

УДК 591.111.05:576.895.122:594.38

**ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ГЕМОЛІМФИ *PLANORBARIUS PURPURA* ТА
P. CORNEUS (*MOLLUSCA:GASTROPODA:PULMONATA: BULINIDAE*)**

Г. Киричук, А. Стадниченко

*Житомирський державний педагогічний університет імені Івана Франка,
вул. В.Бердичівська, 44, Житомир, 10008, Україна*

Досліджено вплив трематодної інвазії на сім головних показників гемолімфи *Planorbarius purpura* та *P. corneus*. З'ясовано, що фізико-хімічні особливості гемолімфи залежать від екотопу та сезону року. Однак видових відмінностей щодо обговорюючих показників не виявлено.

Ключові слова: гемолімфа, молюски, трематоди, гемоглобін.

Представники родини *Bulinidae* мають у гемолімфі розчинений у плазмі гемоглобін [14] – один з дихальних пігментів гемолімфи молюсків. Питання про функціональне навантаження цього пігменту давно обговорюють дослідники [12, 13], однак, нема однозначного погляду на цю проблему. Одні вчені [5] вважають, що головною функцією гемоглобіну є транспортування кисню до тканин та вуглекислого газу від них, інші [11] переконані, що він підтримує колоїдно-осмотичний тиск гемолімфи. Існує також думка, що цей білок є одним із важливих чинників водно-сольового обміну. Припускають [2], що гемоглобін забезпечує високу буферну ємність гемолімфи тоді, коли молюски переходят на анаеробний шлях обміну. Аналіз усіх висловлених думок привів до висновку [3] про поліфункціональні можливості цього дихального білка.

З огляду на широкі можливості фізіологічних функцій цього показника постає потрібна проаналізувати деякі його особливості, а саме: популяційну, сезонну та видову мінливість, і простежити залежність його від дії паразитарного чинника. Аналіз літературних джерел засвідчив, що такі відомості є [8], однак вони розрізнені і нечисленні. Крім того, наші дослідження - це передумова вивчення біохімічних адаптацій гідробіонтів щодо токсикологічного впливу на них різних хімічних реагентів та вивченням впливу останніх на особливості вмісту гемоглобіну в гемолімфі молюсків родини *Bulinidae*.

Матеріал: 371 екз. завитків рогових *Planorbarius corneus* (Linné, 1758) та 60 екз. завитків пурпуркових *P. purpura* (Müller, 1774), зібраних у водоймах басейну Середнього Дніпра (Житомирська обл.), зокрема, у меліоративному рівчаку (хутір Затишшя), у річках Тетерів і Гуйва (м. Житомир) та Уборть (смт. Ємільчене Житомирської обл.) наприкінці квітня - на початку травня 1999 р., наприкінці червня - на початку липня 1999 р., у жовтні 1992, 1996, 1999 рр.

Трематодну інвазію у молюсків визначали за результатами мікроскопічного дослідження тканин їхнього гепатопанкреасу; видову належність трематод – на живому мате-

ріалі. Молюски були спонтанно інвазовані: *P. corneus* спороцистами та метацеркаріями *Cotylurus cornutus* (Rud.), редіями *Echinoparyphium aconiatum* Dietz та *Tylodelphys excavata* Rud., а *P. purpura* – редіями *E. aconiatum* Dietz.

Гемолімфи отримували методом прямого зневодження безпосередньо перед дослідженням. За допомогою інсулінового шприца заміряли загальний об'єм гемолімфи. Масу тварин визначали на електронній вазі типу WPS 1200/C. Активну реакцію гемолімфи визначали за допомогою індикатора “Фан”, частково – потенціометрично. Вміст гемоглобіну виявляли солянокислогематиновим методом за Салі в модифікації А. П. Стадниченко [8], у цьому разі застосовували втрічі менший ступінь розведення гемолімфи соляною кислотою, що враховували під час обчислень.

Результати опрацьовані методами варіаційної статистики [6]. Прийнято такі критерії надійності зсуву [10]: 1) для “жорстких” показників – $P = 90\%$; 2) для пластичних – $P = 95\%$; 3) для малоінформаційних показників – $P = 99\%$. До показників першої групи зачислена активна реакція гемолімфи, до другої – вміст у ній гемоглобіну, до третьої – об'єм гемолімфи.

Окисно–відновні процеси, що відбуваються в організмі тварин, безпосередньо або опосередковано пов’язані з надходженням кисню до організму. Будь-яке підсилення рівня їхньої життєдіяльності залежить від збільшення або зменшення кисневої потреби організму. Саме тому за природних умов стан гіпоксії (тобто невідповідність між потраплянням та споживанням кисню) настає не тільки в разі зміни вмісту кисню у довкілля, а й унаслідок зміни діяльності самого організму [7]. Більшість гемоглобіновмісних форм живуть, звичайно, за специфічних умов кисневого режиму. Не становлять винятку і *P. corneus* та *P. purpura* – одні з найпоширеніших представників малакофауни Житомирського Полісся. Досліджуваних тварин вилучено з водойм із різним гідрологічним та гідрохімічним режимами (табл. 1). Порівняння їхньої гемолімфи за головними фізико-хімічними характеристиками засвідчило, що у *P. purpura* з Уборті об’єм гемолімфи на 29,3–41,4 % вищий, ніж у особин з двох інших біотопів. Як видно з табл. 1, ці біотопи (1 та 2) близькі між собою за гідрохімічними характеристиками.

Співвідношення об’єму гемолімфи до загальної маси тіла є в діапазоні 0,16–0,24 мг/л, що ж стосується співвідношення об’єму гемолімфи до маси м’якого тіла, то в особин з Уборті він на 29,31% вищий, ніж в інших.

Відомо [2, 8, 12], що вміст гемоглобіну у *P. corneus* коливається в межах від 0,19 до 2,17 %. Це підтверджено і нашими дослідженнями (табл. 2). У *P. corneus* інвазованих партенітами *C. cornutus* та інтактних особин з Уборті цей показник сягає $0,79 \pm 0,031$ та $0,72 \pm 0,048$ % відповідно. В особин з інших біотопів значення цього показника або є в цих межах (інвазовані особини з біотопу 2), або на 47,2–73,4 % вище. Зазначимо, що між особинами з біотопів 2 та 3 не зафіксовано статистично достовірних відмінностей між інвазованими та вільними від інвазії тваринами, тоді як у інвазованих молюсків з біотопу 1 вміст гемоглобіну на 24,6 % вищий ($P = 99\%$). Забезпеченість гемоглобіном загальної маси тіла у незаражених тварин змінюється від $1,71 \pm 0,10$ до $3,11 \pm 0,09$, в той час як у інвазованих – від $1,69 \pm 0,20$ до $3,72 \pm 0,11$ г/кг, що дещо перевищує показники, наведені І. О. Алякринською [1] (від $1,05 \pm 0,19$ до $1,60 \pm 0,41$ г/кг) для під московських та прибалтійських популяцій, та співвідноситься з показниками інших дослідників [9]. Імовірно, це є ще одним доказом екотопічної мінливості значень обговорюваних показників. Що ж стосується забезпеченості гемоглобіном маси м’якого тіла, то розбіжності щодо цього показника можуть бути пов’язані з тим, що інші дослідники [1] вивчали забезпеченість гемо-

глобіном маси тіла особин без черепашки, тобто фактично враховували масу мантійної та екстрапарієтальної рідин і гемолімфи. Ми та деякі інші дослідники [9] враховували за-безпеченість гемоглобіном лише маси м'якого тіла. Активна реакція гемолімфи (рН), як звичайно, слабокисла, що забезпечено функціонуванням її буферних систем, найважливішими з яких є гідрокарбонатна, фосфатна та білкова [1]. Підкислення гемолімфи у завитків з біотопу 3 – це наслідок розбалансування її буферних систем через специфічний гідрохімічний склад водного середовища. Крім екотопічної мінливості, нас зацікавило те, чи є сезонна та видова мінливість показників фізико-хімічних властивостей гемолімфи молюсків родини *Bulinidae*.

Таблиця 1
Гідрохімічна характеристика деяких водойм Житомирської області, мг/мл

Показник	р.Тетерів (Житомир)	Меліоративний рівчак (Житомир)	р.Уборть (смт Ємільчине)
Кольоровість	12-64	12-58	83-312
NO ₂ ⁻	0-0,380	0-0,320	0,004-0,052
NO ₃ ⁻	0-0,60	0-0,66	0-1,75
PO ₄ ³⁻	0,013-0,37	0,015-0,41	0-0,045
Загальне Fe	0,14-2,28	0,16-3,12	0,69-5,52
Ca ²⁺	24,2-113,4	28,2-101,3	5,7-24,0
Mg ²⁺	3,2-24,5	3,6-27,8	0,6-4,5
Na ⁺ та K ⁺	0,4-131,5	1,5-99,6	0,5-5,0
HCO ₃ ⁻	69,6-443,6	122,0-330,3	6,1-57,3
SO ₄ ²⁻	7,5-73,5	9,7-68,9	4,8-33,0
Cl ⁻	3,5-140,5	16,4-154,7	0,6-5,4
Вміст O ₂	8,4-8,9	8,2-8,7	7,2-7,6
Твердість	1,65-7,42	1,82-7,98	0,46-1,35

Аналіз досліджуваних показників гемолімфи *P. corneus* та *P. purpura* неінвазованих та інвазованих *E. aconiatum* засвідчив, що статистично достовірних відмінностей у жодному з них не виявлено (табл. 3). На нашу думку, це пояснюють тим, що ці види мають майже ідентичні екологічні спектри. Сезонні зміни кількісного вмісту гемоглобіну чітко прослідковуються у *P. corneus*. Наприклад, у весняних особин він на 14 – 30 % нижчий, ніж у літніх та осінніх. Зазначимо, що в неінвазованих особин *P. corneus* забезпеченість гемоглобіном загальної маси тіла у весняних особин у 1,3 раза нижча, ніж у літніх та осінніх, тоді як між літніми та осінніми особинами статистично достовірної різниці по цьому показнику не виявлено.

Що ж стосується активної реакції середовища (рН), то простежується тенденція щодо зменшення концентрації іонів водню у гемолімфі молюсків. Зокрема, у весняних особин цей показник становить 5,15±0,20, у літніх – 5,80±0,10, в осінніх – 6,40±0,13. Вивчення цього показника та дослідження його змін є досить важливим, бо відомо [2], що в анаеробному середовищі функція гемоглобіну як переносника кисню повністю випадає, і цей дихальний білок забезпечує підтримання рН внутрішнього середовища в організмі безхребетних на стабільному рівні. Отримання відомостей щодо буферних систем гемолімфи дасть змогу виявити адаптації до несприятливих умов існування та встановити їхнє біохімічні особливості. Дослідження впливу різних видів трематод на головні фізи-

ко-хімічні показники гемолімфи довели, що у *P. corneus*, інвазованих *E. aconiatum*, простежується зсув праворуч у системі гемоглобін–оксигемоглобін, про що свідчить зменшення вмісту гемоглобіну в гемолімфі тварин на 11,8 %, забезпеченості ним загальної маси тіла - на 26,5%, а маси м'якого тіла - на 38,76 %. Отже, за порівняно невисокої інтенсивності зараження цією трематодою (1-17 вогнищ паразитарного ураження гепатопанкреаса площею кожне до 1,0-1,5x1,5-2,0 мм) підвищується загальний обмін речовин в організмі молюсків, що, відповідно, призводить до зменшення значень обговорюваних показників. У молюсків, інвазованих *C. cornutus*, простежується збільшення вмісту гемоглобіну на 31,73%, тоді як у молюсків, заражених *T. excavata*, цей показник є на рівні контролю (табл. 4).

Таблиця 2

Вплив трематодної інвазії (*C. cornutus*) на головні характеристики гемолімфи *P. corneus* із водойм з різними умовами гідрологічного та гідрохімічного режимів

Показник	Інвазія	р. Тетерів (м. Житомир) (біотоп 1)			Меліоративний рівчик (х. Затишіє оконоці Житомира) (біотоп 2)			р. Уборть (смт. Ємельчене, Житомирська обл.) (біотоп 3)		
		n*	x±m _x *	CV*	n	X±m _x	CV	n	X±m _x	CV
Об'єм гемолімфи, мл	Немас	42	0,58±0,049	55,86	22	0,60±0,04	31,17	26	0,82±0,038	2,29
	Є	21	0,60±0,037	28,17	15	0,58±0,08	53,28	42	0,75±0,038	32,53
Об'єм гемолімфи до загальної маси тіла, мл/г	Немас	42	0,22±0,007	20,92	22	0,17±0,03	82,94	26	0,24±0,020	42,50
	Є	21	0,21±0,009	19,90	15	0,16±0,02	48,13	42	0,24±0,010	27,08
Об'єм гемолімфи до маси м'якого тіла, мл/г	Немас	42	0,58±0,011	12,28	22	0,53±0,02	17,74	26	0,72±0,010	7,08
	Є	21	0,57±0,009	7,23	15	0,58±0,02	13,28	42	0,75±0,020	17,20
pH гемолімфи	Немас	42	6,71±0,110	10,63	22	6,66±0,10	7,04	26	4,50±0,111	12,58
	Є	21	6,78±0,310	20,94	15	6,27±0,14	8,64	42	4,40±0,101	14,88
Вміст гемоглобіну, %	Немас	42	1,10±0,030	16,64	22	1,06±0,07	30,94	26	0,72±0,048	33,89
	Є	21	1,37±0,080	26,79	15	0,86±0,07	31,51	42	0,79±0,031	25,82
Забезпеченість гемоглобіном загальної маси тіла, г/кг	Немас	42	3,11±0,090	18,75	22	1,71±0,10	27,43	26	2,29±0,185	41,27
	Є	21	3,72±0,110	13,55	15	1,69±0,20	45,86	42	2,68±0,136	32,83
Забезпеченість гемоглобіном маси м'якого тіла, г/кг	Немас	42	5,09±0,120	15,28	22	4,75±0,05	4,95	26	6,77±0,532	40,06
	Є	21	5,98±0,170	13,03	15	4,70±0,08	6,60	42	8,35±0,414	32,13

* Примітка. У таблицях 2- 4 n – кількість досліджених особин; x - середнє арифметичне значення; m_x – похибка до середнього; CV – коефіцієнт варіації.

Отже, наявність партеніт різних видів трематод у одного й того ж виду тварин за однакової інтенсивності інвазії неоднаково впливає на обмін речовин. Наприклад, *E.*

aconiatum посилює обмін речовин, *C. cornutus* – пригнічує його, а *T. excavata* є байдужим чинником у цих тварин.

Зазначимо, що про неоднорідність впливу різних видів трематод на показники гемолімфи писали й інші дослідники [4]. Зокрема, зафіксовано різноплановий вплив трематодної інвазії на активність ферментів переамінування АлАТ і АсАТ у *Lymnaea stagnalis*, інвазованих *Cercaria stylosa* та *Xiphidiocercaria* III.

Таблиця 3
Вплив сезонної мінливості та видової належності на головні характеристики гемоглобіну молюсків родини *Bulinidae*, інвазованих партенітами *E. aconiatum*

Показники	Інвазія	Весна			Літо			Осінь					
		<i>P. corneus</i>			<i>P. corneus</i>			<i>P. purpura</i>			<i>P. corneus</i>		
		<i>n</i>	$x \pm m_x$	<i>CV</i>	<i>n</i>	$x \pm m_x$	<i>CV</i>	<i>n</i>	$x \pm m_x$	<i>CV</i>	<i>n</i>	$x \pm m_x$	<i>CV</i>
Об'єм гемолі- мфи, мл	Немає Є	46 12	0,56±0,05 0,41±0,10	54,46 85,12	39 11	0,45±0,04 0,43±0,05	50,00 39,30	41 19	0,48±0,04 0,54±0,05	50,00 44,44	14 16	0,59±0,020 0,59±0,07	12,71 44,07
Об'єм гемолі- мфи до зага- льної маси тіла, мл / г	Немає Є	46 12	0,14±0,01 0,11±0,01	48,57 31,82	39 11	0,13±0,01 0,12±0,01	47,69 27,50	41 19	0,12±0,01 0,12±0,01	33,33 33,33	14 16	0,15±0,02 0,14±0,03	50,00 85,71
Об'єм гемолі- мфи до маси м'якого тіла, мл / г	Немає Є	46 12	0,34±0,01 0,32±0,01	19,12 10,94	39 11	0,34±0,02 0,31±0,02	36,76 21,29	41 19	0,45±0,03 0,47±0,06	48,88 53,19	14 16	0,51±0,02 0,49±0,02	14,71 16,33
pH гемолімфи	Немає Є	46 12	5,15±0,20 5,00±0,50	26,21 34,64	39 11	5,80±0,11 5,50±0,25	12,24 14,93	41 19	5,76±0,26 5,66±0,36	28,65 27,74	14 16	6,40±0,13 6,40±0,15	7,81 9,38
Вміст гемо- глобіну, %	Немає Є	46 12	0,88±0,05 0,90±0,09	39,20 33,89	39 11	1,03±0,07 1,17±0,08	43,59 22,14	41 19	0,81±0,02 0,82±0,02	12,35 13,41	14 16	1,04±0,09 0,97±0,05	32,40 20,62
Забезпеченість гемоглобіном загальної маси тіла, г/кг	Немає Є	46 12	2,25±0,15 2,88±0,29	46,13 34,72	39 11	3,01±0,04 3,20±0,27	8,27 28,47	41 19	2,03±0,08 1,91±0,11	27,57 25,13	14 16	2,91±0,24 3,00±0,38	30,82 50,67
Забезпеченість гемоглобіном маси м'якого тіла, г/кг	Немає Є	46 12	5,66±0,34 7,26±0,74	41,17 35,20	39 11	6,71±0,68 7,27±0,78	63,29 35,54	41 19	7,78±0,36 6,90±0,35	29,31 22,03	14 16	6,91±0,47 6,93±0,44	25,46 25,39

Отже, вміст гемоглобіну у *P. purpura* та *P. corneus* коливається в межах від 0,19 до 2,17 %. Статистично достовірних відмінностей щодо всіх досліджених показників між цими двома видами молюсків не зафіксовано. Фізико-хімічні властивості гемолімфи *P. corneus* мають екотопічну мінливість. Наприклад, вміст гемоглобіну в 1,73 раза менший у молюсків з біотопу 3 порівняно з тваринами біотопів 1 і 2. Наявні сезонні зміни кількісного вмісту гемоглобіну у *P. corneus*. У них активна реакція середовища (pН) зростає у напрямі весна-осінь, що характеризує властивості буферної системи гемолімфи.

Таблиця 4
Вплив різних видів трематод на головні показники гемолімфи *P. corneus*

Показник	Контроль			<i>Cotylurus cornutus</i>			<i>Echinoparyphium aconiatum</i>			<i>Tylodephys excavata</i>		
	n	$x \pm m_x$	CV	n	$x \pm m_x$	CV	n	$x \pm m_x$	CV	n	$x \pm m_x$	CV
Об'єм гемолі- мфи, мл	14	0, 12,71 59±0,02	21 0,60±0,04 0,21±0,01	28,17	16 0,59±0,07 0,14±0,03	44,07 85,71	14 0,49±0,07 0,17±0,03	54,08 65,88				
Об'єм гемолі- мфи до зага- льної маси тіла, мл/г	14	0,15±0,02 14,70	50,00 21 0,57±0,01	19,90	16 0,49±0,02 0,51±0,01	16,33	14 0,51±0,01 7,25					
Вміст гемо- глобіну, %	14	1,04±0,09 32,40	21 1,37±0,08 26,79	16 0,83±0,05 2,30±0,38	24,09	14 1,08±0,06 66,09	20,74 14 3,84±0,11					
Забезпеченість гемоглобіном загальної маси тіла, г/кг	14	2,91±0,24 25,46	30,82 21 5,98±0,17	13,72±0,11 13,03	16 2,30±0,38 4,98±0,44	35,34	14 6,99±0,15 8,03					
Забезпеченість гемоглобіном маси м'якого тіла, г/кг	14	6,91±0,47 6,40±0,13	21 7,81 21 6,78±0,31	20,94	16 6,40±0,15 9,38	14 5,90±0,57	35,93					

Наявність партеніт різних видів трематод за однакової інтенсивності інвазії неоднаково впливає на показники гемолімфи. Одні види паразитів (*E. aconiatum*) ведуть до підвищення обмінних процесів, інші (*C. cornutus*) – до зниження, ще інші (*T. excavata*) є байдужим чинником. Комплексне дослідження головних фізико-хімічних показників гемолімфи в подальшому дасть змогу з'ясувати вплив різних груп токсичних речовин на дослідженіх гідробіонтів та дозволить використовувати їх як тест-об'єкти для біологічного моніторингу зовнішнього середовища.

1. Алякринская И.О. Количествоенная характеристика гемолимфы и гемоглобина роговой катушки *Planorbarius corneus* (Gastropoda, Pulmonata)// Зоол. журн. 1970. Т.49. Вып.3. С.349-354.
2. Алякринская И.О. Гемоглобины и гемоцианины беспозвоночных. М.: Наука, 1979. 155с.
3. Алякринская И.О. Функциональная роль гемоглобина в гемолимфе некоторых представителей семейства *Planorbidae* (Gastropoda, Pulmonata)// Гидробиол. журн. 1996. Т.32. №5.С.46-50.

4. Гуминский О.В. Влияние трематодной инвазии на активность аминотрансфераз гемолимфы пресноводных брюхоногих моллюсков //Паразитология. 1986. Т.20. Вып.2. С.154-156.
5. Коржуев П.А. Гемоглобин. Сравнительная физиология и биохимия. М.-Л.: Наука, 1964. 287 с.
6. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высш. шк., 1973. 343 с.
7. Слоним А.Д. Экологическая физиология животных М.: Высш. шк., 1970. 447 с.
8. Стадниченко А.П., Иваненко Л.Д., Бургомистренко Л.Г. Изменение физико-химических свойств гемолимфы *Planorbarius corneus* (*Gastropoda: Pulmonata*) при инвазии партенитами *Cotylurus cornutus* (*Trematoda, Strigeidae*) //Паразитология. 1980. Т.14. Вып 1. С.66-70.
9. Стадниченко А.П., Иваненко Л.Д., Киричук Г.Е и др. Влияние разных концентраций сульфата цинка на физико-химические свойства гемолимфы *Planorbarius* (*Mollusca: Bulinidae*) в норме и при инвазии трематодами //Паразитология. 1993. Т.27. Вып 5. С.66-70.
10. Шефтель В.О., Сова Р.Е. Критерий надежности как функция биологической значимости и вариабельности признака // Применение математических методов оценки и прогнозирования реальной опасности накопления пестицидов во внешней среде и организме. Киев: АСХН УССР, 1976. С.37-39.
11. Флоркэн М. Биохимическая эволюция. М.-Л., ИЛ. 1947. 75с.
12. Borden M.A. A study of the respiration and of the function of haemolymph in *Planorbaris corneus* and *Arenicola marina* // J. Marine Biol. Assoc. U.K..1931. Vol. 17. P.709-735.
13. Jones J.D. Aspects of respirations in *Planorbis corneus* and *Limnaea stagnalis*// Comp. Biochem. And Physiol. 1961. Vol.4. N1. P.1-29.
14. Lankester R. A contribution to the knowledge of hemoglobin // Proc. Roy. Soc. London. 1872. Vol.21. P.70-81.

**THE PHYSICS-CHEMICAL PROPERTIES OF THE HAEMOLYMPH OF
PLANORBARIUS PURPURA AND *P. CORNEUS* (*MOLLUSCA: GASTROPODA:
 PULMONATA: BULINIDAE*)**

G. Kirichuk, A. Stadnuchenko

Ivan Franko Zhitomir Teacher's Training University
 Bolshaya Berdichevskaya str., 40, Zhitomir 10008, Ukraine

The influence of trematode infection on seven characteristics of the haemolymph *Planorbarius purpura* and *P. corneus* has been investigated. The physics-chemical properties of the haemolymph depending on the ecotope and season of the year were studied. However the species difference the investigated characteristics were not discovered.

Key words: haemolymph, mollusca, hemoglobin, trematoda.

Стаття надійшла до редколегії 26.11.2002
 Прийнята до друку 14.01.2003