

УДК 574.64:594.38

## **ВИКОРИСТАННЯ ФІЗІОЛОГІЧНИХ РЕАКЦІЙ СТАВКОВИКА ОЗЕРНОГО (MOLLUSCA, PULMONATA) НА ВПЛИВ ІОНІВ ВАЖКИХ МЕТАЛПІВ ВОДНОГО СЕРЕДОВИЩА У СИСТЕМІ БІОМОНІТОРИНГУ ЗАБРУДНЕННЯ ПОВЕРХНЕВИХ ВОД**

**Пінкіна Т.В.**

Державний агроекологічний університет, м. Житомир

*Фізіологічні реакції ставковика озерного залежать від ступеню токсичності середовища. Встановлено, що задовго до настання незворотніх патологічних зсувів і загибелі тварин у токсичному середовищі, спостерігаються зміни у їхній поведінці, як відповідь на інтоксикацію, а якщо цього недостатньо – відбуваються пристосування фізіологічного характеру.*

### **Постановка проблеми**

Основною особливістю сучасного етапу розвитку біосфери є поступальне наростання ролі антропогенного фактору у формуванні міграції хімічних елементів. Складаючи мізерну частку біомаси планети, людство своєю діяльністю різко змінює спектр елементів та їх кількість у природі [4, 10, 15]. Гідросфера, включаючи прісні води, та її мешканці є найуразливішими та дефіцитними компонентами природного середовища, а тому потребують першочергового захисту та відновлення до нормального стану. Особливо гостро стоять ці проблеми у

європейських країнах, у тому числі в Україні [11]. Антропогенний тиск на водні екосистеми призводить до значного їх забруднення токсикантами різної хімічної природи. Особливе місце у цих процесах займають важкі метали [7, 8], зокрема, Cu, Zn, Co, Mn, Ni, Cd. Більшість з них входить до виділеного Агенцією з охорони навколишнього середовища США, переліку пріоритетних металів при організації моніторингу та оцінці їхнього шкідливого впливу на водні екосистеми. Гідробіоти реагують на забруднення середовища різноманітними функціональними зрушеннями, які виразно прослідковуються при подовженні тривалості впливу токсичної речовини на організм. Останнім часом тільки гострі короткотривалі досліди не можуть задовольнити дослідників, тому що токсиканти (зокрема, іони важких металів) здатні накопичуватися в організмах гідробіотів, спричинюючи в них суттєві зрушення. Тому, з точки зору довготривалої перспективи, дослідження впливу токсичних речовин на гідробіотів, вимагають постановки хронічних експериментів, у яких, незалежно від загального напрямку досліджень, насамперед слід звертати увагу на фізіологічні характеристики гідробіотів [6, 14]. Порівняльне вивчення різних функціональних систем організму дозволяє визначити найбільш слабе місце у комплексі порушень і дає можливість обґрунтовано говорити про токсичний ефект і порогову концентрацію поллютанта.

*Завдання дослідження* – виявити найбільш чутливі фізіологічні реакції ставковика озерного на різні рівні інтоксикації іонами важких металів.

*Об'єкт дослідження.* Як об'єкт дослідження обрано ставковика озерного – *Lymnaea stagnalis* (Linné, 1758) – одного з найзвичайніших представників прісноводної малакофауни України. У дослідях використано 1216 особин однорозмірних ставковиків (середня висота черепашки –  $39,7 \pm 2,2$  мм), зібраних у ріпалі р. Тетерів (правий доплив Середнього Дніпра) в околицях Житомира (Центральне Полісся) у період з 2000 по 2004 рр. Токсикологічні досліди виконано за методикою В. А. Алексєєва [1]. Як токсиканти використано іони важких металів –  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ . Усі застосовані у дослідях розчини готували на дехлорованій відстоююваням (протягом доби) воді з житомирської водогінної мережі.

*Умови експерименту:* температура води –  $19-23^{\circ}\text{C}$ , рН –  $6,2-7,1$ , вміст кисню –  $8,6-8,9$  мг/дм<sup>3</sup>, вільної вуглекислоти –  $0,33$  мг/дм<sup>3</sup>, фтору –  $0,1$  мг/дм<sup>3</sup>, хлоридів –  $22,275$  мг/дм<sup>3</sup>, каламутність –  $0,7$  мг/дм<sup>3</sup>, твердість –  $2,9$  мг-екв./дм<sup>3</sup>. Фоновий вміст досліджуваних металів у воді контрольних водойм становить: міді –  $0,002$  мг/дм<sup>3</sup>, цинку –  $0,003$  мг/дм<sup>3</sup>, кобальту –  $0,0006$  мг/дм<sup>3</sup>, марганцю –  $0,16$  мг/дм<sup>3</sup>, нікелю –  $0,002$  мг/дм<sup>3</sup>, кадмію – менше  $0,0001$  мг/дм<sup>3</sup>. Концентрацію іонів металів створювали додаванням у воду (розрахованих за катіоном) кількостей  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{ZnCl}_2$ ,  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NiCl}_2$ ,  $\text{CdCl}_2 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$ .

Тривалість досліду – 70 діб. З метою усунення впливу екзометаболітів на молюсків та підтримання на постійному рівні певної концентрації токсикантів у воді акваріумів раз у два дні проводили її заміну з додаванням заданої кількості іонів металів.

Основному досліду передував дослід орієнтаційний, яким встановлено значення основних токсикологічних показників досліджуваних токсикантів для ставковика озерного.

У лабораторії для здійснення тривалих спостережень молюсків по 5 особин уміщали у скляні 3-літрові ємності. Ставковикам як корм давали листя кульбаби. Цифрові результати дослідів опрацьовано методами варіаційної статистики за Г. Ф. Лакінім [9].

### **Результати досліджень**

Орієнтовними дослідями встановлено зони токсичного впливу досліджуваних поллютантів з використанням рибогосподарсько-токсикологічного підходу, при якому виділяють летальні (гострі та хронічні), сублетальні, стимулюючі та недіючі концентрації. Для усіх шести іонів важких металів встановлено діапазони концентрацій, за яких або знижувались основні функції організму і молюски гинули протягом декількох діб (гостролетальні концентрації), або надто пригнічувались основні їх функції і протягом перших місяців впливу гинули дорослі особини та молодь (хронічні летальні концентрації). У певному діапазоні концентрацій (витримувані концентрації) молюски жили протягом усього досліду і у них спостерігалась деяка стимуляція функцій, що було помітно за активізацією харчової та статевої поведінки. І, нарешті, за деяких концентрацій токсиканту (підпорогові концентрації) поведінка молюсків не відрізнялася від такої у контролі. В основних дослідях використовувалось по 4 концентрації іонів металів – по одній із кожного діапазону концентрацій (таблиця).

Дослідженнями встановлено, що процес отруєння ставковика іонами важких металів носить фазовий характер. 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.

Загальновідомо [12], що адаптація до зміни умов навколишнього середовища на рівні організмів відбувається поетапно (в залежності від ступеню порушень, що в них відбуваються). І, якщо швидкі поведінкові пристосування виявляються недостатніми, відбуваються пристосування фізіологічного характеру. Через це фізіологічні показники широко використовуються у дослідженнях з водної токсикології [2]. Проте лише в окремих випадках здійснюються спроби знайти кореляцію між змінами цих показників і такими найважливішими біологічними показниками як виживання, розмноження, розвиток на рівні окремої особини, не говорячи вже про аналіз цих показників на рівні популяцій та виду в цілому [5].

Таблиця. Діапазони концентрацій іонів важких металів (мг/дм<sup>3</sup>) за характером їхнього впливу на ставковика озерного

Іон	Концентрації			
	гостролетальні	хронічні летальні	витримувані	підпорогові
Cu <sup>2+</sup>	4 – 0,4	$4 \cdot 10^{-2} - 4 \cdot 10^{-3}$	$4 \cdot 10^{-4} - 4 \cdot 10^{-7}$	$4 \cdot 10^{-8}$ і нижче
Cd <sup>2+</sup>	5 – 0,5	$5 \cdot 10^{-2} - 5 \cdot 10^{-3}$	$5 \cdot 10^{-4} - 5 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-6}$ і нижче
Ni <sup>2+</sup>	15 – 5	0,5 – 0,05	$5 \cdot 10^{-3} - 5 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-6}$ і нижче
Zn <sup>2+</sup>	25 – 3	2 – 0,5	$5 \cdot 10^{-2} - 5 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-5}$ і нижче
Co <sup>2+</sup>	25 – 5	4 – 1	0,2 – 0,02	0,03 і нижче
Mn <sup>2+</sup>	195 – 100	95 – 35	20 – 0,3	0,03 і нижче

Серед найперших фізіологічних реакцій у молюсків, підданих дії токсикантів, варто відзначити ослизнення тіла через посилення секреторної діяльності залозистих клітин, що локалізовані у покривах їхнього тіла. Слиз товстим шаром покриває тіло тварин, являючи собою певну перепону для дифузії токсиканту із навколишнього середовища в організм. Це швидка захисна фізіологічна реакція. Сильне ослизнення тіла реєстрували у переважній більшості ставковиків протягом перших двох годин експозиції у токсичних середовищах. У подальшому шар слизу, як правило, не потовщувався, а в окремих випадках навіть потоншувався внаслідок коагуляції слизу та відшарування його від тіла у вигляді пластівців.

Слабкий та помірного ступеню набряк також можна розглядати як одну із швидких захисних фізіологічних реакцій. Відомо [3], що обводнення тканин до певного рівня (коли вміст води в організмі молюсків досягає 85-86% від їх загальної маси) є захисно-приспосувальною реакцією, скерованою на виживання їх у несприятливих умовах середовища. Зрушення водного балансу у межах до 10% є сумісними з життям. Помірне накопичення води має значення для детоксикації, оскільки відбувається “розведення” нею тих токсичних речовин, які потрапили до організму молюсків. Відмічено, що зі збільшенням маси тіла зменшується кількість токсичних речовин, які припадають на кожен одиницю маси їхнього тіла (тобто зменшується їх доза). Обводнення тканин може сприяти посиленому надходженню кисню у клітини та інтенсифікації дихання. Проте, ця захисна реакція є відносною. Відомо [6], що накопичення надлишкової кількості води у тілі молюсків, яких тривалий час утримували у розчинах з концентраціями токсикантів із діапазону витримуваних, обумовлене порушенням роботи видільної системи і зменшенням осмотичної концентрації видільних секретів. Ці патологічні зміни призводять до прогресуючого збільшення їх маси (у середньому на 16-25%) та до розвитку набряку тіла, об’єм якого збільшується у 1,5-2 рази. Затримка та накопичення великої кількості води у тілі молюсків призводить до стискання клітинних елементів різних ділянок їх тіла, що набрякають, до порушення тканинного обміну і, як результат, – до дистрофічних та некротичних змін клітин, їх загибелі і зниження функцій набряклого органу. Інтенсивний позитивний водний баланс свідчить про порушення у тварин водного обміну, що обумовлене збільшенням концентрації двоокису вуглецю в крові [13].

У токсичному середовищі за гостролетальних концентрацій спостерігається зростання негативного водного балансу. Зневоднення молюсків є для них небезпечним через розладнання захисно-приспосувальних механізмів.

При підвищених концентраціях іонів важких металів (хронічні летальні та витримувані концентрації) порушується імунний захист організму, діяльність ендокринної та центральної

нервової системи, спостерігаються чисельні відхилення у обміні речовин, розвивається гіпоксія тканин та низка інших аномалій.

Відмінною фізіологічною особливістю гідробіонтів (зокрема, досліджуваних молюсків) є існування двох шляхів надходження неорганічних іонів у їх організм. Один з них обумовлений абсорбцією іонів безпосередньо із води через слизові покриви тіла, а інший – пероральний, пов'язаний із проходженням речовин, що всмокталися у кишечнику, до гепатопанкреасу. У ході досліджень зроблено висновок, що процес живлення рослиноїдних молюсків характеризується інтенсивністю, регулярністю і трудомісткістю. У ході процесу живлення з субстрату зішкрябується велика маса обростань, а засвоюється із неї як їжа лише частина. Оскільки рослини є концентраторами іонів важких металів, то по харчових ланцюгах стає можливою передача важких металів від продуцентів подальшим його ланкам, у тому числі і молюскам-фітофагам.

Нами особливої уваги надано особливостям живлення тварин у токсичному середовищі, оскільки показником чутливості їх до дії токсикантів може бути і харчова поведінка (інтенсифікація або пригнічення споживання корму). За високих концентрацій токсикантів завжди спостерігається пригнічення живлення. У сублетальних концентраціях у перші два тижні молюски, як правило, споживають менше корму, ніж у нормі, а згодом – більше, ніж у нормі. Причиною цього є необхідність протистояти патологічним змінам, що відбуваються у організмі тварин за дії токсикантів.

З'ясовано зв'язок між живленням та репродуктивною функцією молюсків. Голодування призводить до прогресивного зменшення кількості яєць, хоча маса яєць при цьому не зменшується. Дванадцять діб голодування зазвичай цілком зупиняють розмноження. За голодування зникають деякі стадії сперматогенезу та оогенезу. Як тільки годування тварин відновлюється – кількість яєць збільшується. Чим коротшими є періоди голодування, тим швидше молюски починають розмноження, і навпаки.

Реакції молюсків, які знаходились у розчинах з підпороговими концентраціями токсикантів, не відрізнялися протягом експерименту від таких у контрольної групи організмів, утримуваних у чистій воді. Проте, у кінці досліду навіть у цієї групи тварин спостерігалось деяке пригнічення фізіологічних відправлень, що можна пояснити накопиченням іонів важких металів у організмі молюсків. Адже іони металів не розкладаються з часом і зберігають свою токсичність в організмах. Тому навіть невисокі концентрації токсиканту, які спочатку виділяються як недіючі, з часом можуть перейти у діапазон витримуваних.

### Висновки

Вивчаючи екологію будь-якого гідробіонту варто звертати увагу на стан середовища у якому він мешкає, оскільки від нього у великій мірі залежить ступінь процвітання того чи іншого біологічного виду. Одним із перших етапів екоотоксикологічних досліджень, які можна провадити у різних напрямках, повинно бути спостереження за фізіологічними характеристиками гідробіонтів. Ці реакції є найпершими ознаками порушення процесів життєдіяльності у тварин, які знаходяться у забрудненому середовищі. Для спостереження за рівнем токсичності середовища нами запропоновано наступні фізіологічні характеристики ставковика озерного: ступінь ослизнення їх тіла, порушення водного балансу (в позитивний або негативний бік), реагування з боку травної системи (зміни основних трофологічних показників), зв'язок між живленням та репродуктивною функцією молюсків. За змінами захисно-приспосувальних фізіологічних реакцій тварин можна також судити про характер дії токсичних речовин. У зв'язку з цим перспективною може стати оцінка якості середовища за станом самих біологічних систем.

**Перспективи подальших досліджень** слід зосередити на з'ясуванні змін, які відбуваються у здійсненні репродуктивної функції молюсків.

### Література

1. Алексеев В.А. Основные принципы сравнительно-токсикологического эксперимента // Гидробиол. журн. – 1981. – 17. – № 3. – С. 92-100.
2. Бузинова Н.С., Данильченко О.П. Реагирование моллюсков *Lymnaea stagnalis* на загрязнение. Физиолого-биохимические изменения // Научн. докл. высш. шк. Биол. н., 1984. - № 1. – С. 55-61.
3. Вискушенко Д.А., Бенедик С.В., Поповичук О.І. Вплив азотнокислого свинцю на водний баланс ставковика озерного (Mollusca: Pulmonata: Lymnaeidae) // Вісн. Житомир. педагог. ун.-ту. – 1999. – Вип. 4. – С. 87-88.