

Вплив поверхневоактивних речовин на вміст кальцію в тканинах молюска *Unio pictorum* (Mollusca: Bivalvia: Unionidae)

Досліджено вміст кальцію в тканинах зябер, мантії, гонади, гепатопанкреаса двостулкового молюска *Unio pictorum* у нормі та за затруєння середовища поверхневоактивними речовинами (миючий засіб "Лотос Dax Extra"). Встановлено, що за концентрації токсиканта 500 і 1000 мг/л у результаті 48-годинної експозиції вміст кальцію в тканинах значно зростає.

На сучасному етапі існування суспільства та розвитку науки і технологій неможливо гарантувати "абсолютну" токсикологічну безпеку людини і довкілля. Перш за все, ця проблема пов'язана з водним середовищем, яке "поглинає" майже всі шкідливі речовини, що надходять у біосферу або в ньй утворюються [1]. Велика кількість різноманітних екотоксикантів, потрапляючи у водойми, погіршує якість води, змінює середовище існування гідробіонтів, призводить до порушення біогеоценозів та кризи водних екосистем. Тому саме для цієї ланки довкілля найбільш актуальним є використання "концепції оцінки ризику" щодо забруднення вод екологічними токсикантами [2]. Відповідно до концепції ризик забруднення водного середовища повинен бути зменшений настільки, щоби він розглядався як прийнятний.

У наш час одними з найпоширеніших поліютантів, які забруднюють води середовище, є поверхневоактивні речовини (ПАР), освітлюючі властивості яких зумовлюють широке застосування їх у промисловості, сільському господарстві і побуті.

Адсорбуючись на поверхні "вода – повітря", ПАР перешкоджають нормальній аерації води, погіршуєчи тим самим умови дихання гідробіонтів. Також ПАР підсилюють дію інших забруднювачів водного середовища.

Впродовж останніх десятиліть як організми-індикатори рекомендовано використовувати безхребетних тварин, зокрема прісноводних молюсків, котрі є звичайними компонентами водоїм. Враховуючи значення кальцію для побудови опірних тканин у м'якунів та інших реакціях організму, ми дослідили вплив ПАР на кальцієвий обмін двостулкового молюска *Unio pictorum*.

Матеріал і методи

100 екз. перлівниці малярської *U. pictorum ponderosus* Spitzi in Rossmaessler, 1844, зібраних вручну у р. Тетерів (Житомир) у червні–серпні 2001 р. Токсикогічні досліди поставлено за методикою В.А.Алексєєва [3]. Як токсикант використано СМЗ "Лотос Dax Extra". Орієнтаційним дослідом встановлено значення $LC_0=100$ і $LC_{100}=10000$ мг/л. У межах LC_0-LC_{100} підібрано 2 концентрації, котрі було використано в основному досліді, – $LC_{25}=500$, $LC_{50}=1000$ мг/л. Розчини готували на дехлорованій відстоюванням (1 доба) воді з водогінної мережі. Експозиція – 2 доби, через добу розчини заміняли свіжеприготованими.

По завершенні експозиції молюсків анатомували, вилучали з їх тіл органи, призначенні для біохімічного дослідження, – зябри, мантію, гонаду, гепатопанкреас. Вміст кальцію в їх тканинах визначали трилонометричним титруванням в присутності мурексиду [4]. Цифрові результати оброблено за Г.Ф. Лакіним [5].

Результати та обговорення

Висвітлені в літературі питання кальцієвого обміну переважно стосуються теплокровних тварин [6], риб [7] і залишають нерозкритими переважну більшість закономірностей цього процесу у двостулкових прісноводних молюсків.

Встановлено, що чим вище у філогенетичній драбині знаходиться організм, тим ефективніше перебігають у нього йонорегуляторні процеси [8]. У молюсків кальцієвий склад тканинної рідини багато в чому залежить від концентрації кальцію у воді, тому піддослідні особини *U. pictorum* було зібрано з одного біотопу (р. Тетерів, Житомир). Відомо [9], що для свого росту і розвитку молюски переважно використовують кальцій води (в деякій мірі корму) й володіють високою здатністю адсорбувати його.

Потреба у кальції у молюсків залежить від фізіологічного стану їх організму [10], однак, як встановлено нами, не залежить від статі (рис. 1). Достовірних статевих відмінностей в кількості кальцію в тканинах молюсків двох статей нами не зареєстровано.

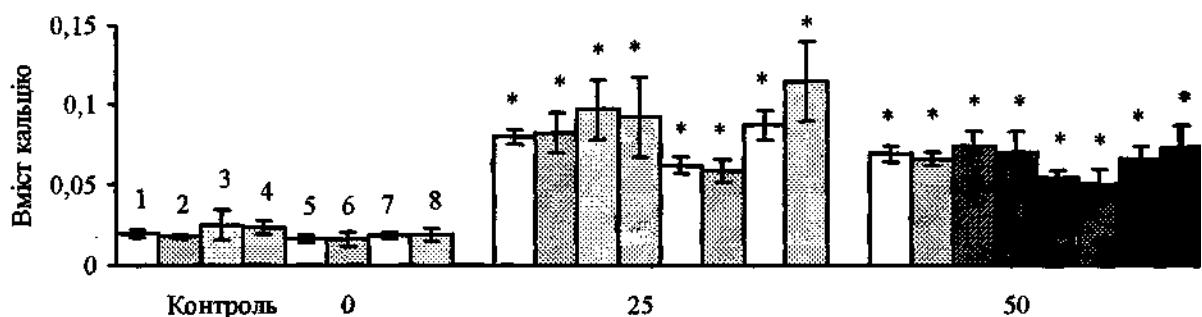


Рис. 1. Вплив СМЗ "Лотос" на вміст кальцію ммол/г в тканинах *U. pictorum*: 1-зябра (самці), 2-зябра (самки), 3- мантія (самці), 4-мантия (самки), 5-гепатопанкреас (самці), 6- гепатопанкреас (самки), 7-гонада (самці), 8-гонада (самки).

Відомо, що окрім важливого значення кальцію для м'якунів в побудові скелету, він відіграє виключну роль як переносник вхідного струму в генерації потенціалів дії в сомі гігантських нейронів [11]. Зроблено висновок [12], що в збудливій мембрани гігантських нейронів молюсків існує як "натріевий", так і "кальцевий" механізми генерації потенціалів дії. При цьому для виникнення "кальцевого" потенціалу дії необхідно, щоби концентрація його іонів у зовнішньому розчині була не нижчою певного рівня. На думку А.Д. Харісона [13], молюски взагалі уникають водойм із вмістом кальцію нижче 2 мг/л. Це підтверджено і нашими дослідженнями [14].

Суттєву роль у метаболізмі кальцію у молюсків відіграють зябра та мантія. Одночасно з утилізацією з мантійної рідини кальцій може в значній кількості поглинатися клітинами мантії безпосередньо з води і з гемолімфі та відкладатися у черепашці. В мантії прісноводних молюсків виявлено чутливі до змін вмісту кальцію нервові закінчення [15]. Завдяки обміну іонів кальцію, фосфору та вугільної кислоти, а також можливості утилізувати ці речовини при утворенні черепашки мантія у молюсків може розглядатися як орган, що забезпечує підтримання кислотно-лужної рівноваги гемолімфи [16].

Вивчення розподілу кальцію в організмі молюсків показало [17], що, проникаючи з навколошнього середовища, він спочатку надходить у гемолімфу, а потім розподіляється по тканинах. Нами встановлено, що з усіх досліджуваних у нормі тканин *U. pictorum* (мантия, зябра, гепатопанкреас, гонада) найвищий вміст кальцію в мантії (рис. 1).

Обраний нами для затруєння середовища "Лотос Дах Extra" (містить 5–15% аніонних ПАР та 15–30% фосфорокислих солей (тринатрійполіфосфат)) є отрутою локальної та ензимної дії. Для молюсків *U. pictorum* це слабко токсична речовина.

На початку експозиції молюсків у розчинах токсикантів (LC_{25} , LC_{50}) вони щільно змикають стулки черепашки, що дозволяє уникнути дії токсичних речовин. Однак ця швидка захисна фізіологічна реакція є короткотривалою, і вже через 30 хв–1 год молюски відкривають стулки. Наступною захисною реакцією є ослизнення тіла. Шар слизу обмежує доступ поліотантів до шкіри тварин. Одночасно "спрацьовує" й інша неспецифічна захисно-пристосувальна реакція на дію стресуючого чинника – підвищення у молюсків загального обміну речовин. Із зростанням експозиції інтенсивність ослизнення тіла молюсків підсилюється, що погіршує умови шкірного дихання і набуває патологічного характеру.

Вже через 4 год. експозиції в концентрації LC_{50} у молюсків відмічається набряк ноги, знижується тактильна чутливість, відбуваються дегенеративно-деструктивні процеси у миготливому епітелії філаментів зяber і мантії, що призводить до руйнації епітеліальних клітин, відшарування епітелію, утворення виразок, появи кровотеч. За нестації кисню у воді, маючи істотні ушкодження зяber, у них "спрацьовує" ще одна неспецифічна захисно-пристосувальна реакція – перехід від аеробізу до гліколізу.

Аналіз результатів дослідження показує, що через 48 год. експозиції в концентрації LC_{25} у молюсків в усіх досліджуваних тканинах вміст кальцію значно зростає (на 235–494%) (рис.1). Можливо, це зумовлене тим, що в механізмі клітинного транспорту кальцію важлива роль належить карбоангідразний активності. Карбоангідраза слугує регуляторним центром фіксування карбонату кальцію. Її може належати роль переносника кальцію при обміні між CaCO_3 черепашки та іонізованою формою Ca^{2+} біологічних рідин молюсків [18]. Отже, стрімке зростання вмісту кальцію в досліджуваних тканинах може бути спровоциоване пригніченням ферментативної активності, оскільки обраний токсикант є ферментативною отрутою.

При отруєнні *U. pictorum* поліотантом в концентрації LC_{50} через 2 доби в усіх тканинах молюсків відмічається деяке зменшення вмісту кальцію порівняно з LC_{25} , хоча загалом вміст кальцію порівняно з нормою залишається досить високим. Відомо [7], що коли молюски потрапляють в несприятливі умови

середовища, утворювана метаболічна вуглекислота нейтралізується за рахунок кальцію тканиної рідини та черепашки.

Висновки

Отже, можливість підтримання буферної ємкості гемолімфи за рахунок кальцію та інших йонів відіграє важливу роль у механізмі адаптації молюсків до різних змін чинників водного середовища.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Васенко О.Г., Верніченко Г.А. Комплексне планування та управління водними ресурсами. – К.: Інститут географії НАН України, 2001. – 367 с.
2. Хоружая Т.А. Методы оценки экологической опасности. – М.: «Экспертное бюро - М», 1998. – 224 с.
3. Алексеев В.А. Основные принципы сравнительно-токсикологического эксперимента // Гидробиол. журн. – 1981. – Т. 17, №3. – С. 92–100.
4. Горячковский А.М. Справочное пособие по клинической биохимии. – О.: ОКФА, 1994. – 364 с.
5. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1973. – 343 с.
6. Романенко В.Д. Физиология кальциевого обмена – К.: Наук. думка, 1975. – 170 с.
7. Романенко В.Д., Арсан О.М., Соломатина В.Д. Кальций и фосфор в жизнедеятельности гидробионтов. – К.: Наук. думка, 1982. – 152 с.
8. Гинецинский А.Г. Физиологические механизмы водно-солевого равновесия. – М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1963. – 427 с.
9. Baght J., Puymbrack S. Calcium metabolism in freshwater mollusc: quantitative importance of water and food as supply for calcium during growth. – Nature, 1966. – №5038. – P. 791–793.
10. Ross L.F., Harrison A.D. Effect of environmental calcium deprivation of the egg masses of *Physa marmorata* gueding (Gastropoda: Physidae) and *Biophalaria glabrata* Say (Gastropoda: Planorbidae). – Hydrobiologia, 1977. – №1. – P. 45–48.
11. Kostyuk P.G. Ionic background of activity in giant neurons of mollusca // Neurobiology of invertebrates. – Budapest: Acad. Klado, 1968. – P. 145–167.
12. Костюк П.Г. Физиология центральной нервной системы. – К.: Вища школа, 1971. – 292 с.
13. Harrison A.D. Hydrobiological studies on alkaline and acid still waters in the western Cape province. – Trans. Roy. Soc. S. Afr., 1962. – P. 213–244.
14. Мельниченко Р.К., Янович Л.М. Вплив чинників середовища на формування малакоценозів // Вісник ДААУ, 2000. – №1. – С. 234–240.
15. Zylstra U., Boer H.H., Sminia T. Ultrastructure, histology and innervation of the mantle edge of the freshwater pulmonate snails *Limnaea stagnalis* and *Biophalaria pfeifferi* // Calcified Tissue Res., 1978. – №3. – P. 271–283.
16. Sminia T., With N.D., Bos J.L. et al. Structure and function of the calcium cells of the freshwater pulmonate snail *Limnaea stagnalis* // Neth. J. Zool., 1977. – №2. – P. 195–208.
17. Greenaway P. Calcium regulation in the freshwater mollusc *Limnaea stagnalis*: The effect of internal and external calcium concentration // J. Exp. Biol., 1971. – №1. – P. 199–214.
18. Istlin M., Girard J.F. Dynamic state of calcium reserves in freshwater clam mantle // Calcified Tissue Res., 1970. – №3. – P. 196–205.

*Янович Л.Н. Влияние поверхностноактивных веществ на содержание кальция в тканях моллюска *Unio pictorum* (Mollusca: Bivalvia: Unionidae)*

Исследовано содержание кальция в тканях жабер, мантии, гонады, гепатопанкреаса двустворчатого моллюска *Unio pictorum* в норме и при затравлевании среды поверхностноактивными веществами (моющее средство "Лотос Dax Extra"). Установлено, что при концентрации токсиканта 500 и 1000 мг/л в результате 48-часовой экспозиции содержание кальция в тканях значительно возрастает.

*Yanovych L.M. The Influence of Surface Active Substances on Calcium Content in Mollusk *Unio pictorum* (Mollusca: Bivalvia: Unionidae) Tissues*

The calcium content in gill, mantle, gonad, hepatopancreas tissues of *Unio pictorum* mollusk in norm and under environmental intoxication with surface active substances ("Lotos Dax Extra" detergent) is investigated. The significant increase of calcium content is registered under 500 and 1000 mg/l toxicant concentration during 48 hour exposure.