

УДК 594.3 : 591.9

**ВЛИЯНИЕ ТРЕМАТОДНОЙ ИНВАЗИИ И СУЛЬФАТА ХРОМА
НА СОДЕРЖАНИЕ ОБЩЕГО БЕЛКА В ГЕМОЛИМФЕ
VIVIPARUS VIVIPARUS (MOLLUSCA: GASTROPODA: PECTINIBRANCHIA)**

А. П. Стадниченко, Г. Е. Киричук

Исследовано влияние трематодной инвазии (*Echinoparyphium* sp.) и различных концентраций сульфата хрома (0.01, 1, 100 мг/л) на содержание общего белка в гемолимфе *Viviparus viviparus*. В норме содержание его составляет 0.7—1.22 %. С возрастом животных концентрация его на 20—80 % выше, чем у моллюсков младших возрастных групп. Половые различия по этому показателю состоят в его большем значении у самок и проявляются, начиная только с 4-летнего возраста. У беременных самок общего белка в гемолимфе в 1.5 раза больше, чем у латентных.

При невысокой интенсивности трематодной инвазии уровень содержания общего белка в гемолимфе остается на уровне нормы, а при тяжелой степени инвазии — резко понижается (в 100 раз и больше).

При 0.01—1 мг/л сульфата хрома концентрация белка в гемолимфе *V. viviparus* падает, а при 100 мг/л — резко возрастает (в сравнении с нормой). Инвазия усугубляет эти процессы.

В последние десятилетия резко возросло загрязнение малых рек Украины ионами тяжелых металлов. На Житомирщине к числу наиболее загрязненных ими рек относится Гнилопять — правый приток р. Тетерев (длина 99 км, площадь бассейна 1312 км²). Одним из основных источников загрязнения этого водотока является Бердичевское кожнобьеимение им. Ильича, сбрасывающее в реку ежегодно 6533.8 тыс. м³ недостаточно очищенных стоков. Среди компонентов сточных вод ведущее место занимает сульфат хрома. Уровень загрязнения им Гнилопяти настолько высок, что по содержанию ионов хрома составляет, по данным государственного управления охраны природной среды (04.09.1991 г.), 10.45 мг/л. Это в 105 раз превышает значение ПДК (санитарно-гигиеническая норма 0.1 мг/л). Ниже места сброса (у с. Слободище) уровень содержания хрома в речной воде составляет 0.95 мг/л, что в 10 раз больше ПДК. И даже выше места сброса (на 250 м) концентрация хрома в речной воде почти в 2 раза выше значения ПДК — 0.19 мг/л. Не случайно, что именно Гнилопять содержит около 1/3 «хромовых» загрязнений Украины. Неудивительно также, что в ней от Бердичева и до устья мало что сохранилось из биоты.

Учитывая то, что в настоящее время отсутствуют сведения об особенностях влияния сульфата хрома на пресноводных брюхоногих моллюсков, мы попытались выяснить, какое воздействие на состояние гомеостаза этих животных в норме и при инвазии их трематодами оказывают различные концентрации сернокислого хрома (в пределах значений, установленных для Гнилопяти). О состоянии гомеостаза мы судили по содержанию во внутренней среде моллюсков (их гемолимфе) общего белка.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

Материал: 389 экз. живородки речной *Viviparus viviparus* (Linne, 1758) 3—4-летнего возраста, собранных в сентябре 1992 г. в р. Тетерев в черте Житомира (Украина). Моллюсков транспортировали в полиэтиленовых пакетах (без воды). В лаборатории

после кратковременной акклимации (24 ч) к новым условиям (содержание в дехлорированной отстаиваемой (1 сут) водопроводной воде при температуре 18° и pH 7.2—7.5) живородок использовали в токсикологических опытах.

Ориентировочным опытом, поставленным по методике Алексева (1981), установлены значения основных токсикологических показателей для живородки речной, пребывающей в среде, затравленной сульфатом хрома: МПК = 0.01 и ЛК = 1000 мг/л. Значение ЛК₅₀ = 500.005 мг/л (установлено графически). В пределах значений МПК и ЛК нами были подобраны 3 концентрации, которые использовались в основных опытах.

Животных сериями по 15—20 экз. помещали на 2 сут в сосуды с растворами сульфата хрома (0.01, 1 и 1000 мг/л), приготовленными на дехлорированной водопроводной воде. Через сутки токсическую среду обновляли. По завершении экспозиции живородок извлекали из токсической среды и подвергали полному обескровливанию. Полученную таким путем гемолимфу исследовали на рефрактометре РПЛ-3 для определения уровня содержания в ней общего белка. Для перевода значений коэффициента светопреломления в проценты содержания белка использовали таблицу Рейса. Цифровые материалы этого и прочих опытов обработаны методами вариационной статистики по Лакину (1973).

Для определения коэффициента устойчивости к токсиканту животных содержали в токсической среде до полной их гибели, ежедневно заменяя отработанные растворы свежими. Числовое значение коэффициента устанавливали по методике Китаева и Калиниченко (1974) по формуле

$$КУ = E_k / E_{II},$$

где E_k — время за которое в токсической среде происходит 100 %-ная гибель подопытных животных, а E_{II} — время, за которое регистрируется гибель первой особи. Высоту раковины живородок определяли с помощью штангенциркуля (табл. 1), возраст — по количеству темных концентрических колец на ее крышечке, пол — анатомированием, наличие или отсутствие инвазии — микроскопированием (МУ) временных препаратов, изготовленных из гепатопанкреаса моллюсков.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

Коэффициенты устойчивости (КУ) живородки относительно всех использованных нами в опытах концентраций сульфата хрома составляют: 0.01 мг/л токсиканта — 12, 1 мг/л — 15, 100 мг/л — 28. Следовательно, к воздействию всех примененных к ним концентраций токсиканта эти моллюски являются высокочувствительными.

Симптомокомплекс отравления живородок сульфатом хрома включает одномоментное выделение обильных экскрементов (вплоть до пустых перитрофических мембран), свидетельствующее об усиленной перистальтике кишечника, и обволакивание тела слоем слизи вследствие возрастания секреции железистых клеток кожного эпителия. Кроме того, весьма обычным является абортывание эмбрионов из «матки» самок. Из быстрых поведенческих реакций защитно-приспособительного характера отмечена одна, а именно: у животных, помещенных в токсическую среду, немедленно происходит плотное замыкание устья раковины крышечкой, что в значительной мере преграждает доступ к мягкому телу животных сульфата хрома или по крайней мере в той или иной степени замедляет его.

Вредное действие хрома на животных, в том числе и на моллюсков, как и соединений других тяжелых металлов, связано с тем, что, попадая в организм, ионы их образуют прочные комплексы с белками — ферментами, гормонами и другими жизненно важными соединениями, утрачивающими присущие им свойства и неспособными в связи с этим выполнять свои функции.

У моллюсков обследованной нами популяции содержание в гемолимфе общего белка в норме оказалось невысоким. Уровень его содержания составляет 0.7 ± 0.11 —

Таблица 1
 Высота раковин (мм) живородок речных, использованных
 в токсикологических опытах
 Table 1. The height of shell (mm) in the mollusc *Viviparus viviparus*,
 involved into toxicological experiments

Пол	Инвазия	n	Статистические показатели			
			lim	$\bar{x} \pm m_x$	σ	V
Контроль						
Самки	Нет	24	18.4—30.9	23.9 ± 0.6	3.14	13.14
	Есть	16	17—30.9	23.8 ± 0.9	3.66	15.36
Самцы	Нет	29	16.3—27.4	23.6 ± 0.7	3.7	15.68
	Есть	37	17.3—27.5	21.7 ± 0.4	2.33	10.76
0.01 мг/л						
Самки	Нет	16	16.5—30.2	20.5 ± 0.9	3.56	17.37
	Есть	28	15.3—25	20.8 ± 0.5	2.42	11.66
Самцы	Нет	23	13.7—29	18.4 ± 0.9	4.53	24.58
	Есть	35	16.9—27	21.1 ± 0.5	3.09	14.69
1 мг/л						
Самки	Нет	22	15.9—27	22.8 ± 0.6	2.91	12.78
	Есть	35	17.0—27	21.6 ± 0.5	3.25	15.06
Самцы	Нет	17	13.8—28	20.9 ± 0.9	3.95	18.89
	Есть	30	13—25	20 ± 0.6	3.07	15.33
100 мг/л						
Самки	Нет	21	13—29.5	21.6 ± 0.9	4.25	19.7
	Есть	20	17.5—28.2	22.9 ± 0.7	3	13.11
Самцы	Нет	22	17—28	21.5 ± 0.4	1.7	7.93
	Есть	37	16.3—26.8	21.3 ± 0.5	2.76	12.95

1.22 ± 0.29 % при размахе колебания значений этого показателя от 0.2 до 3.5 %. При этом обнаружены возрастные различия в концентрации общего белка в гемолимфе животных, проявляющиеся в повышении последней у особей старших возрастных групп (табл. 2). Так, у 4-летних самок уровень содержания общего белка в гемолимфе в 1.75 раза выше, чем у 3-летних, а у самцов — в 1.15 раза.

Половые различия обсуждаемого показателя установлены только у 4-летних особей (табл. 2). Они состоят в повышенном содержании общего белка в гемолимфе самок по сравнению с одновозрастными с ними самцами. Возрастные и половые различия по этому показателю наблюдаются и у особей других популяций (Гуминский, 1988; Бондарь и др., 1991). Установлено, что статистически достоверные различия уровня содержания общего белка наблюдаются у латентных и «беременных» самок (табл. 3). Концентрация общего белка во внутренней среде первых из них в 1.5 раза ниже, чем у вторых. Следует отметить, что у всех «беременных» живородок эмбрионы, сосредоточенные в «матке» (дистальная часть яйцевода), обладали уже сформированными конхиолиново-известковыми раковинами. Интересно, что в обычные по температурным условиям годы процесс размножения этих животных, завершающийся выметыванием сеголетков, заканчивается на Житомирском Полесье обычно во 2—3-й декадах июля, и у самок, мигрирующих осенью на зимовку, эмбрионы в «матке» не обнаруживаются. Различия в уровне содержания общего белка в гемолимфе латентных и «беременных» самок, очевидно, обусловлены интенсивной утилизацией в процессе формирования эмбрионов. Белки гемолимфы являются важнейшим источником аминокислот для синтеза белков эмбрионов. Кроме того, не исключено,

Таблица 2

Влияние различных концентраций сульфата хрома и трематодной инвазии на содержание общего белка (%) в гемолимфе живородки речной в зависимости от пола и возраста особей

Table 2. The effect of different concentrations of chromium sulphate and trematode infection onto content of the crude protein (%) in the haemolymph of *Viviparus viviparus* in dependence upon sex and age of individuals

Пол	Инвазия	n	Возраст	Статистические показатели			
				lim	$\bar{x} \pm m_x$	σ	V
Контроль							
Самки	Нет	9	3	0.35—1.08	0.7 ± 0.11	0.33	47.49
	Есть	11	3	0.24—2.92	0.41 ± 0.06	0.21	53
	Нет	12	4	0.35—3.5	1.22 ± 0.29	1	82.08
	Есть	8	4	0.22—1.3	0.75 ± 0.16	0.46	61.91
Самцы	Нет	14	3	0.2—1.74	0.72 ± 0.15	0.56	77.73
	Есть	21	3	0.12—2.4	0.73 ± 0.14	0.66	90.99
	Нет	7	4	0.2—2.18	0.82 ± 0.22	0.67	81.36
	Есть	12	4	0.2—1.3	0.54 ± 0.1	0.37	63.9
0.01 мг/л							
Самки	Нет	7	3	0.35—3.06	1.03 ± 0.36	0.94	91.27
	Есть	8	3	0.2—0.86	0.55 ± 0.1	0.28	51.19
	Нет	9	4	0.35—1.74	0.67 ± 0.15	0.46	68.37
	Есть	15	4	0.2—2.18	0.64 ± 0.13	0.49	75.7
Самцы	Нет	10	3	0.35—1.08	0.75 ± 0.11	0.35	46.72
	Есть	5	3	0.28—1.08	0.65 ± 0.18	0.41	62.03
	Нет	13	4	0.28—1.74	0.74 ± 0.14	0.52	70.43
	Есть	16	4	0.16—1.08	0.66 ± 0.08	0.35	53.14
1 мг/л							
Самки	Нет	17	3	0.13—1.08	0.38 ± 0.1	0.34	88.61
	Есть	10	3	0.08—1.49	0.3 ± 0.09	0.28	94.3
	Нет	9	4	0.24—1.68	0.35 ± 0.06	0.19	54.09
	Есть	18	4	0.11—1.96	0.49 ± 0.1	0.42	87.19
Самцы	Нет	7	3	0.09—2.18	0.47 ± 0.12	0.32	67.91
	Есть	16	3	0.11—0.95	0.3 ± 0.06	0.2	65.92
	Нет	9	4	0.14—1.87	0.49 ± 0.12	0.35	71.04
	Есть	16	4	0.09—0.86	0.32 ± 0.06	0.24	75.15
100 мг/л							
Самки	Нет	10	3	0.08—1.74	0.56 ± 0.17	0.55	98.76
	Есть	11	3	0.11—1.56	0.58 ± 0.12	0.37	63.52
	Нет	12	4	0.13—3	0.86 ± 0.12	0.42	48.88
	Есть	16	4	0.12—2.36	0.69 ± 0.09	0.35	51.12
Самцы	Нет	12	3	0.13—3	1.09 ± 0.26	0.91	83.17
	Есть	14	3	0.1—2.95	1.03 ± 0.15	0.56	54.11
	Нет	18	4	0.15—2.94	1.24 ± 0.25	0.94	76.03
	Есть	16	4	0.11—2.56	0.68 ± 0.11	0.42	61.43

что с прекращением интенсивного функционирования гонад и с завершением формирования сеголетков уровень общего обмена у самок понижается. А это значит, что в их гемолимфе уменьшается содержание белков, как выполняющих ферментативную функцию, так и тех, которые являются важнейшими переносчиками компонентов углеводного, жирового и минерального обмена.

Таблица 3

Влияние различных концентраций сульфата хрома и трематодной инвазии на содержание общего белка (%) в гемолимфе живородки речной

Table 3. The effect of different concentrations of chromium sulphate and trematode infection onto content of the crude protein (%) in the haemolymph of *Viviparus viviparus* females

Наличие эмбрионов	Инвазия	n	Статистические показатели			
			lim	$\bar{x} \pm m_x$	σ	V
Контроль						
Нет	Нет	4	0.55—2.18	1.36 ± 0.37	0.74	54.41
	Есть	8	0.28—1.3	0.73 ± 0.16	0.39	53.64
Есть	Нет	20	0.35—3.5	0.88 ± 0.18	0.85	96.12
	Есть	16	0.22—3.06	0.9 ± 0.14	0.58	64.14
0.01 мг/л						
Нет	Нет	9	0.35—3.06	1.05 ± 0.33	0.93	88.26
	Есть	13	0.28—2.18	0.68 ± 0.15	0.53	78.65
Есть	Нет	8	0.35—0.08	0.6 ± 0.11	0.31	50.82
	Есть	15	0.28—0.86	0.52 ± 0.06	0.21	41.19
1 мг/л						
Нет	Нет	9	0.13—1.08	0.51 ± 0.12	0.36	70.67
	Есть	19	0.08—1.96	0.54 ± 0.1	0.43	80.1
Есть	Нет	13	0.08—1.08	0.47 ± 0.06	0.21	88.67
	Есть	14	0.09—0.63	0.29 ± 0.06	0.22	75.86
100 мг/л						
Нет	Нет	3	0.15—1.92	0.6 ± 0.12	0.35	59.3
	Есть	8	0.12—3.06	0.81 ± 0.17	0.49	61.4
Есть	Нет	16	0.09—2.48	0.59 ± 0.11	0.41	70.33
	Есть	12	0.1—2.04	0.41 ± 0.08	0.27	66.42

Обследованные нами животные были инвазированы партенитами эхиностоматидных трематод *Echinoparyphium* sp. Редии, содержащие зародышевые шары и церкарий на различных стадиях формирования, локализовались в гепатопанкреасе моллюсков. Интенсивность инвазии варьировала крайне широко, а экстенсивность ее была весьма высокой (40—64 %).

У моллюсков, инвазированных трематодами, уровень содержания общего белка в их гемолимфе либо остается на уровне нормы (при невысокой интенсивности инвазии и слабом повреждении гепатопанкреаса), либо понижается (при средней или высокой интенсивности инвазии и значительном крупноочаговом или тотальном поражении гепатопанкреаса (табл. 2). Например, у слабо инвазированных партенитами трематод 3-летних самцов концентрация общего белка в их внутренней среде остается на уровне нормы, в то время как у интенсивно зараженных 4-летних она снижается в 105 раз. Падение уровня содержания общего белка в гемолимфе при тяжелой инвазии моллюсков трематодами наблюдалось у других видов моллюсков и ранее (Christie, Michelson, 1975, и др.). Это обусловлено прежде всего разрушением гепатопанкреаса и вследствие этого снижением его белковообразовательной функции. Кроме того, при высокой интенсивности инвазии паразитарное поражение хозяев сопровождается развитием у них общего патологического процесса, выражающегося в понижении защитно-приспособительных возможностей и уровня общего обмена. Одним из частных проявлений этого является падение уровня белкового обмена и снижение концентрации общего белка в гемолимфе животных. Наконец, определенную роль в этом играет и потребление паразитами белков хозяина.

В слабом растворе сульфата хрома, содержащем всего лишь 0.0015 мг/л ионов хрома, что в 66.7 раза меньше значения санитарно-гигиенического ПДК, у свободных от инвазии 3-летних самок отмечено статистически достоверное повышение уровня содержания общего белка (на 47 %). Следовательно, для особей этой возрастной группы столь ничтожное содержание в среде сульфата хрома не является безразличным. При этой дозе токсиканта у живородок упомянутой категории развивается начальный этап патологического процесса, на котором организм моллюска противостоит вредному воздействию благодаря повышению интенсивности общего обмена (по Веселову, 1968, — фаза стимуляции). У самок старшей возрастной группы при этих же условиях среды регистрируется следующая фаза отравления — депрессия. Об этом свидетельствует резкое понижение концентрации общего белка в их внутренней среде (на 55 %), что указывает на снижение интенсивности их общего обмена. Для самцов же, как оказалось, эта концентрация токсиканта является безразличной.

В среде, содержащей 1 мл/л сульфата хрома (0.15 мг/л в пересчете на ионы хрома), что всего лишь на 0.05 мг/л превышает значение ПДК, у всех подопытных животных (как зараженных, так и незараженных) происходит прогрессирующее понижение уровня содержания общего белка в гемолимфе, что соответствует фазе депрессии.

При 100 мг/л токсиканта (15 мг/л в пересчете на ионы хрома) у моллюсков наблюдается статистически достоверное повышение уровня содержания общего белка в их внутренней среде. В этом случае, безусловно, речь не может идти о стимуляции белковообразовательной функции у исследованных животных. Очевидно, при такой высокой концентрации токсиканта (превышение ПДК в 150 раз) физиологический статус животных соответствует сублетальной фазе отравления. Об этом свидетельствует и высокая смертность этих животных в затравленной среде (58 % через 2 сут экспозиции). Возрастание концентрации общего белка в их гемолимфе, как нам представляется, связано с тяжелыми предсмертными нарушениями процессов жизне-

Таблица 4
Влияние различных концентраций сульфата хрома и трематодной инвазии на содержание общего белка (%) в гемолимфе живородок речных на летальной стадии отравления

Table 4. The effect of different concentrations of chromium sulphate and trematode infection onto content of the crude protein (%) in the haemolymph of *Viviparus viviparus* at the lethal stage of poisoning

Пол	Инвазия	n	Статистические показатели			
			lim	$x \pm m_x$	σ	V
0.01 мг/л						
Самки	Нет	7	0.35—3.06	0.85 ± 0.17	0.45	52.94
	Есть	10	0.2—2.18	0.75 ± 0.18	0.57	76.41
Самцы	Нет	17	0.21—1.74	0.73 ± 0.16	0.44	66.89
	Есть	10	0.35—1.08	0.95 ± 0.09	0.27	28.45
1 мг/л						
Самки	Нет	11	0.13—1.08	0.49 ± 0.12	0.4	80.13
	Есть	19	0.08—1.96	0.51 ± 0.09	0.39	76.92
Самцы	Нет	8	0.11—1.74	0.51 ± 0.08	0.23	44.37
	Есть	12	0.09—0.66	0.4 ± 0.09	0.3	76.28
100 мг/л						
Самки	Нет	14	0.13—3.06	0.83 ± 0.17	0.64	77.11
	Есть	7	0.11—1.96	0.52 ± 0.12	0.32	61.54
Самцы	Нет	10	0.13—3.28	1.89 ± 0.36	1.14	60.22
	Есть	21	0.08—3.72	0.81 ± 0.14	0.64	79.01

деятельности моллюсков, в том числе — с распадом тканевых белков. Их «осколки» — полипептиды, аминокислоты, скорее всего, и являются тем материалом, за счет которого происходит повышение уровня содержания общего белка в гемолимфе. В пользу этого предположения говорит и тот факт, что у животных на летальной стадии отравления также наблюдается возрастание концентрации общего белка (табл. 4).

Список литературы

- Алексеев В. А. Основные принципы сравнительно токсикологического эксперимента // Гидробиол. журн. 1981. Т. 17. № 3. С. 92—100.
- Бондарь Л. А., Стадниченко А. П., Гуминский О. В. Влияние СМС «Пальмира» и трематодной инвазии на содержание общего белка в гемолимфе живородки речной и прудовика озерного / Деп. в УкрНИИНТИ 02.04.91. № 423, Ук91. 6 с.
- Веселов Е. А. Основные фазы действия токсических веществ на организмы // Тез докл. Всесоюз. науч. конф. по вопрос. водн. токсикологии. М.: Наука, 1968. С. 15—16.
- Гуминский О. В. Влияние трематодной инвазии на динамику химического состава гемолимфы пресноводных моллюсков в норме и при фенольной интоксикации: Автореф. ... канд. дис. М., 1988. 21 с.
- Китаев С. П., Калиниченко Л. Г. Устойчивость и чувствительность гидробионтов к действию промышленных сточных вод сульфат-целлюлозного завода // Матер. VII медико-биол. конф. Петрозаводск: Изд-во Петрозавод. ун-та, 1974. С. 257—260.
- Лакин Г. Ф. Биометрия. М.: Высш. шк., 1973. 343 с.
- Christie J. D., Michelson E. H. Transaminase levels in the digestive gland — gonad of *Schistosoma mansoni* infected *Biomphalaria glabrata* // Compar. Biochem. and Physiol. 1975. Vol. 50, N 2. P. 233—236.

Житомирский педуниверситет

Поступила 3.01.02

THE EFFECT OF TREMATODE INVASION AND CHROMIUM SULPHATE ON THE CRUDE PROTEIN CONTENT IN THE HAEMOLYMPH OF *VIVIPARUS VIVIPARUS* (MOLLUSCA: GASTROPODA: PECTINIBRANCHIA)

A. P. Stadnichenko, G. Ye. Kirichuk

Key words: *Viviparus viviparus*, haemolymph, crude protein, trematode infection, chromium sulphate.

SUMMARY

The combined effect of the trematode infection (*Echinoparyphium* sp.) and various concentrations of chromium sulphate (0.01, 1, 100 mg/l) onto the crude protein content in the haemolymph of the mollusc *Viviparus viviparus* was investigated. The normal contents of the crude protein is 0.7—1.22 %. In adult specimens its concentration is 20—80 % higher than in molluscs of junior age group. Sex difference by this index, which is higher in females, begins to manifest in four year old individuals only. The contents of crude protein in the haemolymph of pregnant females is 1.5 times higher than in latent ones.

Under the low intensity of the trematode infection, the contents of crude protein in the haemolymph remains normal, while in the case of heavy infection, it decrease 100 times or lower.

In the cases of 0.01—1 mg/l concentrations of chromium sulphate, the content of protein in the haemolymph of *V. viviparus* decreases, while in the case of 100 mg/l it increases abruptly, in comparison to the norm. The trematode infection intensifies these processes.