

А.П. Стадниченко

д. б. н.

Г.Є.Киричук

к. б. н.

Житомирський державний університет

імені Івана Франка

ВПЛИВ ТРЕМАТОДНОЇ ІНВАЗІЇ ТА ІОНІВ МІДІ ВОДНОГО СЕРЕДОВИЩА НА ГЕМОЦИТИ *PLANORBARIUS PURPURA* (MOLLUSCA: GASTROPODA: PULMONATA: BULINIDAE)

*Висвітлено вплив різних концентрацій іонів міді водного середовища (LC_{25} , LC_{50} , LC_{75}) на гемоцити *Planorbarius purpura* у нормі і за інвазії її трематодами. Встановлено, що у інвазованих тварин зростають розмірні характеристики еозинофільних мікрогранулоцитів (ЕМ) та базофільних гранулоцитів (БГ). З'ясовано, що у діапазоні концентрацій LC_{25} – LC_{50} у всіх піддослідних тварин спостерігається збільшення розмірів ЕМ, ядерно-цитоплазматичний індекс у *P. purpura* за усіх концентрацій токсиканта залишається на рівні норми, а кількість гемоцитів, яка припадає на одиницю об'єму гемолімфи, зростає.*

Постановка проблеми

Прісноводні черевоногі молюски родини *Bulinidae* – одні з найпоширеніших компонентів природних континентальних гідробіоценозів України, котрі відіграють важливу роль у колообігу в них речовин і енергії.

Загальновідомо, що кінець ХХ і початок ХХІ століть ознаменувалися суттєвим зростанням забруднення довкілля різними за природою, походженням і концентраціями поллютантами, у тому числі й іонами важких металів. Оцінити рівень впливу забруднення водного середовища останніми на продуктивність екосистем неможливо без попереднього з'ясування особливостей дії цих агентів на організм принаймні найвагоміших (у кількісному відношенні) компонентів їх видів тварин.

Гемолімфа – одна із найважливіших складових внутрішнього середовища молюсків. Через це дослідження впливу іонів важких металів як на мірні характеристики її клітинних елементів, так і на інші її кількісні характеристики, безумовно, є важливим. Оскільки прісноводні молюски родини *Bulinidae* є облігатними проміжними хазяями близько 20 видів трематод, що за високої інтенсивності інвазії не може не позначатися на морфофункціональних особливостях цих гідробіонтів, дослідження впливу іонів важких металів доцільно проводити не лише на інтактних тваринах, а й на заражених трематодами.

Завдання дослідження полягало у з'ясуванні особливостей впливу різних концентрацій іонів міді на гемоцити витушки пурпурної у нормі і за інвазії її трематодами. Такі дослідження дотепер не проводилися. Отримані результати можуть бути враховані при здійсненні біотестування у системі екологічного моніторингу стану природного водного середовища.

Аналіз останніх досліджень

Гемолімфа прісноводних легеневих молюсків складається з плазми і клітинних елементів – прогемоцитів (ПГ), еозинофільних мікрогранулоцитів (ЕМ), базофільних гранулоцитів (БГ), везикулярних клітин (ВК)¹. На долю формених елементів припадає 1–2% від загального об'єму їх гемолімфи [14]. З них власне гемоцитами є лише перші три типи з перерахованих вище клітинних елементів гемолімфи. Вони у всіх *Pulmonata* утворюються з адвентиціальних (камбіальних) клітин у трабекулах сполучної тканини легень [16] і мішкоподібної ділянки нирок [18]. Саме вони завдяки дивергентному диференціюючому розвитку дають початок усім форменим елементам їх гемолімфи [4]. Натомість ВК, хоча й є звичайними компонентами гемолімфи молюсків, справжніми гемоцитами

¹ Класифікацію клітинних елементів гемолімфи прийнято за З. Восталом [20].

не є. Вони – елементи пухкої сполучної тканини [3, 4]. Дослідженню їх присвячено іншу нашу роботу (in print).

Усі гемоцити молюсків відіграють важливу роль у захисних клітинних реакціях – фагоцитозі, лейкоцитозі, інкапсуляції [6,19]. За поранень завдяки здатності до „аглотинації”² (збивання у комки) відбувається закупорка ушкоджених судин циркуляторної системи молюсків, наслідками чого є припинення кровотечі й унеможливлення проникнення інфекції у гемоцель. Окрім того, гемоцити беруть участь в екскреції, у транспортуванні поживних речовин, у лізисі бактеріальних клітин [3, 13].

За невисокої інтенсивності інвазії молюсків партенітами (спороцисти, редії) і личинками трематод (церкарії), яка не дуже згубно позначається на життєздатності молюсків, у них посилюється гемопоез [15], у той час як за тяжкої інвазії, котра веде до летальних наслідків, він різко послаблюється.

Об’єкти та методика досліджень

159 екз. *Planorbarius purpura* (Müller, 1774), зібраних у серпні – вересні 2004 – 2005 р. р. у басейні р. Тетерів (Житомир). Для аналізу використано гемолімфу, котру отримували методом повного знекровлення тварин. Досліджено 670 екз. сухих мазків від інвазованих та вільних від інвазії особин. Підрахунок кількості клітин гемолімфи здійснено у камері Горяєва за забарвлення гемоцитів азуроєозином. Фіксацію мазків проведено сумішшю Нікіфорова, фарбування – за Романовським-Гімза (20 – 30 хв). Цито- і каріометричні показники отримано відповідно до загальноприйнятих методик [2]. Ядерно-цитоплазматичний індекс розраховано за Ташке [11].

У лабораторії молюсків піддавали 14-добовій аклімації. Їх утримували по 5 – 7 екз. у 3-літрових ємностях, заповнених дехлорованою відстоюванням (доба) водою з водогінної мережі. Умови аклімації: температура 21 – 23°C, рН 7,2 – 7,6, вміст кисню у воді 8,6 – 9 мгО₂/л. Підгодували тварин мацерованими у воді протягом 5 – 6 діб шматочками (2 × 2 см) білоголівкової капусти.

Токсикологічні досліди (орієнтаційний і основний) поставлені за методикою Алексєєва [1]. Як токсикант використано хлорид цинка (у перерахунку на Zn²⁺). Орієнтаційним дослідом встановлено значення ЛК₀ = 0,0011 і ЛК₁₀₀ = 1 мг/дм³. Графічним методом [10] визначено величину ЛК₅₀ = 0,05 мг/дм³. У гострому токсикологічному досліді використано концентрації, що відповідають ЛК₂₅ = 25 мг/дм³, ЛК₅₀ = 0,05 мг/дм³, ЛК₇₅ = 0,1 мг/дм³. Експозиція – 2 доби. Токсичне середовище заміняли свіжим щодоби. Розчини готували на дехлорованій воді (рН 7,2 – 7,5, температура 18 – 20°C, вміст кисню 8,5 – 8,9 мг/л). Контролем слугували молюски вміщені у водопровідну дехлоровану воду.

Для виявлення трематодної інвазії з тканин гепатопанкреаса виготовляли тимчасові гістологічні препарати, котрі досліджували під мікроскопом МБИ-3 (10×20). Видову належність трематод визначали [5] виключно на живому матеріалі. Молюски були інвазовані партенітами і церкаріями *Echinoparyphium aconiatum* Dietz – кишкового паразита диких і свійських водоплавних птахів.

Усі цифрові матеріали оброблено методами базової варіаційної статистики [7].

Результати досліджень

У гемолімфі *P. purpura* відзначено три типи гемоцитів, кожний з яких являє собою певну ступінь диференціювання вихідних клітин мезенхіматозної природи (рис. 1).

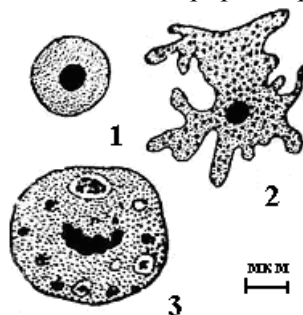


Рис. 1. Гемоцити *P. purpura*:

1 – прогемоцит; 2 – еозинофільний мікрогранулоцит; 3 – базофільний гранулоцит (1 і 3 – замальовано з сухих препаратів, 2 – з клітин, перебуваючих у „висячій” краплі).

² Справжньої аглотинації у молюсків немає через відсутність у їх гемолімфі фібриногену [17].

Прогемоцити (гіалінові лейкоцити, лейкоцити 1-ої стадії, лімфоїдні клітини, малі клітини)³ (рис. 1,1) – найдрібніші з клітинних елементів гемолімфи (див. таблицю). Цитоплазма їх гомогенна (гіалінова), базофільна. Шар її дуже тонкий. Ядро сферичне, компактне, центрального місцеположення, дуже крупне. Об'єм його – $0,74 \pm 0,003$ мкм³. Глибки хроматину масивні, часто неправильної форми. Ядерно-цитоплазматичний індекс становить $2,68 \pm 0,005$. Діляться мітотично. Здатні до фагоцитозу. Дехто з дослідників [3, 20] вважають їх за ембріональні гемоцити, котрі пізніше трансформуються у гемоцити спеціалізовані, тобто у еозинофільні мікрогранулоцити і базофільні гранулоцити. Вміст їх в 1 мм³ гемолімфи становить $148,08 \pm 14,56$ клітин.

Еозинофільні мікрогранулоцити (дрібнозернисті лейкоцити, гранулярні лейкоцити, еозинофільні гранулярні амебоцити, нормальні клітини) (рис. 1,2) на сухих препаратах гемолімфи зазвичай сферичної форми. У „висячій” краплі це досить рухливі клітини через здатність утворювати псевдоподії (лобоподії). Вони майже у три рази крупніші за прогемоцити. Цитоплазма їх містить густу і дуже дрібну еозинофільну зернистість. Ядро округле, рідко – округло-овальне, відносно невелике⁴ ($1,27 \pm 0,019$ мкм). Об'єм його – $1,17 \pm 0,11$ мкм³. Хроматин у вигляді крупних глибок нерівномірно розподілених по каріоплазмі. Ядерце округле. Ядерно-цитоплазматичний індекс становить $0,068 \pm 0,005$. Ділення – амітоз. Основна функція – „аглотинація”. До фагоцитозу не здатні. Вміст їх в 1 мм³ гемолімфи становить $26,92 \pm 5,27$ клітин.

Базофільні гранулоцити (лейкоцити 2-ої стадії, гранулярні макрофаги, блукаючі клітини) (рис. 1,3) зазвичай овальної, часом неправильної форми. Гомогенна базофільна цитоплазма їх містить нечисельну крупну базофільну зернистість. Ядро у молодих клітинах округле, у старих – бобовидне, дуже крупне ($1,81 \pm 0,07$ мкм). Об'єм його – $4,34 \pm 0,46$ мкм³. Хроматин у вигляді дрібної зернистості досить рівномірно розподіленої у цитоплазмі. Ядерно-цитоплазматичний індекс становить $0,27 \pm 0,02$. Саме з цих клітин утворюються великі фагоцитуючі плазмодії [19]. Окрім того, вони виконують екскреторну і транспортну функції, а також беруть участь в „аглотинації”. Вміст їх в 1 мм³ гемолімфи становить $30,77 \pm 7,02$ клітин.

Таблиця. Вплив трематодної інвазії і іонів міді на діаметр (мкм) гемоцитів гемолімфи *P. purpura*

Концентрація токсиканта	Інвазія	n	$\bar{x} \pm m_x$	δ	CV
Прогемоцити					
Контроль	Немає	90	1,25±0,002	0,02	1,60
	Є	36	1,24±0,007	0,04	3,23
LC ₂₅	Немає	135	1,25±0,001	0,01	0,80
	Є	36	1,25±0,003	0,02	1,60
LC ₅₀	Немає	81	1,25±0,002	0,01	0,80
	Є	36	1,25±0,003	0,02	1,60
LC ₇₅	Немає	81	1,25±0,003	0,01	0,80
	Є	36	1,25±0,003	0,02	1,60
Еозинофільні мікрогранулоцити					
Контроль	Немає	90	3,56±0,086	0,81	22,75
	Є	36	4,90±0,168	1,01	20,61
LC ₂₅	Немає	135	4,30±0,112	1,30	30,23
	Є	36	4,97±0,297	1,78	35,81
LC ₅₀	Немає	81	5,56±0,269	2,42	43,57
	Є	36	5,69±0,309	1,85	32,56
LC ₇₅	Немає	81	5,76±0,256	2,30	39,93
	Є	36	5,14±0,306	1,84	35,80
Базофільні гранулоцити					
Контроль	Немає	90	3,06±0,069	0,65	13,81
	Є	36	3,68±0,111	0,66	17,93
LC ₂₅	Немає	135	5,13±0,15	1,76	34,31
	Є	36	7,92±0,52	3,11	39,27
LC ₅₀	Немає	81	5,42±0,23	2,03	37,45
	Є	36	5,59±0,45	2,71	48,48
LC ₇₅	Немає	81	5,52±0,21	1,87	18,12
	Є	36	5,56±0,45	2,68	48,20

³ Тут і надалі у дужках наведено назви кожної з груп гемоцитів, які фігурують у публікаціях інших авторів.

⁴ Щодо розмірів клітини.

За слабкої трематодної інвазії молюсків⁵ порушень мірних ознак їх гемоцитів не спостерігається, тоді як за помірної і тяжкої інвазії вони мають місце. Слід відзначити, що ці порушення у неоднаковій мірі виражені у гемоцитів різних типів. Так, якщо діаметр ПГ і їхніх ядер за помірної трематодної інвазії не змінюється, то в ЕМ і БГ він у першому випадку зростає в 1,6 і 1,8, у другому – в 1,5 і 1,3 рази відповідно ($P \geq 99,9\%$). Об'єм ядра ПГ також залишається на рівні норми, в ЕМ він збільшується у 3, а у БГ – в 1,6 рази ($P > 99,9\%$). Суттєві зміни торкаються об'єму цитоплазми у обох типів гемоцитів, згаданих останніми. Про це свідчать статистично вірогідні зміни значень їх ядерно-цитоплазматичних індексів. Зазначимо, що у різних категорій гранульованих гемоцитів вони виявляються різноплановими. Ядерно-цитоплазматичний індекс ЕМ зменшується, у той час як у БГ він зростає.

Щодо вмісту гемоцитів в 1 мм^3 гемолімфи, то за трематодної інвазії спостерігається тенденція до зростання кількості клітинних елементів в одиниці об'єму гемолімфи (рис. 2).

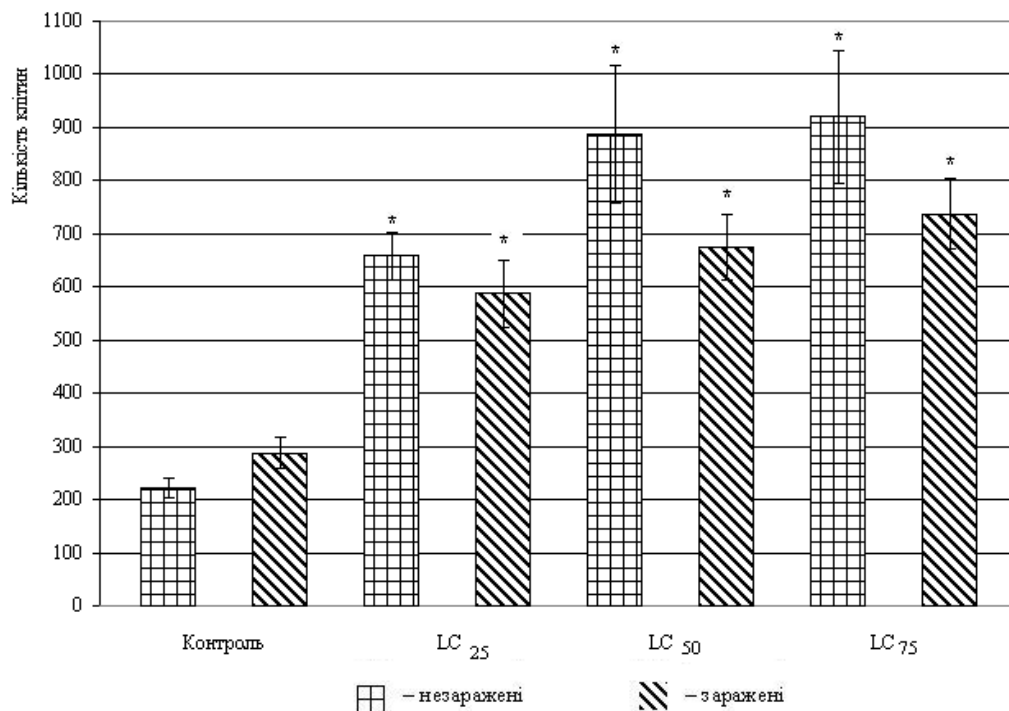


Рис. 2. Вплив іонів міді на кількість гемоцитів в 1 мм^3 гемолімфи *P. purpura* у нормі і за інвазії трематодами

Значна трематодна інвазія супроводжується і змінами кількісного співвідношення окремих типів гемоцитів (рис. 3), а саме: за згаданих обставин вміст ПГ стрімко падає, що свідчить про пригнічення у молюсків гемопоезу. Це, безсумнівно, є одним із проявів патогенного впливу паразитів на їх хазяїв, який спостерігається зазвичай у частини *P. purpura* за помірної інвазії і у всіх, без виключення, особин за інвазії тяжкої. А це означає, що у них різко гальмується або взагалі не „спрацьовує” неспецифічна захисно-приспосувальна реакція [8], котра полягає у підвищенні інтенсивності загального обміну речовин і посиленні усіх функцій, необхідних для забезпечення життєдіяльності особин і збереження ними життєздатності на більш-менш тривалий проміжок часу.

Іони міді щодо молюсків характеризуються (у залежності від їхньої концентрації у середовищі) подвійною діаметральною протилежною дією. Як мікроелемент мідь забезпечує нормальний фізіолого-біохімічний статус їх організму [12], входячи у мікродозах до складу цитохром-, аскорбін-, лізиноксидаз, церулоплазмін і деяких інших металоферментів [9]. Натомість у високих концентраціях іони міді відзначаються щодо цих тварин токсичною дією.

За дії LC₂₅ іонів міді водного середовища на вільних від інвазії *P. purpura* у них не спостерігається статистично вірогідних змін у співвідношенні (%) гемоцитів різних типів. У інвазованих же трематодами тварин вміст ПГ скорочується з 59,1 до 41,8%, а ЕМ зростає з 11,2 до 36,4% ($P > 99,9\%$).

⁵ Слабка інвазія – ураження до 1/10 об'єму гепатопанкреаса, помірної – від 1/10 до 1/2, тяжка – понад 1/2.

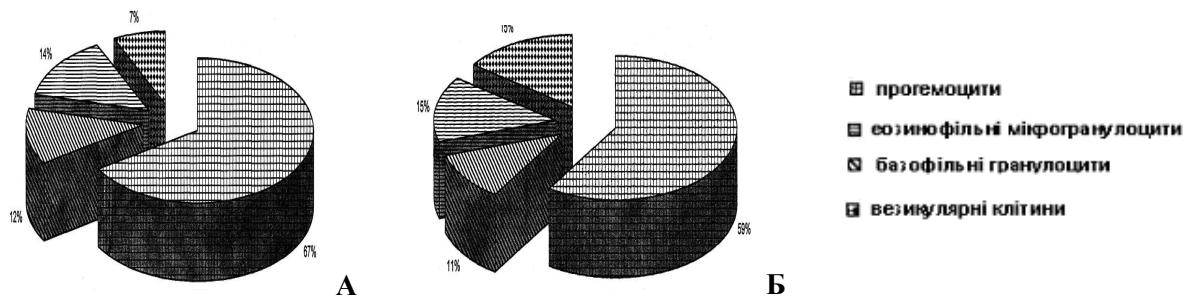


Рис. 3. Кількісне співвідношення (%) клітинних елементів гемолімфи *P. purpura* у нормі (А) і за інвазії трематодами (Б)

Розміри ПГ за дії усіх застосованих у дослідках концентрацій токсиканта залишаються незмінними як у незаражених, так і у інвазованих трематодами особин. А от ЕМ у всіх, без виключення, досліджених особин із зростанням концентрації іонів міді у воді у діапазоні LC_{25} – LC_{50} прогресуюче збільшуються. Так, якщо у незаражених особин діаметр цих клітин за дії LC_{25} токсиканта зростає проти норми в 1,2 рази ($P = 94,5\%$), то у заражених тварин він тримається на рівні контролю. Піднесення концентрації до рівня LC_{50} відзначається збільшенням розмірів цих клітин і у вільних від інвазії, і у інвазованих молюсків. У перших з них діаметр їх перевищує норму в 1,6 ($P >99,9\%$), а у других – в 1,2 рази ($P = 94,5\%$). За LC_{75} іонів міді розміри ЕМ у незаражених *P. purpura* більші за контрольні в 1,6 рази ($P >99,9\%$), у заражених зменшуються до розмірів норми. Розміри ядер ПГ і ЕМ у всіх піддослідних тварин за всіх застосованих у дослідках концентрацій токсиканта є стабільними. Діаметр БГ варіює у межах (мкм): у незаражених тварин від $1,81 \pm 0,069$ до $2,11 \pm 0,11$, у заражених – від $2,06 \pm 0,20$ до $2,78 \pm 0,19$. Причому найбільші порушення цього показника у перших з них спостерігаються за дії на молюсків іонів міді у концентрації LC_{50} , в той час як у других – за LC_{25} . Це свідчить про те, що незаражені тварини є більш стійкими щодо дії на них згаданого токсиканта, ніж заражені особини. Що стосується ядерно-цитоплазматичного індексу, то в усіх токсичних середовищах, задіяних в експериментах, він залишається у межах норми.

З'ясовано, що кількість гемоцитів в 1 мм^3 гемолімфи зростає із збільшенням концентрації іонів міді у середовищі, але нерівномірно. Так, у діапазоні концентрацій LC_{25} – LC_{50} піднесення згаданого показника відбувається набагато інтенсивніше, ніж у діапазоні LC_{50} – LC_{75} (рис. 2). Збільшення кількості гемоцитів у розрахунку на 1 мм^3 гемолімфи є свідченням посилення у тварин, які витримали перебування у токсичному середовищі, гемопоезу. У незаражених тварин, а також за слабкої інвазії їх трематодами воно відбувається значно інтенсивніше, ніж у *P. purpura* дуже інвазованих, нездатних, як виявилось, протистояти токсичному впливові у такій мірі, як це має місце у перерахованих вище груп молюсків.

Збільшення концентрації токсиканта до LC_{50} і LC_{75} для незаражених особин у обговорюваному плані залишається без змін. У заражених же тварин за LC_{50} іонів міді водного середовища різко зростає доля ПГ у гемолімфі – з 41,8 до 69,7%, натомість така ЕМ суттєво скорочується – з 36,4 до 14,7% ($P >99,9\%$). За LC_{75} іонів міді процентне співвідношення гемоцитів різних типів тримається на тому ж рівні, що і за дії їх на молюсків означеного токсиканта у концентрації LC_{50} .

Висновки

1. Трематодна інвазія *P. purpura* супроводжується як збільшенням клітин ЕМ і БГ, так і їхніх ядер. Зростає також і об'єм ядер цих клітин. Зміни ж об'єму цитоплазми у цих двох типів гемоцитів діаметрально протилежні, через що ядерно-цитоплазматичний індекс у перших з них зменшується, а у других збільшується. Мають місце порушення процентного співвідношення окремих груп гемоцитів, а саме: зменшується кількість ПГ. Вираженість змін мірних ознак гемоцитів прогресуюче зростає із збільшенням інтенсивності інвазії хазяїв.
2. За дії на молюсків іонів міді водного середовища у діапазоні концентрацій LC_{25} – LC_{50} у всіх піддослідних тварин спостерігається збільшення розмірів ЕМ. За LC_{75} воно прогресує у незаражених особин, у той час як у інвазованих різко скорочується. Розміри ядер збільшуються у БГ, залишаючись незмінними у ПГ і ЕМ. Ядерно-цитоплазматичний індекс у *P. purpura* за усіх концентрацій токсиканта залишається на рівні норми. Кількість гемоцитів, яка припадає на

одиницю об'єму гемолімфи, зростає. Змінюється процентне співвідношення гемоцитів різних типів у гемолімфі.

3. За дії на *P. purpura* іонів міді (LC₂₅ – LC₇₅) трематодна інвазія виступає як обтяжуючий чинник: усі зазначені вище порушення, викликані дією токсиканта, у заражених тварин спостерігається за нижчих концентрацій, ніж у особин незаражених.

Перспективи подальших досліджень

У подальшому перспективним є з'ясування гістопатологічних і гістохімічних зрушень у клітинних елементах гемолімфи молюсків за дії на них іонів міді. Це дозволить більш точно оцінювати ступінь якісних і кількісних змін у потоках енергії через популяції витушок при встановленні значень біологічної продуктивності прісних водойм.

Література

1. *Алексеев В.А.* Основные принципы сравнительно-токсикологического эксперимента // Гидробиол. журн. – 1981. – Т. 17, № 3. – С. 92 – 100.
2. *Горальський Л.П., Хомич В.Т., Кононський О.І.* Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи дослідження у нормі та при патології. – Житомир: Полісся, 2005. – 288 с.
3. *Заварзин А.А.* К сравнительной гистологии крови и соединительной ткани. – М.– Л.: Изд-во АН СССР, 1953 а. – 378 с.
4. *Заварзин А.А.* Очерки эволюционной гистологии крови и соединительной ткани. – М. – Л.: Изд-во АН СССР, 1953 б. – 716 с.
5. *Здун В.І.* Личинки трематод в прісноводних молюсках України. – К.: Вид-во АН УРСР, 1961. – 141 с.
6. *Кедровский Б.В.* О клетках крови беззубки // Зоол. журн., 1924. – Т. 4, вып. 3 – 4. – С. 220 – 239.
7. *Лакін Б.Ф.* Биометрия. – М.: Высш. шк., 1973. – 343 с.
8. *Маляревская А.Я.* Биохимические механизмы адаптации гидробионтов к токсическим веществам // Гидробиол. журн., 1985. – Т. 21, № 3. – С. 70 – 82.
9. *Панин М.С., Нурекенова А.Н.* Эколого-биологическая оценка дикорастущих растений поймы реки Иртыш / Тяжелые металлы, радионуклиды и элементы-биофилы в окружающей среде. Докл. 2 Междунар. научно-практ. конф. (Семипалатинский гос. ун-т им. Шакарима, 16 – 18 окт. 2002 г.). – Семипалатинск: Б. и., 2002. – Т. 2. – С. 93 – 114.
10. *Прозоровский В.Б.* О выборе метода построения кривой летальности и определения средней летальной зоны // Журн. общ. биол., 1960. – Т. 21. – № 3. – С. 201 – 223.
11. *Ташикэ К.* Введение в количественную цито-гистологическую морфологию. – Бухарест: Изд-во АН СРР, 1980. – 191 с.
12. *Харченко Т.А., Тимченко В.М., Ковальчук А.А. и др.* Гидроэкология украинского участка Дуная и сопредельных водоемов. – К.: Наук. думка, 1993. – 327 с.
13. *Сиёно́т L.* Etudes physiologiques sur les Gastropodes pulmones. – Arch. biol., 1892. – Т. 12. – P. 683 – 740.
14. *George W.C., Ferguson J.H.* The blood of gastropod molluscs // J. Morphol., 1950. – Vol. 86. – P. 315 – 324.
15. *Lie K.I., Heyneman D., Yan P.* The origin of amebocytes in *Biomphalaria glabrata* // J. Parasitol., 1975. – Vol. 61, № 113. – P. 574 – 576.
16. *Müller G.* Morphologie, Lebensablauf und Bildungsort von *Lymnaea stagnalis* L. – Z. zeliforsch., 1956. – Bd. 44. – S. 519 – 556.
17. *Nolf P.* Contribution a l'étude de la coagulation du sang (6^e mèm.). Le sang des invertébrés contient-il de la thrombine? // Arch. Intern. Physiol., 1909. – Т. 7. – P. 246 – 251.
18. *Pan T.* The general histology and topographic microanatomy of *Australorbis glabratus* // Bull. Mus. Compar. Zool. Harv. College, 1958. – Vol. 119, № 3. – P. 238 – 299.
19. *Rondelaud D., Barthe D.* Etude descriptive d'une reaction amibocytaire chez *Lymnaea truncatula* Müller infestée par *Fasciola hepatica* L. // Z. Parasitenk., 1980. – Bd. 64, № 2. – S. 187 – 196.
20. *Vostal Z.* Prispěvek k cytologii hemocytov ulitnikov (Gastropoda) // Biologia (ČSSR), 1969. – Т. 24, № 5. – S. 384 – 392.