

**ВЛИЯНИЕ СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА
КЛЕТОЧНЫЙ СОСТАВ ГЕМОЛИМФЫ ЛЕГОЧНЫХ
ПРЕСНОВОДНЫХ МОЛЛЮСКОВ С РАЗНЫМ ТИПОМ
ТРАНСПОРТА КИСЛОРОДА**

Е.И. Кацнельсон

аспирант кафедры химии ВГУ имени П.М. Машерова, г.
Витебск, Республика Беларусь 4,

А.С. Володько,

студентка 4 курса биологического факультета

Аннотация. Легочные пресноводные моллюски представляют собой тест-организмы для биоэкологических исследований путем изучения компонентов среды их обитания и обменных процессов в тканях и органах. Характеристика состава природных водоемов и почв прибрежных районов позволяет сформировать представления об особенностях метаболизма моллюсков, на которых оказывают влияние различные антропогенные факторы окружающей среды.

Ключевые слова: легочные моллюски, *Lymnaea stagnalis*, *Planorbarius corneus*, соли тяжёлых металлов

В настоящее время экосистемы подвергаются сильному антропогенному влиянию, в том числе и водные, что приводит к постоянной аккумуляции тяжелых металлов в почве, растительности и воде. Прибрежная зона водоемов и сами водные экосистемы Витебской области подвергаются воздействию тяжелых металлов, что приводит к высоким рискам для жизнедеятельности человека и гидробионтов, вследствие поступления токсикантов в трофические цепи. Большое внимание уделяют различным методам индикации техногенных почвенно-геохимических аномалий и показателям воздействия антропогенной нагрузки на почвенный покров, основанных на определении биологических свойств почв, среди которых одним из наиболее перспективных и доступных методов считается диагностика ферментативной активности [1].

Тяжелые металлы относятся к широко распространенным в природных водоёмах загрязняющим веществам. К наиболее опасным металлам-токсикантам выделена относят кадмий, медь, железо, мышьяк, никель, ртуть, свинец, цинк и хром как наиболее опасные для здоровья человека и животных. Соединения тяжелых металлов, поступившие в водную среду, немедленно вовлекаются в цепь превращений под влиянием многочисленных факторов [2].

Гидробионты разных трофических уровней могут аккумулировать в своем организме металлы. Токсичность отдельных соединений значительно колеблется и неодинакова для разных гидробионтов [3-4].

Концентрированные растворы солей тяжёлых металлов обладают вяжуще-прижигающим действием, нарушают функции органов дыхания. В слабых разведениях, проникая в организм, они нарушают проницаемость биологических мембран, вызывают угнетение активности ферментов. Гидроокиси железа и марганца нарушают газообмен. Опасность тяжелых металлов как загрязнителей усугубляется тем, что они устойчивы к разрушению в течение многих лет, быстро накапливаются в гидробионтах и очень медленно выводятся из организмов [5].

Цель работы – оценить степень влияния солей тяжелых металлов на клеточные элементы гемолимфы вторичноводных моллюсков *Lymnaea stagnalis* и *Planorbarius corneus*.

Материал и методы

Опыты по моделированию действия солей тяжёлых металлов поставлены на легочных пресноводных моллюсках *Lymnaea stagnalis* (прудовик обыкновенный) и *Planorbarius corneus* (роговая катушка). Моллюски собирались осенью (сентябрь-октябрь) из реки Витьба. В каждой исследовательской подгруппе содержалось по 9 моллюсков.

Перед проведением эксперимента для акклиматизации моллюсков выдерживали в емкостях с отстоянной водопроводной водой в течение 2-х суток, плотность посадки моллюсков – 3 экз/л, температура воды – 20-22 °С, рН 7,2-7,7. Ежедневно осуществлялась замена 1/3 ее объема. Животных кормили свежими листьями одуванчиков или зеленого салата.

Для моделирования загрязнения водоемов солями тяжелых металлов проводили токсикологические эксперименты с применением солей железа и меди. В экспериментах были использованы следующие соли тяжёлых металлов: сульфат меди $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ в концентрации 0,01; 0,1 и 1 мг/л, сернокислое железо $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ в концентрациях 0,3, 3 и 5 мг/л, сульфат цинка $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ в концентрации 0,05; 0,5 и 5,0 мг/л и сульфат свинца PbSO_4 в концентрации 0,005; 0,05 и 0,5 мг/л с учетом значений предельно-допустимых концентраций (ПДК), установленных для водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового назначения [6]. Маточный раствор каждого из ТМ готовили путем растворения навески соли в дистиллированной воде. Рабочие растворы ТМ перед началом опыта и при обновлении токсической среды готовили путём добавления необходимого объема маточного раствора в отстоявшуюся в течение суток водопроводную воду. Продолжительность эксперимента 48 часов. Контролем служили особи, содержащиеся в отстоянной водопроводной воде.

Гемолимфу у *Planorbarius corneus* и *Lymnaea stagnalis* получали посредством раздражения ноги лёгким покалыванием иглой от шприца. Для изучения клеточного состава гемолимфы пробы, собранные в отдельные пробирки, фиксировали с 1 мл свежеприготовленного холодного фиксатора (от -5°C) - смеси 96% спирта с ледяной уксусной кислотой в соотношении 3:1. До раскапывания на стёкла хранили в морозилке. Фиксированные клетки центрифугировали при 1000 оборотов в минуту в течении 10 минут, а затем удаляли надосадочную жидкость. Осадок ресуспендировали путём встряхивания и раскапывали тонкой пипеткой на замороженном предметном стекле. Полученные препараты окрашивали по Романовскому–Гимзе и микроскопировали.

Результаты и их обсуждение

При действии солей тяжелых металлов на легочных моллюсков основными формами цитогенетических повреждений клеточного состава гемолимфы являются: увеличение количества микроядер и признаков клеточной гибели по типу апоптоза и некроза.

На снимках мазков гемолимфы прудовика обыкновенного и катушки роговой, подвергавшихся воздействию, сульфата меди (II) в концентрации 0,01 мг/л появляются признаки клеточной гибели по типу апоптоза (единичные случаи) а в остальном на мазках с все клетки с нормальной морфологией, с полиморфным или бобовидным ядром, в мазке катушки роговой встречаются единичные клетки с патологией (гемоцит с вакуолью) как и в контроле.

На микрофотографиях мазков гемолимфы *Lymnaea stagnalis* и *Planorbarius corneus* находившихся под действием сульфата меди (II) в концентрации 0,1 мг/л установлено, что происходит увеличение числа гемоцитов с признаками клеточной гибели по типу апоптоза, репродуктивной гибели клеток, гемоцитов с микроядрами и вакуолями.

С увеличением концентрации сульфата меди (II) в воде у моллюсков развивается быстрое отравление, проявляющееся активно уже на физиологическом уровне. При действии солей сульфата меди (концентрация 1 мг/л) проявляется быстрая физиологическая реакция – обволакивание тела слизью (за счет чего ограничивается диффузия ионов тяжелых металлов во внутреннюю среду моллюска); отек головы и ноги. На клеточном уровне заметного увеличения аномальных клеток и повышения гибели клеток не наблюдается.

Для исследования влияния солей тяжелых металлов на пресноводных легочных моллюсков, особи были помещены в воду, содержащую растворённый $FeSO_4$, т.к. железо является переносчиком кислорода в комплексе с гемоглобином у катушки роговой. На рисунках 3-4 представлены микрофотографии мазков гемолимфы моллюсков подверженных действию сульфата железа (II) в концентрациях 0,3; 3 и 5 мг/л.

Сульфат железа (II) на первых этапах отравления действуют на моллюсков как локальный яд, вызывающий местные повреждения покровов тела.

У *Lymnaea stagnalis* под воздействием сульфата железа (II) наблюдаются дегенеративно-некротические изменения кожного эпителия, ослизнения. На поврежденных участках эпителиальные клетки набухают, отторгаются и слищаются.

При этом образуются небольшие (точечные), многочисленные кровотокающие язвы.

Данный результат свидетельствует о не переносимости прудовиками избытка ионов железа в воде и массовой гибели животных из-за менее приспособленной обменной системы, где главным переносчиком кислорода является медь-содержащий белок гемоцианин, имеющий третичную структуру. А *Planorbarius corneus* у которых роль переносчика кислорода выполняет железо-содержащий белок гемоглобин являются более эволюционно приспособленными к действию солей тяжёлых металлов, что и подтверждается проведёнными опытами.

При действии сульфата железа (II) в концентрации 5мг/л на *Lymnaea stagnalis* отмечена 100% гибель особей находившихся в эксперименте. У *Planorbarius corneus* на мазках отмечается увеличение гибели клеток по типу апоптоза.

Заключение. В основе цитологических методов исследования лежит соединение принципов и методов химического анализа с принципами и методами морфологического изучения клеточного состава гемолимфы. При действии солей тяжелых металлов на легочных моллюсков основными формами цитогенетических повреждений клеточного состава гемолимфы являются: увеличение количества микроядер и признаков клеточной гибели по типу апоптоза и некроза.

Список литературы

1. Воробьев, Д. В. Динамика тяжелых металлов в основных компонентах экосистем дельты р. Волги / Д. В. Воробьев // «Естественные науки». – 2007. – № 3 (20). – С. 11–16
2. Мензорова, Н.И., Рассказов В.А. Использование различных тест-систем и биохимической индикации для мониторинга экологического состояния бухты Троицы (Японское море) // Биология моря. 2007. – Т. 33, № 2.– С. 144-149.
3. Клишко, О.К. Экотоксикологическое состояние донных беспозвоночных как критерий оценки качества среды их обитания //Материалы III Всероссийской конференции по

водной токсикологии «Антропогенное влияние на водные организмы и экосистемы». Ч. 3. Борок, 2008. С. 43-47.

4. Клишко, О.К., Бердников Н.В. Оценка экологического состояния гидробионтов и качества вод в условиях техногенного воздействия на экосистемы //Естественные и гуманитарные науки – устойчивому развитию общества. Международный сборник научных трудов, посвященный году Германии в России. М.: Альтекс, 2012. С. 65-71.

5. Цховребов, Э.С. Проблемы охраны поверхностных водных объектов // ЭКОС-информ / Федеральный вестник экологического права. 2008. № 12. С. 50-54.

6. Гигиенические нормативы 2.1.5.10-21-2003 // Сб. гигиенических нормативов по разделу коммунальной гигиены. Мн., 2004. С. 38-75.

© *Е.И. Кацнельсон, А.С. Володько, 2018*