

УДК 591.111.05:576.895,122:594.38

Стадниченко А.П.

доктор біологічних наук; ЖДПУ ім. Івана Франка, завідувачка
кафедри зоології

Киричук Г.Є.

кандидат біологічних наук, ЖДПУ ім. Івана Франка, старший
викладач

Янович Л.М.

кандидат біологічних наук, ЖДПУ ім. Івана Франка, старший
викладач

Іваненко Л.Д.

кандидат біологічних наук, ЖДПУ ім. Івана Франка, старший
викладач

ВПЛИВ РАУНДАПУ НА ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ГЕМОЛІМФИ ВИТУШКИ РОГОВОЇ (MOLLUSCA: PULMONATA: BULINIDAE) В НОРМІ ТА ПРИ ІНВАЗІЇ ТРЕМАТОДАМИ (TREMATODA)

Вивчено вплив різних концентрацій раундапу (10,25, 50 мг/л) на основні показники гемолімфи витушки рогової (загальний об'єм, активну реакцію середовища, забезпеченість гемоглобіном загальної маси тіла моллюсків та маси їх м'якого тіла) в нормі та при інвазії партенітами трематод.

1. Вступ

На садово-городніх ділянках приватного сектору, розміщених на околицях Житомира, населенням для боротьби з бур'янами (у першу чергу – з пирієм) широко використовується дефоліант раундап. Останній полегшує обробіток ґрунту й дає деякий додаток до врожаю. На жаль, норми застосування цього пестициду нерідко перевищуються, і він з талими або дощовими водами змивається з полів і потрапляє у гідромережу р. Тетерів. До складу раундапу входять гідрофосфат і поверхнево-активні речовини (ПАР) у

співвідношенні 2:1. Отже, при значних концентраціях цього полютанта у природних водах на тварин, які їх населяють, комплексно діють дві різні за своєю природою і механізмом впливу речовини, а саме: гідрофосфат (нервово-паралітична дія) та ПАР (локальна та ферментативна дія). Вплив раундапу на різні сторони життєдіяльності червоногих гідробіонтів раніше не досліджувався. Нас цікавило, як впливають різні його концентрації на фізико-хімічні властивості гемолімфи витушки рогової в нормі та при інвазії її трематодами.

2. Матеріал і методика дослідження (табл. 1).

Матеріал: 228 екз. витушки рогової *Planorbarius corneus* (Linne, 1758), зібраних у травні 1998 р. в р.Тетерів (у межах Житомира)

Тварин відловлювали вручну в поліетиленових пакетах (відкритих, без води) перевозили у лабораторію, де одразу використовували у

Таблиця 1

Загальні відомості про матеріал дослідження

Показники	п	Інвазія	lim	X ± m _x
Контроль				
Діаметр черепашки, мм	47	Немає	22,30–31,70	27,0±0,405
	12	Є	25,80–27,70	26,5±0,603
Загальна маса тіла, мг	47	Немає	2360–6200	4080±1470,9
	12	Є	3250–4250	3626±314,29
Маса м'якого тіла, мг	46	Немає	930–2400	1626 ± 53,77
	12	Є	1310–1560	1440±72,43
Об'єм гемолімфи, мл	46	Немає	0,11–1,19	0,56±0,0450
	12	Є	0,28–0,61	0,41±0,1005
10 мг/л				
Діаметр черепашки, мм	38	Немає	21,0– 4,4	27,8±0,559
	12	Є	22,4–30,0	26,2±0,793
Загальна маса тіла, мг	38	Немає	1600–5900	4069±182,45
	12	Є	1900–5400	3592±303,77
Маса м'якого тіла, мг	38	Немає	990–1990	1517±47,84
	12	Є	970–1710	1377±59,20
Об'єм гемолімфи, мл	38	Немає	0,30–2,10	0,66±0,060
	12	Є	0,05–0,9	0,45±0,058
25 мг/л				
Діаметр черепашки, мм	42	Немає	22,6–33,2	28,1±0,398
	18	Є	23,8–27,8	26,5±0,750
Загальна маса тіла, мг	42	Немає	1480–6240	3848±157,76
	18	Є	2520–5720	3698±412,98
Маса м'якого тіла, мг	42	Немає	860–2400	1416±52,82
	18	Є	940–2310	1339±4,79
Об'єм гемолімфи, мл	42	Немає	0,25–1,1	0,590±0,034
	18	Є	0,35–1,0	0,510±0,0763
50 мг/л				
Діаметр черепашки, мм	41	Немає	21,4–33,3	26,4±0,556
	19	Є	21,1–32,0	26,7±1,181
Загальна маса тіла, мг	41	Немає	2070–6110	3722±236,14
	19	Є	1960–4730	3536±299,07
Маса м'якого тіла, мг	41	Немає	900–2100	1344±60,52
	19	Є	980–1850	1271±66,46
Об'єм гемолімфи, мл	41	Немає	0,05–1,40	0,57±0,045
	19	Є	0,15–0,92	0,55±0,072

токсикологічних дослідах, поставлених за методикою Алексеева (1981). Орієнтаційним дослідом встановлено значення основних токсикологічних показників – МВК (LC_{50}) – 10 і LK_{100} (LC_{100}) – 100 мг/л. Графічно (Прозоровський, 1960) визначено значення LK_{50} (LC_{50}) = 49-51 мг/л. У межах МВК- LK_{50} підібрано 3 концентрації, котрі було використано в основному досліді, - це 10, 25, 50 мг/л. Токсичні розчини готували на відстояній (1 доба) водопровідній воді. Тривалість затруєння тварин становила 2 доби, причому через добу усі розчини заміняли свіжовиготовленими. Результати знімали одразу після завершення експозиції. Тварин, вилучених з розчину, осушували фільтрувальним папером і вимірювали висоту їх черепашки за допомогою штангенциркуля (до 0,1мм). Потім м'якими ударами молотка розбивали черепашку й звільняли тіло від її уламків. М'яке тіло зважували на технічних терезах. Гемолімфу отримували методом прямого знекровлювання. Встановлювали її загальний об'єм за допомогою діабетичного шприца та визначали її активну реакцію, використовуючи для цього індикаторний папір "Рифан". Вміст гемоглобіну в гемолімфі виявляли солянокисло-гематиновим методом за Салі, дещо модифікованим (Стадниченко, Іваненко, Бургомістренко, 1980). Забезпеченість ним тіла витушок встановлювали розрахунковим методом. Про зараженість молюсків трематодами судили за тимчасовими

гістологічними препаратами, виготовленими із тканин гепатопанкреаса витушок. Їх вивчали за допомогою мікроскопа МБИ-3 при малому збільшенні (7x8). Визначали трематод виключно на живому матеріалі. Усі цифрові результати досліджень оброблено методами варіаційної статистики за Лакіним (Лакін, 1973).

3. Результати дослідження та їх обговорення

Згідно з прийнятою зараз шкалою (Метелев, Канаєв, Дзасохова, 1971) ступеня токсичності речовин для гідробіонтів, яка базується на значеннях LK_{50} , раундап для витушки рогової є сильно токсичною отрутою. Причому, точною прикладання гідрофосфату є нервова система досліджуваних молюсків, а ПАР – ферменти. Отже, слід було очікувати у цих тварин, підданих дії розчинів, що містять 10-50 мг/л раундапу, істотних зрушень у досліджуваних показниках. Однак, як бачимо з відомостей, наведених у таблиці 1, у всіх піддослідних особин загальна маса тіла при усіх використаних у досліді концентраціях токсикантів утримується в межах норми. Натомість маса м'якого тіла із збільшенням концентрації раундапу зменшується, що свідчить про прогресуюче зневоднення тканин, яке неоднаково інтенсивно відбувається у незаражених і заражених трематодами тварин. У перших з них воно йде значно інтенсивніше, особливо при вищих концентраціях токсиканта. Так, при

Таблиця 2

Вплив різних концентрацій раундапу на фізико-хімічні властивості гемолімфи *Planorbarius corneus* у нормі та при інвазії трематодами

Показники	n	Інвазія	Lim	$\bar{X} \pm m_x$	σ	cv
Контроль						
рН гемолімфи	46	Немає	3-7	$5,15 \pm 0,20$	1,350	26,21
	12	Є	3-6	$5,00 \pm 1,00$	1,732	43,64
Вміст гемоглобіну, г%	46	Немає	0,5-2,4	$0,88 \pm 0,05$	0,345	39,20
	12	Є	0,7-1,3	$0,86 \pm 0,11$	0,305	29,61
Забезпеченість гемоглобіном загальної маси тіла, г/кг	46	Немає	1,01-5,79	$2,25 \pm 0,15$	1,038	46,13
	12	Є	2,07-4,60	$2,88 \pm 0,58$	1,000	34,72
Забезпеченість гемоглобіном м'якого тіла, г/кг	46	Немає	2,50-13,53	$5,66 \pm 0,34$	2,330	41,17
	12	Є	4,82-9,92	$7,26 \pm 1,48$	2,556	35,21
10 мг/л						
рН гемолімфи	38	Немає	3-6	$5,07 \pm 0,16$	1,00	19,73
	12	Є	3-6	$4,83 \pm 0,27$	0,96	19,87
Вміст гемоглобіну, г%	38	Немає	0,40-2,4	$0,93 \pm 0,07$	0,40	43,01
	12	Є	0,65-2,2	$0,90 \pm 0,15$	0,50	42,00
Забезпеченість гемоглобіном загальної маси тіла, г/кг	38	Немає	0,93-5,00	$2,44 \pm 0,18$	1,09	44,67
	12	Є	1,20-6,77	$3,56 \pm 0,45$	1,57	44,07
Забезпеченість гемоглобіном м'якого тіла, г/кг	38	Немає	2,72-3,30	$6,32 \pm 0,45$	2,76	43,67
	12	Є	3,80-5,71	$9,01 \pm 0,99$	3,41	37,85
25 мг/л						
рН гемолімфи	42	Немає	3,5-7,0	$5,60 \pm 0,10$	0,658	9,97
	18	Є	6,0-7,0	$5,70 \pm 0,13$	0,370	5,52
Вміст гемоглобіну, г%	42	Немає	0,40-2,2	$0,99 \pm 0,05$	0,332	47,50
	18	Є	0,35-1,2	$1,03 \pm 0,07$	0,305	35,00
Забезпеченість гемоглобіном загальної маси тіла, г/кг	42	Немає	1,25-8,46	$3,21 \pm 0,27$	1,775	55,29
	18	Є	1,39-3,04	$2,07 \pm 0,27$	0,660	28,96
Забезпеченість гемоглобіном м'якого тіла, г/кг	42	Немає	2,67-17,19	$8,32 \pm 0,62$	3,883	46,67
	18	Є	2,45-12,77	$6,81 \pm 1,21$	3,407	50,03
50 мг/л						
рН гемолімфи	41	Немає	3,0-6,0	$5,20 \pm 0,09$	0,580	11,15
	19	Є	3,5-5,5	$4,90 \pm 0,29$	0,858	17,51
Вміст гемоглобіну, г%	41	Немає	0,56-2,4	$1,16 \pm 0,08$	0,531	33,54
	18	Є	0,64-1,1	$1,19 \pm 0,12$	0,500	24,07
Забезпеченість гемоглобіном загальної маси тіла, г/кг	41	Немає	1,14-8,89	$2,92 \pm 0,24$	1,526	52,26
	18	Є	1,40-3,60	$2,40 \pm 0,27$	0,750	31,25
Забезпеченість гемоглобіном м'якого тіла, г/кг	41	Немає	3,14-22,86	$7,91 \pm 0,59$	3,720	47,03
	18	Є	5,00-11,20	$6,64 \pm 0,78$	2,220	33,64

10 мг/л раундапу дегідратація у незаражених витушок становить 6,7, а у інвазованих трематодами – 4,7%. При 25 мг/л ці показники становлять 12,9 і 7%, а при 50 мг/л – 17,3 і 11,7% відповідно. Чому зрушення водного балансу яскравіше виражені при відсутності інвазії, для нас поки що лишається незрозумілим. Загальний об'єм гемолімфи в усіх піддослідних тварин залишається на рівні норми (табл. 1).

Активна реакція гемолімфи в нормі (табл. 2) як у вільних від інвазії, так і у заражених трематодами тварин кисла (рН=5,00-5,15). Такою ж вона залишається і у особин, підданих дії на них токсиканту. Однак у заражених трематодами молюсків підкислення гемолімфи відбувається сильніше, особливо при високій інтенсивності інвазії. Так, при 10 мг/л раундапу в середовищі рН гемолімфи при відсутності інвазії у витушки не змінюється, в той час як у заражених молюсків (переважна більшість їх із тотальним ураженням гепатопанкреаса) зрушується в бік підкислення, сягаючи значення 4,83. У досліді з 25 мг/л токсиканту превалювали тварини з невисокою та помірною інтенсивністю інвазії, через що, як гадаємо, у них відсутні зрушення досліджуваного показника в кислий бік. Підкислення гемолімфи, що спостерігається у інвазованих тварин і відсутнє у неінвазованих при 10 мг/л токсиканту у середовищі зумовлене швидше всього тим, що при тяжкій інвазії порушуються буферні системи гемолімфи, а захисно-приспосувальні властивості її

виявляються неспроможними для підтримання активної реакції середовища на рівні норми.

Вміст гемоглобіну – важливий показник напруженості загального обміну в організмі. Основна його функція у легеневих молюсків – це транспортування кисню до тканин і вуглекислого газу – від них. Отже, гемоглобін визначає майже усю енергетику цих тварин. Істотним є те, що цей дихальний пігмент має здатність зв'язувати кисень при його вкрай низькому парціальному тиску. Спорідненість гемоглобіну з киснем у *P. corneus* становить 1,5-8 мм рт.ст. (Leitch, 1916; Коштянц, 1950; Коржуев, 1964) і залежить від концентрації гемоглобіну (Florkin et al., 1941) та температури навколишнього середовища (Zaaijer, Wolvekamp, 1958). Окрім цього гемоглобін підтримує колоїдноосмотичний тиск гемолімфи, котрий є важливим чинником у регуляції обміну води між внутрішнім середовищем організму та тканинами.

Вміст гемоглобіну в гемолімфі досліджених нами *P. corneus* в нормі становить $0,88 \pm 0,05$ г% при коливанні значень цього показника від 0,5 до 2,4 г%. У інвазованих трематодами тварин контрольної групи він майже такий самий – $0,86 \pm 0,07$ г% (амплітуда коливання показника – 0,64-11 г%). При дії на витушок токсичного середовища участь гемоглобіну в транспортуванні кисню зменшується в системі “оксигемоглобін – гемоглобін” вправо: концентрація його зростає у всіх піддослідних тварин. Проте підвищення рівня

вмісту гемоглобіну в гемолімфі неоднакове у незаражених і заражених трематодами витушок. У перших з них при високих концентраціях токсиканту вміст гемоглобіну зростає на 31,82% , в той час як при 10 мг/л раундапу в середовищі, (воно становить у них 4,8-5,4%). При 25 мг/л токсиканту незаражені тварини спроможні зберігати життєздатність при підвищенні концентрації гемоглобіну на 12,5% проти норми. У інвазованих тварин через пригнічення паразитами їх захисно-приспосувальних можливостей цей показник набагато вищий – 19,8%. А при 50 мг/л раундапу у середовищі ці показники становлять 31,8 і 38,4%

відповідно. В останньому випадку концентрація токсиканту виявляється нищівною і для незаражених трематодами тварин, у яких виникає напруженість захисно-приспосувального процесу, про що свідчать, по-перше, високі абсолютні значення вмісту гемоглобіну в їх гемолімфі (перевищують норму в 1,3 рази), а по-друге, менша різниця за цим показником між вільними від зараження тваринами. Що стосується забезпеченості гемоглобіном тіла витушок, то зрушення її відбувається паралельно показникам, характерним для вмісту гемоглобіну в їх гемолімфі (табл. 2).

Література

1. Алексеев В.А. Основные принципы сравнительно-токсикологического эксперимента. // Гидробиол. журн.- 1981.- Т.17, №3. – С. 92 – 100.
2. Коржуев П.А. Эволюция дыхательной функции крови. Изд-во АН СССР: Москва-Ленинград, 1949. - 189 с.
3. Коштоянц Х.С. Основы сравнительной физиологии. Изд-во АН СССР, Москва-Ленинград, 1950. - 585 с.
4. Лакин Г. Ф. Биометрия. - М.: Высш. шк., 1973. – 348 с.
5. Метелев В.В., Канаев А.И., Дзасохова Н.Г. Водная токсикология. - М.: Колос, 1971 - 247 с.
6. Прозоровский В.Б. О выборе метода построения кривой летальности и определения средней летальной дозы// Журнал общей биологии, 1960. - Т.21, №3. – С.221-228.
7. Стадниченко А.П., Иваненко Л.Д., Бургомистренко Л.Г. Изменение физико-химических свойств гемолимфы (*Planorbium corneum* (Gastropoda, Pulmonata) при инвазии паразитами *Cotylurus comutus* (Trematoda, Strigeidae) // Паразитология, 1980 - Т. 14, вып. 1. – С. 66 –70.
8. Florkin M., Laurent Y., Lefebvre L., Scalais G. Sur la position de la courbe de dissociation de l'erythrocytine de *Planorbis* en fonction du pouvoir oxyphorique// Acta Biologica Belg, 1941. - Vol.1. – P. 227-229.
9. Leitch J. The function of haemoglobin in invertebrates and chironomid larvae// Journal Physiological, 1916. -Vol.50. – P. 370-379.
10. Zaaijer J.J.P., Wolvekamp H.P. Some experiments on the Haemoglobin-oxygen equilibrium in the blood of the ramshorn (*Planorbis corneus* L.) // Acta Physiology et Pharm. Neerl., 1958. - Vol.7. – P. 56-77.