

### Вплив важких металів на фізіологічний статус ставковика

*Досліджено вплив сульфату міді, хлориду цинку та нітрату свинцю на поведінку та фізіологію  
моллюска *Lymnaea stagnalis*.*

Зі збільшенням валового вмісту важких металів у водоймах постало питання про з'ясування механізмів дії цих токсичних речовин на гідробіонтів. Останнім часом було проведено ряд подібних досліджень на рибах, однак, рівень висвітлення впливу цих токсикантів на бентичні організми є недостатнім. У зв'язку з цим, ми вирішили провести комплексне дослідження впливу важких металів на ставковика озерного для побудови екологічної системи ГДК, екстраполявання отриманих результатів на близькі за способом життя види та прогнозування вірогідних змін бентичних біоценозів під впливом досліджених поллютантів, і, нарешті, найголовніше - для з'ясування можливості використання нашого об'єкту як біоіндикатора рівня забруднення водойм України цими поллютантами.

#### Матеріал і методи

Об'єктом дослідження був ставковик озерний *Lymnaea stagnalis* L., зібраний у басейні р. Тетерів у період з 1997 по 2002 рр. Токсикологічні дослідження поставлено за методикою В.А. Алексєєва [1]. Аклімація до лабораторних умов тривала 14 діб [2]. У досліджах було використано 4149 екз. однорозмірних ставковиків (середня висота черепашки становить  $45,0 \pm 2,3$  мм), з них 432 екз. - при постановці токсикологічних експериментів, 571 екз. - при вивченні зрушень водного балансу, 137 екз. - при дослідженні накопичення важких металів у органах та тканинах ставковика, 288 екз. - для виготовлення гістологічних зрізів, 594 екз. - для проведення експерименту з вивчення ритму серцевих скорочень піддослідних тварин під впливом важких металів, 892 екз. - при вивченні особливостей дихання *L. stagnalis*, 1235 екз. ставковика використано для дослідження живлення ставковика за дії на нього токсикантів.

#### Результати та обговорення

Орієнтовним дослідом встановлено значення основних токсикологічних показників. Виходячи з них, з'ясовано зони токсичної активності досліджуваних поллютантів: сульфат міді -  $<0,1-10$ ; хлорид цинку і нітрат свинцю -  $<1-100$  мг/дм<sup>3</sup>. Латентний період для всіх згадуваних токсикантів у ставковика коливається в межах 10-30 хв. Виявилось, що мідь є найтоксичнішим з усіх обговорюваних поллютантів. Однак найбільші значення коефіцієнтів накопичення (КН) характерні для йонів свинцю, на другому місці перебуває мідь, на третьому - цинк. Щодо коефіцієнту донної біологічної акумуляції (КДБА), то тут картина дещо інша. Загалом спостерігаються ті ж тенденції, що і у КН, за винятком гепатопанкреаса, значення обговорюваного показника для якого по міді дещо більші. Депонування свинцю найінтенсивніше відбувається у нозі (9,48 мкг/г), майже однакові кількості його виявлено у гепатопанкреасі та гемолімфі (7,85 та 7,75 мкг/г відповідно), а найменші - у вісцеральній масі (4,39 мкг/г). Слід відмітити, що значення КДБА на декілька порядків нижчі за такі КН. Це цілком закономірно, оскільки донні відклади є природними кумуляторами важких металів.

Процес отруєння ставковика носить фазний характер. У його перебігу виділяємо п'ять фаз. На початкових етапах отруєння пристосування до умов токсичного середовища відбувається за рахунок змін у етології тварин. Майже одночасно з ними реєструються і швидкі фізіологічні захисно-приспосувальні реакції. У подальшому починають переважати патологічні зрушення, що врешті решт призводять до летальних наслідків.

Експозиція ставковиків у воді, що містить 1-100 мг/дм<sup>3</sup> сульфату міді, досить швидко викликає загибель піддослідних тварин. Так, за 1 мг/дм<sup>3</sup> досліджуваного поллютанту у водному середовищі 100%-ова загибель ставковиків спостерігається через 8, за 10 - через 2 доби, а за 100 мг/дм - усього лише через 6 год. У слабких концентраціях цієї солі піддослідні тварини довгий час зберігають життєздатність, Наприклад, за 0,1 мг/дм<sup>3</sup> токсиканту у воді перших загиблих тварин зареєстровано на 33-тю (10%), а за 0,01 мг/дм<sup>3</sup> - на 35-ту добу (10%) від початку дослідження.

Яскравим показником, що характеризує амплітуду коливання фізіологічного статусу та токсикорезистентності окремих особин у вибірці, є коефіцієнт витривалості. На відміну від лужних металів, ефективність пристосування до яких у вторинноводних легеневих моллюсків знаходиться у прямій залежності від концентрації токсиканту в середовищі [3], зміна концентрацій важких металів майже не впливає на значення КВ, становлячи для сульфату міді - 1,2-1,3. Гідробіонти у процесі

еволюції не виробили достатньо ефективних засобів протидії цим хімічним елементам і при досягненні певного рівня токсичного ефекту їх у воді не можуть пристосовуватися до них. Однаковий рівень поведінкових та фізіологічних реакцій викликається, як правило, неоднаковими концентраціями використаних у досліджах токсикантів, а саме: більш низькими концентраціями сульфату міді та більш високими (в середньому на порядок) концентраціями хлориду цинка. Незважаючи на той факт, що свинець вважається одним із найбільш токсичних важких металів для тварин, отримані нами відомості свідчать, що *L. stagnalis* має приблизно однакову чутливість до свинцю та до цинку, а чутливість його до міді вища, ніж до обох вищезгаданих токсикантів.

За 1 мг/дм<sup>3</sup> сульфату міді у воді вже через 24 год після початку дослідів спостерігається набрякання циліндричного миготливого епітелію голови та ноги. Потім епітеліальний шар починає потроху відставати від базальної мембрани. При цьому спостерігається також руйнування міжклітинного цементу, а іноді й інтенсивний цитоліз покривного епітелію.

Гістологічні зрушення тканин гепатопанкреаса, які мають місце у перебігу процесу отруєння цих тварин, характеризуються спочатку незначними деструктивними змінами, які полягають, перш за все, у деформації клітин сполучної тканини, потім - у дегенерації як клітин сполучної тканини так і її основної речовини, котра втрачає при цьому свої цементуючі властивості, так і клітин стінок ацинусів. Іноді спостерігається плазморея, який відбувається внаслідок втрати тваринами частини тканинної води. За 10 мг/дм<sup>3</sup> сульфату міді звичайним є ушкодження сполучнотканинної капсули, що оточує травну залозу.

Хлорид цинку, як і сульфат міді, викликає у ставковика дегенеративно-некротичні зрушення в усіх із досліджених нами тканинах та органах. Але патологічні зміни однакового ступеня викликаються, як правило, на порядок більшими концентраціями хлориду цинка (за умов однакової експозиції). Однак це правило не "спрацює" при порівнянні зрушень у гістологічній структурі гепатопанкреаса, викликаних цими токсикантами. Так, при перебуванні тварин у низьких концентраціях цих поллютантів (0,1-10 мг/дм<sup>3</sup>) картина зрушень є майже тотожною. Але при більш високих концентраціях цих солей важчі патологічні наслідки швидше настають у воді з сульфатом міді. З плином часу у ставковиків, які перебували у середовищі, що містило таку ж кількість хлориду цинка, спостерігались патологічні зміни того ж рівня, що й у відповідних розчинах сульфату міді.

Гістологічні зрушення у ставковиків, які мають місце під впливом нітрату свинцю, суттєво не відрізняються від таких, що спостерігаються у відповідних концентраціях хлориду цинка. Проте однакові фази ушкодження у значній кількості випадків настають тут трохи раніше порівняно з такими, що мають місце у піддослідних тварин під дією хлориду цинка.

У ставковиків, витриманих протягом 48 год у воді з концентрацією сульфату міді 0,2 мг/дм<sup>3</sup>, ритм серцевих скорочень зростає і СК (серцевий коефіцієнт - відношення ритму серцевих скорочень тварин, підданих дії токсиканту, до такого у контрольних особин) становить 116%, а при 1 мг/дм<sup>3</sup> сульфату міді у воді - 52%. У молосків, витриманих у водному середовищі, що містить 1,8 мг/дм<sup>3</sup> сульфату міді, ритм серцевих скорочень ставковика уповільнюється ще більше, знижуючись в середньому в 4-5 разів порівняно з контролем.

За дії на *L. stagnalis* хлориду цинка у воді (2-18 мг/дм<sup>3</sup>) молоски відповідно до зростання концентрації токсиканту реагують на його дію прогресуючою тахікардією.

При дослідженні живлення ставковика нами використано один з найулюбленіших його кормових об'єктів - частуху *Alisma plantago* L. На відміну від інших фізіологічних досліджень, в яких було застосовано сульфат міді у концентраціях 0,2, 1 та 1,8 мг/дм<sup>3</sup>, при вивченні особливостей живлення ставковика ми застосували 0,2, 0,4 та 0,6 мг/дм<sup>3</sup> токсиканту. Це викликане тим, що у концентраціях сульфату міді, більших за 0,6 мг/дм<sup>3</sup>, ставковики майже не споживають їжу.

Встановлено, що під впливом усіх використаних у наших дослідів концентрацій сульфату міді значення ВСР (величина середньодобового раціону) та ТПІ (тривалість проходження їжі через травний тракт) ставковика озерного прогресуюче знижуються. Але за 0,2 мг/дм<sup>3</sup> сульфату міді у воді значення КЗІ (коефіцієнт засвоєння їжі) зростають.

За 0,4 мг/дм<sup>3</sup> токсиканту в середовищі відбувається деяке зниження КЗІ (щодо його значень у попередній концентрації). Але величина цього показника усе ще залишається дещо більшою за контрольну.

За 0,6 мг/дм<sup>3</sup> сульфату міді у воді величини всіх досліджуваних нами показників живлення ставковиків значно зменшуються.

Тим не менш, 48-годинна експозиція ставковиків навіть за 0,2 мг/дм<sup>3</sup> сульфату міді у воді викликає різке зниження ЕЖ (ефективність живлення) більше, ніж на 30% ( $P > 99,9\%$ ). У подальшому величина цього показника продовжує знижуватись, становлячи за 0,6 мг/дм<sup>3</sup> цієї солі у середовищі 0,22%. Отже, зростання значення КЗІ лише частково може компенсувати прогресуюче падіння ВСР досліджуваного нами молоска.

За дії на ставковика хлориду цинка у нього спостерігаються ті ж тенденції, як і у випадку з сульфатом міді.

Наведені вище результати наших досліджень свідчать про те, що живлення досить чутливо відображає зміни інтенсивності та направленості обмінних процесів у ставковиків. 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.

В умовах, за яких тварини не здатні дихати атмосферним повітрям, у них за концентрації 0,2 мг/дм<sup>3</sup> токсиканту у середовищі тривалість виживання порівняно з контролем не змінюється. Статистично вірогідні відхилення з'являються за дії на ставковика сульфату міді у концентрації 1 мг/дм<sup>3</sup>.

Трематодна інвазія ускладнює перебіг патологічного процесу, викликаного отруєнням молюсків-хазяїв токсикантами. У більшості випадків інвазовані партенітами та личинками трематод тварини значно швидше піддаються дії токсиканту порівняно з неінвазованими особинами. Перш за все це "видно з перебігу швидких поведінкових та фізіологічних реакцій, які проявляються у них значно скоріше та часто виражені набагато яскравіше.

В уражених гельмінтами тварин, у залежності від рівня інтенсивності інвазії, по-різному відбувається перебіг патологічного процесу, викликаного дією на них іонів важких металів. За незначної інтенсивності інвазії вплив паразитів майже непомітний, але середній її рівень, як і генеральне ураження гепатопанкреасу, суттєво пригнічують життєдіяльність організму, викликаючи більш різку відповідь таких тварин на дію досліджуваних токсикантів. Зміни у поведінці та фізіології відбуваються за цих обставин у них набагато швидше, скоріше настає і загибель молюсків.

#### **Висновки**

Отже, теоретичне значення нашої роботи полягає у з'ясуванні механізмів адаптації гідробіонтів до впливу важких металів, а практичне - у встановленні можливості використання його як біоіндикатора рівня інтоксикації водойм.

#### **СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ**

1. Алексеев В.А. Основные принципы сравнительно-токсикологического эксперимента // Гидробиол. журн. - 1981. - Т. 17, №3. - С. 92-100.
2. Хлебович В.В. Акклимация животных организмов. - Л.: Наука, 1981. - 136 с.
3. Стадниченко А.П., Сластенко М.М., Куркчі Л.М., Мокрицька А.М., Брянська Н.Ф., Лозінська Ю.З. Пристосовні та патологічні поведінкові та фізіологічні реакції витушки при повторному отруєнні нітратом натрію // Деп. в ДНТБ України 11.05.95, №1146-Ук95а. - 12 с.

***Выскушенко Д.А., Выскушенко А.П. Влияние тяжелых металлов на физиологический статус прудовика***

*Исследовано влияние сульфата меди, хлорида цинка и нитрата свинца на поведение и физиологию моллюска Lymnaea stagnalis.*

***Vyskushenko D.A., Vyskushenko A.P. The Heavy Metals Influence on Pond Snail Physiological Status***  
*The influence of copper sulphate, zinc chloride and lead nitrate on behavior and physiology of Lymnaea stagnalis has been detected.*