

### ВПЛИВ ЧИННИКІВ СЕРЕДОВИЩА НА РЕГУЛЯЦІЮ БІЛКОВОГО ОБМІНУ У ВИТУШКИ ПУРПУРНОЇ (MOLLUSCA:PULMONATA:BULINIDAE)

*Вивчено вплив різних концентрацій амонію нітрату (2000, 4000, 6000 мг/л) на вміст загального білка (мг/л) в гемолімфі витушки пурпурної при дії на неї різних чинників середовища абіотичної (дефіцит кисню, кисла реакція води, хронічна дія низьких доз радіонуклідів донних відкладень) і біотичної природи (трематодна інвазія та метаболіти синьо-зелених водоростей).*

Відомо, що під впливом кисневого голодування, отруєння токсинами та метаболітами синьо-зелених водоростей, а також паразитів (партеніт і церкарій трематод) в організмі молюсків відбувається зміна співвідношень компонентів органічних речовин, які беруть участь в енергетичному обміні [1]. З них найбільше значення мають білки, оскільки вони є не тільки головним будівельним матеріалом клітини, але й регуляторами всіх біохімічних процесів, які перебігають в організмі. Зростаюче з року в рік антропогенне забруднення водного середовища супроводжується погіршенням умов існування в ньому тварин, що призводить до скорочення абсолютної чисельності та густини поселення біонтів. Нас цікавило, які зміни у вмісті загального білка гемолімфи спостерігаються у витушки пурпурної під комплексною дією на неї різних концентрацій амонію нітрату та інших чинників як абіотичної (дефіцит кисню, кисла реакція води, підвищений вміст радіонуклідів у донних відкладеннях), так і біотичної природи (токсини і метаболіти синьо-зелених водоростей, інвазія партенітами і церкаріями трематод).

**Матеріал і методика.** Матеріал: 283 екз. однорозмірних витушок пурпурних *Planorbis purpura* (O.F.Muller, 1774) з середнім діаметром черепашки  $28,6 \pm 0,03$  мм, зібраних у липні-серпні 1998 р. в р. Крошенці (Житомир) і в безіменній притоці р.Норин (с.Клочки Житомирської обл.), які дуже відрізняються за умовами середовища. Перша з цих водойм: рН - 7,5–8,0, вміст кисню – 8,2-9,0 мг/л; друга: рН- 5,9-6,1, вміст кисню - 5,9-6,7 мг/л, радіоактивність донних відкладів - 1,4-1,8 Бк/кг, 4-ий ступінь “цвітіння” води [2].

Матеріал збирали вручну. Після доставки в лабораторію (у відкритих поліетиленових пакетах без води) зразу використовували в експериментах. Токсикологічні досліді (орієнтовний і основний) поставлені за методикою Алексєєва [3]. В основному досліді як токсикант використовували амонію нітрат в концентраціях 2000, 4000, 6000 мг/л. Гемолімфу отримували методом прямого знекровлення витушок. Вміст у ній загального білка визначали за Розенхалом [4].

Зараженість молюсків трематодами встановлювали при розтині хазяїв і виготовленні тимчасових препаратів із тканин органів вісцерального мішка. Видову приналежність трематод визначали на живому матеріалі за допомогою мікроскопа МБИ-3. Всі витушки були інвазовані редіями і церкаріями, котрі належать до родини Echinostomatidae (*Echinoragium* sp.).

Цифрові результати досліджень оброблено методами варіаційної статистики за Лакінім [5].

**Результати дослідження та їх обговорення.** В контрольній групі тварин, добутих з водойм як з досить непоганими (р.Крошенка), так і з несприятливими умовами існування (водойма в басейні р.Норин), статистично достовірних відмінностей у вмісті загального білка в гемолімфі не виявлено. Це стосується і неінвазованих, і інвазованих трематодами особин. Відсутні й відмінності за цим показником між незараженими та інвазованими трематодами витушками, котрі проживають у межах однієї й тієї ж водойми (табл.1). На перший погляд це здається дивним, оскільки добре відомо [6], що синтез більшості білків і їх комплексів з вуглеводами і ліпідами (глікопротеїдів і ліпопротеїдів), які також входять до складу загального білка, здійснюється у хребетних тварин у печінці (у молюсків – у гепатопанкреасі). Партеніти трематод, у тому числі й редії ехіностоматид, локалізуються в організмі молюсків саме в цьому органі, викликаючи дегенеративні й некротичні його зміни. Ступінь їх вираженості прямо пропорційна інтенсивності інвазії, яка, як виявилось, у більшості досліджених нами тварин є невисокою (поодинокі осередки паразитарного ураження площею 1,5x1,5 мм). При цьому морфофункціональні порушення роботи гепатопанкреаса несуттєві. Інша картина спостерігається при середньому ступені інвазії (уражено трематодами до 50% об'єму гепатопанкреаса) і тотальному ураженні цього органу. Він втрачає значною мірою або повністю здатність виконувати білковоутворюючу функцію. Через це в гемолімфі витушок при вищезгаданому рівні інвазії вміст загального білка різко скорочується (в 2-5 разів) проти норми. Однак це суттєво не відбилося на посередніх результатах дослідження обговорюваних груп тварин, оскільки таких молюсків серед досліджених нами тварин була незначна кількість.

Таблиця 1. Вплив розчинів нітрату амонію на вміст білка (мг/л) в гемолімфі витушок пурпурних у нормі та при інвазії трематодами (р.Крошенка, м.Житомир)

Інвазія	n	Статистичні показники			
		Lim	$\bar{x} \pm m_x$	$\sigma$	CV
Контроль					
Немає	20	6.3-13.0	6.78±0.63	2.80	41.30
Є	10	6.3-13.0	5.92±0.85	2.70	45.60
2000 мг/л					

Немає	23	6.3-48.0	24.87±2.54	12.18	48.97
Є	22	6.3-43.8	23.69±2.17	10.19	43.00
4000 мг/л					
Немає	29	8.6-52.5	31.28±0.35	1.90	6.07
Є	21	13.0-48.1	32.27±1.84	8.44	26.15
6000 мг/л					
Немає	9	30.6-41.6	37.24±1.42	4.26	11.44
Є	9	24.0-41.6	31.58±2.00	5.99	18.97

Застосувавши шкалу токсичності речовин для гідробіонтів [7], орієнтовним токсикологічним дослідом встановлено, що амонію нітрат для витушки пурпурної є слаботоксичною речовиною (МДК=10000 мг/л). Використані в основному досліді концентрації цього токсиканту вкладаються в інтервал ЛК<sub>0</sub>-ЛК<sub>50</sub>.

У середовищі, що містить 2000-6000 мг/л токсиканту, у всіх піддослідних тварин розвивається гіперпротеїнемія, рівень якої прямо пропорційний концентрації амонію нітрату (табл.1, 2). При цьому вміст загального білка в гемолімфі зростає в неоднаковій мірі у особин крошенської та клочківської популяцій. Так, у перших з них цей показник у середньому збільшується проти норми в 4,7 (у незаражених – у 4,6, у заражених – у 3рази), а в других – у 3,7 рази (в незаражених – у 3,1, у заражених – у 2,7 рази). Ступінь вірогідності відмінностей – 99,9% і вище.

Таблиця2. Вплив розчинів амонію нітрату на вміст білка (мг/л) в гемолімфі витушок пурпурних в нормі та при інвазії трематодами (безіменна водойма в басейні р.Норин, с.Клочки Житомирської обл.)

Інвазія	University	Статистичні показники			
		Lim	$\bar{x} \pm m_x$	$\sigma$	CV
Контроль					
Немає	18	5.9-6.3	6.18±0.03	0.12	1.94
Є	15	5.9-6.3	6.12±0.07	0.16	2.61
2000 мг/л					
Немає	16	8.6-21.8	14.00±0.84	3.35	23.93
Є	14	8.6-15.2	13.60±1.03	2.06	15.15
4000 мг/л					
Немає	24	6.3-37.2	19.87±1.85	9.08	45.70
Є	13	21.8-37.2	29.13±4.47	7.73	26.54
6000 мг/л					
Немає	26	8.6-39.4	24.00±1.07	5.45	22.70
Є	14	28.4-39.4	34.45±2.27	4.54	13.18

Солі амонію – токсиканти резорбтивної дії [7], тобто їх токсичний ефект проявляється тільки при певному рівні накопичення у гідробіонтах. Амонію нітрат – отрута комбінованої дії (локальної, нервово-паралітичної, гемолітичної). Ймовірно, однією з причин гіперпротеїнемії у піддослідних тварин є гемоліз гемоцитів гемолімфи витушок, у результаті якого білки цитоплазми формених елементів виявляються у плазмі внутрішнього середовища цих тварин. Однак, враховуючи той факт, що клітинні елементи циркуляторної системи складають у цих тварин не більше 2-3% від загального її об'єму [8], стає зрозумілим, що підвищення рівня вмісту загального білка у особин, які перебувають в отруєному середовищі, тільки деякою мірою обумовлені згаданою вище причиною. Скоріше всього, на нашу думку, гіперпротеїнемія є не стільки проявом патологічного, скільки захисно-приспосувального процесу, адже саме білки підтримують на певному рівні осмотичний і онкотичний тиск, регулюючи тим самим водно-сольовий обмін у гідробіонтів. При дії на витушок розчинами амонію нітрату у них спостерігається обводнення тіла, котре виявляється спочатку появою легкої пастозності, а потім розвитком великих розлитих набряків. При цьому, ймовірно, активізується мобілізація білків з гепатопанкреаса в основний компонент внутрішнього середовища витушок – гемолімфу, що сприяє підвищенню захисних сил організму цих гідробіонтів. Загальновідомо [6], що білки визначають й імунні властивості організму. Тому не виключено, що гіперпротеїнемія значною мірою є захисною реакцією на дію чужерідних речовин, які надходять в організм молосків. Це підтверджується й нашими попередніми дослідженнями, за якими у витушок при 2000-6000 мг/л амонію нітрату в середовищі різко зростає рівень вмісту в гемолімфі глобулінів – білків, які відповідають за захисні властивості організму. Глобулінів, однакових за рівнем рухливості в електричному полі, з глобуліновими фракціями сироватки крові людини у витушок немає [9], але близькі їм за цим показником глобуліни наявні, це дозволяє припустити, що вони виконують однакові з ними функції і серед інших – захисну.

Вміст білків визначається співвідношенням їх синтезу і розщеплення. Тому підвищена концентрація білка в гемолімфі витушок, підданих дії отруєного середовища, може бути зумовлена не тільки мобілізацією їх з гепа-

топанкреаса, але й не меншою мірою і підвищенням інтенсивності їх синтезу у відповідь на дію паразитарного чинника.

\*\*\*\*\*

1. Биргер Т.И. Метаболизмы водных беспозвоночных в водной среде. – К.: Наук. думка, 1979. – 189 с.
2. Пидгайко М.Л. Прибрежный зоопланктон в условиях «цветения» воды в Кременчугском водохранилище // Гидробиол. журн. – 1969. – № 5, вып. 3. – С.26-32.
3. Алексеев В.А. Основные принципы сравнительно-токсикологического эксперимента // Гидробиол. журн. - 1981. – № 3. – С.92-99.
4. Rosenthal H.L., Cundiff H.I. *Elm. Chem.*, 1956. – V. 2. – P 394.
5. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высш. шк., 1973. – 348 с.
6. Ленинджер А. Основы биохимии: В 3-х т. Пер. с англ. – М.: Мир, 1985. - Т.3. – 320 с.
7. Метелев В.В., Канаев А.И., Дзасохова Н.Г. Водная токсикология. – М.: Колос, 1971. – 247 с.
8. Стадниченко А.П., Иваненко Л.Д., Колосенко Н.А., Бубон А.Б., Литвинчук Р.В. Патоморфологические изменения клеточных элементов гемолимфы пресноводных моллюсков (Gastropoda, Pulmonata) при инвазии их партенитами трематод // Паразитология. - 1981. – Т.15, вып.5. – С.407-414.
9. Стадниченко А.П., Иваненко Л.Д., Бургомистренко Л.Г. Изменение физико-химических свойств гемолимфы *Planorbium corneus* (Gastropoda, Pulmonata) при инвазии партенитами *Cotylurus cornutus* (Trematoda, Strigeidae) // Паразитология. - 1980. – Т.14, вып.1. – С.66-70.

Стадниченко Агнеса Полікарпівна – доктор біологічних наук, професор, завідувач кафедри зоології природничого факультету Житомирського державного педагогічного університету імені Івана Франка.

Наукові інтереси:

- зоологія (малакологія);
- паразитологія;
- екологія (гідробіологія).

Киричук Галина Євгеніївна – кандидат біологічних наук, асистент кафедри зоології природничого факультету Житомирського державного педагогічного університету імені Івана Франка.

Наукові інтереси:

- зоологія (малакологія);
- гістологія;
- екологія (гідробіологія).

Таран Каріна Володимирівна – студентка I курсу природничого факультету Житомирського державного педагогічного університету імені Івана Франка.