

Житомирський державний університет

**ПОРУШЕННЯ ГЕМАТОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ PLANORBARIUS
PURPURA (MOLLUSCA: GASTROPODA: BULINIDAE) ЗА ДІЇ НА НЬОГО
ЙОНІВ КОБАЛЬТУ ВОДНОГО СЕРЕДОВИЩА**

*Досліджено вплив різних концентрацій (LC_{25} , LC_{50} , LC_{75}) йонів кобальту на 5 гематологічних показників *Planorbarius purpura* у нормі і за слабкої інвазії його трематодами. З'ясовано, що у всіх тварин, які вижили у розчинах токсикантів, спостерігається збереження вмісту гемоглобіну у гемолімфі і забезпеченості ним одиниці загальної і м'якої маси їх тіла.*

Постановка проблеми

За останні два десятиліття найпоширенішими забруднювачами водного середовища стали йони важких металів. У природні водойми вони надходять

зі стічними водами металургійних, металообробних і хімічних заводів, також із шахтними і рудничними водами, а з ґрунтів – при розкладанні організмів. У числі цих полютантів є чимало біологічно активних елементів – мікроелементів, які необхідні для нормальної життєдіяльності організму. Одним із них для прісноводних легеневи́х молюсків є кобальт. Метаболічна роль його пов'язана з участю цього реагента у процесі перенесення кисню гемоглобіном. Крім того, він активує іонізацію і резорбцію заліза; сприяє синтезу білків, асиміляції азоту; впливає на обмін і біологічну дію кальцію і фосфору; активує кишкові фосфатази, карбоксилази, аргінази, каталази і деякі пептидази [6]. У надмірних концентраціях, однак, кобальт, як і більшість іонів важких металів, є для водяних тварин токсичним, що складає досить велику проблему для існування цих гідробіонтів. Тому вміст його у водоймах регламентується: граничнодопустима концентрація (ГДК) (рибогосподарська) його становить 0,01 мг/дм³ [3]. При залпових скидах промислових стоків, шахтових і рудничних вод у водотоки концентрація кобальту в них нерідко перевищує значення ГДК на декілька порядків. Тому виникає нагальна потреба з'ясувати, як за таких обставин змінюються гематологічні показники у гідробіонтів.

Завдання дослідження – дослідити вплив різних концентрацій іонів кобальту на основні фізико-хімічні властивості гемолімфи *Planorbarius purpura*.

Об'єкт дослідження – прісноводний легеневий молюск *Planorbarius purpura*.

Матеріал і методика досліджень. Досліджено 115 екз. однорозмірної витушки пурпурної *Planorbarius purpura* (Linné, 1758), зібраних одночасно у р. Тетерів (Житомир) у серпні 2002 року. Загальні відомості про опрацьований матеріал наведено у таблиці 1.

Насамперед, задля визначення основних токсикологічних показників, було поставлено орієнтаційний токсикологічний дослід за модифікованою нами методикою В. А. Алексеєва [1]. Отримано такі їх значення: $LC_0 = 100$, $LC_{25} = 250$, $LC_{50} = 500$, $LC_{75} = 750$, $LC_{100} = 1000$ мг/дм³. Надалі концентрації LC_{25} , LC_{50} , та LC_{100} було використано в основному досліді. Їх обчислено за йоном кобальту.

Таблиця 1. Загальні відомості про матеріали дослідження

Концентрація Co^{2+} , мг/дм ³	Інвазія	n	Тотальна маса тіла, г ($\bar{x} \pm m_x$)	Маса м'якого тіла, г ($\bar{x} \pm m_x$)	Маса черепашки, г ($\bar{x} \pm m_x$)	Довжина черепашки, см ($\bar{x} \pm m_x$)
Контроль	Немає	26	3,45±0,15	1,13±0,06	0,90±0,06	2,64±0,04
	Є	8	3,03±0,17	0,92±0,08	0,75±0,03	2,49±0,08
LC_{25} , 250	Немає	21	3,03±0,21	1,09±0,08	0,94±0,08	2,58±0,07
	Є	8	3,44±0,26	1,14±0,10	0,95±0,09	2,64±0,11
LC_{50} , 500	Немає	18	2,93±0,16	1,04±0,07	0,93±0,06	2,89±0,14
	Є	9	3,40±0,27	1,01±0,08	1,04±0,12	2,91±0,23
LC_{75} , 750	Немає	17	3,43±0,21	1,02±0,06	1,09±0,08	2,69±0,07
	Є	8	3,58±0,34	1,06±0,13	0,98±0,11	2,75±0,11

Розчини хлориду кобальта готували на дехлорованій відстоюванням (доба) воді з водогінної мережі Житомира (вміст кисню – 8,6–8,9 мг/л, рН – 7,4–8, температура – 19–23 °С). Експозиція в них молюсків здійснювалася у 3-літрових емкостях серіями по 10–12 екз. Її тривалість становила 2 доби. Щоб уникнути отруєння тварин їхніми власниками метаболітами через добу від початку досліду токсичні речовини заміняли свіжоприготовленими.

По завершенні основного досліду вимірювали діаметр черепашки (штангенциркулем з точністю до 0,1 мм), після чого тварини, легенько обсушених фільтрувальним папером, зважували (електронні ваги марки WPS 1200/С), встановлюючи спочатку загальну масу молюсків, а після їх розтину – масу м'якого тіла.

Гемолімфу отримували методом прямого знекровлення молюсків. Об'єм гемолімфи визначали, застосовуючи інсуліновий шприц. Її активну реакцію – індикаторним папером “Фан”, часом – потенціометрично. Вміст гемоглобіну у гемолімфі встановлювали модифікованими А. П. Стадниченком [7] солянокислогемативним методом Салі.

Трематодну інвазію визначали (МБИ-1) мікроскопуванням (МЗ 7x8) тимчасових гістологічних препаратів, виготовлених із шматочків гепатопанкреаса молюсків. Визначення видової належності тремаод здійснювали виключно на живому матеріалі. Молюски були інвазовані редіями і церкаріями трематод *Echinoparyphium aconiatum* Dietz (екстенсивність зараження – 29,6%). Паразити локалізовані у гепатопанкреасі хазяїв. Інтенсивність інвазії зазвичай невисока (паразитичне ураження охоплює до ¼ його об'єму), лише у поодиноких особин спостерігалася генералізована інвазія.

Обробку цифрових матеріалів методами варіаційної статистики здійснено за Б. Ф. Лакіним [5].

Результати досліджень та їх обговорення

Вміст гемоглобіну у гемолімфі витушок з контрольної групи відповідає характерній для них нормі (табл. 2) і не виходить за межі 0,19–2,17 г %, зареєстровані для тварин, що належать до багатьох популяцій [1, 4, 7]. Різниці між зараженими і незараженими особинами за цим показником не виявлено. Це, на наш погляд, зумовлене тим, що інтенсивність інвазії молюсків контрольної групи була дуже невисокою.

За дії на молюсків LC₂₅ спостерігалася різке зменшення рівня вмісту гемоглобіну у гемолімфі (P>99,9%): на 11,5 % незаражені і на 13,5 % заражені тварини. Це свідчить про порушення рівноваги в біохімічній системі “гемоглобін–оксигемоглобін” внаслідок зсуву її у правий бік. Останнє є проявом неспецифічного захисно-приспосувального процесу, котрий полягає в підвищенні рівня загального обміну речовин, що дозволяє у 75 % піддослідних тварин зберегти життєдіяльність у токсичному середовищі.

Таблиця 2. Вплив йонів кобальту на вміст гемоглобіну (г %) у гемолімфі *Planorbarius purpura* у нормі і за інвазії трематодами

Концентрація Co ²⁺ , мг/дм ³	Інвазія	n	Статистичні показники			
			lim	$\bar{x} \pm m_x$	δ	CV
Контроль	Немає	26	0,46–1,40	0,80 ±0,05	0,24	30,59
	Є	8	0,56–1,05	0,74 ±0,07	0,20	26,73
LC ₂₅ = 250	Немає	21	0,52–0,80	0,62 ±0,02	0,09	13,71
	Є	8	0,53–0,75	0,64 ±0,02	0,07	10,66
LC ₅₀ = 500	Немає	18	0,40–0,77	0,51 ±0,03	0,11	17,59
	Є	9	0,33–0,76	0,51 ±0,05	0,15	30,32
LC ₇₅ = 750	Немає	17	0,34–0,60	0,49 ±0,02	0,06	13,07
	Є	8	0,40–0,52	0,47 ±0,02	0,05	9,98

Підвищення концентрації токсиканта до LC₅₀ впливає на вміст гемоглобіну у гемолімфі незаражених молюсків і інвазованих трематодами особин, він різко скорочується (на 20,3 % у перших з них і на 17,8 % – у других, у порівнянні з попереднім дослідом). А це означає, що за цих умов перехід гемоглобіну в оксигемоглобін інтенсивно відбувається у 50 % піддослідних тварин, які у такий спосіб успішно протистоять сукупній дії двох ушкоджуючих чинників – трематодній інвазії і впливу токсичного середовища.

Найвища з використаних у наших дослідах концентрація (LC₇₅) йонів кобальту викликає незначне зменшення вмісту гемоглобіну у гемолімфі як незаражених, так і заражених витушок (на 4 і 8 % відповідно). Це означає, що йони кобальту у вищезгаданій концентрації пригнічують перехід гемоглобіну в оксигемоглобін у 25 % піддослідних молюсків. Збереження життєздатності ними забезпечується, на нашу думку, другою неспецифічною захисно-приспосувальною реакцією, котра полягає у переході їх до анаеробного розщеплення вуглеводів.

Динаміка забезпеченості гемоглобіном одиниці загальної маси і маси м'якого тіла однакова у всіх молюсків, які пережили затруєння середовища (табл. 3, 4). Вона проявляється зменшенням значень цих показників із ростом концентрацій йонів кобальту у середовищі.

Таблиця 3. Вплив йонів кобальту на забезпеченість гемоглобіном (г/кг) одиниці загальної маси тіла *Planorbarius purpura* у нормі і за інвазії трематодами

Концентрація Co ²⁺ , мг/дм ³	Інвазія	n	Статистичні показники			
			lim	$\bar{x} \pm m_x$	δ	CV
Контроль	Немає	26	0,92–4,18	2,39 ±0,16	0,80	33,27
	Є	8	1,64–3,41	2,50 ±0,27	0,76	30,18
LC ₂ = 2505	Немає	21	1,08–3,82	2,28 ±0,19	0,85	37,17
	Є	8	1,27–2,80	1,96 ±0,20	0,56	28,71
LC ₅₀ = 500	Немає	18	11,31–3,04	2,16 ±0,14	0,60	27,61
	Є	9	0,73–2,49	1,63 ±0,25	0,76	46,45
LC ₇₅ = 750	Немає	17	0,97–2,96	1,56 ±0,14	0,59	37,95
	Є	8	1,05–1,77	1,36 ±0,09	0,25	18,60

Таблиця 4. Вплив йонів кобальту на забезпеченість гемоглобіном (г/кг) одиниці маси м'якого тіла *Planorbarius purpura* у нормі і за інвазії трематодами

Концентрація Co^{2+} , мг/дм ³	Інвазія	n	Статистичні показники			
			lim	$\bar{x} \pm m_x$	δ	CV
Контроль	Немає	26	3,46–13,89	7,44 \pm 0,53	2,71	36,45
	Є	8	7,03–8,88	8,06 \pm 0,25	0,72	8,92
LC ₂₅ = 250	Немає	21	2,98–10,17	6,42 \pm 0,55	2,51	39,06
	Є	8	3,89–7,74	5,91 \pm 0,52	1,47	24,85
LC ₅₀ = 500	Немає	18	4,27–7,96	6,05 \pm 0,29	1,23	20,39
	Є	9	2,67–7,84	5,26 \pm 0,61	1,83	34,76
LC ₇₅ = 750	Немає	17	3,13–8,77	5,07 \pm 0,36	1,47	28,93
	Є	8	3,19–6,38	4,77 \pm 0,44	1,25	26,28

Висновки

Йони кобальту у концентраціях LC₂₅, LC₅₀, LC₇₅ є токсичними для витушок. За дії їх на тварин у них спостерігається прогресуюче падіння рівня вмісту гемоглобіну у гемолімфі і зниження значення показників забезпеченості гемоглобіном одиниці загальної маси і маси м'якого тіла. Відсутність статистичних вірогідних розбіжностей за цими показниками між незараженими і зараженими тваринами є наслідком невисокої інтенсивності інвазії їх паразитами.

Перспективи подальших досліджень

Дослідження впливу різних іонів важких металів на організм моллюсків дозволить створити ряди токсичності цих полютантів та спрогнозувати модель гідроєкосистем за дії на них іонів важких металів. Крім того, такими відомостями у перспективі можна буде скористатися при біотестуванні природних водойм, здійснюваному у системі біологічного моніторингу.

Література

1. Алексеев В. А. Основные принципы сравнительно-токсикологического эксперимента // Гидробиол. журн. – 1981. – Т. 17, № 3. – С. 92–100.
2. Алякринская И. О. Гемоглобины и гемоцианины безпозвоночных. – М.: Наука, 1979. – 155 с.
3. Гидррохимические показатели состояния окружающей среды / Гусева Т. В., Молчанова Я. П., Заша Э. А. и др. – М.: Эколайн, 2000. – 127 с.
4. Киричук Г. Е. Влияние разных концентраций ионов тяжёлых металлов на физико-химические свойства гемолимфы *Planorbarius purpura* (Mollusca, Bulinidae) в норме и при инвазии трематодами // Паразитология. – 2002. – Т. 36, Вып. 2. – С. 108–116.
5. Лакин Б. Ф. Биометрия. – М.: Высш. шк., 1973. – 343 с.
6. Романенко В. Д. Основы гидробиологии. – К.: Обереги, 2001. – 730 с.
7. Стадниченко А. П., Иваненко Л. Д., Бургамистренко Л. Г. Влияние разных концентраций сульфата цинка на физико-химические свойства гемолимфы *Planorbarius* (Mollusca: Bulinidae) в норме и при инвазии трематодами // Паразитология. – 1993. – Т. 14, Вып. 1. – С. 66–70.