

А.П. Стадниченко,
доктор біологічних наук, професор;
Л.Д. Іваненко,
старший викладач;
О.А. Мостіпака,
старший лаборант;
Л.О. Степчук,
студентка;
Р.А. Гоменюк,
студентка
(Житомирський педуніверситет)

ВПЛИВ СУЛЬФАТУ МІДІ НА ВМІСТ КАРОТИНОЇДІВ У ГЕМОЛІМФІ СТАВКОВИКА ОЗЕРНОГО (*MOLLUSCA: PULMONATA: LYMNAEIDAE*) В НОРМІ ТА ПРИ ІНВАЗІЇ ПАРТЕНІТАМИ ТРЕМАТОД

У середовищі, затруєному сульфатом міді (0,2, 1, 1,8 мг/л), вміст каротиноїдів у гемолімфі *Lymnaea stagnalis* знижується на 23-35%, причому у особин, інвазованих трематодами, – у більшій мірі, ніж у незаражених моллюсків.

На початок третього тисячоліття в забрудненні як природних, так і штучних водойм України, серед інших поллютантів на одне з перших місць вийшли йони важких металів. Загальновідомо, що для усіх, без виключення, гідробіонтів вони є вкрай небезпечними через те, що, потрапивши в організм, утворюють у ньому стійкі комплекси з речовинами білкового походження, в тому числі з такими важливими для забезпечення нормальної його життєдіяльності, як ферменти, гормони та інші, котрі при цьому втрачають притаманні їм властивості.

В останній чверті 20-го століття дослідженнями Карнаухова було з'ясовано [1], що у червоногих легеневих моллюсків є захисно-приспосувальний апарат, дія якого скерована на підтримання життєздатності цих тварин за умов дефіциту кисню або забруднення навколишнього середовища токсикантами (в першу чергу – органічної природи). Він представлений каротиноксисомою – внутрішньоклітинним органідом, до складу якого входять каротиноїди, гемопротеїни (гемоціанін) та інші дихальні ферменти. Каротиноксисома, як гадає вищезгаданий автор, здатна депонувати кисень (акцептор електронів) і виробляти енергію за умов нестачі кисню у водному середовищі або при забрудненні його різними токсикантами. З цього витікає, що про напруженість захисно-приспосувального процесу у моллюсків має свідчити рівень вмісту в їх організмі каротиноїдів.

Ми прослідкували за динамікою цих речовин у гемолімфі ставковика озерного *Lymnaea stagnalis* (Linné, 1758) у нормі та при інвазії його партенітами і церкаріями ехіностоматидних ("пташиних") трематод – Echinostomatidae (*Echinostoma* sp.), підданих дії різних концентрацій сульфату міді ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$). Зрозуміло, що при цьому потерпають різні фізіологічні функції організму, що проявляється у їх пригніченні, а часом – у цілковитій неможливості здійснення. За цих обставин виникає інтерес до дослідження захисно-приспосувальних механізмів, дія котрих скерована на підтримання життєдіяльності гідробіонтів на оптимальному або близькому до нього рівні.

Моллюсків збирали вручну в басейнах річок Середнього Придніпров'я в 1979-2001 рр. (місця збирання матеріалу зазначені в таблиці 1). У лабораторію тварин доставляли в поліетиленових пакетах (без води) і одразу використовували в експериментах. Токсикологічні дослідження поставлено за методикою Алексеєва [2]. Орієнтаційним дослідом встановлено значення основних токсикологічних показників – LC_0 і LC_{100} . Значення LC_{50} визначено графічно за Прозоровським [3]. У межах LC_0 - LC_{50} ми підібрали три концентрації – 0,2, 1, 1,8 мг/л (з однаковим інтервалом між ними), котрі було використано в основному досліді. Усі розчини готували на дехлорованій шляхом відстоювання (1 доба) воді, взятій із житомирської водогінної мережі. Тривалість експозиції тварин у затруєному середовищі становила 2 доби.

Перед початком експозиції ставковиків вимірювали штангенциркулем з точністю до 0,1 мм (визначали висоту черепашки), обсушували фільтрувальним папером і на електронних терезах (WPS 1200) встановлювали тотальну масу тіла. Ці відомості зосереджені в таблиці 1.

Гемолімфу отримували методом прямого знекровлювання тварин з метою виявлення в ній рівня вмісту каротиноїдних пігментів за методикою Рачевського [4].

З тканин гепатопанкреаса кожного з досліджених моллюсків виготовляли тимчасові препарати на предмет виявлення у них трематодної інвазії. Паразитологічний матеріал визначали тільки на живих об'єктах [5].

Цифрові матеріали оброблено методами варіаційної статистики за Лакінім [6].

Загальні відомості про матеріал дослідження

Інвазія	n	Висота черепашки, мм		Маса тіла, мг	
		lim	$\bar{x} \pm m \chi$	lim	$\bar{x} \pm m \chi$
Контроль					
Немає Є	27	37,0-46,2	40,89±0,35	1650-3380	2371,00±66,12
	23	34,4-49,3	41,33±0,73	1130-4050	2575,02±132,20
0,2 мг/г					
Немає Є	30	36,7-48,3	41,27±0,64	1240-3140	2340,01±110,00
	26	36,9-47,8	43,12±0,59	1640-3570	2600,10±100,01
1 мг/л					
Немає Є	34	33,3-49,8	40,06±1,07	1200-4910	2330,00±243,00
	18	38,4-48,9	38,40±48,90	1720-3900	2566,61±153,90
1,8 мг/л					
Немає Є	39	26,4-44,9	40,84±1,08	1300-3030	2260,00±109,90
	18	37,6-45,7	42,79±1,004	1790-3010	2519,80±143,56

Перше знаходження каротиноїдів у молюсків належить Комфурту [7], котрий виявив їх у яйцеклітинах Rotasea. Пізніше їх було виявлено в різних органах як прісноводних, так і морських молюсків – у гепатопанкреасі, гонадах, нирках, нервовій тканині та в очах [8-16]. В їх організм ці речовини надходять з їжею рослинного походження. Зі 180 відомих на сьогодні каротиноїдів [17] у молюсків виявлено близько десяти, а переважають з них три – α - та β -каротиноїди і ксантофіл. У поліфагів домінуючим пігментом є ксантофіл, натомість у фітофагів – α - та β -каротиноїди. Найбільшим вмістом каротиноїдів відзначаються ті органи молюсків, де найінтенсивніше перебігає обмін речовин (гепатопанкреас, гонади). До наших досліджень [18-19] вміст каротиноїдів у гемолімфі молюсків не визначався.

З'ясовано, що концентрація каротиноїдів у внутрішньому середовищі ставковика озера коливається в дуже широких межах – від 20 до 2400 $\gamma\%$ і підпадає сезонній (рис.1) і популяційній мінливості (табл. 2).

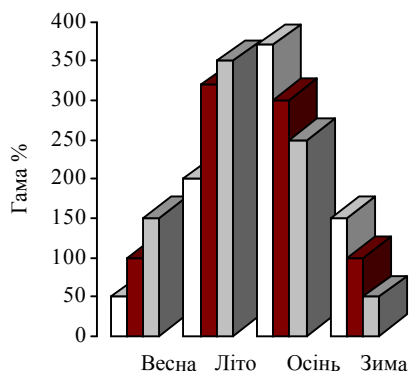


Рис.1. Сезонна динаміка вмісту каротиноїдів ($\gamma\%$) у гемолімфі *Lymnaea stagnalis* (ставок, хутір Затишшя).

Таблиця 2.

1.1. Вміст каротиноїдів ($\gamma\%$) у гемолімфі *Lymnaea stagnalis* із різних популяцій

Біотоп	n	lim	$\bar{x} \pm m \chi$	σ	V
р. Горинь, Славута	65	59,4 – 120,0	85,90 ± 6,50	27,8	32,40
Став, хутір Затишшя	214	119,0-441,0	280,00±15,00	56,0	26,00
Полой, р.Кам'янка	37	109,1 – 1200,0	527,78±53,59	325,8	61,58
Затон р.Жерів, Лугини	106	1321,0 – 404,0	216,00±23,20	81,0	30,00

Як видно з рисунка, рівень вмісту каротиноїдів у гемолімфі ставковика влітку та восени найвищий і у цей час досить стабільний. Взимку ж і рано навесні спостерігається статистично вірогідне (P більше 99,9%) зниження значення обговорюваного показника. Це зумовлене тим, що в зимовий період часу ці тварини перебувають в анабіотичному стані, через що й не живляться. Рано ж навесні, невдовзі після виходу молюсків з анабіозу,

несприятливими для них є умови живлення, що пов'язане зі слабким розвитком у цей час водної рослинності – основного компонента їх кормової бази.

Таблиця 3.

Вміст каротиноїдів (γ%) у гемолімфі *Lymnaea stagnalis*, інвазованих трематодами

Біотоп	Інвазія	Локалізація трематод	n	lim	$\bar{x} \pm m \bar{x}$	σ	V
Р.Горинь, Славута	<i>Opisthioglyphe ganae</i>	Перівісцеральний синус гемоцеля	31	34,5-100,0	68,90±3,51	12,1	17,5
Став, хутір Затишся	<i>Opisthioglyphe ganae</i>	Перівісцеральний синус гемоцеля	178	113,0-329,0	226,0±10,5	71,0	25,0
Затон р. Жерів, Лугини	<i>Opisthioglyphe ganae</i>	Перівісцеральний синус гемоцеля	9	64,0-590,0	127,0±21,7	65,0	24,7
Полой р.Кам'янка	<i>Echinostoma sp.</i>	Гепатопанкреас	23	200,0-1200,0	517,46±70,60	338,9	61,9 1

Популяційні відмінності цього показника зумовлені особливостями біотопа, в першу чергу – якісним складом і ступенем розвитку водних макрофітів, переважаючих звичайно у складі харчового комка ставковика. У стоячих водоймах розвиток багатоклітинних водоростей і квіткових рослин значно більший, ніж у водоймах проточних. Отже, і умови живлення ставковиків в останніх гірші. Гадаємо, що саме з цієї причини вміст каротиноїдів у їх гемолімфі нижчий. Наприклад, у особин з тієї ділянки Горині, де швидкість течії сягає 1 м/с, а водна рослинність вкрай бідна, концентрація каротиноїдів у гемолімфі в 1,8 – 2,2 рази нижча (P більше 99,9%), ніж у тварин, приурочених у своєму поширенні до стоячих або слабкопроточних водойм (швидкість течії близько 0,1 м/с).

Таблиця 4.

Вплив різних концентрацій сульфату міді (мг/л) на вміст каротиноїдів (γ%) у гемолімфі *Lymnaea stagnalis* у нормі та при інвазії трематодами

Інвазія	n	lim	$\bar{x} \pm m \bar{x}$	σ	V
Контроль					
Немає Є	37	109,1-1200,0	527,78±53,59	325,8	61,58
	23	200,0-1200,0	547,40±70,60	338,9	61,91
0,2 мг/л					
Немає Є	20	150,0-1200,0	395,26±59,18	266,3	67,38
	26	150,0-1200,0	364,96±49,20	250,9	68,75
1 мг/л					
Немає Є	14	150,0-1200,0	407,88±78,62	290,9	71,32
	18	146,3-1200,0	331,06±60,22	252,9	76,40
1,8 мг/л					
Немає Є	20	48,0-2400,0	340,56±49,88	217,49	63,86
	10	160,0-2400,0	372,91±77,95	220,60	59,16

У молюсків, інвазованих партенітами та церкаріями трематод, вміст каротиноїдів у гемолімфі залежить від інтенсивності інвазії. При слабкому ступені ураження їх паразитами статистично вірогідні зміни цього показника відсутні (таблиця 3). При значній інвазії рівень вмісту каротиноїдів понижується в кілька разів (P більше 99,9%). У чому тут причина? Їх, напевне, кілька. По-перше, каротиноїди молюсків- хазяїв споживаються паразитами. Адже у тегументі партеніт трематод, у стінках кишковника редій, у сформованих церкаріях неодноразово виявлено ці речовини [14], а джерелом їх може бути тільки організм їх проміжного хазяїна. По-друге, зменшення концентрації каротиноїдів у ставковиків може бути споводоване некротичним розпадом значних ділянок гепатопанкреаса. По-третє, у інвазованих ставковиків при помірній інтенсивності інвазії зростає величина середньодобового раціону, але одночасно із тим і швидкість проходження їжі через травний тракт [20]. Останнє може спричинитися до того, що каротиноїди, котрі надходять в організм молюсків з їжею, не встигають всмоктуватися середньою кишкою і проходять через неї транзитом.

Вплив різних концентрацій сульфату міді (мг/л) на відхилення від норми (%) вмісту каротиноїдів у гемолімфі *Lymnaea stagnalis*

Концентрація токсиканта	Інвазія	Відхилення	P, %
0,2	Немає	-25,11	Більше 99,9
	Є	-33,34	Більше 99,9
1,0	Немає	-22,81	Більше 99,9
	Є	-39,53	Більше 99,9
1,8	Немає	-35,47	Більше 99,9
	Є	-31,88	Більше 99,9

У середовищі, забрудненому сульфатом міді у концентрації 0,2-1,8 мг/л, у всіх піддослідних тварин спостерігається статистично вірогідне (P більше 99,9%) зниження рівня вмісту каротиноїдів у гемолімфі (табл. 4). У незаражених особин концентрація каротиноїдів знижується на 23-35%. Рівень падіння їх вмісту у інвазованих трематодами моллюсків дещо вищий – 32-40%, що може свідчити про напруженість захисно-приспосувальних механізмів у тварин, які підпали дії паразитарного чинника. Цікаво, що усі зрушення обговорюваного чинника в межах використаних у наших дослідах концентрацій токсикантів однонаправлені та близькі за значеннями, тобто не залежать від концентрації поллютанта в середовищі (таблиця 5). Це стосується як вільних від інвазії, так і уражених паразитами тварин.

1. Карнаухов В.Н. Роль моллюсков с высоким содержанием каротиноидов в охране водной среды от загрязнения. – Пушкино: Изд-во АН СССР. – 1978. – 74с.
2. Алексеев В.А. Основные принципы сравнительно-токсикологического эксперимента // Гидробиол. журн. – 1981. – Т.17. – №3. – С.92-100.
3. Прозоровский В.Б. О выборе метода построения кривой летальности и определение средней летальной дозы // Журн. общ. биол. – 1960. – Т.21. – №3. – С.221-228.
4. Балаховский С.Д., Балаховский И.С. Методы химического анализа крови. – М.: Медгиз, 1953. – 746 с.
5. Здун В.І. Личинки трематод в прісноводних моллюсках України. – К.: Вид-во АН УРСР, 1961. – 141 с.
6. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высш. шк., 1973. – 343 с.
7. Comforf A. Lipochromes in the ova of Pila // Nature (London). – 1947. – Vol. 160. – №9. – P. 333-334.
8. Kubišta V. Elovenfarbstoffe in einigen Stylommatophoren // Vešt. Českosl. Společ. Zool. – 1953. – В. 18. – №3. – S. 177-180.
9. Гудвин Т. Сравнительная биохимия каротиноидов. – М.: ИЛ, 1954. – 396 с.
10. Fischer L.R., Kon S.K., Thompson S.Y. Vitamin A and carotenoids in certain invertebrates. IV. Mollusca: Loricata, Lamelli-branchiata and Gastropoda. // J. Marine Biol. Assoc. UK. – 1956. – Vol. 35. – №1. – P. 41-61.
11. Vilela G.G. Carotenoids of some Brazilian freshwater gastropods of genus Pomacea // Nature. – 1956. – Vol. 178. – №4524. – P.95.
12. Eakin R.M., Brandenburger I.L. Localization of vitamin A in eye of a pulmonate snail // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – Vol. 60. – №1. – P. 140-145.
13. Goodwin T.W. Pigments of Mollusca // Chem. Zool. – 1972. – Vol. 7. – P. 187-199.
14. Hoskin G.P., Cheng T.C. Occurrence of carotenoids in *Himasthla quissetensis* rediae and the host *Nassarius obsoletus* // J. Parasitol. – 1975. – Vol. 61. – №2. – P.381-392.
15. Петруняк В.В., Кувшинов Н.Н., Карнаухов В.Н. Особенности дыхания тканей моллюсков // ДАН СССР. – 1974. – Т. 219. – №2. – С. 492-495.
16. Петруняк В.В. Выделение каротиноидсодержащих субклеточных структур из нервной ткани моллюсков // Цитология. – 1976. – Т. 18. – №10. – С. 1185-1188.
17. Weedon V.C.L. Carotenoids recent advanced // Chem. Brit. – 1967. – Vol. 3. – P. 424-432.
18. Бондарчук Л.Г., Дорошенко О.В., Стадниченко А.П., Дудко Е.В. О нарушениях витаминного баланса в организме пресноводных брюхоногих моллюсков при инвазии партенітами трематод // Моллюски. Основные результаты их изучения. – 1979. – Сб.6. – С. 227-227.
19. Бондарчук Л.Г., Дорошенко О.В., Дудко Е.В., Омельченко А.В., Погребняк Л.Д., Радущинский В.Э., Стадниченко А.П., Табачук Л.В., Шапран Ю.П. Влияние трематодной инвазии на содержание каротиноидных пигментов в гемолімфе пресноводных моллюсков // Пробл. паразитол. – К.: Наук. Думка. – 1980. – Ч.1. – С. 82-83.
20. Стадниченко А.П., Коцюк Р.В. Влияние различных концентраций поверхностно-активных веществ на величину суточных рационов и продолжительность прохождения пищи у *Lymnaea stagnalis*, инвазированного партенітами *Echinostoma revolutum* // Паразитология. – 1990. – Вып. 6. – С. 528-532.

Матеріал надійшов до редакції 21.08.01.

А.П. Стадниченко, Л.Д. Іваненко, О.А. Мостипака, Л.О. Степчук, Р.А. Гоменюк. Вплив сульфату міді на вміст каротиноїдів у гемолімфі ставковика озера (Mollusca: Pulmonata: Lymnaeidae) в нормі та при інвазії партенітами трематод

Стадниченко А.П., Іваненко Л.Д., Мостипака О.А., Степчук Л.О., Гоменюк Р.А. Влияние сульфата меди на содержание каротиноидов в гемолимфе прудовика озера (Mollusca: Pulmonata: Lymnaeidae) в норме и при инвазии его партенитами трематод.

Растворы сульфата меди (0,2-1,8 мг/л) вызывают падение уровня содержания каротиноидов в гемолимфе Lymnaea stagnalis на 23-35%. У инвазированных особей это отклонение выражено намного ярче, чем у моллюсков незараженных.

Stadnychenko A.P., Ivanenko L.D., Mostypaka O.A., Stepchuk L.O., Gomenyuk R.A. Trematoda invasion and sulphate copper impact upon carotenoids of haemolymph of Lymnaea stagnalis (Mollusca: Pulmonata: Lymnaeidae).

Trematoda invasion and different concentrations of sulphate copper (0.2-1.8 mg/l) impact on carotenoids of haemolymph of Lymnaea stagnalis have been investigated. These molluscs demonstrate a decrease of contents of carotenoids in haemolymph by 23-35%. This deviation is expressed in infected molluscs to a far greater extent than in noninfected ones.