

УДК 591.5:594.3:576.895.122

А.П. СТАДНИЧЕНКО, О.І. УМАНЕЦЬ

Житомирський державний університет імені Івана Франка  
вул. В. Бердичівська, 40, Житомир 10008

## **ВПЛИВ МІНЕРАЛЬНИХ ДОБРИВ НА ВМІСТ ЗАГАЛЬНОГО БІЛКА В ГЕМОЛІМФІ КАЛЮЖНИЦІ (MOLLUSCA, GASTROPODA, PESTINIBRANCHIA, VIVIPARIDAE) У НОРМІ І ЗА ІНВАЗІЇ ТРЕМАТОДАМИ**

---

Досліджено вплив різних концентрацій натрієвої селітри (250, 500, 750 мг/дм<sup>3</sup>), хлорида калія (250, 500, 750 мг/дм<sup>3</sup>), суперфосфату (2500, 5000, 7500 мг/дм<sup>3</sup>) на вміст загального білка в гемолімфі *Viviparus viviparus* у нормі і за інвазії трематодою *Echinoparyphium petrowi*. З'ясовано, що цей показник залежить від фази викликаного отруєнням тварин патологічного процесу. За наявності трематодної інвазії шкодочинний вплив отруєння поглиблюється.

*Ключові слова:* міндобрива, *Viviparus viviparus*, *Echinoparyphium petrowi*, гемолімфа, загальний білок

Зростаюче з кожним днем забруднення природних вод мінеральними добривами спонукає необхідність дослідження особливостей впливу їх на різних гідробіонтів, у тому числі і на черевоногих молюсків. З них в Україні дуже широко розповсюдженою є калюжниця річкова, численні густонаселені популяції якої приурочені у своєму поширенні до всіх ландшафто-кліматичних зон цього регіону, за виключенням Карпат і більшої частини Криму. Якщо врахувати те, що калюжниця є найкрупнішими з усіх черевоногих молюсків фауни України, стає зрозумілим, що їм часто густо належить провідна роль у трофічній мережі біоценозів. А це означає, що саме ними визначається інтенсивність потоку речовин і енергії у багатьох водних екосистемах. Виходячи з цього, **метою нашого дослідження** було з'ясувати як різні концентрації міндобри, розчинених у водному середовищі, впливають на показники життєздатності цих тварин, зокрема, на вміст загального білка в їх гемолімфі. За цією тест-функцією малося на увазі порівняти вільних від інвазії і заражених трематодами особин.

Аналіз літературних джерел за попередні роки дозволяє констатувати, що таких досліджень наразі є обмаль [1, 2]. З них витікає, що середній вміст загального білка у гемолімфі *V. viviparus* становит 0,86±0,11%, а у близького йому вида *V. contectus* – 5,0±0,03 (самки) і 4,0±0,03% (самці) [3, 4]. Показник цей підпадає віковій, статевій, сезонній і популяційній мінливості і різниться у вільних від інвазії і заражених трематодами молюсків, а також залежить від інтенсивності інвазії.

### **Матеріал і методи досліджень**

600 екз. калюжниця річкової *Viviparus viviparus* (Linné, 1758), зібраних у стислі строки в р. Тетерів (у межах Житомира). Доставлених у лабораторію тварин утримували в акваріумах (10 л) з дехлорованою відстоюванням (доба) водопровідною водою (температура 19 – 22°C, рН 7,2 – 7,6, вміст кисню 8,3 – 8,9 мг/л). Токсикологічний експеримент ставили за [6]. Він складався з попереднього (орієнтаційного) і основного дослідів. Перший з них скерований на визначення величин ЛК<sub>0</sub>, ЛК<sub>50</sub>, ЛК<sub>100</sub> для особин, підданих дії різних концентрацій (0,001, 0,01, 0,1, 1, 10, 100, 1000, 10000 мг/дм<sup>3</sup>) таких міндобри як натрієва селітра, хлорид калія і простий суперфосфат. Опісля у межах ЛК<sub>0</sub> – ЛК<sub>50</sub> для кожного з цих токсикантів було обрано по 3 концентрації, які застосовувалися в основному досліді. Для натрієвої селітри і хлорида калія такими були 250, 500 і 750 мг/дм<sup>3</sup>, а для суперфосфата – 2500, 5000 і 7500 мг/дм<sup>3</sup> токсиканта. Тривалість його – 2 доби. Через добу розчини заміняли свіжими.

Гемолімфу отримували методом прямого знекровлювання молюсків. Вміст в ній загального білка встановлювали рефрактометрично (ИРФ–20). Зараженість *V. viviparus* трематодами виявляли мікроскопіюванням тимчасових гістологічних препаратів, виготовлених з тканин їх гепатопанкреаса. Визначення видової належності паразитів здійснювали на живому матеріалі за В. І. Здуном [7].

Опрацювання цифрових матеріалів методами базової варіаційної статистики здійснено за [7]. При збиранні і транспортуванні матеріала автори скористалися допомогою М. М. Сластенка, за що йому щиро вдячні.

### Результати досліджень та їх обговорення

В усіх трьох досліджах (таблиця) контролем слугували дві групи тварин. Перша з них представлена була вільними від трематодної інвазії особинами. У калюжниць другої групи зареєстровано інвазію їх партенітами (редіями), розповсюджувальними личинками – церкаріями трематоди *Echinoparyphium petrowi* Nevost., марики якої є [8] паразитами кішківника водоплавних і болотяних птахів, а також метацеркаріями *Echinostomatidae* sp.. Середня екстенсивність інвазії молюсків терерівської популяції становила  $20,00 \pm 1,63\%$ . Переважаючою формою інвазії було зараження молюсків редіями і церкаріями. Паразити в їх організмі здебільшого локалізувалися в гепатопанкреасі, рідко – в гонадах (редії і церкарії). Випадки знаходження у них метацеркарій траплялися нечасто. Їх виявлено в мантиї, гепатопанкреасі, нозі.

За інвазії вміст загального білка в гемолімфі калюжниці (таблиця) був на 49% нижче норми ( $p < 0,05$ ). Вважаємо, що це зумовлене комплексом причин. Перш за все, слід згадати про те, що за високої інтенсивності інвазії трематоди руйнують як міжацинарну сполучну тканину, так і печінкові трубочки (ацинуси) значної частини гепатопанкреаса, через що знижується його білковоутворювальна функція. У досліджених нами *V. viviparus* за інвазії неушкодженими залишалось лише близько 20 – 35% від загальної кількості печінкових трубочок і приблизно стільки ж (за об'ємом) міжацинарної сполучної тканини гепатопанкреаса. Крім того, за тяжкої інвазії, як відомо [2], пригнічуються захисно-приспосувальні можливості хазяїв, що проявляється падінням рівня їх загального обміну речовин, одними із проявів якого є зменшення рівня вмісту загального білка у гемолімфі. Нарешті, однією з можливих причин цього може бути і використання якоїсь частини загального білка гемолімфи паразитами, для яких організм хазяїна є єдиним джерелом цих сполук.

У середовищі, затруєному **натрієвою селітрою**, за всіх використаних у досліді концентраціях у вільних від інвазії *V. viviparus* відбувається зниження рівня вмісту загального білка у гемолімфі ( $p < 0,05$ ) на 27 – 32% порівняно з нормою. Воно, наголосимо, у межах 250 – 750 мг/дм<sup>3</sup> токсиканта у воді не залежить від концентрації останнього. Про це беззаперечно свідчить той факт, що вміст загального білка в гемолімфі молюсків за зазначених вище умов в усіх трьох випадках був майже однаковим (таблиця). Така реакція молюсків на вплив на них розчинів натрієвої селітри свідчить про те, що діапазону концентрацій її 250 – 750 мг/дм<sup>3</sup> відповідає депресивна фаза [9] їх отруєння.

Отже, обидві передуючі їй фази патологічного процесу (фази байдужих концентрацій і стимуляції) повинні проявлятися при концентраціях цього токсиканта, які не перевищують 250 мг/дм<sup>3</sup>.

У інвазованих трематодами особин під впливом зростаючих концентрацій натрієвої селітри спостерігається прогресуюче зростання вмісту загального білка в гемолімфі (на 13,2 – 18,5% відповідно контролю) ( $p < 0,05$ ). Однак ступінь зрушення цього показника у них значно менший, ніж у незаражених особин. Так, за 250 мг/дм<sup>3</sup> цього токсиканта селітри в середовищі падіння вмісту білка в гемолімфі незаражених *V. viviparus* становить 28 – 32, тоді як у заражених особин – 14 – 19%.

Причину цього ми вбачаємо у дії на *V. viviparus* паразитичного чинника, котрий викликає розвиток руйнівних процесів у гепатопанкреасі (і тим більших, чим вищою є інтенсивність зараження молюсків трематодами). Зрозуміло, що за таких обставин утворення білкових речовин і надходження їх у гемолімфу гальмується. Отже, в умовах токсичного середовища трематодна інвазія – це отягчаючий чинник.

Під впливом **хлориду калія** (250 – 750 мг/дм<sup>3</sup>) вміст загального білка в гемолімфі всіх досліджених молюсків статистично вірогідно ( $p < 0,05$ ) зростає (таблиця). Це означає, що всі вони перебувають на другій стадії патологічного процесу, а саме на стадії стимуляції. Концентрації, що відповідають фазі байдужих концентрацій, слід шукати серед концентрацій хлориду калія менших за 250 мг/дм<sup>3</sup>. Зазначимо, що у інвазованих тварин зрушення обговорюваного показника більші, ніж у неінвазованих. Наприклад, за 750 мг/дм<sup>3</sup> токсиканта у середовищі вміст загального білка у гемолімфі перших з них зростає в 1,7 рази, тоді як у других він становить усього лише 1,2 рази.

Вплив міндобрив на вміст загального білка (%) в гемолімфі *Viviparus viviparus* у нормі і за інвазії трематодою *Echinoparyphium petrowi*

Інвазія	Натрієва селітра			Хлорид калія			Суперфосфат		
	n	min-max	M±m	n	min-max	M±m	n	min-max	M±m
Контроль <sup>1</sup>									
Немає	38	1,52-10,41	3,73±0,27						
Є	12	0,63-2,62	1,89±0,21						
250 мг/дм <sup>3</sup>									
Немає	41	1,30-4,16	2,55±0,12	38	2,18-6,77	3,90±0,17	38	1,74-3,06	1,74±0,10
Редії, церкарії <i>E. echinotoides</i> , метацеркарії <i>Echinostomatidae</i> sp.	9	0,10-2,08	1,64±0,34	12	1,30-2,84	2,13±0,21	12	0,22-1,52	0,74±0,20
500 мг/дм <sup>3</sup>									
Немає	43	0,35-5,47	2,65±0,17	41	2,40-8,49	4,16±0,20	40	0,43-2,84	1,79±0,08
Редії, церкарії <i>E. echinotoides</i> , метацеркарії <i>Echinostomatidae</i> sp.	7	0,43-3,72	1,68±0,49	9	1,74-3,50	2,38±0,16	10	0,28-0,86	0,55±0,07
750 мг/дм <sup>3</sup>									
Немає	41	0,86-3,72	2,70±0,11	37	1,96-8,06	4,43±0,18	42	0,86-4,16	2,78±0,11
Редії, церкарії <i>E. echinotoides</i> , метацеркарії <i>Echinostomatidae</i> sp.	9	0,63-2,40	1,54±0,11	13	2,62-3,72	3,16±0,11	18	1,30-2,62	2,09±0,12

Наведені тут контрольні значення використано в усіх (трьох) токсикологічних дослідах.

Це, напевне, пояснюється тим, що за помірної трематодної інвазії захисно-приспосувальний процес у молюсків полягає у підвищенні рівня їх загального обміну речовин. На користь цього твердження свідчать відмічене у них за згаданих вище обставин посилення серцебиття [10], збільшення рівня поглинання кисню [11, 12] і активності дихальних ферментів [13], зростання тепловіддачі [14].

Цілком слушно можна припустити, що при цьому зростанню підпадає і рівень білкового обміну, котрий супроводжується збільшенням вмісту речовин білкової природи у гемолімфі тварин. Ще більше підвищення рівня загального метаболізму відбувається у заражених особин під дією стимулюючих концентрацій хлориду калія.

Отже, кінцевий результат досліда – зростання вмісту загального білка в гемолімфі інвазованих екземплярів *V. viviparus* в 1,7 рази порівняно з контролем – є наслідком сумарного (одночасного) впливу на молюсків обох стресуючих чинників.

У розчинах **суперфосфату** (2500 – 5000 мг/дм<sup>3</sup>) вміст загального білка у гемолімфі *V. viviparus* у переважній більшості випадків значно ( $p < 0,05$ ) падає (таблиця), що свідчить про наявність у досліджених тварин третьої фази процесу отруєння – фази депресії. Це може свідчити як про пригнічення процесів білкоутворення в клітинах і тканинах, так і про посилення розкладання тканин гепатопанкреаса за інвазії. Крім того, накопичення в гемолімфі продуктів білкового обміну є можливим наслідком порушення роботи нирок молюсків.

За 7500 мг/дм<sup>3</sup> суперфосфата у воді після 48-годинної експозиції тварин у такому розчині смертність їх становить 35%, що є свідченням глибоких порушень їх гомеостаза. Цій концентрації токсиканта відповідає передостання фаза процесу отруєння молюсків – сублетальна.

### Висновки

Виходячи з п'ятифазного перебігу процесу отруєння у молюсків [9], відзначаємо, що натрієва селітра (250 – 750 мг/дм<sup>3</sup>) і суперфосфат (2500 – 5000 мг/дм<sup>3</sup>) викликають розвиток у них його депресивної фази, а суперфосфат у концентрації 7500 мг/дм<sup>3</sup> – фази сублетальної. Натомість отруєння хлоридом калія (250 – 750 мг/дм<sup>3</sup>) супроводжується проявом у *V. viviparus* більш легкої

фази патологічного процесу – стимуляції. Вміст загального білка в гемолімфі моллюсків залежить від природи міндобри́в, концентрації їх у середовищі, від наявності чи відсутності трематодної інвазії і від інтенсивності останньої. Кінцевий результат цих чинників на обговорюваний показник є наслідком їх комплексної дії на моллюсків. Трематодна інвазія при цьому є таким чинником, який поглиблює шкодочинну дію міндобри́в на них.

У подальшому доцільно встановити концентрації, які відповідають межах усіх фаз отруєння, викликаного дією на моллюсків трьох означених вище міндобри́в.

1. *Алексеев В. А.* Основные принципы сравнительно-токсикологического эксперимента / В. А. Алексеев // Гидробиол. журн. — 1981. — Т. 17. — № 3. — С. 92—100.
2. *Веселов Е. А.* Основные фазы действия токсических веществ на организмы / Е. А. Веселов // Тез. докл. Всесоюз. науч. конф. по вопр. водн. токсикологии. М.: Наука. — 1968. — С. 15—16.
3. *Гуминский О. В.* Влияние трематодной инвазии на динамику химического состава гемолимфы пресноводных моллюсков в норме и при фенольной интоксикации: автореф. канд. дис. / О. В. Гуминский. — М. — 1988. — 21 с.
4. *Здун В. І.* Личинки трематод в прісноводних моллюсках України / В.І. Здун — К.: Вид-во АН УРСР. — 1961. — 141 с.
5. *Маляревская А. Я.* Биохимические механизмы адаптации гидробионтов к токсическим веществам / А. Я. Маляревская // Гидробиол. журн. — 1985. — Т. 21, № 3. — С. 70—82.
6. *Смогоржевская Л. А.* Гельминты водоплавающих и болотных птиц фауны Украины / Л.А. Смогоржевская. — Киев: Наук. думка. — 1976. — 416 с.
7. *Стадниченко А. П.* Влияние трематодной инвазии и различных концентраций нитроаммофоски на содержание общего белка в гемолимфе живородки речной / А. П. Стадниченко, А. Ю. Зелинская. — 1988. — 7 с. — Деп. в Укр НИИТИ 06.09.88 г., № 2217-Ук 88.
8. *Стадниченко А. П.* Изменение белкового спектра крови *Viviparus contectus* (Millet, 1813) (Gastropoda, Prosobranchia) при инвазии личиночными формами трематод / А.П. Стадниченко // Паразитология. — 1970. — Т. 4, Вып. 5. — С. 484—488.
9. *Стадниченко А. П.* О половой изменчивости белкового состава крови *Viviparus contectus* (Millet, 1813) (Gastropoda, Prosobranchia) / А.П. Стадниченко // Зоол. журн. — 1970. — Т. 49, Вып. 5. — С. 680—685.
10. *Стадниченко А. П.* Сравнительная характеристика белкового спектра жидкости зародышевых капсул и гемолимфы живородки болотной (Gastropoda, Prozobranchia) / А. П. Стадниченко // Вестн. зоол. — 1978, Вып. 5. — С. 91—94.
11. *Hurst C. T.* Increased heat production in a poikilotherm animal in parasitism / C. T. Hurst, C. A. Walker // Amer. Nat. — 1933. — V. 69. — P. 461—466.
12. *Hurst C. T.* Structural and functional changes in the Case of parasitism by the larvae of *Echinostoma revolutum* / C. T. Hurst // Univ. Californ. Publ. Zool. — 1927. — V. 29. — № 14. — P. 321—404.
13. *Lee F. O.* Increased heart rate in *Biomphalaria glabrata* parasitised by *Schistosoma mansoni* / F. O. Lee, T. C. Cheng // J. Invertebrate Pathol. — 1970. — V. 16. — № 1. — P. 148—149.
14. *Meakin R. H.* Studies on the physiology of the snail *Biomphalaria glabrata* (Say): effects of body size, temperature and parasitism by the sporocysts of *Schistosoma mansoni* smbon upon respiration // Compar. Biochem. and Physiol. — 1980. — V. A 66, № 1. — P. 137—140.

*А. П. Стадниченко, Е.И. Уманец*

Житомирский государственный университет имени Ивана Франко, Украина

#### ВЛИЯНИЕ МИНЕРАЛЬНЫХ УДОБРЕНИЙ НА СОДЕРЖАНИЕ ОБЩЕГО БЕЛКА В ГЕМОЛИМФЕ ЛУЖАНКИ (MOLLUSCA, GASTROPODA, PESTINIBRANCHIA, VIVIPARIDAE) В НОРМЕ И ПРИ ИНВАЗИИ ТРЕМАТОДАМИ

Исследовано влияние разных концентраций натриевой селитры (250, 500, 750 мг/дм<sup>3</sup>), хлорида калия (250, 500, 750 мг/дм<sup>3</sup>), суперфосфата (2500, 5000, 7500 мг/дм<sup>3</sup>) на содержание общего белка в гемолимфе *Viviparus viviparus* в норме и при инвазии трематодой *Echinoparyphium petrowi*. Выяснено, что этот показатель зависит от фазы патологического процесса, вызванного отравлением животных. При наличии трематодной инвазии повреждающее влияние отравления усугубляется.

*Ключевые слова:* мінудобрєння, *Viviparus viviparus*, *Echinoparyphium petrowi*, гемолімфа, обций белок

*A. P. Stadnychenko, O. I. Umanets*

Ivan Franko State University of Zhytomyr, Ukraine

THE FERTILIZERS INFLUENCE ON GENERAL PROTEIN CONTENT IN HAEMOLYMPH OF VIVIPARUS SP. (MOLLUSCA, GASTROPODA, PECTINIBRANCHIA, VIVIPARIDAE) IN NORM AND UNDER TREMATODE INVASION

The influence of sodium nitrate in different concentrations (250, 500, 750 mg/dm<sup>3</sup>), potassium chloride (250, 500, 750 mg/dm<sup>3</sup>), superphosphate (2500, 5000, 7500 mg/dm<sup>3</sup>) on general protein content in the haemolymph of *Viviparus viviparus* in norm and under invasion with *Echinoparyphium petrowi* trematode is researched. This index is established to depend on the phase of pathological process caused by animal poisoning. Under trematode invasion the demaging influence of poisoning aggravaters.

*Keywords: fertilizers, Viviparus viviparus, Echinoparyphium petrowi, haemolymph, general protein*

Рекомендує до друку

В.В. Грубінко

Надійшла 18.09.2013