



УДК 591.111.7:594.382.4

ВЛИЯНИЕ ОСМОТИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ГЕМОЦИТОВ *ANODONTA SIGNEA* И *DREISSENA POLYMORPHA* (MOLLUSCA: BIVALVIA)

Нгуен Тхи Ле На, А.А. Присный

Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Россия, 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85

E-mail: Prisny@bsu.edu.ru

Исследованы реакции гемоцитов некоторых представителей двустворчатых моллюсков на осмотическую нагрузку. Осуществлено определение морфометрических показателей гемоцитов, инкубированных в растворах разной осмотичности. Выявлены различия в использовании мембранного резерва гемоцитами разных типов.

Ключевые слова: моллюски, гемоциты, осмотическое давление.

Введение

В современной науке пристальное внимание уделяется вопросам, связанным с механизмами возникновения иммунных реакций в ответ на введение того или иного антигена. Рядом работ отечественных и зарубежных ученых [1-3] рассмотрено и показано разнообразие форм и многообразие функций, выполняемых гемоцитами (форменными элементами гемолимфы) брюхоногих. Изучена морфология клеточных элементов гемолимфы отдельных моллюсков [4-5].

Ведущая роль в защитных реакциях моллюсков принадлежит клеткам гемолимфы. Известно, что существуют различные морфотипы клеток гемолимфы, которые обладают определенной степенью подвижности по особым путям циркуляции и участвуют в инкапсуляции чужеродных объектов [6-7]. Однако информации о мембранных реакциях этих гемоцитов моллюсков на различные условия среды в доступной литературе не обнаружено. В связи с вышесказанным целью данной работы является изучение влияния осмотической нагрузки на морфологические параметры гемоцитов *Anodonta cignea* и *Dreissena polymorpha*.

Объекты и методы исследования

Исследования проведены в течение 2011-2013 годов на базе кафедры анатомии и физиологии живых организмов ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». В экспериментах были использованы животные, принадлежащие виду беззубка обыкновенная (*Anodonta cignea*) и дрейссена речная (*Dreissena polymorpha*).

Гемолимфу получали по стандартной методике [8]. Были проведены исследования с применением световой микроскопии (Nikon Eclipse Ti-E). Препараты фотографировали, по снимкам проводили измерения клеток, ядер, гранул и включений по длинной и короткой осям с помощью анализатора изображений «ВидеоТест» (ООО «Микроскоп Сервис», г. Санкт-Петербург).

Эффективность использования резерва клеточной поверхности гемоцитов оценивали в растворах NaCl 1,9 г/л (гипотонический раствор) и 5,7 г/л (гипертонический раствор). Инкубацию проводили в течение 1 минуты. Далее изучали прижизненные особенности клеток, их морфометрические показатели с помощью оптического инвертированного микроскопа Nikon Digital Eclipse Ti-E. Получали фотографии в режиме реального времени и проводили линейные измерения, применяя анализатор изображений «Видео-Тест».

Полученные данные обрабатывали с использованием методов вариационной статистики.

Результаты и их обсуждение

В результате исследования при помощи светового микроскопа удается выделить 3 типа гемоцитов, которые отличаются друг от друга по морфологическим особенностям, размеру и количеству гранул.

В результате инкубирования гемолимфы *Anodonta cignea* с растворами различной осмотичности были получены следующие данные (табл. 1).



Таблица 1

Морфометрические параметры гемоцитов *Anodonta cigneae* в растворах различной осмотичности

Типы клеток	Линейные размеры клеток по длинной оси, мкм	Линейные размеры клеток по короткой оси, мкм	Линейные размеры ядра по длинной оси, мкм	Линейные размеры ядра по короткой оси, мкм
Гипотонический раствор				
Тип 1	8,84±0,78	7,55±0,78	2,41±0,45	2,13±0,19
Тип 2	8,44±0,46	8,07±0,83	4,35±0,91	3,87±0,45
Тип 3	13,21±1,32	10,15±1,26	2,34±0,81	2,52±0,75
Гипертонический раствор				
Тип 1	7,15±0,44	6,37±0,46	2,33±0,36	2,07±0,32
Тип 2	6,53±0,43	6,53±0,79	4,21±0,34	3,69±0,66
Тип 3	8,54±0,78	6,93±0,47	2,68±0,39	2,02±0,37
Изотонический раствор				
Тип 1	7,84±0,66	7,1±0,63	2,37±0,35	2,19±0,34
Тип 2	7,42±0,90	6,55±0,93	4,15±0,82	3,69±0,77
Тип 3	8,95±0,69	8,03±0,70	2,76±0,40	2,38±0,20

В гипертоническом растворе, размер клеток уменьшается по сравнению с их размером в изотоническом растворе. Теоретически гипертонический раствор содержат хлорида натрия меньше чем его концентрация внутри мембран клеток. Вода выходит из клетки в среду. Но практически, размер гемоцитов несущественно изменяется в гипертоническом растворе относительно нормального раствора. Напротив, размер гемоцитов *Anodonta cigneae* достигает максимальных значений в гипотоническом растворе. При этом, размер их ядер практически не изменяется в разных средах.

Выявлено, что при многократном отборе гемолимфы у одной особи *Anodonta cigneae*, наблюдается увеличение численности гемоцитов первого и третьего типов. Это характеризует данные типы клеток как защитные элементы внутренней среды моллюска.

Установлено что гемоциты у *Anodonta cigneae*, сохраняют жизнеспособность во влажной камере на протяжении 4-8 часов (в зависимости от объема пробы и физиологического состояния особи).

У *Dreissena polymorpha* идентифицировано 3 типа клеток, которые отличаются друг от друга по морфологическим особенностям и их размеру и количеству гранул. При сравнении морфометрических параметров гемоцитов *Dreissena polymorpha* и *Anodonta cigneae* выявлено, что размеры у *Dreissena polymorpha* меньше.

В результате инкубирования гемолимфы *Dreissena polymorpha* с растворами различной осмотичности были получены следующие данные (таблица 2).

Таблица 2

Морфометрические параметры гемоцитов *Dreissena polymorpha* в растворах различной осмотичности

Типы клеток	Линейные размеры клеток по длинной оси, мкм	Линейные размеры клеток по короткой оси, мкм	Линейные размеры ядра по длинной оси, мкм	Линейные размеры ядра по короткой оси, мкм
Гипотонический раствор				
Тип 1	6,70±0,79	5,74±0,13	2,20±0,31	2,01±0,45
Тип 2	8,02±0,79	7,48±0,83	3,21±0,47	3,07±0,52
Тип 3	10,15±0,78	8,47±1,17	2,84±0,37	2,49±0,63
Гипертонический раствор				
Тип 1	5,52±0,56	4,80±0,57	2,19±0,47	1,79±0,46
Тип 2	5,33±0,93	4,98±0,86	2,84±0,58	2,47±0,65
Тип 3	8,35±1,28	6,33±0,91	2,81±0,41	2,39±0,33
Изотонический раствор				
Тип 1	5,92±1,16	5,1±0,96	1,97±0,35	1,75±0,31
Тип 2	6,61±0,63	6,15±0,63	2,85±0,57	2,58±0,49
Тип 3	8,75±1,27	7,17±0,76	2,74±0,29	2,60±0,40

Результаты исследования подтверждают точку зрения, что при нарушении изотоничности клеток вода осуществляет пассивный транспорт через мембрану и клеточные объемы претерпевают изменения. Для сохранения оптимального уровня обмена веществ очень важно, чтобы объем клетки и ее ионный состав оставались относительно постоянными. Регуляция



объема при этом зависит от транспорта воды и от осмотической резистентности гемоцитов, пути поддержания которой универсальны в клетках животных.

Заключение

В результате проведенных исследований осуществлено определение морфометрических параметров гемоцитов, инкубированных в растворах разной осмотичности. Наибольшие изменения размеров отмечены для гемоцитов первого типа у представителей исследованных видов.

Список литературы

1. Заварзин А.А. Основы сравнительной гистологии. – Л.: Изд-во Ленинградского университета. – 1985. – 400 с.
2. Стадниченко А.П., Стадниченко Ю.А. О воздействии личинок горчка на пластинчатожаберного моллюска *Unio rostratus gentilis* Naas. / Гидробиологический журнал. – 1981. – Т. 17, № 5. – С. 57-61.
3. Adamowicz A., Bolaczek M. Blood Cells Morphology Of The Snail *Helix Aspersa Maxima* (Helicidae). – *Zoologica Poloniae*. – 2003. – Vol. 48. – P. 93-101.
4. Хлус Л.М. Цитологічна характеристика гемолімфи *Helix lutescens* Rssm. та *Helix albescens* Rssm. у різних фізіологічних станах // Клінічна та експериментальна патологія. – 2003. – Т.2. – № 1. – С. 89-92.
5. Wootton E.C., Pipe R.K. Structural and functional characterisation of the blood cells of the bivalve mollusc *Scrobularia plana*. – *Fish and Shellfish Immunology*. – 2003. – Vol. 15. – P. 249-262.
6. Присный А.А., Пигалева Т.А., Кулько С.В. Морфофункциональные особенности гемоцитов сухопутных брюхоногих моллюсков // *Фундаментальные исследования*. – 2011. – № 5. – С. 206-210.
7. Присный А.А., Кулько С.В. Морфофункциональные особенности гемоцитов брюхоногого моллюска *Stenopphalia gavigieri* (Ferussac) // *Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия Естественные науки*. – 2012. – № 9 (128). Вып. 19. – С. 90-94.
8. Присный А.А. Практикум по физиологии беспозвоночных животных. – Белгород: ИД «Белгород» НИУ «БелГУ», 2013. – 116 с.

THE IMPACT OF THE CHANGE OF OSMOTIC PRESSURE ON THE HAEMOCYTES STRUCTURE OF THE *ANODONTA CIGNEA* AND *DREISSENA POLYMORPHA* (MOLLUSCA: BIVALVIA)

Nguen Thi Le Na, A.A. Prisyu

Belgorod State National Research University, 85, Pobedy St, Belgorod, 308015, Russia

E-mail: Prisyu@bsu.edu.ru

Haemocytes reactions some representatives of Bivalvia on osmotic loading are investigated. Area and volume definition of haemocytes, in different osmotic solutions is carried out. Distinctions in use membrane reserve definition of haemocytes different types are revealed.

Key words: mollusks, haemocytes, osmotic pressure.