. P. Stadnichenko, L. D. Ivanenko, A. A. Abert, T. B. Demchuk,
O. N. Fedorchuk, A. A. Sherstobaev, I. A. Shinkarenko

Key words: *Planorbarius corneus*, trematode infection, *Echinoparyphium aconiatum*, potassium dichromate, intoxication, physics-chemical characteristics, haemolymph.

SUMMARY

An influence of trematode infection and different concentrations of potassium bichromic (20, 50, 80 mg/l) on physical and chemical characteristics of the orb snail haemolymph was studied. Low and moderate rates of infection does not show reliable differences in haemolymph characteristics. In case of hard infection the haemolymph becomes acid, and contents of haemoglobin increases.

In infected orb snails the intoxication processus is clear displayed and a letal result is observed more often than in non infected orb snails.