

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ПОЛІСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Факультет Лісового господарства та екології
Кафедра біоресурсів, аквакультури та природничих наук

Кваліфікаційна робота
на правах рукопису

Самойленко Антон Юрійович

УДК 574.64:594.38

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
**ОЦІНКА ВПЛИВУ ФЕНОЛІВ НА ЕТОЛОГІЧНІ ТА ФІЗІОЛОГІЧНІ
РЕАКЦІЇ ПЕРЛІВНИЦЕВИХ (MOLLUSCA: BIVALVIA)**

Спеціальність 207 – Водні біоресурси та аквакультура

Подається на здобуття освітнього ступеня Магістр

Науково-професійна робота містить результати власних досліджень.
Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на
відповідне джерело.

Науковий керівник

Пінкіна Т.В.

Канд. біол. наук, доцент

Житомир - 2021

АНОТАЦІЯ

Самойленко А.Ю. «Оцінка впливу фенолів на етологічні та фізіологічні реакції перлівницевих (Mollusca: Bivalvia)» – Кваліфікаційна робота на правах рукопису.

Кваліфікаційна робота на здобуття освітнього ступеня магістра за спеціальністю 207 – Водні біоресурси та аквакультура. – Поліський національний університет, Житомир, 2021.

Кваліфікаційна робота присвячена проблемі забруднення водних екосистем фенолами, які є розповсюдженою і високотоксичною групою забруднювачів у континентальних водоймах України, та їх впливу на етологічні та фізіологічні реакції двостулкових молюсків. Встановлено швидкі поведінкові та фізіологічні реакції перлівницевих за впливу гідрохінону. Визначено особливості діяльності миготливого епітелію зябрового апарату молюсків за умови інтоксикації. Тривалість рухової активності війок переживаючих клітин миготливого епітелію зябер перлівниці борисфенової *in vitro* у 4 рази перевищує тривалість цього ж процесу у перлівниці довгодзьобої. Встановлено показники інтенсивності споживання кисню перлівницею борисфеновою на одиницю м'яких частин тіла та на одиницю тотальної ваги тіла за інтоксикації фенолом. Значення означених показників на початку експерименту різко збільшуються аж до 0,17-0,49 мг O₂/дм³ зі зростанням концентрації фенолу у водному середовищі. Однак, з подальшим зростанням концентрації поллютанту (200 мг/дм³), має місце падіння значень показників інтенсивності споживання кисню; дихальні процеси пригнічуються. Інтенсивність дихання перлівниці борисфенової залежить від статі, віку та фізіологічного стану організму молюсків.

Ключові слова: перлівниця довгодзьоба, перлівниця борисфенова, фізіологічні реакції, інтенсивність дихання, фенольна інтоксикація, біоіндикація.

ANNOTATION

Samoilenko A.Yu. Evaluation of the phenols effect on ethological and physiological reactions of Unionidae (Mollusca: Bivalvia). Qualifying work on rights for a manuscript.

Qualification work for the master's degree in specialty 207 – Bioresources and aquaculture. – Polissia National University, Zhytomyr, 2021.

Qualification work is devoted to the problem of pollution of aquatic ecosystems by phenols, which are a common and highly toxic group of pollutants in the continental waters of Ukraine, and their impact on ethological and physiological reactions of bivalve mollusks. Rapid behavioral and physiological reactions of freshwater pearl mussels under the influence of hydroquinone have been established. The peculiarities of the activity of the ciliated epithelium of the gill apparatus of mollusks under the intoxication are determined. The duration of motor activity of the gills ciliated epithelium cilia cells of *Unio conus borythenicus* in vitro is 4 times longer than the duration of the same process in the *Unio rostratus rostratus*. Indicators of oxygen consumption intensity of *Unio conus borythenicus* per unit of body soft parts and per unit of total body weight in phenol intoxication were established. The values of these indicators at the beginning of the experiment increase sharply up to 0.17-0.47 mg O₂/dm³ with an increasing concentration of phenol in the aqueous environment. However, with a further increase in the concentration of pollutants (200 mg/dm³), there is a decrease in the values of oxygen intensity; respiratory processes are suppressed. The intensity of respiration *Unio conus borythenicus* depends on the sex, age and physiological condition of the mollusk.

Key words: *Unio conus borythenicus*, *Unio rostratus rostratus*, physiological responses, phenol intoxication, breathing intensity, bio-indication.

ЗМІСТ

ВСТУП	5
Розділ 1. КОРОТКИЙ НАРИС ІСТОРІЇ ВИВЧЕННЯ ПИТАННЯ	10
1.1. Характерні особливості середовища існування та будови двостулкових молюсків	10
1.2. Етологічні та морфологічні реакції молюсків на вплив токсикантів.....	11
Розділ 2. МАТЕРІАЛ І МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕНЬ	14
2.1. Програма проведення досліджень.....	14
2.2. Матеріал і методика досліджень.....	15
2.3. Характеристика умов проведення досліджень.....	23
Розділ 3 ЕКОЛОГІЯ ПОПУЛЯЦІЙ ПЕРЛІВНИЦІ БОРИСФЕНОВОЇ	24
Розділ 4. ВПЛИВ ТОКСИКАНТІВ НА ПОВЕДІНКОВІ ТА ФІЗІОЛОГІЧНІ РЕАКЦІЇ ПЕРЛІВНИЦЕВИХ.....	27
4.1 Основні фази інтоксикації перлівницевих гідрохіноном.....	27
4.1.1. Основні фази інтоксикації гідрохіноном перлівниці довгодзьобої.....	28
4.2 Залежність тривалості функціонування переживаючих клітин зябрового миготливого епітелію перлівницевих від їх фізіологічного статусу.....	30
Розділ 5. ІНТЕНСИВНІСТЬ ДИХАННЯ ПЕРЛІВНИЦІ БОРИСФЕНОВОЇ У НОРМІ ТА ЗА УМОВИ ФЕНОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ.....	34
ВИСНОВКИ.....	39
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	41
ДОДАТКИ.....	44

ВСТУП

Актуальність теми дослідження. Технічний прогрес, розвиток економіки здійснюється за рахунок стрімкого збільшення споживання природних ресурсів. У результаті виробничого обміну речовиною та енергією між людиною та природою, людина вносить зміни та перетворення у природу. Тому однією із нагальних проблем сьогодення є проблема поєднання розвитку виробництва і збереження сприятливих умов середовища. Тому будь-який вплив на природу в процесі експлуатації та перетворення викликає необхідність в спеціальних заходах по її охороні. Різке збільшення об'єму промислових стічних вод вимагає більш детального і всебічного дослідження процесів взаємодії між різними компонентами екосистем, зокрема, вивчення процесів адаптації до постійно зростаючих концентрацій різних токсикантів у водних біоценозах. Це пов'язане зі складними, нерідко критичними ситуаціями щодо функціонування очисних споруд у великих промислових центрах Українського Полісся [7, 9]. Вихід великих кількостей стічних вод без попереднього їх очищення в систему річок Полісся створює в окремих місцях реальну загрозу існуванню гідробіоценозів. Одним з найважливіших завдань водної токсикології на сучасному етапі її розвитку є детальне вивчення антропогенного впливу як на окремих біонтів, так і на екологічні системи з метою збереження та використання стабільних екосистем.

У зв'язку з постійним наростанням антропогенного тиску на стан внутрішніх водойм підвищується роль прісноводних молюсків як природних біофільтрів та сапробіонтів. До того ж практично всі прісноводні молюски здатні концентрувати в своєму організмі в індикаторних кількостях токсичні речовини, що дає змогу використовувати цих тварин для визначення загального рівня забрудненості конкретної території шкідливими речовинами [5,16].

Серед величезної маси токсичних речовин, які надходять у поверхневі і підземні води України слід виділити розповсюджену і високотоксичну групу

забруднювачів – феноли (фенол, пірокатехін, резорцин, гідрохінон, ефіри гідрохінону, пірогалол, флороглюцин, крезол, амінофенол, нафтол, катехол та інші похідні), серед них найбільш розповсюдженим є фенол або карболова кислота. Біологічне значення фенолів зазвичай розглядається в рамках їхнього впливу на оточуюче середовище [3].

Фенол – один із промислових забруднювачів. Його застосування тісно пов'язане з розвитком синтетичної органічної хімії. Фенол є токсичною речовиною, хоча має антисептичні властивості. У великій кількості феноли та їхні гомологи входять до скидів ряду промислових виробництв (фармацевтичні, нафтові, хімічні, газові, та ін.). Потрапляючи у стічні води підприємств, ці речовини забруднюють довкілля. Саме через те, що фенол має антисептичні властивості, стічні води з його високим вмістом майже не підлягають біологічному очищенню. У стічних водах концентрація фенолів під час їх скиду коливається від долей грама до кількох грамів на 1 дм³. Річкові води (у природних водних басейнах – великих і малих річках) зазвичай розбавляють ці стоки. І хоча гранично допустима концентрація (ГДК) фенолів становить 0,001 мг/дм³, відмічено, що навіть на значній відстані (10–25 км) від джерела забруднення фенолами концентрація їх у водах річок здатна досягати десятих і сотих часток міліграма на 1 л [2]. Таким чином, виходячи з вищезазначеного, проблема забруднення фенолом континентальних прісних водойм України, а особливо їхніх водотоків, є наразі актуальною.

Оскільки останнім часом оцінка небезпеки забруднення вод України все частіше здійснюється з використанням методів біоіндикації, перспективними є дослідження скеровані на пошук гідробіонтів, які є досить чутливими до токсичного впливу [11, 26]. Актуальним є й пошук тест-реакцій таких організмів, які могли би швидко і чітко свідчити про наявність поллютанту у середовищі [14].

Досліджено токсичний вплив отрут фенольного ряду на організм риб шляхом порушення нормальної діяльності центральної нервової системи [11].

Симптоматика інтоксикації риб в концентраціях фенолів виявляється в появі неспокою, в зниженні ритмів дихання, у зростанні чутливості до механічних подразнень. За цими процесами починається сильне збудження риб, плавальні рухи стають хаотичними, дихання – аритмічним, має місце розлад координації (риби перевертаються на бік). Все це летально закінчується проявами задухи (рот і зяброві кришки риби відкриті).

Особливості реакцій фізіологічних систем інших гідробіонтів, зокрема, прісноводних двостулкових молюсків, за фенольної інтоксикації вивчені недостатньо [10, 13, 19]. Тому було вирішено провести дослідження особливостей дихання двостулкового молюска перлівниці борисфенової – звичайного компоненту водойм Житомирського Полісся, за умов перебування в розчинах, що містили різні концентрації фенолу та ряд інших фізіологічних відправлень перлівницевих за умови інтоксикації.

Мета і завдання дослідження. Метою дослідження було вивчення впливу різних концентрацій гідрохінону на швидкі поведінкові та фізіологічні реакції перлівниці довгодзьобої (*Unio rostratus rostratus* Naas), тривалість локомоції війок зябрового миготливого епітелію у деяких видів перлівницевих, та інтенсивність споживання кисню перлівницею борисфеновою (*Unio conus borythenicus* Kobelt) у нормі та за умови фенольної інтоксикації.

Для досягнення цієї мети потрібно було вирішити наступні задачі:

- вивчити вплив різних концентрацій гідрохінону на швидкі поведінкові реакції перлівниці довгодзьобої;
- дослідити вплив різних концентрацій гідрохінону на швидкі фізіологічні реакції цієї тварини;
- з'ясувати тривалість локомоції війок переживаючих клітин зябрового миготливого епітелію у різних статевих та вікових групах перлівниці довгодзьобої;
- з'ясувати тривалість функціонування зябрового миготливого епітелію у різних статевих та вікових групах перлівниці борисфенової;

– вивчити вплив фенольної інтоксикації на інтенсивність споживання кисню перлівницею борисфеновою в міліграмах на літр на одиницю тотальної маси тіла і на одиницю м'яких частин тіла;

– встановити характер зміни інтенсивності дихання перлівниці борисфенової в залежності від віку, статі і фізіологічного стану організму молюска.

Об'єкт дослідження – два види двостулкових прісноводних молюсків перлівниця довгодзьоба (*Unio rostratus rostratus* Hass) та перлівниця борисфенова (*Unio conus borythenicus* Kobelt).

Предмет дослідження – зміни поведінкових та фізіологічних реакцій перлівниці довгодзьобої та перлівниці борисфенової під впливом різних концентрацій гідрохінону та показники споживання кисню перлівницею борисфеновою за умови фенольної інтоксикації.

Методи дослідження – хімічні, біологічні, статистичні. Хімічні методи використані при підготовці розчинів токсикантів та при визначенні гідрохімічних показників дослідного середовища. Біологічні методи: мікроскопування – для вивчення деталей будови миготливого епітелію. Статистичні методи застосовані для обробки результатів вимірювань методами базової та багатовимірної варіаційної статистики (оцінка середніх значень, дисперсії, достовірності, апроксимація отриманих результатів).

Наукова новизна одержаних результатів. Наукова новизна роботи полягає в тому, що вперше:

- досліджено вплив гідрохінону на швидкі поведінкові та фізіологічні реакції перлівниці довгодзьобої;
- зроблено спробу виявлення залежності тривалості функціонування зябрового миготливого епітелію перлівниці борисфенової та довгодзьобої від віку і статі молюсків;
- досліджено вплив фенольної інтоксикації на інтенсивність споживання кисню перлівницею борисфеновою в міліграмах на літр на одиницю тотальної маси тіла і на одиницю м'яких частин тіла;

- встановлено характер зміни інтенсивності дихання перлівниці борисфенової в залежності від віку, статі і фізіологічного стану організму молюска.

Практичне значення одержаних результатів. Результати, викладені в роботі, можуть мати певне теоретичне та практичне значення. Їх можна використати в санітарній гідробіології для виявлення забруднення вод промисловими викидами та використання прісноводних молюсків в ролі індикаторів забруднення середовища гідрохіноном та фенолом. Цікавими можуть бути проведені дослідження спеціалістам у галузі медицини, ветеринарії, тваринництва, гідробіології та екології в цілому.

Публікації за темою роботи:

1. Самойленко А.Ю. Характерні особливості середовища існування та будови двостулкових молюсків. Екологія. Наука. Практика-2021: мат. XVII-ї Всеукр. наук.-практ. конф. студентів, аспірантів та молодих вчених. (21 травня 2021 року, м. Житомир). Житомир, 2021. С. 22-23.

2. Самойленко А.Ю. Основні фази інтоксикації перлівниці борисфенової фенолом. Студентські наукові читання-2021 : мат. Всеукраїнської наук.-практ. конф. присвяченої I туру Всеукр. конкурсу студ. наук. робіт (25 січня 2021 року, м. Житомир). Житомир, 2021. С.52-53.

3. Пінкіна Т.В., Самойленко А.Ю. Екологічний стан поверхневих водних ресурсів України. IV Всеукр. наук.-практ. конф. «Водні та наземні екосистеми та збереження їх біорізноманіття - 2021»: зб. наук праць. С. 72-75.

Апробація результатів роботи. Результати роботи були оприлюднені на XVII-й Всеукр. наук.-практ. конф. студентів, аспірантів та молодих вчених «Екологія. Наука. Практика-2021» (м. Житомир) та на конкурсі студентських наукових робіт з екологічного напрямку (м. Житомир).

РОЗДІЛ 1

КОРОТКИЙ НАРИС ІСТОРІЇ ВИВЧЕННЯ ПИТАННЯ

1.1. Характерні особливості середовища існування та будови двостулкових молюсків

Не дивлячись на велику різноманітність форм типу, всі молюски мають ряд характерних тільки для них ознак, які, по-перше, підкреслюють єдність походження всієї цієї групи, а по-друге, вказують на своєрідний шлях її еволюції. В основному це білатерально симетричні вториннопорожнинні тварини. Їх тіло складається з голови, мішкоподібного несегментованого тулуба і ноги. Нога являє собою потовщену черевну стінку тулуба, яка розростається [20].

Для молюсків є досить характерною тверда мінеральна мушля, яка часто вкриває все тіло тварини. З внутрішньої сторони до мушлі прилягає мантия – шкіряна складка, яка вільно звисає зі спинної сторони тулуба на його боки. Простір, який утворюється між стінками тулуба і мантиєю, називається мантийною порожниною. Там знаходяться органи дихання – зябра, і туди відкриваються зовнішні отвори органів виділення та анальний отвір.

Двостулкові молюски (*Bivalvia*) трапляються в Світовому океані і в його крайових морях, в річках і озерах, в ставках [20]. До найбільш звичайних крупних представників класу двостулкових в наших прісних водоймах відносяться члени родини Unionidae (перлівницевих) – річкова перлівниця (*Unio*) і жабурниця (*Anodonta*). Мешкаючи на дні водойми напівзануреними в ґрунт, живучи за рахунок зависей товщі води, що лежить вище, повільні тварини, завдяки безперестанній діяльності війок миготливого епітелію, є енергійними фільтраторами: один великий молюск впродовж 40 хвилин пропускає через свою мантийну порожнину із решітчастими зябрами 1 л води, що складає близько 40 л води за добу – величина досить значна,

якщо прийняти до уваги величезну кількість молюсків, що мешкають в наших водоймах, і безперервність їх фільтраційної діяльності. Молюски відіграють значну роль в справі перетворення мулів, виділяючи величезну кількість слизу, вони зв'язують і ущільнюють мули [20].

Перлівниці (*Unio*) широко розповсюджені в наших прісних водоймах. Найбільш звичайні наступні види перлівниць: перлівниця звичайна (*Unio pictorum*), перлівниця клиноподібна (*Unio tumidus*), а також, вивчені нами, перлівниця борисфенова (*Unio conus*) та перлівниця довгодзьоба (*Unio rostratus*), які зустрічаються в річках з великою швидкістю течії, де вода містить достатню кількість кисню. Перлівниці досить чутливі до зниження кількості кисню у воді, їх немає там де кисню мало. Проте, інтенсивність споживання кисню молюсками в різних водних басейнах вивчена недостатньо [21].

1.2. Етологічні та морфологічні реакції молюсків на вплив токсикантів

На фізіологічні та поведінкові характеристики гідробіонтів суттєво впливає забруднення води токсичними речовинами [24]. Порівняльне вивчення різних функціональних систем організму проводять з метою дослідження токсичного ефекту і порогових концентрацій полютанта, а це дає змогу знайти найбільш слабе місце у загальному комплексі порушень.

Однією з перших реакцій фізіологічних систем молюсків, що зазнають дії токсикантів, є ослизнення тіла внаслідок посилення діяльності залозистих клітин, локалізованих у покривах [25].

За гостролетальних концентрацій токсичного середовища спостерігається збільшення показників негативного водного балансу. Явища зневоднення організму молюсків є для них вкрай небезпечними через певне розладнання їх захисно-приспосувальних механізмів [27].

Бурхливий розвиток галузей промисловості пов'язаних з органічним синтезом веде до суттєвого збільшення об'єму промислових стоків, до складу

яких серед інших токсичних речовин входять фенол і гідрохінон. У великих виробничих регіонах України досить часто можна спостерігати порушення режиму функціонування очисних споруд, що сприяє забрудненню водного середовища цими речовинами у кількостях, які нерідко перевищують значення діючих у наш час ГДК на декілька порядків. А це викликає потребу з'ясувати, як впливає цей факт на процеси життєдіяльності прісноводних молюсків, зокрема, родини перлівницевих, які є звичайним компонентом переважної більшості гідробіоценозів українського Полісся. У дослідженнях варто звернути увагу на швидкі етологічні та фізіологічні реакції, а також визначити особливості функціонування миготливого епітелію зябрового апарату молюсків.

У роботі Е. А. Веселова [6] викладено перелік основних фаз дії токсичних речовин на прісноводних молюсків, котрі супроводжуються певними фізіологічними проявами. Б. А. Флеровим вивчено фізіологічні механізми дії токсикантів і виявлено пристосування до них різних груп гідробіонтів [23].

Миготливий війчастий епітелій зябрового апарату перлівницевих забезпечує такі важливі процеси життєдіяльності тварин як дихання, живлення і ряд інших. Виділяють 2 механізми локомоції війок:

- 1) автономне биття (характерне для власне самої війки);
- 2) механізм, що координує роботу сукупності війок (здійснюється фібрилярною системою, яка передає збудження).

Наразі у численних дослідженнях вивчено механізми роботи миготливого епітелію молюсків родини перлівницевих. Встановлено, що у перлівниці серповидної (*Unio tumidus falcatus Drouet*) і перлівниці спорідненої (*Unio rostratus gentilis Hass*) у дослідженнях *in vitro* миготливий епітелій самиць зберігає свою життєдіяльність в 2,3 рази довше, ніж у самців [21, 22].

Відомі дослідження присвячені тому як впливає фізіологічний статус організму на тривалість функціонування війок переживаючих клітин

миготливого епітелію у зябровому апараті жабурниці. Встановлено, що за наявності «зябрової вагітності» локомоція війок пригнічується у 5,2 рази швидше, аніж у латентних самиць.

Проведені дослідження дії різноманітних хімічних речовин на препарати миготливого епітелію зябер перлівниці (*U. svassus*), які були ізольовані [19]. Встановлена температура аклімації активності війок миготливого епітелію зябер жабурниці (*Lagerspets K.V.H.*).

Описано також метод, що дає змогу здійснювати пряме і непряме оцінювання впливу різних фармакологічних препаратів на зябровий війчастий епітелій *Venus mercenaria* за допомогою кінозйомки і візуальних спостережень.

Вивчено як впливають розчини нітрату калію різних концентрацій на особливості роботи війок миготливого епітелію зябрового апарату перлівницевих, котрі заселені личинками гірчака і вражені личинками трематод [21].

Вплив гідрохінону на швидкі фізіологічні та поведінкові реакції перлівниці довгодзьобої, вплив фізіологічного статусу на тривалість локомоції війок миготливого епітелію зябрового апарату перлівниці довгодзьобої та перлівниці борисфенової, а також інтенсивність споживання кисню перлівницею борисфеновою за умови фенольної інтоксикації нами вивчався вперше.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Програма проведення досліджень

У відповідності з поставленою метою досліджень для вирішення поставлених задач програма досліджень передбачала наступне:

- проведення аналітичного огляду літератури з приводу висвітлення досліджуваної проблеми в літературних джерелах та обґрунтування вибраного напрямку досліджень;

- розробку календарного плану проведення досліджень та ознайомлення з методиками їх проведення;

- засвоєння методик збирання, транспортування та визначення видової належності молюсків;

- опанування методики аклімації перлівницевих до лабораторних умов та методики акваріумного утримання цих молюсків;

- ознайомлення з методикою В. А. Алексєєва щодо постановки гострих токсикологічних дослідів;

- постановку гострого досліду (48 год) для визначення основних фаз інтоксикації перлівниці борисфенової та перлівниці довгодзьобої гідрохіноном, дослідження тривалості функціонування переживаючих клітин зябрового миготливого епітелію у двох видів перлівницевих з різним фізіологічним статусом;

- постановку досліду по вивченню інтенсивності споживання кисню перлівницею борисфеновою в нормі та за різних рівнів фенольної інтоксикації;

- статистичну обробку отриманих результатів досліджень та формулювання висновків;

- оформлення кваліфікаційної роботи згідно методичних вказівок, щодо оформлення наукових робіт такого плану.

2.2. Матеріал і методика досліджень

Методика збирання та аклімації матеріалу. Об'єктом нашого дослідження були два види двостулкових прісноводних молюсків – перлівниця довгодзьоба (*Unio rostratus rostratus* Haas) (рис. 2.1) та перлівниця борисфенова (*Unio conus borysthenicus* Kobelt) (рис. 2.2), зібрані у травні-липні 2021 рр. в р. Гуйва (сmt. Пряжево). Дані види трапляються зазвичай у річках, хоча можуть оселятися і в стоячих водоймах. Зустрічаються на глибині 0,3–1,5 м, щільність поселення варіює від 1 до 3 екз./м². Оселяються в водоймах з мулистими, піщано-мулистим дном.

У дослідах використано 180 екз. перлівниці довгодзьобої та 200 екз. перлівниці борисфенової.

Матеріал збирали вручну на глибині не більше 1 м з піщаного дна площею 10 м². Для дослідження використовували екземпляри, довжина мушлі яких перевищувала 50 мм. Щоби запобігти загибелі перлівниць від асфіксії під час транспортування у лабораторію, їх перевозили обклавши водяною рослинністю. У лабораторії перлівниць поміщали в широкі кювети та накривали вологим рядном, яке зволожували. Видову належність кожної особини визначали користуючись відповідною літературою («Визначником безхребетних тварин» за редакцією Я. І. Старобогатова) [23]. Зважували перлівниць на технічних вагах марки ВЛКТ-500.

Аклімація до лабораторних умов тривала дві доби [8]. Перлівниць уміщали в акваріуми (40 л) із відстояною (1 доба) дехлорованою водопровідною водою (вміст кисню – 8,5–9 мг О₂/дм³; рН 7,5–8,6). Температура води – 18–22⁰С. Освітлення під час досліду – природне. Для годівлі молюсків використовували подрібнений сухий корм для риб (дафнії), а також розтертий жовток курячих яєць (круто зварений). За кількістю річних ліній приросту визначали вік особин, роздивляючись стулки мушлі у світлі, яке вільно проходило [20]. Стать виявляли анатомуванням піддослідних тварин в кінці дослідження.

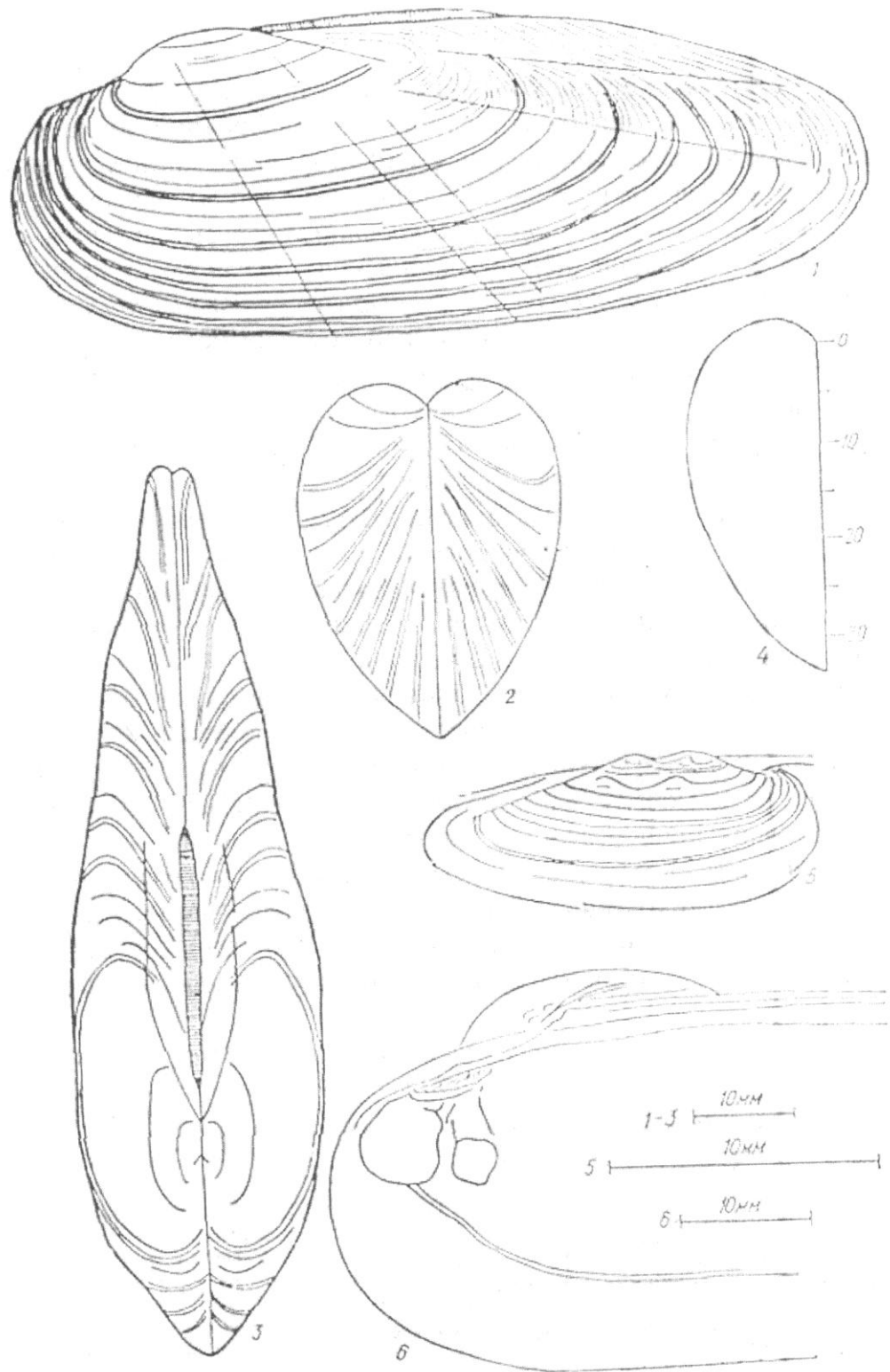


Рис. 2.1. *Unio rostratus rostratus* Haas: 1 – вигляд зліва; 2 – спереду; 3 – зверху; 4 – крива фронтального перерізу ступки; 5 – верхівкова скульптура; 6 – частина правої ступки зсередини.

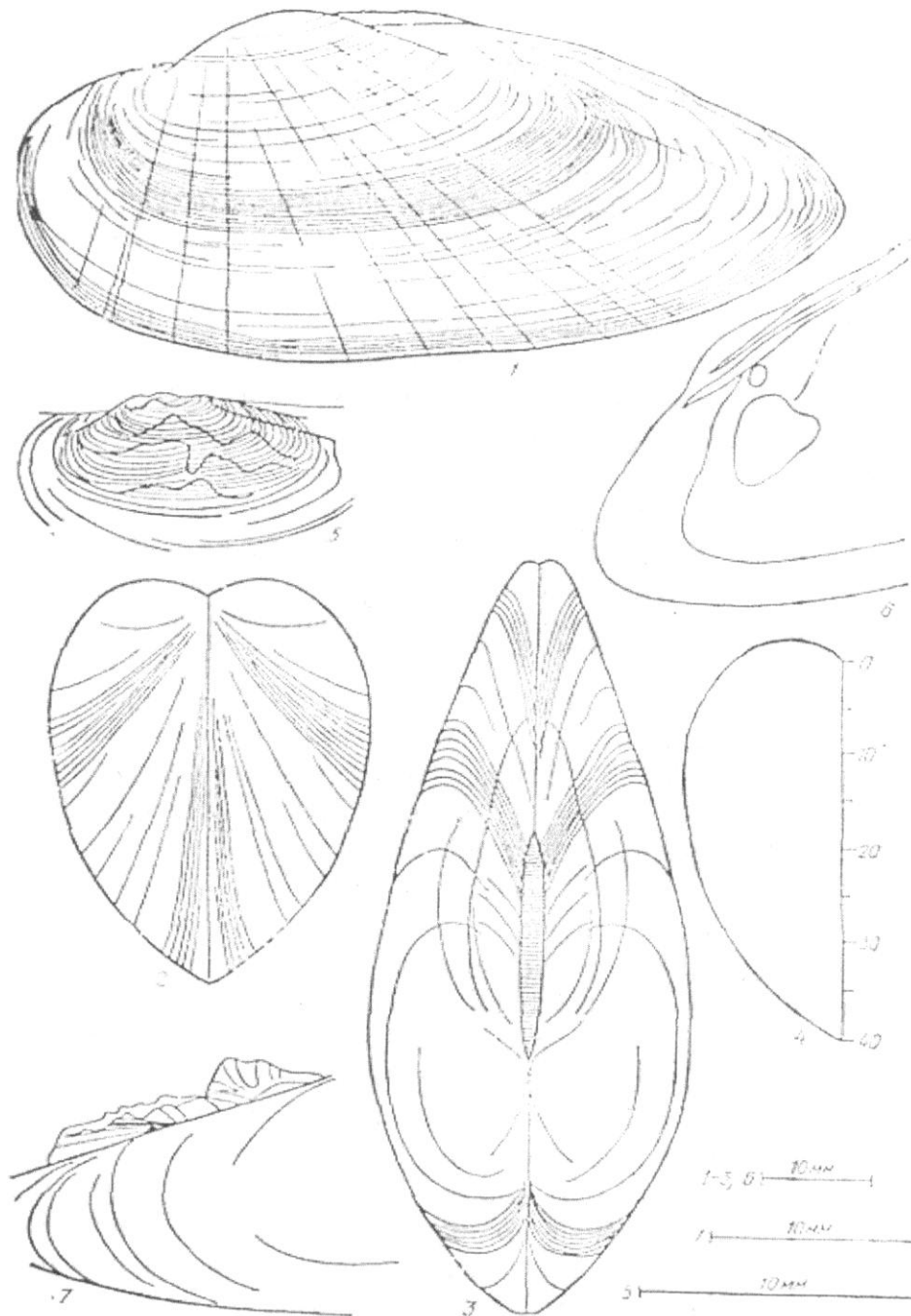


Рис. 2.2. *Unio conus borysthenicus* Kobelt: 1 – вигляд зліва; 2 – спереду; 3 – зверху; 4 – крива фронтального перерізу стулки; 5 – верхівкова скульптура; 6 – відтиск задніх м'язів; 7 – кардинальні зуби лівої стулки (вигляд згори).

Методика постановки орієнтовного токсикологічного дослідження.

Орієнтовний токсикологічний дослід поставлено згідно загальноприйнятої методики В. А. Алексєєва [1]. Об'єкт дослідження –

перлівниця борисфенова, перлівниця довгодзьоба; токсиканти – гідрохінон, фенол. На дехлорованій водопровідній воді (шляхом відстоювання впродовж 24 год.), готували розчини восьми концентрацій для кожного токсиканту: 0,001; 0,01; 0,1; 1; 10; 100; 1000; 10000 мг/дм³. В кристалізатори з розчинами кожного токсиканту вміщували по 6 екземплярів молюсків на 48 год. Фіксували час початку експерименту. Через 10 і 30 хв, 1, 2, 4, 6, 24, 48 год. від початку проведення досліду відмічали всі фізіологічні і етологічні реакції на ту чи іншу концентрацію токсиканта. Зміну дослідного токсичного середовища проводили кожні 24 години. Температуру розчинів утримували на рівні 18–20°C. Через 48 годин молюсків перевіряли на виживання шляхом нанесення тваринам больових подразнень (укол голкою в ногу).

Кінцевою метою досліду було встановлення трьох основних токсикологічних показників :

LC_{100} – летальної концентрації, за якої спостерігається стовідсоткова загибель молюсків;

LC_0 – концентрації, за яких всі молюски залишаються живими;

LC_{50} – медіальної летальної концентрації, за якої половина всіх піддослідних тварин лишались живими.

LC_{50} визначали графічно на основі значень попередніх двох показників.

У результаті отримано такі значення токсикологічних показників:

U. rostratus

Гідрохінон

$$LC_0 = 1 \text{ мг/дм}^3;$$

$$LC_{100} = 1000 \text{ мг/дм}^3.$$

Методика постановки основного токсикологічного досліду. Цей дослід став продовженням орієнтовного досліду і проводився за аналогічних умов (температура 18–20°C; розчини готувалися на дехлорованій шляхом відстоювання протягом 24 год водопровідній воді; освітлення природне; зміна токсичного середовища через кожні 24 год) [15, 17].

Результати реєструвались в журналі спостережень. Через кожну добу

знімали такі показники: тактильна чутливість, положення стулок, інтенсивність дефекації, інтенсивність слизовиділення, рухова активність, смертність.

Крім того, після загибелі молюсків визначали вік тварин; довжину, висоту і опуклість черепашки; зараженість гонади, зябер.

Методика визначення віку молюсків. Вік молюсків визначали шляхом встановлення кількості річних дуг наростання або річних дуг зимового припинення росту стулок черепашки. Останні мають вигляд темно-коричневих смуг і добре виділяються на загальному світлому тлі стулок. Ускладнювало визначення віку тварин те, що річні дуги наростання останніх років життя стають майже непомітними [23].

Методика визначення трематодної інвазії. Наявність чи відсутність трематодної інвазії встановлювали шляхом дослідження при малому збільшенні мікроскопа тимчасових гістологічних препаратів, які виготовляли з тканин зябер, гонади, гепатопанкреаса.

Методика визначення «зябрової вагітності». При визначенні «зябрової вагітності» розглядали внутрішні і зовнішні півзябра. Якщо в марсупіях знаходились яйцеклітини або сформовані глохідії, зовнішні півзябра відрізнялись від внутрішніх: мали значно більшу товщину і молочно-біле або жовте чи оранжеве забарвлення. За наявністю цих ознак встановлювали «зяброву вагітність».

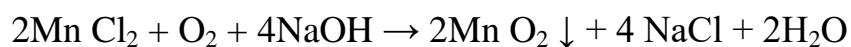
Методика визначення статі. Для визначення статі тварин розглядали тимчасові гістологічні препарати статевих продуктів при малому збільшенні мікроскопа [27].

Методика вивчення тривалості рухової активності війок переживаючих клітин миготливого епітелію зябрового апарату перлівниці. Тривалість рухової активності війок переживаючих клітин миготливого зябрового епітелію визначали для 113 екз. перлівниці борисфенової і 117 екз. перлівниці довгодзьобої. Дослідження проводили за методикою Є. А. Веселова (1968). Оголювали зябра, розрізавши м'язи-

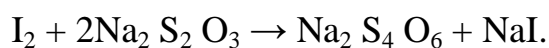
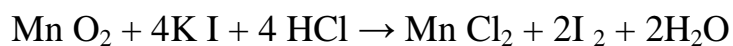
замикачі і розкривши стулки черепашки. Від кожної зовнішньої півзябри відрізали край, шириною 4–5 мм. Отримані смужки поміщали в чашки Петрі, заповнені дехлорованою, шляхом відстоювання протягом доби, водопровідною водою. Спостереження за роботою війок вели за допомогою мікроскопа Біолам (7x8). Фіксували час початку спостереження за діяльністю миготливого епітелію і час повного пригнічення рухової активності війок.

Визначення інтенсивності споживання кисню. Для проведення токсикологічного дослідження застосовано фенол у зростаючих концентраціях: 50, 100, 200, 300, 400, 500 і 1000 мг/дм³. Контрольна група тварин була уміщена в «чисту» воду. За дослідження впливу фенольної інтоксикації на показники інтенсивності дихання перлівниць, кожного молюска поміщали у воду з певною концентрацією токсиканту в ній. Експозиція тварин у токсичному середовищі складала 48 год.

З метою встановлення розчиненого у воді кисню користувались методом Вінклера, в основі якого лежить наступна реакція:



Кількість MnO_2 (випадає у бурій осад) еквівалентна кількості поглиненого кисню, визначається йодометрично.



Якщо осад білий – повна відсутність кисню у воді.

Сам хід аналізу полягав у наступному:

Кожен молюск занурювали в банку з чистою водою і залишали його там на одну годину. Отримана вода і буде досліджуваною на вміст кисню водою.

У скляні ємності (з відомим об'ємом) налити досліджувану воду. Швидко додати 1 мл розчину №1 (на 250 мл дистильованої води – 106,2 г Mn Cl_2), потім 1 мл розчину №2 (на 250 мл дистильованої води 37,5 г KI + 125 г NaOH).

Перемішати перевертаючи скляні ємності вгору і вниз. Дати

відстоятися. Після повного осадження додати 1 мл H_2SO_4 (конц.). Знову перемішати. Через 5 хвилин перелити воду в колбу об'ємом в 500–700 мл.

Якщо розчин став темно-жовтим або коричневим, то спочатку потрібно відфільтрувати його 0,1 н розчином гіпосульфїту до блідо-жовтого, а тоді додати декілька крапель свіжоприготовленого розчину крохмалю.

Якщо розчин жовтий, то крохмаль додати відразу і провести фільтрування розчину.

Кількість кисню у воді визначається за формулою:

$$X = \frac{V \cdot 80}{V - 2} \text{ [мг/л]},$$

де x – кількість кисню в мг/л;

V – об'єм розчину гіпосульфїту, який пішов на титрування;

$(V-2)$ – об'єм склянки без об'єма доданих реактивів.

З метою дослідження впливу інтоксикації фенолом на інтенсивність дихання перлівниці борисфенової, кожен особину поміщали у воду з певною заданою концентрацією фенолу в середовищі. Робота проводилася за тією ж методикою.

Методика обробки цифрових даних. Всі отримані цифрові результати обробляли методами варіаційної статистики за Г. Ф. Лакінім [12] з використанням спеціальної комп'ютерної програми Excel.

Нижче наведено формули, якими користувались при знаходженні основних статистичних показників та перелік показників, які визначалися в дослідженнях:

1. n – варіанти. Відповідає кількості екземплярів молюсків, використаних в досліді.

2. M – середнє арифметичне значення основного статистичного показника.

3. lim – межі варіації основного статистичного показника.

4. m_M – похибка до середнього. Показує відносну похибку при

підрахунках середнього значення основного статистичного показника.

5. σ – середнє квадратичне відхилення.

6. V – коефіцієнт варіації.

При визначені вищеперерахованих статистичних показників були використані наступні статистичні формули:

$$M = \frac{\sum_M x}{n}$$

де M – середнє значення основного показника; $\sum_M x$ – сума всіх значень основного статистичного показника; n – кількість варіант.

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum |x - M|^2}{n - 1}}$$

де σ – середнє квадратичне відхилення; $\sum |x - M|^2$ – сума різниці значень між середнім значенням основного статистичного показника і кожним значенням основного статистичного показника, приведена до квадрату; n – кількість варіант.

$$V = \frac{\sigma \cdot 100\%}{M}$$

де V – коефіцієнт варіації; σ – середнє квадратичне відхилення, M – середнє значення основного статистичного показника.

Межі варіації (*lim*) вказувались як проміжок між найменшим (M_{min}) найбільшим (M_{max}) значенням основного статистичного показника.

Для оцінки істотності відмін між двома середніми значеннями вибірок використовували t -критерій Стюдента. Обчислювали M і m для кожного варіаційного ряду, а потім визначали коефіцієнт Стюдента за формулою

$t = \frac{V}{m_v}$. В чисельнику – абсолютна величина різниці середніх арифметичних

$V = |M_1 - M_2|$, а в знаменнику – середня похибка різниці середніх арифметичних $m_v = \sqrt{m_1^2 + m_2^2}$, де m_1 і m_2 – середні квадратичні похибки

середніх арифметичних відповідно першого і другого варіаційних рядів. За знайденим значенням t і кількістю ступенів вільності по таблиці критичних значень t -критерію Стьюдента перевірялася нульова гіпотеза (H_0), тобто, що різниця між середніми значеннями має випадковий характер. В роботі приймався 5% рівень значущості. Різниця між середніми вважалася вірогідною, якщо імовірність $P < 0,05$.

Всі отримані таким чином статистичні показники поміщали в зведену таблицю наступного зразка (табл.2.1):

Таблиця 2.1.

Зведена таблиця основних статистичних показників (зразок)

n	lim	M± m	σ	V	P

2.3. Характеристика умов проведення досліджень

Для попередньої адаптації до лабораторних умов (температури приміщення, кисневого режиму, до води, застосованій у контролі та дослідях) відловлених молюсків уміщали на 2 доби у великі ємності з відстоюною дехлорованою водою з міської водогінної мережі. Воду для відстоювання зберігали протягом 1–2 діб в скляних акваріумах та емальованих відрах ємністю 10 л.

Молюсків у лабораторії утримували в акваріумах за методикою А. П. Стадниченко (1986). Садки розміщували на спеціальних стелажах. Усі акваріуми з піддослідними тваринами мали етикетки з датою та умовами постановки експерименту. Заміну корму та видалення харчових залишків проводили щоденно. Умови експерименту: рН води – 7,41–8,13, температура води – 18–20⁰С, вміст O₂ – 8,39–8,87 мг/дм³, CO₂ – 2,33 мг/дм³, фтору – 0,24 мг/дм³, кальцію – 2,60 мг/дм³ [18].

РОЗДІЛ 3

ЕКОЛОГІЯ ПОПУЛЯЦІЙ ПЕРЛІВНИЦІ БОРИСФЕНОВОЇ

Перлівниця борисфенова – звичайний компонент водойм Житомирського Полісся. Ці молюски населяють багаточисельні і різноманітні водойми і водотоки, розповсюджуючись в них досить закономірно. У великих загатах верховин річок України перлівниці зустрічаються у великій кількості, причому в таких місцях всі молюски досягають дуже великих розмірів. На незагачених ділянках верховин річок перлівниця борисфенова розповсюджена поодинокі.

У нижній течії річок молюски здебільшого групуються на піщано-мулистому дні за піщаними косами, а також на стабільних глинисто-мергелістих ґрунтах, причому максимальна кількість *Unio conus* трапляється під самим урвищем коси на піщаному узбережжі і ближче до берега на глинисто-мергелістому дні. У медіалі річок трапляються лише поодинокі *Unio conus*.

В досліджених нами ділянках р. Гуйва молюски групуються у великій кількості на глибині 0,5–1 м і в невеликій кількості заходять до глибини 1,5 м. Середня щільність поселення їх склала 0,8 екз./м², біомаса – 49,4 г/м². Для басейну р. Гуйва характерне нерівномірне розселення *Unio* в межах окремих ділянок. В районі смт. Пряжево їх чисельність і біомаса порівняно високі – 4,3 екз./м² і 168,4 г/м². Ґрунт – земляний пісок. Високу чисельність перлівниці борисфенової в басейні р. Гуйва можна пояснити особливостями гідрологічних умов, наявністю достатньої кількості харчових речовин і сприятливим газовим режимом. Перлівниці дуже чутливі до нестачі кисню у воді: вони відсутні там, де кисню мало. Активна реакція середовища у місцях проживання перлівниці борисфенової в р. Гуйва знаходиться в межах рН 7-9.

Нами досліджено 210 екземплярів перлівниці борисфенової із гуйвинської популяції.

Важливою стороною в характеристиці структури популяції являються

співвідношення статевих груп, особливо у видів з переважаючим статевим розмноженням. Суттєвий вплив на підтримку популяції має те, в якому віці і за яких умов настає статева зрілість самців і самиць. Дане питання заслуговує уваги при встановленні ролі популяцій в біогеоценозі.

І. Н. Пономарьова (1975) вважає, що для відтворення популяції надзвичайно актуальною є проблема зустрічі особин різних статевих груп. У цьому відношенні великого значення набуває щільність популяцій. Середня щільність популяцій забезпечує високі темпи її розмноження.

У популяціях *Unio* зазвичай співвідношення самців і самиць буває 1:1 (Троїцький, 1934, Жадін, 1938). Ця закономірність в основному спостерігалася і в гуйвинській популяції перлівниці борисфенової, хоча було виявлено деяке переважання самиць над самцями (самиці 50,9 %, самці 49,1%). Збільшення в складі даної популяції кількості самиць, народжуючих потомство і сприяючих тим самим збільшенню чисельності популяції, призводить до її процвітання і прогресування.

Велике значення в характеристиці популяції має її вікова структура. При цьому, як вважає І. Н. Пономарьова (1975), важливим є не тільки співвідношення різних вікових груп популяції, але і зміна цього співвідношення в різні сезони року, що показує швидкість оновлення популяції. Співвідношення різновікових груп може слугувати в якості прогнозу про подальше існування популяції в біогеоценозі.

Якщо популяція знаходиться в сприятливих умовах існування, у неї зазвичай присутні всі вікові групи, між ними спостерігаються поступові переходи і регулярне відновлення забезпечує підтримку нормального рівня чисельності. Але інколи це співвідношення може бути порушене за рахунок скорочення чисельності якоїсь вікової групи, що може призвести до деградації популяції.

Аналізуючи віковий склад популяції перлівниці борисфенової в р. Гуйва, ми встановили, що вона складається із моллюсків різного віку від трьох до десятирічних, з незначною перевагою шестирічних особин (рис. 3.7).

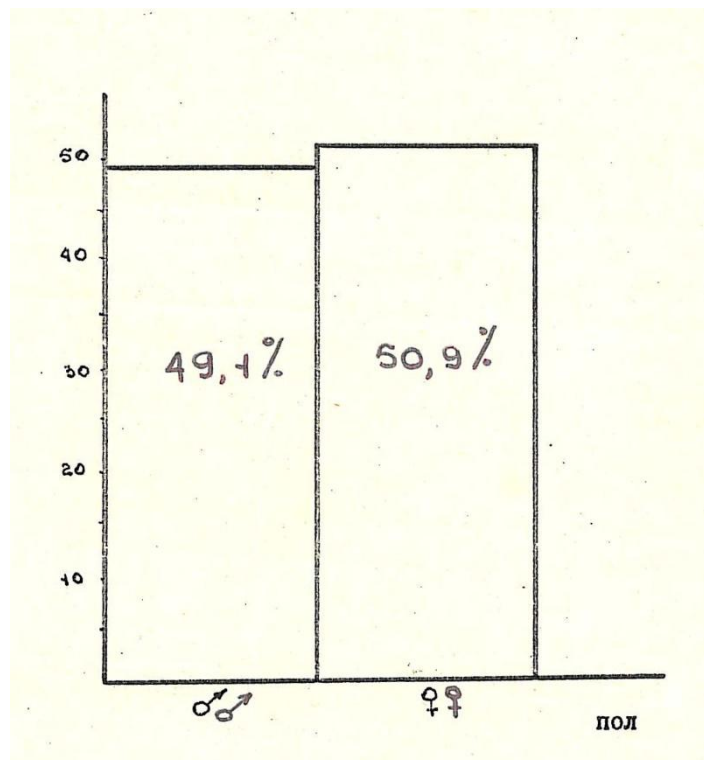


Рис. 3.7. Гістограма статевого складу Гуйвинської популяції перлівниці борисфенової.

Кількісне співвідношення вікових груп може слугувати індикатором стану популяції і її майбутнього в біогеоценозі, а також індикатором умов життя виду.

Аналіз вікового складу досліджуваної нами популяції свідчить про те, що основу її складають здатні до розмноження особини, причому, чим старшими є особини, тим вони відрізняються більшою плідністю, порівняно з молодими особинами.

Характеризуючи гуйвинську популяцію перлівниці борисфенової, ми дослідили і її розмірний склад. Розміри особин варіюють в межах від 6,1 до 10,5 см в довжину і від 2,8 до 5,4 см в ширину і не завдають істотного впливу на розвиток популяції перлівниці борисфенової. Суворої закономірності у співвідношенні розмірів і віку перлівниць не виявлено.

На підставі всіх вищеперахованих фактів про розмірний, статевий і віковий склад гуйвинської популяції перлівниці борисфенової можна прийти до висновку, що на даному етапі вона успішно процвітає і прогресує.

РОЗДІЛ 4

ВПЛИВ ТОКСИКАНТІВ НА ПОВЕДІНКОВІ ТА ФІЗІОЛОГІЧНІ РЕАКЦІЇ ПЕРЛІВНИЦЕВИХ

4.1. Основні фази інтоксикації перлівницевих гідрохіоном

Вивчення дії різних концентрацій гідрохіону на швидкі фізіологічні та етологічні реакції перлівницевих є актуальним через надмірне забруднення гідробіоценозів цим токсикантом. Проаналізувавши симптоми отруєння токсичними речовинами у деяких видів прісноводних безхребетних, можна виділити наступні основні фази патологічного процесу в організмі [3, 4, 5]:

1) Уникнення отруйного середовища у ряду видів характерне для фази підвищеної рухової активності або фази збудження;

2) Фаза візуально фіксованого порушення координації рухів тварин і початку настання судом;

3) Фаза зниження рухової активності молюсків, яка викликана судомами і паралічем частини органів або деяких частин тіла, котрі виконують функцію локомоції;

4) Фаза втрати активних рухів повністю, настання глибокого паралічу, який характеризується здриганням (тремором) м'язів тулуба, кінцівок, органів чуття. У цій фазі тварини реагують судомним скорочення м'язів локомоторної мускулатури на незначні механічні подразники;

5) Відсутність реакції на зовнішні подразники – фаза нерухомості. Смерть.

У зв'язку з особливостями будови тіла молюсків, зокрема, двостулкових, всі ці фази інтоксикації, які є характерними для всіх водних безхребетних, проявляються дещо інакше. Для досліджуваних нами молюсків виділені наступні етапи: фаза збудження, спроби уникнути контакту з токсичним середовищем через виповзання з ємностей, втягування тіла всередину мушлі, закривання стулок мушлі, заривання у субстрат; у відповідь на механічне подразнення – нога і тіло слабо втягуються

всередину мушлі; далі спостерігаємо абсолютну втрату чутливості, вивисання сифонів, відкривання стулок мушлі, звисання тіла з черепашки та смерть. Ці етологічні реакції молюсків на токсичне середовище є патологічними поведінковими реакціями, на відміну від поведінки в нормі.

1-а фаза – інтенсивність збудження тварин – знаходиться у прямій залежності від ступеня їхньої резистентності [6]. Молюски належать до високорезистентних тварин, тому фаза підвищеної рухової активності проявляється не досить чітко з низькою тривалістю. Реакція уникнення у двостулкових молюсків проявляється досить своєрідно – вони міцно змикають стулки черепашки, а це дає змогу ізолювати тіло молюска від дії токсиканта, який розчиненою у воді.

Друга фаза – порушення координації рухів – виражається у втраті просторової орієнтації піддослідних тварин та у невластивих для цього виду способах пересування. Молюски здійснюють судомне втягування ноги в черепашку. У третій фазі інтоксикації параліч захоплює усі зовнішні та внутрішні органи тварини, що у двостулкових молюсків виглядає як повне знерухомлення тіла і підвищення порогу тактильної чутливості.

У кінці процесу отруєння, за загальної нерухомості організму, настає глибокий параліч (4-а фаза). Абсолютною нерухомістю або смертю характеризується 5-а фаза отруєння. При цьому стулки черепашки відкриті, а нога вивисає назовні.

У молюсків зазвичай смерті передуює стан певної іммобілізації, або «несправжньої смерті»: організм, у цьому випадку, не реагує на зовнішнє подразнення, повністю нерухомий і, якщо тварину не перенести у чисту воду, дійсно може загинути. Проте за умови перенесення у чисту воду – з'являються ознаки життя: молюски починають реагувати на механічне подразнення, втягуючи тіло під черепашку.

4.1.1. Основні фази інтоксикації гідрохіноном перлівниці довгодзьобої

За інтоксикації гідрохіноном для перлівниці довгодзьобої після 48-

годинної експозиції нами виділенні наступні фази, згідно зазначеної раніше класифікації фаз:

I фаза. За дії на молюсків гідрохінону в концентраціях 10000 мг/дм^3 та 1000 мг/дм^3 ознаки цієї фази відмічаються через 30 хв від початку експозиції у 100% досліджуваних тварин; в концентраціях 100 мг/дм^3 та 10 мг/дм^3 – біля 1 години для цієї ж кількості тварин. При концентрації 1 мг/дм^3 в цій фазі через 3 год перебуває 50% тварин, а через 4 год всі особини. Всі молюски, котрі зазнали дії гідрохінону в концентраціях $0,01 \text{ мг/дм}^3$ та $0,001 \text{ мг/дм}^3$, показують ознаки цієї фази через 24 год та 48 год відповідно.

II фаза. У випадку дії гідрохінону в концентраціях 10000 мг/дм^3 та 1000 мг/дм^3 ця фаза відмічалась для 100% піддослідних тварин через 1 год, при концентрації 100 мг/дм^3 та 10 мг/дм^3 через 3 години дії токсиканту на молюсків. У 67% особин вперше ознаки фази за концентрації 1 мг/дм^3 спостерігались через 6 год, а за $0,1 \text{ мг/дм}^3$ – через 2 доби для 100% досліджуваних тварин.

III фаза. Є характерною для всіх досліджуваних організмів за дії гідрохінону в концентраціях 10000 мг/дм^3 через 3 год, 1000 мг/дм^3 – 4,2 год, 100 мг/дм^3 та 10 мг/дм^3 – 5,8 год. При концентрації розчину $0,1 \text{ мг/дм}^3$ в цій фазі через 24 год перебувало 35%, а через 48 год – 100% молюсків.

IV фаза. У розчинах гідрохінону за концентрації 10000 мг/дм^3 ця фаза була відмічена у 100% тварин через 4 год, при перебуванні в розчинах з 1000 мг/дм^3 токсиканту – через 6 год, а за 100 мг/дм^3 та 10 мг/дм^3 – через 12 годин у 100% молюсків, котрі перебували в розчинах гідрохінону означених концентрацій.

V фаза. У 83% молюсків спостерігається за концентрації 10000 мг/дм^3 через 6 год, а у 100% – через 24 год; за концентрації гідрохінону 1000 мг/дм^3 – у 100% особин через 23 год; при концентрації 100 мг/дм^3 – через 24 год у 67%, а у 100% через 48 год; у розчинах токсиканту з 10 мг/дм^3 – у 33% через 24 год від початку токсичного впливу (табл. 4.1, Додаток А.1–А. 8).

Таблиця 4.1.

**Смертність (год) перлівниці довгодзьобої за дії
гідрохінону у різних концентраціях**

% Концентрації	17%	33%	50%	67%	83%	100%
10000	–	–	–	–	6	24
1000	–	–	–	–	–	24
100	–	–	–	24	36	48
10	12	24	72	168	192	264
1	288	504	528	540	552	576
0,1	552	576	624	648	672	696
0,01	504	528	552	696	720	744
0,001	552	648	672	792	888	960

Під час аналізу впливу розчинів гідрохінону різних концентрацій на перлівницю довгодзьобу, встановлено, що не всі п'ять зазначених фаз інтоксикації можна відмітити в кожній з концентрацій полютанту. У певних випадках, особливо за низьких концентрацій (0,1 мг/дм³–0,001 мг/дм³), всі фази проявляються лише за тривалої експозиції (через 7–12 діб).

Аналіз отриманих результатів дає змогу зробити висновок, що застосовуючи дану класифікацію фаз інтоксикації щодо двостулкових молюсків, важко прослідкувати межу переходу між першими трьома фазами за дії на молюсків полютантів з високою концентрацією. Це пояснюється малою тривалістю цих трьох фаз, а особливо – першої.

**4.2. Залежність тривалості функціонування переживаючих клітин
миготливого епітелію зябрового апарату перлівницевих від їх
фізіологічного статусу**

Миготливий епітелій вистилає зовнішню і внутрішню поверхні зябрових пластинок перлівницевих і є основною частиною багатofункціонального апарату, який названо гідрокінетичним. Цим

апаратом забезпечується виконання низки життєво необхідних функцій молюсків: живлення (відфільтровування поживних речовин з води), дихання (сприяє газообміну), розмноження (виведення статевих продуктів) та ін.

Узгодження роботи війок забезпечує координуючий механізм, і виконується ця робота фібрилярною системою, яка передає збудження. Для війок миготливого епітелію характерний високий рівень автоматизму, тому вони довгий час не перестають функціонувати *in vitro*.

Досліджено тривалість функціонування переживаючих клітин зябрового миготливого епітелію у двох видів: *Unio rostratus rostratus* (табл. 4.2) та *Unio conus borysthenicus* (табл. 4.3) з різним фізіологічним статусом. З'ясовано, що діяльність миготливого апарату перлівницевих є видоспецифічним. Так, тривалість рухової активності війок апарату у *Unio rostratus rostratus* складає 4 год, а у *Unio conus borysthenicus* близько 16 год.

Таблиця 4.2.

Тривалість (хв) збереження функціональних можливостей переживаючих клітин зябрового миготливого епітелію перлівниці довгодзьобії

Матеріал	n	Статистичні показники		
		M± m	σ	V
Самиці (всі)	75	261,25±16,09	139,31	53,33
Самиці заражені партенітами трематод	15	334,06±31,14	124,57	53,22
Незаражені самиці	50	243,76±21,26	150,31	61,66
Самиці в стані “зябрової вагітності”	17	195,00±24,62	104,47	53,57
Латентні самиці	58	269,28±19,02	144,85	52,98
5-річні самиці	33	251,67±22,88	125,38	49,79
6-річні самиці	30	264,97±22,38	122,58	46,26
7-річні самиці	11	216,50±34,14	107,97	49,87
Самці (всі)	72	277,93±16,03	136,06	48,95
Самці заражені партенітами трематод	10	400,20±17,68	277,26	69,28
Незаражені самці	69	350,21±11,55	142,64	97,84

Спостереження за биттям війок миготливого епітелію у самиць і самців

одного й того ж віку дали можливість з'ясувати, що тривалість роботи у *Unio rostratus rostratus* становить $261,21 \pm 18,19$ (самиці) та $277,93 \pm 16,03$ (самці), тобто статеві відмінності по цьому показнику у цього виду відсутні. Проте вони наявні у *Unio conus borysthenicus*: миготливий епітелій зябер самиць перлівниці борисфенової *in vitro* зберігає свою активність у 2,4 рази довше, аніж у самців цього виду.

Таблиця 4.3.

Тривалість (хв) збереження функціональних можливостей переживаючих клітин зябрового миготливого епітелію перлівниці борисфенової

Матеріал	n	Статистичні показники		
		M± m	σ	V
Самиці (всі)	82	971,75±38,65	826,72	85,08
4-річні самиці	16	408,25±38,56	243,25	59,58
5-річні самиці	32	610,78±99,67	563,82	92,31
6-річні самиці	27	860,44±78,13	705,96	82,05
7-річні самиці	5	468,60±65,48	353,90	75,52
Самиці в стані “зябрової вагітності”	17	561,66±38,68	434,34	77,33
Латентні самиці	65	736,94±52,92	651,10	88,35
Самиці заражені партенітами трематод	21	907,16±47,29	682,29	75,22
Незаражені самиці	61	472,81±39,18	374,82	79,27
Самці (всі)	94	415,76±67,27	409,12	98,40
4-річні самці	12	555,67±78,68	494,18	88,93
5-річні самці	32	461,16±61,78	378,27	82,03
6-річні самці	33	721,15±27,03	629,71	87,32
7-річні самці	12	770,58±66,95	578,34	75,05
Самці заражені партенітами трематод	24	762,45±35,77	600,59	78,77
Незаражені самці	70	491,64±62,15	337,80	68,71

У марсупіях двостулкових, які у перлівницевих утворюються в зовнішніх півзябрах, відбувається розвиток запліднених яєць. Під час формування марсупіїв руйнуються клітини зябрового миготливого епітелію,

а це знижує його функціональні властивості. Цю закономірність підтверджено і у ході наших досліджень. Так, у *U. rostratus* биття війок миготливого епітелію зябер у латентних самиць триває на 39% довше, ніж локомоція у самиць з „зябровою вагітністю”, а у *U. conus borysthenicus* на 31,28%. Слід зазначити, що у латентних особин досліджуваних видів клітини зябрового епітелію живуть у середньому $269,28 \pm 19,02$ та $736,94 \pm 52,92$ хв, а у «вагітних» – лише $195,00 \pm 24,62$ та $501,66 \pm 38,68$ хв відповідно. Це підтверджено також іншими дослідниками у інших видів перлівницевих [36].

Вікова залежність виявлена і в тривалості роботи війок миготливого епітелію зябер. Так, у *Unio conuis borysthenicus* війки 5-річних самиць працюють довше (у 2,1 рази), ніж у 4-річних ($408,25 \pm 38,55$ хв та $610,78 \pm 99,67$ хв відповідно). Однак у 7-річних самиць спостерігали різке зниження тривалості биття війок – $468,60 \pm 65,48$ хв, в той час як у 6-річних локомоція тривала $860,44 \pm 78,13$, тобто у 1,9 разів довше. Статистично вірогідних відмінностей у тривалості функціонування війок переживаючих клітин миготливого епітелію зябер між 4-и та 5-річними самцями цього ж виду не відмічено. Тривалість биття війок у п'ятирічних самців у 1,56 рази менша, ніж у шестирічних, а у семирічних тривалість локомоції війок така ж, як і у шестирічних тварин. У *Unio rostratus rostratus* вікових відмінностей за цим показником не виявлено.

У ході експерименту враховували інвазію видів *Unionidae* партенітами трематоди *Viscerphalus polymorphus* Baer, які локалізуються в гепатопанкреасі молюсків. Відмічено зростання, за умови інвазії, локомоції війок як у самців, так і у самиць. Так, у інвазованих особин тривалість биття війок миготливого епітелію складає у *Unio conus borysthenicus* $907,16 \pm 47,29$ хв (самиці) і $762,45 \pm 35,77$ хв (самці), що відповідно у 1,3 рази довше, ніж у незаражених особин цього виду. У інвазованих молюсків виду *U. rostratus* діяльність війок призупиняється через $334,06 \pm 31,14$ хв у самиць та через $400,20 \pm 17,68$ хв у самців, що відповідно у 1,4 рази та 1,14 рази довше, ніж у незаражених тварин.

РОЗДІЛ 5

ІНТЕНСИВНІСТЬ ДИХАННЯ ПЕРЛІВНИЦІ БОРИСФЕНОВОЇ У НОРМИ ТА ЗА УМОВИ ФЕНОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

Вміст кисню у воді змінюється в досить широких межах: від нуля до стану перенасичення, як результат інтенсивних процесів фотосинтезу. Поглинання кисню молюсками залежить від його вмісту у воді та від парціального тиску цього газу. Перлівницеві є аеробними організмами, тому потребують, для здійснення процесів дихання, наявності кисню в середовищі свого існування. Насичення киснем води у річках Полісся становить 85-100, а у ставах – 120–200%. Для двостулкових молюсків, щоби забезпечити потреби у кисні, достатнім є насичення води на 50% [10].

Досліджувалась інтенсивність споживання кисню для різних вікових груп *Unio conus*. У районі смт. Пряжево біомаса та чисельність цього виду молюсків є порівняно високими – 4,2 екз/м² і 156,4 г/м². У гуйвинській популяції виявлене незначне переважання самиць над самцями (самців – 49,1%; самиць – 50,9%). Аналіз вікового складу популяції перлівниці борисфенової в р. Гуйва, дав такі результати: популяція складається з молюсків різного віку – від трирічних до восьмирічних, з досить незначним переважанням шестирічних екземплярів. Розміри особин в популяції варіюють в межах від 6,1 до 10,6 см у довжину і від 2,9 до 5,6 см в ширину. Таким чином, дійшли висновку, що на даному етапі розвитку пряжівська популяція *Unio conus* досить успішно процвітає та прогресує.

У дослідженнях зважали на кількісний вміст кисню у воді. Встановлено, що з віком інтенсивність споживання кисню кожною окремо взятою особиною молюсків за одиницю часу збільшується. Проте перераховуючи споживання кисню на одиницю живої ваги тіла *Unio conus* ми спостерігали зворотню закономірність.

У чотирирічних перлівниць інтенсивність споживання кисню складає 0,062, а у трирічних – 0,089 мг О₂ /дм³ на 1 г живої ваги. У особин старших

вікових груп (6-7-річних) спостерігали значне зменшення споживання кисню на одиницю маси ($0,0012 \text{ мг O}_2 / \text{дм}^3$ на 1 г живої ваги). Встановлено, що з віком маємо значне зниження споживання кисню на одиницю ваги тіла перлівниць. Виявлено, що ця залежність між споживанням кисню *Unio conus* та віком тварини є статистично вірогідною ($P < 0,05$).

Якщо порівнювати інтенсивність споживання кисню у одновікових груп самиць та самців перлівниці борисфенової виявляється, що вона є дещо вищою у перших ($P > 0,05$). Особливо ці відмінності виявляються помітними з моменту настання статевої зрілості (починаючи з 3-4-річного віку). Цю закономірність можна пояснити наступним: на частку самок у репродукційний період падає значно більше функціональне навантаження у порівнянні із самцями, що вимагає більших потреб у кисні, а значить і створення значних кількостей використуваної енергії. Відома роль самок у формуванні на стулках зовнішніх напівзябер кишень-марсупіїв для виношування яєць в них, а пізніше і аберантних личинок – глохідіїв, сформованих із них. У самців має місце тільки утворення статевих продуктів. Зазначені процеси самок потребують додаткових витрат енергії, які і досягаються підвищенням рівня метаболізму самиць перлівницевих. Зазначимо, що дослідження самиць у стані “зябрової вагітності” дало би більш точні дані, оскільки передбачається, що саме цей стан є причиною більш інтенсивного споживання самицями кисню.

Отже, інтенсивність споживання кисню у перерахунку на одиницю маси їхнього тіла у різних вікових груп перлівниці борисфенової є неоднаковою і знижується із віком. Значення цього показника знаходяться у прямій залежності від фізіологічного стану організму, від вмісту кисню у воді, а також, в певній мірі, і від статі моллюсків. Так, у самців інтенсивність споживання кисню на одиницю живої ваги є дещо нижчою ніж у самиць. Спостерігається зниження інтенсивності споживання кисню моллюсками зі зменшенням вмісту його у воді. Встановлено, що найбільш різко знижується споживання кисню за падіння вмісту кисню у воді до 2,8 мг/л і нижче.

Загальновідомо [4], що організми адаптуються до змін умов оточуючого середовища поетапно. За недостатності етологічних пристосувань, щоби зменшити вплив токсичного середовища, – з'являються пристосування біохімічного та фізіологічного характеру. Тому фізіологічні та біохімічні показники досить широко застосовуються у дослідженнях з водної токсикології [25], де виділяють фази патологічного процесу (байдужість, стимуляція, депресія, сублетальна і летальна фази) [6]. У наших дослідженнях виділено такі фази інтоксикації: підвищеної рухової активності, за ним спостерігали порушення координації, потім пониження рухової активності та часткового паралічу, і, врешті-решт, фаза повної втрати рухової активності та настання смерті. У кожній з концентрацій токсиканту відмічаються не всі п'ять фаз інтоксикації. За тривалої експозиції проявляється дія низьких концентрацій речовини. Зазвичай важко простежується межа переходу за високих концентрацій фенолу у воді (500-1000 мг/дм³) між першими трьома фазами, що пов'язано з досить малою тривалістю цих фаз у *Unio conus* [4].

Дослідили особливості дихання перлівниці борисфенової у середовищі, яке містило різні концентрації фенолу. Оскільки дихання є одним із тих складних процесів, які забезпечують нормальну життєдіяльність організму, отримані дані необхідні для встановлення повної картини перебігу фізіологічних аспектів патологічного процесу у *Unio conus*.

Інтенсивність використання кисню при збільшенні концентрації фенолу у воді, як було встановлено у експерименті, спочатку досить різко зростає і складає в середньому 0,17-0,47 мг O₂/дм³ (Додаток 1). Проте, таке збільшення показників інтенсивності споживання кисню на одиницю маси тіла перлівниць при зростанні концентрацій фенолу йшло до певних меж. Зі збільшенням після 200 мг/дм³ концентрації фенолу у воді мало місце поступове зменшення споживання кисню тваринами і пригнічення процесів дихання. При концентрації 1000 мг/дм³ спостерігали пригнічення всіх життєвих функцій через сильну інтоксикацію організму молюсків.

Споживання кисню тут знижується до $0,06 \text{ мг O}_2/\text{дм}^3$. Таким чином, у затруєному середовищі насамперед мобілізуються захисні сили організму молюсків, а це викликає стимуляцію їх дихальної активності. На далі збільшення концентрації полютанту призводить до того, що організм уже не може протистояти токсичному впливу і має місце пригнічення процесу дихання тварин. Зі збільшенням тривалості перебування молюсків у розчинах з фенолом, вони гинуть і, чим вищою є концентрація токсиканту, тим швидше.

Встановлено, що можливість пристосовуватися до дії ушкоджуючих чинників (у даному випадку фенолу) у самиць *U. conus* є вищими, аніж у самців, через те, що у останніх у фазі стимуляції показники інтенсивності споживання кисню були дещо вищими. Очевидно, самиці виявляють більшу пристосувальну здатність щодо дії на них фенолу у порівнянні з самцями.

Досліджуючи вплив інтоксикації фенолом на інтенсивність споживання кисню на одиницю тотальної ваги тіла і на одиницю м'яких частин тіла перлівниці борисфенової (в $\text{мг O}_2 / \text{дм}^3$) виявили, що значення означених показників зростає (у 9-10 разів порівняно з контролем) при концентрації 100 мг/дм^3 токсиканту, а потім плавно зменшується і досягає значень близьких до контрольних при концентрації 1000 мг/дм^3 (Додаток 2, 3). Зазначена тенденція свідчить про те, що у затруєному середовищі тканини і органи перлівниць вимагають більше кисню, ніж у молюсків, котрі знаходилися в чистій воді.

Таким чином, можна стверджувати, що фізіологічними процесами, скерованими на компенсацію патологічних впливів токсиканту на організм за фенольної інтоксикації є збільшення показників забезпеченості киснем одиниці тотальної ваги тіла та одиниці м'яких частин тіла молюсків. Концентрацію фенолу 100 мг/дм^3 можна вважати відповідною другій фазі розвитку патологічного процесу отруєння, а саме, фазі стимуляції, яка забезпечує зростання постачання кисню в організм гідробіонтів, котрі, через підвищення рівня загального обміну речовин, потребують його у великих

кількостях.

Вочевидь, що збільшення кількості мг $O_2/дм^3$ на одиницю тотальної ваги та ваги м'яких частин тіла перлівниці борисфенової за умови фенольної інтоксикації викликає зростання кількості асимільованого кисню і являється наслідком патологічних змін в організмі молюсків. Таким чином організм протидіє зовнішнім негативним впливам.

Отже, виявлено, що фенол при низьких концентраціях у воді на початку впливу призводить до збільшення споживання кисню перлівницями, (захисне пристосування організму до впливу ушкоджуючого агенту), а потім, з подальшим збільшенням концентрації фенолу у воді, дихання пригнічується і інтенсивність споживання кисню тваринами різко знижується. Фазу стимуляції можна розглядати як період відносного благополуччя, що пояснюється тимчасовим пристосуванням перлівниць до дії отрути. Пізніше ця фаза змінюється послабленням витривалості до впливу токсичного агента, а це може призвести до загибелі тварин [6].

ВИСНОВКИ

Перлівниці довгодзьоба та борисфенова є звичайними компонентами континентальних водойм Житомирського Полісся. Вивчення впливу фенольної інтоксикації на організм цих двостулкових молюсків дає можливість визначити умови, які можуть викликати загибель цих тварин.

Проведене дослідження дає змогу зробити наступні висновки:

1. Гідрохінон (як один із видів фенолів) у низьких концентраціях (0,1; 0,01; 0,001 мг/дм³) проявляє досить сильну токсичність.

2. Тривалість рухової активності війок переживаючих клітин миготливого епітелію зябер перлівниці борисфенової *in vitro* у 4 рази перевищує тривалість цього ж процесу у перлівниці довгодзьобої.

3. Статеві відмінності щодо функціонування переживаючих клітин зябрового миготливого епітелію у токсичному середовищі відмічаються у перлівниці борисфенової (у самиць функціонує в 2,3 рази довше) і відсутні у перлівниці довгодзьобої.

4. За наявності зябрової «вагітності» пригнічення локомоції війок настає у 2,3 рази швидше для перлівниці борисфенової і в 1,4 рази – для перлівниці довгодзьобої.

5. Виявлено статистично достовірні відмінності у тривалості биття війок епітелію зябер для різних вікових груп перлівниці борисфенової. Так, у чотирирічних самиць цей показник у 1,5 рази вищий, ніж у п'ятирічних. Проте, відмінностей такого роду не знайдено у перлівниці довгодзьобої.

6. При інвазії партенітами трематоди *Viscerhalus polymorphus* функціональні можливості війок зябрового епітелію у самиць і самців обох видів зростають в 1,37–1,92 рази у порівнянні з неінвазованими особинами.

7. За умови фенольної інтоксикації інтенсивність споживання O₂ піддослідними молюсками зі збільшенням концентрації токсиканту у воді спочатку різко зростає (0,17-0,47 мг O₂/дм³), а після концентрації 200 мг/дм³ відбувається плавне зниження споживання кисню і пригнічення дихання.

Високі концентрації фенолу у воді (1000 мг/дм^3) пригнічують всі життєві функції молюсків і споживання кисню падає аж до значень $0,05 \text{ мг O}_2/\text{дм}^3$.

8. Дослідження впливу інтоксикації фенолом на інтенсивність споживання кисню на одиницю тотальної ваги тіла і на одиницю м'яких частин тіла перлівниці борисфенової (в $\text{мг O}_2/\text{дм}^3$) виявило, що значення означених показників зростає (у 9-10 разів порівняно з контрольною групою) за концентрації 100 мг/дм^3 токсиканту, а потім поступово зменшується і досягає значень близьких до контрольних за концентрації 1000 мг/дм^3 . Зазначена тенденція свідчить про те, що у затруєному середовищі тканини і органи перлівниць вимагають більше кисню, ніж у молюсків, котрі знаходилися в чистій воді.

Досліджувані нами двостулкові молюски є досить чутливими до дії токсикантів (зокрема, фенолу та гідрохінону) і можуть бути використані у системі біомоніторингу як тест-об'єкти.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Алексеев В. А.* Основные принципы сравнительно-токсикологического эксперимента / В. А. Алексеев // Гидробиол. журн. – 1981. – Т.17, № 3. – С. 92–100.
2. *Алексеев В. А.* Изменение двигательной активности у некоторых водных насекомых и паукообразных при фенольной интоксикации / В. А. Алексеев. / Информ. бюл. ИБВВ АН СССР, 19736, № 20. – С. 34–38.
3. *Алексеев В. А.* Токсикологическая характеристика и симптомокомплекс острой фенольной интоксикации водных насекомых и паукообразных; [в кн.: Влияние фенола на гидробионтов (труды Ин-та биологии внутренних вод (ИБВВ) АН СССР] / В. А. Алексеев. – М., 1973; Вып. 24 (27). – С. 52.
4. *Алексеев В. А.* Токсикологическая характеристика и симптомокомплекс острой фенольной интоксикации в некоторых пресноводных ракообразных и моллюсков / В. А. Алексеев, Б. Н. Антипин. // Гидробиол. журн. – 2006. – Т. 12, № 2. – С. 42–44.
5. *Брагинский Л. П. Биргер Т. И.* Метаболизм водных беспозвоночных в токсической среде / Т. И. Биргер. – К.: Наук. думка, 2009. – 190 с.
6. *Веселов Е. А.* Основные фазы действия токсических веществ на организмы / Е. А. Веселов // Тез. докл. Всесоюз. научн. конф. по вопрос. водн. токсикол. – М.: Наука, 1968. – С. 15-16.
7. *Вишневський В. І.* Річки і водойми України. Стан і використання / В. І. Вишневський. – К.: Віпол, 2000. – 376 с.
8. *Гідроекологічна токсикометрія та біоіндикація забруднень* / [за ред. І. Т. Олексіва, Л. П. Брагінського]. – Львів.: Світ, 2005. – 440 с.
9. *Гідрохімія та радіогеохімія річок і боліт Житомирської області* / С. І. Сніжка, О. О. Орлов, Д. В. Закревський / [ред. С. І. Сніжка, О. О. Орлова]. – Житомир: Волинь, 2002. – 264 с.
10. *Виноградов Г. А.* Исследование действия хлорофоса на водно-солевой обмен пресноводных брюхоногих моллюсков / Г. А. Виноградов, Г. А.

Гдовский // Информ. бюл. Ин-та биол. внутр. водоемов АН СССР. – 1976. – № 32. – С. 50-53.

11. *Крайнюкова А. М.* Біотестування морської води та стічної, яка відводиться в море: Методика. Офіційне видання / [Крайнюкова А. М., Уль'янова У. П., Дятлов С. Е., Шадріна Л. А.]. – К., 2005. – 37 с.

12. *Лакин Г. Ф.* Биометрия / Г. Ф. Лакин. – М.: Высшая школа, 1974. – 348 с.

13. *Маляревская А. Я.* Влияние азотнокислого свинца на физиолого-биохимические показатели некоторых водных беспозвоночных / А. Я. Маляревская, Ф. М. Карасина // Гидробиол. журн. – 2007. – Т. 23, № 1, – С. 79-84.

14. *Мережко А. И.* Биотестирование токсичности водной среды по функциональным характеристикам макрофитов / А. И. Мережко, Е. А. Пасичная, А. П. Пасичный // Гидробиол. журн. – 2006. – Т. 32, № 1. – С. 87-94.

15. *Методика* екологічної оцінки якості поверхневих вод за відповідними категоріями. / [В. Д. Романенко, В. М. Жукинський О. П. Оксіюк]. – К.: СИМВОЛ, 2008. – 28 с.

16. *Оксиюк О. П.* Комплексная экологическая классификация качества поверхностных вод суши / [Оксиюк О. П., Жукинский В. Н., Брагинский Л. П. и др.] // Гидробиол. журн. – 2003. – Т. 29, № 4. – С. 62-76.

17. *Патин С. А.* Эколого-токсикологические аспекты изучения и контроля качества водной среды / С. А. Патин // Гидробиол. журн. – 2001. – Т.27. – № 3. – С.75-77.

18. *Смирнова Н. Н.* Цитофизиологический метод экспресс-оценки токсичности природных вод / Н. Н. Смирнова, Л. А. Сиренко // Гидробиол. журн. – 2003. – Т. 29, № 4. – С. 95-101.

19. *Стадниченко А. П.* Влияние фенольной интоксикации на быстрые поведенческие и физиологические реакции пресноводных моллюсков /

[Стадниченко А. П., Стадниченко Ю. А., Алексейчук А. П., Волошенко А. В.]
// Биол. науки. – 1986. – № 7. – С. 76-79.

20. *Стадниченко А. П.* Фауна Украины / А. П. Стадниченко. – К.: Наук. думка, 2000. – Т. 29, вып. 4. – 290 с.

21. *Стадниченко А. П.* Влияние физиологического статуса на двигательную активность ресничек переживающих клеток мерцательного эпителия жаберного аппарата беззубки / А. П. Стадниченко, А. Г. Мельник // Деп. в Укр. НИИНТИ 23.01.92. № 92. – Ук. 92. – 8 с.

22. *Стадниченко А. П.* О работе мерцательного эпителия жаберного аппарата перловицевых / А. П. Стадниченко, И. С. Степанова, Е. С. Сущенко // Деп. в Укр. НИИНТИ 11.03.90. № 422. – Ук. 90. – 12 с.

23. *Старобогатов Я. И.* Класс брюхоногие моллюски (*Gastropoda*) // Определитель пресноводных беспозвоночных Европейской части СССР (планктон и бентос) / Я. И. Старобогатов. – Л.: Гидрометеиздат, 1977. – С. 152-174.

24. *Флеров Б. А.* Об использовании в водной токсикологии исследований поведения животных / Б. А. Флеров // Гидробиол. журн. – 2004. – Т. 10, № 5. – С. 114-120.

25. *Флеров Б. А.* Эколого-физиологические аспекты токсикологии пресноводных животных / Б. А. Флеров. – Л.: Наука, 1989. – 140 с.

26. *Щербань Э. П.* Сравнительная оценка эффективности биотестирования на различных видах *Cladocera* / Э. П. Щербань // Гидробиол. журн. – 2002. – Т. 28, № 4. – С. 76-81.

27. *Янович Л. Н.* Влияние гидрохинона на содержание мочевины в органах мантийного комплекса перловицы борисфеновой *Unio Conus* (Molluska: Bivalvia: Unionidae) / Л. Н. Янович, А. П. Стадниченко // Гидробиологический журнал. – 2007. – Т. 43, N 6. – С. 87–92.