



УДК 594.38–111.3

МЕЖПОПУЛЯЦИОННЫЕ РАЗЛИЧИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ГЕМОЛИМФЫ *HELIX POMATIA* L.

В.К. Ракочий

Черновицкий национальный университет
им. Юрия Федьковича
Украина, 58000, г. Черновцы,
ул. Коцюбинского, 2
E-mail: velina-rakochii@rambler.ru

Изучен ряд биохимических параметров гемолимфы наземного брюхоногого моллюска *Helix pomatia* L. (Mollusca: Gastropoda: Geophila: Helicidae) из урбанизированных и неурбанизированных биотопов запада Украины. Проанализирована межпопуляционная изменчивость исследованных параметров. Обнаружены межпопуляционные особенности, которые проявляются достоверно более высоким абсолютным и относительным содержанием гемоцианина в гемолимфе, а также достоверно более низким содержанием общего и негемоцианиновых белков у животных из антропогенно трансформированных ландшафтов по сравнению с территориями, испытывающими слабые антропогенные нагрузки.

Ключевые слова: гемолимфа, гемоцианин, *Helix pomatia* L., межпопуляционная изменчивость, кластерный анализ.

Введение

Улитка виноградная – *Helix pomatia* L. (Mollusca: Gastropoda: Geophila: Helicidae) – широко распространенный на территории Западной Украины вид наземных моллюсков, населяющий разнообразные естественные и антропогенно трансформированные биотопы [1]. Очевидно, в процессе адаптации к различным условиям среды многие физиологические, структурные и биохимические показатели организма становятся отличными у моллюсков из пространственно разделенных популяций. В первую очередь это касается биохимического и гемодитарного состава гемолимфы, которая первой реагирует на изменение условий жизни. Так, для водных моллюсков неоднократно показана зависимость отдельных биохимических параметров от состояния среды обитания [2, 3]. Изменения таких показателей используются в биоиндикации и мониторинге водной среды [4, 5, 6, 7]. В то же время, изменение состава гемолимфы наземных моллюсков в ответ на действие отдельных поллютантов, а также комплексного загрязнения биотопов, остается малоизученным. Исходя из вышесказанного, целью нашей работы стала оценка межпопуляционных отличий некоторых биохимических показателей плазмы гемолимфы *H. pomatia*, населяющих различные биогеоценозы Северной Буковины и сопредельных территорий.

Половозрелых моллюсков (рис. 1) собирали в административных границах гг. Новоднестровск, Черновцы (в том числе государственный заказник «Цецино» и заказник местного значения «Горячий Урбан»), Чертков, Ивано-Франковск, а также

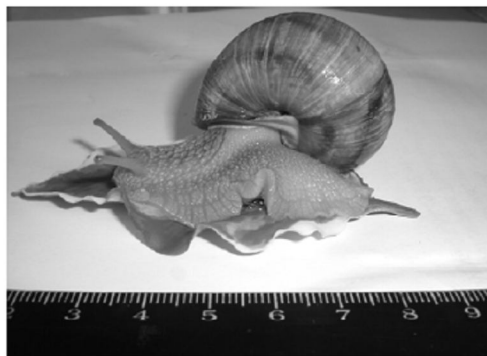


Рис. 1. *Helix pomatia* L.

в окрестностях сел Черновка (Хотинский возвышенный холмисто-грядовый лесной физико-географический район, Прут-Днестровское междуречье), Макаровка (Кельменецкий холмисто-толтровый степной физико-географический район, Прут-Днестровское междуречье) и Долишний Шепот (Берегометский низкогорный лесо-луговой физико-географический район, Бескидские Карпаты) после выхода из зимней диапаузы в период активной жизнедеятельности (апрель–июль 2001–2009 гг.). Гемолимфу



отбирали методом полного обескровливания организма, путем укола стерильной иглы в ногу моллюска. Клеточные элементы осаждали центрифугированием (2000 об./мин., 15 мин.). Содержание общего белка определяли биуретовым методом, общей и свободной меди – по реакции с бато-купроином, липидов – по реакции с сульфова-нилиновым реактивом, железа – по реакции с батофенантролином и кальция – по ре-акции с глиоксаль-бис-оксанилом, концентрацию связанной меди, гемоцианина и негемоцианиновых белков – расчетными методами; рассчитывали долю гемоцианина в общем белке гемолимфы и обеспеченность гемоцианином тела моллюска. Статисти-ческую обработку проводили общепринятыми методами вариационной статистики [8] с использованием программ *Excel 2003* и *Statistica 6.0* [9, 10].

По содержанию общего белка и негемоцианиновых белков исследованные вы-борки делятся на две группы. Популяции с гор Берда (Хотинская возвышенность) и Цецино (государственный заказник в административных границах Черновцов), а так-же сел Черновка, Макаровка и Д. Шепот, характеризуются достоверно более высокими значениями данных показателей по сравнению с городскими популяциями (рис. 2). Внутри каждой группы выборки данные показатели не различаются. В то же время, содержание гемоцианина в плазме гемолимфы животных всех исследуемых популя-ций более стабильно и колеблется в диапазоне 24,4 – 46,61 г/мл, не показывая досто-верных отличий.

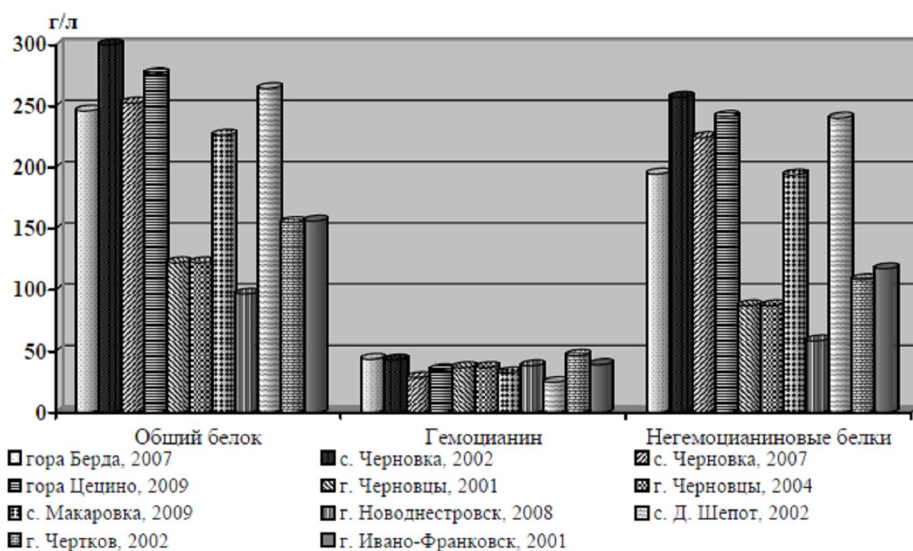


Рис. 2. Межпопуляционные отличия содержания белков в плазме гемолимфы *H. pomatia*

Новоднестровская и черновицкая популяции также характеризуются достоверно более высоким относительным содержанием гемоцианина в гемолимфе (рис. 3). Возможно, это объясняется тем, что в популяциях, длительное время испытывающих антропогенную нагрузку, животные с высоким содержанием гемоцианина в плазме гемолимфы оказываются более адаптированными. Подобная закономерность была выявлена нами ранее для *H. lutescens* [11].

Для моллюсков из Новоднестровска и Черновки рассчитывали общую обеспе-ченность гемоцианином и обеспеченность им мягкого тела моллюска. Первый показате-ль чаще встречается в литературе, однако, на наш взгляд, он менее информативен, поскольку раковина, масса которой у половозрелого животного составляет примерно 1/6 массы моллюска, не потребляет кислород. Обеспеченность гемоцианином мягкого тела у моллюсков новоднестровской популяции составляла 5.20 ± 0.70 г/кг, а у чернов-ских хеликсов – 5.09 ± 0.92 г/кг не показывая достоверных отличий. В то же время,

данный показатель оказался достоверно более низким у неполовозрелых животных тех же популяций, а также у животных, находящихся в состоянии диапаузы (так, для моллюсков новоднестровской популяции он составляет 3.11 ± 0.26 для субadultных и 3.01 ± 0.42 – для диапаузирующих особей).

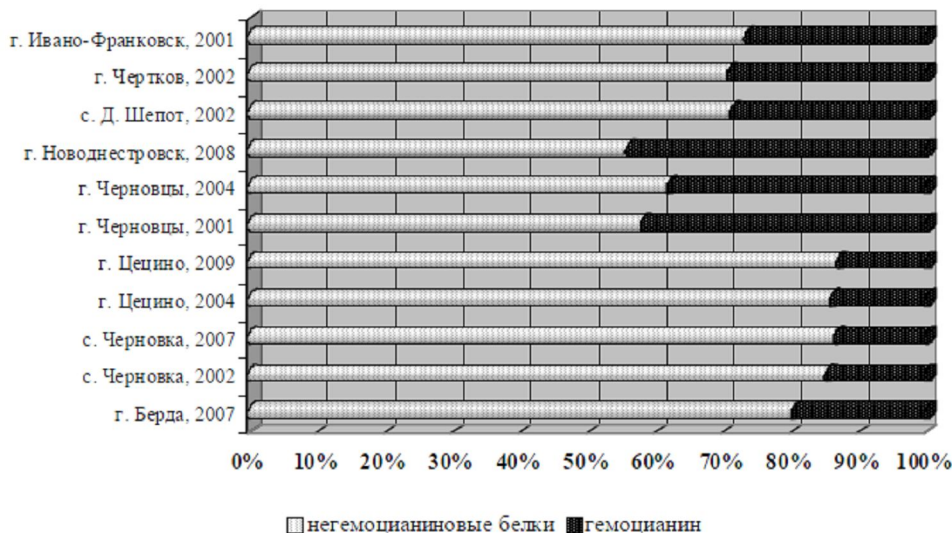


Рис. 3. Относительное содержание гемоцианина в плазме гемолимфы *N. pomatia* из разных популяций

Достоверных различий по содержанию общей и связанной меди, а также микроэлементов (свободной меди, железа и кальция) у моллюсков исследованных популяций нами не выявлено (табл.). Исключение составляют обе популяции из Черновцов, показывающие достоверно более высокие концентрации всех вышеперечисленных веществ. Вероятно, эти показатели в большей степени зависят от содержания соответствующих катионов в почве и растениях, чем от прочих факторов. С другой стороны, черновицкая популяция, населяющая урболандшафт, характеризуется более высоким содержанием кальция и железа, чем цецинская, испытывающая низкую антропогенную нагрузку.

Таблица

Содержание микроэлементов у моллюсков исследованных популяций

Локальные популяции	Общая медь, мкМ/л	Свободная медь, мкМ/л	Связанная медь, мкМ/л	Железо, мкМ/л	Кальций, мкМ/л
г. Берда, 2004	1837±231.4	98.16±22.62	1697±259.9	11.49±2.96	2.27±0.12
с. Черновка, 2002	1844±156.9	425.07±40.94	1419±43.57	54.03±8.58	11.68±2.06
с. Черновка, 2007	1783±234.3	109.53±16.47	1673±225.8	14.71±2.19	1.42±0.23
г. Цецино, 2009	1601±188.6	241.35±19.55	1366±189.5	17.81±2.17	1.99±0.14
г. Черновцы, 2001	1660±139.9	338.09±30.35	1616±131.3	41.97±4.85	13.64±1.96
г. Черновцы, 2004	1722±140.7	285.97±23.49	1431±138.8	63.09±4.15	12.50±1.43
г. Новоднестровск, 2008	1635±142.1	143.07±14.98	1492±140.3	29.76±6.44	1.76±0.58
с. Макаровка, 2009	1381±39.8	113.27±4.92	1268±38.00	18.23±0.35	0.78±0.06
с. Д. Шепот, 2002	1074±16.61	464.20±72.72	609.8±57.54	62.93±1.47	11.15±2.22
г. Чертков, 2002	2059±451.7	237.93±49.24	1821±439.0	54.23±10.60	10.50±2.91
г. Ивано-Франковск, 2007	1826±421.1	302.50±104.00	1523±317.8	73.72±11.36	18.26±9.05



Наиболее варибельным показателем, не показывающим каких-либо закономерностей, оказалось содержание липидов в плазме гемолимфы. Данный показатель варьируется в широких пределах от 6.52 ± 1.01 у животных цецинской популяции до 38.53 ± 1.52 – у моллюсков из Черновки.

Таким образом, нами показаны достоверные межпопуляционные различия ряда исследованных параметров, однако большое количество попарных сравнений не дает четкой картины этих различий. Поэтому для более полной оценки различий выбранных биохимических показателей между исследованными популяциями использовали кластерный анализ.

Древовидная кластеризация (по Варду) показала наличие двух кластеров, разделяющихся на расстоянии 2700 э.е. (рис. 4). Первый включает четыре популяции моллюсков, населяющие горные и равнинные местообитания. Второй, более обширный кластер, составляют популяции, обитающие, в основном, на охраняемых или же слабо урбанизированных территориях в административных границах городов, а также в естественных ландшафтах Предгорья.

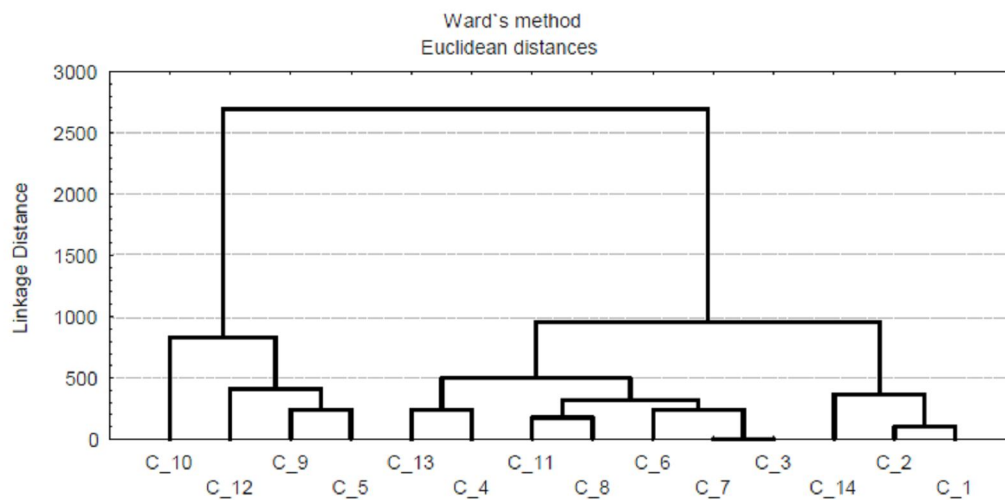


Рис. 4. Дендрограмма сходства популяций виноградной улитки по комплексу биохимических параметров гемолимфы: C_1 – гора Берда (2007 г.); C_2 – с. Черновка (2007 г.); C_3 – «Цецино» (2004); C_4 – «Цецино» (2009); C_5 – с. Макаровка (2009); C_6 – г. Новоднестровск (2007); C_7 – г. Черновцы (2001); C_8 – с. Черновка (2002); C_9 – г. Чертков (2002); C_10 – с. Д. Шепот (2002); C_11 – г. Ивано-Франковск; C_12 – с. Д. Шепот (2007); C_13 – «Горячий Урбан» (2006); C_14 – г. Черновцы (2004)

Таким образом, нами выявлен ряд биохимических параметров плазмы гемолимфы *H. pomatia*, показывающих межпопуляционные отличия: содержание общего и негемоцианиновых белков, абсолютное и относительное содержание гемоцианина. Отмеченные межпопуляционные отличия проявляются достоверно более высоким абсолютным и относительным содержанием гемоцианина в гемолимфе и достоверно более низким содержанием общего и негемоцианиновых белков у животных из антропогенно трансформированных ландшафтов по сравнению с территориями, испытывающими слабую антропогенную нагрузку.

Список литературы

1. Сверлова Н.В., Гураль Р.І. Визначник наземних моллюсків заходу України. – Львів, 2005. – 218 с.
2. Лисовская В.И. Иванович И.А., Холодковская Е.В. Динамика содержания гликогена и липидов у мидий Одесского залива // Эколого-функциональні та фауністичні аспекти



дослідження молюсків, їх роль у біоіндикації стану навколишнього середовища. – Житомир, 2004. – С. 107 - 109.

3. Осокольская О.И., Тимофеев В.А., Моисеев Д.В. Морфологические и биохимические характеристики *Mytilus galloprovincialis* из различным по экологическим условиям районов акватории Карадага // Эколого-функциональні та фауністичні аспекти дослідження молюсків, їх роль у біоіндикації стану навколишнього середовища. – Житомир, 2004. – С. 134-137.

4. Гордзяловский А.В., Макурина О.Н. Водные моллюски – перспективные объекты для биологического мониторинга // Вестник СамГУ – 2006. – Естественнонаучная серия, № 7 (47). – С. 37-38.

5. Костылев Э.Ф., Красота Л.Л., Макаров Ю.Н. Оценка качества морской среды с использованием биомаркеров у мидий // III Международный симпозиум «Экологические проблемы Черного моря». – 2001. – С. 170-171.

6. Cajaraville M.P., Bebianno M.J., Blasco J. and other. The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach. // Science of the total environment. – 2000. – Vol. 247 (2 - 3). – P. 295-311.

7. Sarkany Zs., Dordea M., Sarkany-Kiss A. and other. The importance of mollusk communities as pollution indicators in the Wite Gris river// Abst. 12th Intern. Malacol. Congr. – Vigo, 1995. – P. 255-256.

8. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.

9. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. – К.: МОРИОН, 2000. – 320 с.

10. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica. М.: МедиаСфера, 2002. – 312 с.

11. Ракочий В.К., Хлус Л.М. Онтогенетична, міжпопуляційна та міжвидова мінливість деяких біохімічних параметрів плазми гемолимфи молюсків роду *Helix* L. // Науковий вісник Чернівецького університету. Зб. наук. праць. – Чернівці, 2008. – Вип. 417: Біологія. – С. 99-106.

INTERPOPULATION DISTINCTIONS OF *HELIX POMATIA* L. HAEMOLYMPH BIOCHEMICAL PARAMETERS

V.K. Rakochii

Yury Fedkovich Chernovtsy
National University

Kotsjubinsky St., 2, Chernovtsy,
58000, Ukraine

E-mail mail: velina-
rakochii@rambler.ru

The paper considers the biochemical parameters of hemolymph of land gastropods *Helix pomatia* L (Mollusca: Gastropoda: Geophila: Helicidae) from the urbanized and not urbanized biotopes in the west of Ukraine. Interpopulation variability of the investigated parameters is analyzed. The study has revealed interpopulation characteristics which are shown by higher absolute and relative hemocyanine maintenance in hemolymph and by lower maintenance of the general and non-haemocyanin proteins at animals from the urbolandscapes in comparison with the territories without anthropogenous loadings.

Key words: hemolymph, hemocyanine, *Helix pomatia* L., interpopulation variability, cluster analysis.