

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 міндобриг, 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  $0,86 \pm 0,11\%$ , а у близького йому вида *V. contectus* –  $5,0 \pm 0,03$  (самки) і  $4,0 \pm 0,03\%$  (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. калюжниці 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  $19 - 22^{\circ}\text{C}$ , pH  $7,2 - 7,6$ , 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  $\text{LK}_0$ ,  $\text{LK}_{50}$ ,  $\text{LK}_{100}$  для особин, підданих дії різних концентрацій ( $0,001$ ,  $0,01$ ,  $0,1$ ,  $1$ ,  $10$ ,  $100$ ,  $1000$ ,  $10000$  мг/дм<sup>3</sup>) таких міндобив як натрієва селітра, хлорид калія і простий суперфосфат. Опісля у межах  $\text{LK}_0 - \text{LK}_{50}$  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 дослідях (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 retrowi* Nevost., марити 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 трематоли руйнують як міжацинарну сполучну тканину, так і печінкові трубочки (ациниси) значної частини гепатопанкреаса, через що знижується його білковоутворювальна функція. У досліджених нами *V. viviparus* за інвазії неушкодженими залишалося 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 концентрацій 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 **хлорида 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 хлорида 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.

Таблиця

Вплив міндобриг 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 дослідках.

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 хлорида 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 гомеостазу. 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 молюсків залежить від природи міндобрив, 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 молюсків. Трематодна інвазія при цьому є таким чинником, який поглиблює шкодочинну дію міндобрив на них.

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

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 молюсках 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 НИИНТИ 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, PECTINIBRANCHIA,  
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:* минудобрения, *Viviparus viviparus*, *Echinoparyphium petrowi*, гемолимфа, общий 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