

Т. В. Черномаз,
кандидат біологічних наук, асистент;
Д. А. Вискушенко,
кандидат біологічних наук, доцент
(Житомирський державний університет)

Вплив цинку на показники фізіологічного статусу деяких молюсків

*Досліджено вплив хлориду цинку на трофічні показники *Lymnaea stagnalis* та на тривалість биття війок миготливого епітелію *Colletopterum piscinale*. Наявність іонів цього важкого металу у розчині призводить до розвитку у молюсків патологічного процесу. Для клітин миготливого епітелію він має фазний характер. Виявлено фази байдужості, підвищення активності, депресії, сублетальну і летальну.*

Серед чинників антропогенного впливу на водні екосистеми останнім часом суттєвого значення набуває забруднення їх йонами важких металів. Однак недостатній рівень висвітлення впливу цих токсикантів на бентичні організми суттєво утруднює побудову екологічної системи ГДК та не дозволяє надійно прогнозувати вірогідні зміни у водних екосистемах. Водночас обрані нами об'єкти дослідження є досить поширеними у внутрішніх водоймах України, що дозволяє до певної міри екстраполувати отримані результати на близькі за способом життя види.

Цинк належить до біометалів. Він один із найважливіших мікроелементів тваринних організмів. Цинк входить до складу ферментів (карбоангідраз, дегідрогеназ, фосфатаз, протеїназ, пептидаз), металотіонеїнів, які виконують регуляторну функцію у метаболізмі металів, відіграє значну роль у стабілізації рибосом і біополімерів [1]. Від його внутрішньоклітинного вмісту залежить проходження гліколітичних та окисних процесів. Однак дуже високі концентрації його пригнічують синтез нуклеїнових кислот, впливають на окисно-відновні процеси, на зв'язування кисню тканинами [2].

Значна частина цинку мігрує у водоймі у вигляді так званих вільних (гідратованих) йонів [3]. Розчинені форми металів є найбільш біодоступними для водних тварин і засвоюються безпосередньо з води на межі активного контакту організму з середовищем.

Ми вирішили дослідити вплив різних концентрацій хлориду цинку на деякі трофічні показники *Lymnaea stagnalis* та на показник функціонування миготливого епітелію *Colletopterum piscinale*. Адже ці показники досить чутливо відображають зміни фізіологічного статусу піддослідних тварин та свідчать про гармонійність або порушення обмінних процесів у їх організмі.

Матеріал і методи досліджень

Об'єктами дослідження були ставковик озерний *Lymnaea stagnalis* і перлівниця *Colletopterum piscinale falcatum*. Сташковик озерний зібраний у басейні р. Тетерів у травні–липні 2000 р. Токсикологічні досліди поставлено за методикою В. А. Алексєєва [4]. Для встановлення показників живлення користувались методиками Є. А. Цихон-Лукаїної [5, 6]. Тривалість трофологічних дослідів – 48 год. Як кормовий об'єкт у наших дослідях використано частуху (*Alisma plantago*).

Перлівниць збрали у річках Тетерів (Житомир) і Коденка (с. Пряжево) у серпні–вересні 2002 р. Токсикологічний дослід поставлено у трикратній повторюваності. Вибірка першої повторюваності становила 30 екз. *C. piscinale*; другої – 39; третьої – 41 екз. Для виконання цього експерименту ми скористалися методикою, опрацьованою Т. А. Шляхтер [7, 8]. Розчини токсиканту готували на основі розчину Рінгера для холоднокровних тварин. Відокремлені шматочки тканини зябер і ноги уміщали у розчині токсикантів ємністю 50–60 мл. Спочатку готували декілька пробних розчинів достатньо високої концентрації хлориду цинку і перевіряли за допомогою мікроскопу БІОЛАМ Р–15 ($\times 203$) наявність війкового руху у клітин миготливого епітелію, занурених у ці розчини. Визначали концентрацію, за якої цей рух миттєво припинявся після стикання досліджуваного матеріалу з розчином токсиканту. Далі виявляли концентрації розчинів, у яких значення тривалості биття війок миготливого епітелію співпадало з величинами цього показника для контролю. Між визначеними граничними концентраціями вибрали декілька дослідних концентрацій (у перерахунку на йон металу): $3 \cdot 10^{-4}$, $5 \cdot 10^{-4}$, $1 \cdot 10^{-3}$, $3 \cdot 10^{-3}$, $5 \cdot 10^{-3}$, $1 \cdot 10^{-2}$, $3 \cdot 10^{-2}$, $5 \cdot 10^{-2}$, 0,1, 0,3, 0,5, 1, 2, 4, 8, 16, 32 г/дм³. Результати знімали щохвилини у перші 10 хв і далі через кожні 10, 30 хв, 1, 2, 12, 24 год від початку дослідів.

Результати досліджень

Як показали результати наших досліджень, величина середньодобового раціону (ВСР), коефіцієнт засвоєння їжі (КЗІ) та тривалість її проходження через травний тракт (ТПТ) коливаються у досить значних межах. Розмах величини показників відповідно становить – 1,01–3,90%; 0,25–0,76 та 210–382 хв. Отримані нами дані подібні до відомостей, здобутих Є. А. Цихон-Лукаїною [6], за результатами дослідів якої розмах показників живлення досягає іноді 85%.

Важливим трофічним показником є ефективність живлення (ЕЖ). Для контрольної групи тварин він становить $1,51 \pm 0,12\%$. Очевидно, що цей показник менший за ВСР, оскільки враховує не тільки валову кількість спожитої ставковиком їжі, але й той відсоток її, що виділяється разом із фекаліями, а отже і не використовується твариною на її власні потреби. Це особливо важливо саме при токсикологічних дослідженнях, тому що можна отримати чіткішу картину динаміки патологічного процесу зі зміною концентрацій застосованих у досліді токсичних речовин. Описані вище трофічні показники не завжди дають відповідь на запитання – що саме відбувається з живленням загалом. Лише застосування такого інтегрального показника як ЕЖ дозволяє дати хоча би часткову відповідь на це запитання.

За дії на ставковика хлорида цинку (табл. 1–4) з підвищенням концентрації токсиканту спостерігається зниження значень ВСР та ТПІ. Нами встановлено, що КЗІ при концентрації хлорида цинку у водному середовищі 2 мг/дм^3 має тенденцію до росту (на $7,8\%$), але за 10 мг/дм^3 його значення нижчі за контроль на $27,5\%$ (табл. 2). За 18 мг/дм^3 цієї солі у середовищі зниження величини досліджуваного показника продовжується, зменшуючись на $84,3\%$ щодо контролю. Зі зростанням концентрації токсиканту у середовищі спостерігається тенденція до зниження ЕЖ ставковика (табл. 4). Однак у найменшій із застосованих нами концентрацій хлорида цинку величина цього показника ще не має статистично вірогідної різниці порівняно з контролем.

Таблиця 1.

Вплив хлорида цинку на величину середньодобового раціону (% до загальної маси тіла) у *L. stagnalis*, $M \pm m$; $n = 65$

Концентрація хлорида цинку, мг/дм^3	$M \pm m_M$	P, %	Відхилення від контролю, %
Контроль	$2,88 \pm 0,13$		
2	$2,40 \pm 0,13$	99,24	- 16,67
10	$1,34 \pm 0,08$	>99,99	- 53,47
18	$0,20 \pm 0,01$	>99,99	- 93,06

Таблиця 2.

Вплив хлорида цинку на коефіцієнт засвоєння їжі у *L. stagnalis*, $M \pm m$; $n = 65$

Концентрація хлорида цинку, мг/дм^3	$M \pm m_M$	P, %	Відхилення від контролю, %
Контроль	$0,51 \pm 0,02$		
2	$0,55 \pm 0,02$	84,15	+ 7,84
10	$0,37 \pm 0,02$	>99,99	- 27,45
18	$0,08 \pm 0,004$	>99,99	- 84,31

Таблиця 3.

Вплив хлорида цинку на тривалість проходження їжі (хв) у *L. stagnalis*, $M \pm m$; $n = 49$

Концентрація хлорида цинку, мг/дм^3	$M \pm m_M$	P, %	Відхилення від контролю, %
Контроль	$278,11 \pm 8,87$		
2	$237,78 \pm 9,94$	99,76	- 14,50
10	$222,22 \pm 11,79$	>99,99	- 20,10
18	$185,17 \pm 9,25$	>99,99	- 33,42

Таблиця 4.

Вплив хлорида цинку на ефективність живлення (%) у *L. stagnalis*, $M \pm m$; $n = 65$

Концентрація хлорида цинку, мг/дм^3	$M \pm m_M$	P, %	Відхилення від контролю, %
Контроль	$1,51 \pm 0,12$		
2	$1,32 \pm 0,08$	82,62	- 12,58
10	$0,52 \pm 0,02$	>99,99	- 65,56
18	$0,02 \pm 0,001$	>99,99	- 98,68

У межах низьких концентрацій Zn^{2+} ($1 \cdot 10^{-3}$ – $3 \cdot 10^{-3} \text{ г/дм}^3$) відбувається зростання часу переживання клітин миготливого епітелію порівняно з контролем. У *S. piscinale* спостерігається збільшення тривалості биття війок миготливого епітелію зябер за $1 \cdot 10^{-3}$ – $3 \cdot 10^{-3} \text{ г/дм}^3 \text{ Zn}^{2+}$ на $32,7$ – $38,3\%$, ноги за $1 \cdot 10^{-3} \text{ г/дм}^3$ – на $14,3\%$ ($P > 96,3\%$) (рис. 1). Зростання концентрації йонів цинку у середовищі викликає прогресивне скорочення тривалості роботи війок миготливого епітелію. Статистично вірогідне зменшення тривалості биття війок миготливого епітелію зябер *S. piscinale* відбувається за $1 \cdot 10^{-2} \text{ г/дм}^3 \text{ Zn}^{2+}$ і становить $18,1\%$ ($P > 97,6\%$). За $5 \cdot 10^{-3} \text{ г/дм}^3$ йонів цинку у перлівниці спостерігається зменшення тривалості биття війок миготливого епітелію ноги на $47,8\%$ ($P > 96,0\%$). Подальше збільшення концентрації йонів цинку призводить до все більшого скорочення тривалості биття війок миготливого епітелію. За 16 г/дм^3 його у *S. piscinale* відбувається зупинка протягом хвилини биття війок миготливого

епітелію зябер. Війки миготливого епітелію ноги аналогічно реагують на токсикант за 8 г/дм^3 його у розчині. Миттєва зупинка биття війок миготливого епітелію зябер відбувається за 32 г/дм^3 токсиканту, миготливого епітелію ноги – за 16 г/дм^3 його у розчині. Відмивання у розчині Рінгера протягом 5 – 10 хв призводить до відновлення биття частини війок переживаючих клітин миготливого епітелію.

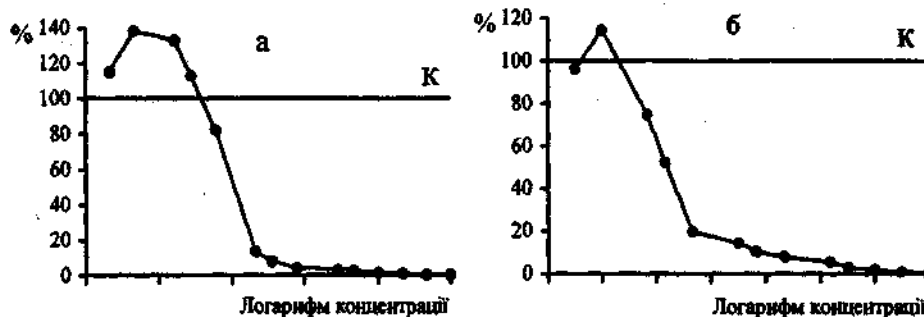


Рис. 1. Залежність тривалості биття війок миготливого епітелію зябер (а) і ноги (б) *S. piscinale* (% від контролю) від концентрації йонів цинку у розчині.

На сьогодні відомо два типи реакції тканин на хімічні агенти, добре досліджені на м'язевій тканині [9]. Вплив інгібіторів ферментів отримав назву порогового. Він характеризується тим, що за підвищення концентрації агента час збереження збудливості м'язів скорочується поступово, без стрибків. На графіку з логарифмічними шкалами ця залежність має вигляд прямої. Поступове підвищення концентрації інших речовин (солі, спирти, ефіри) до певної межі майже не скорочує час збереження збудливості м'язової тканини порівняно з контролем, а після досягнення певної величини він різко зменшується. На логарифмічному графіку така залежність виражається S-подібною кривою. Вплив таких самих хімічних агентів на клітини миготливого епітелію мідій і перлівниць дослідила Т. А. Шляхтер [7, 8]. Нею встановлено, що реакція клітин миготливого епітелію на дію всіх досліджених речовин характеризується пороговою залежністю.

Аналогічний тип реакції у клітин миготливого епітелію на дію йонів цинку виявили і ми у дослідженого молоска (рис. 2). На двох логарифмічних графіках наявний невеликий прямий відрізок, який відображає порогову залежність тривалості биття війок від концентрації токсиканту. Цей прямий відрізок відображає реакцію білкових комплексів клітин на пошкоджуючу дію важкого металу. У зоні відносно низьких концентрацій є ділянка, де крива відхиляється у бік більш високих значень тривалості биття війок порівняно з ділянкою дії високих концентрацій. Між цією частиною кривої і продовженням відрізка кривої у ділянці дії високих концентрацій знаходиться зона компенсації. Таке відхилення від прямої є проявом компенсаційних процесів у тканинах, які знижують пошкоджуючу дію агентів і приховують реакцію білкових компонентів цитоплазми клітин [10].

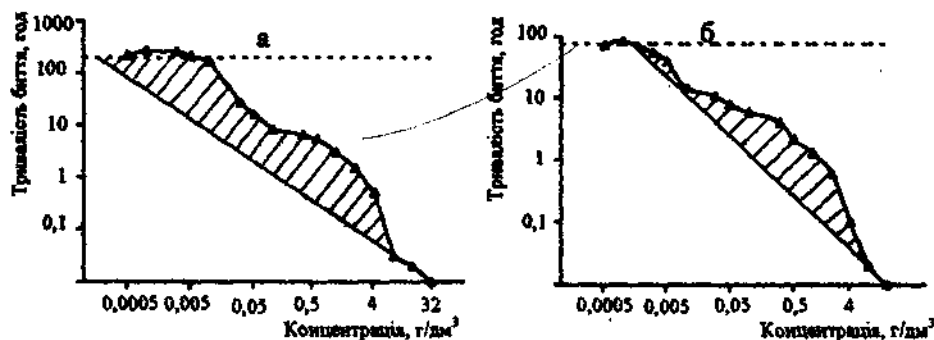


Рис. 2. Залежність тривалості биття війок миготливого епітелію зябер (а) і ноги (б) *S. piscinale* від концентрації йонів цинку в розчині.

Примітка. Обидві шкали логарифмічні. Горизонтальна штрихова лінія – тривалість биття війок в розчині Рінгера. Накхилена пряма лінія – екстраполяція порогової залежності між концентрацією агента і тривалістю биття війок в область низьких концентрацій. Заштриховано зону компенсації.

Пороговий характер кривої залежності тривалості биття війок миготливого епітелію ноги від концентрації йонів цинку проявляється менш різко, ніж миготливого епітелію зябер. Тобто за дії йонів цього важкого металу для зябрового миготливого епітелію характерна більша зона компенсації порівняно з миготливим епітелієм ноги (рис. 2). Компенсуючий ефект виявлений у широкій зоні використаних у досліді концентрацій. Це вказує на потужні механізми протидії токсичному впливові важкого металу на клітини миготливого епітелію.

Висновки

Пригнічення описаних показників живлення може свідчити про перехід піддослідних тварин на анаеробний тип дихання, що завжди відбувається у молосків на депресивній фазі розвитку патологічного процесу, зумовленого їх отруєнням токсикантами. Високоєфективне з енергетичної точки зору аеробне розщеплення вуглеводів замінюється більш древнім філогенетично та більш затратним гліколізом. Наведені вище результати наших досліджень щодо ставковика озера свідчать про те, що живлення досить чутливо відображає зміни інтенсивності та направленості обмінних процесів у цих молосків. Це дозволяє використовувати застосовані нами показники як індикатори функціонального стану організму у нормі і за дії на них екстремальних подразників хімічної природи, у тому числі і токсичних речовин. Йони цинку викликають зміни у функціонуванні війок миготливого епітелію перлівниці, що можна розглядати як один із симптомів патологічного процесу, зумовленого отруєнням молосків іонами важких металів. Цей процес носить фазний характер [11]. Перша з фаз – це фаза байдужості. Вона зафіксована за дії на молосків $5 \cdot 10^{-4}$ г/дм³ Zn²⁺ у розчині. У межах цих концентрацій не відбувається змін у роботі війок миготливого епітелію. Друга фаза – це фаза підвищення активності. На цьому етапі процесу отруєння мобілізуються захисні властивості організму і активуються відповідні фізіологічні та біохімічні процеси. Концентрації $1 \cdot 10^{-3}$ – $3 \cdot 10^{-3}$ г/дм³ йонів цинку викликають збільшення тривалості биття війок миготливого епітелію. Підвищення фізіолого-біохімічної активності є неспецифічним захисно-приспосувальним механізмом гідробіонтів на дію токсиканту. Невеликі дози важких металів виявляють властивості мікроелементів [2] і стимулюють метаболічні процеси у гідробіонтів. Третя фаза процесу отруєння – депресія. Вона відповідає концентраціям $3 \cdot 10^{-2}$ – 8 г/дм³ Zn²⁺. У межах цих концентрацій відбувається скорочення тривалості биття війок миготливого епітелію і має місце значне пригнічення їх руху порівняно з контролем. Четверта і п'ята фази, які зазвичай швидко йдуть одна за одною, – це сублетальна і летальна. Вони спостерігаються за 8 – 32 г/дм³ Zn²⁺ у розчині. На першій з них відбувається миттєве припинення биття війок миготливого епітелію після стикання досліджуваного матеріалу з розчином токсиканту, на другій воно відсутнє.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Удрис Г. А., Нейланд Я. А. Биологическая роль цинка. – Рига, 1981. – 180 с.
2. Романенко В. Д. Основы гидроэкологии. – К.: Обереги, 2001. – 728 с.
3. Линник П. Н. Тяжёлые металлы в поверхностных водах Украины: содержание и формы миграции // Гидробиол. журн. – 1999. – 35, № 1. – С. 22 – 42.
4. Алексеев В. А. Основные принципы сравнительно-токсикологического эксперимента // Гидробиол. журн. – 1981. – Т.17, №3. – С. 92 – 100.
5. Цихон-Луканина Е. А., Солдатова И. Н., Николаева Г. Г. Об усвояемости пищи донными ракообразными Азовского моря и методах ее определения // Океанология. – 1968. – Т.8, вып.3. – С. 487 – 491.
6. Цихон-Луканина Е. А. Трофология водных моллюсков. – М.: Наука, 1987. – 176 с.
7. Шляхтер Т. А. Реакция мерцательного эпителия жабер перловицы на действие различных химических агентов // Цитология. – 1965. – 7, № 4. – С. 573 – 577.
8. Шляхтер Т. А. Реакция клеток мерцательного эпителия мидий на действие различных химических агентов // Цитология. – 1967. – 9, № 4. – С. 425 – 431.
9. Насонов Д. Н., Суздальская И. П. Стойкое возбуждение, повреждение и наркоз поперечнополосатых мышц. I. Контрактуры от этилового спирта, эфира, NaCl, KCl и HCl // Изв. АН СССР. Сер. биол. – 1948. – № 4. – С. 393 – 400.
10. Ушаков Б. П. О механизме адаптации клеток животных // Цитология. – 1959. – 1, № 1. – С. 35 – 47.
11. Веселов Е. А. Основные фазы действия токсических веществ на организмы // Тез. докл. Всесоюз. науч. конф. по вопр. водн. токсикол. – М.: Наука, 1968. – С. 15 – 16.

Черномаз Т. В., Выскушенко Д. А. Влияние цинка на показатели физиологического статуса некоторых моллюсков.

*Исследовано влияние хлорида цинка на трофические показатели *Lymnaea stagnalis* и на продолжительность биения ресничек мерцательного эпителия *Colletopterum piscinale*. Наличие ионов этого тяжелого металла в растворе приводит к развитию у моллюсков патологического процесса. Для клеток мерцательного эпителия он имеет фазовый характер. Выявлены фазы безразличия, повышения активности, депрессии, сублетальная и летальная.*

Chernomaz T. V., Vyskushenko D. A. The effect of zinc on parameters of physiological status of some molluscs.

*The effect of zinc chloride on trophic parameters of *Lymnaea stagnalis* and on duration of ciliary activity of the ciliated epithelium *Colletopterum piscinale* are investigated. Presence of ions of this heavy metal in a solution leads to beginning of pathological process in molluscs. There is have phase character: indifference, action of function, depression, sublethal and lethal phases.*