

СПІВВІДНОШЕННЯ ПОПУЛЯЦІЙ ЦЕЛОМОЦИТІВ У *LUMBRICUS TERRESTRIS* ЗА УМОВ ВПЛИВУ ВИСОКОВОЛЬТНИХ ЛІНІЙ ЕЛЕКТРОПЕРЕДАЧ

Соколенко Світлана Вікторівна

кандидат біологічних наук, доцент

Черкаський національний університет імені Богдана Хмельницького,

м. Черкаси, Україна

ORCID: 0000-0002-7341-1762

sokolenko@i.ua

Соколенко Юліана Вадимівна

студентка

Черкаський національний університет імені Богдана Хмельницького,

м. Черкаси, Україна

ORCID: 0000-0001-9872-0484

sokolenko_yuliana@ukr.net

Зубенко Ольга Григорівна

кандидат біологічних наук

Черкаський національний університет імені Богдана Хмельницького,

м. Черкаси, Україна

ORCID: 0000-0003-3222-4298

zubenko_76@ukr.net

Кобаль Іван Володимирович

аспірант

Черкаський національний університет імені Богдана Хмельницького,

м. Черкаси, Україна

ORCID: 0000-0001-8618-9251

ivan.kobal2017@gmail.com

Соколенко Вадим Леонідович

кандидат біологічних наук, доцент

Черкаський національний університет імені Богдана Хмельницького,

м. Черкаси, Україна

ORCID: 0000-0002-3096-8245

sokolenko@ukr.net

Останнім часом зростає важливість пошуку нових доступних і показових методів біоіндикації наслідків антропогенного навантаження на природне середовище. Дані літератури свідчать про негативний вплив високовольтних ліній електропередачі (ЛЕП) на ґрунтову мезофауну, зменшення видової різноманітності, зміну морфологічних параметрів організмів. *Lumbricus terrestris* вважають досить резистентними до такого впливу. Проте, відсутні дані щодо показників імунної системи дощових черв'яків, які проживають в зоні впливу ЛЕП. Водночас фактори клітинного імунітету є визнаними біомаркерами екзогенного навантаження.

Ми дослідили співвідношення популяцій целомоцитів *Lumbricus terrestris* за умов хронічного впливу електромагнітного поля, сформованого високовольтними лініями електропередачі (ЛЕП).

Використовували інвазивний метод виділення целомічної рідини у дощових черв'яків з наступним виготовленням мазків на скельцях та їх фарбуванням за Паппенгеймом. Встановили, що в контрольній групі тварин, відібраних поза зоною впливу ЛЕП, в целомічній рідині домінують гранулярні амебоцити, наступну позицію займають гіалінові амебоцити, найменший відсоток припадає на елеоцити. У дощових черв'яків, відібраних у зоні впливу ЛЕП, статистично значимо знижується відносна кількість гранулярних амебоцитів і зростає відносна кількість елеоцитів. У дослідній групі спостерігається знижена здатність формувати коричневі тільця, у целомічній рідині виявлено значну кількість чужорідних об'єктів (інфузорії, нематоди), які не були фагоцитовані. Це свідчить про пригнічення ефективності фагоцитозу целомоцитами тварин дослідної групи. *Lumbricus terrestris* не схильні до активних міграцій, тобто, відібрані екземпляри тривалий час перебували в зоні впливу ЛЕП. Таким чином, високовольтні лінії електропередачі чинять стресовий вплив на імунну систему дощових черв'яків, викликаючи перерозподіл популяцій целомоцитів і гальмуючи розвиток зрілих гранулярних амебоцитів після можливих стрес-індукованих втрат целомічної рідини. Зниження фагоцитарного потенціалу целомоцитів є ознакою розбалансування

імунної системи *Lumbricus terrestris*, що мешкають в зоні ЛЕП. Показники клітинного імунітету дощових черв'яків є ефективними біомаркерами впливу електромагнітного випромінювання, сформованого високовольтними лініями електропередачі.

Ключові слова: *Lumbricus terrestris*, целомоцити, високовольтні лінії електропередачі (ЛЕП), стрес, біомаркери.

DOI <https://doi.org/10.32845/agrobio.2022.2.20>

Вступ. Дощові черви є важливою складовою мезофауни ґрунту і належать до типу *Annelida* класу *Oligochaeta*. Ґрунт, населений бактеріями, грибами та найпростішими, є середовищем з високим антигенним тиском, окремі представники мікробіому ґрунту постійно живуть в целомічній рідині олігохет (Yakkou et al., 2021). Тому у дощових черв'яків сформувалися потужні механізми природної резистентності. Вважається, що кільчасті черви були першими тваринами філогенетичного дерева, у яких сформувалися як клітинні, так і гуморальні фактори неспецифічної імунної відповіді (Gupta & Yadav, 2016).

Протибактеріальний імунітет у дощових черв'яків здійснюється шляхом фагоцитозу, інкапсуляції, лізису мікробних мембран, вивільнення целомоцитами гуморальних компонентів (аглютиніни, лектини, цитотоксичні молекули, лізосомальні ферменти, фосфатаза, лізоцим, активні форми кисню і антимікробні пептиди). Вже в кишковому тракту дощових черв'яків розпізнаються патогенні фактори ґрунту та генерується імунна відповідь проти них (Dvořák et al., 2016). Паралельно мобілізується імунний захист у целомічній рідині. Ці процеси контролюються на генетичному рівні (Gupta et al., 2014; Mácsik et al., 2015; Tak et al., 2015).

Крім мікробіоти ґрунту, імунна система дощових черв'яків реагує на різні типи органічних та неорганічних забруднювачів антропогенного походження. Це викликає зміни як морфологічних, так і кількісних характеристик черв'яків, модифікацію біохімічних та імунних процесів, може істотно впливати на їх фізіологію, здатність розмножуватися, рости та виживати (Ghosh, 2018; 2019; Yadav, 2016). Загалом, екстремальні фактори середовища, поєднуючись із бактеріальними патогенами, впливають на стан імунної системи класу *Oligochaeta* негативним чином (Roubalová et al., 2018; Swart et al., 2020; Zirbes et al., 2012). Враховуючи, що показники імунної системи визнані точними біомаркерами багатьох фізіологічних та патологічних процесів, екзогенних впливів та адаптивних явищ (Sokolenko & Sokolenko, 2019), поширюється їх використання у якості біоіндикаторів.

Серед природних об'єктів, чий показники зручні для біоіндикації, вказуються дощові черви. Це зумовлено їх доступністю та поширенням в екосистемах помірної зони Європи, відносно малорухливістю та істотною чисельністю на одиницю площі. Дощові черви не здатні до значних міграцій навіть за умов впливу негативних факторів (Kron et al., 2010).

Нааявні обмежені дані щодо безпосередніх та віддалених наслідків комплексного впливу на довкілля ліній електропередачі (ЛЕП), зумовленого формуванням магнітних та електричних полів. Негативний вплив ЛЕП показано також для ґрунтової біоти, зокрема, дощових черв'яків. Спостерігаються зменшення видової різноманітності та зміна морфологічних параметрів (зменшення

довжини тіла тощо). Водночас *Lumbricus terrestris* вважаються досить стійкими до впливу ліній електропередач (Vlasenko et al., 2020). Проте, значно менше даних щодо впливу електромагнітного випромінювання, особливо, електромагнітних полів, на імунну систему дощових черв'яків (Banovački & Matavulj, 2013; Bourdineaud et al., 2017; Tkalec et al., 2012).

Вроджену імунну систему дощових черв'яків вивчають вже понад 40 років, проте, донині походження різних типів імунних клітин та їх функції чітко не встановлені (Engelmann et al., 2016a). Для повного розуміння всіх компонентів, що беруть участь в реакціях природної резистентності класу *Oligochaeta*, особливо, у відповідь на екстремальні фактори середовища, необхідні подальші дослідження. Зокрема, це стосується значення певних рецепторів у реалізації сигнальних шляхів, вивчення NK-подібної активності, розуміння нейроімунно-перехресних взаємодій (Ghosh, 2018, 2019).

Таким чином, актуальною є оцінка співвідношення популяцій целомоцитів дощових черв'яків за умов впливу електромагнітного поля, сформованого високовольтними лініями електропередачі.

Матеріали і методи досліджень. Відбір зразків для аналізу здійснювався у травні 2022-го року. Робилися ґрунтові розкопки глибиною 20 см на територіях з однаковим типом ґрунту для отримання запланованої кількості зразків *Lumbricus terrestris* довжиною 11–12 см. Зразки контрольної групи тварин відбиралися у приміській зоні м. Черкаси, де не здійснювалась господарська діяльність (на території, де відсутній вплив ЛЕП). Дослідну групу сформували дощові черви, зібрані безпосередньо під високовольтними дротами (ЛЕП, 10 кВ, з охоронною зоною 10 метрів в обидва боки). Аналізувалися показники імунної системи у 20 екземплярів *Lumbricus terrestris* з кожної ділянки.

Виділення целомічної рідини проводили за модифікованою методикою, запропонованою групою авторів (Yakkou et al., 2021). Дощових черв'яків промивали дистильованою водою для видалення ґрунту та коріння. Перед пункцією їх просушували на стерильному фільтрувальному папері, далі поміщали у стерильний пластиковий пакет, щоб знерухомити і контролювати рухи. Прокол на латеральному рівні задньої частини тварин проводили стерильним шприцом паралельно до травного тракту під шкірно-м'язовий мішок. Целомічну рідину відтягували шприцом і відразу наносили на знежирене стерильне предметне скельце. Після відбору целомічної рідини тварин випускали у природу.

Целомічну рідину висушували на повітрі протягом години для кращої адгезії клітин до поверхні предметного скельця. Фарбування зразків здійснювали за Паппенгеймом.

Мікроскопію й фотографування фарбованих препаратів проводили на великому збільшенні, під імерсією (мікроскоп

«MICROmed Evolution ES-4130», об'єктив «Plan 100x/1,25 OIL», окуляр «WF 10x/22», відеокамера-насадка «CCD 5.0 Mpix USB 2.0.»). Для ідентифікування клітин целомичної рідини звертали увагу на їх розмір, форму, забарвлення цитоплазми та ядра, наявність включень (Engelmann et al., 2016a; 2016b; Roubalová et al., 2018).

Після перевірки вибірок на нормальність розподілу проводили їх порівняння за t-критерієм Стюдента.

Результати. На отриманих зразках диференціювали три типи імунних клітин *Lumbricus terrestris*: гранулярні амебоцити, гіалінові амебоцити, елеоцити (рис. 1).

Також під час мікроскопії у контрольній групі були зафіксовані окремі амебоцити у стані фагоцитозу бактерій та утворення коричневих тілець навколо інших антигенних

факторів, виявлених у целомичній рідині (рис. 2, 3). На зразках зустрічалися кластери клітин різного ступеня диференціювання, що могло свідчити про постійне активне утворення амебоцитів та елеоцитів (рис. 4).

У контрольній групі найбільшу частку целомоцитів складали гранулярні амебоцити, наступними за відсотковою часткою були гіалінові амебоцити і найменше угруповання сформували елеоцити. У дослідній групі співвідношення між імунними клітинами було приблизно однаковим (табл. 1).

Порівняння вибірок показало, що у дощових черв'як, які зазнали впливу електромагнітного випромінювання ЛЕП, відносна кількість гранулярних амебоцитів значимо нижча, ніж в особин з контрольної групи ($P < 0,001$),

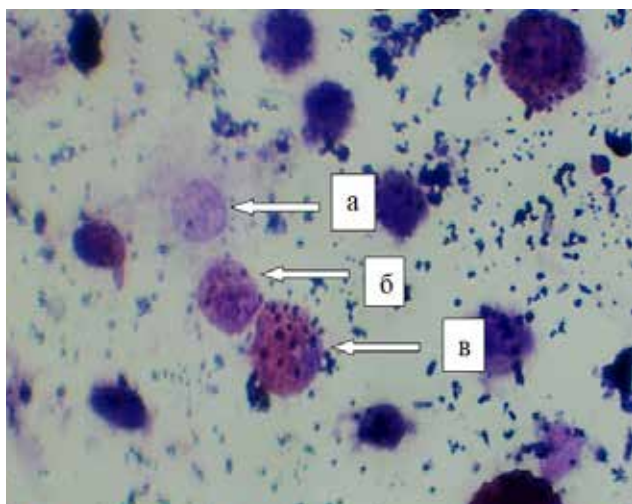


Рис. 1. Типові зрілі імунні клітини дощових черв'як: елеоцит (а), гіаліновий амебоцит (б), гранулярний амебоцит (в)

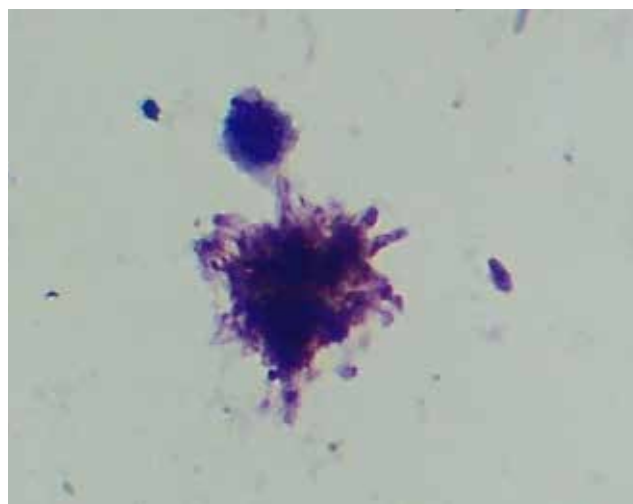


Рис. 2. Формування псевдоподій гранулярного амебоцита під час фагоцитарної активності

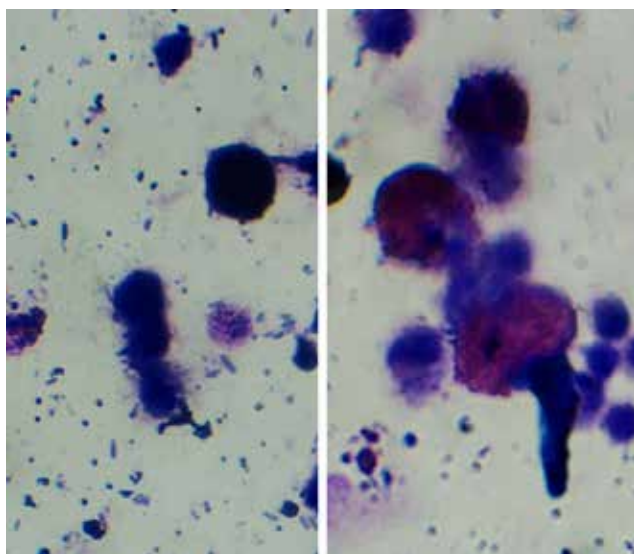


Рис. 3. Утворення коричневих тілець навколо великих чужорідних організмів, що потрапили у целом

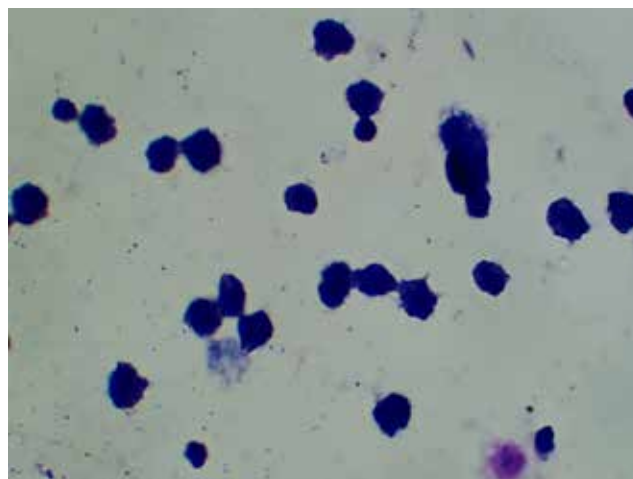


Рис. 4. Кластери недиференційованих целомоцитів у целомичній рідині

Відносна кількість популяцій зрілих целоцитів у дощових черв'як за умов відсутності та наявності впливу ЛЕП

Показники імунної системи	Контрольна група, M ± m; n=20	Дослідна група (вплив ЛЕП), M ± m; n=20
Гранулярні амебоцити, %	62,00 ± 1,435	38,00 ± 2,867 ***
Гіалінові амебоцити, %	33,80 ± 0,742	37,60 ± 1,655 *
Елеоцити, %	4,20 ± 1,241	24,50 ± 2,680 ***

* – P < 0,05; *** – P < 0,001 порівняно з контролем

виражена тенденція до зростання кількості гіалінових амебоцитів (P<0,05). Відносна кількість елеоцитів у дослідній групі була значимо вищою, ніж у контрольній групі (P<0,001) (табл. 1).

Обговорення. За даними літератури, в цілому *Lumbricus terrestris* кількість гіалінових амебоцитів істотно вища за кількість гранулярних в холодні пори року. Однак, у період з кінця травня до початку червня ця тенденція змінюється і кількість гранулярних амебоцитів різко зростає, тоді як гіалінових – скорочується. Кількість елеоцитів досить стабільна протягом року і лишається в межах 4% (Kurek & Plytycz, 2003). Подібні дані значною мірою збігаються з результатами, отриманими нами у контрольній групі.

Збільшення кількості гранулярних амебоцитів і зменшення кількості гіалінових можна пояснити сезонними коливаннями температур. Підвищення температури у весняно-літній період сприяє інтенсивному поділу бактерій і зростанню їх кількості. Хоча гіалінові амебоцити вважаються більш активними фагоцитуючими клітинами, гранулярні амебоцити, що містять еозинофільні гранули, можуть чинити ефективніший захист шляхом поєднання фагоцитозу та виділення з гранул біологічно активних речовин (Engelmann et al., 2016b; Gupta & Yadav, 2016).

У дослідній групі виявлено значне зменшення відносної кількості гранулярних амебоцитів, виражену тенденцію до збільшення відсотка гіалінових амебоцитів та значне зростання відсотка елеоцитів. Такі зміни можна пояснити наслідком впливу електромагнітного

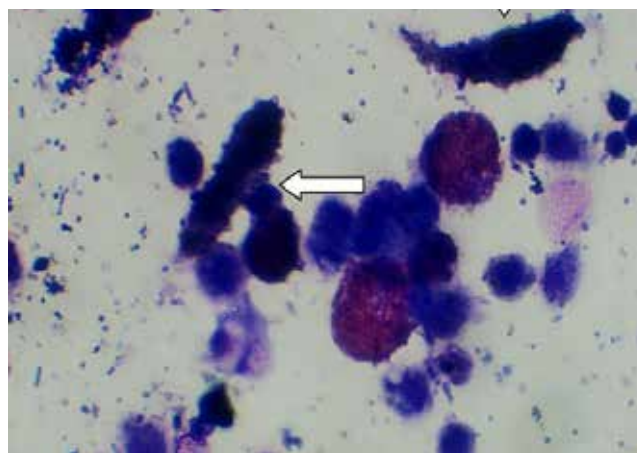


Рис. 5. Коричневі тілця, ідентифіковані в контрольній групі

випромінювання ЛЕП. *Lumbricus terrestris* не схильні до активних міграцій і тривалий час перебували в зоні впливу ЛЕП (Kron et al., 2010). Результати показують, що електромагнітне випромінювання вплинуло першою чергою на амебоцити. Амебоцити вважаються більш важливою складовою імунної системи дощових черв'як, оскільки вони мають високу фагоцитарну активність, їм властива потенційна цитотоксичність (Named et al., 2005). Очевидно, за умов впливу електромагнітного випромінювання ЛЕП клітини мезенхіальної тканини не можуть пройти повноцінне диференціювання до стадії гранулярних амебоцитів, що компенсується зростанням кількості гіалінових амебоцитів. Крім того, є думка, що гіалінові амебоцити можуть бути попередниками гранулярних (Kurek & Plytycz, 2003). Тобто, підтверджується ефект гальмування диференціювання целоцитів під впливом ЛЕП. Такі ефекти (перерозподіл популяцій імунних клітин та гальмування їх диференціювання) є характерною ознакою наслідків стресових впливів у хребетних, зокрема, людини (Sokolenko et al., 2018).

Екзогенні стресові впливи на дощових черв'як дійсно можуть проявлятися змінами клітинного циклу целоцитів, клітинності целомічної рідини та зміною експресії генів (Duan et al., 2017; Gautam et al., 2020; Hayashi et al., 2016; Homa et al., 2016; Mincarelli et al., 2016; Rodriguez-Seijo et al., 2017; Zhang et al., 2015), викликати активацію окисних процесів та агрегацію целоцитів (Ray et al., 2019), їх апоптозом. Серед стресових ефектів вказують стимулювання виділення целомічної рідини через дорсальні пори дощових черв'як у довкілля. Відновлення клітинних компонентів, особливо, зрілих клітин, потребує часу (Plytycz et al., 2016; Santocki et al., 2016). Цим також пояснюються виявлені нами ефекти.

Елеоцити виконують функцію регуляції метаболічних процесів, включно з виробництвом антибактеріальних речовин та регуляцією активності амебоцитів (Engelmann et al., 2016b; Gupta & Yadav, 2016). Можливо, саме для збалансування роботи імунної системи в умовах дії ЛЕП утворюється більша кількість елеоцитів, які продукують широкий спектр біологічно активних речовин.

Варто зауважити, що у контрольній групі спостерігалися випадки формування коричневих тілець, вдалося зафіксувати процес їх утворення (рис. 5). Корич-

неві тільки були відсутні у дослідній групі, при цьому там спостерігалася значна кількість чужорідних об'єктів (інфузорії, нематоди), які не були фагоцитовані (рис. 6). Подібний ефект можна пояснити розбалансованістю імунної системи дощових черв'яків під впливом ЛЕП, оскільки для утворення коричневих тілець необхідна участь амебоцитів при контролі та стимуляції з боку елеоцитів.

Висновки. Електромагнітне випромінювання, сформоване високовольними лініями електропередачі, чинить стресовий вплив на імунну систему *Lumbricus terrestris*. Як наслідок, виникає перерозподіл популяції целомоцитів і гальмується розвиток зрілих гранулярних амебоцитів після можливих стрес-індукованих втрат целомічної рідини. Зниження фагоцитарного потенціалу целомоцитів є ознакою розбалансування імунної системи дощових черв'яків під впливом ЛЕП. Це може бути негативним фактором для стану здоров'я популяцій *Lumbricus terrestris*, які мешкають у зоні ЛЕП. Показники клітинного імунітету дощових черв'яків є ефективними біомаркерами впливу електромагнітного випромінювання.

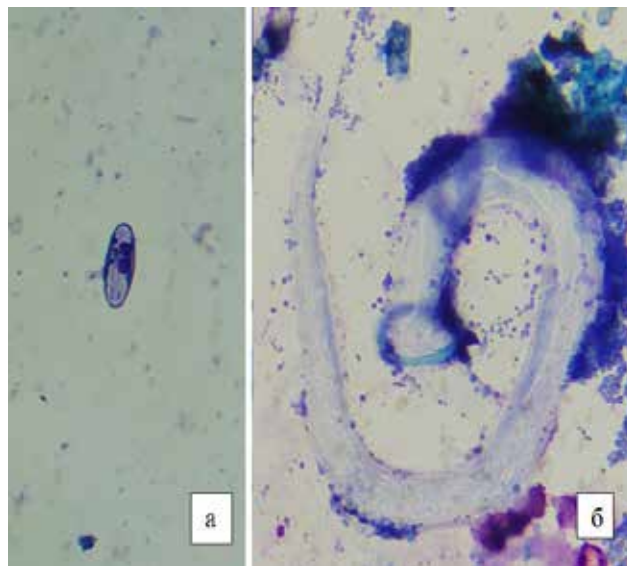


Рис. 6. Чужорідні організми, ідентифіковані в целому дощових черв'яків з дослідної групи: інфузорія (а), нематода (б)

Бібліографічні посилання:

1. Banovački, Z., & Matavulj, M. (2013). Exposure to extremely low frequency (50 Hz) electromagnetic field changes the survival rate and morphometric characteristics of neurosecretory neurons of the earthworm *Eisenia foetida* (Oligochaeta) under illumination stress. *Archives of Biological Sciences*, 65(1), 395–403. doi:10.2298/ABS1301395B
2. Bourdineaud, J. P., Šrut, M., Štambuk, A., Tkalec, M., Brèthes, D., Malarić, K., & Klobučar, G. I. (2017). Electromagnetic fields at a mobile phone frequency (900 MHz) trigger the onset of general stress response along with DNA modifications in *Eisenia fetida* earthworms. *Arhiv za Higijenu Rada i Toksikologiju*, 68(2), 142–152. doi:10.1515/aiht-2017-68-2892
3. Duan, X., Fu, X., Song, J., Li, H., Sun, M., Hu, F., Xu, L., & Jiao, J. (2017). Physiological and molecular responses of the earthworm *Eisenia fetida* to polychlorinated biphenyl contamination in soil. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(22), 18096–18105. doi:10.1007/s11356-017-9383-9
4. Dvořák, J., Roubalová, R., Procházková, P., Rossmann, P., Škanta, F., & Bilej, M. (2016). Sensing microorganisms in the gut triggers the immune response in *Eisenia andrei* earthworms. *Developmental & Comparative Immunology*, 57, 67–74. doi: 10.1016/j.dci.2015.12.001
5. Engelmann, P., Hayashi, Y., Bodó, K., Ernszt, D., Somogyi, I., Steib, A., Orban, J., Pollak, E., Nyitrai, M., Nemeth, P., & Molnár, L. (2016a). Phenotypic and functional characterization of earthworm coelomocyte subsets: Linking light scatter-based cell typing and imaging of the sorted populations. *Developmental & Comparative Immunology*, 65, 41–52. doi:10.1016/j.dci.2016.06.017
6. Engelmann, P., Hayashi, Y., Bodó, K., & Molnár, L. (2016b). New aspects of earthworm innate immunity: Novel molecules and old proteins with unexpected functions. In *Lessons in immunity* (pp. 53–66). Academic Press. doi: 10.1016/B978-0-12-803252-7.00004-7
7. Gautam, A., Ray, A., Manna, S., Sarkar, M. P., Ghosh, A. R., Ray, M., & Ray, S. (2020). Shift in phagocytosis, lysosomal stability, lysozyme activity, apoptosis and cell cycle profile in the coelomocytes of earthworm of polluted soil near a tannery field of India. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 200, 110713. doi: 10.1016/j.ecoenv.2020.110713
8. Ghosh, S. (2018). Environmental pollutants, pathogens and immune system in earthworms. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(7), 6196–6208. doi:10.1007/s11356-017-1167-8
9. Ghosh, S. (2019). Impact of radiations on earthworms. *Explor Anim Med Res*, 9(2), 120–124.
10. Gupta, S., & Yadav, S. (2016). Immuno-defense strategy in earthworms: a review article. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 5, 1022–1035. doi:10.20546/ijcmas.2016.504.117
11. Gupta, S., Kushwah, T., & Yadav, S. (2014). Earthworm coelomocytes as nanoscavenger of ZnO NPs. *Nanoscale Research Letters*, 9(259). doi:10.1186/1556-276X-9-259
12. Hamed, S. S., Kauschke, E., & Cooper, E. L. (2005). Cytochemical properties of earthworm coelomocytes enriched by Percoll. *International Journal of Zoological Research*, 1, 74–83. doi:10.3923/ijzr.2005.74.83
13. Hayashi, Y., Miclaus, T., Engelmann, P., Autrup, H., Sutherland, D. S., & Scott-Fordsmand, J. J. (2016). Nanosilver pathophysiology in earthworms: Transcriptional profiling of secretory proteins and the implication for the protein corona. *Nanotoxicology*, 10(3), 303–311. doi:10.3109/17435390.2015.1054909
14. Homa, J., Stalmach, M., Wilczek, G., & Kolaczowska, E. (2016). Effective activation of antioxidant system by immune-relevant factors reversely correlates with apoptosis of *Eisenia andrei* coelomocytes. *Journal of Comparative Physiology B*, 186(4), 417–430. doi:10.1007/s00360-016-0973-5
15. Kron, A., Roshko, V., Vlasenko, R., Onischuk I. (2010). Communities of earthworms (Oligochaeta, Lumbricidae) under conditions of chronic electromagnetic stress. [Uhrupovannia doshchovykh cherviv (Oligochaeta, Lumbricidae)

v umovakh khronichnoho elektromahnitnoho stresu]. Naukovyi visnyk Uzhhorodskoho universytetu. Seriya Biologiya, 27, 13–17 (in Ukrainian). Access mode: <http://eprints.zu.edu.ua/id/eprint/29828>

16. Kurek, A., & Plytycz, B. (2003). Annual changes in coelomocytes of four earthworm species: The 7th international symposium on earthworm ecology. Cardiff. Wales. 2002. *Pedobiologia*, 47(5–6), 689–701. doi:10.1078/0031-4056-00246
17. Mácsik, L. L., Somogyi, I., Opper, B., Bovári-Biri, J., Pollák, E., Molnár, L., Nemeth, P. & Engelmann, P. (2015). Induction of apoptosis-like cell death by coelomocyte extracts from *Eisenia andrei* earthworms. *Molecular Immunology*, 67(2), 213–222. doi: 10.1016/j.molimm.2015.05.015
18. Mincarelli, L., Vischetti, C., Craft, J., & Tiano, L. (2016). DNA damage in different *Eisenia andrei* coelomocytes sub-populations after in vitro exposure to hydrogen peroxide. *SpringerPlus*, 5(302), doi: 10.1186/s40064-016-1950-x.
19. Plytycz, B., Bigaj, J., Falniowski, A., & Morgan, A. J. (2016). Unexpected results and open questions from experiments on regeneration in lumbricid worms. *Invertebrate Survival Journal*, 13(1), 315–325.
20. Ray, S., Gautam, A., Ray, A., Das, S., & Ray, M. (2019). Analysis of oxidative stress and cellular aggregation in the coelomocytes of earthworms collected from metal contaminated sites of industrial and agricultural soils of West Bengal, India. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(22), 22625–22640. doi: 10.1007/s11356-019-05438-x
21. Rodriguez-Seijo, A., Lourenço, J., Rocha-Santos, T. A. P., Da Costa, J., Duarte, A. C., Vala, H., & Pereira, R. (2017). Histopathological and molecular effects of microplastics in *Eisenia andrei* Bouché. *Environmental Pollution*, 220, 495–503. doi: 10.1016/j.envpol.2016.09.092
22. Roubalová, R., Plytycz, B., Procházková, P., Navarro Pacheco, N. I., & Bilej, M. (2018). Annelida: environmental interactions and ecotoxicity in relation to the earthworm immune system. In *Advances in Comparative Immunology* (pp. 933–951). Springer, Cham. doi: 10.1007/978-3-319-76768-0_27
23. Santocki, M., Falniowski, A., & Plytycz, B. (2016). Restoration of experimentally depleted coelomocytes in juvenile and adult composting earthworms *Eisenia andrei* E. fetida and *Dendrobaena veneta*. *Applied Soil Ecology*, 104, 163–173. doi: 10.1016/j.apsoil.2015.08.022
24. Sokolenko, V. L., & Sokolenko, S. V. (2019). Manifestations of allostatic load in residents of radiation contaminated areas aged 18–24 years. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 10(4), 422–431. doi: 10.15421/021963
25. Sokolenko, V. L., Sokolenko, S. V., Sheiko, V. I., & Kovalenko, O. V. (2018). Interconnection of the immune system and the intensity of the oxidative processes under conditions of prolonged exposure to small doses of radiation. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 9(2), 167–176. doi: 10.15421/021825
26. Swart, E., Dvorak, J., Hernádi, S., Goodall, T., Kille, P., Spurgeon, D., Svendsen, C., & Prochazkova, P. (2020). The effects of in vivo exposure to copper oxide nanoparticles on the gut microbiome, host immunity, and susceptibility to a bacterial infection in earthworms. *Nanomaterials*, 10(7), 1337. doi: 10.3390/nano10071337
27. Tak, E. S., Cho, S. J., & Park, S. C. (2015). Gene expression profiling of coelomic cells and discovery of immune-related genes in the earthworm, *Eisenia andrei*, using expressed sequence tags. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 79(3), 367–373. doi: 10.1080/09168451.2014.988677
28. Tkalec, M., Štambuk, A., Šrut, M., Malarić, K., & Klobučar, G. I. (2013). Oxidative and genotoxic effects of 900 MHz electromagnetic fields in the earthworm *Eisenia fetida*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 90, 7–12. doi: 10.1016/j.ecoenv.2012.12.005
29. Vlasenko, R., Khomiak, I., Harbar, O., Demchuk, N. (2020). Lumbricides as a bioindicators of the influence of electrical transmission line in the conditions of Ukrainian Polissia. *Travaux du Muséum National d'Histoire Naturelle "Grigore Antipa"*, 63(1), 7–18. doi:10.3897/travaux.63.e51640
30. Yadav, S. (2016). Screening of immunocompetent coelomic cells in earthworms. *International Journal of Sciences*, 5(4), 43–51. doi:10.18483/ijSci.999
31. Yakkou, L., Houida, S., Dominguez, J., Raouane, M., Amghar, S., & Harti, A. E. (2021). Identification and Characterization of Microbial Community in the Coelomic Fluid of Earthworm (*Aporrectodea molleri*). *Microbiology and Biotechnology Letters*, 49(3), 391–402. doi:10.48022/mbl.2104.04013
32. Zhang, W., Liu, K., Li, J., Liang, J., & Lin, K. (2015). Impacts of BDE209 addition on Pb uptake, subcellular partitioning and gene toxicity in earthworm (*Eisenia fetida*). *Journal of Hazardous Materials*, 300, 737–744. doi: 10.1016/j.jhazmat.2015.08.014
33. Zirbes, L., Thonart, P., & Haubruge, E. (2012). Microscale interactions between earthworms and microorganisms, a review. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 16(1), 125–131.

Sokolenko S.V., PhD (Biological Sciences), Associate Professor, Bohdan Khmelnytsky National University of Cherkasy, Cherkasy, Ukraine

Sokolenko Y.V., Student, Bohdan Khmelnytsky National University of Cherkasy, Cherkasy, Ukraine

Zubenko O.G., PhD (Biological Sciences), Bohdan Khmelnytsky National University of Cherkasy, Cherkasy, Ukraine

Kobal I.V., PhD Student, Bohdan Khmelnytsky National University of Cherkasy

Sokolenko V.L., PhD (Biological Sciences), Associate Professor, Bohdan Khmelnytsky National University of Cherkasy, Cherkasy, Ukraine

Correlation between populations of *Lumbricus terrestris*'s coelomocytes under the influence of high-voltage electric power transmission lines

The importance of searching for new available and demonstrative methods of bioindication is growing nowadays to show the effects of anthropogenic pressure on the natural environment. The literature writes about the negative influence of high-voltage electric power transmission lines on soil mesofauna, decrease in species diversity, and changes in morphological parameters. Lumbricus terrestris is considered to be quite resistant to such influence. However, there is no data about indicators of the immune system of earthworms that live in an electric power transmission lines influence zone. At the same time, factors of cell immunity are recognized as biomarkers of exogenous pressure.

We researched the correlation between populations of *Lumbricus terrestris*'s coelomocytes under the chronic influence of an electromagnetic field that is formed by high-voltage electric power transmission lines.

The invasive method was used to extract coelomic fluid from earthworms and prepare samples on a microscope slide with the next staining them with a Pappenheim method. We discovered that granular amoebocytes dominated in the coelomic fluid of a control group of animals that were taken from the zone without electric power transmission lines influence. Hyaline amoebocytes were the next group in number, and eleocytes had the smallest percentage in a number. The relative number of granular amoebocytes decreased statistically significantly and the relative number of eleocytes increased in the group of earthworms that were taken from the high-voltage electric power transmission lines influence zone. There was noticed a reduced ability to form brown bodies in the experimental group, as in the coelomic fluid found there was a significant number of foreign objects (ciliates, nematodes), which were not phagocytosed.

This indicates the inhibition of the effectiveness of phagocytosis by coelomocytes of animals of the experimental group. *Lumbricus terrestris* are not prone to active migrations, so the selected specimens have been for a long time in the area affected by transmission lines. Thus, high-voltage electric power transmission lines stress the immune system of earthworms, causing redistribution of coelomocyte populations and inhibiting the development of mature granular amoebocytes after the possible stress-induced loss of coelomic fluid. The decreased phagocytic potential of coelomocytes is a sign of imbalance of the immune system of *Lumbricus terrestris*, living in the area of transmission lines. Indicators of cellular immunity of earthworms are effective biomarkers of exposure to electromagnetic radiation generated by high-voltage electric power transmission lines.

Key words: *Lumbricus terrestris*, coelomocytes, high-voltage electric power transmission lines, stress, biomarkers.