

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ПОЛІСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

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

Кваліфікаційна робота
на правах рукопису

Никитенко Михайло Сергійович

УДК 615.9:38:591.5

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
МОНІТОРИНГ ФІЗІОЛОГІЧНИХ ВІДПРАВЛЕНЬ МОЛЮСКІВ ЗА ДІЇ
ІОНІВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

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

Никитенко М.С. «Моніторинг фізіологічних відправлень молюсків за дії іонів важких металів» – Кваліфікаційна робота на правах рукопису.

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

Робота присвячена дослідженню впливу іонів важких металів на фізіологічні характеристики *Lymnaea stagnalis*. Встановлено вплив різних концентрацій сульфату міді та хлориду цинку водного середовища на особливості трофіки, серцеву діяльність та дихання ставковика озерного. Виявлено, що депресія живлення настає у ставковика вже при концентрації 0,2 мг/дм³ міді, а дихання лише при 1 мг/дм³ поллютанту. При концентрації 0,2 мг/дм³ сульфату міді у воді величина коефіцієнту засвоєння їжі збільшується в порівнянні з контролем на 17,65%. За дії на ставковика озерного хлориду цинка у воді (2–18 мг/дм³) молюски відповідно до зростання концентрації токсиканту реагують на його дію прогресуючою тахікардією і у них спостерігається зниження значень трофологічних показників. Виявлено, що за концентрацій 0,2 мг/дм³ сульфату міді та за концентрації 2 мг/дм³ хлориду цинка у водному середовищі всі досліджувані нами показники дихання молюсків свідчать про те, що ставковик озерний перебуває, за цих концентрацій, на другій фазі розвитку патологічного процесу, викликаного дією токсикантів, – фазі стимуляції. За концентрацій 1 та 1,8 мг/дм³ CuCl₂ водного середовища та 18 мг/дм³ ZnCl₂ водного середовища у тварин має місце депресивна фаза отруєння. За концентрації 10 мг/дм³ хлориду цинку у середовищі існування молюсків, незважаючи на зростання тривалості акту «вдиху», дихальний процес загалом пригнічується.

Ключові слова: Ставковик озерний, важкі метали, інтоксикація, серцева діяльність, трофіка, дихання, біоіндикація.

ANNOTATION

Nikitenko M.S. Monitoring of the mollusk's physiological reactions under the influence of heavy metals ions. it is 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.

The thesis is dedicated to the investigation of the effects of heavy metal ions on physiological characteristics of *Lymnaea stagnalis*. The influence of different concentrations of copper sulphate and zinc chloride in the aquatic environment on the peculiarities of trophic, cardiac activity and respiration of the lake pond was established. It has been established, that depression of a feed of *Lymnaea stagnalis* comes already at 0,2 mg/dm³ of copper, and depression of breath only at 1 mg/dm³ of toxicant. At concentration of 0,2 mg/dm³ of sulfate of copper in water the size of factor of assimilation of food increases in comparison with the control over 17,65%. The influence of zinc chloride in concentration 2–18 mg / dm³ on great pond snail causes progressive tachycardia of molluscs in accordance with the increase in the concentration of the toxicant, and they have a decrease in the values of trophological parameters. It was found that in copper sulfate concentrations of 0.2 mg / dm³ and zinc chloride concentration of 2 mg / dm³ in the aqueous environment all studied characteristics of mollusk respiration indicate the second phase of the pathological process - the phase of stimulation. At concentrations of 1 and 1.8 mg / dm³ of CuCl² and 18 mg / dm³ of ZnCl₂ aqueous environment, animals have a depressive phase of poisoning. Despite the increase in the duration of the mollusk's act of "inhalation" at a concentration of 10 mg/dm³ of zinc chloride in water, the respiratory process is generally suppressed.

Key words: *Lymnaea stagnalis*, heavy metals, intoxication, digestion, breath, nutrition, cardiac activity, bioindication.

ЗМІСТ

ВСТУП.....	5
Розділ 1. ВПЛИВ НА МОЛЮСКІВ ІОНІВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ (ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД).....	8
1.1. Поведінкові та фізіологічні реакції молюсків за дії токсикантів.....	9
1.2. Вплив іонів важких металів на системи органів молюсків.....	10
1.3. Вплив іонів важких металів на перебіг фізіологічних відправлень молюсків.....	11
1.3.1. Легеневе та шкірне дихання.....	11
1.3.2. Живлення.....	12
1.3.3. Ритм серцевих скорочень.....	13
Розділ 2. МАТЕРІАЛ І МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕНЬ.....	15
2.1. Програма проведення досліджень.....	15
2.2. Матеріал і методика досліджень.....	15
2.3. Характеристика умов проведення досліджень.....	19
Розділ 3. ФІЗІОЛОГІЧНІ ВІДПРАВЛЕННЯ СТАВКОВИКА ОЗЕРНОГО ЗА ДІЇ ІОНІВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ.....	21
3.1. Вплив сульфату міді та хлориду цинка водного середовища на серцеву діяльність <i>L.stagnalis</i>	21
3.2. Особливості трофіки <i>L.stagnalis</i> за дії сульфату міді та хлориду цинка водного середовища.....	24
3.3. Дихання <i>L.stagnalis</i> за дії сульфату міді та хлориду цинка водного середовища.....	32
ВИСНОВКИ.....	41
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	43
ДОДАТКИ. Додаток А. Вплив іонів важких металів на серцеву діяльність	46

ВСТУП

Актуальність теми. Наразі значного поширення у континентальних водоймах України набули легеневі молюски, які мають досить важливе значення у процесах кругообігу речовин і енергії в природних і штучних біоценозах та входять до раціонів живлення значної кількості видів болотяних і водоплавних птахів та бентичних риб. Життєдіяльність легневих молюсків залежить від рівня забруднення водного середовища, зокрема, іонами важких металів.

Актуальність проведеного нами дослідження, таким чином, зумовлена: прогресуючим збільшенням валового вмісту важких металів у водоймах; недостатнім рівнем вивчення впливу цих полютантів на бентичні організми, а це значно утруднює створення єдиної екологічної системи ГДК; масовим поширенням обраного для дослідження об'єкту (ставковика озерного) у більшості континентальних водойм України. Останнє дозволить, у певній мірі, здійснювати прогноз вірогідних змін бентичних гідробіоценозів під впливом токсикантів, а потім екстраполювати отримані нами результати на схожі за способом існування види молюсків.

Мета і завдання дослідження. Метою роботи було встановити закономірності і певні особливості впливу іонів важких металів водного середовища (міді, цинку) на морфо-функціональні показники червоного легеневого молюска ставковика озерного (*Lymnaea stagnalis*).

Для досягнення означеної мети потрібно було вирішити наступні задачі:

– визначити ступінь впливу іонів міді та цинку водного середовища у різних концентраціях на фізіологічні процеси в організмі ставковика (трофіку, легеневе та шкіряне дихання, ритм серцевих скорочень, водно-мінеральний обмін);

– з'ясувати особливості етологічних реакцій ставковика озерного у середовищі з іонами важких металів.

Об'єкт дослідження – легеневий молюск – ставковик *Lymnaea stagnalis*, зібраний у прибережній смузі р. Тетерів (околиці м. Житомира).

Предмет дослідження – вплив іонів важких металів на етологічні реакції та фізіологічні процеси (трофіку, дихання, водний баланс, ритм серцевих скорочень) ставковика озерного.

Методи дослідження – загальноприйняті гідробіологічні, токсикологічні, фізіологічні та паразитологічні методи. Статистичні методи застосовані для обробки результатів вимірювань методами базової (з елементами багатовимірної) варіаційної статистики (оцінка середніх значень, достовірності, дисперсії, апроксимація отриманих результатів).

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

- досліджено вегетацію ставковика озерного за впливу на нього іонів важких металів (мідь, цинк);
- показано вплив різних концентрацій іонів важких металів на серцеву діяльність, особливості трофіки та дихання ставковика озерного.

Практичне значення одержаних результатів. Отримані у роботі результати можуть бути використані для більш точного встановлення ГДК іонів важких металів у водоймах. Ставковик озерний може бути застосований як біоіндикатор рівня забруднення водойм іонами важких металів. Важливим результатом наших досліджень є можливість їх застосування у сільському господарстві (птахівництво, тваринництво, рибництво), оскільки ставковик є проміжним хазяїном трематод, котрі викликають небезпечні гельмінтози тварин. Життєдіяльність ставковика, залежить, певною мірою, також від антропогенних чинників, зокрема, від забруднення водного середовища важкими металами.

Особистий внесок здобувача. Автор опанував методи вирішення основних завдань магістерської роботи і розробив стратегію наукового

експерименту; підібрав та опрацював бібліографічні джерела; зібрав матеріал для досліджень; виконав постановку токсикологічних дослідів; провів аналіз отриманих результатів, їх узагальнення та формулювання висновків.

Публікації за темою роботи:

1. Никитенко М.С. Вплив на молюсків іонів важких металів. 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. 19-21.

2. Пінкіна Т.В., Никитенко М.С. Вплив іонів важких металів на системи органів ставковика озерного. Наукові читання-2021: науково-теоретичний збірник. Науково-інноваційний інститут екології та лісу. Житомир, 2021. С. 29-31.

3. Пінкіна Т.В., Никитенко М.С. Поведінкові та фізіологічні реакції молюсків за дії токсикантів. IV Всеукр. наук.-практ. конф. «Водні та наземні екосистеми та збереження їх біорізноманіття - 2021»: зб. наук праць. С. 22-25.

4. Никитенко М.С. Методи масового культивування личинок хірономід 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.51-52.

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

ВПЛИВ НА МОЛЮСКІВ ІОНІВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ (ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД)

З кожним роком антропогенне забруднення гідросфери неухильно зростає [3, 13, 17] і супроводжується, зокрема, підвищенням вмісту у природних водоймах іонів важких металів. Гранично допустимі концентрації (ГДК) іонів міді та цинку у водах санітарно-гігієнічного призначення, за діючими зараз нормами, становлять 1 мг/дм^3 [15], а рибогосподарські ГДК складають $0,001$ та $0,01 \text{ мг/дм}^3$ відповідно. Токсична дія іонів міді для риб проявляється за вмісті їх у середовищі у кількостях $0,02\text{-}0,04 \text{ мг/дм}^3$ [7]. Порогова ж концентрація цих важких металів для риб та інших гідробіонтів становить всього лиш $0,01 \text{ мг/дм}^3$. У природних поверхневих водах внутрішніх водойм України фонові концентрації цинку варіюють від $0,001$ до $0,2 \text{ мг/дм}^3$ [9], а мідь (як мікроелемент) трапляється зазвичай у концентраціях нижчих за 5 мкг/л [14]. Наразі щорічне антропогенне надходження у водне середовище міді більше ніж у 3, а – цинку у 7 разів перевищує таке з природних джерел [15]. Отже, виникає невідповідність між діючими допустимими концентраціями важких металів та реальним станом речей, а також з чутливістю організмів до цих поллютантів.

У водойми важкі метали надходять з промисловими (ливарні, машинобудівні, металообробні, гальванічні, хімічні підприємства) та побутовими відходами і стоками, ерозією, використанням пестицидів, добавок у корм великій рогатій худобі, рециркуляцією твердих відходів, з відходами атомної енергетики, через удобрення полів активним мулом, тощо [5]. Тому, необхідність моніторингу важких металів у наших водах стає цілком очевидною [4]. Найбільш оперативну інформацію про будь-які зміни у водоймі, згідно сучасних уявлень, можуть дати самі гідробіонти, котрі

досить швидко реагують на коливання концентрацій речовин у воді. На думку багатьох авторів [2, 7, 25], за таких досліджень, одним із можливих тест-об'єктів є вторинноводний молюск – ставковик *L. stagnalis*. Таким чином, дослідження впливу важких металів на гідробіонтів різних систематичних груп, у тому числі і легеневих молюсків, є актуальними і викликають інтерес у наукової спільноти.

1.1. Поведінкові та фізіологічні реакції молюсків за дії токсикантів

Забруднення води токсичними речовинами і, зокрема, важкими металами впливає на фізіологічні та етологічні характеристики гідробіонтів. В орієнтовних дослідках, які йдуть попереду основного токсикологічного експерименту, потрібно насамперед спостерігати за етологічними реакціями тварин, оскільки зміни поведінки це найперші ознаки порушення процесів життєдіяльності у тих гідробіонтів, які зазнали впливу токсикантів. Від поведінкових реакцій у значній мірі залежить стійкість тварин до різноманітних токсичних впливів. Прикладом таких реакцій може бути, насамперед, підвищення рухової активності експериментальних тварин. Намагання залишити токсичне середовище є першою реакцією тварин, які рухаються догори збираючись над урізом води [18, 22]. Цим характеризується реакція уникнення. За високих концентрацій поллютантів (гостролетальні) перші ознаки порушень характеризуються, навпаки, сповільненням рухів молюсків, які майже не рухаються і не харчуються. У такому середовищі молюски розосереджені, на відміну від контрольних тварин, які збираються у групи. Тварини спочатку вивисають з мушлі (реакція випадіння), а пізніше втягують тіло і тим самим зменшують свій об'єм на 2–3 мм.

Після перших етологічних реакцій (у випадку, якщо їх виявляється недостатньо), відбуваються пристосування біохімічного та фізіологічного характеру, які широко застосовуються у дослідженнях з водної токсикології.

Першими фізіологічними реакціями молюсків у токсичному середовищі є ослизнення тіла внаслідок посилення секреторної діяльності залозистих клітин локалізованих у молюсків у покривах тіла. Слиз, який товстим шаром вкриває тіло тварин, являє собою перепону для надходження токсикантів із оточуючого організм середовища всередину нього. Така реакція названа швидкою фізіологічною реакцією. Протягом перших двох годин експозиції має місце сильне ослизнення тіла у переважної більшості тварин, а пізніше шар слизу вже не потовщується через його коагуляцію та відшарування від тіла молюсків у вигляді пластівців.

Швидкою захисною фізіологічною реакцією є слабкий та помірного ступеню набряк тіла. Встановлено [10], що обводнення тканин організму молюсків до певного рівня (вміст води в тілі сягає 85–86% від їх загальної ваги) є захисно-пристосувальною реакцією, яка допомагає їм вижити у несприятливих умовах оточуючого середовища.

За гостролетальних концентрацій токсикантів має місце зростання негативного водного балансу. Через розладнання захисно-пристосувальних механізмів, зневоднення молюсків виявляється для них небезпечним.

У прісноводних гідробіонтів і, зокрема, у ставковиків, розвиток патологічного процесу за впливу токсикантів характеризується фазністю його перебігу [6]. Це викликано розвитком компенсаторно-адаптивних реакцій до токсиканту та існуванням мінімумів та максимумів його ушкоджуючої дії. У порядку посилення впливу токсичної речовини у водних легеневи молюсків виділяють наступні фази перебігу патологічного процесу: байдужість, стимуляцію, депресію, сублетальну та летальну фази.

1.2. Вплив іонів важких металів на системи органів молюсків

На прикладі витушок, утримуваних в акваріумах за концентрації свинцю 18 мг/дм^3 , встановлено [23], що гістологічні структури мантиї та ноги у результаті перебування у токсичному середовищі не змінюються, а

гістологія печінки зазнає значних змін, які призводять до гальмування процесів секреції. У ході досліджень зареєстровано аномально високий рівень свинцю у мантиї (890 мкг/г).

Зменшення співвідношення Ca/Mg (що встановлено рентгенівським мікроаналізом травної залози низки видів морських черевоногих молюсків) [25], пов'язане зі збільшенням кількості важких металів, які накопичуються у внутрішньоклітинних мінералізованих гранулах у вигляді фосфатів.

Катіон Cu^{2+} не впливає на втрату зябрами мідій *Mytilus californianus* іонів Mg^{2+} та Ca^{2+} , проте викликає зростання виходу первинних амінів, які припиняють скорочення війок миготливого епітелію зябер. Мідь також різко знижує надходження у зябри молюсків амінокислоти гліцину [25]. За утримання *Busycon canaliculatum* у розчинах з 100–1000 мкг/дм³ ^{64}Cu , накопичення міді у зябрах йде дуже швидкими темпами, що помітно за змінами у гістологічній картині зябер. Доведено, що Cu^{2+} у токсичних концентраціях впливає на процеси газообміну у зябрах молюсків [7].

1.3. Вплив іонів важких металів на перебіг фізіологічних відправлень молюсків

1.3.1. Легеневе та шкіряне дихання

У природних умовах ставковики періодично підіймаються до урізу води для поповнення запасу кисню у їхніх легенях. Порожнина легенів заповнюється повітрям (“вдих”) у *L. stagnalis* впродовж 45...60 сек (у особливо крупних екземплярів воно може іноді тривати до 120 сек). Встановлено залежність частоти підйомів від температури води, вмісту в ній кисню та інших чинників. При зануренні ставковиків під воду мінімальна величина, до якої падає вміст кисню у повітрі легень молюсків, становить 6...13% [19].

За температури 20...24⁰С підйом *L. stagnalis* на поверхню відбувається 10...14 разів, а при 18...21⁰С – 4...11 разів за годину. За високої концентрації

кисню ($6,5 \text{ мг/дм}^3$) у воді черевоногі молюски можуть знаходитися під водою у 3 рази довше, ніж при низькій його концентрації ($1,6 \text{ мг/дм}^3$).

У ставковиків кисень до їх організму надходить не тільки через легені, а ще і через усю поверхню шкіри, всі клітини якої проникні до кисню. *L. stagnalis* перебуваючи під водою довгий час, отримує кисень через шкіру майже в тій же мірі, як і через легені. Шкіряне дихання забезпечує потребу у кисні ставковиків на 60...70%, і лише 30...40% від цієї потреби припадає на долю легеневого дихання [19].

У ставковиків, яких витримували у розчинах сульфату міді концентрацією 2 мг/дм^3 (LC_{50}) впродовж перших 10 хв від початку досліду має місце досить різке гальмування ендогенного дихання у травній залозі, проте показники загальної інтенсивності дихання не змінюються. Схожі явища спостерігаються в основі механізмів інтоксикації рогових катушок *Planorbarius corneus* (Linné) під впливом ZnSO_4 , CuSO_4 , $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ [7], а саме відмічають порушення окисно-відновних процесів, зокрема, і тканинного дихання. Загибель молюсків за таких умов настає у результаті аноксії. Спостерігається виживання лише тих особин, у яких «спрацьовує» механізм повного чи часткового «переключення» аеробного розщеплення вуглеводів на анаеробне, а це сприяє порушенню водного обміну тварин [23], яке проявляється у затримуванні води у організмі витушок.

1.3.2. Живлення

Кругообіг речовин у водоймах досить тісно пов'язаний з процесами живлення тварин, тому вивчення механізмів живлення та його характеру у гідробіонтів є необхідним [5]. *L. stagnalis*, як і інші гідробіонти, характеризується харчовою вибірковістю [24]. До об'єктів їх живлення, окрім водоростей, відносяться планктонні організми, великі безхребетні, рослинний детрит, трупи тварин і фекалії. Проте за достатньої різноманітності і кількості корму ставковики завжди надають перевагу

улюбленому виду їжі [7]. В лабораторних умовах *L. stagnalis* досить охоче поїдають капусту, моркву, салат та листки кульбаби [19]. У лабораторних дослідженнях показано, що швидкість споживання їжі ставковиками після досягнення максимальних значень практично не зростає при підвищенні кількості спожитої їжі [18]. Визначення кількості вжитої їжі здійснюється експериментально за наповненням травного тракту та за швидкістю проходження їжі через нього [24].

Ставковики відносяться до рослиноїдних молюсків, тому, оскільки, рослини є концентраторами іонів важких металів [9], по харчових ланцюгах можлива передача іонів важких металів від продуцентів до молюсків-фітофагів. Оскільки показником чутливості до дії токсикантів може бути і харчова поведінка (інтенсивність або пригніченість споживання корму), особливу увагу слід звертати на живлення тварин у токсичному середовищі. Пригнічення живлення завжди має місце за високих концентрацій токсикантів. У сублетальних концентраціях за необхідності протистояти патологічним змінам, що відбуваються у організмі тварин за дії токсикантів у перші два тижні впливу ставковики споживають спочатку менше корму, ніж у нормі, а згодом – більше [7].

Забруднення води токсичними речовинами і, зокрема, іонами важких металів впливає на трофологічні характеристики гідробіонтів.

Наразі є малодослідженою дія іонів важких металів водного середовища на величини середньодобових раціонів та на швидкість проходження корму через травний тракт молюсків. Дані про проведення таких досліджень із використанням як токсиканти іонів міді та цинку відсутні.

1.3.3. Ритм серцевих скорочень

Частота серцевих скорочень у *L. stagnalis* коливається у межах від 10–16 до 42–58, рідко – до 75–90 уд./хв [8]. Виявлено [25], що у ювенільних

особин частота серцевих скорочень є вищою, аніж у старих тварин. Серцева діяльність *L. stagnalis* знаходиться у прямій залежності від зовнішніх осмотичних умов: за різкої зміни концентрації токсичних іонів у розчинах має місце прискорення серцебиття у ставковиків.

Дані літератури стосовно дії важких металів на ритм серцевих скорочень досліджуваних молюсків нечисельні і досить фрагментарні. Дослідження стосовно цього аспекту проводились переважно у прісноводних двостулкових та морських черевоногих і двостулкових молюсків. Інформації стосовно впливу іонів важких металів на частоту серцевих скорочень ставковика озерного не знайдено.

Здійснення бібліографічного пошуку за темою проведених нами досліджень свідчить, що жоден із аспектів життєдіяльності ставковика озерного за впливу на нього іонів важких металів водного середовища (Cu^{2+} , Zn^{2+}), не можна вважати достатньо дослідженим.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Програма проведення досліджень

Відповідно до мети досліджень у ході роботи було вирішено наступні завдання:

- проведено аналітичний огляд літератури з питань висвітлення проблеми, яка досліджується, в літературних джерелах та обґрунтовано вибраний напрямок досліджень;
- розроблено календарний план проведення досліджень та опановано методики їх проведення;
- засвоєно методики збирання, транспортування і визначення видової приналежності молюсків;
- опановано методики аклімації молюсків до лабораторних умов та методики утримання молюсків в акваріумах;
- з метою постановки токсикологічних дослідів ознайомилися з методикою В. А. Алексєєва;
- постановлено дослід та виявлено вплив іонів важких металів водного середовища на особливості трофіки, серцеву діяльність та дихання ставковика озерного;
- здійснено статистичне оброблення отриманих результатів досліджень та сформульовано висновки.

2.2. Матеріал і методика досліджень

Об'єктом дослідження був ставковик озерний *Lymnaea stagnalis* L. [20], зібраний в ставку на Соколівці та в басейні р. Тетерів у період з 2020 по 2021 рр. У залежності від глибини водойми, пори року та щільності поселення популяції молюсків збирали різними прийнятими в гідробіології способами: на невеликих глибинах, збирали вручну безпосередньо з дна водойм та з водяної рослинності; на глибоководних ділянках – за допомогою сачка. Матеріал, який відібрали транспортували у полотняних мішечках, уміщених в поліетиленові мішки. З метою уникнення ушкодження мушлі молюсків та їх м'яких частин, ставковиків перекладали водяною рослинністю.

Із застосуванням штангенциркуля встановлювали розміри черепашки (висоту та ширину мушлі, висоту та ширину вустя, висоту завитку та останнього оберту). Зважування проводили на технічних терезах ВЛТ-200.

Утримували молюсків у акваріумах (ємністю 3 л) за методикою А.П.Стадниченко (1986). Щільність посадки тварин – 3 екз./дм³. Акваріуми заповнювалися водою з водогінної мережі міста (рН – 7,2–7,5; вміст O₂ – 8,6–8,9 мг/л; температура – 18-23°C), яка була продехлорована відстоюванням (1 доба). Воду міняли кожну другу добу, щоб запобігти порушенню стабільності умов у акваріумах. Молюсків підгодовували мацерованими протягом 6 діб шматочками (2x2 см) білоголівкової капусти та скибками моркви..

Токсикологічні експерименти здійснено за загальноприйнятою методикою В. А. Алексєєва [1]. До лабораторних умов тварин аклімували 14 діб. Під час самого досліду (*bioassay*) (тривалістю 48 год), ставковиків поміщали в ємності з розчинами токсикантів у заданих концентраціях: 0,001; 0,01; 0,1; 1; 10; 100; 1000; 10000 мг/л. Результати знімали через кожні 10 та 30 хв., 1, 3, 6, 12, 24, 36 та 48 год. Основні токсикологічні показники (найбільша концентрація, в якій всі тварини залишаються протягом експозиції живими – LC₀ (ЛК₀) та найменша концентрація, в якій усі тварини за час експозиції гинуть – LC₁₀₀ (ЛК₁₀₀)) встановлювали після обробки інформації, отриманої в

ході експериментів. Графічним методом було отримано значення LC_{50} (LK_{50}) [16]. У межах $LC_0 - LC_{50}$ вибрали концентрації для здійснення основного (хронічного) дослідження [19]. Тривалість хронічного експерименту – 60 діб. Щодоби знімали дані щодо фізіологічного статусу молюсків.

Коефіцієнт витривалості (KB) для різних концентрацій важких металів обраховували за формулою [21]:

$$KB = \frac{E_k}{E_n},$$

де E_k – час, необхідний для загибелі всіх піддослідних тварин; E_n – час, за який загинула перша особина.

Пороговою концентрацією була така, яка викликала будь-які окремі чітко виражені патологічні зрушення у якійсь функціональній системі організму.

У дослідженнях використано 680 екз. однорозмірних молюсків (середня висота мушлі становить $43,0 \pm 2,4$ мм), з них 330 екз. – для постановки токсикологічних дослідів і 350 екз. – для вивчення зрушень фізіологічних систем організму під впливом токсикантів.

Методика дослідження ритму серцевих скорочень. Серцевий ритм контролювали візуально [19]. У мушлі (у проекції серця) скальпелем випилювався отвір з площею 1×2 см і через мантию, яка просвічується, рахували кількість скорочень серця. Заміри (для кожної особини) проводили кілька разів. Потім встановлювали середнє число скорочень, яке припадало на одиницю часу. Для аналізу результатів дослідження застосували серцевий коефіцієнт [19], який являє співвідношення ритму серцевих скорочень тварин, котрі зазнали дії токсиканту, до такого ж показника отриманого у контрольних екземплярів.

Методика дослідження легеневого та шкірного дихання. Вивчення фізіології дихання молюсків поставлено за модифікованою А. П. Стадниченко методикою В. І. Жадіна [19].

Дослід 1. Після занурення тварин у воду фіксували час, який вони затратили для заборів повітря (акт “вдиху”).

Дослід 2. Механічне подразнення (уколи препарувальною голкою) тварин, які опускались на дно чи розміщувались на стінках акваріума після чергового забору повітря, супроводжувалось скороченням м’язів голови та ноги з виділенням пухирців повітря з легень. З метою визначення кількості повітря, яке потрапляло у порожнину легені ставковика за кожного наступного його забору, здійснювали підрахунок пухирців.

Дослід 3. Молюски поміщались в акваріуми, що були заповнені розчинами полютантів так, аби тварини були позбавлені можливості підійматися до урізу води і задовольняти, таким чином, свої потреби у кисні. З цією метою молюсків уміщали у мішечки із сіткової делі, що закріплювались на дні акваріумів. Молюсків оглядали щоденно на предмет виявлення тих особин, які загинули. Дослід проводився до моменту повної загибелі усіх піддослідних молюсків, які вже не відповідали на зовнішні механічні подразнення, повністю втратили рухову активність та, після перенесення їх із затруєного середовища у чисту воду не відновлювали своєї життєдіяльності.

Методика встановлення величини середньодобового раціону та тривалості проходження корму через травний тракт. Тварин, після осушування фільтрувальним папером і визначення їх загальної маси, уміщали по одному екземпляру в окремі ємності, заповнені токсичним середовищем. Сюди ж вносили корм (попередньо зважений) – шматочки листя частухи. Наважку корму розміщували між аркушами фільтрувального паперу і тримали під тягарем (маса 1 кг) впродовж 20 хв. Дослід тривав 48 год. Після його закінчення корм, що залишився, осушували (як описано раніше) для видалення надмірної кількості вологи, після чого зважували. Величину добового споживання корму кожною окремою взятою особиною визначали за різницею маси корму до початку та після закінчення досліду.

Величину середньодобового раціону (BCP) (це % щодо маси тіла молюсків) визначали за наступною формулою:

$$BCP = \frac{A \cdot 100}{P},$$

де A – вага спожитого твариною корму; P – загальна (сира) вага тіла молюсків [24].

Тривалість проходження їжі через травний тракт ставковиків встановлювали так: тварин годували скибками мацерованої (6 діб у воді) тонко порізаної моркви [7], після чого їм давали корм зеленого кольору (будь-яку, звичну для них, рослинність). Далі відмічали час появи перших екскрементів, які містили залишки «кольорового» корму і обраховували різницю між цим часом та початком споживання корму зеленого кольору. Отримані показники і є тривалістю проходження їжі через травний тракт молюсків (ТПЇ).

Методика визначення ступеня засвоєння їжі та ефективності живлення. Коефіцієнт засвоєння їжі (КЗЇ) визначено за такою формулою:

$$KZ\ddot{I} = \frac{c - f}{c},$$

де c – кількість спожитої ставковиком їжі; f – вага фекалій, які виділились [24].

Ефективність живлення (ЕЖ) визначено за наступною формулою:

$$E\mathcal{J} = \frac{A - f}{P} \cdot 100\%,$$

де A – вага корму, який спожив молюск; f – вага фекалій, які виділились; P – загальна (сира) вага тіла ставковика [24].

Цифрові дані, отримані в дослідях, обробляли із застосуванням стандартних методів варіаційної статистики [11] та спеціальних комп'ютерних програм “STATISTICA 10.0 і Exel”.

2.3. Характеристика умов проведення досліджень

Воду відстоювали впродовж 1–2 діб в скляних акваріумах ємністю 10 л та в емальованих відрах.

Садки з тваринами розміщувались на спеціальних дерев'яних стелажах. Акваріуми мали етикетки, де була зазначена дата та умови постановки досліду. Їжею слугувало листя салату, молоде листя кульбаби та білоголівкової капусти. Заміну корму та видалення харчових залишків проводили щодоби. Умови експерименту: рН води – 7,41–8,13, температура – 19–23⁰С, вільної вуглекислоти – 2,33 мг/дм³, вміст кисню – 8,39–8,87 мг/дм³, кальцію – 2,60 мг/дм³, фтору – 0,24 мг/дм³. Фоновий вміст досліджуваних іонів важких металів у воді складав: цинку – 0,0003 мг/дм³, міді – 0,0002 мг/дм³.

РОЗДІЛ 3

ФІЗІОЛОГІЧНІ ВІДПРАВЛЕННЯ СТАВКОВИКА ОЗЕРНОГО ЗА ДІЇ ІОНІВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

3.1. Вплив сульфату міді та хлориду цинка водного середовища на серцеву діяльність *L. stagnalis*

Темп серцевих скорочень є інтегральною тест-функцією ставковика на вплив іонів важких металів. У результаті досліджень з'ясовано ритм серцевих скорочень *L. stagnalis* у нормі (в середньому $17,47 \pm 0,42$ уд./хв (амплітуда коливання цього показника – 10–27 уд./хв)) (Додаток А.1). Великий розмах показника пояснюється значними сезонними та віковими змінами його у молюсків [8]. Отримані нами результати є репрезентативними, оскільки вони максимально наближені до природних значень даного показника.

Вплив сульфату міді на ритм серцевих скорочень *L. stagnalis*. Нами використано три концентрації сульфату міді – 0,2, 1 та 1,8 мг/л. Відомо[8], що ступінь збудження (чи пригнічення) організму за дії поллютантів найбільш чітко відображає серцевий коефіцієнт. Виявлено, що у молюсків підданих дії токсиканту концентрацією 0,2 мг/дм³ у воді (впродовж 48 год) частота серцебиття збільшується і СК складає 116% (рис. 3.1.1, рис. 3.1.2).

СК ставковиків за 1 мг/дм³ сульфату міді у воді становить 52% (ритм серцевих скорочень – $9,14 \pm 0,47$ уд./хв ($P > 99,99\%$)). Тут має місце яскраво

виражена брадикардія і проявляється наступна після стимуляції фаза патологічного процесу, що викликаний отруєнням тварин, – депресія.

За $1,8 \text{ мг/дм}^3$ сульфату міді у середовищі, патологічний процес заходить далі і проявляється розвитком у ставковиків сублетальної фази отруєння. Брадикардія прогресує, ритм серцевих скорочень молюсків уповільнюється іще більше і знижується у середньому в 4–5 разів, порівнюючи з контролем.

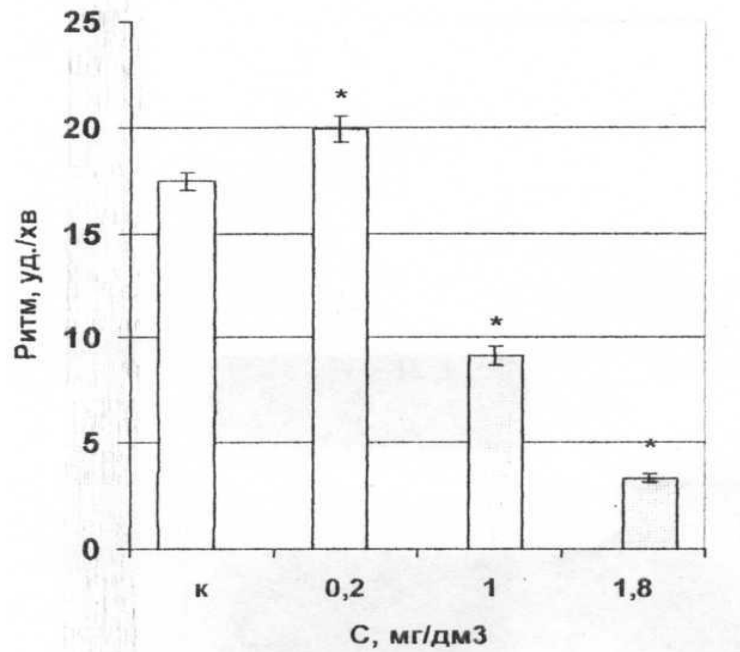


Рис. 3.1.1. Ритм серцевих скорочень ставковика озерного за впливу сульфату міді водного середовища; $M \pm m$; * – відмінності порівняно з контролем є вірогідними.

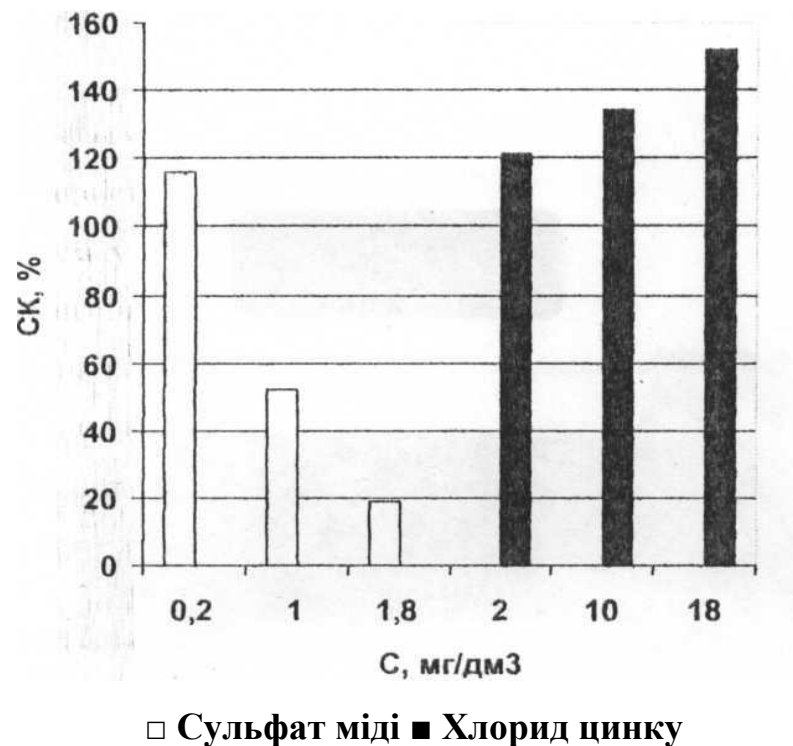


Рис. 3.1.2. Показники серцевого коефіцієнту (%) ставковика озерного за дії сульфату міді та хлориду цинку.

Вплив хлориду цинка на ритм серцевих скорочень *L. stagnalis*. Відповідно до зростання концентрації хлориду цинка у воді (2–18 мг/дм³) молюски реагують на його дію прогресуючою тахікардією (рис. 3.1.3). Так, за концентрації 2 мг/л цього токсиканту у воді СК *L. stagnalis* є на 21% вищим, ніж у контрольної групи, а темп скорочень серця варіює у межах 10–35 уд./хв. (Додаток А. 2).

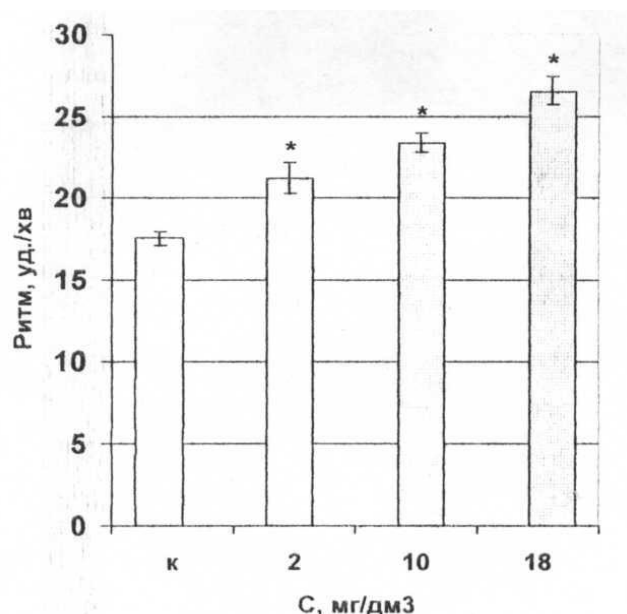


Рис. 3.1.3. Ритм серцевих скорочень ставковика озерного за впливу різних концентрацій хлориду цинка водного середовища;

$M \pm m$; * – відмінності порівняно з контролем вірогідні.

За концентрації токсиканту у середовищі 10 мг/дм^3 СК *L. stagnalis* збільшується на 34, а за 18 мг/дм^3 – на 52% порівняно з контрольною групою тварин. Таким чином, хлорид цинку за всіх застосованих концентрацій викликає зростання у ставковиків темпів серцевих скорочень, а це свідчить про другу фазу патологічного процесу [6] – стимуляцію. Залишається незрозумілим, чому сульфат міді за тих же концентрацій призводить до збільшення величини показника серцевих скорочень лише за концентрацій, близьких до LC_0 , а саме при $0,2 \text{ мг/л}$. Далі спостерігається досить різке зниження темпів скорочення серця. Можна припустити, що це пов'язане з властивостями міді та цинку щодо впливу їх на окисно-відновні реакції, які є протилежними. Наявність у середовищі першого металу призводить до посилення окисних реакцій, а другого до посилення відновних процесів. Тому, можна дійти висновку, що біохімічний механізм діяльності серця *L. stagnalis* має надзвичайно вразливе місце на рівні якоїсь із його окисно-відновних реакцій. А зсунення кінетичної рівноваги у бік чи то окисної, чи відновної реакції призводить до розвитку бради- і тахікардії відповідно.

Отже, ритм скорочень серця у ставковика озерного у нормі складає у середньому $17,46 \pm 0,40$ уд./хв (амплітуда цих коливань – 10–27 уд./хв). За концентрації 2 мг/дм^3 хлориду цинку у середовищі СК ставковиків зростав на 21%, за 10 мг/дм^3 – на 34%, а за концентрації 18 мг/дм^3 – на 52%. Сульфат міді у концентраціях $0,2 \text{ мг/дм}^3$ призводить до зростання частоти СК на 16%. За концентрацій 1 та $1,8 \text{ мг/дм}^3$ сульфату міді у середовищі у *L. stagnalis*

поступово розвивається брадикардія (ритм серцевих скорочень падає приблизно у 2 та 4,5 рази відповідно).

3.2. Особливості трофіки *L. stagnalis* за дії сульфату міді та хлориду цинка водного середовища

У наших дослідженнях у якості кормового об'єкту використано частуху (*Alisma plantago* L.), котра є одним із улюблених кормових об'єктів *L. stagnalis*. Отримані нами значення трофологічних показників молюсків у токсичному середовищі: величини середньодобового раціону (ВСР), коефіцієнту засвоєння їжі (КЗІ) та тривалості проходження їжі через травний тракт молюсків (ТПІ) здатні сильно коливатися. Розмах коливань величин цих показників становить відповідно – 1,01–3,85%; 0,26–0,77 та 212–384 хв (Додатки А.3 – А.5).

Важливим показником трофіки молюсків є ефективність їх живлення (ЕЖ). Для контрольної групи тварин він складає $1,51 \pm 0,12\%$ (за результатами проведених нами досліджень). Цей показник враховує відсоток спожитої ставковиком їжі (скільки виділяється разом з фекаліями і не використовується твариною на її власні потреби), а не тільки валову її кількість, тому він менший за ВСР. Завдяки цьому за токсикологічних досліджень можна отримати більш чітку картину зміни динаміки патологічного процесу зі змінами концентрацій токсичних речовин, які застосовані у досліджах. Інші, описані вище трофологічні показники, не завжди можуть дати відповідь на таке запитання: що відбувається з процесом живлення загалом, а не тільки з певними його ланками. Введення такого інтегрального показника як ефективність живлення дозволить хоча б частково дати відповідь на це питання.

Вплив сульфату міді. При вивченні особливостей трофіки ставковика використали наступні концентрації токсиканту 0,2; 0,4 та 0,6 мг/дм³, на відміну від досліджень інших фізіологічних систем молюсків, де сульфат міді був у концентраціях 0,2; 1 та 1,8 мг/дм³. Причиною цього було те, що у

розчинах, які містили мідь у концентраціях більших за $0,6 \text{ мг/дм}^3$, тварини майже не жилися. За ще більш високих концентрацій цього полютанту тварини взагалі не споживають корм. Саме тому, було прийнято рішення, що більш інформативним буде дослідження особливостей трофіки ставковика в інтервалі від $0,1$ до $0,6 \text{ мг/дм}^3$ концентрацій сульфату міді у воді. За дії усіх застосованих у експерименті концентрацій сульфату міді значення ВСР та ТПІ *L. stagnalis* прогресуюче знижуються (рис. 3.2.1, 3.2.2). Незважаючи на те, що енергозабезпечення тих тварин, котрі знаходяться у токсичному середовищі, здійснюється, зазвичай, за рахунок суто анаеробних процесів. Очікувано, що у відповідь на дію токсичної речовини у молюсків мали би зростати як час проходження їжі через травний тракт, так і кількість спожитої ними їжі (принаймні за $0,2 \text{ мг/дм}^3$ сульфату міді у середовищі). Оскільки ця концентрація, як встановлено попередніми дослідженнями, є для ставковиків стимулюючою. Пояснити це можна законом неоднозначної дії чинників на різні функції організму, який свідчить, що за дії на біоту деяких негативних чинників пристосування до них може здійснюватись за рахунок прискорень певних фізіологічних процесів, тоді як деякі інші функції організму можуть бути на межі норми, або ж нижчими за неї.

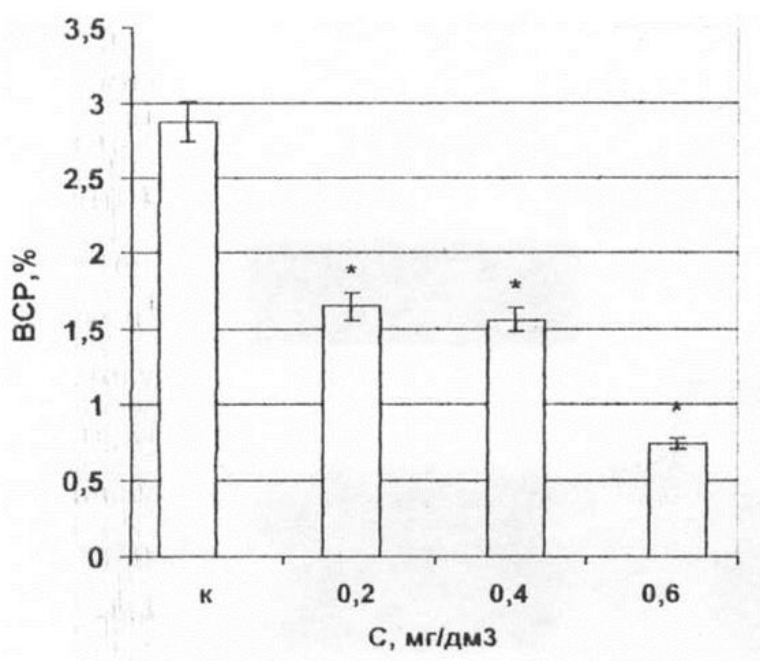


Рис. 3.2.1. Величина середньодобового раціону ставковика озерного за впливу сульфату міді; $M \pm m$. * – відмінності порівняно з контролем вірогідні.

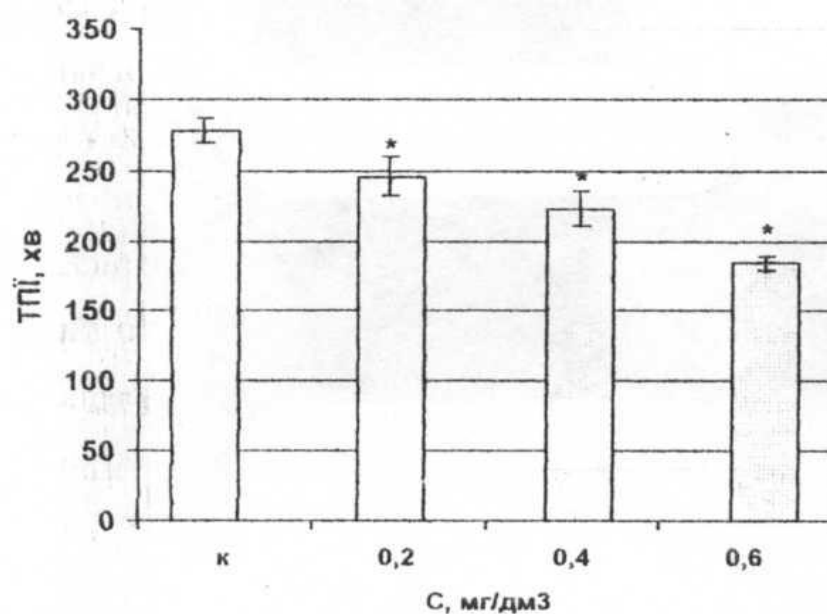


Рис. 3.2.2. Тривалість проходження їжі у ставковика озерного за впливу сульфату міді водного середовища; $M \pm m$; * – відмінності порівняно з контролем вірогідні.

Слід зазначити, що це можна підтвердити і значеннями КЗІ *L. stagnalis* (рис. 3.2.3).

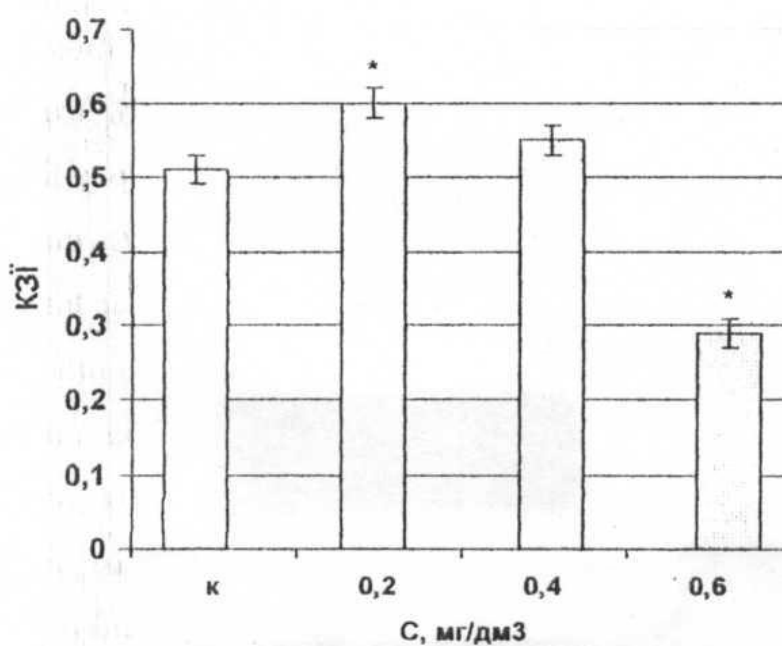


Рис. 3.2.3. Коефіцієнт засвоєння їжі ставковика озерного за впливу сульфату міді різних концентрацій; $M \pm m$; * – відмінності порівняно з контролем вірогідні.

Так, за концентрації $0,2 \text{ мг/дм}^3$ сульфату міді у середовищі значення КЗІ зростають на 17,8%. На цьому етапі розвитку процесу інтоксикації пристосування тварин до дії полютанта здійснюється за рахунок зростання відсотку засвоєного ними корму, а це забезпечує збільшення рівня основного обміну у молюсків. Деяке зниження КЗІ (відносно значень показника у попередній концентрації) відбувається за $0,4 \text{ мг/л}$ токсиканту в середовищі, хоча величини все ще більші за контрольні. Вочевидь, тут ставковики ще здатні протидіяти патогенному впливу токсиканту, проте подальше знаходження їх у токсичному середовищі призведе до швидкої загибелі тварин. За $0,6 \text{ мг/дм}^3$ сульфату міді у середовищі усі величини показників трофіки *L. stagnalis*, які розглядаються, суттєво зменшуються, що є наслідком депресивної фази патологічного процесу отруєння, яка розвивається у ставковиків.

Розглядаючи тенденцію змін ЕЖ за різних концентрацій сульфату міді, слід зазначити, що 48-годинна експозиція *L. stagnalis* навіть за концентрації $0,2 \text{ мг/дм}^3$ викликає різке зниження ефективності живлення більш, ніж на 30% ($P > 99,99\%$). З підвищенням концентрації токсиканту величини цього показника продовжують знижуватись, і складають за $0,6 \text{ мг/дм}^3$ – 0,22% (Додаток 6). Таким чином, збільшення значень КЗІ лиш частково компенсує прогресуюче падіння ВСР ставковика озерного.

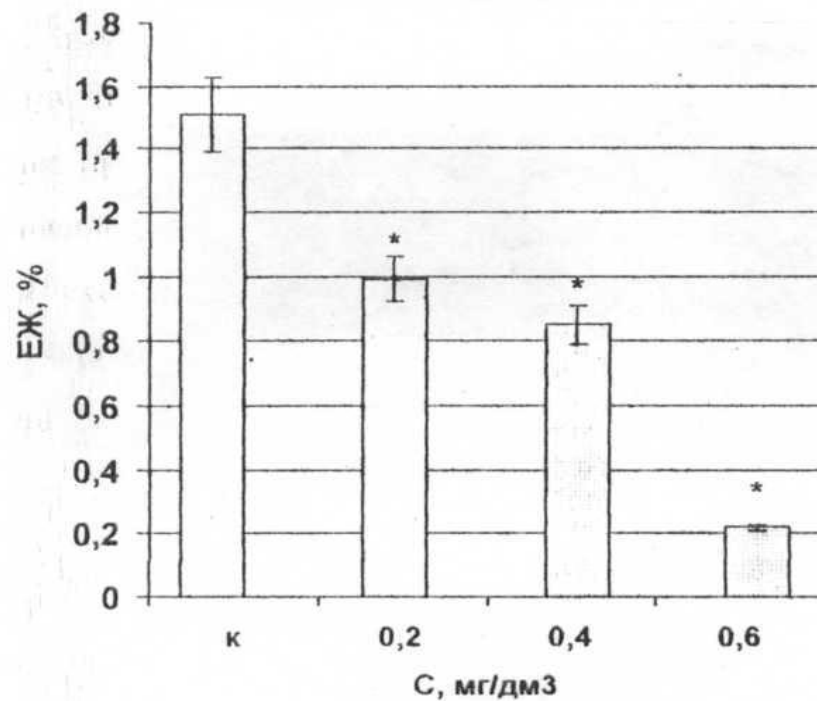


Рис. 3.2.4. Ефективність живлення (%) ставковика озерного за впливу сульфату міді водного середовища; $M \pm m$; * – відмінності порівняно з контролем вірогідні.

Таким чином, зазначимо, що трофіка *L. stagnalis* вже за впливу 0,2 мг/дм³ сульфату міді у середовищі перебуває у депресивній фазі розвитку загального патологічного процесу.

Вплив хлориду цинка. Так само, як і у випадку з сульфатом міді, за впливу на ставковика хлориду цинка з підвищенням концентрації токсиканта має місце зниження значень ВСР та ТПІ (рис. 3.2.5, 3.2.7).

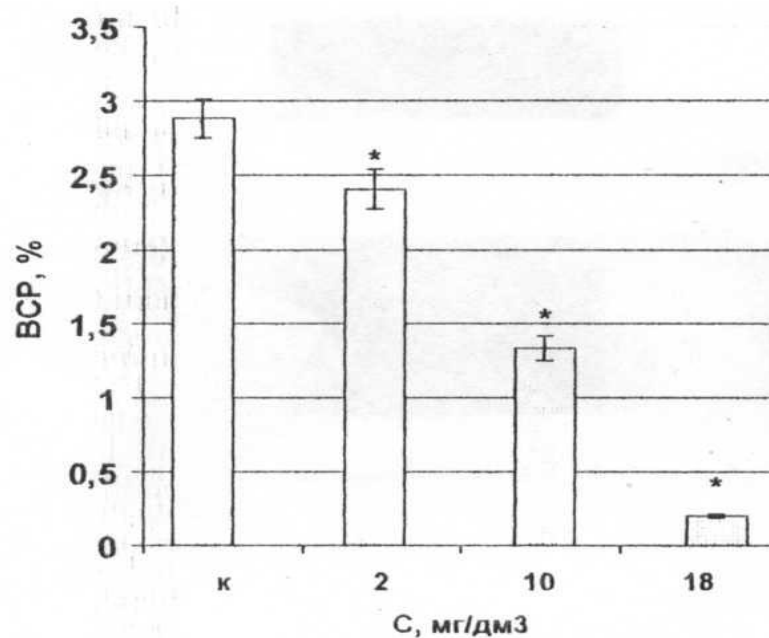


Рис. 3.2.5. Величина середньодобового раціону (%) ставковика озерного за впливу хлориду цинку водного середовища; $M \pm m$; * – відмінності порівняно з контролем вірогідні.

Виявлено, що КЗІ за концентрації $ZnCl_2 - 2 \text{ мг/дм}^3$ вказує тенденцію до зростання (на 7,8%), але за концентрації 10 мг/дм^3 його значення є нижчими контрольних на 27,5% (рис. 3.2.6).

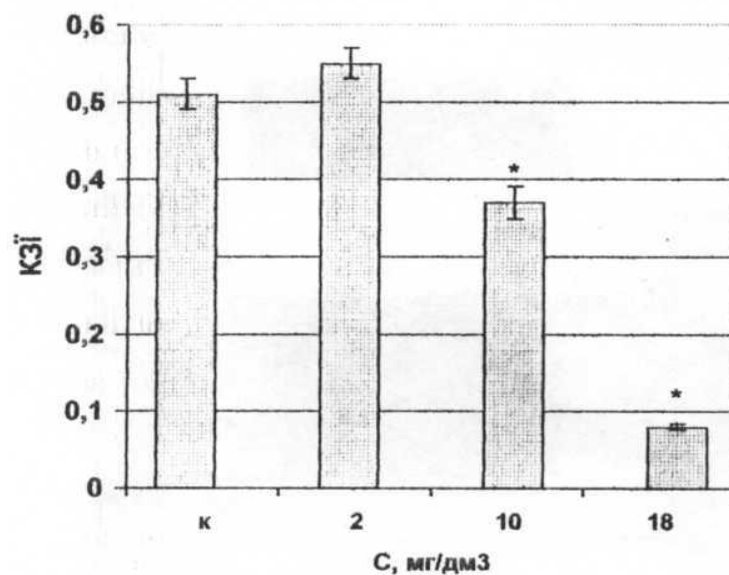


Рис. 3.2.6. Коефіцієнт засвоєння їжі ставковика озерного за дії хлориду цинку водного середовища.

За концентрації 18 мг/дм^3 солі падіння значень величини досліджуваного показника триває, зменшуючись на 84,5% відносно контролю (Додаток 8).

Показники ЕЖ моллюсків за впливу хлориду цинка підлягають тій же закономірності, що і за впливу сульфату міді: зі збільшенням концентрацій політанта у воді має місце тенденція до зниження ЕЖ (рис. 3.2.8) (Додаток А.10).

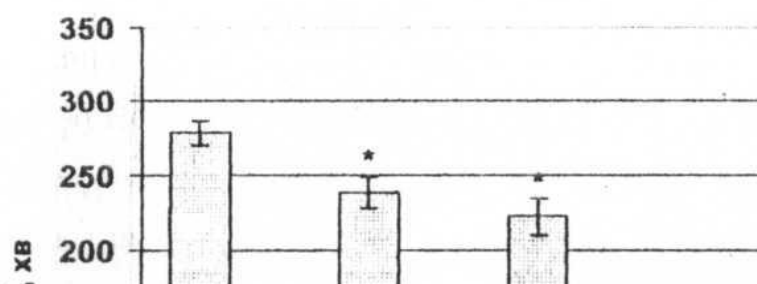


Рис. 3.2.7. Тривалість проходження їжі (хв) *L. stagnalis* за дії хлориду цинка водного середовища; $M \pm m$; * – відмінності порівняно з контролем вірогідні.

Пригнічення досліджених нами трофологічних показників молюсків свідчить про те, що піддослідні тварини переходять на анаеробний тип дихання, що завжди має місце у молюсків на етапі депресивної фази розвитку патологічного процесу, який зумовлений їхнім отруєнням токсикантами. Аеробне розщеплення вуглеводів, яке є високоефективним з енергетичної точки зору, замінюється на більш древній філогенетично та більш затратний гліколіз.

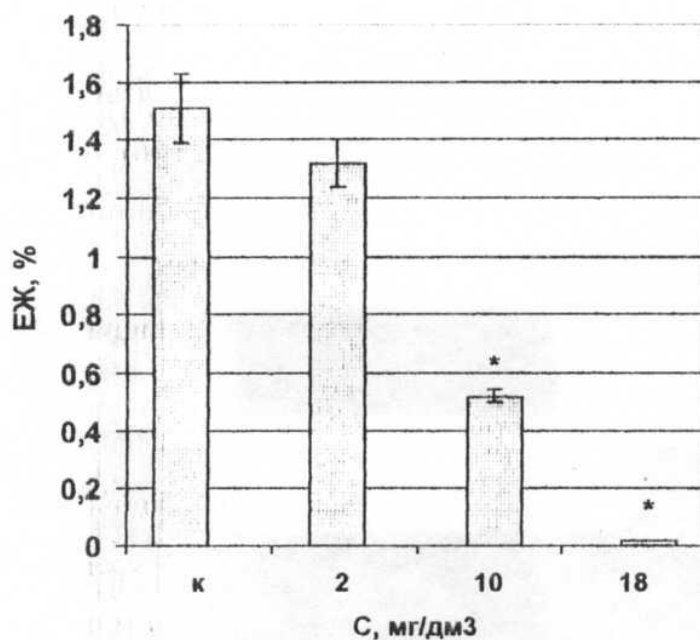


Рис. 3.2.8. Ефективність живлення (%) *L. stagnalis* за впливу хлориду цинку водного середовища; $M \pm m$; * – відмінності порівняно з контролем вірогідні.

Прикладом індивідуальностей відповіді ставковика озерного на дію важких металів водного середовища слугує відмова певного відсотку окремих особин молюсків від їжі у розчинах усіх концентрацій обох досліджуваних нами токсикантів. Із підвищенням концентрації цих солей у воді, кількість тварин, котрі перестали вживати корм, неухильно зростає. Таким чином, відмова ставковиків від споживання корму може бути застосована як чутлива тест-функція для здійснення екологічного моніторингу природних вод. Живлення досить чутливо відображає зміни інтенсивності та направленості обмінних процесів у ставковиків, про що свідчать наведені вище результати досліджень. А це, в свою чергу, дозволяє застосувати досліджені нами трофологічні показники у якості індикаторів функціонального стану організму молюсків як у нормі так і за впливу на них екстремальних чинників хімічної природи, зокрема, токсичних речовин.

Експериментальні дані, отримані нами в токсикологічних експериментах, вірогідно вказують на те, що за дії 0,2; 0,4 та 0,6 мг/дм³ сульфату міді та 2; 10 та 18 мг/дм³ хлориду цинку показники величини середньодобового раціону (ВСР) та тривалості проходження їжі через травний тракт (ТПТ) у ставковика озерного закономірно знижуються. Пристосуванням до патогенного впливу солей важких металів водного середовища є певне підвищення коефіцієнту засвоєння їжі (КЗІ) за 0,2 мг/дм³ сульфату міді та на порядок вищій концентрації хлориду цинка. За дії більш високих концентрацій токсикантів патологічні процеси переважають над захисно-пристосувальними, а це викликає зниження величини і цього, і всіх інших досліджуваних нами, показників живлення.

3.3. Дихання *L. stagnalis* за дії сульфату міді та хлориду цинка водного середовища

Акт дихання є одним із тих складних процесів, які забезпечують нормальну життєдіяльність організму, тому для того, щоби встановити повну картину перебігу фізіологічного аспекту патологічного процесу у ставковика озерного, необхідно вивчити особливості його дихання.

У піддослідних тварин тривалість забору повітря коливається у досить широких межах. Розмах величини цього показника становить 4,41 – 10,09 хв, що є досить значним. На наш погляд, головною причиною цього, є його сезонна мінливість. Тому що у тварин, досліджених навесні та влітку, інтенсивність обміну речовин є значно вищою, ніж у тих, які досліджені пізно восени та взимку, саме тоді, коли більшість основних фізіологічних процесів пригнічені внаслідок впливу несприятливих факторів середовища (кисневий режим, температура води, рН води та ін.).

Так як і у випадку з тривалістю “вдиху”, кількість атмосферного повітря, яке потрапляє у легеню ставковиків за один раз, підлягає значним сезонним коливанням і становить у середньому 33,16 – 113,15 ум.од.

Шкірне дихання, як відомо, відіграє суттєву роль у забезпеченні організму водних безхребетних тварин киснем. Окрім того, якщо умови для легеневого дихання відсутні, – порожнина легені у *L. stagnalis* заповнюється водою, і вона починає функціонувати на кшталт шкіряної зябри. Щоби детально з'ясувати перебіг зазначеного процесу, а також для встановлення того, чи зможе він компенсувати нормальний дихальний акт ставковиків за нормальних умов і за перебування тварин у затруєному середовищі, ми провели дослідження тривалості виживання *L. stagnalis* за умови заповнення легені водою. Встановлено, що ставковик озерний виживає у середовищі без токсикантів за таких умов дослідження впродовж 28,57–49,95 год.

Вплив сульфату міді. Наші дослідження показали, що вже за

концентрації $0,2 \text{ мг/дм}^3$ сульфату міді у середовищі мало місце статистично вірогідне зменшення інтервалів між заборами повітря у *L. stagnalis* (рис. 3.3.1) (Додаток А.11).

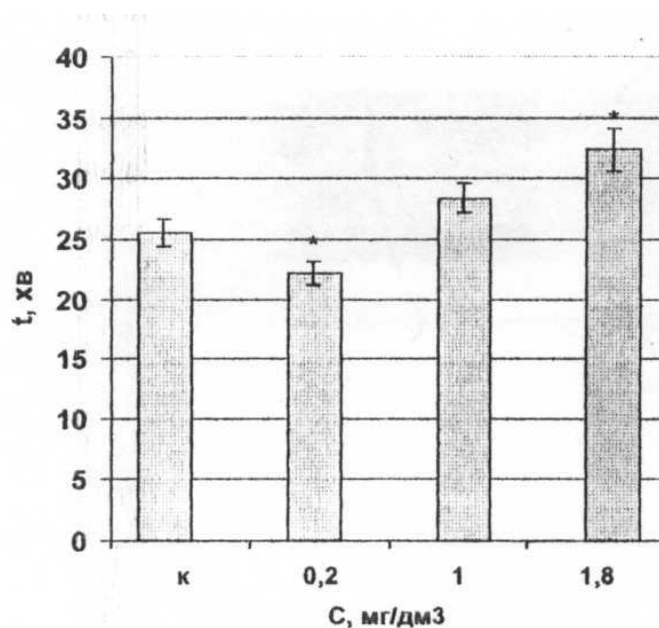


Рис. 3.3.1. Інтервали між наступними заборами повітря (хв) ставковика озерного за впливу сульфату міді водного середовища; $M \pm m$; * – відмінності порівняно з контролем вірогідні.

Проте за концентрації 1 мг/дм^3 даного токсиканту у воді тенденція дещо змінюється: інтервали між заборами повітря спочатку зростають на 11,5% (порівняно з контрольною групою), а потім (за концентрації $1,8 \text{ мг/дм}^3$) збільшуються на 27%.

Протилежна цій картина мала місце при встановленні об'єму повітря, що вдихається за один раз та тривалості «вдиху» (рис.3.3.2.–3.3.3) (Додатки А.12, А.13). При $0,2 \text{ мг/дм}^3$ сульфату міді у воді спостерігали тенденцію до зростання величин цих показників (на 12,2 та 11,2% відповідно), а за концентрації $1,8 \text{ мг/дм}^3$ токсиканту значення показників знижуються на 12,4 та 19,1% порівняно з контролем відповідно.

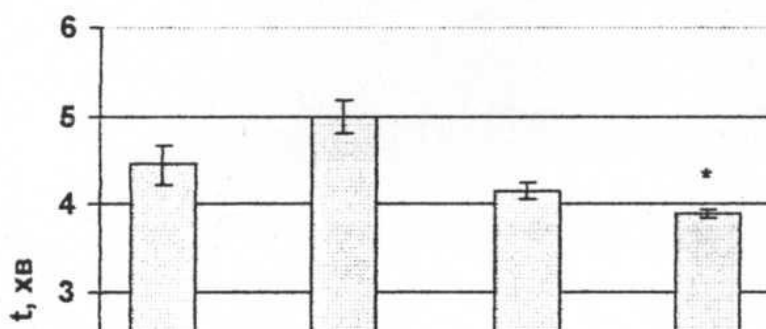


Рис. 3.3.2. Тривалість забору повітря (хв) *L. stagnalis* за дії сульфату міді водного середовища; $M \pm m$; * – відмінності порівняно з контролем вірогідні.

Таким чином, дійшли висновку, що збільшення тривалості “вдиху” та кількості поглинутого за один раз повітря, а також зменшення інтервалів між кожними двома послідовними заборами повітря, – це фізіологічні процеси, які скеровані на певну компенсацію патологічного впливу токсиканту на організм молюсків. Концентрацію $0,2 \text{ мг/дм}^3$ сульфату міді, за перебування у якій ставковики реагують так, як сказано вище, можна вважати такою, яка вказує на другу фазу розвитку патологічного процесу отруєння, а саме, фазу стимуляції. Через підвищення рівня загального обміну у токсичному середовищі молюски потребують кисень у значно більших кількостях і саме ці процеси забезпечують зростання постачання кисню в організм гідробіонтів.

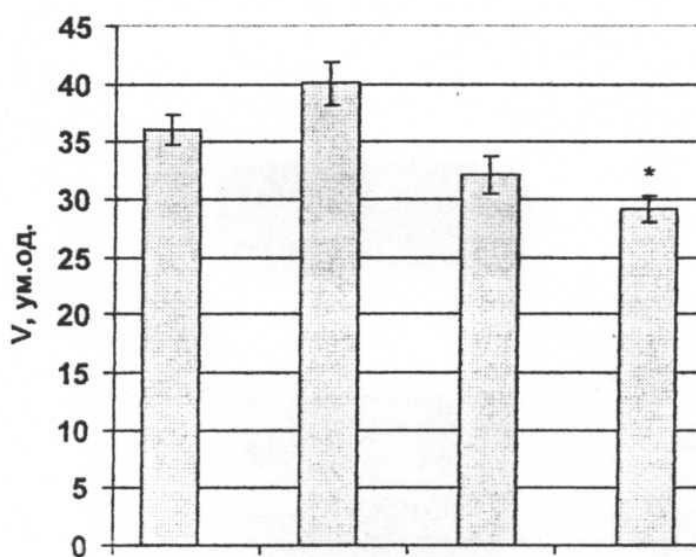


Рис. 3.3.3. Об'єм повітря, забраного за один «вдих» (ум.од.) ставковика озерного за дії сульфату міді водного середовища; $M \pm m$; * – відмінності порівняно з контролем вірогідні.

Вочевидь, що збільшення інтервалів між актами дихання є наслідком патологічних змін в організмі, котрий втрачає здатність протидіяти зовнішнім негативним впливам і призводить до зменшення кількості асимільованого кисню. Цей висновок підтверджується і тим фактом, що паралельно з процесами збільшення інтервалів між «вдихами» у ставковиків відбувається скорочення тривалості акту «вдиху» та зменшення кількості повітря поглинутого за один раз. А це вказує на настання третьої фази процесу отруєння – депресії. У наших дослідженнях, подібні явища у *L. stagnalis* мають місце за концентрацій 1 та 1,8 мг/дм³ сульфату міді у водному середовищі (48-годинна експозиція).

За умов, коли тварини не спроможні дихати атмосферним повітрям, у них за 0,2 мг/дм³ даного токсиканту в середовищі, тривалість виживання не змінюється порівняно з контролем. Статистично вірогідні відхилення цього показника з'являються за впливу на *L. stagnalis* сульфату міді у концентрації 1 мг/дм³ (рис. 3.3.4): тут тривалість виживання ставковиків знижується з $33,22 \pm 1,42$ до $29,09 \pm 1,40$ год ($P=95,07$) (Додаток А. 14), що складає 12,41% у відсотковому вираженні.

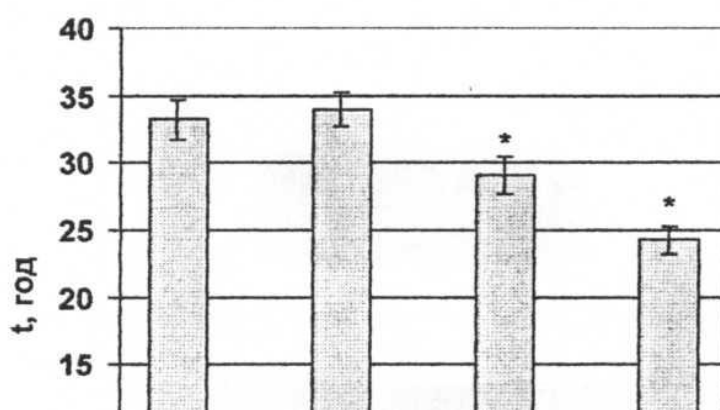


Рис. 3.3.4. Тривалість виживання *L. stagnalis* за умови заповнення легені водою (год) при дії сульфату міді водного середовища; $M \pm m$; * – відмінності порівняно з контролем вірогідні

За концентрації $1,8 \text{ мг/дм}^3$ досліджуваної солі величина показника виживання зменшується ще більше – на 28%, вочевидь, через порушення компенсаторно-пристосовних механізмів, яке обумовлене впливом сильного подразника. Фазу стимуляції, яку можна розглядати як період відносного благополуччя, можна пояснити тимчасовим пристосуванням *L. stagnalis* до впливу отрути. Проте пізніше вона змінюється послабленням витривалості організму до дії токсичного агента, а це приводить врешті-решт до загибелі піддослідних особин.

Вплив хлориду цинка. Як свідчать отримані нами результати, у молюсків у середовищі з 2 мг/дм^3 хлориду цинка, різко зменшується інтервал між послідовними актами дихання (рис. 3.3.5) (Додаток А. 15). Тривалість актів «вдиху» за концентрацій 2 та 10 мг/дм^3 хлориду цинка у середовищі збільшується (рис. 3.3.6) (Додаток А.16). Ставки на початку збільшують тривалість заборів повітря на 14, а потім – на 35,4%. Проте зі зростанням концентрації ZnCl_2 до 18 мг/дм^3 тривалість “вдиху” починає падати, хоча ще залишається значно вищою, ніж контрольні величини. Об’єм одноразового забору повітря ставковиками спочатку збільшується на 12% (за концентрації 2 мг/дм^3), а пізніше (в концентраціях $10\text{--}18 \text{ мг/дм}^3$) виявляється тенденція до

його зменшення (рис. 3.3.7) (Додаток А.18).

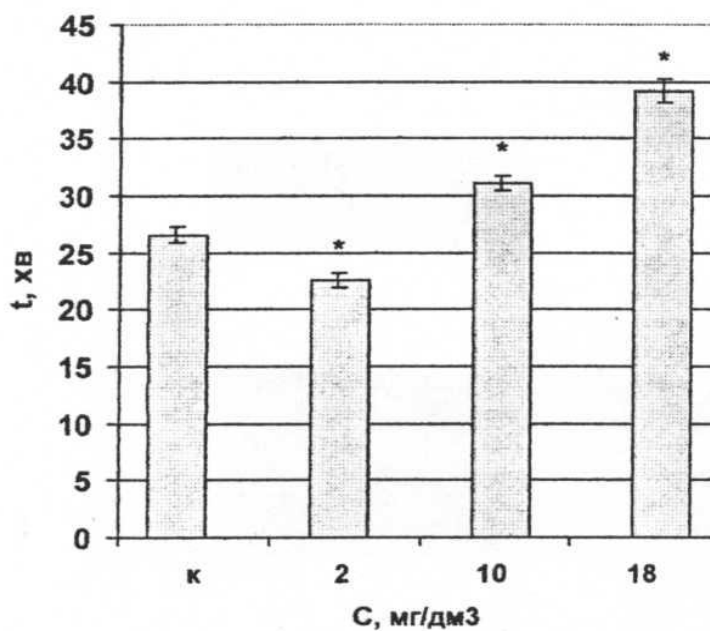


Рис. 3.3.5. Інтервали між наступними заборами повітря (хв) *L. stagnalis* за дії хлориду цинка водного середовища; $M \pm m$; * – відмінності порівняно з контролем вірогідні.

Таким чином, можна відмітити, що 2 мг/дм³ хлориду цинку у воді викликає розвиток у *L. stagnalis* другої фази патологічного процесу, викликаного отруєнням, а саме стимуляцію. Ця фаза характеризується збільшенням тривалості «вдихів» та кількості поглинутого молюсками повітря, а також зменшенням інтервалів між послідовними актами дихання.

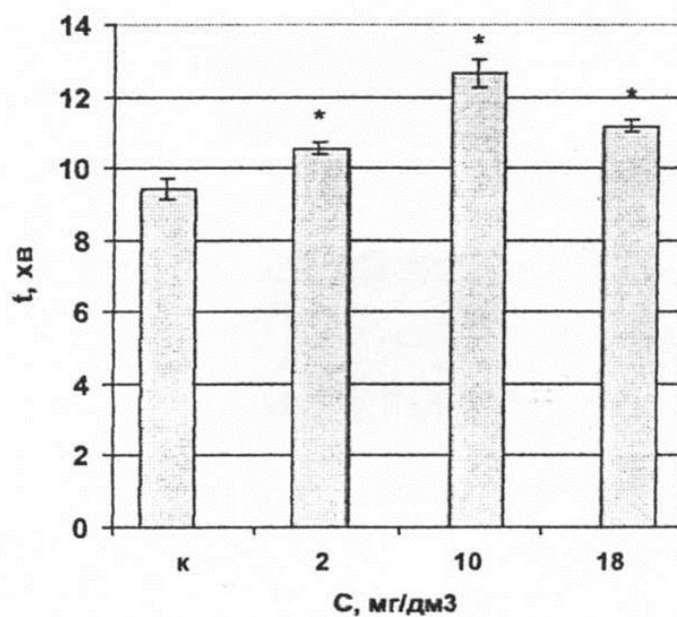


Рис. 3.3.6. Тривалість забору повітря (хв) *L. stagnalis* за впливу хлориду цинка водного середовища; $M \pm m$; * – відмінності порівняно з контролем вірогідні.

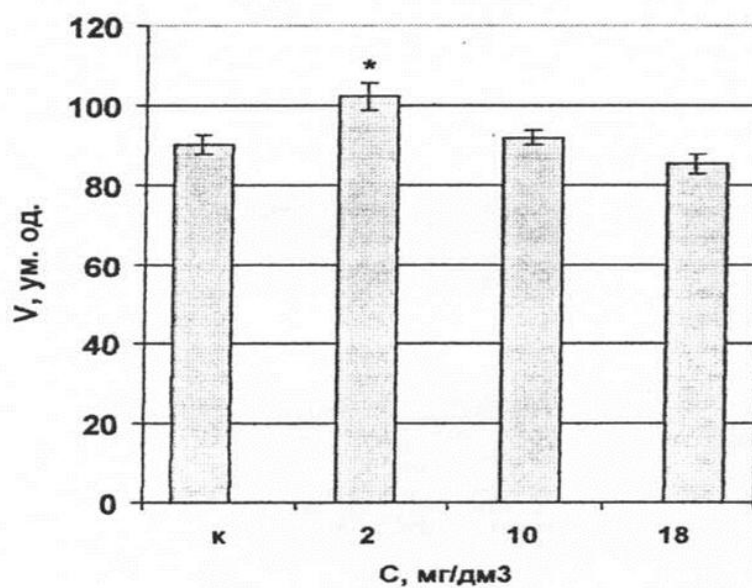


Рис. 3.3.7. Об'єм повітря, забраного за один вдих (ум. од.) ставковика озерного за дії хлориду цинка водного середовища; $M \pm m$; * – відмінності порівняно з контролем вірогідні.

Пристосування до умов токсичного середовища за концентрації 10 мг/дм³ $ZnCl_2$ здійснюється за рахунок збільшення тривалості забору повітря,

тому що інтервал між «вдихами» та кількість поглинутого повітря різко зменшуються. Ставки ж уміщені у воду з концентрацією 18 мг/дм^3 хлориду цинка, досить чітко демонстрували депресивну фазу патологічного процесу. За цієї фази кількість кисню, споживаного ними, суттєво зменшується.

У позбавлених можливості дихати атмосферним повітрям молюсків, за умови підвищення концентрації токсиканту (діапазон $10\text{--}18 \text{ мг/дм}^3$) значно знижується рівень їхньої життєздатності. Проте за концентрації 2 мг/дм^3 ZnCl_2 ніяких статистично вірогідних відмінностей у тривалості виживання тварин, які перебувають у затруєному середовищі, не зареєстровано (рис. 3.3.8). На концентрацію 10 мг/дм^3 хлориду цинку у середовищі ставки реакують зменшенням величини означеного показника (на $12,8\%$). За концентрації полютанту 18 мг/дм^3 , ці процеси ще посилюються: тривалість виживання ставковиків падає на $14,7\%$ (Додаток А.18).

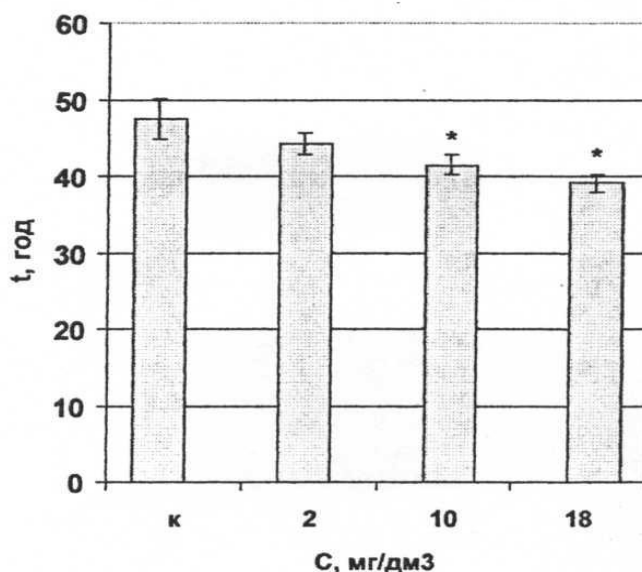


Рис. 3.3.8. Тривалість виживання *L. stagnalis* при заповненні легені водою (год) за дії хлориду цинка водного середовища; $M \pm m$; * – відмінності порівняно з контролем вірогідні.

У отриманих нами результатах токсикологічних досліджень вперше виявлено, що за концентрацій $0,2 \text{ мг/дм}^3$ сульфату міді та за концентрації 2

мг/дм³ хлориду цинка у водному середовищі всі досліджувані нами показники дихання молюсків свідчать про те, що ставковик озерний перебуває, за цих концентрацій, на другій фазі розвитку патологічного процесу, викликаного дією токсикантів, – фазі стимуляції. За концентрацій 1 та 1,8 мг/дм³ CuCl₂ водного середовища та 18 мг/дм³ ZnCl₂ водного середовища у тварин має місце депресивна фаза отруєння. За концентрації 10 мг/дм³ хлориду цинку у середовищі існування молюсків, незважаючи на зростання тривалості акту «вдиху», дихальний процес загалом пригнічується.

ВИСНОВКИ

1. У ставковиків, яких утримували впродовж 48 год у середовищі з концентрацією сульфату міді $0,2 \text{ мг/дм}^3$, показники ритму серцевих скорочень збільшуються і серцевий коефіцієнт складає 116%, за концентрації 1 мг/дм^3 – 52%, а за $1,8 \text{ мг/дм}^3$ – ритм серцевих скорочень уповільнюється ще більше і знижується у середньому приблизно в 4–5 разів у порівнянні з контролем.

2. За впливу на піддослідних молюсків хлориду цинку у воді ($2\text{--}18 \text{ мг/дм}^3$) ставковики реагують на дію токсиканту прогресуючою тахікардією у відповідності до зростання його концентрації.

3. Встановлено, що значення ВСР та ТПІ ставковика озерного прогресуюче знижуються під впливом усіх використаних у дослідях концентрацій сульфату міді. Хоча за $0,2 \text{ мг/дм}^3$ цього токсиканту значення КЗІ зростають. 48-годинне перебування ставковиків у $0,2 \text{ мг/дм}^3$ сульфату міді водного середовища викликає досить різке зниження показників ефективності живлення (більш ніж на 30%). І далі величина цього показника продовжує падати, складаючи за $0,6 \text{ мг/дм}^3$ досліджуваного токсиканту – 0,22%. Збільшення значень коефіцієнту засвоєння їжі лише частково зможе компенсувати прогресуюче падіння показників ВСР.

4. Оскільки живлення досить чутливо відображає зміни інтенсивності та направленості обмінних процесів у ставковиків, отримані нами результати досліджень можна використовувати як індикатори функціонального стану організму як у нормі так і за дії на них подразників хімічної природи.

5. За умов, коли тварини не можуть дихати атмосферним повітрям, при концентрації $0,2 \text{ мг/дм}^3$ сульфату міді, тривалість виживання ставковиків порівняно з контролем не змінюється. Статистично вірогідні відхилення мають місце лише за впливу на молюсків концентрації 1 мг/дм^3 токсиканту.

6. У отриманих нами результатах токсикологічних досліджень вперше виявлено, що за концентрацій $0,2 \text{ мг/дм}^3$ сульфату міді та за концентрації 2 мг/дм^3 хлориду цинку у водному середовищі всі досліджувані нами

показники дихання молюсків свідчать про те, що ставковик озерний перебуває, за цих концентрацій, на другій фазі розвитку патологічного процесу, викликаного дією токсикантів, – фазі стимуляції.

7. За концентрацій 1 та 1,8 мг/дм³ CuCl₂ водного середовища та 18 мг/дм³ ZnCl₂ водного середовища у тварин має місце депресивна фаза отруєння. За концентрації 10 мг/дм³ хлориду цинку у середовищі існування молюсків, незважаючи на зростання тривалості акту «вдиху», дихальний процес загалом пригнічується.

8. З'ясування механізму адаптацій молюсків до дії важких металів дає можливість застосовувати їх як біоіндикаторів рівня інтоксикації водойм.

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. *Баканов А. И.* Использование зообентоса для мониторинга пресноводных водоемов / А. И. Баканов // Биология внутренних вод. – 2000. – № 1. – С. 68-82.
3. *Брагинский Л. П.* Эколого-токсикологическая ситуация в водной среде (основные принципы оценки и прогнозирования) / Брагинский Л. П., Комаровский Ф. Я., Линник П. Н. // Гидробиол. журн. – 2008. – Т. 25, № 6. – С. 91-101.
4. *Брагинський Л. П.* Біотестування як метод контролю токсичності природних та стічних вод / Л. П. Брагинский // Гідроекологічна токсикометрія та біоіндикація забруднень. – Львів: Світ, 2005. – С. 27-37.
5. *Брень Н. В.* Использование беспозвоночных для мониторинга загрязнения водных экосистем тяжелыми металлами / Н. В. Брень // Гидробиол. журн. – 2005. – Т. 35, № 4. – С. 75-88.
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, 1988. – С. 15-16.
7. *Выскушенко Д. А.* Реагирование прудовика озерного (*Lymnaea stagnalis* L.) на воздействие сульфата меди и хлорида цинка / Д. А. Выскушенко // Гидробиол. журн. – 2006. – Т. 38, № 4. – С. 86-92.
8. *Грубінко В. В.* Системна оцінка метаболічних адаптацій у гідробіонтів / В. В. Грубінко // Наук. записки Тернопіль. держ. пед. у-ту ім. В. Гнатюка. Серія: Біологія, № 4 (15). Спец. вип.: Гідроекол. – 2006. – С. 36-39.
9. *Киричук Г. Е.* Особенности накопления ионов тяжелых металлов пресноводными моллюсками / Г. Е. Киричук // Вісн. Житомир. пед. ун-ту. – вип. 10, 2008. – С. 170-175.

10. Колесник О. О. Зрушення стабільності водного балансу у ставковиків, підданих дії хлориду цинку / О. О. Колесник, М. Б. Сайкін // Вісн. Житомир. ун-ту. – вип. 10, 2007. – С. 176-178.
11. Лакин Г. В. Биометрия / Г. В. Лакин. – М.: Высш. шк., 1990. – 351 с.
12. Лапин И. А. Взаимодействие экзометаболитов водных организмов с ионами тяжелых металлов в природных водах (обзор) / И. А. Лапин, И. А. Едигарова // Гидробиол. журн. – 2004. – Т. 26, № 2. – С. 3-11.
13. 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.
14. Метелев В. В. Водная токсикология / В. В. Метелев, А. И. Канаев, Н. Б. Дзасохова. – М.: Колос, 1971. – 247 с.
15. Методика екологічної оцінки якості поверхневих вод за відповідними категоріями. / [В. Д. Романенко, В. М. Жукинський О. П. Оксіук]. – К.: СИМВОЛ, 2008. – 28 с.
16. Прозоровский В. Б. О выборе метода построения кривой летальности и определения средней летальной дозы / В. Б. Прозоровский // Журн. общ. биол. – 1980. – Т. 21, № 3. – С. 221-228.
17. Романенко В. Д. Стратегічні напрямки водно-екологічної політики в Україні / В. Д. Романенко // Наук. зап. Терноп. держ. ун-ту ім. В. Гнатюка. Сер.: Біол., Спец. Вип.: Гідроекологія. – 2008. – № 3 (14). – С. 3-5.
18. Стадниченко А. П. Влияние различных концентраций поверхностно-активных веществ на величину суточных рационов и продолжительность прохождения пищи у *Lymnaea stagnalis*, инвазированного партенитами *Echinostoma revolutum* / А. П. Стадниченко Р. В. Коцюк // Паразитология. – 2002. – вып. 6. – С. 528-532.

19. Стадниченко А. П. Методи дослідження молюсків / [Стадниченко А. П., Сластенко М. М., Куркчі Л. М., Гумінський О. В.] – К., 1999. – 64 с. – ДЕП. в ДНТВ України 22.03.1999, № 78 – Ук 99.
20. 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.
21. Строганов Н. С. Приспособленность и приспособляемость в системе взаимоотношений гидробионта с токсикантом / Н. С. Строганов // Реакции гидробионтов на загрязнение. – М, 1983. – С. 5-13.
22. Флеров Б. А. Об использовании в водной токсикологии исследований поведения животных / Б. А. Флеров // Гидробиол. журн. – 2004. – Т. 10, № 5. – С. 114-120.
23. Babu G., Ramesh Rao P. Effect of copper sulfate on respiration, electron transport and redox potential in the digestive gland of the snail-host // Bull. Environ. Contam. and Toxicol. – 2004. - 34, № 3. – P. 396-402.
24. Frömming Eward Quantitative untersuchungen über die nahrungsaufnahme süßwasserlungenschnecke *Lymnaea stagnalis* L. // Fischerei. – 2003. – 2, N5-6. – P. 451-456.
25. Khangarot B. S., Ray P. K. Sensitivity of freshwater pulmonate snails, *Lymnaea luteola* L., to heavy metals // Bull. Environ. Contam and Toxicol. – 2008. – 41, N2. – P. 202-213.